

总生物碱含量试剂盒说明书

(G0150F 分光法 48 样)

一、产品简介：

生物碱是存在于生物体内的含氮有机化合物，大多数存在于植物中，目前已分离到三千余种，其中近百种具有很强的生理活性，广泛应用于临床医疗。

利用生物碱与溴甲酚绿反应生成黄色物质，该物质在 415nm 有特征吸收峰，通过检测 415nm 的增加量即可得出样本中总生物碱含量。

二、试剂盒组分与配制：

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	液体 60mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 45mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×2 瓶	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部，再加入 20mL 的试剂一混匀溶解（一周内用完）。
试剂三	粉体 g×1 瓶	4℃保存	

三、所需的仪器和用品：

可见分光光度计、1mL 石英比色皿（光径 1cm）、天平、离心机、蒸馏水、二氯甲烷。

四、总生物碱含量测定：

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定，了解本批样品情况，熟悉实验流程，避免实验样本和试剂浪费！

1、样本制备：

称约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液研磨匀浆，于 80℃条件下水浴 1h（若蒸发用提取液补充至 1mL 体积），冷却至室温后，12000rpm 室温离心 10min，取上清液待测。

【注】：若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积（mL）为 1:5~10 的比例进行提取。

2、上机检测：

① 可见分光光度计打开，调节波长至 415nm。

② 在 EP 管中按照下表依次加入试剂：

试剂名称（ μL ）	测定管	空白管
样本	300	
试剂一		300
试剂二	500	500
二氯甲烷	1000	1000
振荡混匀，12000rpm 离心 5min，取全部下层液体（约 1mL）至新的离心管中。		
试剂三（g）	0.05	0.05
振荡混匀，静置 20min，12000rpm 离心 5min，取全部澄清液体（可定取为 800 μL ）至 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中，于 415nm 读取吸光值。 $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ 。		

五、结果计算：

1、以秋水仙碱为标准品计算：

标准曲线： $y = 0.4556x - 0.019$ ， x 是标准品（秋水仙碱）浓度： mg/mL ， y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned}\text{总生物碱含量}(\text{mg/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.019) \div 0.4556 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 2.2 \times (\Delta A + 0.019) \div W \times D\end{aligned}$$

V---加入提取液体积，1mL；

V1---反应中样品体积，0.3mL；

W---样品质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。

附：标准曲线制作过程：

- 1 制备标准品(秋水仙碱)母液(1mg/mL)：向标准品 EP 管里面加入 2mL 试剂一(-20℃保存)。
- 2 把母液用试剂一稀释成六个浓度梯度的标准品：0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1. mg/mL。也可根据实际样本来调整标准品浓度。
- 3 依据测定管加样表操作，根据结果即可制作标准曲线。