



游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒

版本号：V1.1-202206

一、产品规格

产品组成	组分名称	BLGE297-100T
自备溶液	FFA 试剂一	50 mL×1 瓶
BLGE297-1	FFA 提取液	100 mL×1 瓶
BLGE297-2	FFA 试剂二	20 mL×1 瓶
BLGE297-3	FFA 试剂三	粉剂×2 瓶
BLGE297-4	FFA 标准品	粉剂×1 支
说明书		1 份

二、产品情况

游离脂肪酸，也称为非酯化脂肪酸，在与白蛋白结合的血浆中循环。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，游离脂肪酸的浓度会因为糖尿病、重症肝障碍、甲状腺功能亢进等疾病而上升。

用有机溶剂萃取 FFA，含有 FFA 的有机液与三乙醇胺铜反应，在有机相中形成脂肪酸铜（铜皂）FFA - Cu，Cu 离子与显色液反应形成紫红色络合物，反应形成的颜色深浅与 Cu 离子浓度的关系符合朗伯—比尔定律，因此可利用此反应进行比色。

检出限：0.0390 $\mu\text{mol/mL}$

线性范围：0.05 - 2 $\mu\text{mol/mL}$

三、储存运输

试剂盒在 2 - 8 $^{\circ}\text{C}$ 干燥室温条件下，可保存 6 个月；

冰袋运输。

四、注意事项

- （一）使用前请核对试剂体积与瓶内体积是否一致，有疑问请及时联系技术支持；
- （二）实验前建议选择 2 - 3 个预期差异大的样本做预实验。如果样本吸光值不在测量范围内建议稀释或者增加样本量进行检测；
- （三）试剂三应尽量晚配，可在操作到加入试剂二时，再配制试剂三；
- （四）必须保证每管的震荡频率及时间一致；
- （五）尽量在 30 min 内完成测量；
- （六）上层溶液不可直接加入到 96 孔板内，需与试剂三混匀，并且测完后要密封好再丢弃；
- （七）检测试剂多数为有机溶剂，因此同一吸头多次吸取会造成体积不准，建议及时更换吸头。



五、实验流程

(一) 自备仪器和用品

50 mL 玻璃瓶 1 个、10 mL 玻璃瓶 1 个、正庚烷、无水甲醇、氯仿、无水乙醇、蒸馏水、研钵/匀浆器、冰盒、台式离心机、可调式移液枪、可见分光光度计/酶标仪、微量玻璃比色皿/96 孔板。

(二) 实验前准备

试剂一：实验前一天配制；取 50 mL 带盖玻璃瓶 1 个，按照正庚烷：无水甲醇：氯仿=24:1:25 的比例配置（自备），盖紧后混匀；

试剂三：临用前（尽量晚配）每瓶加入 13 mL 无水乙醇充分溶解，4℃可保存一周；

标准品：临用前将粉末转移到 10 mL 玻璃瓶中，加入 7.8 mL 氯仿充分溶解，即为 5 $\mu\text{mol/mL}$ 的棕榈酸标准溶液，4℃保存。

(三) 样本处理（可适当调整待测样本量）

1. 血清中 FFA 测定：将所取血液，室温静置 1 h 后，于 4℃离心机 3500 rpm 离心 15 min，取上层血清置于 4℃冰箱保存，待测；

2. 组织中 FFA 含量测定：组织用生理盐水冲洗干净后，用吸水纸吸取表面水分，称取约 0.1 g，加入 1 mL 提取液，匀浆后，8000 rpm，4℃离心 10 min，取上清液，置冰盒上待测。

(四) 操作步骤（尽量在 30 min 内完成测量）

1. 分光光度计/酶标仪预热 30 min 以上，调节波长到 550 nm，无水乙醇调零；
2. 试剂二在 37℃水浴中预热 30 min 以上；
3. 标准品的稀释：将标准品用氯仿稀释成 1、0.8、0.6、0.4、0.2、0.1、0.05 $\mu\text{mol/mL}$ ；
4. 按下表在 1.5mL 离心管中加入相应试剂；

对照管	对照管	测定管	空白管	标准管
蒸馏水 (μL)	30			
样本 (μL)		30		
氯仿 (μL)			30	
标准品 (μL)				30
试剂一 (μL)	300	300	300	300
试剂二 (μL)	120	120	120	120
充分振荡 10min 后，3000rpm，离心 10min（保证每管的震荡频率及时间一致）				
上层溶液 (μL)	50	50	50	50
试剂三 (μL)	200	200	200	200
充分振荡 2 min 后，静置 15 min，取 200 μL 于微量玻璃比色皿/96 孔板中，在 550 nm 下测吸光值，分别记为 A 对照管、A 测定管、A 空白管、A 标准管。（对照管和空白管各只做 1-2 管）				



（五）FFA 含量计算

1. 标准曲线的绘制：

以标准溶液的浓度为 x 轴，以 ΔA 标准（ $\Delta A = A$ 标准管 - A 空白管）为 y 轴，绘制标准曲线，得到方程 $y = kx + b$ 。将 ΔA （ $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管）带入方程得到 x。

2. 血清 FFA 含量：

FFA 含量（ $\mu\text{mol/L}$ ）= $1000x$

3. 组织 FFA 含量：

(1) 按样本蛋白浓度计算

FFA 含量（ $\mu\text{mol/mg prot}$ ）= $x \times V_{\text{样总}} \div (C_{\text{pr}} \times V_{\text{样总}}) = x \div C_{\text{pr}}$

(2) 按样本质量计算

FFA 含量（ $\mu\text{mol/g 质量}$ ）= $x \times V_{\text{样总}} \div W$

V 样总：上清总体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样本质量，g；1000：单位换算系数，1L=1000mL。

六、实验实例

1. 取小鼠血清进行样本处理，按照操作步骤，使用 96 孔板测得 A 对照管=0.108、A 测定管=0.310、 $\Delta A = A$ 测定管 - A 对照管 = 0.310 - 0.108 = 0.202，代入标准曲线 $y = 0.6679x + 0.019$ ，计算 $x = 0.274$ ，按血清含量计算：FFA 含量（ $\mu\text{mol/L}$ ）= $1000x = 1000 \times 0.274 = 274 \mu\text{mol/L}$ 。

本产品仅供科研使用，不得用于临床诊断！