

植物生物学实验-植物生理部分

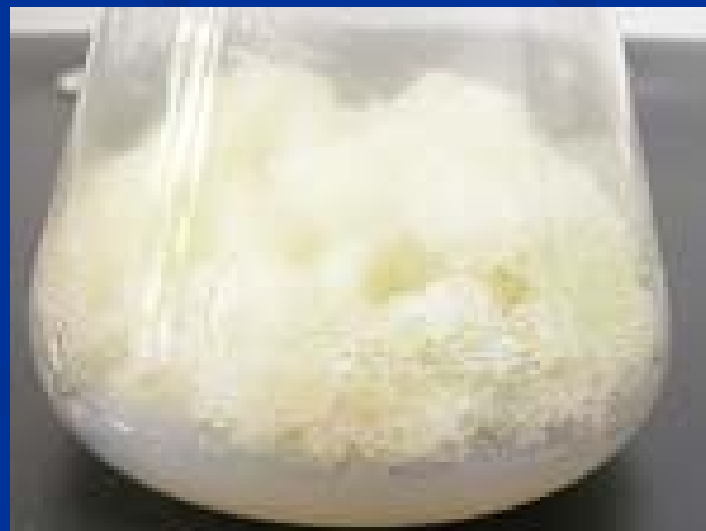
实验九 长春花愈伤组织的诱导培养及吲哚生物碱的提取测定（2）



愈伤组织的诱导结果



愈伤组织的继代培养结果

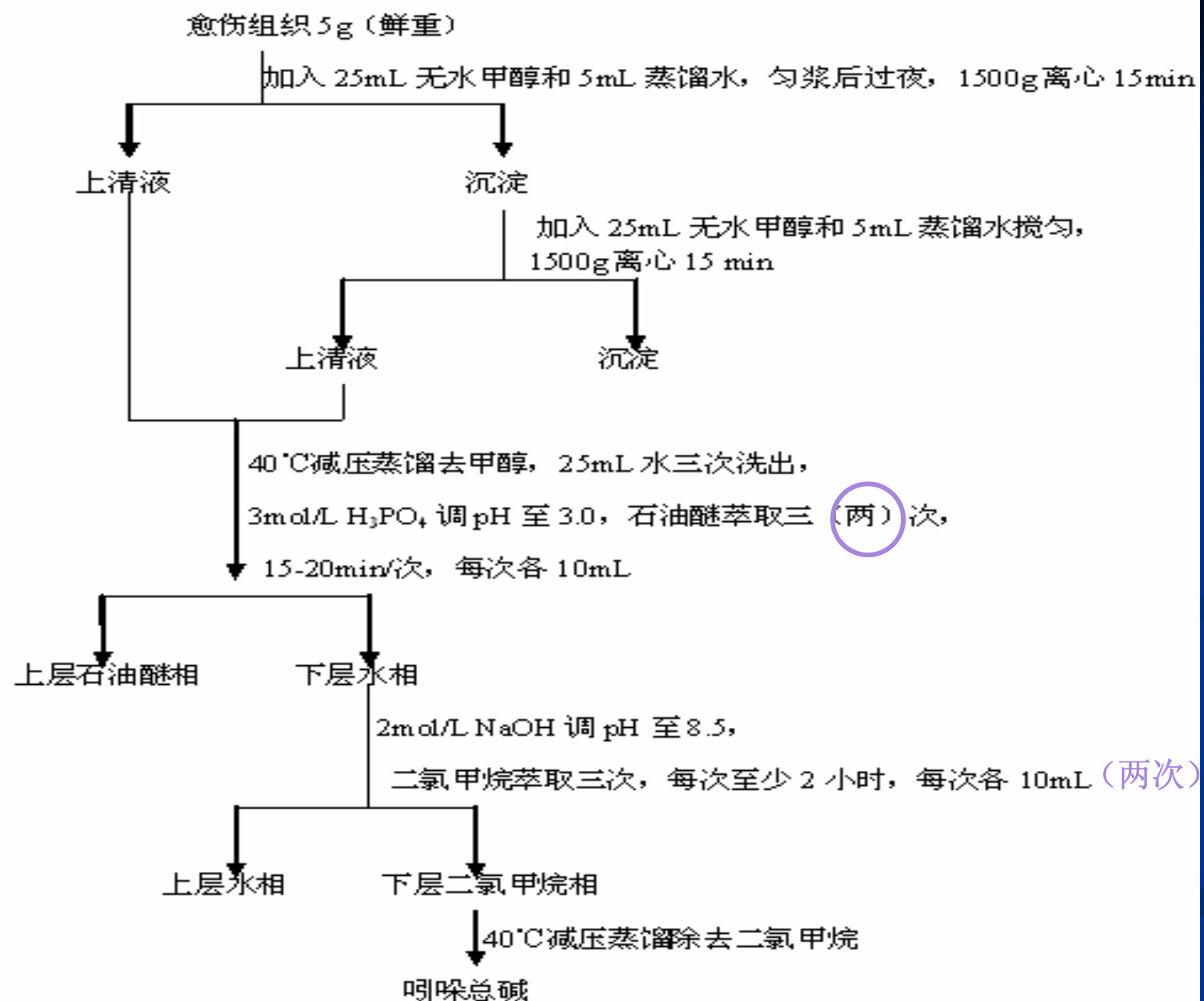


【实验内容】

1. 吲哚总碱的分离提取
2. 吲哚总碱的定量
3. 阿玛碱和长春质碱的定性定量分析

1. 吲哚总碱的分离提取

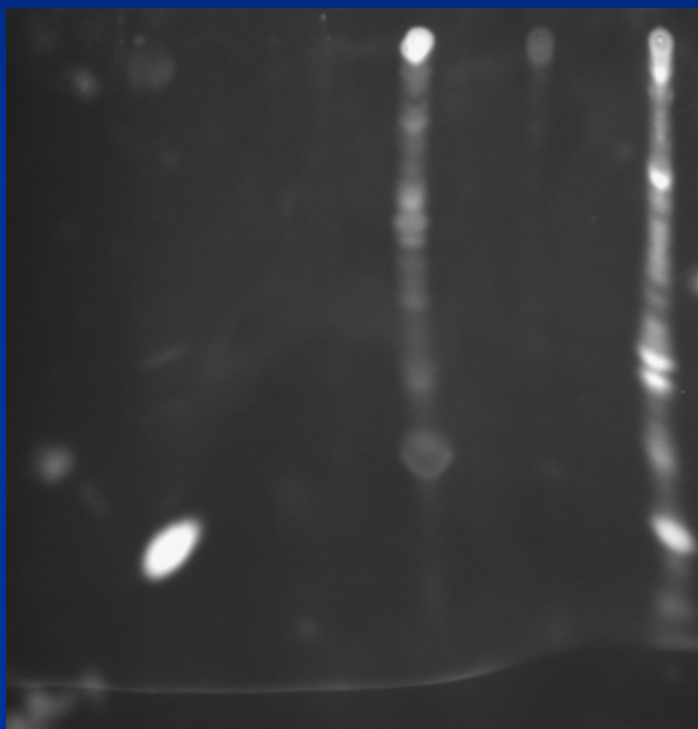
- (1) 将长春花愈伤组织从培养基上剥离，称5g(鲜重)。
- (2) 吲哚总碱的提取



(3) 吡啶总碱的定量

- 用少许二氯甲烷将吡啶总碱从圆底烧瓶中洗入已称重的1.5mL离心管中，自然风干，再称重，重量差即为吡啶总碱含量。

3. 阿玛碱和长春质碱的定性定量分析



薄层层析法

RP-HPLC法

① 标准液的制备:

② 吲哚总碱样品液的制备:

用少量 (0.3 mL左右) 二氯甲烷将 1.5mL离心管中的吲哚总碱溶解, 制成吲哚总碱样品液 (现用现配)。

③ 硅胶板的制备:

称取7.0g 硅胶粉Kieselgel 60 GF254与20 mL 0.1mol/L NaOH混合搅匀, 均匀铺在干净的玻璃板上, 平置、自然晾干后, 110℃活化1 h。

④ 展层剂的配制: 氯仿: 甲醇: 石油醚 = 9: 1: 5 (V: V: V)

⑤ 点样: 样点直径最好控制在3mm之内, 各样点应在一条直线上, 间距约2 cm, 样点位置距板下沿至少3cm.(样品用毛细管点样)

⑥ 层析:

将点好样的硅胶板垂直放入层析缸，待展层液行至距上沿4 cm处停止，将硅胶板取出，自然风干。

⑦ 阿玛碱和长春质碱的定性定量:

将硅胶板置于365nm紫外灯下观察，使用ImageMaster VDC进行薄层扫描即可测定出阿玛碱和长春质碱的含量。

【注意事项】

- 生物碱的提取过程
 - 1.水相和有机相的弃留
 - 2.石油醚萃取后收集水相避免将有机相混入
 - 3.二氯甲烷时使用干燥的蒸馏瓶
- 制备硅胶板 铺平均匀
- 点样
样品点样点尽可能小，少量多次点样

【思考与作业】

- 愈伤组织的诱导和继代过程中应该注意什么？