

游离脂肪酸含量检测试剂盒

Free Aliphatic Acid Assay Kit

分光光度法

货号：AK230

规格：50T/48S

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK230-A	50mL×1 瓶	4℃保存；
AK230-B	50mL×1 瓶 (自备)	实验前一天配制，按照正庚烷：无水甲醇：氯仿=24:1:25的比例配置（自备），盖紧后混匀，室温保存。
AK230-C	10mL×1 瓶	室温保存；
AK230-D	粉剂×2 瓶	4℃保存。临用前在试剂瓶中加入 32mL 无水乙醇，充分溶解，4℃可保存一周。
AK230-标准品	粉剂×1 瓶	室温保存。临用前加入 7.8 mL 氯仿充分溶解，即为 5μmol/mL 的棕榈酸标准溶液。

※ 正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定。

简介：

意义：游离脂肪酸 (Free Aliphatic Acid, free fatty acid, 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。

原理：FFA 与铜离子结合形成脂肪酸铜盐，并溶于氯仿；利用铜试剂法测定铜离子含量，即可推算出游离脂肪酸含量。

自备用品：

研钵、冰、台式离心机、可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿、可调式移液枪、一个 50mL 玻璃瓶、一个 10 mL 玻璃瓶、正庚烷、无水甲醇、氯仿（三氯甲烷）、无水乙醇和蒸馏水。

样品中 FFA 提取：

1. 血清中 FFA 测定：血清样本置于-20℃冰箱保存，待测。
2. 组织中 FFA 含量测定：组织用生理盐水冲洗干净后，用吸水纸吸取表面水分，称取约 0.1g，加入 1.0 mL AK230-A，匀浆后，8000rpm，4℃离心 10min，取上清液，待测。

测定步骤：

1. 分光光度计预热 30 min 以上，调节波长到 550 nm，无水乙醇调零。
2. AK230-C 在 37℃水浴中预热 30 min 以上。
3. 标准品的稀释：将标准品用氯仿稀释成 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05μmol/mL。
4. 在 1.5mL 离心管中依次加入下列试剂

试剂名称	对照管 (ul)	测定管 (ul)	空白管 (ul)	标准管 (ul)
蒸馏水	50			
样本		50		
氯仿			50	
标准品				50
AK230-B	500	500	500	500
AK230-C	200	200	200	200
充分振荡10min 后，3000rpm，离心10min，取上层溶液 200ul				

上层溶液	200	200	200	200
AK230-D	800	800	800	800
充分振荡2min 后，静置15min，于550 nm 下测吸光值，分别记为A 对照管、A 测定管、A 空白管、A 标准管。				

注意：对照管和空白管各只做一管。

FFA 活力单位的计算：

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液的浓度为 x 轴，以 ΔA 标准 ($\Delta A = A$ 标准管 - A 空白管) 为 y 轴，绘制标准曲线，得到方程 $y = kx + b$ 。将 ΔA ($\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管) 带入方程得到 x。

2. 血清中 FFA 含量计算

$$\text{FFA } (\mu\text{mol/L}) = 1000x$$

3. 组织中 FFA 含量计算

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{FFA 含量 } (\mu\text{mol/mg prot}) = x \times V_{\text{样总}} \div (\text{Cpr} \times V_{\text{样总}}) = x \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本鲜重计算

$$\text{FFA } (\mu\text{mol/g 鲜重}) = x \times V_{\text{样总}} \div W$$

注： $V_{\text{样总}}$ ：上清液总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品鲜重，g。1000：单位换算系数，1L=1000mL。

注意事项：

1. AK230-D 配制应尽量晚配，可在操作到加入 AK230-C 时，再进行配制。
2. 必须保证每管的震荡频率及时间一致。
3. 尽量在 30min 内完成测定，并且测完后要密封好再丢弃。
4. 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。