

游离脂肪酸（free fatty acid, FFA）含量测定试剂盒说明书

（货号：G0901W 微板法 48 样）

一、产品简介：

FFA 既是脂肪水解的产物，又是脂肪合成的底物。FFA 的浓度与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能有关，也可反映食物贮藏中的品质变化。

在弱酸性条件下，FFA 与铜盐反应生成铜皂，在 715nm 处有特征吸收峰，在一定范围内游离脂肪酸含量与显色程度呈线性关系。

二、试剂盒的组成和配制：

试剂名称	规格	保存要求
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃ 保存
试剂二	液体 10mL×1 瓶	4℃ 保存

三、所需的仪器和用品：

酶标仪、96 孔板、研钵、台式离心机、可调式移液器、震荡仪。

四、游离脂肪酸(FFA)含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

① 组织样本：

组织先用液氮粉碎后，称取 0.2g 至（1.5-2mL）EP 管中，再加入 1mL 的提取液，于震荡仪上震荡提取 3h，8000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

② 细菌/细胞样本：

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液，超声波破碎细菌或细胞（冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次）；8000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量（ 10^4 ）：提取液（mL）为 500~1000：1 的比例进行提取。

③ 液体样本：

取澄清的液体 0.1mL，加 1mL 提取液，于震荡仪上震荡提取 3h，8000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

2、上机检测：

① 酶标仪预热 30 min，调节波长到 715 nm。

② 先挑选 2 个样本做预测定，确定适合本批样本最适取样量。

③ 在 EP 管中依次加入：

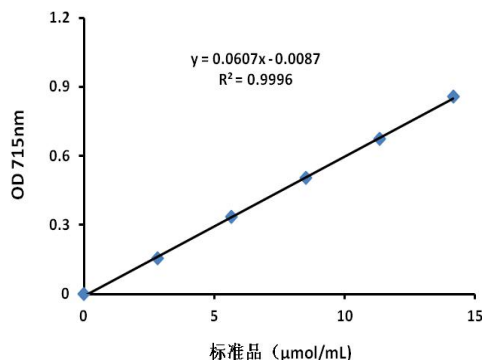
试剂名称（ μ L）	测定管	对照管
上清液	400	400
试剂一	200	
试剂二		200
充分震荡 5min，室温静置 5min，取上层 200 μ L 于 96 孔板中，于 715nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ （每个样本需做一个自身对照）。		

【注】1.若 ΔA 在零附近徘徊，可增加样本取样量（至 0.3g），则改变后的样本质量 W 需代入计算公式重新计算。

2. 若 A 测定管大于 1，则降低样本取样量（至 0.1g），或上清液用提取液稀释，则稀释倍数 D 代入计算公式重新计算。

五、结果计算：

1、标准曲线方程： $y = 0.0607x - 0.0087$ ，x 是标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 是 ΔA 。



2、按样本质量计算：

$$\begin{aligned} \text{FFA}(\mu\text{mol/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0087) \div 0.0607 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 16.48 \times (\Delta A + 0.0087) \div W \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{FFA}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) &= [(\Delta A + 0.0087) \div 0.0607 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 16.48 \times (\Delta A + 0.0087) \div 500 \times D \end{aligned}$$

4、按液体体积计算：

$$\begin{aligned} \text{FFA}(\mu\text{mol/mL}) &= [(\Delta A + 0.0087) \div 0.0607 \times (V2 + V)] \div V2 \times D \\ &= 181.22 \times (\Delta A + 0.0087) \times D \end{aligned}$$

V---提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.4mL；

V2---加入液体体积，0.1 mL；

W---样品质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。