

总生物碱含量试剂盒说明书

(G0150W 微板法 96 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 120mL×1 瓶	4℃保存	
试剂一	液体 65mL×1 瓶	4℃保存	
试剂二	粉体 mg×3 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：

酶标仪、96 孔 UV 板、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 酶标仪打开，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 200 μL 澄清液体至 96 孔 UV 板中，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： $y = 0.3429x - 0.0088$ ， x 是标准品（秋水仙碱）浓度： mg/mL ， y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned}\text{总生物碱含量}(\text{mg/g 鲜重}) &= [(\Delta A + 0.0088) \div 0.3429 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= 2.92 \times (\Delta A + 0.0088) \div W \times D\end{aligned}$$

2、以两面针碱为标准品计算：

标准曲线： $y = 6.6849x + 0.0023$ ， x 是标准品（两面针碱）浓度： mg/mL ， y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned}\text{总生物碱含量}(\text{mg/g 鲜重}) &= [(\Delta A - 0.0023) \div 6.6849 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D \\ &= 0.2992 \times (\Delta A - 0.0023) \div W \times D\end{aligned}$$

V ---加入提取液体积， 1mL ；

V_1 ---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。