

总皂苷含量试剂盒说明书

(货号: G0157W 微板法 96 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×100mL(自备)	4°C保存	乙醇(mL):水(mL)=80:20。
试剂一	粉体 mg×2 支	4°C保存	临用前甩几下使粉体落入底部,每支再加 1.5mL 冰乙酸溶解备用。

三、所需的仪器和用品:

酶标仪、96 孔板、天平、离心机、蒸馏水、无水乙醇、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°C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 酶标仪打开,调节波长至 540nm。

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	30	30
试剂一	20	
乙酸		20
硫酸	80	80
60°C恒温反应 15min 后放入冰盒或 4 度冰箱反应 5min。		
乙酸	500	500
混匀,取出 200μL 至 96 空板中,于 540nm 处测定,ΔA=A 测定-A 对照(每个样本做一个自身对照)。		

五、结果计算:

1、以薯蓣皂苷为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.3x + 0.0062$, 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) = $[(\Delta A - 0.0062) \div 0.3 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D$

$$= 6.67 \times (\Delta A - 0.0062) \div W \times D$$

总皂苷含量(mg/mL 液体) = $[(\Delta A - 0.0062) \div 0.3 \times V1] \div V1 \times D = 3.33 \times (\Delta A - 0.0062) \times D$

2、以黄芪甲苷为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.4205x - 0.0074$, x 是标准品(黄芪甲苷)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0074) \div 0.4205 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 4.76 \times (\Delta A + 0.0074) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0074) \div 0.4205 \times V1] \div V1 \times D = 2.38 \times (\Delta A + 0.0074) \times D$$

3、以熊果酸为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.5433x - 0.0001$, x 是标准品(熊果酸)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0001) \div 0.5433 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 3.68 \times (\Delta A + 0.0001) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0001) \div 0.5433 \times V1] \div V1 \times D = 1.84 \times (\Delta A + 0.0001) \times D$$

4、以齐墩果酸为标准品计算:

标准曲线: $y = 1.3898x - 0.0146$, x 是标准品(齐墩果酸)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0146) \div 1.3898 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 1.44 \times (\Delta A + 0.0146) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0146) \div 1.3898 \times V1] \div V1 \times D = 0.72 \times (\Delta A + 0.0146) \times D$$

5、以人参皂苷 Rb1 为标准品计算:

标准曲线: $y = 1.0436x - 0.0192$, x 是标准品(人参皂苷 Rb1)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0192) \div 1.0436 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 1.92 \times (\Delta A + 0.0192) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0192) \div 1.0436 \times V1] \div V1 \times D = 0.96 \times (\Delta A + 0.0192) \times D$$

6、以大豆皂苷 Bb 为标准品计算:

标准曲线: $y = 1.076x - 0.0325$, x 是标准品(大豆皂苷 Bb)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0325) \div 1.076 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 1.86 \times (\Delta A + 0.0325) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0325) \div 1.076 \times V1] \div V1 \times D = 0.93 \times (\Delta A + 0.0325) \times D$$

7、以人参皂苷 Re 为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.7012x - 0.0297$, x 是标准品(人参皂苷 Re)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0297) \div 0.7012 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 2.85 \times (\Delta A + 0.0297) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0297) \div 0.7012 \times V1] \div V1 \times D = 1.43 \times (\Delta A + 0.0297) \times D$$

8、以甘草酸为标准品计算:

标准曲线: $y = 0.3304x - 0.0037$, x 是标准品(甘草酸)浓度: mg/mL, y 是 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量(mg/g 重量)} &= [(\Delta A + 0.0037) \div 0.3304 \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D \\ &= 6.05 \times (\Delta A + 0.0037) \div W \times D \end{aligned}$$

$$\text{总皂苷含量(mg/mL 液体)} = [(\Delta A + 0.0037) \div 0.3304 \times V1] \div V1 \times D = 3.03 \times (\Delta A + 0.0037) \times D$$

V---加入提取液体积, 2mL;

V1---反应中样品体积, 0.03mL;

W---样品质量, g;

D---稀释倍数, 未稀释即为 1。