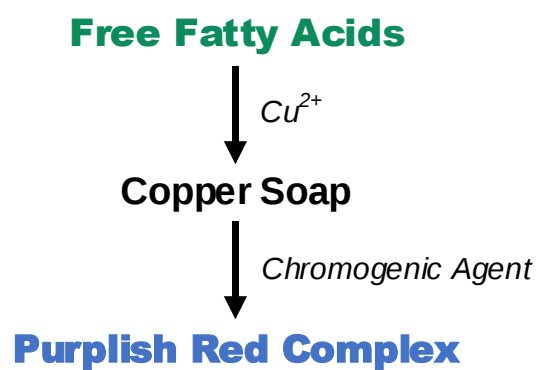




游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒
Free Fatty Acid (FFA) Content Assay Kit



北京盒子生工科技有限公司
Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.



游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒

Free Fatty Acid (FFA) Content Assay Kit

一、产品描述

游离脂肪酸（FFA），又称非脂化脂肪酸（NEFA），主要由中性脂肪分解产生，是脂肪代谢过程中的中间产物，参与细胞增殖、炎症反应、激素调控等，也可作为一种具有多种生理功能的信号分子。游离脂肪酸与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能密切相关，其含量是一项重要的生理生化指标，可作为评价和诊断疾病的辅助性参数，也可以反映食品贮藏过程中的品质变化。

游离脂肪酸与铜离子结合可形成脂肪酸铜，铜离子能够与显色液反应生成紫红色络合物，产物在 550 nm 处具有特征吸收峰，通过吸光值变化即可定量检测游离脂肪酸的含量。

二、产品内容

名称	试剂规格	储存条件	使用方法及注意事项
提取液	液体 120 mL×1 瓶	4°C保存	-
试剂一	液体 20 mL×1 瓶	4°C避光保存	-
试剂二	粉剂×3 瓶	4°C避光保存	使用前每瓶加入 12 mL 无水乙醇充分溶解 (现用现配，配制后 4°C可保存一周)
标准品	粉剂×1 支 (10 mg 棕榈酸标准品)	RT 保存	使用前加入 780 μL 氯仿充分溶解 (即为 50 μmol/mL 棕榈酸标准液，4°C密封保存)
标准稀释液的制备：将 50 μmol/mL 棕榈酸标准液使用氯仿稀释至 2.0、1.2、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 即为标准稀释液。			

萃取剂的制备(试剂自备): 实验前一天在棕色玻璃瓶中按正庚烷:无水甲醇:氯仿=24:1:25 的体积比配制，充分混匀。

需自备试剂：正庚烷（C₇H₁₆，MW = 100.20，CAS: 142-82-5）；无水甲醇（CH₃OH，MW = 32.04，CAS: 67-56-1）；氯仿（CHCl₃，MW = 119.38，CAS: 67-66-3）；无水乙醇（C₂H₅OH，MW = 46.07，CAS: 64-17-5）。

序号	A	1	2	3	4	5	6
稀释前浓度（μmol/mL）	50	10	10	10	0.8	0.4	0.2
标准液体积（μL）	200	200	120	80	500	500	500
氯仿体积（μL）	800	800	880	920	500	500	500
稀释后浓度（μmol/mL）	10	2.0	1.2	0.8	0.4	0.2	0.1

三、产品使用说明

测定过程中所需要的仪器和试剂：可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板、研钵/匀浆器、可调式移液器、台式离心机、恒温水浴、正庚烷、无水甲醇、无水乙醇、氯仿和蒸馏水。

1.样品处理（可根据预实验结果适当调整样本量及比例）

①组织：组织使用生理盐水冲洗干净后，吸水纸吸干表面水分；按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:（5-10）的比例（建议称取 0.1 g 组织，加入 1 mL 提取液）充分匀浆，4℃ 8000 rpm 离心 10 min，取上清液即为待测样本，置于冰上待测。

②血清、培养液等液体样本：血液样本室温静置 1 h 后，4℃ 3500 rpm 离心 15 min，取上层血清置于 4℃冰箱保存待测；培养液等液体样本直接检测或适当稀释后再进行检测。

2.测定步骤

①分光光度计或酶标仪预热 30 min 以上，调节波长至 550 nm，无水乙醇调零。

②试验前将试剂一 37℃预热 30 min 以上。

③在离心管中依次加入下列试剂：

试剂	测定管 (μL)	对照管 (μL)	标准管 (μL)	空白管 (μL)
待测样本	30	-	-	-
蒸馏水	-	30	-	-
标准稀释液	-	-	30	-
氯仿	-	-	-	30
萃取剂	300	300	300	300
试剂一	120	120	120	120
充分振荡 10 min, 3000 rpm 常温离心 10 min				
上层溶液	50	50	50	50
试剂二	200	200	200	200
充分振荡 2 min, 室温静置 15 min				

吸光值测定（30 min 内完成测定）：吸取 200 μL 反应液至 96 孔板或微量玻璃比色皿中，测定 550 nm 处吸光值，记为 A 测定、A 对照、A 标准和 A 空白，计算 $\Delta A_{\text{测定}} = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ ， $\Delta A_{\text{标准}} = A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}$ 。注：空白管和对照管只需测定 1-2 次。

标准曲线的建立：以 2.0、1.2、0.8、0.4、0.2、0.1 μmol/mL 为横坐标（x），以其对应的 $\Delta A_{\text{标准}}$ 为纵坐标（y），绘制标准曲线，得到标准方程 $y=kx+b$ ，将 $\Delta A_{\text{测定}}$ 带入公式中得到 x（μmol/mL）。

3.游离脂肪酸（FFA）含量计算

①按组织蛋白含量计算

$$\text{FFA 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}} = \frac{x}{C_{\text{pr}}}$$

②按组织样本质量计算

$$\text{FFA 含量 } (\mu\text{mol/g}) = \frac{x \times V_{\text{样总}}}{W}$$

③按液体样本体积计算

$$\text{FFA 含量 } (\mu\text{mol/L}) = 1000 \times D \times x$$

注释： V 样总：待测样本总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白浓度，mg/mL；W：样品质量，g；D：液体样本稀释倍数；1000：单位换算系数，1 L=1000 mL。

四、注意事项

- ①试剂二配制应尽量晚配，可在操作到加入试剂一时，再配制试剂二；
- ②必须保证每管的震荡频率及时间一致；
- ③应在 30 min 内完成测量，测定完成密封好后再丢弃；
- ④所用试剂多数为有机溶剂，同一支吸头多次吸取会造成体积不准确，建议取液后更换吸头；
- ⑤若测定吸光值超出标准吸光值线性范围：高于最高值建议将待测样本适当稀释后再进行测定，低于最低值建议适当增加样本量后再进行测定，计算时相应修改；
- ⑥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，过程中问题请您及时与工作人员联系。

For Research Use Only. Not for Use in Diagnostic Procedures.

boxbio

Manufactured and Distributed by

Beijing Boxbio Science & Technology Co., Ltd.
Liandong U Valley, Tongzhou District, Beijing, China

TEL: 400-805-8228

E-MAIL: techsupport@boxbio.cn

Copyright © 2020 Boxbio, All Rights Reserved.

