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0.9,mL80%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 0.9,mL80%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，

ΔA=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 ΔA。

生物碱含量(mg/g 干重)=(ΔA+0.0005)÷3.83×V 样总÷W= 0.261×(ΔA+0.0005) ÷W

V 样总：加入提取液体积，1mL；W：样本鲜重，g。