

CheKine™ 游离脂肪酸(FFA)含量检测试剂盒（微量法）

货号: KTB2230

规格: 48 T/48 S

96 T/96 S

批号: 见产品标签

	检测范围: 0.0313-2 $\mu\text{mol/mL}$		灵敏度: 0.0156 $\mu\text{mol/mL}$
	适用样本: 血清（浆）、动植物组织、细胞、细菌		
	保质期: 4℃, 避光保存 12 个月		

01 背景与原理

游离脂肪酸(Free Fatty Acid, FFA), 也称为非酯化脂肪酸, 既是脂肪水解的产物, 又是脂肪合成的底物, 在与白蛋白结合的血浆中循环。血清中 FFA 的浓度与脂类代谢、糖代谢、内分泌功能有关, FFA 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。

本试剂盒检测原理是 FFA 与铜离子结合形成脂肪酸铜盐, 并溶于氯仿; 利用铜试剂法测定铜离子含量, 即可推算出游离脂肪酸含量。

02 包装清单

试剂盒组分	规格		储存要求
	48 T	96 T	
Cu Reagent	6 mL	12 mL	4℃, 避光保存
Chromogen	15 mL	30 mL	4℃, 避光保存
Standard (16.41 mg Palmitic Acid)	Powder×2 vials	Powder×4 vials	4℃, 避光保存

*请在实验前检查各组分的量。

*各组分在规格基础上额外提供 10%的量用于进行标准曲线制作或预实验。

03 自备仪器与试剂

自备资源类型	资源名称	备注
仪器	酶标仪	能测 550 nm 处的吸光度
耗材	96 孔酶标板	普通透明板
试剂	正庚烷、无水甲醇、氯仿（三氯甲烷）/PBS	试剂配制用/样本清洗用
其他	匀浆器（组织样本）、低温离心机、恒温箱、制冰机、 玻璃瓶（配制提取液）、可调节式移液枪及枪头	检测量较大时合理使用多通道移液器有 助于提高实验效率

04 注意事项

- 正式检测前，建议选择 2-3 个预期差异较大的样本进行预实验。
- 建议实验者自行建立标准曲线以提高结果准确度。如未自行建立标准曲线，可参考结果展示部分的典型标准曲线公式进行结果计算。
- 生化检测试剂普遍具有刺激性、生物毒性等，为了您的安全和健康，请在实验全程做好生物安全防护，穿戴实验服、口罩、手套、头套等安全护具，在通风橱、生物安全柜中进行实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不适用于临床诊断。

05 实验流程

05-1 试剂准备

05-1-1 试剂准备

试剂名称	试剂准备	注意事项
Extraction Buffer（自备）	取一个玻璃瓶，按照氯仿:正庚烷:无水甲醇=28:21:1 的比例 配制，盖紧后混匀	4℃避光保存
Cu Reagent	即用型；使用前平衡到室温	混匀后使用，4℃避光保存
Chromogen	即用型；使用前平衡到室温	4℃避光保存
64 μmol/mL Standard	临用前配制，加 1 mL Extraction Buffer，充分溶解得到 64 μmol/mL Standard	未用完的试剂可装于玻璃瓶中盖紧密 封，4℃避光保存 1 个月

05-1-2 标准品配制

按照下表所示，将 64 $\mu\text{mol/mL}$ Standard 用 Extraction Buffer 进一步稀释成标准品。每次实验都要做一次标准品检测，制作标曲；稀释后的标准品溶液不稳定，必须在 4 小时内使用。

序号	标准品体积 (μL)	Extraction Buffer 体积 (μL)	标准品浓度 ($\mu\text{mol/mL}$)
1	20 μL of 64 $\mu\text{mol/mL}$	620	2
2	100 μL of 2 $\mu\text{mol/mL}$	100	1
3	100 μL of 1 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.5
4	100 μL of 0.5 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.25
5	100 μL of 0.25 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.125
6	100 μL of 0.125 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.0625
7	100 μL of 0.0625 $\mu\text{mol/mL}$	100	0.0313
空白	0	200	0

05-2 样本制备

注意：样本以新鲜为宜，若不能立刻检测，样本可在 -80°C 保存 6 个月。测定时，应控制解冻的温度和时间。室温环境下解冻时，需在 4 h 内完成样品解冻。

- **动物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴匀浆，8000 rpm， 4°C 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **植物组织**：称取约 0.1 g 样本，加入 1 mL Extraction Buffer 捣碎，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 rpm， 4°C 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **细胞或细菌**：收集 5×10^6 个细胞或细菌，用预冷的 PBS 清洗细胞，800 g 离心 2 min，弃上清。加入 1 mL Extraction Buffer，冰浴超声波破碎 5 min（功率 20% 或 200 W，超声 3 s，间隔 7 s，重复 30 次），8000 rpm， 4°C 离心 10 min，取上清液，置冰上待测。
- **血清（浆）等液体样本**：直接测定。

05-3 实验步骤

1. 酶标仪准备：预热 30 min 以上，调节波长到 550 nm。
2. 检测体系配制：空白管和标准管只需做 1 管。在 1.5 mL EP 管中按照如下方式操作：

试剂	空白管 (μL)	标准管 (μL)	测定管 (μL)
Extraction Buffer	240	200	200
Standard	0	40	0
样本	0	0	40
混匀后盖紧瓶盖，置于涡旋混合器上中速涡旋 30 s			
Cu Reagent	80	80	80
混匀后盖紧瓶盖，置于涡旋混合器上中速涡旋 30 s，室温 (25°C) 放置 20 min；2000 g，室温 (25°C) 离心 5 min			
上层溶液	50	50	50
Chromogen	200	200	200

3. 吸光度检测：室温（25℃）放置 5 min。每管取出 200 μL 加入 96 孔板中，测定 550 nm 处吸光值，分别记为 $A_{\text{测}}$ 、 $A_{\text{空}}$ 与 $A_{\text{标}}$ 。显色后务必在 30 min 内测完。

06 结果计算

06-1 自动计算

为帮助您更轻松、准确地完成相关计算，我们特在官网提供了“在线计算器小工具”。您无需手动计算，只需在网页上输入数值，即可快速获得可靠结果。访问方式：请扫描右侧二维码或访问官网[\[https://www.abbkine.cn\]](https://www.abbkine.cn) > 进入“技术中心”> 查找“在线计算器”工具。



06-2 手动计算

以下为您提供的推导过程计算公式和简洁计算公式，两者完全相等。

1. 数据处理

计算 $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{空}}$ ， $\Delta A_{\text{标}} = A_{\text{标}} - A_{\text{空}}$

2. 标准曲线绘制

以标准溶液浓度为 y 轴， $\Delta A_{\text{标}}$ 为 x 轴，绘制标准曲线，得到标准方程，将 $\Delta A_{\text{测}}$ 带入方程得到 y (μmol/mL)。

3. 样本 FFA 计算

- 按样本质量计算：

$$\text{FFA } (\mu\text{mol/g}) = y \times V_{\text{提取}} \div W \times n = y \div W \times n$$

- 按照细胞数量计算

$$\text{FFA } (\mu\text{mol}/10^4) = y \div (N \div V_{\text{提取}}) \times n = y \div N \times n$$

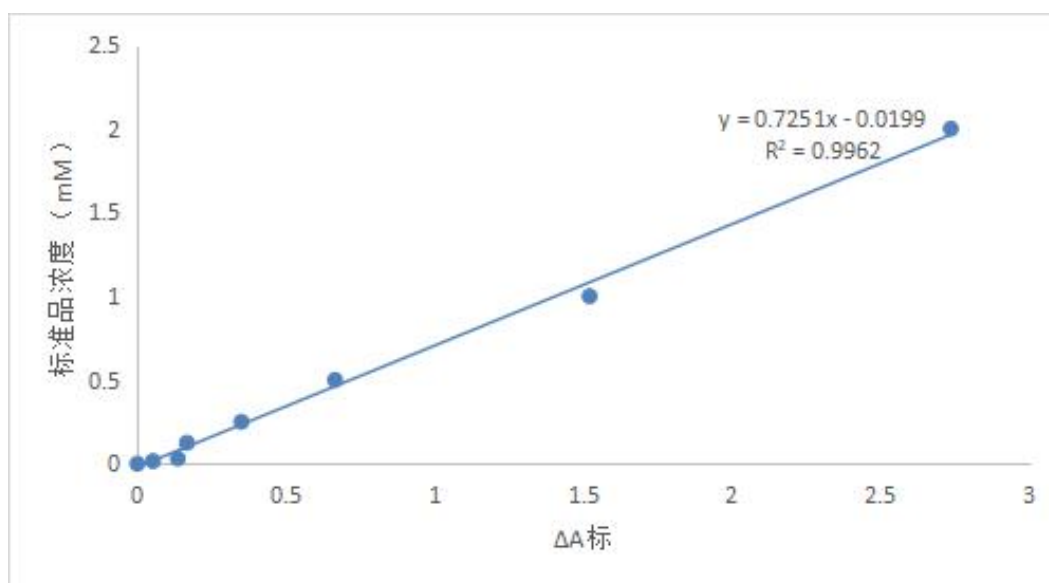
- 按样本体积计算：

$$\text{FFA } (\mu\text{mol/L}) = 1000 \times y \times n$$

$V_{\text{提取}}$ ：加入提取液体积，1 mL；W：样本质量，g；n：稀释倍数；N：细胞数量，以 10^4 为单位（例如细胞数量为 5×10^6 ， $N=500$ ）；1000：单位换算系数，1 L=1000 mL。

07 结果展示

典型标准曲线： $y=0.7251x-0.0199$ ， $R^2=0.9962$



示例-1：取 0.1 g 小鼠肝，按照测定步骤操作，用 96 孔板进行检测。测得： $\Delta A_{\text{测}} = A_{\text{测}} - A_{\text{空}} = 0.616 - 0.245 = 0.371$ ，代入标准曲线，计算 $y=0.249$ 。按样本质量计算得： $\text{FFA } (\mu\text{mol/g}) = y \div W \times n = 2.49 \mu\text{mol/g}$ 。

08 FAQ

● 检测得到的样本 $\Delta A_{测}$ 过高怎么办？

如果 $\Delta A_{测}$ 大于酶标仪检测范围，样本可用 Extraction Buffer 进一步稀释，计算结果乘以稀释倍数。

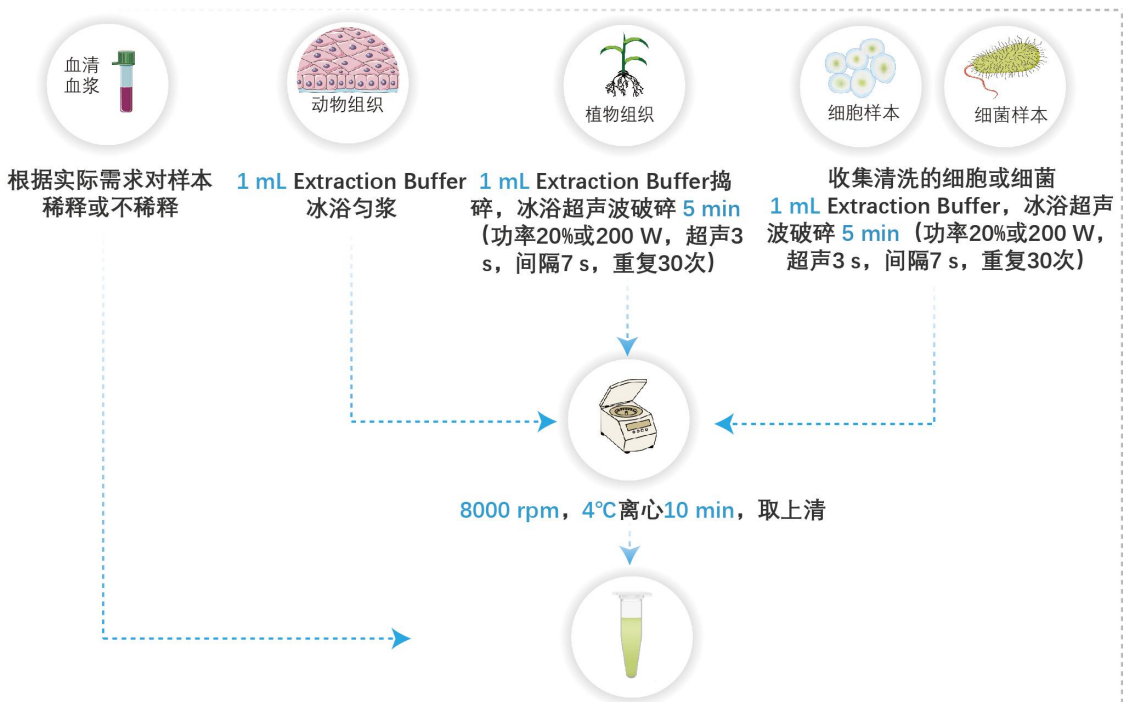
09 相关产品

货号	试剂盒名称
KTB2200	CheKine™ 甘油三酯（TG）检测试剂盒（微量法）
KTB2210	CheKine™ 游离胆固醇（FC）检测试剂盒（微量法）
KTB2220	CheKine™ 总胆固醇（TC）检测试剂盒（微量法）

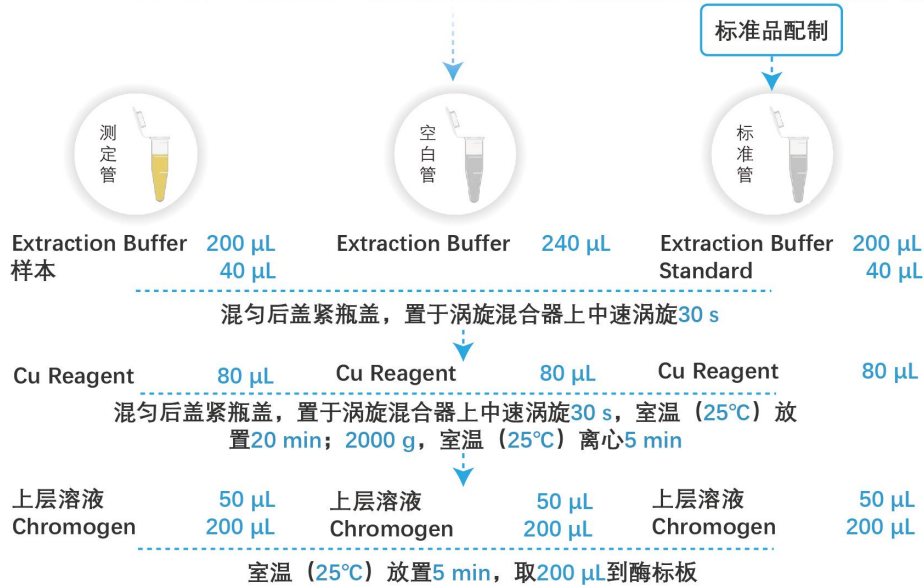
CheKine™ 游离脂肪酸（FFA）含量检测流程示意图

(Abbkinne 货号：KTB2230)

样本处理



体系配置



数据检测

