

总皂苷（Saponin）含量试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

注 意： 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 40 μL 加入 96 孔板中，再加入 200 μL 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 40 μL 加入 96 孔板中，再加入 200 μL 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， $\mu\text{g/mL}$ ， y 为吸光度 ΔA 。

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

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 。

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

$V_{\text{样}}$ ：加入样本体积，0.5mL； $V_{\text{样总}}$ ：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。