

总皂苷含量测定试剂盒说明书

(货号:ADS-W-QT057 微板法 96 样 有效期: 6 个月)

一、指标介绍:

皂苷 (Saponin), 又名碱皂体、皂素、皂甙、皂角苷、皂草苷, 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。

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:

试剂组分	试剂规格	存放温度	备注
提取液	110mL×2 瓶	4℃保存	
试剂一	粉剂 mg×2 支	4℃保存	1. 临用前离心或者手动向下甩一甩 (避免开盖粉体掉出); 2. 加入 2mL 冰乙酸溶解备用 (可超声或涡旋助溶), 溶解后的粉剂 4℃存放, 两周内用完。

三、实验器材:

研钵 (匀浆机)、冰盒 (制冰机)、台式离心机、可调式移液枪、96 孔板、离心管、酶标仪、震荡仪 (或烘箱、培养箱、水浴锅、金属浴等)、冰乙酸、浓硫酸、纯甲醇、蒸馏水 (去离子水、超纯水均可)。

四、指标测定:

建议先选取 1-3 个差异大的样本 (例如不同类型或分组) 进行预实验, 熟悉操作流程, 根据预实验结果确定或调整样本浓度, 以防造成样本或试剂不必要的浪费!

1、样本提取

取 0.1g 组织样本 (干样可取 0.05g, 含水量较高的果实样本可取 0.4g) 至 2mLEP 管中, 加 2mL 提取液, 50℃ 超声提取 30min (间隔 5min 手动震荡 1 次)。12000rpm 室温离心 10min, 取上清作为待测液。

2、检测步骤

- ① 酶标仪预热 30min (等待仪器过自检程序亦可), 设定波长到 540nm。
- ② 提示: 若预测定 ΔA 值小于 0.01, 则需加大样品取样质量 W , 改变后的 W 代入公式计算。
- ③ 所有试剂解冻至室温, 按下表在 EP 管中依次加入:

试剂名称(μ L)	测定管	对照管
样本	30	30
试剂一	20	
冰乙酸		20
浓硫酸	80	80
60℃ 恒温反应 15min 后放入冰盒或 4℃ 冰箱反应 5min。		
冰乙酸	500	500
混匀, 取出 200 μ L 至 96 孔板中, 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)。		

五、结果计算:

1. 标曲的制作步骤:

- (1) 根据检测样本, 选择合适的标准品 (例如: 三七样本选择三七皂苷; 人参选择人参皂苷)

(2) 称取 1mg 标准品，加入 1mL 纯甲醇溶解完全；

(3) 按照下表稀释成不同浓度标品：

标品浓度 mg/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1
标品稀释液 uL	0	20	40	60	80	100
水 uL	100	80	60	40	20	0
各标准管混匀待用。						

(4) 按照下表检测，并绘制标曲：标准曲线： $y = ax \pm b$ ； x 是标品浓度（mg/mL）， y 是 ΔA 。

试剂名称(μL)	标品管	0 浓度管（仅做一次）
样本	30	30
试剂一	20	20
浓硫酸	80	80
60℃恒温反应 15min 后放入冰盒或 4℃冰箱反应 5min。		
冰乙酸	500	500
混匀，取出 200μL 至 96 孔板中，于 540nm 处测定， $\Delta A = A_{\text{标品}} - A_{\text{0 浓度管}}$ 。		

2 计算公式：

总皂苷含量(mg/g 重量) = $[(\Delta A \pm b) \div a \times V1] \div (V1 \div V \times W) \times D$

V---提取液体积，2mL；

V1---反应中样品体积，0.03mL；

W---样本质量，g；

D---稀释倍数，未稀释即为 1。