

Non-Esterified Fatty Acid (NEFA) Content Assay Kit

游离脂肪酸(NEFA)(酶法)含量测定试剂盒说明书

货号:BN72681| 方法: 可见分光法 | 规格: 24 样

一、产品简介:

游离脂肪酸又称非酯化脂肪酸(Nonesterified fatty acid NEFA)。其是由油酸，软脂酸，亚油酸等组成。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。也可反映食物贮藏中的品质变化。

游离脂肪酸和辅酶 A 在乙酰辅酶 A 合成酶 (ACS) 的作用下反应生成乙酰辅酶 A，乙酰辅酶 A 在乙酰辅酶 A 氧化酶的作用下生成 H_2O_2 ，随后通过 Trinder 底物在过氧化物酶 (POD) 的作用下生成有色产物。通过测定该有色产物在 546nm 处的值即可得出样本中游离脂肪酸的含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
试剂一	液体 10mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	液体 2.5mL×1 瓶	4℃保存	
标准管	液体 0.2mL×1 支	4℃保存	浓度为1mmol/L。

三、所需仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、可调式移液器、离心机、蒸馏水。

四、游离脂肪酸(NEFA)含量检测:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备:

① 组织样本:

取约 0.1g 组织样本，加 1mL 生理盐水研磨，粗提液全部转移到 EP 管中，8000rpm，常温离心 10min，取上清液待测。

【注】: 若组织样本为高脂样本或部分为高脂样本，需用无水乙醇进行提取。

② 液体样品: 澄清的液体可直接检测; 若浑浊则离心后取上清液检测。

③ 细菌/细胞样本:

先收集细菌或细胞到离心管内，离心后弃上清; 取约 500 万细菌或细胞加入 1mL 生理盐水研磨，超声波破碎细菌或细胞 (冰浴，功率 200W，超声 3s，间隔 10s，重复 30 次); 8000rpm 常温离心 10min，取上清待测。

【注】: 若增加样本量，可按照细菌/细胞数量 (10^4): 提取液 (mL) 为 500~1000: 1 的比例进行提取。

2、上机检测:

① 分光光度计预热 30min，设置温度在 37℃，设定波长到 546nm。

② 所有试剂解冻至室温，在 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中依次加入:

试剂名称 (μL)	测定管	空白管 (仅做一次)	标准管 (仅做一次)
样本	20		
蒸馏水	200	220	200

标准品			20
试剂一	400	400	400
混匀，37℃孵育 5min，于 546nm 处读取吸光值 A1。			
试剂二	100	100	100
混匀，37℃孵育 10min 后于 546nm 处读取吸光值 A2， $\Delta A = A2 - A1$ 。			

注意：本操作流程适用于绝大多数常规样本检测，实验条件可根据实际样本状态适度微调；
针对特殊类型样本，我司技术支持可提供专属优化建议。

五、结果计算：

1、按照质量计算：

$$\begin{aligned} \text{游离脂肪酸(NEFA)}(\mu\text{mol/g}) &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div W \times D \end{aligned}$$

2、按照体积计算：

$$\begin{aligned} \text{游离脂肪酸(NEFA)}(\text{mmol/L}) &= (C_{\text{标准}} \times V2) \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \div V1 \times D \\ &= (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times D \end{aligned}$$

3、按细胞数量计算：

$$\begin{aligned} \text{游离脂肪酸(NEFA)}(\text{nmol}/10^4 \text{ cell}) &= (C_{\text{标准}} \times V1) \times 10^3 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \\ &\quad \div (500 \times V1 \div V) \times D \\ &= 2 \times (\Delta A_{\text{测定}} - \Delta A_{\text{空白}}) \div (\Delta A_{\text{标准}} - \Delta A_{\text{空}}) \times D \end{aligned}$$

C 标准---标品浓度，1mmol/L=1μmol/mL；

V2---加入标准品体积，0.02mL；

W---质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

V1---加入样本体积，0.02mL；

V---提取液体积，1mL；

500---细胞数量，万；