

## 微波辅助提取马铃薯龙葵素

张薇, 文雄, 潘双银, 熊兴耀\*

(湖南农业大学理学院, 长沙 410128)

**摘要:** 应用微波辐射技术, 用乙醇—乙酸双溶剂法从‘中薯3号’马铃薯薯皮中提取了马铃薯植株和块茎中的生物碱龙葵素, 对所得初提物进行了纯化, 并应用 HPLC 技术对提取的龙葵素进行了定量分析。通过 4 因素 3 水平正交试验确定了本法最佳提取参数。结果表明微波辐射提高了提取效率并缩短了提取时间。正交试验所得最佳提取流程是: 将样品和乙醇—冰乙酸 (体积比为 100:10) 按 10 (g):200 (mL) 的比例混合, 在 540 W 的微波功率下提取 6 min。

**关键词:** 马铃薯; 微波辅助提取; 龙葵素; HPLC

**中图分类号:** S 532    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0513-353X (2008) 09-1393-04

## Microwave-assisted Extraction of Solanine from Potato (*Solanum tuberosum* L.)

ZHANG Wei, WEN Xiong, PAN Shuang-yin, and XIONG Xing-yao\*

(College of Science, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** Solanine was extracted from peel of a potato variety ‘Zhong Shu 3’ by using microwave and ethanol/acetic acid solvent. Crude extract was further purified and then qualified by HPLC. The optimized extraction parameters were obtained through a 4 factor, 3 level orthogonal experiment. The results showed that the use of microwave not only increased the extraction efficiency but also reduced the extraction time. The best extraction procedure obtained from the orthogonal experiment was first to mix peel powder with ethanol/acetic acid (100/10, V/V) solvent at the ratio of 10 g of powder to 200 mL solvent, and then subject the mix to microwave irradiation for 6 min at the power level of 540 W.

**Key words:** *Solanum tuberosum* L.; microwave-assisted extraction; solanine; high-performance liquid chromatography

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 植株和块茎中普遍含有一种甾类生物碱, 称为茄碱。由于茄碱最早是在龙葵中发现的, 所以又将茄碱称为龙葵素, 而且茄碱被认为是马铃薯生物碱的惟一成分。马铃薯龙葵素的主要成分为  $\alpha$ -茄碱 ( $\alpha$ -solanine) 和  $\alpha$ -卡茄碱 ( $\alpha$ -chaconine), 尤以  $\alpha$ -茄碱含量最高。

马铃薯龙葵素能抑制消化道肿瘤细胞的增殖, 对胃癌、直肠癌的抑制效果更佳, 因而有开发利用价值 (段光明和冯彩萍, 1992; 段光明等, 1995; Haddadin et al., 2001)。

马铃薯发芽后龙葵素含量增高, 特别是带芽薯皮部分龙葵素含量尤高, 故作者以带芽薯皮为原料提取马铃薯龙葵素。马铃薯龙葵素采用乙醇—乙酸双溶剂法提取的方法作者已报道过 (张薇等, 2006)。为进一步提高提取效率, 我们借鉴其它植物中生物碱提取试验方法 (黎海彬等, 2005; 刘覃等, 2005; 范华均等, 2006), 采用微波辐射来提高提取马铃薯龙葵素的效率, 通过正交试验进

收稿日期: 2008-05-26; 修回日期: 2008-08-13

基金项目: 国家科技部‘十五’攻关项目 (2005DA531); 湖南农业大学基础基金项目 (62020206003)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: xiongxingyao@126.com)

一步获得了龙葵素的最佳提取方案,同时建立了对初提物进行纯化的方法,并用高效液相色谱技术定量测定所提取的龙葵素的含量。现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于 2007 年在湖南农业大学理学院应用化学实验中心完成。马铃薯品种为‘中薯 3 号’。在室内窗台日光照射下作发芽处理 15~20 d。

龙葵素标样:  $\alpha$ -茄碱标准品(购于 Sigma 公司,纯度  $\geq 95\%$ )。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 微波辅助提取的正交设计

用乙醇—乙酸作提取溶剂,用‘中薯 3 号’马铃薯带芽薯皮作为提取原材料,在已报道方法(张薇等,2006)的基础上增加微波辐射作为辅助提取手段。出于对微波辐射时间和功率、仪器损耗和溶剂用量的综合考虑,本研究确定了正交试验各因素的水平(表 1)。

#### 1.2.2 提取方法

将‘中薯 3 号’马铃薯带芽薯皮洗净,切碎,置于恒温烘箱中(60  $^{\circ}\text{C}$ )干燥 24 h,干燥后用微型植物粉碎机粉碎成粉末,备用。

分别准确称取 9 份薯皮粉末样品 30.0 g(相当于鲜样质量 160.0 g),按表 1 进行  $L_9(3^4)$  正交试验设计。

在样品中加入乙醇—冰乙酸提取液,用微波进行辅助提取(WMX-III-A 型微波闭式 COD. TN. TP 消解仪,广东韶关科力实验仪器有限公司)。抽滤后,将滤液和残渣分装入索氏提取器中,在 55~65  $^{\circ}\text{C}$  下抽提 16 h。置滤液于旋转蒸发仪上旋转蒸发至浸膏状,然后用适量 1% 硫酸溶解,过滤。用浓氨水调节滤液 pH 至 10.5 左右,密封后于冰箱中 4  $^{\circ}\text{C}$  下静置过夜,使龙葵素充分沉淀。CR21G 型高速冷冻智能离心机(日本日立公司)4  $^{\circ}\text{C}$  离心 20 min,收集沉淀。用少量 1% 氨水冲洗后再离心,重复两次至洗涤液澄清。离心后弃上清液,取沉淀烘干即得粗产品。

#### 1.2.3 龙葵素的纯化

将一定量的龙葵素粗产品加热溶解于乙醇—冰乙酸(体积比 100:10)中,稍冷却后加入少量活性炭,继续加热至沸腾,趁热过滤,滤液加浓氨水调节 pH 至 10.5 左右后于冰箱中 4  $^{\circ}\text{C}$  下静置过夜。4  $^{\circ}\text{C}$  高速冷冻离心 20 min,取沉淀,干燥后用无水乙醇加热溶解。趁热过滤后,将滤液置于旋转蒸发仪上旋转蒸发浓缩,浓缩液于 4  $^{\circ}\text{C}$  下静置过夜,得到透明的针状结晶,抽滤后烘干即得龙葵素纯化产品。

#### 1.2.4 马铃薯中 $\alpha$ -茄碱含量的测定(HPLC)

高效液相色谱仪: Waters2690(美国 Waters 公司);色谱柱: Phenomenex- $\text{C}_{18}$ (规格 2.1 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ )。流动相: 乙腈(A)—三氟乙酸(三氟乙酸浓度为 0.1%, B)。洗脱梯度: 0 min, 15% A, 85% B; 10 min, 75% A, 25% B; 11 min, 15% A, 85% B; 20 min, 15% A, 85% B。流速: 0.5 mL  $\cdot$  min $^{-1}$ ; 检测波长: 210 nm; 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ 。

准确称取 0.0020 g  $\alpha$ -茄碱标准品,用少量 50% 乙腈溶解后,定容于 2.00 mL 容量瓶中,得到浓度为 1  $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  的  $\alpha$ -茄碱标准溶液。分别进样 2.5、5、10、15、20  $\mu\text{L}$  标准溶液进行 HPLC 分析,确定  $\alpha$ -茄碱的吸收峰面积。以  $\alpha$ -茄碱含量为横坐标,吸收峰面积为纵坐标作标准曲线,计算回归方程。

马铃薯龙葵素粗产品中  $\alpha$ -茄碱含量的测定: 准确称取提取所得的龙葵素粗产品 0.0100 g,用少量 50% 乙腈溶解后,定容至 10.00 mL 容量瓶中。取 20  $\mu\text{L}$  进样,在上述色谱条件下进行 HPLC 分析,

测定  $\alpha$ -茄碱吸收峰面积,按标准曲线算出  $\alpha$ -茄碱的含量。

准确称取龙葵素提纯品 0.0100 g,用少量 50% 乙腈溶解后,定容至 10.00 mL 容量瓶中。进样 20  $\mu$ L,在色谱条件下进行 HPLC 分析,测定  $\alpha$ -茄碱吸收峰面积,并计算  $\alpha$ -茄碱的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 微波辅助技术提取

按照正交设计方案,从‘中薯 3 号’马铃薯带芽薯皮样品 30.00 g (干样质量) 中微波辅助提取出龙葵素并用高效液相色谱测定了  $\alpha$ -茄碱含量。所得结果见表 1。

由表 1 可见,提取得率最高组合为  $A_2B_3C_1D_3$ , 达到  $5.110 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。方差分析表明,影响显著性顺序为微波辐射功率 > 微波辐射时间 > 溶剂配比 > 料液比。因此微波辅助提取的最佳条件为  $A_2B_3C_1D_3$ ,即以乙醇:乙酸体积比为 100:10,料液比 10 (g):200 (mL),在 540 W 的微波功率下提取 6 min。

表 1 正交试验结果  
Table 1 The result of orthogonal experiments

编号 No.	A 微波辐射功率/W Power level of microwave irradiation	B 微波辐射时间/min Duration of microwave irradiation	C 溶剂配比 Ethanol/acetic acid solvents	D 料/g:液/mL Ratio of material to solvent	提取得率/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Extract yield
1	360 (1)	2 (1)	100:10 (1)	10:100 (1)	4.468
2	360 (1)	4 (2)	100:20 (2)	10:200 (3)	4.657
3	360 (1)	6 (3)	100:30 (3)	10:150 (2)	4.791
4	540 (2)	2 (1)	100:20 (2)	10:150 (2)	4.833
5	540 (2)	4 (2)	100:30 (3)	10:100 (1)	5.015
6	540 (2)	6 (3)	100:10 (1)	10:200 (3)	5.110
7	720 (3)	2 (1)	100:30 (3)	10:200 (3)	4.829
8	720 (3)	4 (2)	100:10 (1)	10:150 (2)	4.734
9	720 (3)	6 (3)	100:20 (2)	10:100 (1)	4.871
k1	463.9	471.0	477.1	478.5	
k2	498.6	480.2	478.8	478.6	
k3	481.1	492.4	487.8	486.5	
R	34.70	21.40	10.70	8.000	

注: k1, k2, k3 分别为在水平 1, 2, 3 下的提取得率平均值; R 为极差。

Note: k1, k2, k3 are the average extraction efficiencies obtained at level 1, 2, 3, respectively; R is extreme difference range.

### 2.2 马铃薯龙葵素的 HPLC 测定

采用保留时间对照法确定  $\alpha$ -茄碱吸收峰的位置,  $\alpha$ -茄碱与其他组分达到了较好的基线分离,保留时间为 8.313 min。以  $\alpha$ -茄碱进样量 ( $x, \mu\text{g}$ ) 为横坐标,吸收峰面积 ( $y, \text{AU} \cdot \text{s}$ ) 为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程  $y = 286893x - 194995$ ,其相关系数为  $R^2 = 0.9991$ 。得到龙葵素样品色谱图,测定  $\alpha$ -茄碱吸收峰面积,并计算出  $\alpha$ -茄碱的含量。根据粗产品的总量,计算出本提取法所得的‘中薯 3 号’马铃薯薯皮中  $\alpha$ -茄碱的含量为  $5.110 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

称取提纯品进行 HPLC 分析,提纯品  $\alpha$ -茄碱的含量约为 75%,纯度较高,达到较理想水平。

表 2 纯化龙葵素的 HPLC 测定结果  
Table 2 Quantification of purified  $\alpha$ -solanine  
extract by HPLC

进样体积/ $\mu\text{L}$ Sample volume	峰面积/ ( $\text{AU} \cdot \text{s}$ ) Peak area	测定含量/ $\mu\text{g}$ Quantified content	纯度/% Purity	平均纯度/% Average purity
20	4001976	14.63	73.15	74.62
20	4171744	15.22	76.10	

### 3 讨论

本试验中借助微波辐射改进先前报道的龙葵素提取技术,结果表明,提取率最高的组合为  $A_2B_3C_1D_3$ , 显著影响提取效率的因素依次为微波辐射功率 > 微波辐射时间 > 溶剂配比 > 原料溶剂比。由试验可知,在一定时间内,随着微波功率的增加,提取率增大较快,表明微波辅助提取功率对提取效率具有明显影响,即功率越高,提取效果越好。但功率过高,有机溶剂由于沸点较低在短时间内会急剧蒸发膨胀溢出,而功率太低,则提取时间过长。因此,最佳提取条件是以乙醇:冰乙酸体积比为 100:10,原料溶剂比为 10 (g):200 (mL),在 540 W 的微波功率下提取 6 min。以龙葵素的主要成分  $\alpha$ -茄碱计量分析结果表明,微波加热辅助提取使提取效率大为提高,原方法仅为  $2.279 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (张薇等, 2006),而本改进法增加了提出量  $2.831 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

传统热传导加热有内外温差大、细胞内温度上升慢、目标产物的溶解和扩散速度慢等的缺点,造成整个萃取过程速度较慢。微波作为一种高能电磁波,是一种内加热方式,具有能量传导快、利用效率高的特点,因而能有效地缩短萃取组分扩散到提取溶剂界面的时间,在最大限度地保持萃取物的生物活性的同时,又大大提高了萃取效率,很适合用于对热稳定的活性物质如生物碱、黄酮、苷类等的提取。此外,此法节省试剂,所需仪器设备价格低、易操作、污染少。

色谱分析结果表明,以乙腈—三氟乙酸为流动相,在 Phenomenex-C18 反相柱上采用外标法对龙葵素的主要成分  $\alpha$ -茄碱进行色谱定量分析时, $\alpha$ -茄碱标准品与其他组分达到较好的基线分离,且进样量与吸收峰面积显著线性正相关,回归方程相关系数  $R^2$  达 0.9991,说明本试验中所用色谱分析条件下所得的定量分析结果相对定量准确、可比性强。该分析方法还具有操作简便,快速省时的优点。

综上所述,采用微波加热辅助提取马铃薯龙葵素,快速、经济,而且提取效率高,值得进一步研究和推广使用。

### References

- Duan Guang-ming, Feng Cai-ping. 1992. Glycoalkaloids of potato. *Plant Physiology Communications*, 28 (6): 457–461. (in Chinese)
- 段光明, 冯彩萍. 1992. 马铃薯糖苷生物碱. *植物生理学通讯*, 28 (6): 457–461.
- Duan Guang-ming, Liu Jia, Li Xia. 1995. Biological effect of potato glycoalkaloids, its development and application. *Resource Development & Market*, 11 (2): 61–65. (in Chinese)
- 段光明, 刘加, 李霞. 1995. 马铃薯糖苷生物碱的生物学作用及开发利用. *资源开发与市场*, 11 (2): 61–65.
- Fan Hua-jun, Luan Wei, Li Gong-ke. 2006. Determination of alkaloids in *Lycoris radiata* with microwave-assisted extraction coupled with high performance liquid chromatography. *Journal of Instrumental Analysis*, 25 (3): 27–30. (in Chinese)
- 范华均, 栾伟, 李攻科. 2006. 微波辅助提取/HPLC 分析石蒜中的生物碱. *分析测试学报*, 25 (3): 27–30.
- Haddadin M S Y, Humeid M A, Qaroot F A, Robinson R K. 2001. Effect of exposure to light on the solanine content of two varieties of potato (*Solanum tuberosum*) popular in Jordan. *Food Chemistry*, 73: 205–208.
- Liu Qin, Chen Xiao-qing, Jiang Xin-yu. 2005. Study on the microwave-assisted extraction of the total steroidal alkaloids from *Solanum nigrum* L. *Natural Product Research and Development*, 17 (1): 65–68. (in Chinese)
- 刘覃, 陈晓青, 蒋新宇. 2005. 微波辅助提取龙葵中总生物碱的研究. *天然产物研究与开发*, 17 (1): 65–68.
- Li Hai-bin, Wang Yong, Li Jun-fang. 2005. Application of microwave assisted extraction technology to extraction of natural products. *Modern Food Science & Technology*, 21 (3): 148–150. (in Chinese)
- 黎海彬, 王邕, 李俊芳. 2005. 微波辅助提取技术在天然产物提取中的应用. *现代食品科技*, 21 (3): 148–150.
- Zhang Wei, Xiong Xing-yao, Li Xia. 2006. Extraction and analysis of solanine in potato. *Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences*, 32 (6): 665–667. (in Chinese)
- 张薇, 熊兴耀, 李霞. 2006. 马铃薯中龙葵素的提取方法. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 32 (6): 665–667.