

高效液相色谱法测定马铃薯中

α -茄碱含量

王守兰 朱佳 北京工业大学管理系 100022

摘要 应用乙腈-磷酸二氢钾(75:25, V/V)为流动相,在YWG- C_{18} 反相柱上采用外标法测定了马铃薯中不同部位上 α -茄碱含量,方法快速、简便,重现性好。 α -茄碱检测线性范围为0.1~1.0mg/ml, $r=0.9994$,平均回收率为91.5%,变异系数为3.84%。

关键词 马铃薯 α -茄碱 高效液相色谱法

Abstract A simple, rapid and accurate quantitative method was established for the determination of α -solanine in potato by High-performance liquid chromatography. Potatoes were extracted with TFA- H_2O - CH_3CN -HAC[50:30:20:1, (V/V)] solution. Separation was obtained by using YWG C_{18} column (4.6mm i.d. \times 25mm, 5 μ m) and mobile phase of acetonitrile-0.02mol/L potassium dihydrogen phosphate (75:25, V/V) with flow rate of 0.7ml/min. The eluates were monitored with UV/VIS detector at 208nm. The retention time for α -solanine was 4.27min. The calibration curve was linear in the range of 0.05~1.00mg/ml with $r=0.9994$. The average recovery for α -solanine was 91.5% with a coefficient of variation of 3.84%. The content of α -solanine in potato from different areas was also determined.

Key words Potato α -solanine High-performance liquid chromatography

马铃薯和其它茄科植物一样,植株和块茎中普遍含有一类甾族生物碱(Solanidine, 茄啶)的配糖衍生物,通称为龙葵素的物质,它的主要成份为 α -茄碱(α -solanine)和 α -卡茄碱(α -chaconine)。龙葵素是一类有毒性的生物碱,通常情况下,含量较低,不会影响其食用品质,但当马铃薯因储藏不当,发芽变绿或腐烂时,会导致龙葵素含量大幅度升高,如若人畜服食0.2g即可出现中毒症状,严重者会出现致畸或死亡的危险。^[1]

目前,关于马铃薯中 α -茄碱的测定方法国内外报道较少,霍权恭等人^[1]曾采用比色法测定了马铃薯中总配糖生物碱含量,SAITO K等^[2]用高效液相色谱法测定了马铃薯制品中配糖碱的含量,而用高效液相色谱法测定生马铃薯中 α -茄碱的方法国内还未见报道。本文建立了高效液相色谱法测定生马铃薯不同部位中 α -茄碱的方法并测定了其含量,其结果表明:该法操作简便,省时,重现性好,结果令人满意。

1 实验部分

1.1 材料、仪器与试剂

材料 黄皮生马铃薯(市购),产地:北京郊区;
仪器 岛津LC-4A高效液相色谱仪、岛津SPD-1型紫外检测器、岛津R-112记录仪等;
试剂 四氢呋喃:水:乙腈:乙酸(50:30:20:1, V/V)混合提取液;磷酸二氢钾;氯水;硫酸等均为AR或GR试剂; α -茄碱标准品(美国, KOCH-LIGHT LAB ORA TO RIFS LTD)。

1.2 色谱条件

色谱柱:国产YWG- C_{18} 不锈钢柱(4.6mm \times 25mm, 5 μ m);流动相:乙腈-磷酸二氢钾(磷酸二氢钾浓度为0.02mol/L, 75:25, V/V);流速0.7ml/min;检测波长208nm;纸速2.5mm/min;柱温:室温;进样量:10 μ l。

1.3 样品处理

取正常马铃薯20个,洗净凉干,按四分法取样,后将皮削下约0.2cm厚,称取皮、肉各20g,各加入60ml混合提取液,分别于高速组织捣碎机中捣碎10min,并成浆状。快速滤纸过滤,得滤液各600g离心5min,量取上清液各100ml,分别加入2ml冰乙酸,超声波振荡5min。氨水调节pH值为10.5,沸水浴浓

缩至干, 冷却后, 用少量 pH10.5 的氨水洗涤残留物两次, 并以离心, 弃去清液, 残留物水浴蒸干, 用 2ml 硫酸溶解并稀释到 10ml, 经 0.45 μ 的膜过滤备用。发芽变绿马铃薯的皮、芽、肉样品处理同上。

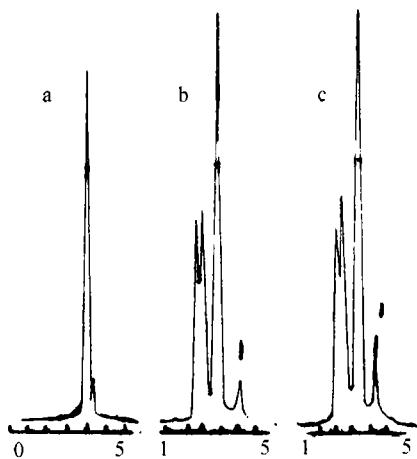
2 结果与讨论

2.1 色谱的定性与分离

采用保留时间对照法和标准追加法确定 α -茄碱峰的位置, 从图 1 可知 α -茄碱与其它组分达到较好的基线分离, α -茄碱的保留时间为 4.27min。

2.2 标准曲线绘制

准确称取 25mg α -茄碱, 用小量 1% 硫酸溶解后, 定容于 25ml 容量瓶中, 得到浓度为 1mg/ml 的 α -茄碱标准溶液。分别取标准溶液 0, 2, 4, 6, 8, 10ml, 用 1% 硫酸定容至 10mg/ml。(相当于浓度分别为 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ml), 进样 10 μ L, 以 α -茄碱的浓度为横坐标, 峰高为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y=48.117X - 37.133$, 相关系数 $r=0.9994$ 。



a、 α -茄碱标准品, b、马铃薯提取液, c 马铃薯提取液 + α -茄碱标准品。峰: 1: α -茄碱。

图 1 α -茄碱液相色谱分离图

2.3 马铃薯中 α -茄碱含量的测定

分别取正常马铃薯和发芽变绿马铃薯的各部位提取液 10 μ L, 在上述色谱条件下进行 HPLC 分析, 测定峰高, 根据外标法计算出 α -茄碱的含量, 其结果见表 1。

表 1 马铃薯中 α -茄碱含量 (mg/kg)

	正常马铃薯		发芽马铃薯		
	肉中	皮中	肉中	皮中	芽中
α -茄碱平均含量	22.4	32.5	19.7	77.3	201

从表 1 可知: α -茄碱测定值和变化趋势基本与文献值相符^[1]。发芽马铃薯肉中的 α -茄碱含量从理论上讲应比正常马铃薯肉中的 α -茄碱含量高, 但其测定值接近正常马铃薯肉中含量, 其原因可能与样品处理时, 马铃薯皮削得薄厚有关, 也与其肉的变绿程度有关, 另外不同品种, 不同产地的马铃薯中其 α -茄碱含量也会有所不同。

2.4 回收率

称取已测定了 α -茄碱含量的正常马铃薯的肉 20g, 6 份, 分别加入设计量的 α -茄碱标液, 按“样品处理”方法进行提取, 定容, 测定 α -茄碱的回收率, 结果见表 2。

表 2 α -茄碱的回收率

加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	变异系数 (CV) (%)
1.00	0.848	87.5	91.5	3.84
2.00	1.86	93.9		
3.00	3.01	93.2		

2.5 精密度

称取正常马铃薯肉 5 份, 每份 20g, 按“样品处理”方法提取, 定容, 取 10 μ L 进样, 测定 5 次, 结果见表 3。

表 3 精密度实验 (mg/kg)

α -茄碱含量	平均值	标准偏差	变异系数 (CV) (%)
32.7, 33.1, 31.4, 32.7, 32.5	32.5	0.642	1.98

从以上各实验结果表明, HPLC 法不仅适用于做菜生马铃薯中 α -茄碱含量测定, 也适用于马铃薯制品中 α -茄碱含量的测定。

参考文献

- 霍权恭, 朱之光, 周展明. 马铃薯中配糖生物碱总量测定方法研究. 分析试验室, 1996, 15 (6): 39~41.
- SAITO K etc. High-performance liquid chromatographic determination of glycoalkaloids in potato products, Journal of Chromatography, 1990, 508: 141~143.