

# 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 0.9mL 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、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，

$\Delta A = A$  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  $y = 3.83x - 0.0005$ ,  $R^2 = 0.9942$ ;  $x$  为标准品浓度 (mg/mL),  
 $y$  为  $\Delta A$ 。

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。