

游离脂肪酸含量(FFA) (酶法) 试剂盒

- 【产品简介】 ◆游离脂肪酸又称非酯化脂肪酸(Nonesterified fatty acid NEFA)。其是由油酸，软脂酸，亚油酸等组成。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。也可反映食物贮藏中的品质变化。
- ◆游离脂肪酸和辅酶A在乙酰辅酶A合成酶(ACS)的作用下反应生成乙酰辅酶A, 乙酰辅酶A在乙酰辅酶A氧化酶的作用下生成H₂O₂，随后通过Trinder底物在过氧化物酶(POD)的作用下生成有色产物。通过测定该有色产物在546nm处的值即可得出样本中游离脂肪酸的含量。

【货号】 TMC011

【规格】 96T

【包装清单】

试剂名称	规格	保存条件	
试剂一	液体20mL×1瓶	4℃	
试剂二	液体5mL×1瓶	4℃	
标准管	液体0.2mL×1支	4℃	浓度为1mmol/L

【保存条件】 4℃保存，有效期一年。

【操作步骤】 1、样本制备：

①组织样本：

取约0.1g组织样本，加1mL生理盐水研磨，粗提液全部转移到EP管中，8000rpm, 常温离心10min，取上清液待测。

注：若组织样本为高脂样本或部分为高脂样本，需用无水乙醇进行提取。

液体样品：澄清的液体可直接检测；若浑浊则离心后取上清液检测。

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生理盐水研磨，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 常温离心10min，取上清待测。

注：若增加样本量，可按照细菌/细胞数量(10⁴):提取液(mL)为500~1000:1的比例进行提取。

2、上机检测：

①酶标仪预热30min，设置温度在37℃，设定波长到546nm。

②所有试剂解冻至室温，在96孔板中依次加入：

试剂名称 (uL)	测定管	空白管（仅做一次）	标准管（仅做一次）
样本	4		
蒸馏水		4	
标准品			4
试剂一	200	200	200
混匀，37℃孵育5min，于546nm 处读取吸光值 A1。			
试剂二	50	50	50
混匀，37℃孵育10min后于546nm 处读取吸光值A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

3、结果计算：

①按照质量计算：

游离脂肪酸 (NEFA) ($\mu\text{mol/g}$) = $(C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (V_1 \div V \times W) \times D = (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div W \times D$

②按照体积计算：

游离脂肪酸 (NEFA) (mmol/L) = $(C_{\text{标准}} \times V_2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div V_1 \times D = (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$

③按细胞数量计算：

游离脂肪酸 ($\text{nmol}/10^4\text{cells}$) = $(C_{\text{标准}} \times V_1) \times 10^3 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (500 \times V_1 \div V) \times D = 2 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$

C标准——标品浓度， $1\text{mmol/L} = 1\mu\text{mol/mL}$ ；
V1——加入标准品体积，0.004mL；
V2——加入样本体积，0.004mL；
V——提取液体积，1mL；
W——质量，g；
500——细胞数量，万；
D——稀释倍数，未稀释即为1。

【注意事项】

- 1、样本没有尽快检测的，脂降解作用会导致结果偏高。
- 2、血液游离脂肪酸具有个体差异，进食后升高。
- 3、血液样本溶血影响结果。
- 4、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。