

游离脂肪酸含量(FFA)(酶法)试剂盒

微板法 48 样

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 H_2O_2 ，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。

试剂盒组成和配制:

| 试剂名称 | 规格 | 保存要求 | 备注 |
|------|--------------|--------|--------------|
| 试剂一 | 液体 10mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 试剂二 | 液体 2.5mL×1 瓶 | 4°C 保存 | |
| 标准品 | 液体 0.2mL×1 支 | 4°C 保存 | 浓度为 1mmol/L。 |

所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

游离脂肪酸 (NEFA) 含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实

验样本和试剂浪费!

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, 上清液待测。

② 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。

③ 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 (10^4): 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°C, 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 (μL) | 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°C 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]: 1. 若 ΔA 值大于 0.5, 须用生理盐水或蒸馏水对样本进行稀释, 稀释倍数 D 代入计算公式。

2. 若 ΔA 的值小于 0.005, 可增加样本加样体积 V1 (如由 4 μ L 增至 10 μ L, 空白管也由 10 μ L 增至 14 μ L 蒸馏水, 标准管也由 4 μ L 增至 10 μ L; 其他试剂均保持不变), 则改变后的 V1 代入公式重新计算。

结果计算:

1、按照质量计算:

$$\begin{aligned} \text{游离脂肪酸(NEFA)}(\mu\text{mol/g}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空}) \div (\text{V1} \\ &\div \text{V} \times \text{W}) \times \text{D} \\ &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空}) \div \text{W} \times \text{D} \end{aligned}$$

2、按照体积计算:

$$\begin{aligned} \text{游离脂肪酸(NEFA)}(\text{mmol/L}) &= (\text{C 标准} \times \text{V2}) \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空}) \div \text{V1} \\ &\times \text{D} \\ &= (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空}) \times \text{D} \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算:

$$\begin{aligned} \text{游离脂肪酸(NEFA)}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (\text{C 标准} \times \text{V1}) \times 10^3 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} \\ &- \Delta A \text{ 空白}) \div (500 \times \text{V1} \div \text{V}) \times \text{D} \\ &= 2 \times (\Delta A \text{ 测定} - \Delta A \text{ 空白}) \div (\Delta A \text{ 标准} - \Delta A \text{ 空白}) \times \text{D} \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度, 1mmol/L=1 μ mol/mL; V1---加入样本体积, 0.004mL;

V2---加入标准品体积, 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。

mlbio 酶联生物
Good elisakit producers