

生物碱含量试剂盒说明书

微量法100 管/96 样

注 意：正式测定前取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

生物碱存在于自然界（主要为植物，但有的也存在于动物中的一类含氮的碱性有机化合物，大多数有复杂的环状结构，氮素多包含在环内，有显著的生物活性，是中草药中重要的有效成分之一。

测定原理：

生物碱与溴甲酚绿指示剂反应，生成绿色化合物，在 416nm 处有最大吸收峰。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、超声波清洗器、可调式移液器、96 孔板、研钵、80%乙醇、氯仿和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：液体 12mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 30mL×1 瓶，4℃保存；

试剂三：液体 15mL×1 瓶，4℃避光保存；

生物碱的提取：

样本烘干粉碎，过 80 目筛。称取约 0.1g 样本，加入 0.1mL 试剂一，再加入 0.9mL 80%乙醇，充分混匀后转移到EP 管中，超声波提取60min，8000 g，25℃离心10 min，取上清液待测。另取空EP 管，加入0.1mL 试剂一和 0.9mL 80%乙醇，混匀后作为空白液。

测定步骤：

1、酶标仪预热 30min 以上，调节波长至 416nm 处。

2、操作表：在EP 管中加入如下试剂

试剂名称 (μL)	空白管	测定管
样本		50
空白液	50	
试剂二	250	250
试剂三	100	100

混匀，室温静置 5min

氯仿	500	500
----	-----	-----

剧烈振荡混匀，室温静置 40min，吸取下层氯仿层 200μL 于96 孔板，416nm 处读取吸光值A， $\Delta A=A$ 测定-A 空白，空白管只要做一管。

生物碱含量计算：

标准条件下测定的回归方程为 $y = 1.915x - 0.0005$, $R^2 = 0.9942$; x 为标准品浓度 (mg/mL), y 为 ΔA 。

生物碱含量(mg/g 干重) = $(\Delta A + 0.0005) \div 1.915 \times V_{\text{样总}} \div W = 0.522 \times (\Delta A + 0.0005) \div W$

$V_{\text{样总}}$: 加入提取液体积, 1mL; W : 样本鲜重, g。

