

总皂苷（Saponin）含量试剂盒（分光光度法）

注意：正式测定之前选择 2-3 个预期差异大的样本做预测定。

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。皂苷还具有抗菌的活性或解热、镇静、抗癌等生物活性。

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。

试剂组成和配制：

提取液：液体 50ml×1 瓶，4℃保存；

试剂一：12ml×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、可见分光光度计预热 30min 以上，调节波长至 589nm，蒸馏水调零。

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 200μL 加入 1mL 玻璃比色皿中，再加入 1000μL 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 200μL 加入 1mL 玻璃比色皿中，再加入 1000μL 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: $y = 0.0072x - 0.012$, $R^2 = 0.9968$,

x 为对照品浓度, $\mu\text{g/mL}$,

y 为吸光度 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量}(\mu\text{g/g 干重}) &= (\Delta A + 0.012) \div 0.0072 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \\ &= 138.89 \times (\Delta A + 0.012) \div W \end{aligned}$$

2. 以人参皂苷 Re 为对照品计算

标准状态下的回归曲线为: $y = 2.0466x - 0.0016$, $R^2 = 0.9983$,

x 为对照品浓度, mg/mL ,

y 为吸光度 ΔA 。

$$\begin{aligned} \text{总皂苷含量}(\mu\text{g/g 干重}) &= (\Delta A + 0.0016) \div 2.0466 \times V_{\text{样}} \div (V_{\text{样}} \div V_{\text{样总}} \times W) \times 1000 \\ &= 488.62 \times (\Delta A + 0.0016) \div W \end{aligned}$$

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。