

基于液质联用代谢组学方法分析不同产地和表型的玛咖

梁晓庆¹, 杨长军², 王桐², 耿越¹

(1. 山东师范大学生命科学学院, 食品营养与安全实验室, 山东省动物抗性生物学重点实验室, 山东济南 250014)

(2. 烟台新时代健康产业有限公司, 山东烟台 264006)

摘要: 本实验基于液质联用代谢组学分析方法对 20 种不同表型和产地玛咖进行分析, 采用超高效液相色谱串联四级杆静电场轨道阱高分辨质谱 (Dionex Ultimate 3000-Q Exactive Orbitrap), 原始数据经过 Compound Discoverer 软件处理后通过 SIMACA 14.1 软件分析可能的标志性代谢物, 然后对这些潜在的标志性代谢产物进行二级质谱分析, 通过相关文献和数据库 (HMDB 或 NIST) 对其进行定性。结果表明按照产地分组的多元变量统计分析中, 五个产地的玛咖在 OPLS-DA 中成功分组, 丽江和香格里拉两个产地玛咖在 PLS-DA 和 OPLS-DA 中分组成功; 三种表型的紫色、黄色和黑色玛咖在 PLS-DA 和 OPLS-DA 中分组成功。聚类分析表明黄色、黑色和紫色玛咖各分为不同三类, 三种表型玛咖内活性成分差异较大, 与 OPLS-DA 得分图结果相吻合。表明高分辨质谱结合代谢组学技术可用于玛咖不同表型及产地的鉴别。由于目前对于玛咖中代谢物质定性的数据库和文献较少, 本实验只定性出黑色玛咖的标志性代谢产物 N-苄基-15Z-烯二十四酰胺以及黄色和紫色玛咖标志性代谢产物 3-甲氧基苯基乙酸。

关键词: 玛咖; 代谢组学; 液质联用; 标志性代谢产物

文章篇号: 1673-9078(2020)05-319-328

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.042

Discrimination of Maca from Different Habitats and Phenotypes Based on Metabolomics by Liquid Chromatography-mass Spectrometry

LIANG Xiao-qing¹, YANG Chang-jun², WANG Tong², GENG Yue¹

(1. Key Laboratory of Food Nutrition and Safety of SDNU, Shandong Provincial Key Laboratory of Animal Resistant

Biology, College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

(2. Yantai New Era Health Industry Co., Ltd., Yantai 264006, China)

Abstract: In this experiment, 20 kinds of maca with different phenotypes and producing areas were analyzed by Ultra high performance liquid chromatography tandem quadrupole electrostatic field orbital trap high resolution mass spectrometry (Dionex Ultimate 3000-Q Exactive Orbitrap). The original data were processed by Compound Discoverer software and then processed by SIMACA 14.1 to find the potential marker metabolites, which were analyzed by secondary mass spectrometry and qualitatively determined by relevant literature and databases (HMDB or NIST). The results of multivariate statistical analysis showed that maca from different origins were grouped successfully by OPLS-DA. Maca from Lijiang and Shangri-la areas were successfully grouped in PLS-DA and OPLS-DA. Purple, yellow and black Maca were grouped successfully in PLS-DA and OPLS-DA. Cluster analysis showed that yellow, black and purple Maca could be divided into three categories, and the active components of the three phenotypes were different. This was consistent with the results of OPLS-DA. The marker metabolites of Maca from different phenotypes were identified by multivariate statistical analysis, which were characterized according to their MS² information. The results showed that high resolution mass spectrometry combined with metabolomics could be used to identify different

引文格式:

梁晓庆, 杨长军, 王桐, 等. 基于液质联用代谢组学方法分析不同产地和表型的玛咖[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 319-328

LIANG Xiao-qing, YANG Chang-jun, WANG Tong, et al. Discrimination of maca from different habitats and phenotypes based on metabolomics by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 319-328

收稿日期: 2019-11-25

作者简介: 梁晓庆 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养学

通讯作者: 耿越 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品营养学

phenotypes and origin of Maca. However, due to the lack of databases and literatures on the qualitative characterization of metabolites in Maca, only two metabolites, N-Benzyl-15Z-tetracosenamide and 3-methoxy-phenylacetic acid, were identified in this study.

Key words: maca; metabolomics; UHPLC-MS/MS; marker metabolites

玛咖(*Lepidium meyenii* Walp.), 原产于秘鲁安第斯山地区(海拔 4000~4500 m), 属十字花科独行菜属植物, 已有 2000 多年的栽培历史^[1]。2002 年, 玛咖正式引入中国^[2]并在我国云南^[3]、吉林^[4]和新疆^[5]等地成功种植。玛咖含有多种次生代谢产物, 比如玛咖烯、玛咖酰胺^[6]、生物碱^[7-9]、甾醇^[7,10]和芥子油苷^[11]及其分解产物异硫氰酸苄酯^[12]等, 这些次生代谢产物使玛咖具有特殊的药理功效, 例如增强性功能^[6], 提高生育能力^[13], 抗疲劳^[14,15], 抗癌^[16], 抗氧化^[17]和促进生长^[18]等。玛咖的下胚轴具有红色、黑色和黄色等, 研究表明不同表型玛咖表现出生物活性多样性^[11,19,20]。

代谢组学是对组织、细胞以及其他生物在一段时期内含有的所有低分子量代谢产物进行研究的一门学科。代谢组学步骤包括样品收集与前处理、样品的分析检测、原始数据处理、多元变量统计分析和标志性代谢产物分析。代谢组学方法已经用于玛咖的研究, Pan Y 等人^[21]通过液相紫外检测串联质谱(LC-UV/MS/MS)法提取和分析来自不同地理来源的二十七批不同表型的玛咖下胚轴样品并鉴定出十二种玛咖酰胺, 同时使用偏最小二乘判别分析法(PLS-DA)分析来自秘鲁、云南西北部和云南东北部的不同表型玛咖样本, 结果表明地理起源与表型相比, 在玛咖分组时起更重要的作用。Zhou Y 等人^[22]使用 UHPLC-ESI-Orbitrap MS 和 UHPLC-ESI-QqQ MS 两种方法对来自云南和秘鲁玛咖的化学组成成分进行定性定量分析, 在玛咖的甲醇提取物中鉴定了 160 种化合物, 并且在 17 个样品中同时测定出 15 种典型活性成分。利用高分辨质谱结合代谢组学技术鉴别不同玛

咖产地和表型的研究上未见报道。

本实验使用液质联用代谢组学分析方法分析了 20 种不同表型和产地的玛咖, 对不同表型和产地玛咖进行区分并找出不同表型玛咖的标志性代谢产物, 为市场中不同玛咖产品区分和玛咖质量标准研究提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与软件

Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000-Q Exactive, 美国 Thermo Fisher 公司; ACQUITY UPLC BEH C18 柱(2.1×50 mm, 1.7 μm), 沃特世公司; SIMCA 14.1, Umetrics; 5810R 台式高速冷冻离心机, 德国 Eppendorf 公司; SB-5200D 超声清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司。甲酸(色谱纯), 醋酸铵(色谱纯), 美国 Thermo Fisher 公司; 乙腈(色谱纯), 默克集团(Merck KGaA)。Compound Discoverer, 美国 Thermo Fisher 公司

1.2 样品

20 种玛咖样品由烟台新时代健康产业有限公司提供, 其中四川西昌(Sichuan)2 个样品、云南大理(Dali)3 个样品、云南昆明(Kunming)1 个样品、云南香格里拉(Shangri-la)6 个样品和云南丽江(Lijiang)8 个样品。可分为黄色、黑色和紫色表型三组, 黄色和黑色玛咖各 7 个样品, 紫色玛咖 6 个样品。20 种玛咖样品表型和产地信息如表 1 所示:

表 1 玛咖样品表型和产地信息

Table 1 Information of Different Habitats and Phenotypes of Maca

序号	产地缩写	产地	颜色
1	SXHMB-1B	四川省西昌市会东县满银沟镇小海八组	黑
2	YDJJB-1B	云南大理剑川县金华镇北坡村	黑
3	YLYD-1B	云南丽江市玉龙县麦大罗村	黑
4	YLYT-1B	云南丽江市玉龙县太安村	黑
5	YLYFB-1B	云南省丽江市玉龙县奉科乡白草坪村	黑
6	YLYW-1B	云南丽江市玉龙县维西村	黑
7	XGLL-1B	云南香格里拉	黑
8	YXXZ-3Y	云南香格里拉小中甸镇祝公村	黄
9	YLYLB-3Y	云南丽江玉龙县鲁甸乡甸北一村	黄

转下页

接上页				
10	SXHMQ-3Y	四川省西昌市会东县满银沟镇小海七组	黄	
11	YDHCM-3Y	云南大理鹤庆县草海镇马厂堂上村	黄	
12	YDHZZ-2Y	云南大理鹤庆县草海镇马厂村	黄	
13	YLYAG-3Y	云南丽江玉龙县宝山乡高寒一村	黄	
14	XGLL-2Y	云南香格里拉	黄	
15	YXWTC-2P	云南香格里拉维西县	紫	
16	YLYH-2P	云南丽江市玉龙县高寒三村	紫	
17	YLYA-2P	云南丽江市玉龙县宝山乡	紫	
18	YXHE-2P	云南香格里拉虎跳峡镇俄迪村	紫	
19	YXHW-2P	云南香格里拉虎跳峡镇万古村	紫	
20	YKLMC-1P	云南昆明市禄劝县马鹿乡草海子村	紫	

1.3 方法

本实验使用超声辅助提取方法对玛咖样品进行提取,提取溶剂为甲醇,提取液离心过滤,将提取液前处理后用于 Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000- Q Exactive 分析,得到的原始数据经过 Compound Discoverer 处理得到原始数据矩阵,导入 SIMCA 14.1 软件中。使用主成分分析 (PCA)、正交-偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 和偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 分析数据,寻找差异性代谢产物,最后对标志性代谢产物进行二级质谱分析得到二级质谱信息,用于代谢物的定性。具体实验步骤如下:

1.3.1 二十种不同表型玛咖提取液制备

20 种不同表型玛咖样品分别称取 1 g 放于烧杯中,再分别向烧杯中加入 20 mL 甲醇,然后将烧杯放入超声清洗机内超声辅助提取 20 min,提取液 3900 rpm 离心 20 min,取上清液过 0.22 μm 滤膜,滤液存放于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 备用。

1.3.2 玛咖提取液预处理

将玛咖提取液用甲醇稀释 20 倍,然后将稀释后的提取液过 0.22 μm 滤膜,滤液用于分析。

1.3.3 UHPLC-MS 上样分析

取上述稀释后玛咖提取液的滤液 1 mL 放入进样瓶中,使用 Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000-Q Exactive 进行分析,以获得原始数据,每个样品重复 3 次实验。分析条件如下:

色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C18 柱 (2.1 $\times$ 50 mm, 1.7 μm)。正谱条件:洗脱液 A 相为含 0.1% 甲酸的乙腈, B 相为 0.1% 甲酸水,梯度洗脱流程 0~2 min 1% A, 2~3.25 min 1%~5% A, 3.25~4.25 min 5% A, 4.25~7.75 min 5%~55% A, 7.75~9.75 min 55%~90% A, 9.75~14.75 min 90% A, 14.75~15 min 90%~1% A, 15~18 min 1% A。负谱条件:洗脱液 A 相为乙腈, B

相为 10 mM 醋酸铵,梯度洗脱流程 0~2 min 1% A, 2~3.25 min 1%~5% A, 3.25~4.25 min 5% A, 4.25~7.75 min 5%~55% A, 7.75~9.75 min 55%~90% A, 9.75~14.75 min 90% A, 14.75~15 min 90%~1% A, 15~18 min 1% A。流速为 0.3 mL/min,进样体积为 2 L, 1 min 之前和 16 min 之后的洗脱液不进质谱。质谱条件一级质谱分辨率 70000 (FWHM), 鞘气 40 Arb, 辅助气 10 Arb, 反吹气 0 Arb, 正谱喷雾电压 3.5 kV, 负谱喷雾电压 3.1 kV, 毛细管温度 320 $^{\circ}\text{C}$, 辅助气温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 扫描范围 75~1125, 扫描模式 Full MS。

1.4 数据处理

使用 Compound Discoverer 软件对原始数据进行提取、分析、整理,通过峰对齐、去卷积、降噪、归一化处理等过程,得到原始数据矩阵。设置参数:保留时间偏差 0.2 min、质量偏差为 5 ppm、信噪比最大窗口为 3、信号强度最大偏差 30%, 未知元素组成设定为 C90、H190、K、N5、Na、O15、P3、S5。

将上述原始数据矩阵导入 SIMCA14.1 软件,使用主成分分析 (PCA)、正交-偏最小二乘判别 (OPLS-DA) 和偏最小二乘判别 (PLS-DA) 分析数据,找出可能的不同表型玛咖标志性代谢产物,并采用置换排列检验方法来检验模型是否有效。

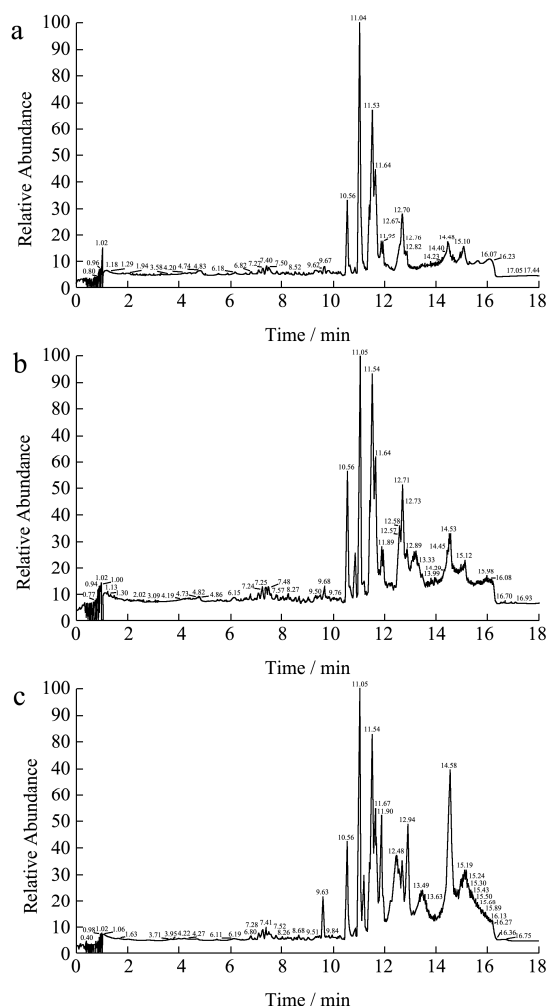
1.5 标志性代谢产物的二级质谱信息及其定性

将上述筛选的代谢物进行二级质谱分析得到二级质谱信息,用来定性分析。二级质谱分辨率 17500 (FWHM), 扫描模式 Full MS-ddMS² (TOP5), HCD 高能碰撞池碰撞能量 NCE: 30、50、100 和 150 eV, 其他条件同 5 中所述。得到二级质谱信息后,寻找与一级质谱的保留时间相对应的物质,两次保留时间允许偏差为 0.2 min, 这些保留时间对应的物质为不同表型玛咖的标志性代谢物。找出标志性代谢产物二级

质谱信息后,通过查询数据库(HMDB、NIST等)或者相关文献,对标志性代谢产物定性分析。

2 结果与讨论

2.1 不同表型的玛咖的总离子流图



黄色玛咖位于第二主成分正轴。正谱数据的 OPLS-DA 得分图可以看出黄色玛咖和紫色玛咖在第一主成分上可以分开,黄色玛咖位于第一主成分的负轴,紫色玛咖位于第一主成分正轴;紫色和黄色玛咖与黑色玛咖在第二主成分可以完全分开,紫色和黄色玛咖位于第二主成分负轴,黑色玛咖位于第二主成分正轴。在排列置换检验结果中 Q^2 在 Y 轴的截距小于 0, R^2 在 Y 轴的截距大于 0,且 Q^2 和 R^2 的最终值接近 1,说明模型建立合理有效。为了进一步验证 OPLS-DA 得分图的结果准确性,我们还做了聚类分析,玛咖可以分为 3 组 (group 1、group 2 和 group 3),其中 group 1 全部为紫色玛咖,group 2 全部为黑色玛咖,group 3 全部为黄色玛咖,即黄色、黑色和紫色玛咖各分为不同三类,三种表型玛咖内活性成分差异较大,与 OPLS-DA 得分图结果相同。

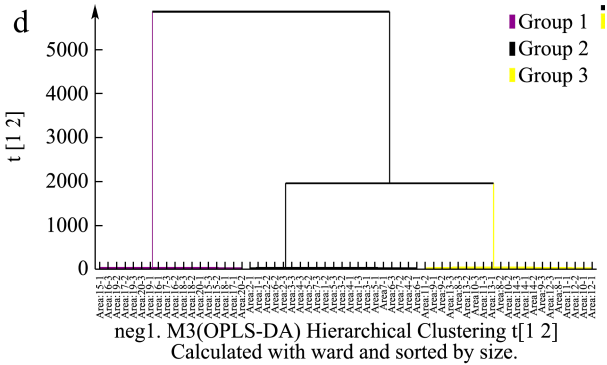
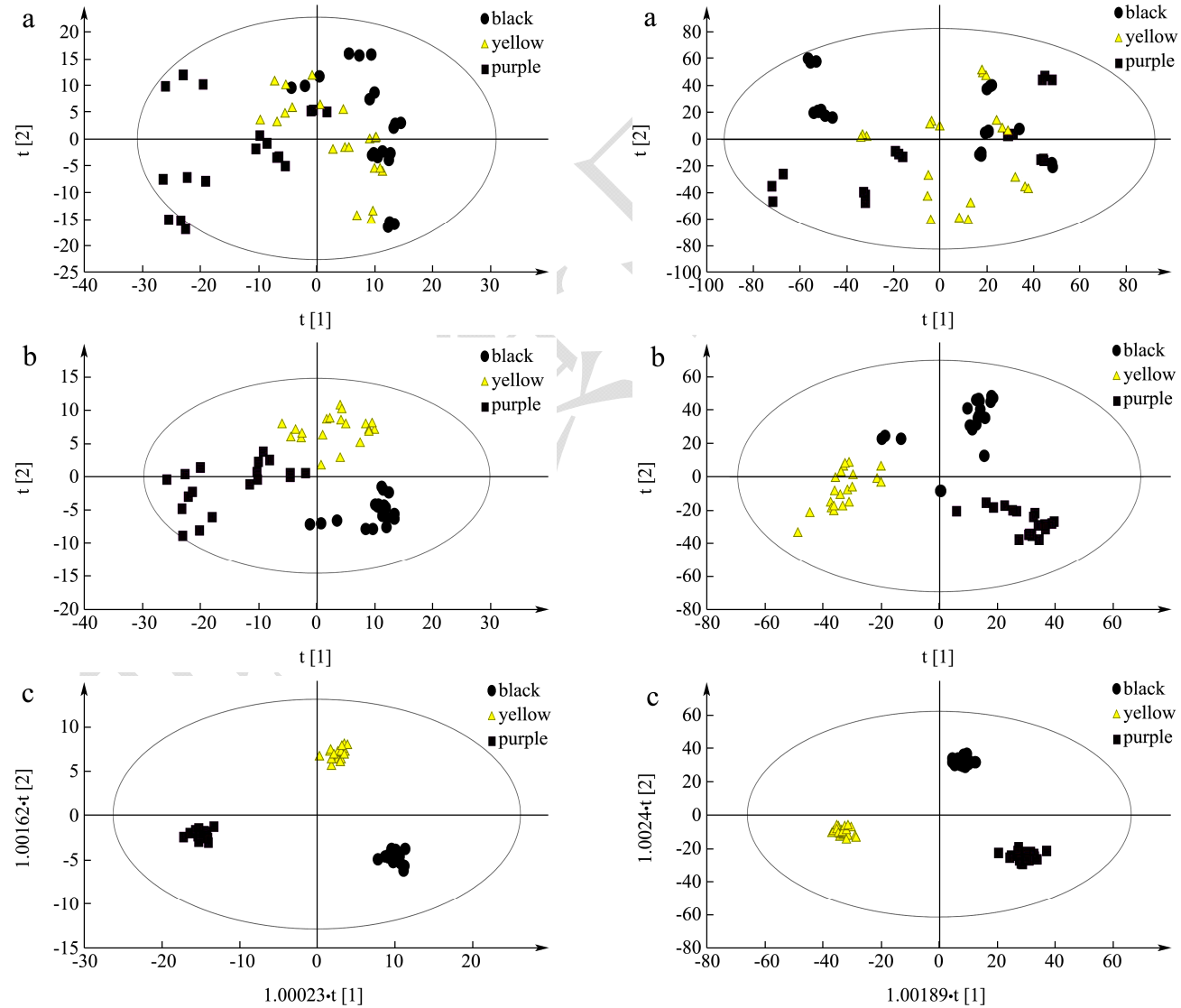


图 3 按表型分组的玛咖负谱数据分析

Fig.3 Analysis of negative spectral data of maca grouped by phenotype

注: a: PCA 得分图; b: PLS-DA 得分图; c: OPLS-DA 得分图; d: OPLS-DA 的聚类分析结果; Group 1-purple; Group 2-black; Group 3-yellow。



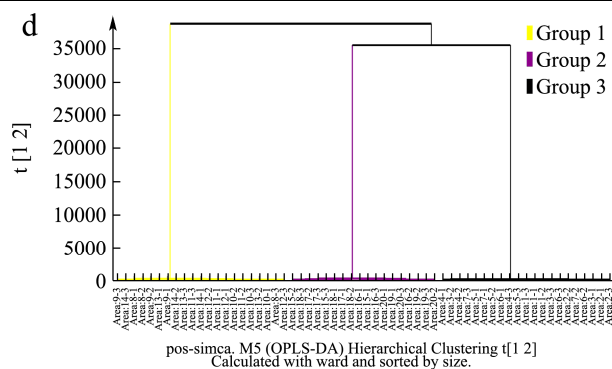


图4 按表型分组的玛咖正谱数据分析

Fig.4 Analysis of positive spectral data of maca grouped by phenotype

注: a: PCA 得分图; b: PLS-DA 得分图; c: OPLS-DA 得分图; d: OPLS-DA 的聚类分析结果; Group 1-purple; Group 2-black; Group 3-yellow.

我们推测可能是同种表型玛咖之间存在差异,即存在组内差异,导致主成分分析不同表型玛咖没有分组成功。由于本实验选择的同种表型玛咖的产地也有所不同,而不同产地的海拔、温度和土壤不同也会引起玛咖中的物质组成发生改变,从而影响分组,使得同种表型玛咖产生组内差异,影响三种表型玛咖分组结果。

2.3 按产地分组对玛咖进行多元变量统计分析

2.3.1 二十种玛咖按产地分组的多元变量统计分析

按照产地分组进行多元变量统计分析。图5是负谱数据,图6是正谱数据。在PCA得分图上我们可以看出五个产地的玛咖分组不成功。在PLS-DA得分图,可以看出五个产地的玛咖有分组趋势,但是分组依然不成功。与PLS-DA相比,OPLS-DA可以进一步强化组间差异,由OPLS-DA得分图可以看出五个产地的玛咖已经完全分开。正谱模式和负谱模式的排列置换检验结果表明 Q^2 在Y轴的截距小于0, R^2 在Y轴的截距大于0,且 Q^2 和 R^2 的最终值接近1,说明模型建立有效。聚类分析结果显示玛咖可以分为5组(group 1、group 2、group 3、group 4和group 5),其中group 1全部为四川西昌玛咖,group 2为云南昆明玛咖,group 3全部为云南香格里拉玛咖,group 4全部为云南大理玛咖,group 5全部为云南丽江玛咖,即四川西昌玛咖、云南大理玛咖、云南丽江玛咖、云南香格里拉玛咖和云南昆明玛咖各分为不同五类,与OPLS-DA得分图结果相同。

在产地分组中,偏最小二乘判别分析(PLS-DA)中五个产地并没有成功分组,很有可能是因为在收集

样品时主要考虑的表型因素(每种表型收集了6-7个样本),导致五个产地的样本数量差别过大,比如丽江玛咖有8个样品,而昆明样品只有一个,四川和大理的样本量也比较少,影响PLS-DA模型中的分组。

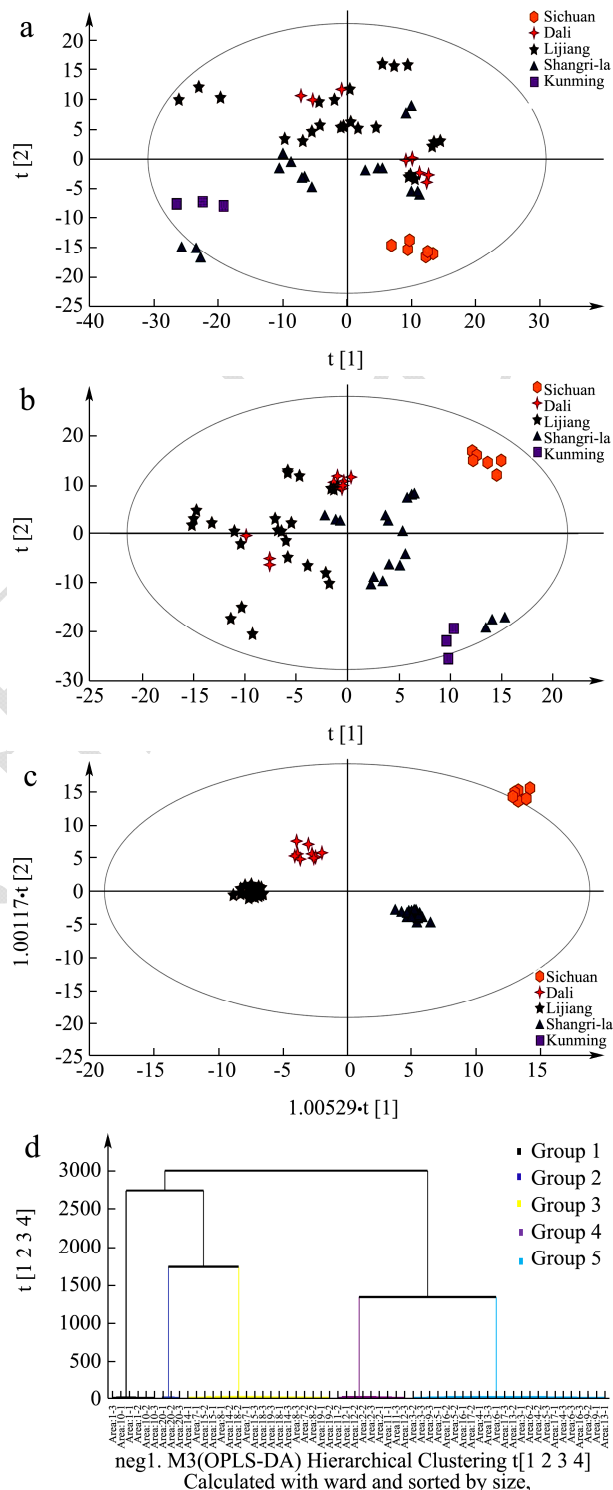


图5 按产地分组的玛咖负谱数据分析

Fig.5 Analysis of maca negative spectral data grouped by origin

注: a: PCA 得分图; b: PLS-DA 得分图; c: OPLS-DA 得分图; d: OPLS-DA 的聚类分析结果; Group 1-Sichuan; Group 2-Kunming; Group 3- Shangri-la; Group 4-Dali; Group 5-Lijiang.

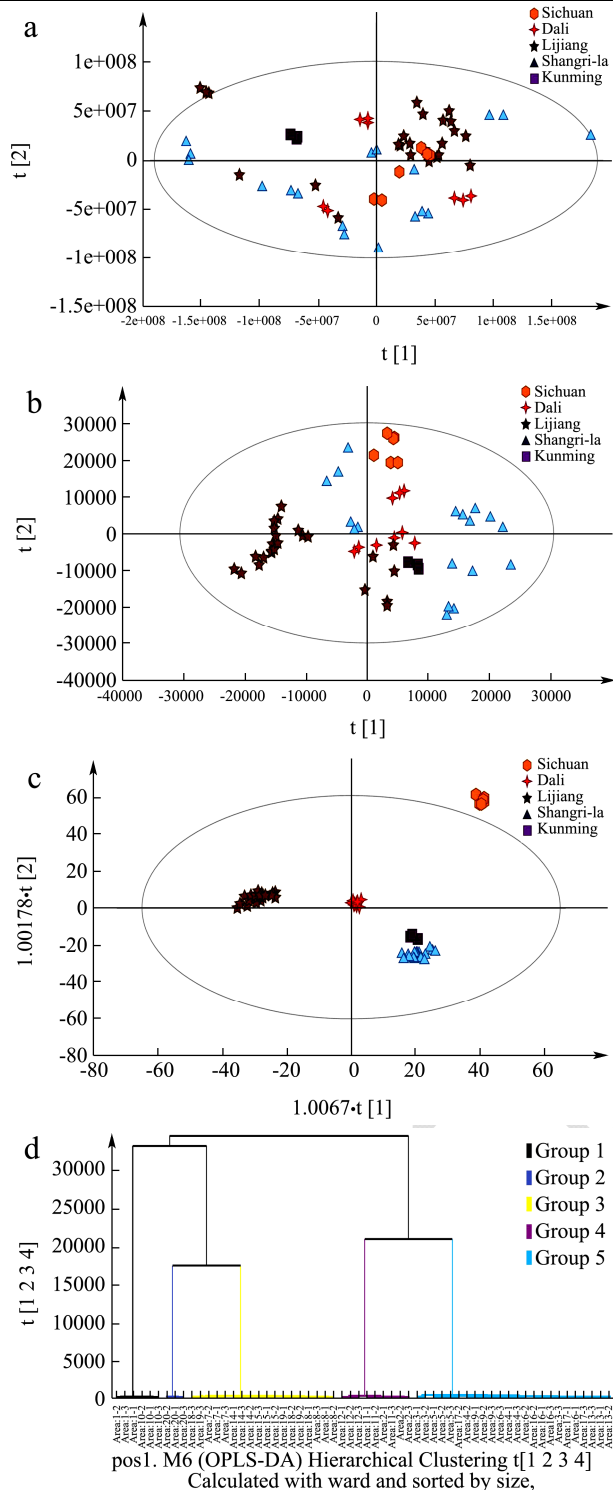


图6 按产地分组的玛咖正谱数据分析

Fig.6 Analysis of maca positive spectral data grouped by origin

注: a: PCA 得分图; b: PLS-DA 得分图; c: OPLS-DA 得分图; d: OPLS-DA 的聚类分析结果; Group 1-Sichuan; Group 2-Kunming; Group 3- Shangri-la; Group 4-Dali; Group 5-Lijiang。

2.3.2 丽江和香格里拉玛咖的多元变量统计分析

为了验证产地分组中 PLS-DA 模型没有分组成功是否是组间样本量差别大造成的, 本实验将四川、大理和昆明样本排除, 只分析丽江和香格里拉玛咖, 结

果如图 7、图 8 所示。可以看出香格里拉和丽江玛咖在第一主成分上可以分开, 香格里拉玛咖主要位于第一主成分正轴, 丽江玛咖位于第一主成分负轴。排列置换检验结果表明偏最小二乘判别分析的模型合理有效, 同时也可以说明组间样本量差别大、分配不合理是造成全部样本 PLS-DA 模型分组不成功的主要原因。

聚类分析结果显示玛咖可以分为两组 (group 1 和 group 2), 其中 group 1 全部为香格里拉玛咖, group 2 全部为丽江玛咖, 也就是说丽江玛咖和香格里拉玛咖可区分为两类, 与 OPLS-DA 得分图结果相同。丽江玛咖和香格里拉玛咖的分组很有可能是因为两地的海拔不同, 丽江的平均海拔是 2400 m, 香格里拉的平均海拔是 3500 m, 两地海拔不同导致两地玛咖内物质组成和含量不同, 使得这两个地区的玛咖分为两类。

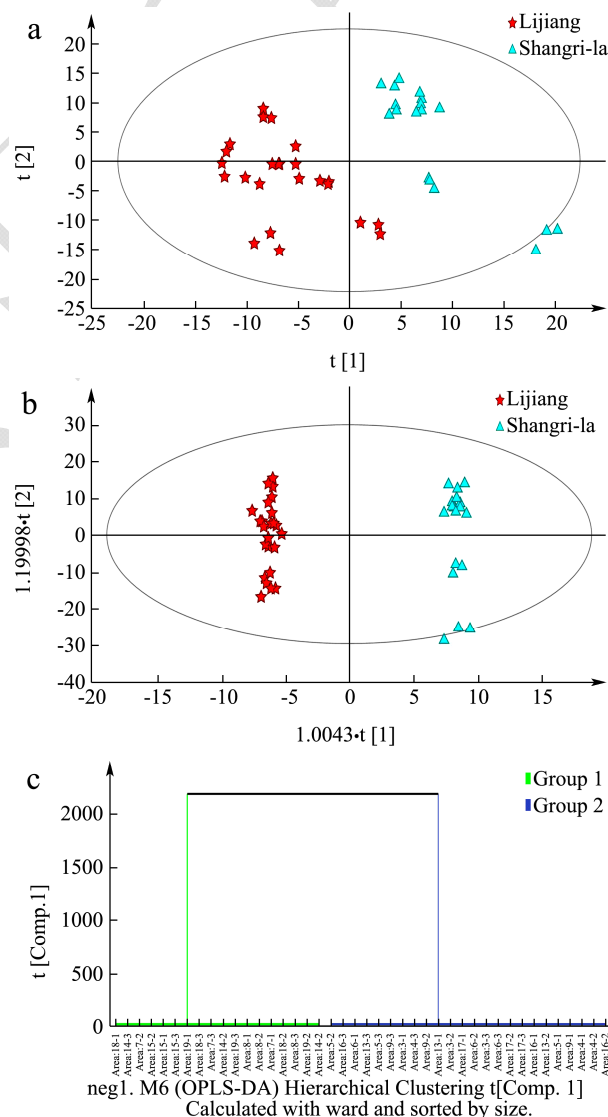


图7 丽江和香格里拉玛咖负谱数据的分析

Fig.7 Analysis of negative spectral data of maca between Lijiang and Shangri-la

注: a: PLS-DA 得分图; b: OPLS-DA 得分图; c: OPLS-DA 的聚类分析结果; Group 1-Shangri-la; Group 2-Lijiang。

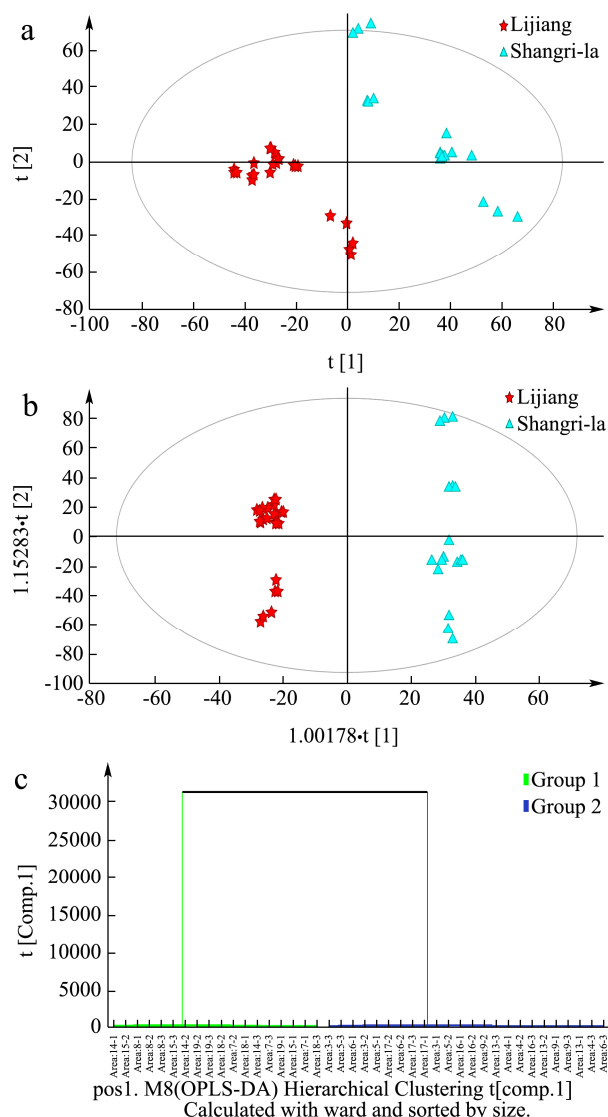


图8 丽江和香格里拉玛咖正谱数据的分析

Fig.8 Analysis of positive spectral data of maca between Lijiang and Shangri-la

注: a: PLS-DA 得分图; b: OPLS-DA 得分图; c: OPLS-DA 的聚类分析结果; Group 1-Shangri-la; Group 2-Lijiang。

2.4 不同表型玛咖标志性产物筛选及其定性

选择ratio 值大于2 或小于0.5 的代谢物进行分析, 分别得到载荷图(图9-11)。

在正谱中选出VIP 大于1、Ratio 值大于20 或小于0.05 并且P 值小于0.01 的代谢物, 在负谱中选出VIP 大于2、Ratio 值大于2 或小于0.5 并且P 值小于0.01 的代谢物。将这些代谢产物进行二级质谱分析,

在二级质谱中保留时间与一级质谱保留时间对应的物质确定为不同表型玛咖标志性代谢产物, 保留时间允许偏差为0.2 min。通过与HMDB 和NIST 数据库以及相关玛咖的文献对比这些标志性代谢产物的二级质谱信息对其进行定性。与Zhao J 等人^[22]描述的N-苄基-15Z-烯二十四酰胺的二级质谱碎片离子对比, 确定黑色玛咖中序号为449 的标志性代谢物为N-苄基-15Z-烯二十四酰胺(m/z 456.41764, $[M+H]^+$) (N-Benzyl-15Z-tetracosenamide)。与Zhou Y 等人^[17]文章中的3-甲氧基苯基乙酸二级质谱信息和NIST 数据库中3-甲氧基苯基乙酸的二级质谱图对比, 确定黄色和紫色玛咖中序号为655 的标志性代谢物为3-甲氧基苯基乙酸(m/z 165.04019, $[M-H]^-$) (3-methoxyphenylacetic acid)。由于目前对于玛咖中代谢物质定性的数据库和文献较少, 本实验只定性出来N-苄基-15Z-烯二十四酰胺和3-甲氧基苯基乙酸两种物质, 有待今后结合二级质谱信息进行更深入的解析。

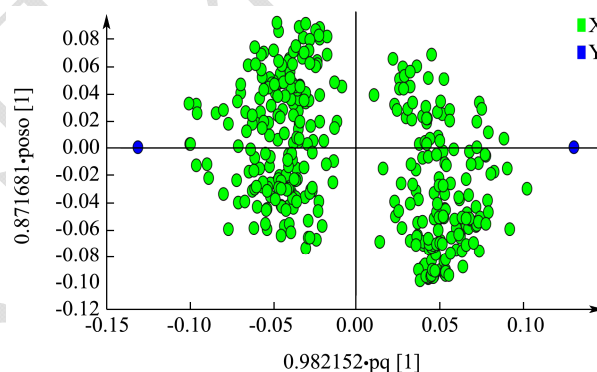


图9 黑色和黄色玛咖的OPLS-DA 载荷图

Fig.9 OPLS-DA load diagram of black and yellow maca

注: 左Y-黑色玛咖, 右Y-黄色玛咖。

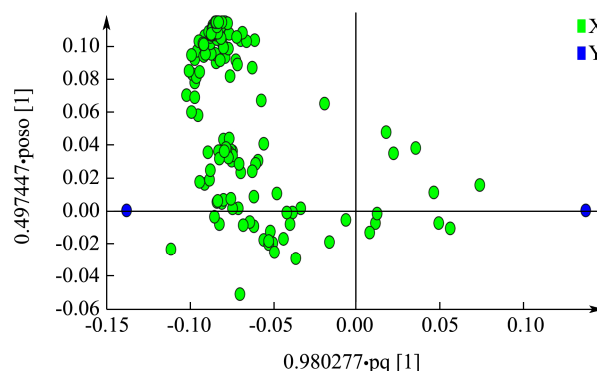


图10 紫色和黄色玛咖的OPLS-DA 载荷图

Fig.10 OPLS-DA load diagram of black and yellow maca

注: 左Y-紫色玛咖, 右Y-黄色玛咖。

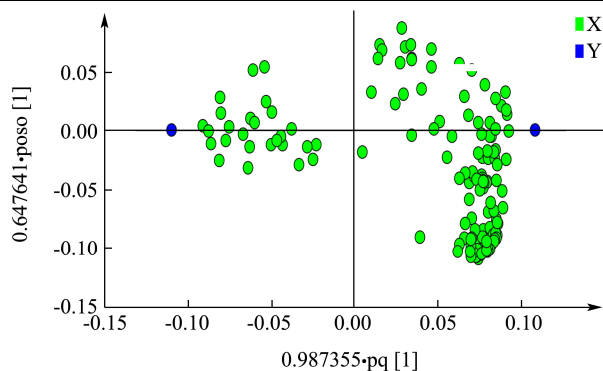


图 11 黑色和紫色玛咖的 OPLS-DA 载荷图

Fig.11 OPLS-DA load diagram of black and yellow maca

注：左 Y-黑色玛咖，右 Y-紫色玛咖。

3 结论

3.1 本实验使用超高效液相色谱串联质谱的方法对玛咖的甲醇提取液进行分析，应用多元变量统计方法，研究了不同表型和不同产地的玛咖之间的差别，结果表明，表型和产地两个因素都会引起玛咖中代谢物质差异。

3.2 三种表型的玛咖 PLS-DA 和 OPLS-DA 模型中消除组内差异后，黑色、黄色和紫色玛咖成功分组。五个产地玛咖在 OPLS-DA 模型中完全分开。消除组内差异后。云南丽江玛咖和香格里拉玛咖在 PLS-DA 和 OPLS-DA 模型中可以完全分开。说明代谢组学技术可用于玛咖不同表型及产地的鉴别，为制定玛咖质量标准提供参考，有助于规范市场。

3.3 在三种表型的玛咖中找出对分离贡献率较大的代谢物质并进行二级质谱分析，与 NIST 数据库、HMDB 数据库以及相关文献中二级质谱信息对比，鉴定出黑色玛咖中的 449 号以及黄色和紫色玛咖中的 655 号两种标志性代谢物，449 号物质为 N-苄基-15Z-烯二十四酰胺，655 号物质为 3-甲氧基苯基乙酸。

参考文献

- [1] Gonzales G F. Ethnobiology and ethnopharmacology of *Lepidium meyenii* (maca), a plant from the Peruvian highlands [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 193496
- [2] Shu J C, Cui H Q, Huang Y Z, et al. Quality control of maca (*Lepidium meyenii*) [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(23): 4536-4540
- [3] 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,2010,24:415-419

- Science, 2010, 24: 415-419
- [4] 冷蕾,于淼,刘金平,等.吉林产玛咖根茎挥发油的 GC-MS 分析[J].中国医药指南,2012,24:43-45
- LENG Lei, YU Miao, LIU Jin-ping, et al. GC-MS analysis of chemical components of volatile oil from *Lepidium meyenii* walp grown in Jilin area [J]. Guide of China Medicine, 2012, 24: 43-45
- [5] 金文闻,王晴芳,李硕,等.新疆产玛咖的挥发油成分研究[J].食品科学,2009(12):241-245
- JIN Wen-wen, WANG Qing-fang, LI Shuo, et al. GC-MS analysis of chemical components of essential oil from *Lepidium meyenii* grown in Xinjiang area [J]. Food Science, 2009(12): 241-245
- [6] 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
- [7] 金文闻.药食两用植物玛咖 (*Lepidium meyenii*) 的功物质研究[D].武汉:华中科技大学,2007
- JIN Wen-wen. Study on the functional factors of *Lepidium meyenii*, a plant with medicine and food characteristics [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2017
- [8] 谢逸欣,赖富饶,曾婷,等.大孔吸附树脂分离纯化玛咖生物碱的研究[J].食品科技,2014,10:241-245
- XIE Yi-xin, LAI Fu-rao, ZENG Ting, et al. Separation and purification of maca alkaloids with macroporous adsorption resin [J]. Food Technology, 2014, 10: 241-245
- [9] 谢逸欣,陈文秋,曾婷,等.玛咖不同提取物对人体精子功能的影响[J].食品工业科技,2016,20:134-137
- XIE Yi-xin, CHEN Wen-qiu, ZENG Ting, et al. Effects of different maca extracts on human sperm function [J]. Food Industry Technology, 2016, 20: 134-137
- [10] Clement C, Diaz G 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(5): 861-869
- [11] O M H, Mscisz A, Piatkowska E, et al. Peruvian maca (*Lepidium peruvianum*): (II) phytochemical profiles of four prime maca phenotypes grown in two geographically-distant locations [J]. Int J Biomed Sci, 2016, 12(1): 9-24
- [12] 余龙江,金文闻,吴元喜,等.玛咖的植物学及其药理作用研究概况[J].天然产物研究与开发,2002,5:71-74
- YU long-jiang, JIN Wen-wen, WU Yuan-xi, et al. A survey of botany and pharmacological effects on maca (*Lepidium meyenii* Walp., *Lepidium peruvianum* Chacon.) [J]. Research

- and Development of Natural Products, 2002, 5: 71-74
- [13] Ruiz-Luna A C, Salazar S, Aspajo N J, et al. *Lepidium meyenii* (maca) increases litter size in normal adult female mice [J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2005, 3(1): 16
- [14] 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
- [15] 沈维治, 邹宇晓, 林光月, 等. 玛咖抗疲劳作用及活性组分研究[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 7: 721-726
- SHEN Wei-zhi, ZHOU Yu-xiao, LIN Guang-yue, et al. Bioactive constituents and anti-fatigue effects *in vivo* of *Lepidium meyenii* (maca) [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2014, 7: 721-726
- [16] Gonzales G, Valerio L. Medicinal plants from Peru: A review of plants as potential agents against cancer [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2006, 6(5): 429-444
- [17] 何钊, 冯颖, 徐琰峰, 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, 15: 39-43
- HE Zhao, FENG Ying, XU Long-feng, et al. *In vitro* antioxidant activity of ethanol extract of maca (*Lepidium meyenii* Walpers) cultivated in Yunnan [J]. Food Science, 2010, 15: 39-43
- [18] Lee K, Dabrowski K, Sandoval M, et al. Activity-guided fractionation of phytochemicals of maca meal, their antioxidant activities and effects on growth, feed utilization, and survival in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles [J]. Aquaculture, 2005, 244(1-4): 293-301
- [19] Pan Y, Zhang J, Li H, et al. Characteristic fingerprinting based on macamides for discrimination of maca (*Lepidium meyenii*) by LC/MS/MS and multivariate statistical analysis [J]. J Sci Food Agric, 2016, 96(13): 4475-4483
- [20] Meissner H O, Mscisz A, Mrozikiewicz M, et al. Peruvian maca (*Lepidium peruvianum*): (I) phytochemical and genetic differences in three maca phenotypes [J]. Int J Biomed Sci, 2015, 11(3): 131-145
- [21] Pan Y, Zhang J, Li H, et al. Characteristic fingerprinting based on macamides for discrimination of maca (*Lepidium meyenii*) by LC/MS/MS and multivariate statistical analysis [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(13): 4475-4483
- [22] Zhou Y, Li P, Brantner A, et al. Chemical profiling analysis of maca using UHPLC-ESI-Orbitrap MS coupled with UHPLC-ESI-QqQ MS and the neuroprotective study on its active ingredients [J]. Sci Rep, 2017, 7: 44660

(上接第 242 页)

- [5] 刘俊艳, 王成花, 梁真, 等. 模糊数学感官评价法优化塔格糖酸奶发酵工艺[J]. 中国酿造, 2017, 36(3): 99-102
- LIU Jun-yan, WANG Cheng-hua, LIANG Zhen, et al. Optimization of tagatose yogurt fermentation technology based on fuzzy mathematics sensory evaluation method [J]. China Brewing, 2017, 36(3): 99-102
- [6] 李升升, 靳义超. 基于标准化法评估的牦牛酸奶加工工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(3): 297-302
- LI Sheng-sheng, JIN Yi-chao. Study on the producing technology of yak yogurt based on standardization analysis [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2018, 37(3): 297-302
- [7] 吕冠薇, 段翠翠, 高磊, 等. 奶豆腐来源植物乳杆菌的益生特性评价[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(6): 134-139
- LYU Guan-wei, DUAN Cui-cui, GAO Lei, et al. Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from dairy toufu [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(6): 134-139
- [8] 王金和, 雷连成. 富锌益生素的制备及其培养条件的优化[J]. 饲料工业, 2017, 38(18): 44-48
- WANG Jin-he, LEI Lian-cheng. Preparation of zinc-enriched probiotics and optimization of its culture conditions [J]. Feed Industry, 2017, 38(18): 44-48
- [9] 王国军, 高印, 来航线, 等. 益生菌发酵苹果渣对仔猪表观消化率、血清免疫指标、肠道菌群与形态的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(5): 96-103
- WANG Guo-jun, GAO Yin, LAI Hang-xian, et al. Effects of probiotic fermented apple pomace on apparent digestibility, serum immune indexes, intestinal microflora and morphology in weaned piglets [J]. Chinese Journal of Animal Science, 2017, 53(5): 96-103
- [10] 孙雪姣, 王一如, 丁瑞雪, 等. 益生菌火龙果酸奶的研发[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(19): 99-103
- SUN Xue-jiao, WANG Yi-ran, DING Rui-xue, et al. Development of probiotic dragon fruit yogurt [J]. Food Research and Development, 2018, 39(19): 99-103