

## 游离脂肪酸 (FFA) 含量试剂盒 (测血清、动物组织、微生物、细胞)

微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

### 测定意义:

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

### 测定原理:

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)  $\text{FFA}-\text{Cu}$ 。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。

### 组成:

产品名称	FA008-100T/96S	Storage
萃取液: 液体	120 ml	4°C
试剂一: 液体	15ml	4°C
试剂二: 液体	15ml	4°C
试剂三: 粉剂	1 瓶	室温
试剂四: 液体	12 ml	4°C
说明书	一份	

### 自备仪器和用品:

酶标仪、离心机、可调式移液器、96 孔板、蒸馏水。

### 样本前处理:

1. 动物组织: 按照动物组织质量 (g) : 萃取液 (ml) 为 1: 5~10 的比例 (建议称取约 0.1g 组织, 加入 1ml 萃取液), 进行冰浴匀浆。震荡提取 15min, 5000 rpm 4°C 离心 5min, 取有机相待测。
2. 血清: 吸取 50  $\mu\text{l}$  血清样本, 加入 1 ml 萃取液, 震荡提取 15 min 后, 4°C, 5000 rpm 离心 5 min, 取有机相待测。
3. 微生物、细胞: 按照细胞数量 ( $10^4$  个) : 萃取液体积 (ml) 为 500~1000: 1 的比例 (建议 500 万细胞加入 1 ml 萃取液) 加入萃取液, 冰浴超声波破碎细胞 (功率 300w, 超声 2 秒, 间隔 3 秒, 总时间 3min); 震荡提取 15 min, 然后 5000 rpm 4°C 离心 5min, 取有机相待测。

最终解释权所有 © 伊势久 (江苏连云港) 生物科技有限责任公司, 保留一切权利



注意：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。

### 测定步骤：

- 1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 550 nm。
- 2、工作液的配制：临用前根据用量按照试剂一（V）：试剂二（V）：试剂三（m）=1（ml）：1（ml）：0.66（g）的比例充分混匀。（注意：现用现配，用多少配多少，在空瓶中配制，试剂盒中带有 4 个空瓶，先将试剂一与试剂二混合，最后再加入试剂三粉剂）
- 3、测定管：吸取600μl样本，加入200μl工作液，盖紧后震荡20 min，4℃，5000 rpm离心5 min，分层后取200μl上层有机相，加入100μl试剂四，摇匀，10 min后测定550 nm的吸光值，记为A测定。
- 4、空白管：吸取600μl萃取液，加入200μl工作液，盖紧后震荡20 min，4℃，5000 rpm离心5 min，分层后取200μl上层有机相，加入100μl试剂四，摇匀，10 min后测定550 nm的吸光值，记为A空白。

空白管只需测一次。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$

注意：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有机相待测液。

### FFA 含量计算：

标准曲线： $y = 0.0161x - 0.0141$        $R^2 = 0.9985$       x: 棕榈酸标准品浓度 (nmol/ml)  
y: 吸光值差值  $\Delta A$

#### 1、血清 FFA 含量计算：

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol/ml}) = (\Delta A + 0.0141) \div 0.0161 \times V1 \div (V3 \times V1 \div V2) \div 1000$$
$$= 1.242 \times (\Delta A + 0.0141)$$

#### 2、动物组织、微生物、细胞中 FFA 含量计算：

##### (1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = (\Delta A + 0.0141) \div 0.0161 \times V1 \div (W \times V1 \div V2) \div 1000$$
$$= 0.062 \times (\Delta A + 0.0141) \div W$$

##### (2) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{FFA 含量}(\mu\text{mol/mg prot}) = (\Delta A + 0.0141) \div 0.0161 \times V1 \div (V1 \times Cpr) \div 1000$$
$$= 0.062 \times (\Delta A + 0.0141) \div Cpr$$

V1: 加入样本体积, 0.6ml; V2: 萃取液体积, 1ml; V3: 加入血清(浆)体积, 0.05 ml; Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/ml; W: 动物组织样品质量, g; 1000: 1 μmol=1000 nmol。

### 注意事项：

1. 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，可用蒸馏水或缓冲液或生理盐水选用本公司的 BCA 法蛋白含量测定试剂盒。
2. 最低检出限为 20 nmol/ml。

