游离脂肪酸（FFA）含量检测试剂盒说明书（铜皂法）-测植物组织

规格：48 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。
2. 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
3. 本试剂盒仅用于科研。
4. 蛋白含量不可用本试剂盒提取的上清液直接测定。

二、产品组分

试剂名称	试剂规格	保存条件	备注
试剂一	55 mL×1	4℃	
试剂二	11 mL×1	4℃	
试剂三	11 mL×1	4℃	
标准品	1 mL×1	4℃	浓度为 5 mmol/L。，若重新做标曲则用到该试剂，标准系列溶液按照与待测样本相同的操作步骤同步测定。

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

组织用蒸馏水/超纯水冲洗干净后，用吸水纸吸取表面水分，捣碎后按照组织质量（g）：试剂一体积（mL）为 1：5~10 的比例（建议称取约 0.1 g 组织，加入 1 mL 试剂一）加入试剂一，震荡提取 3 h，8000 g，4℃离心 10 min，上清为待测液。

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

试剂二（μL）	-	200

试剂三（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 =0.0038x+0.0055，R^2=0.994；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-0.0055）÷0.0038×V1÷（V1÷V2×W）=263×（Δ-0.0055）÷W

2. 按样本蛋白浓度计算（需另测蛋白浓度）

游离脂肪酸含量（μmol/mg prot）=（A-0.0055）÷0.0038×V1÷（V1×Cpr）=263×（A-0.0055）÷Cpr

V1：加入样本体积，0.4 mL；V2：提取液体积，1 mL；Cpr：样本蛋白质浓度，mg/mL；W：样品质量，g。

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。