

游离脂肪酸(FFA)含量检测试剂盒(铜皂微板法)

产品编号: MA1627

规格: 100T/96S

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1627-1 100T/96S	保存条件	有效期	运输条件
提取液: 液体	100mL	2-8℃	自生产之日起 6 个月	湿冰运输 (按季节)
试剂一: 液体	8mL	2-8℃, 避光		
试剂二: 液体	8mL	2-8℃, 避光		
试剂三: 粉剂	1 瓶	室温		
试剂四: 粉剂	2 瓶	2-8℃, 避光		
标准品	1 瓶	室温, 避光		
空瓶	8mL×4 个	室温		
说明书	1 份			

产品简介

游离脂肪酸(Free Fatty Acid, FFA)也称为非酯化脂肪酸, 在与白蛋白结合的血浆中循环。动物血液中 FFA 含量是一项重要的生理生化指标, FFA 的浓度与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能有关, 且会因糖尿病、重症肝功能障碍、甲状腺功能亢进等疾病而上升。

游离脂肪酸(FFA)含量检测试剂盒(铜皂微板法)即 Free Fatty Acid(FFA) Content Assay Kit (Copper Soap Method), 检测原理是: 用有机溶剂萃取 FFA, 含有 FFA 的有机液与三乙醇胺铜反应, 在有机相中形成脂肪酸铜(铜皂)FFA-Cu, Cu 离子与显色液反应形成紫红色络合物。反应形成的颜色深浅与 Cu 离子浓度的关系符合朗伯-比尔定律, 因此可利用此反应进行比色。

本产品最低检出限为 20μM。

自备材料

酶标仪、离心机、可调式移液器、96 孔板 (FEP 或玻璃材质, 需使用可耐受有机溶剂材质的)、蒸馏水、甲醇、三氯甲烷、正庚烷、无水乙醇。

使用方法

1. 试剂准备:

(1) 萃取液配制: 临用前请根据拟用萃取液体积 (样本数×1 mL), 按照三氯甲烷: 正庚烷: 甲醇=30: 30: 1.2 的比例混合, 现配现用, 在玻璃瓶或烧杯中配制。

(2) 试剂四: 临用前取一瓶加入 12mL 无水乙醇, 未用完的试剂 2-8℃可以保存 2 周, 溶解后为浅黄色, 若颜色变为橙红色则失效。

(3) 标准品 (选做): 取 3.9mL 萃取液加入瓶中, 充分溶解后制得 10μmol/mL 棕榈酸标准溶液, 用于标准曲线绘制。

【注】1. 实验时建议使用新开封的三氯甲烷, 开封时间过久会影响测定结果。

2. 若实验过程中使用的不是同一瓶三氯甲烷, 建议更换三氯甲烷后同时做一个对照管。

2. 样本前处理:



(1) 动物组织：组织用生理盐水冲洗干净后，用吸水纸吸取表面水分，按照动物组织质量(g)：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例加入萃取液（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），进行冰浴匀浆。振荡提取 15min 后，5000 rpm，4℃ 离心 5min，取上清液待测。

(2) 血清：将所取血液室温静置 1h 后，3500rpm，4℃ 离心 15min，取 50μL 血清样本，加入 1 mL 提取液，振荡提取 15min 后，5000 rpm，4℃ 离心 5min，取上清液待测。

(3) 微生物、细胞：收集细胞或微生物到离心管内，离心后弃上清，按照细胞数量(10^4 个)：提取液体积(mL)为 500~1000：1 的比例加入提取液（建议 500 万细胞加入 1mL 提取液），冰浴超声破碎细胞或细菌（功率 300W，超声 2s，间隔 3s，总时间 3min），振荡提取 15min 后，5000 rpm，4℃ 离心 5min，取上清液待测。

3. 检测：

(1) 酶标仪预热 30min 以上，调节波长到 550nm。

(2) 工作液的配制：临用前根据样本量，按照试剂一：试剂二：试剂三=1mL：1mL：0.66g 的比例充分混匀，**现用现配**。此溶液为饱和溶液，若还有粉剂未溶解，取上清使用即可。试剂盒中提供 4 个空瓶，配制时在空瓶中进行，先将试剂一与试剂二混合，最后再加入试剂三粉剂。

(3) 在 EP 管中按下表加样：

试剂 (μL)	对照管	测定管	标准管 (选做)	空白管 (选做)
待测液		30		
蒸馏水	30			
标准液			30	
萃取液	300	300	300	330
工作液	120	120	120	120
盖紧后常温振荡 20min，5000rpm，4℃ 离心 5min				
上层有机相	50	50	50	50
试剂四	200	200	200	200

(4) 混匀，室温静置 10min，取 200μL 至 96 孔板中，于 550nm 处测定吸光值 A， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ 。对照管、标准管和空白管只需测 1-2 次。

【注】1. 有机溶剂易挥发，加入 96 孔板后应尽快检测。

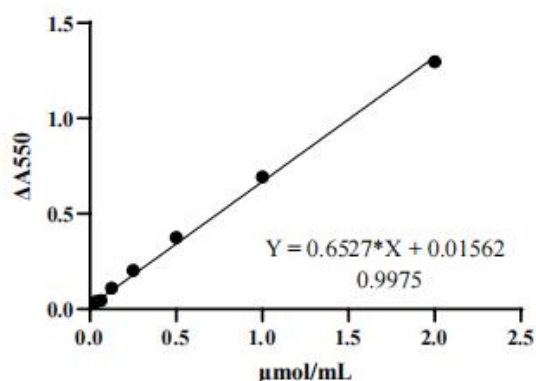
2. 测定管中加入的样本即样本前处理中的上清液待测液。

4. 计算：

标准曲线： $y = 0.6527x + 0.01562$ ($R^2 = 0.9975$)

x: FFA 浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)

y: 吸光值差值 ΔA



(1) 血清中 FFA 含量计算:

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol/mL})=(\Delta A-0.01562)\div 0.6527\times 1000\times F=1532.10\times(\Delta A-0.01562)\times F$$

(2) 动物组织、微生物中 FFA 含量计算:

① 按样本蛋白浓度计算:

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol/mg prot})=(\Delta A-0.01562)\div 0.6527\times V_{\text{样总}}\div(V_{\text{样总}}\times \text{Cpr})=(\Delta A-0.01562)\div(0.6527\times \text{Cpr})$$

② 按样本质量计算:

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重})=(\Delta A-0.01562)\div 0.6527\times V_{\text{样总}}\div W=(\Delta A-0.01562)\div(0.6527\times W)$$

(3) 微生物、细胞中 FFA 含量计算:

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol}/10^4\text{cells})=(\Delta A-0.01562)\div 0.6527\times V_{\text{样总}}\div N=(\Delta A-0.01562)\div(0.6527\times N)$$

式中: 1000: 换算单位, 1L=1000mL;

$V_{\text{样总}}$: 制样时加入提取液体积, 1 mL

W : 动物组织样品质量(g)

N : 细菌或细胞数量, 以 10^4 计

F : 血清样本制样时稀释倍数, $(50\mu\text{L 血清}+1\text{mL 提取液})\div 50\mu\text{L 血清}=21$

Cpr : 样本蛋白质浓度(mg/mL)

注意事项

1. 正式测定前务必取 2~3 个预期差异较大的样本做预测定。
2. 必须保证每管的震荡频率及时间一致。
3. 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。
4. 蛋白含量不可直接用萃取液提取的有机相待测液直接测定, 可选用蒸馏水、缓冲液或生理盐水, 选用 BCA 法进行蛋白含量测定(美仑货号: MA0082/MA1610/MA1611)。
5. 本法中, 游离脂肪酸的低检出限为 20nmol/mL, ΔA 的范围为 0.02~1.5, 若小于 0.02, 可增加样本质量; 若大于 1.5, 需对样本进行稀释, 最终计算结果需乘以稀释倍数。
6. 提供的标准曲线及公式仅供参考, 若有需要, 可用提供的标准品自制标曲(计算公式及线性范围根据自制标准曲线需作对应修改), 但需要注意, 受仪器及个人操作影响, 客户自制标准曲线可能与说明书中提供的标准曲线有差别。若无另外的实验要求, 也可直接使用说明书所给标曲进行计算。
7. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
8. 本产品仅限科研实验使用, 禁止用于临床、食品、化妆品等非科研场景。

S260902

大连美仑生物技术有限公司

官网:<https://www.meilunbio.com/>

电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilun.com

本产品仅供科研使用

