

游离脂肪酸（NEFA）测试盒

比色法：50 管/48 样

一、测定原理：

游离脂肪酸（NEFA）能与铜离子结合形成脂肪酸的铜盐而溶于氯仿中，其含量与游离脂肪酸含量成正比。用铜试剂测定其中铜离子的含量，即可推算出游离脂肪酸的含量。

二、试剂组成与配制：

试剂一：氯仿（三氯甲烷）（分析纯）自备。

试剂二：缓冲液，40ml×1 瓶，室温保存 6 个月。

试剂三：铜试剂，甲液 30ml×1 瓶，乙液 30ml×1 瓶，丙液 5ml×1 瓶，4℃保存 6 个月。

试剂三铜试剂的配制：按甲液：乙液：丙液=10：9：1 的比例进行配制，需多少配多少，配好后 4℃保存二周。

试剂四：显色剂，粉剂×2 支，稀释液 10ml×2 瓶，4℃保存 3 个月。

试剂四显色剂的配制：临用时将 1 支粉剂溶解于 1 瓶 10ml 稀释液中，配好后 4℃可保存二周。

试剂五：棕榈酸标准品粉剂×2 支，溶剂 50ml×1 瓶，4℃保存 1 个月。

1000μmol/L 棕榈酸标准品的配制：将一支粉剂用溶剂溶解后定容至 20ml

试剂六：双蒸水 40ml×1 瓶（做空白管用）。

三、操作步骤：

	空白管	标准管	测定管
双蒸水（ml）	0.2	0.2	
1000μmol/L 棕榈酸标准品（ml）		0.2	

待测样本 (ml)			0.2
试剂二缓冲液 (ml)	0.5	0.5	0.5
试剂三铜试剂 (ml)	1.0	1.0	1.0
试剂一 (ml)	4.0	4.0	4.0
充分混匀抽提 2 分钟, 3500 转/分离心 10 分钟, 仔细吸去上层蓝色液体及蛋白凝块弃之, 吸取下层抽提液 2ml 进行显色。			
下层抽提液 (ml)	2.0	2.0	2.0
显色剂 (ml)	0.25	0.25	0.25
混匀, 室温放置 2 分钟, 在 440nm, 1cm 光径, 试剂一调零比色。			

四、计算公式:

$$\text{血清(中)NEFA 含量} (\mu\text{mol/L}) \text{ 值} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \quad (1000\mu\text{mol/L})$$

$$\text{组织 NEFA 含量} = \frac{\text{测定 OD 值} - \text{空白 OD 值}}{\text{标准 OD 值} - \text{空白 OD 值}} \times \text{标准品浓度} \div \text{待测样本蛋白浓度}$$

标准 OD 值 - 空白 OD
($\mu\text{mol} / \text{gprot}$) 值 (1000 $\mu\text{mol} / \text{L}$) (gprot / L)