游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒说明书（铜皂法）

规格：96 样　　方法：酶标仪法

一、注意事项

1. 使用前请通读一遍说明书再开始实验。

正式检测前选取 2~3 个样本进行预检测，确定适合本批样本最适取样量

2. 本试剂盒仅用于科研。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
提取液	80 mL×2	4℃	
试剂一	21 mL×1	4℃	
试剂二	21 mL×1	4℃	

三、仪器和用品

酶标仪、96 孔板、移液器、天平、可降温离心机、超纯水/蒸馏水、研磨仪/研钵、冰、水浴锅。

四、样品制备

1. 组织：先用液氮粉碎后，称取 0.2 g 至（1.5-2 mL）离心管中，再加入 1.5 mL 的提取液，于震荡仪上震荡提取 3 h，8000 g，常温离心 10 min，上清为待测液。

2. 细菌/细胞：提取液体积（mL）为 500~1000：1.5 的比例（建议 500 万细菌/细胞加入 1.5 mL 提取液），冰浴超声波破碎细菌/细胞（功率 200w，超声 3 秒，间隔 10 s，重复 30 次）；然后 8000 g，常温离心 10 min，上清为待测液。

3. 液体样本：取澄清的液体 0.2 mL，加 1.5 mL 提取液，于震荡仪上震荡提取 3 h，8000 g 室温离心 10 min，上清液为待测液。

五、测定步骤

1. 酶标仪预热 30 min 以上，波长调至 715 nm 处。

2. 在 1.5 mL 离心管中依次加入

	测定管	对照管
上清液（μL）	400	400
试剂一（μL）	200	-

试剂二（μL）	-	200
充分震荡 5 min，室温静置 5 min，取上层 200 μL 于 96 孔板中，于 715 nm 处读取吸光值 A，ΔA=A 测定-A 对照，每个测定管需设置一个对照管。		

六、计算

标准方程

标准条件下测定的回归方程为 y =0.0607x-0.0087，R^2=0.9996；x 为标准品浓度（μmol/mL），y 为吸光值ΔA。

1. 按样本重量计算

游离脂肪酸含量（μmol/g 鲜重）=[（ΔA+0.0087）÷0.0607×V1]÷（V1÷V×W）×D=24.71×（ΔA+0.0087）÷W×D

2. 按样本体积计算

游离脂肪酸含量（μmol/mL）=[（ΔA+0.0087）÷0.0607×（V2+V）]÷V2×D =140.03×（ΔA+0.0087）×D

3. 按细菌/细胞数量计算

游离脂肪酸含量（μmol/10^4 cell）=[（ΔA+0.0087）÷0.0607×V1]÷（N×V1÷V）×D=24.71×（ΔA+0.0087）÷N×D

V：加入提取液体积，1.5 mL；V1：加入反应体系中样本体积，0.4 mL；V2：加入液体体积，0.2 mL；W：样本质量，g；N：细菌/细胞总数，万个；D：稀释倍数，未稀释即为 1。

七、产品简介

游离脂肪酸是生物体内脂质代谢产生的非酯化脂肪酸。主要功能是作为生物能量代谢的重要底物，参与脂肪酸β-氧化供能及膜脂合成， 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。