

总皂苷 (Saponin) 含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义:

皂苷 (Saponin) 是苷元为三萜或螺旋甾烷类化合物的一类糖苷, 主要分布于陆地高等植物中, 也少量存在于海星和海参等海洋生物中。许多中草药如人参、远志、桔梗、甘草、知母和柴胡等的主要有效成分都含有皂苷。有些皂苷还具有抗菌的活性或解热、镇静、抗癌等有价值的生物活性。

测定原理:

使用超声波提取样品中的皂苷, 利用香草醛-高氯酸显色体系测定总皂苷含量。

所需的仪器和用品:

酶标仪、烘箱、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、高氯酸、乙酸、超声波清洗器

试剂的组成和配制:

提取液: 液体 100ml×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂一: 24ml×1 瓶, 4℃ 保存;

试剂二: 高氯酸, 自备;

试剂三: 乙酸, 自备。

总皂苷提取:

样本烘干, 粉碎过筛, 称取 0.05g, 加入 1mL 提取液, 超声提取 1h; 8000g, 25℃ 离心 10min, 取上清待测。

测定步骤

1、酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 589nm。

2、测定管: 取 0.5mL 上清, 70℃ 挥发至干。加入 0.2mL 试剂一和 0.8mL 试剂二, 55℃ 水浴 20min。吸取 40μL 加入 96 孔板中, 再加入 200μL 试剂三, 充分混匀后, 589nm 下测定吸光度 A1。

3、空白管: 取 0.5mL 提取液, 70℃ 挥发至干。加入 0.2mL 试剂一和 0.8mL 试剂二, 55℃ 水浴 20min。吸取 40μL 加入 96 孔板中, 再加入 200μL 试剂三, 充分混匀后, 589nm 下测定吸光度 A2。计算 $\Delta A = A1 - A2$ 。

总皂苷含量计算:

1. 以齐墩果酸为对照品计算

标准状态下的回归曲线为: $y = 0.0036x - 0.012$, $R^2 = 0.9968$, x 为对照品浓度, μg/mL, y 为吸光度 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量}(\mu\text{g/g 干重}) &= (\Delta A + 0.012) \div 0.0036 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 277.78 \times (\Delta A + 0.012) \div W \end{aligned}$$

2. 以人参皂苷 Re 为对照品计算

标准状态下的回归曲线为: $y = 1.0233x - 0.0016$, $R^2 = 0.9983$, x 为对照品浓度, mg/mL, y 为吸光度 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量}(\mu\text{g/g 干重}) &= (\Delta A + 0.0016) \div 1.0233 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} + V_{\text{样总}} \times W) \times 1000 \\ &= 977.23 \times (\Delta A + 0.0016) \div W \end{aligned}$$

V 样: 加入样本体积, 0.5mL; V 样总: 加入提取液体积, 1mL; W: 样本干重, g; 1000, 毫克到微克的换算系数。

