

## 游离脂肪酸（free fatty acid, FFA）含量测定试剂盒说明书

（货号：ADS-F-ZF001 分光法 24 样 有效期：6 个月）

### 一、指标介绍：

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。

### 二、试剂盒的组成和配制：

试剂组分	试剂规格	存放温度
提取液	液体 60mL×1 瓶	4°C避光保存
试剂一	液体 11mL×1 瓶	4°C避光保存
试剂二	液体 11mL×1 瓶	4°C避光保存

### 三、实验器材：

研钵（匀浆机）、冰盒（制冰机）、台式离心机、可调式移液枪、震荡仪、水浴锅（烘箱、培养箱、金属浴）、1ml 比色皿、离心管、分光光度计、蒸馏水（去离子水、超纯水均可）。

### 四、指标测定：

建议先选取 1-3 个差异大的样本（例如不同类型或分组）进行预实验，熟悉操作流程，根据预实验结果确定或调整样本浓度，以防造成样本或试剂不必要的浪费！

#### 1、样本提取：

##### ① 组织样本：

组织先用液氮粉碎后，称取 0.2g 粉末至（1.5-2mL）EP 管中，再加入 1mL 的提取液，于震荡仪上震荡提取 3h，8000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

##### 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 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）；8000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

【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。

##### ③ 液体样本：

取澄清的液体 0.1mL，加 1mL 提取液，于震荡仪上震荡提取 3h，8000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

#### 2、检测步骤：

① 可见分光光度计预热 30 min，调节波长到 715 nm，用蒸馏水调零。

② 先挑选 2 个样本做预测定，确定适合本批样本最适取样量。

③ 在 EP 管中依次加入：

试剂组分（ $\mu$ L）	测定管	对照管
上清液	700	700
试剂一	350	
试剂二		350
充分震荡 5min，室温静置 5min，取全部上层液体至 1mL 玻璃比色皿中，于 715nm 处读取吸光值 A， $\Delta A=A$ 测定-A 对照（每个样本需做一个自身对照）。		

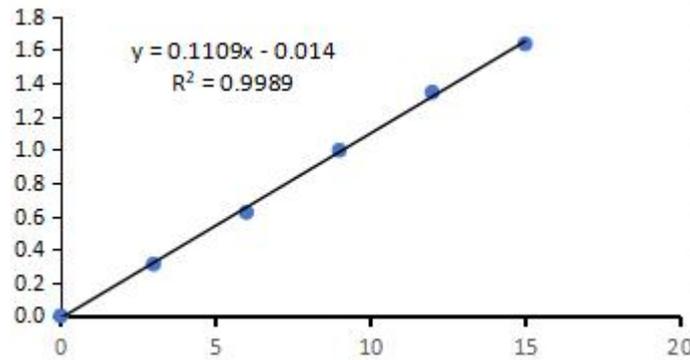
【注】1. 若  $\Delta A$  在零附近徘徊，可增加样本取样量（至 0.3g），则改变后的样本质量 W 需代入计算公式重新

计算。

- 若 A 测定管大于 1，则降低样本取样量（至 0.1g），或上清液用提取液稀释，则稀释倍数 D 代入计算公式重新计算。

## 五、结果计算：

- 标准曲线方程： $y = 0.1109x - 0.014$ ，x 是标准品浓度（ $\mu\text{mol/mL}$ ），y 是  $\Delta A$ 。



- 按样本质量计算：

$$\text{FFA}(\mu\text{mol/g 鲜重}) = [(\Delta A + 0.014) \div 0.1109 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D$$

$$= 9.02 \times (\Delta A + 0.014) \div W \times D$$

- 按蛋白浓度计算：

$$\text{FFA}(\mu\text{mol/mg prot}) = [(\Delta A + 0.014) \div 0.1109 \times V1] \div (V1 \div V \times Cpr) \times D$$

$$= 9.02 \times (\Delta A + 0.014) \div Cpr \times D$$

- 按细胞数量计算：

$$\text{FFA}(\mu\text{mol}/10^4 \text{ cell}) = [(\Delta A + 0.014) \div 0.1109 \times V1] \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 9.02 \times (\Delta A + 0.014) \div 500 \times D$$

- 按液体体积计算：

$$\text{FFA}(\mu\text{mol/mL}) = [(\Delta A + 0.014) \div 0.1109 \times (V2 + V)] \div V2 \times D$$

$$= 99.19 \times (\Delta A + 0.014) \times D$$

V---提取液体积，1mL；

V1---加入样本体积，0.7mL；

V2---加入液体体积，0.1 mL；

W---样品质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

Cpr---上清液蛋白浓度，mg/mL，建议使用本公司的 BCA 蛋白含量检测试剂盒