

游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒（微量法）

产品货号：BA1454

产品规格：100管/96样

产品简介：

FFA既是脂肪水解的产物，又是脂肪合成的底物。血清中FFA的浓度与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能有关。

FFA与铜离子结合形成脂肪酸铜盐，并溶于氯仿；利用铜试剂法测定铜离子含量，即可推算出游离脂肪酸含量。

产品组成：

试剂名称	规格	保存条件
提取液	液体100mL×1瓶	4℃
试剂一	液体50mL×1瓶（自备）	室温
试剂二	液体20mL×1瓶	4℃
试剂三	粉剂×2瓶	4℃
标准品	粉剂×1支	室温

溶液的配制：

1. 试剂一：实验前一天，取一个玻璃瓶，按照正庚烷：无水甲醇：氯仿=24:1:25的比例配置（自备），盖紧后混匀；
2. 试剂三：临用前每瓶加入13mL甲醇充分溶解，4℃可保存一周；
3. 标准品：临用前把试剂转移到10mL玻璃瓶中，加入7.8mL氯仿充分溶解，即为5μmol/mL的棕榈酸标准溶液，4℃保存。

技术指标：

线性范围：0.0390μmol/mL

检出限：0.05-2μmol/mL

注意：实验之前建议选择2-3个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测。

需自备的仪器和用品：

研钵/匀浆器、冰、台式离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96孔板、一个50mL玻璃瓶、一个10mL玻璃瓶、正庚烷、无水甲醇、氯仿（三氯甲烷）、无水乙醇和蒸馏水。

操作步骤：

一、样本处理（可适当调整待测样本量，具体比例可以参考文献）

1. 血清中FFA测定：将所取血液，室温静置1h后，于4℃离心机3500rpm离心15min，取上层血清置于4℃冰箱保存，待测。
2. 组织中FFA含量测定：组织用生理盐水冲洗干净后，用吸水纸吸取表面水分，称取约0.1g，加入1mL提取液，匀浆后，8000rpm，4℃离心10min，取上清液，置冰上待测。

二、测定步骤

1. 分光光度计/酶标仪预热30min以上，调节波长到550nm，无水乙醇调零。
2. 试剂二在37℃水浴中预热30min以上。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 标准品的稀释：将标准品用氯仿稀释成1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ 。
- 按下表在1.5mL离心管中加入相应试剂

	对照管	测定管	空白管	标准管
蒸馏水 (μL)	30			
样本 (μL)		30		
氯仿 (μL)			30	
标准品 (μL)				30
试剂一 (μL)	300	300	300	300
试剂二 (μL)	120	120	120	120
充分振荡10min后，3000rpm，离心10min				
上层溶液 (μL)	50	50	50	50
试剂三 (μL)	200	200	200	200
充分振荡2min后，静置15min，取0.2mL于微量玻璃比色皿/96孔板中，于550nm下测吸光值，分别记为A对照管、A测定管、A空白管、A标准管（对照管和空白管各只做1-2管）。				

三、FFA含量计算

- 标准曲线的绘制：以标准溶液的浓度为x轴，以 ΔA 标准（ $\Delta A = A_{\text{标准管}} - A_{\text{空白管}}$ ）为y轴，绘制标准曲线，得到方程 $y = kx + b$ 。将 ΔA （ $\Delta A = A_{\text{测定管}} - A_{\text{对照管}}$ ）带入方程得到x。
- 血清FFA含量：

$$\text{FFA含量} (\mu\text{mol/L}) = 1000x$$
- 组织FFA含量：
 - 按样本蛋白浓度计算

$$\text{FFA含量} (\mu\text{mol/mg prot}) = x \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}) = x \div C_{\text{pr}}$$
 - 按样本质量计算

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

V样总：上清液总体积，1mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g。1000：单位换算系数，1L=1000mL。

注意事项：

- 试剂三配制应尽量晚配，可在操作到加入试剂二时，再配制试剂三。
- 必须保证每管的震荡频率及时间一致。
- 尽量在30min内完成测量。
- 上层溶液不可以直接加入到96孔板内，并且测完后要密封好再丢弃。
- 因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，建议更换吸头。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com