

# 游离脂肪酸含量(FFA)试剂盒(铜皂法)

## 微板法

本试剂盒仅供体外研究使用，不用于临床诊断

# 使 用 说 明 书

货号: JL-T1315

有效期: 6个月

规格: 48T(20S)/96T(44S)

保存温度: 2-8°C

**实验原理：**

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。在弱酸性条件下，FFA 与铜盐反应生成铜皂，在 715nm 处有特征吸收峰，在一定范围内游离脂肪酸含量与显色程度呈线性关系。

**检测范围：1-60 $\mu$ mol/mL      灵敏度：1 $\mu$ mol/mL**

**注意事项：**

1. 不能使用过期产品，不同货号 and 批号组分不得混用。
2. 本试剂开封后请尽快使用，以免空气、采样污染引起试剂变质。
3. 实验中请穿着实验服并戴乳胶手套做好防护工作。
4. 如果可能传播疾病，所有的样品都应管理好，按照规定的程序处理样品和检测装置。
5. 试剂严格按保存条件保存，不同测试盒中的试剂不能混用。对于体积较少的试剂，使用前请先离心，以免量取不到足够量的试剂。试剂盒中如有提供粉剂，使用前请甩几下，使粉剂落入底部。

## 产品组成:

试剂名称	规格 (48T/20S)	规格 (96T/44S)	保存条件
提取液	40mL×1 瓶	80mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂一	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8°C保存
试剂二	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	2-8°C保存
标准品	2mL×1 瓶	2mL×1 瓶	2-8°C保存

## 所需仪器耗材及试剂:

离心机、酶标仪、可调式移液器、蒸馏水、振荡仪。

## 样本处理及要求:

- 试剂盒检测范围不等同于样本中待测物的浓度范围**，建议实验前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定，根据预实验的结果，结合本试剂盒的线性范围：1-60 $\mu$ mol/mL，如果样品中待测物浓度过高或过低，请对样本做适当的稀释或浓缩，样本的稀释液为提取液。
- 若所检样本不在说明书所列样本类型之中，建议做预实验验证其检测有效性。
- 血清（浆）等液体样本**：取澄清的液体 0.2mL，加 1.5mL 提取液，于振荡仪上震荡提取 3h，10000 g 室温离心 10min，取上清液待测。
- 组织样本**：称取 0.2g 至 (1.5-2mL) EP 管中，加入 1.5mL 的提取液进行匀浆，于振荡仪上震荡提取 3h，10000 g 室温离心 10min，取上清液待测。

咨询电话：400-0066-400

网址：[www.jonln.com](http://www.jonln.com)

5. **细菌/细胞样本**：收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；按照细菌/细胞数量 ( $10^4$ )：提取液 (mL) 为 500~1000：1 的比例(建议按照每 500 万细菌或细胞加入 1mL 提取液)，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)，10000 g，离心 10min，取上清待测。

### 检测前准备工作：

1. 请提前取出试剂盒，平衡至室温。
2. **标准品溶液的配制**：临用前取一瓶标准品( $100\mu\text{mol/mL}$ )，按下表用对应量的提取液稀释成以下浓度的标准品工作液： $0\mu\text{mol/mL}$ 、 $5\mu\text{mol/mL}$ 、 $10\mu\text{mol/mL}$ 、 $20\mu\text{mol/mL}$ 、 $30\mu\text{mol/mL}$ 、 $40\mu\text{mol/mL}$ 、 $50\mu\text{mol/mL}$ 。（注：配制目标浓度的标准品工作液时，每次请根据表格从标准品母液中取对应的体积与相应稀释液混合均匀后使用。）

编号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
标准品浓度 ( $\mu\text{mol/mL}$ )	0	5	10	20	30	40	50
$100\mu\text{mol/mL}$ 标准品 ( $\mu\text{L}$ )	0	50	100	200	300	400	500
提取液 ( $\mu\text{L}$ )	1000	950	900	800	700	600	500

也可根据实际样本来调整标准品浓度。按照标准孔加样体系操作，依据结果即可制作标准曲线；本说明书中的标曲是用提取液稀释得出，若选取其他稀释液可选择重做标曲。

## 操作步骤:

1. 酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 715nm。
2. 样本测定 (在 EP 管中依次加入) :

试剂名称 (μL)	标准管	测定管	对照管
不同浓度标准品	400		
样本		400	400
试剂一	200	200	
试剂二			200

充分震荡 5min, 室温静置 5min, 取上层 200μL 于 96 孔板中, 于 715nm 处读取各孔 OD 值。

## 实验结果结算:

1. **标准品拟合曲线:**  $y=ax+b$ 。

2. **按样本质量计算公式:**

3. 游离脂肪酸含量( $\mu\text{mol/g}$  质量) =  $(\Delta A - b) \div a \times V_{\text{样}} \div (W \times V_{\text{样}} \div V_{\text{提}}) \times N = (\Delta A - b) \div a \div W \times N \times V_{\text{提}}$

4. **按细胞数量计算公式:**

游离脂肪酸含量( $\mu\text{mol}/10^4$  cell) =  $(\Delta A - b) \div a \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \times 1000) \times N = (\Delta A - b) \div a \div 1000 \times N$

5. **按液体体积计算公式:**

游离脂肪酸含量( $\mu\text{mol/mL}$ ) =  $(\Delta A - b) \div a \times V_{\text{液}} \div V_{\text{液}} \times N = (\Delta A - b) \div a \times N$

**注:**

y: 标准孔 OD 值-空白孔 OD 值

$\Delta A$ : 测定孔 OD 值-对照孔 OD 值

(标准品浓度为 0 时的 OD 值)

W: 样本质量, g

x: 标准品的浓度

a: 标准曲线斜率

b: 标准曲线截距

N: 样本稀释倍数

$V_{\text{样}}$ : 加入样本体积, 0.4mL

$V_{\text{提}}$ : 加入提取液体积, 1.5mL

$V_{\text{液}}$ : 加入液体体积, 0.2mL

1000: 细胞或细菌的数量, 万

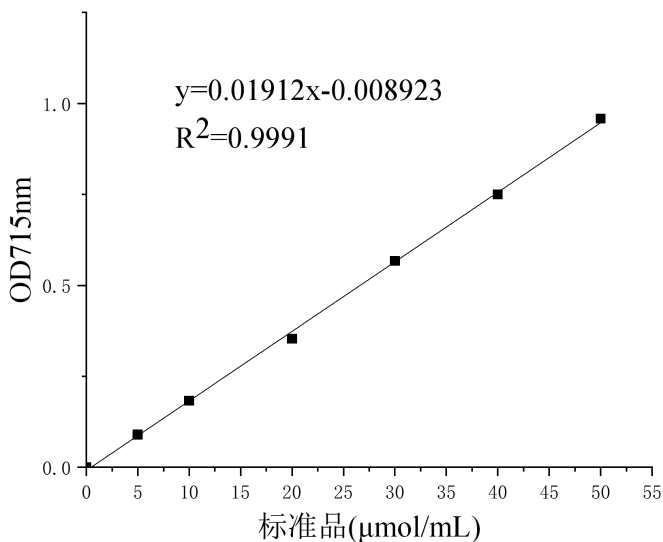
### 参考样本数据:

以下数据仅供参考:

样本类型	稀释倍数	参考值
大鼠心脏 (13.3%匀浆)	不稀释	6.974 $\mu$ mol/g
大鼠肝脏 (13.3%匀浆)	不稀释	11.016 $\mu$ mol/g
大鼠肾脏 (13.3%匀浆)	不稀释	4.308 $\mu$ mol/g

### 参考曲线:

$y=0.01912x-0.008923$ ,  $R^2=0.9991$ , x 是标准品浓度( $\mu$ mol/mL), y 是 $\Delta A$ 。



注意: 本图仅供参考, 应以每次实验数据所绘制标准曲线计算样本含量。

**咨询电话：400-0066-400**

**传 真：021-55660885**

**电子邮箱：shjls@163.com**

**网 址：www.jonln.com**