

玛咖浸泡酒工艺研究

罗椿子^{1,2}, 张弘^{2,*}, 郑华², 张加研¹, 涂行浩²

(1.西南林业大学材料工程学院, 云南 昆明 650224; 2.中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224)

摘 要: 为填补天然保健植物玛咖用于酒类产品加工研究方面的空白, 进行玛咖浸泡酒工艺条件研究。以乙醇体积分数、液固比、时间 3 个因素进行响应优化, 并以总生物碱和芥子油苷为指标, 研究玛咖浸泡酒的最佳工艺。结果表明: 玛咖浸泡酒的最佳提取工艺为乙醇体积分数 55%、液固比 40:1(mL/g)、存放时间 145d, 此条件下产品的生物碱、芥子油苷响应指标理论值分别可达 0.47% 和 0.15%。

关键词: 玛咖; 酒; 总生物碱; 芥子油苷

Process Optimization for Development of a Medicinal Liquor Based on Soaking of Maca in Alcohol

LUO Chun-zi^{1,2}, ZHANG Hong^{2,*}, ZHENG Hua², ZHANG Jia-yan¹, TU Xing-hao²

(1. College of Materials Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;

2. Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, China)

Abstract: Maca, a natural vegetable with healthcare function, is an excellent material for preparing wine. In this work, central composite design was used to optimize alcohol concentration, solid-to-liquid ratio and soaking time based on the concentrations of total alkaloids and glucosinolates for the development of a medicinal liquor by soaking maca in alcohol. The optimal soaking conditions were found as follows: alcohol concentration 55%, solid-to-liquid ratio 1:40 (g/mL), and soaking time 145 days. Under these conditions, the theoretical concentrations of total alkaloids and glucosinolates were 0.47% and 0.15%, respectively.

Key words: maca (*Lepidium meyenii*); liquor; alkaloids; glucosinolates

中图分类号: TS261.4; TS262.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)02-0164-05

玛咖(*Lepidium meyenii* Walp.), 十字花科独行菜属一年生或两年生草本植物, 原产于秘鲁 4000m 以上的安第斯山区^[1-3]。国内外大量研究表明, 玛咖中除含有丰富的蛋白质、氨基酸、矿物质等营养物质外, 还含有玛咖烯、玛咖酰胺等活性物质, 它在南美已经有几千年的食用历史, 常年的食用经验和研究表明, 玛咖具有增强体力^[4-5]、消除疲劳^[6]、提高男性性功能^[7-11]的作用, 被誉为全球十大畅销营养食品之一, 近年来被推荐为可食用的安全食品, 亦是世界公认的天然男性活力营养素^[12-14]。

虽然近年来玛咖已引起研究热潮, 但是还未有人涉及玛咖浸泡酒。酒为中华民族的传统饮品, 符合中国人的饮用习惯, 它不仅易于营养成分的吸收, 且价格相对合理, 能被大多数群众接受。本研究将玛咖浸泡于白酒中制得玛咖浸泡酒^[15], 并以总生物碱和芥子油苷的质量分数作为检测指标, 因适量的生物碱对人体

具有镇痛、消炎、降压、抑菌、抗氧化及抗癌等多种生理活性^[16], 芥子油苷及其分解产物亦有很多生物活性^[1], 故研究玛咖浸泡中总生物碱和芥子油苷的质量分数具有重要意义。因此本研究希望通过酒的形式为玛咖保健功能饮品今后更好地服务于群众打下坚实基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

干制玛咖块根 中国林业科学院资源昆虫研究所滇中高原试验站; 白酒(乙醇体积分数为 60%) 云南嘉丽泽酒厂; 盐酸小檗碱、氯化钾 上海晶纯实业有限公司; 盐酸 重庆川东化工(集团)有限公司; 95% 乙醇、氢氧化钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、无水氯化钙 天津市风船化学试剂科技有限公司; 氯仿 云南杨林工业开发区汕滇药业有限公司; 溴麝香草酚蓝 上海试剂

收稿日期: 2011-09-21

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201004028)

作者简介: 罗椿子(1987—), 女, 硕士研究生, 主要从事林产化学与加工研究。E-mail: 441571066@qq.com

* 通信作者: 张弘(1963—), 男, 研究员, 学士, 主要从事天然资源化学与利用研究。E-mail: kmzhong@163.com

三厂; 黑芥子硫苷酸钾(sinigrin) 美国 Sigma 公司; 羧甲基纤维素钠盐 国药集团化学试剂有限公司; 纯水 自制。

1.2 仪器与设备

DYQ 参茸切片机 浙江省瑞安市永历制药机械有限公司; 2.5L 细口玻璃瓶 重庆渝北玻璃仪器厂; AB204-S 精密型电子天平 梅特勒-托利多(中国)有限公司; DU800 紫外-可见分光光度计 美国贝克曼库尔特有限公司; TY742X2A 纯水机 美国 Barnstead 公司; 实验室常规玻璃仪器; Z323K 高速离心机 德国赫默公司; HH-6 型数显恒温水浴锅 常州澳华科技有限公司; 电热鼓风干燥箱 南京实验仪器厂。

1.3 方法

将玛咖块根均匀切片, 放入细口瓶中, 用白酒浸泡。加盖密封后避光贮存, 定期检测酒中的生物碱及芥子油苷含量, 评价乙醇体积分数、液固比和浸泡时间对上述 2 项指标的影响。

1.3.1 乙醇体积分数对生物碱、芥子油苷含量的影响

取玛咖切片 42g, 按液固比 50:1(mL/g) 分别量取体积分数为 60%、55%、50%、45%、40% 的乙醇溶液 2100mL, 置于阴凉、避光处存放 90d, 并每隔 30d 摇匀。其中不同体积分数乙醇溶液的配制方法见式(1):

$$m = \frac{m_1 \times \phi_1}{\phi_2} - m_1^{[17]}$$

式中: m 为勾兑用水的质量; m_1 为所取原酒的质量; ϕ_1 为所取原酒的体积分数; ϕ_2 为需配制酒的体积分数。

1.3.2 液固比对生物碱、芥子油苷含量的影响

在 1.3.1 节中确定的最佳乙醇体积分数之下, 分别按不同的液固比 30:1、40:1、50:1、60:1、70:1(mL/g), 分别称取不同质量的玛咖片, 倒入最佳体积分数的乙醇溶液 2100mL, 置于阴凉、避光处存放 90d, 并每隔 30d 摇匀。

1.3.3 存放时间对生物碱、芥子油苷含量的影响

在 1.3.1 和 1.3.2 节确定的最佳乙醇体积分数和最佳液固比之下, 称取对应质量的玛咖片, 倒入乙醇溶液 2100mL, 置于避光阴凉的环境中存放 90、120、150、180、210d, 并每隔 30d 摇匀。

1.3.4 生物碱测定

1.3.4.1 盐酸小檗碱标准曲线制作

参考文献[18]和[19]的方法。

1.3.4.2 酒样中总生物碱的检测

取玛咖酒 10.0mL, 注入已烘干至质量恒定的 100mL

瓷蒸发皿内, 置于沸水浴上, 蒸发至浸膏, 然后用质量分数 2% HCl 溶液洗涤溶解, 共洗涤 3 次, 合并酸液, 10000r/min 离心 15min。取酸溶液, 用质量分数 10% NaOH 溶液调至 pH10, 再用等体积氯仿萃取 3 次, 合并萃取液并定容至 10mL。取其中 1mL, 按标准曲线处理方法于最大吸收波长处测定吸光度, 代入回归方程得玛咖浸泡酒中总生物碱的质量分数。

1.3.5 芥子油苷测定

1.3.5.1 芥子油苷标准曲线

参考文献[1]的方法。

1.3.5.2 酒样中芥子油苷质量分数的检测

取玛咖酒 2mL, 按标准曲线中的显色方法, 于最大吸收波长处测定吸光度, 并与标准曲线对照, 求出样品中芥子油苷的总量。

1.3.6 酒样中常规指标测定

总酸、总酯、固形物: 参考 GB/T 10345—2007 《白酒分析方法》; 总汞: GB/T 5009.17—2003 《食品中总汞及有机汞的测定》; 铅: GB/T 5009.12—2010 《食品中铅的测定》; 毒死蜱、三唑磷、杀螟硫磷: GB/T 5009.20—2003 《食品中有机磷农药残留量的测定》。

1.3.7 响应曲面设计

根据单因素试验结果, 选择乙醇体积分数、液固比、时间 3 个因素作为响应变量, 利用 Design-expert 8.0 软件, 按照中心复合试验设计原理, 以玛咖浸泡酒中总生物碱和芥子油苷的质量分数为响应值, 通过响应面曲面分析进行制备条件的优化, 从而得到最优工艺条件。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

2.1.1 生物碱标准曲线

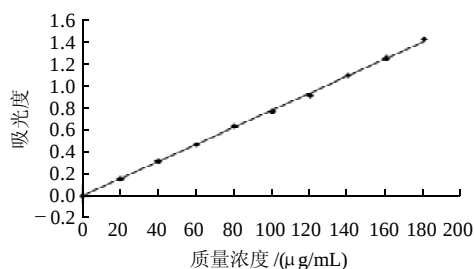


图1 盐酸小檗碱标准曲线

Fig.1 Standard curve of berberine chloride

由图1可知, 盐酸小檗碱质量浓度与吸光度的线性回归方程为 $A=0.0079c - 0.0056$, $R^2 = 0.9995$, 其线性关系良好。

2.1.2 芥子油苷标准曲线

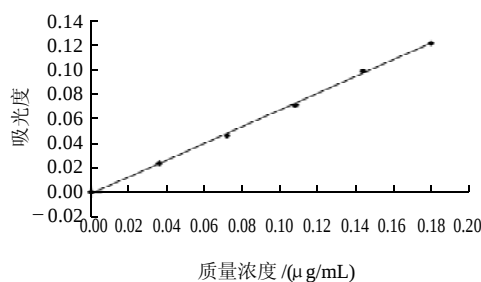


图2 芥子油苷标准曲线
Fig.2 Standard curve of glucosinolates

由图2可知,芥子油苷与吸光度的线性回归方程为 $A=0.6856c-0.0012$, $R^2=0.9990$, 其线性关系良好。

2.2 单因素试验

2.2.1 乙醇体积分数对总生物碱和芥子油苷质量分数的影响

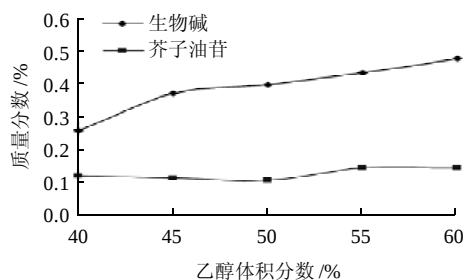


图3 乙醇体积分数对玛咖浸泡酒中总生物碱和芥子油苷质量分数的影响

Fig.3 Effect of ethanol concentration on the concentrations of total alkaloids and glucosinolates in maca medicinal liquor

由图3可知,总生物碱和芥子油苷的质量分数均随乙醇体积分数的增加而增加,但总生物碱的质量分数增加得更明显。当乙醇体积分数为60%时,两种指标含量均达到最高,故选择乙醇体积分数为60%为佳。

2.2.2 液固比对总生物碱和芥子油苷质量分数的影响

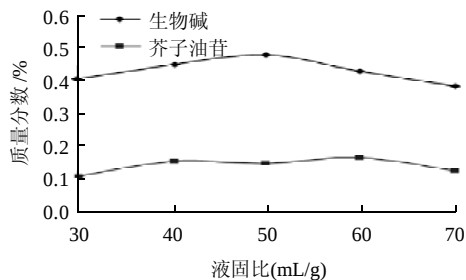


图4 液固比对玛咖浸泡酒中总生物碱和芥子油苷质量分数的影响

Fig.4 Effect of solid-to-liquid ratio on the concentrations of total alkaloids and glucosinolates in maca medicinal liquor

由图4可知,总体而言,总生物碱质量分数和芥子油苷的质量分数随液固比的增加而增加,总生物碱质量分数变化趋势更为明显。当液固比增加到50:1(mL/g)时,总生物碱质量分数达到最大,芥子油苷质量分数略有下降,但变化幅度不大。以两种指标的质量分数之和最高为参考指标,选择液固比为50:1(mL/g)为佳。

2.2.3 存放时间对总生物碱和芥子油苷质量分数的影响

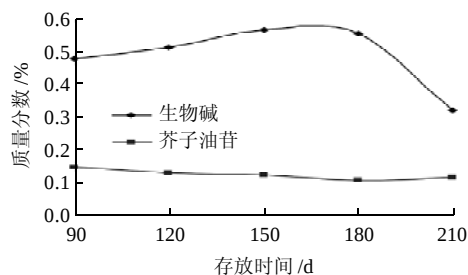


图5 存放时间对玛咖浸泡酒中总生物碱和芥子油苷质量分数的影响
Fig.5 Effect of soaking time on the concentrations of total alkaloids and glucosinolates in maca medicinal liquor

由图5可知,总生物碱的质量分数随时间的增加而减少,当浸泡到150d时总生物碱溶出已达最大,再继续浸泡受环境,或其他溶出物的影响,总生物碱质量分数反而减小,芥子油苷的质量分数随时间变化先增加后减小,但总体而言,芥子油苷的质量分数变化很小。以两种指标的质量分数之和最高为参考指标,选择存放时间150d为最佳。

2.3 响应曲面优化

2.3.1 响应面设计试因素水平设计

各试验组的编码与取值见表1。

表1 中心复合试验设计及结果
Table 1 Central composite experimental design and results

标准序	运行序	A 乙醇体 积分数 /%	B 液固比 (mL/g)	C 存放 时间 /d	总生 物碱 /%	芥子油 苷 /%
8	1	1(55)	1(60)	1(180)	0.24	0.14
5	2	-1(45)	-1(40)	1	0.37	0.10
6	3	1	-1	1	0.33	0.14
9	4	-2(40)	0(50)	0(150)	0.33	0.13
10	5	2(60)	0	0	0.56	0.12
3	6	-1	1	-1(120)	0.048	0.09
14	7	0(50)	0	2(210)	0.29	0.14
7	8	-1	1	1	0.46	0.12
15	9	0	0	0	0.43	0.18
1	10	-1	-1	-1	0.20	0.05
13	11	0	0	-2(90)	0.40	0.17
16	12	0	0	0	0.43	0.18
4	13	1	1	-1	0.50	0.04
2	14	1	-1	-1	0.49	0.07
17	15	0	0	0	0.43	0.18
12	16	0	2(70)	0	0.36	0.22
11	17	0	-2(30)	0	0.27	0.20

2.3.2 响应面设计试验结果分析

运用 Design-Expert 8.0 数据统计分析软件, 进行中心复合试验得到试验方案与结果, 如表 1 所示。

对表 1 中的数据进行二次多元回归拟合, 得到总生物碱质量分数的二次多项回归方程: $Y = 0.41 + 0.06A + 2.569 \times 10^{-3}B - 3.219 \times 10^{-3}C - 1.512 \times 10^{-3}AB - 0.12AC + 0.017BC + 7.152 \times 10^{-4}A^2 - 0.033B^2 - 0.025C^2$ 。芥子油苷的二次多项回归方程: $Y = 0.16 + 9.062 \times 10^{-4}A + 3.844 \times 10^{-3}B + 0.02C - 0.012AB + 0.011AC + 1.538 \times 10^{-3}BC - 0.016A^2 + 5.046 \times 10^{-3}B^2 - 0.017C^2$ 。

表 2 总生物碱的估计回归系数

Table 2 Estimated regression coefficients of the regression model for total alkaloid concentration

项	系数	系数标准误差	t 值	P 值
常量	0.424522	0.04290	9.662	0.000
A	0.060319	0.01944	3.103	0.017*
B	0.002569	0.01944	0.132	0.899
C	-0.003219	0.01944	-0.166	0.873
A ²	0.000715	0.01767	0.040	0.969
B ²	-0.032847	0.01767	-1.859	0.105
C ²	-0.024510	0.01767	-1.387	0.208
AB	-0.001513	0.02749	-0.055	0.958
AC	-0.124563	0.02749	-4.531	0.003**
BC	0.016512	0.02749	0.601	0.567

注: *.影响显著, $P < 0.05$; **.影响极显著, $P < 0.01$ 。

表 3 芥子油苷的估计回归系数

Table 3 Estimated regression coefficients of the regression model for glucosinolate concentration

项	系数	系数标准误差	t 值	P 值
常量	0.155465	0.03067	5.096	0.001
A	0.000906	0.01390	0.065	0.950
B	0.003844	0.01390	0.277	0.790
C	0.019731	0.01390	1.420	0.199
A ²	-0.015867	0.01263	-1.256	0.249
B ²	0.005046	0.01263	0.399	0.702
C ²	-0.016629	0.01263	-1.316	0.230
AB	-0.012387	0.01966	-0.630	0.549
AC	0.011138	0.01966	0.567	0.589
BC	0.001538	0.01966	0.078	0.940

表 4 总生物碱的方差分析

Table 4 Variance analysis for the regression model for total alkaloid concentration

来源	自由度	连续平方和	调整平方和	校正均方和	F 值	P 值
回归	9	0.215930	0.215930	0.023992	3.97	0.041
线性	3	0.058485	0.058485	0.019495	3.22	0.092
平方	3	0.031119	0.031119	0.010373	1.72	0.250
交互作用	3	0.126326	0.126326	0.042109	6.96	0.017
残差误差	7	0.042330	0.042330	0.006047		
失拟	5	0.042330	0.042330	0.008466	*	*
纯误差	2	0.000000	0.000000	0.000000		
合计	16	0.258260				

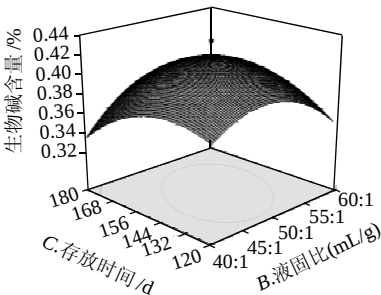
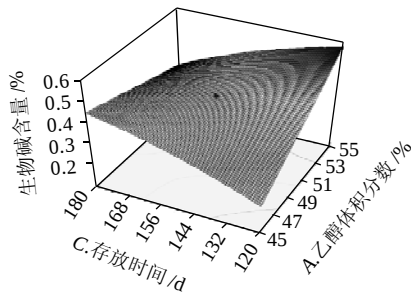
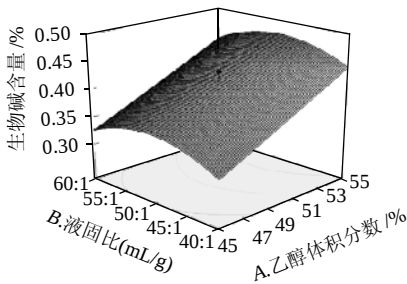
表 5 芥子油苷的方差分析

Table 5 Variance analysis for the regression model for glucosinolate concentration

来源	自由度	连续平方和	调整平方和	校正均方和	F 值	P 值
回归	9	0.021119	0.021119	0.002347	0.76	0.658
线性	3	0.006479	0.006479	0.002160	0.70	0.582
平方	3	0.021401	0.021401	0.004134	1.34	0.337
交互作用	3	0.002239	0.002239	0.000746	0.24	0.865
残差误差	7	0.021638	0.021638	0.003091		
失拟	5	0.021638	0.021638	0.004328	*	*
纯误差	2	0.000000	0.000000	0.000000		
合计	16	0.042756				

由表 2~5 可知, 各项因素对总生物碱质量分数的影响中, 单因素 A 影响显著($P < 0.05$), 交互项 AC 影响极显著($P < 0.01$), 此模型对生物碱质量分数拟合良好。而对芥子油苷质量分数影响中各因素均不显著。

2.3.3 响应曲面分析与优化



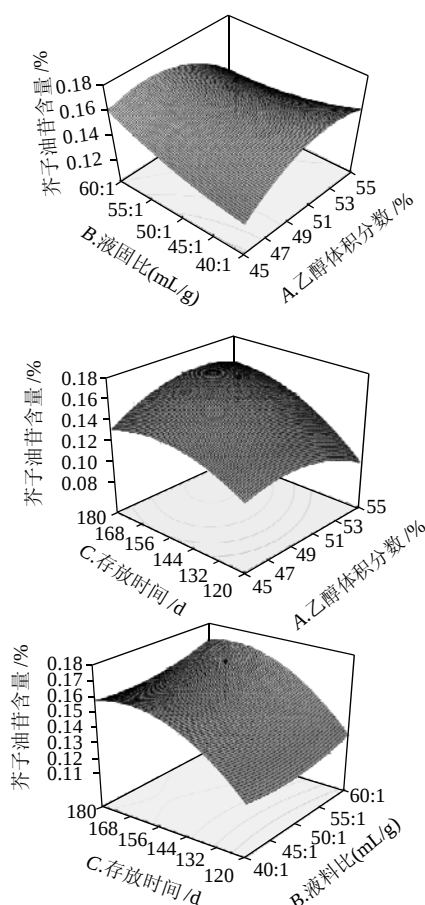


图6 各两因素对总生物碱质量分数、芥子油苷质量分数影响的响应曲面图

Fig.6 Response surface plots for the interaction effects of three soaking conditions on the concentrations of total alkaloids and glucosinolates in maca medicinal liquor

图6直观反映了各个因素对响应值的影响。本试验主要目的是以总生物碱和芥子油苷的质量分数作为指标,讨论玛咖浸泡酒的最佳制备工艺条件,利用Design-expert 8.0软件进行试验结果优化,以总生物碱和芥子油苷的质量分数最大为目标,通过分析得到最佳工艺条件:乙醇体积分数55%、液固比40:1(mL:g)、存放时间145d。总生物碱和芥子油苷的质量分数理论值分别为0.47%和0.15%。

2.4 玛咖浸泡酒中常规指标检测

常规指标检测:经检测,玛咖浸泡酒中优化项最佳指标中总酸质量分数为0.6541g/L,总酯质量分数为0.2380g/L,固形物质量分数为4.12g/L,卫生指标中重金属铅质量分数0.04mg/L,总汞未检出,农残有机磷类毒死蜱、三唑磷、杀螟硫磷等未检出。其中总酸质量分数和卫生指标在许可范围之内,总酯质量分数偏低,固形物质量分数偏高可能是由于浸泡酒中其他物质溶出,改变了酒的风味,同时使酒样中固形物质量分数增高。

感官指标:色泽:金黄色,清亮透明;气味:

有玛咖的特殊嗅感,酒味醇厚;口感:滋味纯正,无异味,余味悠长;风格:具玛咖浸泡酒独特风格。

3 结论

3.1 经优化后,玛咖浸泡酒的最佳工艺条件为乙酸的体积分数55%、液固比40:1、存放时间145d,总生物碱和芥子油苷的质量分数理论分别为0.47%和0.15%。

3.2 玛咖浸泡酒中优化项最佳指标中总酸质量分数为0.6541g/L,总酯质量分数为0.2380g/L,固形物质量分数为4.12g/L,卫生指标中重金属铅质量分数0.04mg/L,总汞未检出,农残有机磷类毒死蜱、三唑磷、杀螟硫磷等未检出。

3.3 玛咖浸泡酒因玛咖的特有成分,营养丰富,感官指标良好,风格独特,具有进一步开发利用的价值。

参考文献:

- [1] 金文闻. 药食两用植物玛咖的增效物质研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [2] 余龙江, 金文闻. 国际良种: 药食两用植物 MACA[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2003.
- [3] 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(增刊 1): 255-259.
- [4] 张永忠, 程华. 玛咖提取物的激素样活性实验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1874-1875.
- [5] 余龙江, 金文闻, 吴元喜, 等. 玛咖植物学及药理作用研究概况[J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(5): 71-74.
- [6] STONE M, IBARRA A, ROLLER M, et al. A pilot investigation into the effect of maca supplementation on physical activity and sexual desire in sportsmen[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 126(3): 574-576.
- [7] CICERO A F G, PIACENTE S, PLAZA A, et al. Hexanic Maca extract improves rat sexual performance more effectively than methanolic and chloroformic Maca extracts[J]. Andrologia, 2002, 34(3): 177-179.
- [8] GONZALES G F, GASCO M, MALHEIROS-PEREIRA A, et al. Antagonistic effect of *Lepidium meyenii* (red maca) on prostatic hyperplasia in adult mice[J]. Andrologia, 2008, 40(3): 179-185.
- [9] 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(1): 1-16.
- [10] GONZALES G F, GONZALES C, GONZALES-CASTAÑEDA C. *Lepidium meyenii* (Maca): A plant from the highlands of peru-from tradition to science[J]. Forsch Komplementmed, 2009, 16(6): 373-380.
- [11] GASCO M, AGUILAR J, GONZALES G F. Effect of chronic treatment with three varieties of *Lepidium meyenii* (Maca) on reproductive parameters and DNA quantification in adult male rats[J]. Andrologia, 2007, 39(4): 151-158.
- [12] 余龙江, 金文闻. 玛咖干粉的营养成分及抗疲劳作用研究[J]. 食品科学, 2004, 25(1): 164-166.
- [13] 高珊, 童英, 熊晓燕, 等. 玛咖与西洋参缓解体力疲劳作用对比试验研究[J]. 实验动物科学与管理, 2006, 23(4): 4-6.
- [14] 浦跃武, 王金全. 超声波提取玛咖多糖的工艺研究[J]. 食品科技, 2010, 35(3): 174-177.
- [15] 薛润光. 一种玛咖保健酒. 中国: 200810233797. 4[P]. 2008-12-31.
- [16] 吴丹, 巩江, 高昂, 等. 食物中常见生物碱研究进展[J]. 宁夏农林科技, 2011, 52(3): 63-64; 66.
- [17] 王瑞明. 白酒勾兑技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 82.
- [18] 王军. 天然药物化学实验教程[M]. 广州: 中山大学出版社, 2007: 11; 30.
- [19] 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.