

游离脂肪酸（FFA）含量试剂盒（测植物组织）

微量法100T/48S

注意：正式测定之前选择2-3个预期差异大的样本做预测定。

测定意义：

FFA既是脂肪水解的产物，又是脂肪合成的底物。FFA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。

测定原理：

在弱酸性条件下，FFA与铜盐反应生成铜皂，在715nm处有特征吸收峰，在一定范围内游离脂肪酸含量与显色程度呈线性关系。

自备仪器和样品：

研钵、台式离心机、震荡仪、可见分光光度计/酶标仪、微量石英比色皿/96孔板。

试剂组成和配制：

试剂一：液体100mL×1瓶，4°C保存。

试剂二：液体20mL×1瓶，4°C保存。

试剂三：液体20mL×1瓶，4°C保存。

样品中FFA提取：

组织用蒸馏水冲洗干净后，用吸水纸吸取表面水分，捣碎后按照组织质量（g）：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试剂一）加入试剂一，震荡提取3h，8000g，4°C离心10min，取上清液待测。

测定操作：

1. 分光光度计/酶标仪预热30 min，调节波长到715 nm。
2. 对照管：取上清液0.4mL，加0.2mL试剂二，充分震荡5min，室温静置5min，取上层200μL于微量石英比色皿/96孔板，调零。
3. 测定管：取上清液0.4mL，加0.2mL试剂三，充分震荡5min，室温静置5min，取上层200μL于微量石英比色皿/96孔板，测定吸光值，记为A。

FFA含量计算：

a. 使用微量石英比色皿测定的计算公式如下

标准曲线： $y=0.0075x+0.0055$ ， $R^2=0.994$

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{FFA (nmol/mg prot)} = (A-0.0055) \div 0.0075 \times V1 \div (V1 \times \text{Cpr}) = 133 \times (A-0.0055) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{FFA (nmol/g 鲜重)} = (A-0.0055) \div 0.0075 \times V1 \div (V1 \div V2 \times W) = 133 \times (A-0.0055) \div W$$

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

b. 使用96孔板测定的计算公式如下

游离脂肪酸（FFA）含量试剂盒（测植物组织）标准曲线： $y=0.0038x+0.0055$ ， $R^2=0.994$

(1) 按样本蛋白浓度计算

$$\text{FFA (nmol/mg prot)} = (A-0.0055) \div 0.0038 \times V1 \div (V1 \times \text{Cpr}) = 266 \times (A-0.0055) \div \text{Cpr}$$

(2) 按样本质量计算

$$\text{FFA (nmol/g 鲜重)} = (A-0.0055) \div 0.0038 \times V1 \div (V1 \div V2 \times W) = 266 \times (A-0.0055) \div W$$

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

注意事项:

1. 蛋白含量不可直接用提取的上清液直接测定, 可用蒸馏水或缓冲液或生理盐水选用本公司的BCA法蛋白含量测定试剂盒。
2. 最低检出限为2 nmol/mL。