

游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒说明书

产品货号	产品名称	包装规格	测定方法
PYHD9-C-M48	游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒 说明书	48T	微量法
PYHD9-C-M96		96T	

一、测定意义：

游离脂肪酸（Free Fatty Acids, FFA）是油脂或含脂样品中未与甘油结合的脂肪酸单体，FFA含量升高是油脂水解酸败的早期标志，直接影响食品风味和保质期。血液中FFA水平异常与糖尿病、肥胖、心血管疾病等密切相关。FFA含量是评价油脂品质、代谢状态及工业应用的重要指标。

二、测定原理：

游离脂肪酸（RCOOH）在弱碱性环境中与铜离子（ Cu^{2+} ）反应，生成不溶于水的铜皂沉淀（ RCOO ）₂Cu，铜皂沉淀生成后，通过分离沉淀并测定其中铜的含量，间接推算出样品中游离脂肪酸的含量。

三、试剂组成：

试剂名称	试剂装量(48T)	试剂装量(96T)	保存条件
提取液	液体 75mL×1 瓶	液体 75mL×2 瓶	室温保存
试剂一	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
试剂二	液体 15mL×1 瓶	液体 30mL×1 瓶	2-8℃保存
标准品 10mg/mL	液体 1mL×1 支	液体 1mL×2 支	2-8℃保存

四、操作步骤：

样本前处理

取一定量植物组织擦净水分及杂质，剪碎后放入研钵，加入液氮，研磨成粉状后转移出来，然后准确称重，按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1g 组织，加入 1mL 提取液），旋涡混匀抽提3-5分钟或者使用组织破碎仪冰浴提取，8000g，4℃离心 10min，取上清，置冰上待测。

测定步骤

1. 酶标仪预热 30min 以上，调节波长至715nm。
2. 测定前将试剂恢复至常温；
3. 将10mg/mL标准品用提取液依次稀释至0、0.2、0.4、0.6、0.8、1、2mg/mL，备用；
4. 操作表（在96孔板中加入以下试剂）：

	空白管	标准管	测定管	对照管
--	-----	-----	-----	-----

样品 (μL)	-	-	500	500
提取液 (μL)	500	-	-	-
不同浓度标准品 (μL)	-	500	-	-
试剂一 (μL)	-	-	-	250
试剂二 (μL)	250	250	250	250
充分震荡 5 分钟后, 室温静置 5 分钟, 显色稳定后取测定管中上层液于 715nm 读数。测定 715nm 处吸光值, 别记为 A _{空白} 、A _{标准} 、A _{测定} 、A _{对照} 。ΔA _{标准} = A _{标准} - A _{空白} , ΔA = A _{测定} - A _{对照} 。(空白管只做 1-2 管)				

四、游离脂肪酸 (FFA) 含量计算:

1、标准曲线绘制: 以 ΔA_{标准} 为横坐标, 标准品浓度为纵坐标, 绘制标准曲线。根据标准曲线, 将 ΔA 带入公式计算出样本浓度 (y, mg/mL);

2、液体样本游离脂肪酸 (FFA) 计算

$$\text{FFA (mg/mL)} = y$$

3、组织、细胞样本柠檬酸含量计算

(1) 按样本鲜重计算:

$$\text{FFA (mg/g 质量)} = y \div (V_{\text{样总}} \div W) = y \times W$$

(2) 按样本蛋白浓度计算:

$$\text{FFA (mg/mg prot)} = y \div \text{Cpr} = y \times \text{Cpr}$$

(3) 按细菌或细胞数量计算:

$$\text{FFA (mg/10}^4 \text{ cell)} = y \div (V_{\text{样总}} \div N) = y \times N$$

V_{样总}: 加入提取液体积, 1 mL;

Cpr: 样本蛋白质浓度, mg/mL;

W: 样本质量, g;

N: 细菌或细胞总数, 以万计。

五、 注意事项:

1、实验之前建议选择 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;