

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2014)06-0331-04

利用HPLC法测定不同马铃薯品种茎叶中的 α -茄碱含量

罗爱花^{1*}, 徐美蓉², 陆立银¹, 胡新元¹, 文国宏¹, 谢奎忠¹

(1. 甘肃省农业科学院马铃薯研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省农业科学院质量标准研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 马铃薯茎叶具有较高的饲用价值, 但马铃薯茎叶中 α -茄碱(龙葵素)含量高, 适口性差, 不易青贮, 是影响马铃薯茎叶利用的主要因素。研究马铃薯茎叶中龙葵素的含量变化可为其利用提供安全技术保障。将马铃薯茎叶收获后风干粉碎, 用乙醇-乙酸法提取, 高效液相色谱法(HPLC法)测定混合样品中的 α -茄碱含量, 研究不同马铃薯品种茎叶中 α -茄碱含量的差异。结果表明: ‘费乌瑞它’、‘克新2号’、‘陇薯3号’、‘陇薯6号’、‘陇薯7号’5个马铃薯品种茎叶样品中 α -茄碱的含量分别为0.138, 0.171, 0.159, 0.185和0.199 mg/g。茎叶中 α -茄碱的含量存在基因型差异。

关键词: 马铃薯; 品种; 茎叶; α -茄碱

HPLC Method for Determination of α -Solanine Content in Stem and Leaf of Different Potato Varieties

LUO Aihua^{1*}, XU Meirong², LU Liyin¹, HU Xinyuan¹, WEN Guohong¹, XIE Kuizhong¹

(1. Institute of Potato, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: Stem and leaf of potato have high feeding values, but high content of α -solanine in potato stem and leaf, which leads to poor palatability and difficulty in silage storage, is the main factor affecting utilization for potato stem and leaf. Understanding the content changes in α -solanine of stem and leaf could provide technical support for their safe use. After harvesting, stem and leaf of potato were dried and crushed, the mixed samples were extracted with ethanol acetic for α -solanine, and then high performance liquid chromatography (HPLC method) was used to determine its changes in different potato varieties. The results showed that the α -solanine contents of stem and leaf in 'Favorita', 'Kexin 2', 'Longshu 3', 'Longshu 6', and 'Longshu 7' were 0.138, 0.171, 0.159, 0.185 and 0.199 mg/g, respectively. The α -solanine content of stems and leaves has genotypic difference.

Key Words: potato; variety; stem and leaf; α -solanine

α -茄碱(Solanine)称龙葵素, 也叫马铃薯素, 是从马铃薯、西红柿、茄子等茄科植物中发现的有毒的糖苷生物碱, 具有抗肿瘤、抑菌、强心、镇痛等多种功效^[1-3]。目前对马铃薯块茎中 α -茄碱

含量的提取以及测定已有很多不同的报道^[4-6], 而对马铃薯茎叶、叶片中 α -茄碱含量的研究报道相对较少。马铃薯茎叶柔嫩多汁, 青贮马铃薯叶的营养成分明显高于许多青贮植物的茎叶, 有较高

收稿日期: 2014-09-19

基金项目: 甘肃省农业科学院2012年青年基金(2012GAAS15-11); 甘肃省农业科学院2012年科技创新项目(2012GAAS08)。

作者简介: 罗爱花(1977-), 女, 副研究员, 主要从事马铃薯栽培及抗逆生理研究。

*通信作者(Corresponding author): 罗爱花, E-mail: florancehua@163.com。

的饲用价值^[7,8]。但是马铃薯茎叶 α -茄碱含量高, 适口性差, 含糖少, 不易青贮, 水分含量高, 难以保存。 α -茄碱是影响马铃薯茎叶利用的主要因素, 通过研究马铃薯茎叶中 α -茄碱的含量变化可为其利用提供安全技术保障。马铃薯植株中糖苷生物碱的含量根据品种及起源、生育时期、器官、栽培和贮藏条件等不同而有比较大的差异^[9]。了解马铃薯整个植株中 α -茄碱含量的高低, 对马铃薯茎叶利用乃至生物碱开发有着极其重要的意义。

本试验通过系统优化筛选 HPLC 分析条件, 建立了快速、准确分析马铃薯中 α -茄碱的 HPLC 方法, 为马铃薯中 α -茄碱提取物的工业化生产和开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

1.1.1 材料

以马铃薯品种‘费乌瑞它’、‘克新2号’、‘陇薯3号’、‘陇薯6号’、‘陇薯7号’的茎叶风干粉碎混合样为试验材料。

1.1.2 仪器

Waters 2595 高效液相色谱仪(美国 Waters), 2487 紫外检测器(美国 Waters)。

1.1.3 试剂

α -茄碱(标样, Sigma 公司, 纯度 $\geq 99\%$), 乙醇(AR 95%), 冰醋酸(AR), 甲醛(AR), 乙腈(CP), 氨水(AR), 硫酸(AR), 甲醇(CP), 磷酸(AR)。

1.2 色谱条件

色谱柱: C18 不锈钢柱(ODS 5 μm , 4.6 mm $\times$ 25 cm); 流动相: 乙腈/磷酸二氢钾(30 : 70, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 20 μL 。

1.3 试验方法

1.3.1 样品制备

将马铃薯茎秆和叶片经风干、粉碎混匀待用。称取粉碎后马铃薯茎叶混合样 12 g, 加无水乙醇/乙酸混合提取液(100 : 30, V/V) 搅拌 10 min, 70 $^{\circ}\text{C}$ 回流 10 h 后过滤, 滤液旋转蒸发至浸膏状, 用 5% 硫酸 20 mL 溶解膏状物, 超声处理 45 min 后过滤, 滤液用浓氨水调至 pH = 10, 低温离心(5 000 r/min)

15 min, 弃去上清液, 沉淀用 1% 氨水洗涤, 至洗涤液澄清, 将结晶状沉淀用甲醇溶解并定容至 10 mL, 过 0.45 μm 膜过滤备用。

1.3.2 α -茄碱含量测定

α -茄碱标准曲线测定: 准确称取 α -茄碱标准品 30 mg, 以甲醇溶解, 分别配制成 0.15、0.30、0.60、1.20、1.80、2.40 和 3.00 mg/mL 的标准液, 在上述色谱条件下进样 10 μL , 以 α -茄碱的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

马铃薯茎叶中 α -茄碱含量定性分析: 在最优色谱条件下对马铃薯茎叶中 α -茄碱成分进行分离。采用保留时间对照法和内标法确定 α -茄碱的出峰时间。准确称取马铃薯茎叶混合样品 12 g, 分别加入一定量的 α -茄碱标准品, 以峰面积外标法定量测定混合样中 α -茄碱的含量, 5 次重复, 计算平均回收率和相对标准偏差(RSD)。

马铃薯茎叶中 α -茄碱定量的测定: 取各提取样品溶液 10 μL 进样, 在最优色谱条件下进行 HPLC 分析, 测定 α -茄碱含量。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

在 190~400 nm 波段对 α -茄碱标准溶液进行紫外扫描, 确定最大吸收峰波长为 208 nm。当检测波长为 208 nm, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速为 1.0 mL/min, 流动相为乙腈/磷酸二氢钾(30 : 70, V/V)时, 马铃薯茎叶中 α -茄碱与其他峰都可得到分离。

2.2 标准曲线的拟合度

以确立的最优色谱条件进行测定标准曲线值, 以 α -茄碱的浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线得回归方程: $Y = 7.21 \times 10^5 X + 3.4 \times 10^3$, 相关系数 $r = 0.999$ 。重复进样 5 次, 计算相对标准偏差(RSD)=0.57% (<1%), 表明方法重现性良好。

2.3 标准品与马铃薯茎叶样品中 α -茄碱的定性分析

用 HPLC 测定标样的 α -茄碱, 出峰时间和分离效果如图 1 所示。从图 1 可以看出, α -茄碱在确立的最优色谱条件下的保留时间约 4.755 min, 分离较好。在确立的最优色谱条件下进行 HPLC 分析, 样品及外标中的 α -茄碱峰保留时间与 α -茄碱标样的基本重合, 分别为 4.765 和 4.772 min, 并与

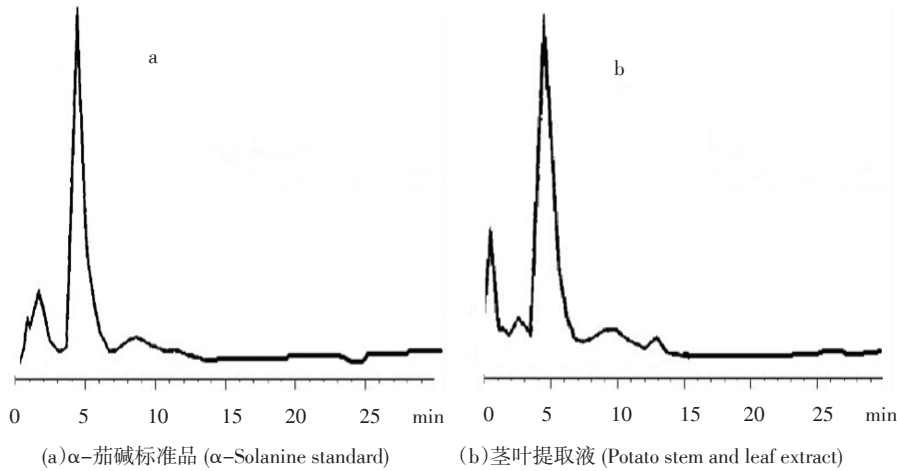


图1 α-茄碱标准品和样品色谱图
Figure 1 HPLC chromatogram of α-solanine standard and sample

表1 不同马铃薯品种茎叶中α-茄碱含量 Table 1 α-Solanine content in stem and leaf mixed samples of different potato varieties	
试验材料 Experimental material	α-茄碱含量 (mg/g) α-Solanine content
费乌瑞它 Favorita	0.138 eE
克新2号 Kexin 2	0.171 cC
陇薯3号 Longshu 3	0.159 dD
陇薯6号 Longshu 6	0.185 bB
陇薯7号 Longshu 7	0.199 aA

注：平均数比较采用Duncan比较法；大小写字母分别表示在0.01和0.05显著水平。
Note: Means were compared using Duncan's multiple range test. Capital and small letters represent significant difference at the levels of 0.01 and 0.05, respectively.

其他组份达到了较好的基线分离。
2.4 马铃薯茎叶中α-茄碱的HPLC法测定
将1.3.1中制备好的5种样液在确立的最优色谱

条件下测定，根据外标法计算其中的α-茄碱含量，结果见表1。

通过乙醇/乙酸混合提取，HPLC法测定5个马铃薯品种茎叶混合风干样品中的α-茄碱含量，结果表明，5个品种中，晚熟品种‘陇薯7号’茎叶混合样中的α-茄碱含量最高，早熟品种‘费乌瑞它’茎叶混合样品中的α-茄碱含量最低。统计分析表明，参试品种间茎叶混合样品的α-茄碱含量存在基因型差异，且差异水平达到极显著水平。

2.5 回收率与精密度

称取已测定了α-茄碱含量的正常马铃薯茎叶提取样品，分别加入一定质量的α-茄碱标准品，按样品测定方法进行测定，见表2。结果显示，该试验回收率较高，总平均回收率为94.3%，因此检测结果可靠。

将同一样品取样3次，进样测定α-茄碱含量，做精密度实验,测定结果见表3。5个马铃薯品种茎叶α-茄碱含量多次测定结果RSD < 1%，表明该方法精密度良好，测定值准确可靠。

表2 马铃薯茎叶中α-茄碱的回收率
Table 2 Collection ratio of α-solanine content in potato stem and leaf

组别 Group	加标量 (mg) Addition of scalar	回收率 (%) Collection ratio			总平均回收率 (%) Total average collection ratio
1	0.50	94.8	94.2	95.3	94.3
2	0.25	93.9	94.1	93.5	

表3 试验结果的精密度(mg/g)
Table 3 Degree of precision for experimental results

试验材料 Experimental material	I	II	III	平均值 Average	标准偏差 Standard deviation	相对标准偏差 RSD (%)
费乌瑞它 Favorita	0.138	0.137	0.139	0.1380	0.001	0.72
克新2号 Kexin 2	0.170	0.172	0.171	0.1710	0.001	0.58
陇薯3号 Longshu 3	0.160	0.159	0.157	0.1587	0.0015	0.95
陇薯6号 Longshu 6	0.185	0.184	0.185	0.1847	0.0006	0.32
陇薯7号 Longshu 7	0.196	0.198	0.199	0.1987	0.0015	0.75

3 讨 论

有研究表明, 马铃薯茎叶具有较好的饲用价值, 1 kg 茎叶含有 0.12 个饲料单位, 20~40 g 可消化蛋白质, 80 mg 胡萝卜素, 干物质含量为 18.4%, 粗蛋白质占干物质的 16.2%, 粗纤维占干物质的 20.8%, 粗脂肪占干物质的 1.8%, 钙含量为 1.39%, 磷含量为 0.14%^[6,8]。随着马铃薯产业的不断发展, 会产生越来越多的马铃薯茎叶废弃物而得不到有效利用, 浪费了资源。然而马铃薯茎叶中含有有毒的 α -茄碱, 导致了茎叶适口性差, 加上茎叶中含糖量少, 水分含量高, 难于保存利用, 而且不同马铃薯品种及其起源、生育时期、器官、栽培和贮藏条件等均对植株中糖苷生物碱的含量存在很大影响。

不同品种(系)马铃薯龙葵素含量不同, 这和本试验证明马铃薯茎叶中龙葵素含量存在基因型差异的结果一致。同一品种的马铃薯若遭受机械损伤、变绿、虫蛀、长芽和局部霉变等均会导致龙葵素含量的增加, 研究表明, 受伤可使块茎龙葵素含量高出正常块茎 16 倍之多^[10]。韩俊清^[8]研究表明, 马铃薯茎叶经干制后营养损失大, 霉菌滋生, 适口性更差。 α -茄碱具有一定的光、热稳定性, 光照会导致龙葵素增多, 因而研究马铃薯茎叶中 α -茄碱的含量变化可为其安全利用提供理论和技术支持。有研究表明对收获后的马铃薯茎叶预干处理之后进行生物添加剂, 如乳酸菌制剂、酶制剂等处理可以改善马铃薯茎叶青贮饲料品质^[11-14], 这对了解马铃薯茎叶中 α -茄碱的含量变化和合理利用丰富的马铃薯资源提供了技术支撑。

本课题组成员目前正在开展对不同马铃薯品种茎叶进行生物制剂添加处理来研究对茎叶青贮饲料品质的影响研究, 初步发现对茎叶进行预干处理后

添加乳酸菌和酶制剂后青贮饲料品质较优, 对其中 α -茄碱含量的变化影响如何有待进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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, 200, 73: 205-208.
- [4] 张舵. 马铃薯中龙葵素提取方法的研究[J]. 科技信息, 2011, 32: 26-27.
- [5] 张薇, 文雄, 潘双银, 等. 微波辅助提取马铃薯龙葵素[J]. 园艺学报, 2008, 35(9): 1393-1396.
- [6] 张薇, 熊兴耀, 李霞. 马铃薯中龙葵素的提取方法[J]. 湖南农业大学学报, 2006, 32(6): 665-667.
- [7] 胡跃. 常用青贮饲料添加剂的种类及用法[J]. 贵州畜牧兽医, 2000(3): 39-40.
- [8] 韩俊清. 马铃薯叶的青贮[J]. 贵州畜牧兽医, 2001(4): 35.
- [9] 岳红, 卢其能, 赵昶灵, 等. 贮藏条件对马铃薯龙葵素和叶绿素含量的影响[J]. 浙江农业科学, 2011(5): 1082-1084.
- [10] 黄红苹, 郭华春, 王琼, 等. 云南马铃薯品种(系)块茎中的龙葵素含量测定[J]. 中国农业科学, 2011, 44(7): 1512-1518.
- [11] 汪鸿儒. 青贮马铃薯茎叶的研究报告[J]. 甘肃农业大学学报, 1982(S1): 1-4.
- [12] 张斌, 饶力群, 刘高. 国内饲用酶制剂的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2007(2): 120-122.
- [13] 徐亚姣, 李长慧. 不同生物制剂对青贮马铃薯茎叶品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(27): 13010-13012, 13066.
- [14] 李伟, 刘涛, 陆占国. 马铃薯茎叶再利用研究[J]. 作物杂志. 2009 (3): 52-54.