

## L-乳酸（L-lac）含量测定试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
AYHA9-M48	L-乳酸含量测定试剂盒	48T	微量法
AYHA9-M96		96T	微量法

### 一、测定意义：

乳酸是生物体代谢过程中重要的中间产物，与糖代谢、脂类代谢、蛋白质代谢及细胞内能量代谢密切相关，乳酸含量是评估糖元代谢的和有氧代谢的重要指标。

### 二、测定原理：

L-乳酸在 L-乳酸脱氢酶的作用下生成丙酮酸，同时使 NAD<sup>+</sup>还原生成 NADH 和 H<sup>+</sup>，在 PMS 作用下，生成的 PMSH2 还原 NBT 生成紫色物质，在 540nm 处有特征吸收峰。

### 三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量 (48T)	试剂装量 (96T)	保存条件
提取液	液体 60 mL×1 瓶	液体 110mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂一	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂二	液体 2 mL×1 瓶	液体 4 mL×1 瓶	2~8℃保存
试剂三	粉剂×1 瓶	粉剂×1 瓶	2~8℃保存
制备液的配制：将试剂二倒入试剂三中超声使其完全溶解，使用前放置于 37℃ 保温 10 分钟。			
试剂四	液体 0.3 mL×1 瓶	液体 0.3 mL×1 瓶	-20℃保存
试剂四的配制：临用前蒸馏水 10 倍稀释，置于冰上备用。			
试剂五	液体 10 mL×1 瓶	液体 20 mL×1 瓶	2~8℃保存
标准品	液体 1 mL×1 瓶	液体 1 mL×1 瓶	2~8℃保存

### 四、操作步骤：

#### 样本前处理

1、组织：取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1: 5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提 3-5 分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

2、细菌/细胞：按照细胞数量 (10<sup>4</sup> 个)：提取液体积 (mL) 为 500~1000: 1 的比例（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声波破碎细胞(功率 200W, 超声 3 秒, 间隔 7 秒, 总时间 5min)；然后 10000g, 4℃离心 10min，取上清置于冰上待测。

3、血清（浆）等液体样本：直接测定。若有浑浊请离心后取上清待测。

#### 测定步骤

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 540nm，蒸馏水调零；
- 2、临用前将试剂一与制备液按照 5: 1 的比例混合好，配制成工作液；
- 3、临用前将 50mmol/L 标准品用蒸馏水稀释成 5、2.5、1.25、0.625、0.3125mmol/L 的标准液备用。

#### 4、操作表（在 96 孔板中加入以下试剂）

试剂名称	测定管	标准管	空白管
待测样本 (μL)	10	-	-
标准品 (μL)	-	10	-
蒸馏水 (μL)	-	-	10
工作液 (μL)	100	100	100
试剂四 (μL)	20	20	20
混匀，37℃保温 10min			
试剂五 (μL)	70	70	70

混匀后，立即在波长 540nm 处读取各管吸光度值，分别记为 A<sub>测定</sub>, A<sub>标准</sub>, A<sub>空白</sub>，计算  $\Delta A_{测定} = A_{测定} - A_{对照}$ ;  $\Delta A_{标准} = A_{标准} - A_{空白}$ 。

#### 五、L-乳酸含量计算：

1、标准曲线的绘制：以各标准溶液浓度为 x 轴，以其对应的吸光值 ( $\Delta A_{标准}$ ) 为 y 轴，绘制标准曲线，得到标准方程  $y=kx+b$ ，将  $\Delta A_{测定}$  带入公式中得到 x (mmol/mL)。

#### 2、L-乳酸含量计算

##### (1) 按照蛋白含量计算

L-乳酸含量 (mmol/mg prot) =  $x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times Cpr) = x \div Cpr$

(2) 按照样本质量计算

L-乳酸含量 (mmol/g) =  $x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times W) = x \div W$

(3) 按照细胞数量计算

L-乳酸 A 含量 (mmol/10<sup>6</sup> cell) =  $x \times V_{\text{样本}} \div (V_{\text{样本}} \times N) = x \div N$

(4) 按照液体体积计算

L-乳酸含量 (mmol/mL) = x

V<sub>样本</sub>: 加入的样本体积, 0.01mL; W: 样本质量, g; Cpr: 样本蛋白

蛋白浓度, mg/mL; N: 细胞数量, 以百万计。

**六、注意事项:**

1、如果测定吸光值超过线性范围吸光值, 可以增加样本量或者稀释

样本后再进行测定。

2、为保证结果准确且避免试剂损失, 测定前请仔细阅读说明书(以

实际收到说明书内容为准), 确认试剂储存和准备是否充分, 操作

步骤是否清楚, 且务必取 2-3 个预期差异较大的样本进行预测定。

**【厂家信息】**

生产企业: 南京陌凡生物科技有限公司

地址: 南京市栖霞区红枫科技园 A6 栋 2 层

**【售后微信】**



**【说明书核准及修改日期】**

核准日期: 2025 年 4 月 7 日

修改日期: 2025 年 4 月 7 日