

- by multiplex real-time RT-PCR using a 3'-minor groove binder-DNA probe[J]. BMC Infectious Diseases, 2005, 6(9):1-6.
- [20] 纪蕾, 韩健康, 吴晓芳, 等. 多重荧光 RT-PCR 同时检测 GI 型和 GII 型诺如病毒方法的建立[J]. 中国人兽共患病学报, 2011, 27(4):311-315.
- [21] ISO/TS 15216-2. Microbiology of food and animal feed-Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus in food using real-time RT-PCR-Part 2: method for qualitative detection [S]. 2013.
- [22] 张颖, 吴凤亮. RT-PCR 方法检测贝类中诺沃克样病毒的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(5):347-351.
- [23] 陈广全, 饶红, 张慧媛, 等. 用 RT-PCR 法检测食品中诺沃克样病毒[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(12):106-111.
- [24] Marshall J A, Bruggink L D. Laboratory diagnosis of Norwalk viruse[J]. Clin Lab, 2006, 52(11):571-581.
- [25] 卓菲, 赵洁玲, 文凤兰, 等. 实时荧光 PCR 检测诺沃克病毒的应用研究[J]. 实用预防医学, 2008, 15(3):889-890.

## 实验技术与方法

# 异丁醇萃取-高效液相色谱法测定马铃薯中 $\alpha$ -茄碱

邵慧凯<sup>1</sup>, 丘汾<sup>2</sup>, 何佳平<sup>2</sup>, 毛闪闪<sup>1</sup>, 李康<sup>1</sup>, 赵凌国<sup>2</sup>

(1. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006; 2. 深圳市福田区疾病预防控制中心, 广东 深圳 518040)

**摘要:**目的 建立异丁醇萃取和高效液相色谱法(HPLC)测定马铃薯中  $\alpha$ -茄碱含量的新方法。方法 马铃薯匀浆样品经 5% 乙酸溶液搅拌提取 30 min, 提取液调节 pH 至 11.0 后加入异丁醇进行萃取, 萃取液加热浓缩, N<sub>2</sub> 吹干。残渣经甲醇复溶, 过 0.45  $\mu$ m 滤膜后进样, HPLC 检测  $\alpha$ -茄碱含量。流动相为乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(22:78, V/V), Discovery C<sub>18</sub> 柱(150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m), 柱温 30  $^{\circ}$ C, 检测波长 210 nm, 进样量 20  $\mu$ l。结果 在 0.02 ~ 1.00 mg/ml 范围内,  $\alpha$ -茄碱的峰面积和浓度的线性关系良好( $r=0.9997$ )。检测限和定量限分别为 0.68 和 2.27  $\mu$ g/ml, 方法检出限为 1.38  $\mu$ g/g。样品在 0.04、0.40 和 2.00 mg/g 3 个添加水平下的加标回收率为 98% ~ 116%。方法精密度 RSD 为 0.16% ~ 1.79%。结论 该方法具有快速、简便、准确度和精密度高等特点, 适用于马铃薯中的  $\alpha$ -茄碱含量的快速检测。

**关键词:** 异丁醇; 萃取; 马铃薯;  $\alpha$ -茄碱; 龙葵素; 食品安全; 测定

中图分类号: R155.5; S532 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2015)05-0517-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2015.05.007

## A new method for the extraction and determination of alpha solanine in potatoes

SHAO Hui-kai, QIU Fen, HE Jia-ping, MAO Shan-shan, LI Kang, ZHAO Ling-guo

(School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Guangzhou 510006, China)

**Abstract: Objective** To develop a new method for rapid determination of alpha solanine in potatoes. **Methods** The homogenized potato sample was eluted with 5% acetic acid aqueous solution for 30 min, and it was then extracted by isobutanol. The extraction solution was evaporated by nitrogen. Subsequently the residue was redissolved in methanol and analyzed by HPLC after filtration. Separation was obtained by Discovery C<sub>18</sub> column (150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m) and mobile phase of acetonitrile-0.02 mol/L potassium dihydrogen phosphate (22:78, V/V) with flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm and the temperature was 30  $^{\circ}$ C. **Results** Good linearity was obtained for alpha solanine within the range of 0.02-1.00 mg/ml, and the  $r$  was 0.9997. The limit of detection ( $S/N=3$ ) and the limit of quantification ( $S/N=10$ ) were 0.68 and 2.27  $\mu$ g/ml. The average recoveries of different concentration levels were between 98% and 116%. The relative standard deviations (RSDs) ranged from 0.16% to 1.79%. **Conclusion** This method is fast, simple, precise and it is feasible for the determination of alpha solanine in potatoes.

**Key words:** Isobutanol; extract; potato; alpha solanine; solanine; food safety; measure

收稿日期: 2015-01-25

基金项目: 深圳市科技研发基础研究项目(JCYJ20140414100411116); 福田区卫生公益性科研项目(FTWS201304, 201458)

作者简介: 邵慧凯 男 硕士生 研究方向为药物分析 E-mail: 752509530@qq.com

通讯作者: 赵凌国 男 主管技师 研究方向为卫生检验 E-mail: zhaolingguo2008@163.com

龙葵素又称龙葵碱、龙葵毒素、马铃薯毒素等,是由葡萄糖残基和茄啶组成的一种有毒的弱碱性糖苷。龙葵素通过抑制胆碱酯酶活性而引起一系列中毒症状,其中消化系统症状包括咽喉部及口腔灼烧、恶心呕吐、腹痛、腹泻,严重可致脱水、电解质失衡、血压下降等。神经系统症状包括耳鸣、畏光、头痛、眩晕、发热、瞳孔散大、呼吸困难、颜面青紫、口唇及四肢末端呈黑色,严重可昏迷、抽搐,呼吸中枢麻痹而死亡。此外,糖苷生物碱还有致畸胎作用,导致脑畸形和脊柱裂<sup>[1-2]</sup>。

误食龙葵素含量过高的马铃薯导致的食物中毒和死亡事例在国内有大量报道<sup>[3-16]</sup>。摄食极少量的龙葵素对人体不一定会有明显的损害,但是如果一次摄食 200 mg 龙葵素即可引起中毒<sup>[17]</sup>。龙葵素的主要成分为  $\alpha$ -茄碱和  $\alpha$ -卡茄碱,而其中以  $\alpha$ -茄碱的含量最高。因此,检测马铃薯中  $\alpha$ -茄碱的含量尤为重要,可为食物中毒和临床诊治提供科学的手段<sup>[18-19]</sup>。

目前, $\alpha$ -茄碱提取方法主要有乙醇法<sup>[20]</sup>、微波辅助提取法<sup>[21]</sup>、混合溶剂提取法<sup>[22]</sup>、乙醇-乙酸法<sup>[23-25]</sup>等。乙醇提取法效率较低。微波辅助提取法产生的高温易破坏龙葵素的结构,且溶剂易挥发。混合溶剂提取法操作繁琐而且提取效率不太理想。乙醇-乙酸法应用较多,但耗时且消耗大量的有机溶剂,对环境污染较大。本文首次使用饱和异丁醇萃取马铃薯提取液中的  $\alpha$ -茄碱,并采用高效液相色谱法(HPLC)检测  $\alpha$ -茄碱含量,试验效果较理想。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

马铃薯购于深圳市某农贸批发市场。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

HP1100 型高效液相色谱仪(包括 G1311A 四元泵、G1315A DAD 检测器,美国安捷伦),磁力搅拌器(德国 IKARCT),氮吹仪(Organo N-EVAP25),电子天平。 $\alpha$ -茄碱标准品(20562-02-1,纯度  $\geq 99\%$ ,北京百灵威试剂公司),磷酸二氢钾、乙酸、异丁醇、氢氧化钠均为分析纯,乙腈、甲醇均为色谱纯。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 $\alpha$ -茄碱标准溶液的配制

用甲醇配制 1.00 mg/ml 的  $\alpha$ -茄碱标准储备液,然后分别取 0.04、0.10、0.20、0.40、1.00 和 2.00 ml 的  $\alpha$ -茄碱标准储备液于 2 ml 的容量瓶中,用甲醇定

容配制成 0.02、0.05、0.10、0.20、0.50 和 1.00 mg/ml 的标准系列溶液,储存于 4 °C 条件下备用。

#### 1.2.2 样品提取

称取薯肉及薯皮各 0.50 g,加入 20 ml 的 5% 乙酸溶液匀浆后,搅拌 30 min。抽滤,残渣用上述方法重提 3 次,合并滤液,用 NaOH 溶液调节 pH 至 11.0。用 10 ml 水饱和的异丁醇萃取,共 3 次。将异丁醇萃取液合并,加热浓缩,  $N_2$  吹干。残渣用甲醇洗涤 3 次,每次 1 ml,合并洗液并吹干,然后用 1 ml 甲醇复溶,过滤备用。

#### 1.2.3 仪器条件

色谱柱:Discovery C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m),柱温 30 °C,流动相:乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(22:78, V/V),进样量 20  $\mu$ l,检测波长 210 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准品 $\alpha$ -茄碱的 HPLC 测定结果

为了建立相应的 HPLC 测定方法,首先以  $\alpha$ -茄碱标准品为研究对象,对其色谱分离条件进行了考察。如图 1 所示,在优化流动相比比例后的色谱条件下,不同浓度的  $\alpha$ -茄碱出峰时间完全一致,说明方法有良好的稳定性。

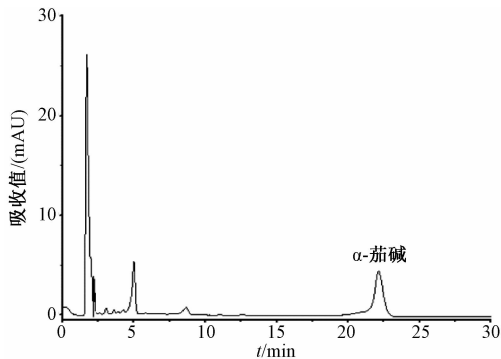


图 1  $\alpha$ -茄碱标准品(0.10 mg/ml)的色谱图  
Figure 1 Chromatogram of  $\alpha$ -solanine with the concentration of 0.10 mg/ml

### 2.2 标准曲线绘制

对不同浓度  $\alpha$ -茄碱进行分析,结果如图 1 所示。在 0.02 ~ 1.00 mg/ml 浓度范围内,以  $\alpha$ -茄碱浓度对峰面积进行线性回归,标准曲线方程为  $y = 1.8238 \times 10^3 x - 10.98$ ,相关系数  $r = 0.9997$ ,说明该方法线性关系良好。以 3 倍信噪比(S/N)对应分析物浓度作为检出限(LOD),LOD 为  $6.81 \times 10^{-4}$  mg/ml。以 10 倍信噪比对应分析物浓度作为定量限(LOQ),LOQ 为  $2.27 \times 10^{-3}$  mg/ml。

### 2.3 精密度及准确度考察

取马铃薯肉和马铃薯皮样品各 3 份,分别添加

低、中、高浓度为 0.04、0.40 和 2.00 mg/g 的  $\alpha$ -茄碱。在一天之内,每个浓度水平平行加入测定 5 次,计算各浓度组的日内精密度。在不同天 ( $n = 5$ ) 重复上述试验,计算低、中、高浓度水平的日间精密度,见表 1。

表 1 方法的精密度考察 ( $n = 5, %$ )

样品	日内精密度			日间精密度		
	低浓度	中浓度	高浓度	低浓度	中浓度	高浓度
马铃薯肉	1.48	1.58	1.43	1.79	1.76	1.85
马铃薯皮	1.63	1.67	1.82	1.83	1.92	1.97

方法准确性的考察结果如表 2 所示。在马铃薯肉和马铃薯皮样品中分别添加低、中、高 3 个不同浓度水平的  $\alpha$ -茄碱标准品。每个浓度水平平行加入测定 5 次,考察低、中、高浓度组的平均加样回收率。马铃薯肉样品中  $\alpha$ -茄碱平均加样回收率为 98% ~ 104%,马铃薯皮中平均加样回收率为 96% ~ 99%。结果显示方法的准确性良好。

表 2 马铃薯肉和马铃薯皮中  $\alpha$ -茄碱的加标回收率 ( $n = 5, %$ )

样品	平均加标回收率		
	低浓度 (0.04 mg/g)	中浓度 (0.40 mg/g)	高浓度 (2.00 mg/g)
马铃薯肉	98	103	104
马铃薯皮	96	98	99

## 2.4 实际样品测定结果

为了考察方法在实际检测中的应用,将深圳市某农贸批发市场购买的马铃薯于 20 °C 放置 7 天,直至该批马铃薯表皮发绿,测得平均芽长约 3 mm。分析马铃薯中  $\alpha$ -茄碱的含量,如图 2 所示,干扰成分较少,说明使用异丁醇萃取马铃薯中  $\alpha$ -茄碱具有较好的选择性。在马铃薯肉样品中加入 0.5 mg 的  $\alpha$ -

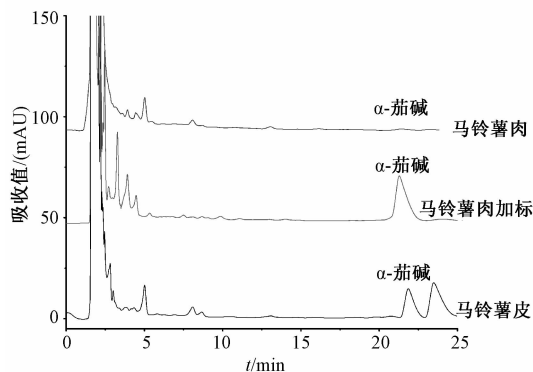


图 2 马铃薯肉样品、马铃薯肉加标样品及马铃薯皮样品的色谱图

Figure 2 Chromatogram of fleshy part of potato, potato peel, and fleshy part of potato spiked with  $\alpha$ -solanine

茄碱标准品,吸收峰迁移时间不变,峰高增加,且其紫外吸收光谱与标准品一致,证明该吸收峰为  $\alpha$ -茄碱。试验发现,该批发芽马铃薯薯皮中  $\alpha$ -茄碱的平均含量为 0.42 mg/g,要远高于薯肉中  $\alpha$ -茄碱的平均含量 0.046 mg/g。

## 3 小结

龙葵素可溶于水,高温煮透可破坏部分龙葵素<sup>[1]</sup>。因此,烹调时加入食醋或炖煮可以降低龙葵素含量。福建集美某学校食堂用油炸带皮马铃薯后,再用此油去烹调其他食物,共导致 319 人食物中毒<sup>[3]</sup>。食用油起到提取富集龙葵素的效果,且龙葵素未被高温油炸破坏。此外,本文也证实了马铃薯皮中龙葵素含量远高于肉质部分。因此,马铃薯在烹调前最好去皮。

文献报道的马铃薯中  $\alpha$ -茄碱的检测方法多以液质为主,但是该仪器昂贵,不易推广。本文首次建立了异丁醇单溶剂萃取和 HPLC 测定马铃薯中  $\alpha$ -茄碱含量的新方法。该方法提取效率高,消耗有机试剂少,具有快速,简便,准确度和精密度高等特点,适用于马铃薯中的  $\alpha$ -茄碱含量的快速检测。

## 参考文献

- [1] 巩江,倪士峰,邱莉惠,等. 龙葵素的药理毒理及药用研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(9):4108-4109.
- [2] 周国亮,宋翼升,辛艳飞,等. 龙葵素的生殖毒性研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学,2013,18(11):1291-1296.
- [3] 王才根,张加进,王淑钦. 一起发芽马铃薯引起的食物中毒[J]. 卫生研究,1994,23(1):49-51.
- [4] 徐志远,刘华. 两起马铃薯中毒的调查[J]. 解放军预防医学杂志,1995,13(3):230-231.
- [5] 王代贵. 一起发芽土豆引起食物中毒的流行病学调查[J]. 解放军预防医学杂志,1998,16(1):71.
- [6] 高树智,邹艳香,冯钢炼,等. 一起食用马铃薯引起食物中毒的调查分析[J]. 预防医学文献信息,1998,4(1):75.
- [7] 张敏,高永奎,魏哲红,等. 一起食用发芽马铃薯引起的食物中毒调查报告[J]. 现代预防医学,2000,27(2):241.
- [8] 淮瑾,吴永胜,王芳健. 40 例发芽马铃薯中毒抢救[J]. 西北国防医学杂志,2001,22(3):280.
- [9] 赵秋菊,靳耀清. 抢救误食发芽土豆中毒的护理体会[J]. 医技护理,8(8):610.
- [10] 卢敏. 某中学 1 起发芽土豆食物中毒的调查[J]. 职业卫生与病伤,2002,1(3):1.
- [11] 李洁,丛培峰. 发芽马铃薯中毒检验一例[J]. 广东公安科技,2003,4(1):78.
- [12] 钟水发,钟民荣,杨晓程. 一起发芽马铃薯引起的食物中毒[J]. 现代预防医学,2005,32(8):965.
- [13] 梁孟维. 食用带芽马铃薯引起的 2 起食物中毒调查[J]. 职业与健康,2006,22(23):2082-2083.
- [14] 高伟艳. 发芽马铃薯引起食物中毒 22 例调查报告[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2006,9(8):884.

- [15] 周兴,林党柒,杨汝松,等.一起小学生龙葵素中毒流行病学调查[J].中国学校卫生,2007,28(9):849-850.
- [16] 万泉,邓崇明,郭文琼.一起食用马铃薯引起的食物中毒调查[J].现代预防医学,2007,34(21):4105-4109.
- [17] 浙江省医学科学院安全性评价研究中心.龙葵素的生殖毒性研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2013,18(11):1291-1296.
- [18] 董晓茹,沈敏,刘伟.龙葵素中毒及检测的研究进展[J].中国司法鉴定,2013(2):35-41.
- [19] 王丹,丁颖,程莉,等.超高效液相色谱-三重四级杆串联质谱法测定土豆中 $\alpha$ -茄碱与 $\alpha$ -卡茄碱含量[J].中国食品卫生杂志,2014,26(3):233-237.
- [20] 钟源,肖文军,马蕊,等.正交试验优化马铃薯龙葵素提取技术[J].食品科学,2013,34(10):6-10.
- [21] 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.
- [22] 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:自然科学版,2006,32(6):665-667.
- [23] 张薇,邱成,高荣,等.不同贮藏条件下马铃薯块茎皮中龙葵素含量的变化[J].中国马铃薯,2013,27(3):144-147.
- [24] 吴耘红,江成英,王拓一,等.储藏条件对马铃薯渣中龙葵素含量影响的研究[J].农产品加工,2008(7):144-146.
- [25] 张舵.反相高效液相色谱法检测马铃薯中龙葵素含量[J].齐齐哈尔大学学报,2013,29(5):24-25.

## 实验技术与方法

### 原子荧光法测定食品中总砷的3种前处理法比较

安建博<sup>1</sup>,沈讷敏<sup>1</sup>,张祎玮<sup>1</sup>,赵桂鹏<sup>1</sup>,刘锐晓<sup>1</sup>,韩蓓<sup>2</sup>,

(1. 西安市疾病预防控制中心,陕西 西安 710054; 2. 西安交通大学医学部,陕西 西安 710061)

**摘要:**目的 建立准确、可靠、稳定的测定食品中总砷的分析方法。方法 利用湿消解法、微波消解法、干灰化法分别处理食品样品,用氢化物发生原子荧光光谱法测定食品中总砷的含量。结果 鱼粉、紫菜(GBW 10023-GSB-14)、大米(GBW 10010)、鸡肉(GBW 10018)干灰化法测定总砷的结果为 $3.18 \pm 0.052$ 、 $27.01 \pm 0.063$ 、 $0.104 \pm 0.002$ 、 $0.115 \pm 0.004$  mg/kg 均在参考值范围,加标回收率为93.7%~98.5%, $RSD \leq 2.31\%$ ;湿消解法测定结果为 $3.12 \pm 0.041$ 、 $26.93 \pm 0.072$ 、 $0.103 \pm 0.003$ 、 $0.112 \pm 0.003$  mg/kg 均在参考值范围,加标回收率为89.2%~97.5%, $RSD \leq 1.92\%$ ;微波消解法处理鱼粉和紫菜的测定结果为 $1.74 \pm 0.032$ 、 $15.40 \pm 0.096$  mg/kg 不足参考值的60%,但大米、鸡肉的测定值为 $0.102 \pm 0.001$ 、 $0.114 \pm 0.005$  mg/kg 在参考值范围,加标回收率为96.3%~97.5%, $RSD \leq 2.51\%$ 。湿消解法具有灵活调节消解温度,消解酸种类、用量和消解时间等优点,可适用于大部分食品样品的前处理;微波消解法耗时间短,但用酸量大,适用于砷存在形态相对简单的样品;干灰化法耗时间较长,适用于挥发温度高、油脂含量高、砷存在形态比较复杂的样品。结论 湿消解法、干灰化法适用于大部分食品样品的前处理,微波消解法使用有局限性,仅适用于砷存在形态相对简单的样品。

**关键词:**原子荧光法;湿消解;微波消解;干灰化;食品;总砷;食品污染物

中图分类号:R155.5;O657.3 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2015)05-0520-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2015.05.008

### The comparison of 3 pretreatment methods for total arsenic determination by with atomic fluorescence spectrometry in food

AN Jian-bo, SHEN Ne-min, ZHANG Yi-wei, ZHAO Gui-peng, LIU Rui-xiao, HAN Bei  
(Xi'an Center for Disease Control and Prevention, Shaanxi Xi'an 710054, China)

**Abstract: Objective** To establish an accurate, reliable and stable method for determination of total arsenic in food. **Methods** Fish, seaweed (GBW 10023-GSB-14), rice (GBW 10010) and chicken (GBW 10018) were selected as food samples, which were pretreated by wet digestion, microwave digestion and dry ashing respectively, and determined by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. **Results** The total arsenic results of dry ashing were  $3.18 \pm 0.052$ ,  $27.01 \pm 0.063$ ,  $0.104 \pm 0.002$  and  $0.115 \pm 0.004$  mg/kg which were in the range of reference values. The recovery rates were 93.7%~98.5%, and the  $RSD$  was below 2.31%. The results of wet digestion were  $3.12 \pm 0.041$ ,  $26.93 \pm 0.072$ ,

收稿日期:2015-08-03

基金项目:西安市卫生局科研项目(J2014043);西安地区农村饮水工程水质重金属监测及安全性评价

作者简介:安建博 男 副主任技师 研究方向为食品理化检验 E-mail:anjianbo2005@163.com