

总皂苷含量试剂盒说明书

(货号: G0157F 分光法 48 样)

一、产品简介:

总皂苷是一类含有甾体皂苷和三萜皂苷等糖苷类物质的化合物。主要分布于陆地的植物中, 少量海洋生物中也存在该成分, 具有一定止咳化痰、营养神经、活血化瘀等作用。例如人参、百合、枇杷叶、黄芪、海参、海星等均含有总皂苷。

总皂苷含量测定采用香草醛法; 即在强酸性条件下, 总皂苷物质与香草醛发生缩合反应, 产生有色化合物, 在 540nm 处有特征吸收峰, 测定 540nm 光吸收值可计算总皂苷含量。

二、试剂盒组分与配制:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液	80%乙醇×60mL (自备)	4℃保存	甲醇(mL):水(mL)=48:12。
试剂一	粉体 mg×1 支	4℃保存	临用前甩几下使粉体落入底部, 每支再加 1.8mL 冰乙酸溶解备用。

三、所需的仪器和用品:

可见分光光度计、1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm)、天平、离心机、蒸馏水、无水乙醇、甲醇、硫酸和乙酸。

四、总皂苷含量测定:

建议正式实验前选取 2 个样本做预测定, 了解本批样品和实验流程, 避免样本和试剂浪费!

1、样本制备:

① 组织样本: 称约 0.1g 样本, 加入 2mL 提取液研磨匀浆, 用超声提取法进行提取, 55℃条件下超声 (功率 300W) 提取 30min, 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 1:10~20 的比例进行提取。

② 液体样本: 直接检测。若浑浊, 离心后取上清检测。

2、上机检测:

① 可见分光光度计打开, 调节波长至 540nm, 蒸馏水调零。

② 在 EP 管中按照下表依次加入试剂:

试剂名称 (μL)	测定管	对照管
样本	45	45
试剂一	30	
乙酸		30
硫酸	120	120
60℃恒温反应 15min 后放入冰盒或 4 度冰箱反应 5min。		
乙酸	750	750
混匀, 取出全部液体至 1mL 玻璃比色皿 (光径 1cm) 中, 于 540nm 处测定, $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{对照}}$ (每个样本做一个自身对照)。		

【注】1. 若 ΔA 值小于 0.01。则加大样品取样质量 W, 则改变后的 W 代入公式计算。

五、结果计算:

1、以薯蓣皂苷为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.463x + 0.0013$, x 是标准品 (薯蓣皂苷) 浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量 (mg/g 重量) = $[(\Delta A + 0.0013) \div 0.463 \times V_1] \div (V_1 \div V \times W) \times D$

$$=4.32 \times (\Delta A + 0.0013) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.0013) \div 0.463 \times V1$] $\div V1 \times D = 2.16 \times (\Delta A + 0.0013) \times D$

2、以黄芪甲苷为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.5999x - 0.0164$, x 是标准品(黄芪甲苷)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.0164) \div 0.5999 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=3.33 \times (\Delta A + 0.0164) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.0164) \div 0.5999 \times V1$] $\div V1 \times D = 1.67 \times (\Delta A + 0.0164) \times D$

3、以熊果酸为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.7605x - 0.025$, x 是标准品(熊果酸)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.025) \div 0.7605 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=2.63 \times (\Delta A + 0.025) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.025) \div 0.7605 \times V1$] $\div V1 \times D = 1.31 \times (\Delta A + 0.025) \times D$

4、以齐墩果酸为标准品计算:

标准曲线: $y = 2.3069x - 0.0254$, x 是标准品(齐墩果酸)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.0254) \div 2.3069 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=0.87 \times (\Delta A + 0.0254) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.0254) \div 2.3069 \times V1$] $\div V1 \times D = 0.43 \times (\Delta A + 0.0254) \times D$

5、以人参皂苷 Rb1 为标准品计算:

标准曲线: $y = 2.0433x - 0.0358$, x 是标准品(人参皂苷 Rb1)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.0358) \div 2.0433 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=0.98 \times (\Delta A + 0.0358) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.0358) \div 2.0433 \times V1$] $\div V1 \times D = 0.49 \times (\Delta A + 0.0358) \times D$

6、以大豆皂苷 Bb 为标准品计算:

标准曲线: $y = 1.9154x - 0.067$, x 是标准品(大豆皂苷 Bb)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.067) \div 1.9154 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=1.04 \times (\Delta A + 0.067) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.067) \div 1.9154 \times V1$] $\div V1 \times D = 0.52 \times (\Delta A + 0.067) \times D$

7、以人参皂苷 Re 为标准品计算:

标准曲线: $y = 1.1424x - 0.043$, x 是标准品(人参皂苷 Re)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.043) \div 1.1424 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=1.75 \times (\Delta A + 0.043) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.043) \div 1.1424 \times V1$] $\div V1 \times D = 0.86 \times (\Delta A + 0.043) \times D$

8、以甘草酸为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.5455x - 0.0176$, x 是标准品(甘草酸)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

总皂苷含量(mg/g 重量)=[$(\Delta A + 0.0176) \div 0.5455 \times V1$] $\div (V1 \div V \times W) \times D$

$$=3.67 \times (\Delta A + 0.0176) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体)=[$(\Delta A + 0.0176) \div 0.5455 \times V1$] $\div V1 \times D = 1.83 \times (\Delta A + 0.0176) \times D$

V---加入提取液体积, 2mL;

V1---反应中样品体积, 0.045mL;

W---样品质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。