

生物碱含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

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：

生物碱是存在于自然界（主要为植物）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 30mL × 1 瓶，4°C 保存；

试剂二：液体 12mL × 1 瓶，4°C 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 1mL 80%乙醇，充分混匀后转移到 EP 管中，超声波提取 60min，8000 g，25°C 离心 10 min，取上清液待测。

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
80%乙醇	50	
试剂一	250	250
试剂二	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， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ，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 $y = 3.0209x - 0.0117$ ， $R^2 = 0.999$ ；x 为标准品浓度 (mg/mL)，y 为 ΔA 。

生物碱含量(mg/g 干重) = $(\Delta A + 0.0117) \div 3.0209 \times V_{\text{样总}} \div W = 0.331 \times (\Delta A + 0.0117) \div W$

V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本鲜重，g。