

生物碱含量试剂盒说明书

分光光度法50管/48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：

分光光度计、水浴锅、超声波清洗器、可调式移液器、1mL 玻璃比色皿、研钵、80%乙醇、氯仿和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

试剂一：液体 10mL×1 瓶，4℃保存； 试

剂二：液体 50mL×1 瓶，4℃保存；

试剂三：液体 20mL×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0.9mL80%乙醇，充分混匀后转移到EP管中，超声波提取60min，8000g，25℃离心10min，取上清液待测。另取空EP管，加入0.1mL 试剂一和0.9mL80%乙醇，混匀后作为空白液。

测定步骤：

1、分光光度计预热 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		150
空白液	150	
试剂二	750	750
试剂三	300	300
混匀，室温静置 5min		
氯仿	1500	1500

剧烈振荡混匀，室温静置 40min，吸取下层氯仿层 1mL 于1mL 玻璃比色皿，416nm 处读取吸光值 A， $\Delta A = A - A_{\text{空白}}$ ，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 $y = 3.83x - 0.0005$, $R^2 = 0.9942$; x 为标准品浓度 (mg/mL),
 y 为 ΔA 。

生物碱含量(mg/g 干重) = $(\Delta A + 0.0005) \div 3.83 \times V_{\text{样总}} \div W = 0.261 \times (\Delta A + 0.0005) \div W$

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