

## Free Aliphatic Acid Assay Kit

### 游离脂肪酸(FFA)含量测定试剂盒(酶法) 分光法

| 产品编号    | 产品名称                      | 规格  |
|---------|---------------------------|-----|
| BL1840A | 游离脂肪酸(FFA)含量测定试剂盒(酶法) 分光法 | 24T |

#### 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。

#### 产品组成:

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

#### 使用方法:

##### 一、样本准备

##### 1. 组织样本:

- 取约 0.1g 组织样本，加 1mL 生理盐水研磨，粗提液全部转移到离心管中；
- 8000rpm，常温离心 10min，取上清液待测。

【注】若组织样本为高脂样本或部分为高脂样本，需用无水乙醇进行提取。

##### 2. 细胞/细菌样本:

- 先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清；
- 取  $5 \times 10^6$  个细菌或细胞加入 1mL 生理盐水，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，取上清液待测。。

【注】：若增加样本量，按照每  $0.5 \sim 1 \times 10^7$  个细菌/细胞加入 1mL 提取液进行提取。

##### 3. 液体样本:

澄清的液体样本直接检测，若浑浊则离心后再取上清液检测。

##### 二、样品测定

- 可见分光光度计预热 30 min，设置温度在 37℃，设定波长到 546nm。
- 所有试剂恢复至室温。
- 在 1mL 玻璃比色皿（光径 1cm）中依次加入：

| 试剂名称<br>( $\mu$ L) | 测定管 | 空白管<br>(仅做一次) | 标准管<br>(仅做一次) |
|--------------------|-----|---------------|---------------|
| 样本                 | 20  | -             | -             |
| 蒸馏水                | 200 | 220           | 200           |
| 标准品                | -   | -             | 20            |
| 试剂一                | 400 | 400           | 400           |

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.  
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



|                                                            |     |     |     |
|------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|
| 混匀，37°C孵育 5min，于 546nm 处读取吸光值 A1。                          |     |     |     |
| 试剂二                                                        | 100 | 100 | 100 |
| 混匀，37°C孵育 10min 后于 546nm 处读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。 |     |     |     |

【注】1.若 $\Delta A$  值大于 0.8，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 $\Delta A$  值小于 0.005，可增加样本加样体积 V1（如由 20 $\mu$ L 增至 40 $\mu$ L，空白管也由 220 $\mu$ L 增至 240 $\mu$ L 蒸馏水，标准管是 20 $\mu$ L 标准品和 220 $\mu$ L 的蒸馏水；其他试剂均保持不变），则改变后的 V1 代入公式重新计算。

### 三、结果计算

#### 1. 按照质量计算：

$$\text{游离脂肪酸(NEFA)}(\mu\text{mol/g}) = (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (V1 \div V \times W) \times D$$

$$= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div W \times D$$

#### 2. 按照细菌/细胞数量计算：

$$\text{游离脂肪酸(NEFA)}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) = (C_{\text{标准}} \times V1) \times 10^3 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (500 \times V1 \div V) \times D$$

$$= 2 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空白}}) \times D$$

#### 3. 按照液体样本计算：

$$\text{游离脂肪酸(NEFA)}(\text{mmol/L}) = (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div V1 \times D$$

$$= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times D$$

V---加入提取液体积，1mL

W---样本质量，g

500---细菌/细胞数量，万

D---稀释倍数，未稀释即为 1

V1---加入样本体积，0.02mL

V2---加入标准品体积，0.02mL

C 标准---标品浓度，1mmol/L=1 $\mu$ mol/mL

### 注意事项：

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 有效期：

4°C保存六个月。

