

游离脂肪酸(FFA)含量检测试剂盒(铜皂分光法)

产品编号: MA1628

规格: 50T/48S

产品组成和保存/运输条件

产品组成	MA1628-1 50T/48S	保存条件	有效期	运输条件
萃取液	60mL	2-8℃	自生产之日起 6 个月	湿冰运输 (按季节)
试剂一	8mL	2-8℃		
试剂二	8mL	2-8℃		
试剂三	1 瓶	室温		
试剂四	18mL	2-8℃		
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(铜皂分光法)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

可见分光光度计、离心机、可调式移液器、玻璃比色皿、蒸馏水

使用方法

1. 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): 萃取液体积(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 萃取液), 进行冰浴匀浆。振荡提取 15min 后, 5000 rpm, 4℃离心 5min, 取有机相待测。

(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 1mL 萃取液, 振荡提取 15min 后, 5000 rpm, 4℃离心 5min, 取有机相待测。

(3) 细胞/细菌: 收集细胞或细菌到离心管内, 离心后弃上清, 按照细胞/细菌数量(10^4 个): 萃取液体积(mL)为 500~1000:1 的比例加入萃取液(建议 500 万细胞加入 1mL 萃取液), 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, 取有机相待测。

【注】有机相待测液可能存在于上层, 也可能存在于下层, 注意观察; 体积较多的那一层即为有机相待测液。

2. 检测:

(1) 分光光度计预热 30min, 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**。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)	空白管	测定管
样本		750
萃取液	750	
工作液	250	250
振荡提取 15min, 5000rpm, 4℃ 离心 5min		
上层有机相	600	600
试剂四	300	300

(4) 混匀，室温静置 10min，于玻璃比色皿中测定 550nm 的吸光值 A，分别记为 A_{空白} 和 A_{测定}。△A=A_{测定}-A_{空白}。

【注】

- ①空白管只测 1 次。
- ②有机溶剂易挥发，加入 96 孔板后应尽快检测。
- ③测定管中加入的样本即样本前处理中的有机相待测液。

3. 计算：

标准曲线：y=0.0322x - 0.0141 (R² = 0.9985)

x: 棕榈酸标准品浓度(nmol/mL)

y: 吸光值差值△A

(1) 血清中 FFA 含量计算：

FFA 含量(μmol/mL)=(△A+0.0141)÷0.0322×V₁÷(V₃×V₁÷V₂)÷1000=0.621×(△A+0.0141)

(2) 动物组织、细菌或细胞中 FFA 含量计算

①按样本蛋白浓度计算：

FFA 含量(μmol/mg prot)=(△A+0.0141)÷0.0322×V₁÷(V₁×Cpr)÷1000=0.031×(△A+0.0141)÷Cpr

②按样本质量计算：

FFA 含量(μmol/g 鲜重)=(△A+0.0141)÷0.0322×V₁÷(W× V₁÷V₂)÷1000=0.031×(△A+0.0141)÷ W

式中：V₁=加入样本体积，0.75mL

V₂：加入萃取液体积，1mL

V₃：加入血清体积，0.05mL

W：动物组织样品质量(g)

Cpr：样本蛋白质浓度(mg/mL)

【注】萃取液中含有使蛋白变性的成分，故按蛋白浓度计算时需要重新提取蛋白进行测定。

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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
3. 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。

S260901

