

文章编号:1001-1498(2013)01-0129-04

三种色型玛咖甾醇组分及含量分析

甘瑾, 冯颖*, 张弘, 何钊, 郑华, 李娟

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 国家林业局特色森林资源工程技术研究中心, 云南昆明 650224)

关键词: 玛咖; 甾醇; 组分及含量分析; 气质联用

中图分类号: S759.3

文献标识码: A

Analysis on Composition and Content of Sterols in Three Color Types of Maca, *Lepidium meyenii*

GAN Jin, FENG Ying, ZHANG Hong, HE Zhao, ZHENG Hua, LI Xian

(Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry, Research Center of Engineering and Technology on Distinctive Forest Resources, State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: The composition and content of sterols in three color types of maca (*Lepidium meyenii*) cultivated in Yunnan were analyzed by GC-MS. The result showed that all the three types of maca contained β -sitosterol and campesterol. The content of β -sitosterol was higher than that of campesterol. The total sterol content in white, purple and yellow samples were 36.60, 32.38, 27.97 mg \cdot (100 g⁻¹), respectively. Among them, the total sterol content in white sample was the highest. The differences in contents were significant among the three types of sample ($P < 0.01$). The composition was consistent with that of sample cultivated in Peru, and the total content of sterol was also very similar.

Key word: maca; *Lepidium meyenii*; sterols; composition analysis; content analysis; GC-MS

玛咖 (*Lepidium meyenii* Walp.) 为十字花科 (Cruciferae) 独行菜属 (*Lepidium*) 1 年生或 2 年生草本植物, 原产于秘鲁海拔 4 000 m 以上的安第斯山区, 这些地区海拔高、土地贫瘠、岩石丛生、风强、气温常处于冰冻状态、气候恶劣, 几乎没有其他农作物能生长^[1]; 因此玛咖的引种栽培, 对高寒贫困地区生态环境的改善及经济发展具有积极的促进作用。

玛咖在南美作为药食两用的植物已有几千年的历史, 传统中主要是用于提高生育力、增强精力^[2]。早期研究者通过大量动物试验及部分人体试验验证了其提高生育力^[3]、改善性功能^[4]、抗前列腺增生^[5]、调节内分泌^[6]等功效。近十多年来引起了世界各国研究者的重视, 不仅对其传统功效进行了进

一步验证, 同时也通过试验证明了一些新功能, 如改善更年期综合症^[7]、抗氧化^[8]等。生物碱、芥子油苷及甾醇等多种次生代谢物质被认为与玛咖的这些独特保健功效有密切关系^[9-10]。

中国林业科学研究院资源昆虫研究所从秘鲁引种, 在云南的试验基地进行了栽培和推广^[11], 种植的玛咖块根保存有紫、黄、白 3 种色型, 并通过试验分析表明云南栽培玛咖含有的营养成分及生物碱、芥子油苷等次生代谢物质与秘鲁产玛咖无本质区别^[12-14], 但未对云南栽培的玛咖甾醇进行分析研究。本文采用气质联用技术对云南栽培的 3 种色型玛咖中的甾醇组成及含量进行分析, 为其功能活性物质的进一步研究及开发利用提供理论依据与技术手段。

收稿日期: 2012-09-05

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201004028)

作者简介: 甘瑾, 女, 副研究员, 博士研究生, 研究方向为天然产物活性物质. E-mail: ganjin638@126.com.

* 通讯作者: 冯颖, 女, 研究员, 博士, 博士生导师, 研究方向为药用昆虫和天然产物. E-mail: yingf@hotmail.com.

1 材料与方 法

1.1 材 料

块根颜色分别为紫色、黄色、白色的3种玛咖原料均来源于中国林科院资源昆虫研究所在云南省的栽培试验地,收获的玛咖块根清洗泥土后放入 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

β -谷甾醇标准品购于中国食品药品检定研究院;菜油甾醇标准品购于Chromadex公司;正己烷为色谱纯,购于Fisher Scientific公司;水为超纯水,实验室制备;其他试剂均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 原料处理 将冷藏的玛咖块根切片,放入温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、真空度 $2\ 000\ \text{mbar}$ 的真空干燥箱内干燥 $24\ \text{h}$,粉碎备用。采用常压干燥法测定水分含量,白色、紫色、黄色真空干燥样品的水分含量分别为 1.49% 、 1.26% 、 1.72% 。

1.2.2 样品制备 称取3种干燥样品各 $51\ \text{g}$,采用索氏提取器, $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中,用石油醚提取 $6\sim 8\ \text{h}$ 。合并石油醚提取液,浓缩至干,得到3种颜色玛咖的油脂。

在提取得到的油脂中加入 $10\ \text{mL}\ 2.5\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氢氧化钾甲醇溶液,加盖密封,剧烈振摇 $30\ \text{s}$,在 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴下皂化 $1\ \text{h}$,期间每隔 $10\ \text{min}$ 振摇1次,冷却至室温后打开瓶塞,加入 $10\ \text{mL}$ 饱和氯化钠溶液和 $20\ \text{mL}$ 正己烷,密封后剧烈振摇 $3\ \text{min}$,静置,将上层溶液移至样品瓶中,水层用正己烷重复萃取3次,每次用正己烷 $200\ \text{mL}$ 。合并正己烷萃取液,加入无水硫酸钠 $10\ \text{g}$ 进行脱水,然后浓缩定容至 $10\ \text{mL}$,经 $0.22\ \mu\text{m}$ 微膜过滤,待GC-MS分析。

1.2.3 标准曲线绘制 称取 β -谷甾醇、菜油甾醇混合标样 $20\ \text{mg}$,用正己烷溶解并定容至 $100\ \text{mL}$,混合标样贮备液浓度为 $0.2\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,分别取贮备液 5 、 6 、 7 、 8 、 9 、 $10\ \text{mL}$,用正己烷定容至 $10\ \text{mL}$,其中 β -谷甾醇浓度分别为 0.06 、 0.072 、 0.084 、 0.096 、 0.108 、 $0.12\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,菜油甾醇浓度分别为 0.04 、 0.048 、 0.056 、 0.064 、 0.072 、 $0.08\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。分别取每种浓度的标准液进行GC分析,以甾醇浓度为横坐标,对应峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.4 气相色谱条件 色谱柱:TR-5MS($30\ \text{m}\times 250\ \mu\text{mID}\times 0.25\ \mu\text{m}\ \text{film}$)毛细管柱;进样口温度: $330\text{ }^{\circ}\text{C}$;载气:氦气,流速 $1.5\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;程序升温:起始温度 $220\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 $1\ \text{min}$,然后以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 $10\ \text{min}$;进样量: $2\ \mu\text{L}$;分流比: $20:1$ 。

1.2.5 质谱条件 电子轰击离子源(EI);离子源温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$;传输线温度 $300\text{ }^{\circ}\text{C}$;扫描方式:Full scan;溶剂延迟为 $3\ \text{min}$;扫描质量范围 $40\sim 450$ 。谱图通过NIST2.0标准质谱检索库检索。

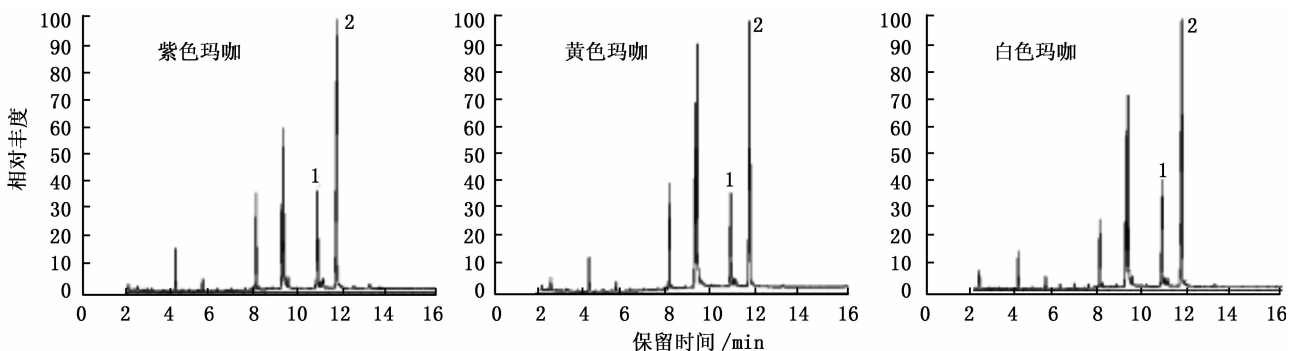
1.3 数据 分析

试验数据采用SPSS软件13.0版进行单因素(ANOVA)方差分析,多重比较采用Scheffe及Bonferroni检验方法。

2 结果与 分析

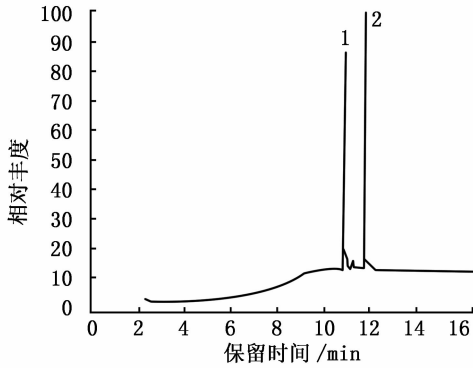
2.1 定 性 分析

3种颜色玛咖甾醇提取物经过GC-MS分析检测,分离结果见总离子流图(图1)与混合标样总离子流图(图2)。由图1、2可见:3种颜色玛咖均得到保留时间相同的分离较好的峰,图1中的峰1和峰2经与标准品对比及标准谱库检索,确定为 β -谷甾醇



峰1:菜油甾醇(campesterol);峰2: β -谷甾醇(β -sitosterol)

图1 3种颜色玛咖甾醇提取物总离子流图



峰1:菜油甾醇(campesterol);峰2:β-谷甾醇(β-sitosterol)

图2 甾醇混合标样总离子流图

表1 玛咖中甾醇类化合物的组成

谱图峰编号	保留时间/min	化合物名称	分子式	分子量
1	10.97~10.99	菜油甾醇 campesterol	C ₂₈ H ₄₈ O	400
2	11.87~11.92	β-谷甾醇 β-sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	414

和菜油甾醇,相关参数见表1。除峰1、峰2外,还有2个保留时间分别为8.08、9.40 min的峰,标准谱库

表2 玛咖中甾醇类化合物含量

样品	甾醇种类及含量					
	β-谷甾醇(β-sitosterol)		菜油甾醇(campesterol)		总含量	
	含量/(mg·(100g) ⁻¹)	RSD(% ,n=6)	含量/(mg·(100g) ⁻¹)	RSD(% ,n=6)	含量/(mg·(100g) ⁻¹)	RSD(% ,n=6)
白色	26.54 ± 0.74 a	2.79	10.06 ± 0.64 a	6.33	36.60 ± 0.46 a	1.25
紫色	23.90 ± 0.59 b	2.45	8.47 ± 0.69 b	8.12	32.38 ± 1.17 b	3.61
黄色	20.10 ± 0.54 c	2.67	7.83 ± 0.71 b	9.04	27.97 ± 1.12 c	4.01

注:同栏不同小写字母表示在1%水平上差异极显著。

从表2可看出:每种色型的玛咖中均为β-谷甾醇含量较高,菜油甾醇含量相对较低。2种甾醇的含量在3种色型玛咖中均存在极显著差异($P < 0.01$),其中,白色玛咖β-谷甾醇的含量极显著高于紫色与黄色($P < 0.01$),紫色又明显大于黄色($P < 0.01$);菜油甾醇含量也是白色玛咖极显著高于紫色与黄色($P < 0.01$),紫色虽高于黄色,但差异不显著。3种色型中的甾醇总量存在极显著差异($P < 0.01$),白色、紫色、黄色原料中甾醇总量分别是36.60、32.38、27.97 mg·(100g)⁻¹,其中,白色玛咖含量最高。

3 结论与讨论

采用GC-MS对云南引种栽培玛咖的甾醇类化合物组成及含量进行分析,研究表明:3种色型玛咖中含有相同组分的甾醇类化合物,即β-谷甾醇(β-sitosterol)和菜油甾醇(campesterol)。组分中的β-谷

检索显示分别为N-苄基乙酰胺和一种甾烷酮,N-苄基乙酰胺为酰胺类生物碱,甾烷酮可能是甾醇类化合物的衍生物,两种物质均为非甾醇类化合物。

定性分析结果表明:云南种植的白、紫、黄3种颜色玛咖中甾醇类化合物组成相同,均为β-谷甾醇和菜油甾醇。

2.2 定量分析

2.2.1 标准曲线 标准品浓度与对应的峰面积进行线性回归,得到β-谷甾醇标准品线性回归方程为:

$$Y = 2.5960X - 0.0235 \quad R^2 = 0.9957$$

β-谷甾醇在0.06~0.12 mg·mL⁻¹质量浓度范围内线性关系良好。菜油甾醇线性回归方程为:

$$Y = 2.4298X + 0.0025 \quad R^2 = 0.9939$$

菜油甾醇在0.04~0.08 mg·mL⁻¹质量浓度范围内线性关系良好。

2.2.2 样品测定 根据样品中β-谷甾醇、菜油甾醇的峰面积与回归方程计算含量,结果见表2。

甾醇含量较高,菜油甾醇含量相对较低。3种颜色中白色玛咖的各组分甾醇含量及总含量均最高,白、紫、黄玛咖中的甾醇总量分别是36.60、32.38、27.97 mg·(100g)⁻¹,并存在极显著差异($P < 0.01$)。

植物甾醇为一种环状醇结构的类甾醇化合物,种类达几十种,较为常见的有谷甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇和菜油甾醇等^[15]。植物甾醇具有降低胆固醇、抗动脉粥样硬化、抗癌^[16]、抗氧化能力^[17]等功能。研究者推测玛咖能调节内分泌、改善性功能、提高生殖能力而不影响生殖激素的水平,可能与玛咖中的植物雌激素类似物-植物甾醇密切相关^[18-19]。Zheng等^[10]报道,秘鲁玛咖干根中含有菜油甾醇、豆甾醇和β-谷甾醇,总含量为0.03%~0.04%,即30~40 mg·(100g)⁻¹。Dini等^[20]同样采用气质的方法研究了秘鲁产玛咖根的成分,发现玛咖含有谷甾醇、菜油甾醇、麦角固醇、菜子甾醇及麦角二烯(Δ²²-ergostadienol),其中β-谷甾醇、菜油甾醇为主要部

分,分别占总甾醇的 45.5% 和 27.3%,而麦角甾醇、菜籽甾醇、麦角二烯的相对含量较低,Dini 等^[20]只分析了甾醇组分的相对含量,未用标准品进行定量。Clement 等^[21]报道了采用 HPLC 分析秘鲁产玛咖的结果,甾醇组成为 β -谷甾醇和菜油甾醇,含量分别为 0.23 、 $0.14 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$,即 9.52 、 $5.6 \text{mg} \cdot (100 \text{g})^{-1}$ 。通过本文分析结果与上述研究结果比较可以看出,云南引种栽培玛咖甾醇主要组分与秘鲁产相同,总含量也很相近;但可能种植条件的改变,对甾醇类化合物的组成产生了一定的影响,使其中的麦角甾醇、菜籽甾醇等成分发生了变化或者含量微乎其微,因此本试验未能检测到。

玛咖根的不同颜色是因为根部外层类胡萝卜素和花青素等花色素苷的浓度不同造成的,而不同色素的产生可能与地下生物量的不同代谢有关^[19]。前人研究中发现秘鲁产不同颜色的玛咖生物功效及成分存在明显差异^[21-23],因此不同颜色玛咖功效及活性成分的分析评价,对玛咖优良品种的筛选、栽培技术的研究具有重要的指导意义。本项目对云南种植玛咖生物碱、芥子油苷含量分析及体外抗氧化的研究也发现了不同颜色之间的差别^[13-14,24],本研究结果同样显示了 3 种颜色玛咖甾醇含量的显著差异,但甾醇等次生代谢物质与玛咖生物功能活性的关系还有待于下一步深入研究。

参考文献:

- [1] Rea J. Neglected crops: 1492 from a different perspective [C]// Hernando B, Leon J. Plant Production and Protection Series No. 26. Rome (Italy): FAO,1994: 165 - 167
- [2] 余龙江,金文闻,李 为,等. 南美植物玛咖的研究进展[J]. 中草药,2003,34(2):7 - 9
- [3] Gonzales G F, Ruiz A, Gonzales C, et al. Effect of *Lepidium meyenii*(maca) roots on spermatogenesis of male rats[J]. Asian Journal of Andrology, 2001,3(3):231 - 233
- [4] Cicero A F G, Bandieri E, Arletti R. *Lepidium meyenii* Walp. improves sexual behaviour in male rats independently from its action on spontaneous locomotor activity[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2001,75:225 - 229
- [5] Gonzales G F, Miranda S, Nieto J, et al. Red maca (*Lepidium meyenii*) reduced prostate size in rats [J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2005, 3:5
- [6] Wang Y, Wang Y, Meneil B, et al. An Andean crop with multi-pharmacological functions [J]. Food Research International, 2007, 40:783 - 792
- [7] Zhang Y Z, Yu L J, Ao M Z, et al. Effect of ethanol extract of *Lepidium meyenii* Walp. on osteoporosis in ovariectomized rat[J]. Journal of Ethnopharmacology,2006, 105: 274 - 279
- [8] Sandoval M. Okuhama N, Angeles F M, et al. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lepidium meyenii*) [J]. Food Chemistry,2002,79: 207 - 213
- [9] Gonzales G F, Vasquez V, Rodriguez D, et al. Effect of two different extracts of red maca in male rats with testosteroneinduced prostatic hyperplasia [J]. Asian Journal Andrology, 2007, 9(2): 245 - 251
- [10] Zheng B L, He K, Kim C H, et al. Effect of a lipidic extract from *Lepidium meyenii* on sexual behavior in mice and rats[J]. Urology, 2000, 55(4): 598 - 602
- [11] 郑 华,张 弘,甘 瑾,等. 秘鲁参在中国引种栽培及其化学利用的研究概况[J]. 林产化学与工业,2009,29(10):255 - 259
- [12] 冯 颖,何 钊,徐珑峰,等. 云南栽培玛咖的营养成分分析与评价[J]. 林业科学研究,2009,22(5):696 - 700
- [13] 甘 瑾,冯 颖,何 钊,等. 云南栽培 3 种颜色玛咖中总生物碱含量分析[J]. 食品科学,2010, 31(24):415 - 419
- [14] 甘 瑾,冯 颖,张 弘,等. 三种色型玛咖芥子油苷组分及含量分析[J]. 中国农业科学,2012,45(7):1365 - 1371
- [15] 文 镜,樊 蓉. 植物甾醇和植物甾烷醇降胆固醇的功效和安全性[J]. 食品科学,2005,26(8):437 - 442
- [16] 庞 敏,姜绍通. 甾醇氧化特性及其在食品中应用研究进展 [J]. 食品科学,2010,31(23):434 - 438
- [17] 吴时敏,吴谋成. 植物甾醇的研究进展与趋向(II)[J]. 中国油脂,2002, 27(3):60 - 63
- [18] Gonzales G F, Cordova A, Vega k, et al. Effect of *Lepidium meyenii*(Maca), a root with aphrodisiac and fertility-enhancing properties, on serum reproductive hormone levels in adult healthy men [J]. Journal of Endocrinology, 2003, 176:163 - 168
- [19] Ruiz-Luna A C, Salazar S, Aspajo N, et al. *Lepidium meyenii* (Maca) increases litter size in normal adult female mice[J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2005,3:16
- [20] Dini A, Migliuolo G, Rastrelli L, et al. Chemical composition of *Lepidium meyenii*[J]. Food Chemistry, 1994,49:347 - 349
- [21] Clement C, Grados D A D, Avula B, et al. Influence of colour type and previous cultivation on secondary metabolites in hypocotyls and leaves of maca (*Lepidium meyenii* Walpers)[J]. J Sci Food Agric, 2010,90:861 - 869
- [22] Rubio J, Caldas M, Dávila S, et al. Effect of three different cultivars of *Lepidium meyenii* (Maca) on learning and depression in ovariectomized mice [J]. BMC Complementary and Alternative Medicine 2006, 6:23
- [23] Gonzales C, Rubio J, Gasco M, et al. Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 103:448 - 454
- [24] 何 钊,冯 颖,徐珑峰,等. 云南种植玛咖乙醇提取物的体外抗氧化活性分析[J]. 食品科学,2010,31(15):39 - 43