

马铃薯中龙葵素的提取方法

张 薇^a, 熊兴耀^b, 李 霞^a

(湖南农业大学 a.理学院; b.园艺园林学院, 湖南 长沙 410128)

摘 要: 采用紫外比色法分别测定了用乙醇法、乙醇-乙酸法和混合溶剂法提取的马铃薯中龙葵素的提取率、回收率, 结果表明乙醇-乙酸法的提取率和回收率最高, 分别为 100%和 94.3%。用液质联用分析法分别对用乙醇法、乙醇-乙酸法和混合溶剂法提取的龙葵素进行了定量测定。结果表明乙醇-乙酸法是提取龙葵素的最佳方法。

关 键 词: 马铃薯; 龙葵素; 提取

中图分类号: S632

文献标识码: A

Extraction and Analysis of Solanine in Potato

ZHANG Wei^a, XIONG Xing-yao^b, LI Xia^a

(a.College of Sciences; b.College of Horticulture and Landscape, HNAU, Changsha 410128, China)

Abstract: Using UV-colorimetry, extraction ratio and recovery ratio of solanine by way of ethyl alcohol or ethyl alcohol coupled with acetic acid and another mixed solvent from potato were determined, which were 100% and 94.3% respectively. Meanwhile, quantitative LC/MS determination of solanine were performed on these three extraction methods, which confirmed that ethyl alcohol coupled with acetic acid was the most efficient solvent for solanine extraction.

Key words: potato; solanine; extraction

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)为茄科植物, 是主要的粮食作物之一^[1]。近代研究发现, 马铃薯植株和块茎中普遍含有一种有异味、有毒性的甾类生物碱——一类含氮的类固醇基和 1~4 个单糖通过 3-O-糖苷键所组成的甾族类化合物。文献[2]中将其统称为总糖苷生物碱(total glycoalkaloids, TGA)。由于其重要成分茄碱最早是在龙葵中发现的, 而且茄碱被认为是马铃薯生物碱的惟一成分, 故将马铃薯糖苷生物碱称为茄碱, 又将茄碱称为龙葵素、龙葵碱或马铃薯毒素等。

长期以来, 人们认为龙葵素是有毒的, 但在近期的研究中, 发现它与马铃薯块茎的食用方法、马铃薯自身的抗病虫能力及其遗传育种等有密切关系, 也是一种重要的医药资源, 能抑制消化道肿瘤细胞的增殖, 对胃癌、直肠癌有抑制作用, 因而具有良好的开发、利用前景^[3]。其结构和组成见图 1 和表 1。

1 材料与方法

1.1 材 料

马铃薯购于湖南长沙市马王堆农贸市场(做发

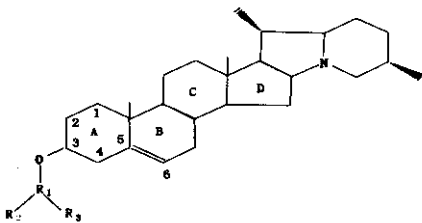


图 1 龙葵素的结构
Fig.1 The structure of solanine

表 1 龙葵素的组分
Table 1 The composition of solanine

组分	R ₁	R ₂	R ₃	相对分子质量
α-茄碱	半乳糖	葡萄糖	鼠李糖	867
β-茄碱	半乳糖	葡萄糖		721
γ-茄碱	半乳糖			559
α-卡茄碱	葡萄糖	鼠李糖	鼠李糖	851
β-卡茄碱	葡萄糖	鼠李糖		705
γ-卡茄碱	鼠李糖			559

绿、发芽处理^[4-5]。龙葵素标准品 α-茄碱(纯度 ≥99.8%)购于美国 Sigma 公司。

1.2 仪器与试剂

试剂: 95%乙醇; 氯仿; 甲醇; 浓氨水; 浓硫酸; 冰乙酸; 1%硫酸; 1%甲醛; 1%氨水。

仪器: 磁力搅拌器; 水浴锅; 索氏脂肪提取器, 球形冷凝管; 圆底烧瓶(500 mL 和 1 000 mL 各 1 个); 容量瓶(3 个 1 000 mL); 高速冷冻智能离心机 CR21G

收稿日期: 2006-07-13
基金项目: 国家科技攻关计划引导项目(2005BA531C)
作者简介: 张 薇(1962-), 女, 江苏南京人, 湖南农业大学副教授。

(日本日立公司生产);紫外可见分光光度计(北京瑞利仪器厂生产);减压旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂生产);电子天平(美特勒 AL204 生产)。

1.3 龙葵素的提取与测定方法

1.3.1 标准品溶液的制备

准确称取 0.050 0 g 龙葵素标准品,用 1%硫酸溶液定容至 50 mL,即得龙葵素标准品溶液。

1.3.2 龙葵素标准系列溶液的制备

分别取龙葵素标准溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 溶于 5 mL 的容量瓶,用 1%硫酸定容至刻度,摇匀,即得质量浓度分别为 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/mL 的龙葵素标准系列溶液。

1.3.3 龙葵素粗样品的获取

取经发绿、发芽处理的马铃薯数个,以薯芽、薯皮(2~3 mm)和削皮后的薯肉为测试样品。分别将测试样品的一半在提取时加入 1 mg 龙葵素标样,作为平行内标试验。

有机溶剂的种类和数量的不同,龙葵素的提取效果也不相同。利用龙葵素溶于某些有机溶剂和稀酸及遇碱沉淀的特性,在本试验中用乙醇法、乙醇-乙酸法和混合溶剂法对各样品的龙葵素进行提取并初步纯化^[6],用紫外可见分光光度计测定其含量,比较各溶剂系统的提取效果和回收率,找出提取最佳的溶剂系统。

乙醇法:分别准确称取 40 g 马铃薯薯皮、薯肉、薯芽鲜样品,将其分别置于 500 mL 的圆底烧瓶中,用 95%乙醇回流 4 h。冷却,过滤。滤液旋转蒸发至浸膏状,然后用 5%硫酸溶解,过滤。滤液用浓氨水调节 pH 值为 10~11 后离心 10 min。取沉淀重复用 1%氨水洗涤,离心 2 次,即得粗样品。

乙醇-乙酸法(双溶剂法)^[7]:分别准确称取 40 g 马铃薯薯皮、薯肉、薯芽鲜样品,将其分别置于 500 mL 的圆底烧瓶中,加入乙醇-乙酸混合液(体积比为 100:30),用磁力搅拌器搅拌 15 min,过滤。将滤液和样品装入索氏脂肪抽提器中,调节温度至 55~65 °C,水浴抽提 16 h,将滤液减压旋转回收至浸膏状,用 5%硫酸溶解残留物,过滤。滤液中加入浓氨水调节 pH 值为 10~11,冷冻离心。沉淀用 1%氨水洗涤至洗涤液澄清,取沉淀干燥,即得粗样品。

混合溶剂法:参照 Bushway 等^[8]的方法,分别准确称取 40 g 马铃薯薯皮、薯肉、薯芽鲜样品,

将其分别置于 500 mL 的圆底烧瓶中,加体积比为 500:300:200 的乙醇、乙腈、冰乙酸混合提取液,搅拌浸提 20 min,过滤。残渣再用等体积的提取液浸提 2 次(时间同上),合并滤液,旋转蒸发至约 18 mL。浓缩液加 8 mL 冰乙酸,然后用 12~20 mL 提取液将其转移至离心杯中,超声波处理 5 min,高速智能冷冻离心 20 min。取上清液,加 80 mL 浓氨水,70 °C 水浴保温 30 min,4 °C 下静置 6~8 h,充分沉淀。沉淀按上法洗涤 3 次后用 1%氨水洗涤,离心,洗涤,直至洗涤液澄清。取沉淀烘干即得粗样品。

1.3.4 样品溶液的制备

将用上述 3 种方法提取的一定量粗样品用 1%硫酸定容到 10 mL,摇匀,作为样品溶液。

1.3.5 样品分析条件及方法

紫外比色法测定方法:龙葵素在酸性条件下与甲醛形成稳定的紫红色络合物,其含量与颜色深浅呈正相关。取龙葵素标准溶液在 190~800 nm 处进行扫描,发现溶液在 530 nm 处有最大吸收,因此选择 530 nm 作为测定波长。用外标法测定溶液吸光度。从标准曲线上查出样品液龙葵素浓度,计算出龙葵素含量。测定龙葵素时,取薯皮、薯肉及薯芽内标制备液各 1 mL,按制作标准曲线的操作步骤,以 1 mL 1%的硫酸为空白,用紫外可见分光光度计测溶液吸光度^[9]。

液-质联用测定法^[10]:在 pH 值为 5 的条件下,通过测定龙葵素各组分的响应度,比较 3 种提取法的提取率高低。

2 结果与分析

2.1 紫外比色法的测定结果

利用上述 3 种溶剂系统和测定方法,分别对马铃薯的薯芽、薯皮、薯肉 3 个样品的龙葵素进行提取和测定,结果如表 2。

表 2 结果表明,在供试的 3 种溶剂系统中,以双溶剂($V_{\text{乙醇}}:V_{\text{乙酸}}=100:30$)的提取效果最好,提取率最高。若以此为 100%计算,则混合溶剂($V_{\text{乙醇}}:V_{\text{乙腈}}:V_{\text{氯仿}}=500:300:200$)的提取率在 95%以上,单溶剂的提取率为 79%以上。内标样品的回收率也以双溶剂为最高,平均可达 94.3%。混合溶剂的回收率平均为 89.3%。单溶剂的回收率平均为 75%。提取率和回收率的变化趋势是一致的。

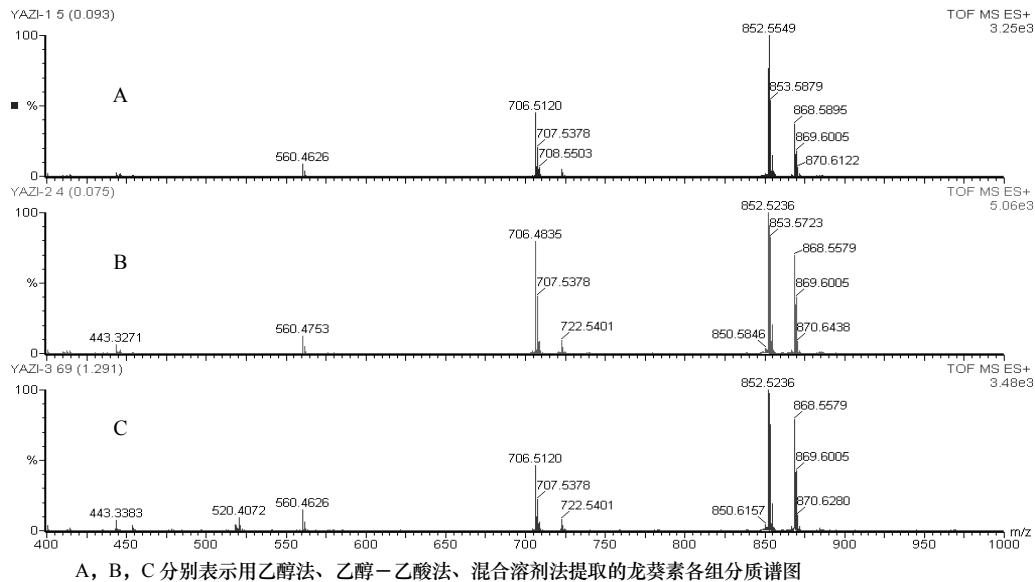
表 2 用不同测量方法测得的龙葵素的含量、提取率和回收率
Table 2 Extraction and recovery ratio of solanine extracted by different solvent systems

材料	乙醇 法			乙醇－乙酸法			混合溶剂法		
	含量/(mg·(100 g) ⁻¹)	提取率/%	回收率/%	含量/(mg·(100 g) ⁻¹)	提取率/%	回收率/%	含量/(mg·(100 g) ⁻¹)	提取率/%	回收率/%
薯皮	28.3	79.5	74.0	26.6	100	92.0	28.2	95.2	85.0
薯肉	6.2	86.1	75.0	6.7	100	97.0	6.9	97.1	90.0
薯芽	52.1	92.7	76.0	53.7	100	94.0	53.5	98.5	93.0

2. 2 不同提取方法下的龙葵素样品的液－质联用分析

取用 3 种提取方法从薯芽中提取的龙葵素晶体各 0.100 g 于小橡皮试管中，单溶剂法和双溶剂法提取得到的龙葵素晶体用 5 mL 乙醇溶解。混合溶剂提取得到的龙葵素晶体用 5 mL 混合溶剂溶解。根据龙葵素是生物碱的性质，在 pH 为 5 的条件下进行液－质联用分析^[11]。

图 2 中各峰分别对应表 1 中龙葵素各组分的相对分子量，A，B，C 各图谱右上角的 TOF MS ES+ 为响应度。一般情况下，响应度越大，各成分的含量也越大。图 2 中 B 的响应度最大，即用乙醇－乙酸法提取的龙葵素各组分的响应度最大，所以，以乙醇－乙酸为溶剂提取的龙葵素各组分的含量最大，表明乙醇－乙酸法为提取龙葵素的最佳方法。



A，B，C 分别表示用乙醇法、乙醇－乙酸法、混合溶剂法提取的龙葵素各组分质谱图

图 2 龙葵素各组分质谱图
Fig.2 The mass spectra of solanine

参考文献:

[1] 熊兴耀,刘明月,何长征.马铃薯生产实用技术[M].长沙:湖南科学技术出版社,2006.

[2] 段光明,冯彩萍.马铃薯糖苷生物碱[J].植物生理学通讯,1992,28(6):457-461.

[3] 段光明,刘 加,李 霞.马铃薯糖苷生物碱的生物学作用及开发利用[J].资源开发与市场,1995,11(2):61-65.

[4] 杨 显,王学工.马铃薯生物碱的高效液相色谱分析[J].中国公共卫生,1995,11(3):133-134.

[5] 李春禄.光照与温度对马铃薯绿化及龙葵素含量的影响[J].马铃薯杂志,1994,8(2):124-125.

[6] 段光明,宗 会.不同溶剂系统对马铃薯糖苷生物碱的提取效果[J].植物生理学通讯.1993,29(5):365-368.

[7] Haddadin M S Y, Humeid M A, Qaroot F A, et al. Effect of exposure to light on the solanine content of two varieties of potato(*Solanum tuberosum*) popular in Jordan [J]. Food Chemistry, 2001, 73: 205-208.

[8] Bushway R J, Bureau J L, Srickney M R. A new efficient method for extracting glycolkaloids from dehydrated potatoes[J]. J Agric Food Chem, 1985, 31: 45.

[9] Coxon D T, Price K R, Jones P G. A simplified method for the determination of total glycoalkaloids in potato tubers[J]. Sci Food Agric, 1979, 30: 1043-1049.

[10] Friedman M, Henika P R, Mackey B E. Feeding of potato, tomato and eggplant alkaloids affects food consumption and body and liver weights in mice[J]. Nutr, 1996, 126(4): 989-999.

[11] 王守兰,朱 佳.高效液相色谱法测定马铃薯中α-茄碱含量[J].食品科学,1999,20(6):60-61.

责任编辑:王赛群
英文编辑:罗文翠

马铃薯中龙葵素的提取方法

作者: 张薇, 熊兴耀, 李霞, ZHANG Wei, XIONG Xing-yao, LI Xia
作者单位: 张薇, 李霞, ZHANG Wei, LI Xia (湖南农业大学, 理学院, 湖南, 长沙, 410128), 熊兴耀, XIONG Xing-yao (湖南农业大学, 园艺园林学院, 湖南, 长沙, 410128)
刊名: 湖南农业大学学报 (自然科学版) 
英文刊名: JOURNAL OF HUNAN AGRICULTURAL UNIVERSITY (NATURAL SCIENCES)
年, 卷(期): 2006, 32 (6)
被引用次数: 6次

参考文献(11条)

1. Coxon D T; Price K R; Jones P G A simplified method for the determination of total glycoalkaloids in potato tubers 1979
2. Bushway R J; Bureau J L; Srickney M R A new efficient method for extracting glycoalkaloids from dehydrated potatoes 1985
3. Haddadin M S Y; Humeid M A; Qaroot F A Effect of exposure to light on the solanine content of two varieties of potato (*Solanum tuberosum*) popular in Jordan [外文期刊] 2001 (2)
4. 段光明; 宗会 不同溶剂系统对马铃薯糖苷生物碱的提取效果 1993 (05)
5. 李春禄 光照与温度对马铃薯绿化及龙葵素含量的影响 1994 (02)
6. 杨显; 王学工 马铃薯生物碱的高效液相色谱分析 1995 (03)
7. 王守兰; 朱佳 高效液相色谱法测定马铃薯中 α -茄碱含量 1999 (06)
8. Friedman M; Henika P R; Mackey B E Feeding of potato, tomato and eggplant alkaloids affects food consumption and body and liver weights in mice [外文期刊] 1996 (04)
9. 段光明; 刘加; 李霞 马铃薯糖苷生物碱的生物学作用及开发利用 [期刊论文] - 资源开发与市场 1995 (02)
10. 段光明; 冯彩萍 马铃薯糖苷生物碱 1992 (06)
11. 熊兴耀; 刘明月; 何长征 马铃薯生产实用技术 2006

本文读者也读过(10条)

1. 张薇, 熊兴耀 马铃薯龙葵素提取方法的比较 [会议论文] - 2006
2. 张薇, 文雄, 潘双银, 熊兴耀, ZHANG Wei, WEN Xiong, PAN Shuang-yin, XIONG Xing-yao 微波辅助提取马铃薯龙葵素 [期刊论文] - 园艺学报 2008, 35 (9)
3. 吴耘红, 江成英, 王拓一, Wu Yunhong, Jiang Chengying, Wang Tuoyi 储藏条件对马铃薯渣中龙葵素含量影响的研究 [期刊论文] - 农产品加工 · 学刊 2008 (7)
4. 刘春华, 李春丽, 尹桂豪 马铃薯及其制品中龙葵素的研究进展 [期刊论文] - 安徽农业科学 2010, 38 (7)
5. 巩江, 倪士峰, 邱莉惠, 吴一飞, 全瑛, 骆蓉芳, 赵桂仿 龙葵素的药理 · 毒理及药用研究 [期刊论文] - 安徽农业科学 2009, 37 (9)
6. 霍权恭, 范璐, HUO Quan-gong, FAN Lu 储藏条件对马铃薯品质的影响 [期刊论文] - 河南工业大学学报 (自然科学版) 2005, 26 (6)
7. 张磊娜 马铃薯的妙用 [期刊论文] - 全科护理 2008, 6 (7)
8. 郑秋锋 饲料中龙葵素的测定方法和限量研究 [学位论文] 2003
9. 任志远 一起马铃薯龙葵素引起的食物中毒 [期刊论文] - 疾病监测 2008, 23 (5)
10. 江成英, 吴耘红, 王拓一, Jiang Chengying, Wu Yunhong, Wang Tuoyi 固态发酵马铃薯渣生产饲料过程中龙葵素含量变化的研究 [期刊论文] - 粮食与饲料工业 2010 (12)

引证文献(9条)

1. 钱天寿, 康孟利, 凌建刚, 胡远党 洋芋安全贮藏的研究进展 [期刊论文] - 农产品加工 · 创新版 2011 (11)
2. 钱天寿, 康孟利, 凌建刚, 胡远党 洋芋安全贮藏的研究进展 [期刊论文] - 农产品加工 · 创新版 2011 (11)
3. 张舵 马铃薯中龙葵素提取方法的研究 [期刊论文] - 科技信息 2011 (32)
4. 刘春华, 李春丽, 尹桂豪 马铃薯及其制品中龙葵素的研究进展 [期刊论文] - 安徽农业科学 2010 (7)
5. 江成英, 吴耘红, 王拓一 固态发酵马铃薯渣生产饲料过程中龙葵素含量变化的研究 [期刊论文] - 粮食与饲料工业 2010 (12)
6. 不同生物制剂对青贮马铃薯茎叶品质的影响 [期刊论文] - 安徽农业科学 2009 (27)
7. 巩江, 倪士峰, 邱莉惠, 吴一飞, 全瑛, 骆蓉芳, 赵桂仿 龙葵素的药理 · 毒理及药用研究 [期刊论文] - 安徽农业科学 2009 (9)
8. 张薇, 文雄, 潘双银, 熊兴耀 微波辅助提取马铃薯龙葵素 [期刊论文] - 园艺学报 2008 (9)
9. 吴耘红, 江成英, 王拓一 储藏条件对马铃薯渣中龙葵素含量影响的研究 [期刊论文] - 农产品加工 · 学刊 2008 (7)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_hunannydx200606025.aspx