蛹虫草的稳定碳同位素和脂肪酸研究

郭莲仙[1]，梁福睿[2]，梁一[1]，王江海[2]
（1. 广东医学院公共卫生学院，广东东莞 523808）
（2. 中山大学海洋学院，广东省海洋资源与近岸工程重点实验室，广东广州 510006）

摘要：本文旨在对冬虫夏草替代品的脂肪酸组成和稳定碳同位素比值及其变异规律开展研究。采用元素分析-同位素比值质谱仪（EA-IRMS）先对 8 种冬虫夏草替代品（包括 6 种蛹虫草和 2 种虫草菌丝体）和 1 个冬虫夏草子座样品的稳定碳同位素比值进行测定，再采用化学方法将其中性油脂和极性油脂进行高效分离，并采用气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）对中性油脂和极性油脂的脂肪酸组成进行测定；最后将检测结果与作者之前报道的冬虫夏草数据进行对比分析。对比研究表明，不同冬虫夏草替代品在稳定碳同位素比值、粗脂肪含量和脂肪酸组成上存在明显差异；冬虫夏草替代品的粗脂肪和不饱和脂肪酸含量低于冬虫夏草，显现出冬虫夏草的不可替代性；稳定碳同位素比值和脂肪酸组成是冬虫夏草替代品掺杂判识的两类重要标志。

关键词：蛹虫草；虫草菌丝体；脂肪酸组成
文章篇号：1673-9078(2014)6-52-58

Fatty Acids and Stable Carbon Isotope Ratios in *Cordyceps militaris*

GUO Lian-xian[1], LIANG Fu-rui[2], LIANG Yi[1], WANG Jiang-hai[2]
(1.School of Public Health, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China) (2.Guangdong Provincial Key Laboratory of Marine Resources and Coastal Engineering, School of Marine Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: This paper aims to study the fatty acid composition and stable carbon isotope ratios as well as their variational trends of several substitutes of *Ophiocordyceps sinensis*. Firstly, the stable carbon isotope ratios of eight substitutes of *Ophiocordyceps sinensis*, including six kinds of *Cordyceps militaris* and two kinds of *Cordyceps mycelium*, and one stroma sample of *Ophiocordyceps sinensis* were determined by elemental analysis-isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS). Then, the neutral and polar lipids were effectively extracted from the samples by a chemical saparation method, and their fatty acid compositions were measured by chromatography mass spectrometry (GC-MS). Finally, the measured data was compared with our previously-published data of *Ophiocordyceps sinensis*. Evident differences were found among different substitutes of *Ophiocordyceps sinensis* in their stable carbon isotope ratios, fat contents and fatty acid compositions. The contents of fat and unsaturated fatty acids in the substitutes were lower than those of *Ophiocordyceps sinensis*, exhibiting the irreplaceability of *Ophiocordyceps sinensis*. Results also showed that the stable carbon isotope ratios and fatty acid composition might be two important markers to discriminate the adulteration among the substitutes of *Ophiocordyceps*.

Key words: *Cordyceps militaris*; *Cordyceps mycelium*; fatty acid composition

冬虫夏草（*Ophiocordyceps sinensis*）为蝠蛾属幼虫被虫草属真菌中国被毛孢（*Hirsutella sinensis*）侵染后形成的虫菌复合体[1]，是受国家保护的名贵药材[2]。近二十年来，因过度放牧对冬虫夏草适生地的破坏及对其的过度采挖，破坏了适生地植被和寄主蝠蛾的生境，使其资源不断萎缩。加上冬虫夏草的严格寄生性和生态地理环境的特殊性，更使资源量锐减、价格飚升[3]。为缓解供需矛盾，寻找冬虫夏草替代品已成为必然的选择。

目前市场上主要替代品为蛹虫草和虫草菌丝体。蛹虫草（*Cordyceps militaris*）的无性型为蛹草拟青霉（*Paecilomyces militaris*）[4]，其大规模人工培育技术已趋成熟[5]。市售的虫草菌丝体产品很多，且有商家声称其功效成分接近或高于冬虫夏草。然而研究发现，虫草菌丝体的菌种大多不是冬虫夏草的优势菌种中国被毛孢；即使是以中国被毛孢为菌种生产的虫草菌丝体，

收稿日期：2014-12-28
基金项目：国家自然科学基金项目（81303155）、教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目（20090171110015）和东莞市科技计划项目（2011108102022）联合资助
作者简介：郭莲仙（1984-），女，博士，讲师，研究方向：功能食品生物技术
通讯作者：王江海（1965-），男，博士，研究员，博士生导师，研究方向：同位素地球化学

因其发酵过程难以模拟青藏高原特殊的自然条件，故虫草菌丝体产品的功效成分及其含量均明显有别于冬虫夏草[6]。尽管前人对冬虫夏草替代品的功效成分已进行广泛的研究，但主要集中于水溶性成分，而对脂溶性成分的研究则偏少[7]。

本文以冬虫夏草替代品（6种蛹虫草和2种虫草菌丝体）和冬虫夏草子座为研究对象，先采用元素分析-同位素比值质谱仪（EA-IRMS）对其稳定碳同位素比值（$\delta^{13}C$‰）进行测定；再采用化学方法将其中性油脂和极性油脂进行高效分离，并采用气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）对中性油脂和极性油脂的脂肪酸组成进行定性与定量分析；最后将分析结果与本研究团队报道的冬虫夏草数据[8]进行对比。结果表明，从含油量和脂肪酸组成看，冬虫夏草具有明显的优越性和不可替代性；冬虫夏草替代品的稳定碳同位素比值和脂肪酸组成是两类重要判识标志，并可为规范冬虫夏草替代品市场及保障消费者权益提供重要的技术支持。

1 材料与方法

1.1 样品描述

产自于东北（样号为YDB1、YDB2和YDB3）和华南（样号为YGC1、YGC2和YGC3）的蛹虫草样品均购置于广州市药材市场，且经鉴定其无性型均为*Paecilomyces militaris*。两种虫草菌丝体产品（BLJN和CMJN）的菌种分别为*Synnematium sinens*和*Paecilomycesh epiali*。冬虫夏草子座样品（OS-S）因单条冬虫夏草子座的质量太轻，为了获得足量的样品，作者将多根冬虫夏草的子座合并为一个子座样品进行分析。

1.2 仪器与试剂

气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）为Varian GC 3800-Mass 2000，并装配有50 m×0.25 mm的CP-7419毛细管色谱柱。元素分析（EA）-同位素比值质谱仪（IRMS）中EA的型号为CE EA1112 C/N/S，IRMS的型号为DELTA ^{plus} XL。石油醚、四氢呋喃、二氯甲烷、硫酸、醋酸、乙酸乙酯和无水硫酸钠均为分析纯。采用金属钠法去除石油醚、四氢呋喃和甲醇中的水。0.6 mol/L甲醇钠溶液的制备方法如下：称取1.38 g金属钠，将其置于100 mL无水甲醇中，待金属钠完全反应后即得该浓度的甲醇钠溶液。

1.3 稳定碳同位素比值测定

将约2 mg待测样品用锡舟包裹好，放置于进样盘中。样品经自动进样器进入EA，并在960 ℃高温下完全燃烧转化成CO_2。用IRMS自动检测样品的$\delta^{13}C$值，并根据CO_2参考气的$\delta^{13}C$值换算出样品的$\delta^{13}C$值。本次研究所用的稳定碳同位素标样的$\delta^{13}C$测定值为-36.9‰。

1.4 中性油脂与极性油脂的分离和制备

蛹虫草和冬虫夏草子座样品：将样品冷冻干燥 24 h 后称重；用陶瓷碾钵将其磨至 40 目左右的粉末。虫草菌丝体胶囊样品：将虫草菌丝体胶囊打开，冷冻干燥 24 h 后称重；取适量粉末样品置于 5 mL 离心管中，加入 4 倍体积的石油醚，涡旋震荡 0.5 min；40 kHz 超声抽提 5 min 后离心，取上清；重复抽提样品残渣 3 次后，合并上清；用氮气吹干后即得中性油脂；称重，并计算各样品中粗脂肪的百分含量；加入少许溶剂保护并将其置于 4 ℃冰箱中保藏。

在抽提完中性油脂的样品残渣中加入 1.5 倍体积的甲醇溶液，涡旋震荡 1 min；加入 3 倍体积的二氯甲烷，涡旋震荡 1 min；40 kHz 超声抽提 5 min 后离心，取上清；重复抽提样品残渣 3 次后，合并上清；加入 1/4 总体积的 0.88%氯化钾水溶液，震荡，静置；待其分层后，用注射器小心吸走上层水相，保留下层的二氯甲烷相；再加入 1/4 体积的甲醇和氯化钾溶液（1:1），重复前一步操作；用氮气吹干后即得极性油脂；称重，并计算各样品中极性油脂（粗脂肪）的百分含量；加入少许溶剂保护并将其置于 4 ℃冰箱保藏。

1.5 脂肪酸甲酯的制备

将抽提获得的中性油脂（极性油脂）样品溶解于 0.8 mL 石油醚（二氯甲烷）中；加入 0.5 mL 四氢呋喃助溶剂，混溶；加入 1.5 mL 甲醇钠，待反应液变清且冷却后，加入 0.6 mL 5%乙酸，震荡；静止，待其分层，取上层油相，用蒸馏水洗 3 遍；用氮气吹干后得油状透明产物即为中性油脂（极性油脂）的脂肪酸甲酯。

1.6 脂肪酸甲酯的种类及其含量测定

将制备好的脂肪酸甲酯稀释至约 50 μg/g；加入 10 μg/g 的 $C_{19:0}$ 脂肪酸甲酯做内标，用自动进样器按不分流模式进样 1 μL；载气为氦气，其流速为 1 mL/min；升温程序设定为：起始温度为 100 ℃，然后以 6 ℃/min 速率上升至 190 ℃；在 190 ℃下保持 6 min 后，再以 20 ℃/min 速率上升至 260 ℃，并在 260 ℃下保持 5 min。外标为已知浓度的 37 种脂肪酸混合标样，浓度分别为 10、50、100、400 和 1000 μg/g。采用 GC-MS 检测样品中脂肪酸甲酯的种类及其含量，同时也通过外标中各脂肪酸甲酯的保留时间确定待测样品中脂肪

酸甲酯的种类。用标准曲线计算样品中各种脂肪酸的绝对含量。将各种脂肪酸的绝对含量归一化，即得其相对含量。

2 结果与讨论

2.1 稳定碳同位素比值

冬虫夏草替代品和冬虫夏草子座样品的稳定碳同位素比值（$\delta^{13}C$）列于表 1。从表 1 看出，其$\delta^{13}C$ 值从高到低依次为 BLJN（-13.60‰）、CMJN（-20.91‰）、蛹虫草（-26.71‰~-25.37‰，均值为-26.25‰），冬虫夏草子座（-27.30‰）。

自然界中的稳定碳同位素有 ^{12}C 和 ^{13}C 两种。它们在质量数上存在的差异性导致其化学性质略存偏差。这种差异性在不同植物体内的光合作用产物中会显现出来，且在不同光合途径的植物间其显现得更加显著，即 C3 植物的$\delta^{13}C$ 变化范围为-22‰~-35‰，C4 植物的$\delta^{13}C$ 变化范围为-9‰~-17‰[9]。异养生物在摄取饲料或利用培养基碳源时也会产生明显的碳同位素分馏，即异养生物与饲料或培养基相比，异养生物体的$\delta^{13}C$ 值一般小于饲料或培养基的$\delta^{13}C$ 值 0.75‰[10]。从本次实验结果来看，BLJN 的$\delta^{13}C$ 值最高，为-13.61‰，表现出 C4 植物的稳定碳同位素组成特征，表明该菌丝体的培养基碳源很可能来源于诸如玉米的 C4 植物。CMJN 的$\delta^{13}C$ 值为-20.91‰，表现出 C3 植物的稳定碳同位素组成特征，表明该菌丝体的培养基碳源可能来源于 C3 植物或 C3 植物与 C4 植物的混合源。6 种蛹虫草的$\delta^{13}C$ 值很相近，其均值为-26.25‰，故这些蛹虫草的培养基源于 C3 植物。冬虫夏草子座因其培养基为主要取食 C3 植物的蝠蛾幼虫[11]，故其$\delta^{13}C$ 值（-27.30‰）很低，明显表现出 C3 植物的稳定碳同位素特征。因冬虫夏草替代品的培养基各不相同，故其稳定碳同位素比值表现出差异性。在系统建成冬虫夏草替代品的稳定碳同位素数据库的基础上，可运用稳定同位素示踪技术对冬虫夏草替代品的种类和品质进行辨识及品质监控。

2.2 冬虫夏草替代品与冬虫夏草中粗脂肪含量异同性

冬虫夏草替代品和冬虫夏草子座样品的粗脂肪含量列于表 1。从表 1 看出，其含量自高至低依次为蛹虫草：5.51~5.97%，平均值 5.71%；虫草菌丝体 BLJN 为 6.5%；CMJN 为 10.73%；冬虫夏草子座：1.04%。

本次研究的蛹虫草、虫草菌丝体和冬虫夏草子座的粗脂肪含量都比冬虫夏草（平均含量为 12.62%）低[12]。部分学者认为，冬虫夏草的功效成分为腺苷和虫草多糖；然而，因冬虫夏草具有广泛的药理活性，故越来越多的学者认为其功效成分并非单一的化合物。前人研究初步表明，冬虫夏草的主要功效成分为腺苷和特殊的脂类活性物质[13]。有的学者认为，某些功能食品在含油量为 10%~20%时其药效最好[14]。作者推测，冬虫夏草中 12.62%的粗脂肪可能对其功效成分具有协同作用，从而提高其药理活性。尽管前人培育出的冬虫夏草替代品中某些功效成分高于冬虫夏草[7]，但因其粗脂肪含量低而无法实现协同增效。故从粗脂肪含量上看，冬虫夏草具有明显的特殊性和不可替代性。

表 1 冬虫夏草及其替代品的稳定碳同位素组成及粗脂肪和中性油脂中脂肪酸的相对含量（100%）

Table 1 $\delta^{13}C$ values (‰), fat contents (%) and relative abundances of fatty acids (%) in neutral lipids from Ophiocordyceps sinensis and its substitutes

样号	粗脂肪/%	$\delta^{13}C$/‰	$C_{14:0}$	$C_{14:1}$	$C_{15:0}$	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{17:0}$	$C_{17:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	$C_{20:0}$	$C_{20:1}$	$C_{20:2}$	$C_{22:0}$	$C_{22:4}$	$C_{24:0}$	UFA	SFA	UFA/SFA
CM1	5.61	-26.71	0.07	0.1	0.07	34.32	0.68	0.23	0.34	5.17	5.61	51.85	0.63	0.10	0.10	0.20	0.05	0.38	0.09	59.89	40.11	1.49
CM2	5.51	-26.42	0.07	0.10	0.07	32.98	0.69	0.23	0.35	5.28	5.72	52.91	0.64	0.10	0.10	0.20	0.05	0.39	0.09	61.11	38.89	1.57
CM3	5.76	-27.01	0.07	0.10	0.07	35.61	0.67	0.23	0.33	5.07	5.50	50.83	0.62	0.10	0.10	0.20	0.05	0.37	0.09	58.72	41.28	1.42
CM4	5.79	-25.84	0.12	0.18	0.12	35.67	1.23	0.41	0.62	5.36	6.56	48.6	0.51	0.07	0.07	0.13	0.03	0.26	0.06	58.16	41.84	1.39
CM5	5.64	-25.37	0.12	0.18	0.12	34.36	1.26	0.42	0.63	5.47	6.69	49.59	0.52	0.07	0.07	0.13	0.03	0.27	0.06	59.35	40.65	1.46
CM6	5.97	-26.12	0.12	0.18	0.12	36.93	1.21	0.40	0.61	5.25	6.43	47.65	0.50	0.07	0.07	0.13	0.03	0.25	0.06	57.02	42.98	1.33
CM AVR	5.71	-26.25	0.10	0.14	0.10	34.98	0.96	0.32	0.48	5.27	6.09	50.24	0.57	0.09	0.09	0.17	0.04	0.32	0.08	59.04	40.96	1.44
BLJN	6.50	-13.60	0.11	0.16	0.11	17.66	1.07	0.36	0.53	2.51	15.61	59.52	1.58	0.09	0.09	0.17	0.04	0.33	0.08	79.06	20.94	3.78
CMJN	10.73	-20.91	0.04	0.06	0.04	14.23	0.39	0.13	0.19	6.04	23.61	43.9	7.75	0.39	0.39	0.79	0.20	1.50	0.36	78.58	21.42	3.67
OS-S	1.04	-27.30	0.06	0.04	0.12	10.32	0.21	0.12	0.43	8.50	11.61	67.94	0.39	0.02	0.07	0.08	0.03	0.05	0.04	80.82	19.18	4.21
OS AVR[8]	12.62[12]	-26.45	0.04	0.03	0.06	11.61	1.10	0.06	0.04	0.68	55.98	27.61	2.46	0.05	0.08	0.07	0.03	0.06	0.05	87.42	12.58	6.95

注：脂肪酸相对含量为 3 次检测结果的均值，且 3 次检测值的标准偏差（SD）小于 0.50%；$\delta^{13}C$ 值为 3 次检测结果的均值，且

3 次检测值与均值之偏差的绝对值小于 0.25‰；UFA，不饱和脂肪酸；SFA，饱和脂肪酸；CM AVR 为蛹虫草的均值，OS AVR 为冬虫夏草的均值[8]。

2.3 中性油脂与极性油脂中脂肪酸组成的对比

2.3.1 中性油脂和极性油脂中脂肪酸的种类及其含量

样品中中性油脂的脂肪酸组成的相对含量列于表 1。从表 1 看出，共检出 17 种脂肪酸，且每类样品之间的脂肪酸含量具有明显的差异性。蛹虫草中主要脂肪酸为 $C_{18:2}$（亚油酸，48.6~50.9%，均值为 50.23%）和 $C_{16:0}$（棕榈酸，34.3~5.7%，均值为 35.0%）；次要脂肪酸为 $C_{18:1}$（油酸，5.61~6.56%，均值为 6.09%）、$C_{18:0}$（硬脂酸，5.17~5.36%，均值为 5.27%）和 $C_{16:1}$（棕榈油酸，0.68~1.23%，均值为 0.96%）；其余为微量脂肪酸（含量低于 0.6%）。虫草菌丝体 BLJN 的主要脂肪酸为 $C_{18:2}$（59.5%）、$C_{16:0}$（17.7%）和 $C_{18:1}$（15.6%）；次要脂肪酸为 $C_{18:0}$（2.51%）、$C_{18:3}$（亚麻酸，1.58%）和 $C_{16:1}$（1.07%）；其余为微量脂肪酸（含量低于 0.6%）。虫草菌丝体 CMJN 的主要脂肪酸为 $C_{18:2}$（43.9%）、$C_{18:1}$（23.6%）、$C_{16:0}$（14.2%）、$C_{18:3}$（7.75%）和 $C_{16:0}$（6.04%）；其余为微量脂肪酸（含量低于 0.8%）。从冬虫夏草子座样品（OS-S） 中也检出相同的 17 种脂肪酸，但主要脂肪酸含量多少的顺序不同，即 $C_{18:2}$（67.94%）、$C_{18:1}$（11.61%）、$C_{16:0}$（10.32%）和 $C_{18:0}$（8.5%）；其余均为含量均低于 0.5%的微量脂肪酸。

样品中极性油脂的脂肪酸相对含量列于表 2。从表 2 看出，在极性油脂中检出 17 种脂肪酸，且每类样品之间的脂肪酸含量差异显著。蛹虫草的主要脂肪酸为 $C_{18:2}$（60.5~61.9%，均值为 61.2%）、$C_{16:0}$（18.6~19.8%，均值为 19.2%）、$C_{18:1}$（7.75~8.58%，均值为 8.16%）、$C_{18:0}$（5.91~6.25%，均值为 6.08%）；次要脂肪酸为 $C_{18:3}$（0.73~2.73%，均值为 1.73%）；其余为微量脂肪酸（含量低于 0.8%）。虫草菌丝体 BLJN 的主要脂肪酸为 $C_{18:2}$（66.3%）、$C_{16:0}$（17.1%）和 $C_{18:0}$（10.6%）；次要脂肪酸为 $C_{18:1}$（1.86%）、$C_{18:3}$（1.51%）和 $C_{16:1}$（0.69%）；其余为微量脂肪酸（含量低于 0.5%）。虫草菌丝体 CMJN 的主要脂肪酸为 $C_{18:2}$（41.9%）、$C_{18:0}$（29.9%）、$C_{16:0}$（16.6%）和 $C_{18:3}$（5.54%）；次要脂肪酸为 $C_{18:1}$（1.46%）、$C_{22:4}$（1.11%）和 $C_{16:1}$（0.89%）；其余为微量脂肪酸（含量低于 0.6%）。从子座样品（OS-S） 中也检出相同的 17 种脂肪酸，但其主要脂肪酸含量多少的顺序不同，即 $C_{18:2}$（68.31%）、$C_{16:0}$（12.38%）、$C_{18:0}$（12.07%）和 $C_{18:1}$（5.02%）；除 $C_{17:1}$ 的含量为 0.75%外，其余均为含量低于 0.25%的微量脂肪酸。

2.3.2 冬虫夏草与其替代品中脂肪酸组成的比较

冬虫夏草及其替代品中不饱和脂肪酸（Unsaturated fatty acids，UFA）和饱和脂肪酸（Saturated fatty acids，SFA）含量及其比值（UFA/SFA）列于表 1 和表 2。从图 1 可知，蛹虫草（均值）、虫草菌丝体 BLJN 和 CMJN、冬虫夏草子座、冬虫夏草的全草（均值）中中性油脂和极性油脂的 UFA/SFA 比值变异特征，显示出所有的冬虫夏草替代品中中性油脂和极性油脂的 UFA/SFA 比值显著低于冬虫夏草。因 UFA 具有降糖、降脂和降胆固醇等多种药理活性[15]，故仅从脂肪酸组成角度看，冬虫夏草因其拥有更高的 UFA 而优于其替代品。

2.3.3 冬虫夏草替代品的脂肪酸判识标志

已有的研究表明，中性油脂的脂肪酸组成可作为食用油掺杂判识的重要指标[16]。极性油脂的脂肪酸是细胞膜的重要组成部分，其脂肪酸组成可指征土壤中微生物群落结构[17]。因此，中性油脂和极性油脂的脂肪酸组成可作为表征生物的指纹分子。尽管用于本次研究的几种蛹虫草其来源不同，但因其无性型均为 Paecilomyces militaris，故其中性油脂和极性油脂的脂肪酸组成非常类似。两种虫草菌丝体样品因所用的发酵菌种不同（BLJN 的菌种为 Synnematium sinens；CMJN 的菌种为 Paecilomycesh epiali），故其中性油脂和极性油脂的脂肪酸组成迥异。

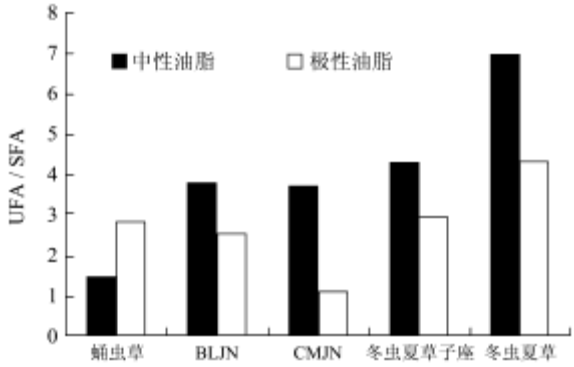


图 1 冬虫夏草及其替代品中不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸比值的变异特征

Fig.1 Histogram of the UFA/SFA ratios in Ophiocordyceps sinensis and its substitutes

为了更直观地展现各类冬虫夏草替代品中脂肪酸组成的异同性，作者将其脂肪酸相对含量（%）与其脂肪酸种类进行作图，并将数据点连成直线（图 2）。从图 2 明显看出，每种冬虫夏草替代品拥有各自特殊的脂肪酸剖面样式。

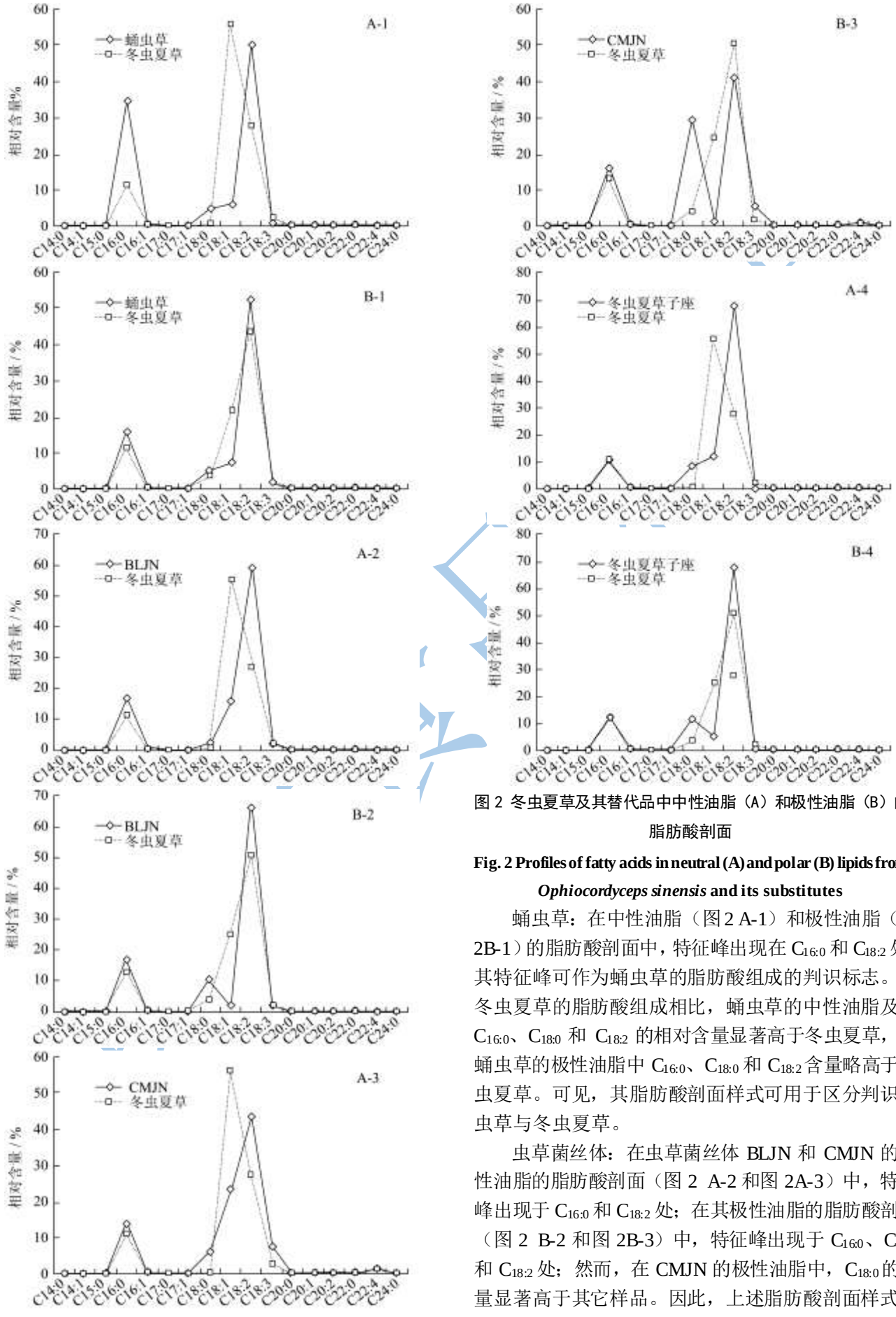


图 2 冬虫夏草及其替代品中中性油脂（A）和极性油脂（B）的脂肪酸剖面

Fig. 2 Profiles of fatty acids in neutral (A) and polar (B) lipids from *Ophiocordyceps sinensis* and its substitutes

蛹虫草：在中性油脂（图 2 A-1）和极性油脂（图 2B-1）的脂肪酸剖面中，特征峰出现在 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:2}$ 处；其特征峰可作为蛹虫草的脂肪酸组成的判识标志。与冬虫夏草的脂肪酸组成相比，蛹虫草的中性油脂及其 $C_{16:0}$、$C_{18:0}$ 和 $C_{18:2}$ 的相对含量显著高于冬虫夏草，而蛹虫草的极性油脂中 $C_{16:0}$、$C_{18:0}$ 和 $C_{18:2}$ 含量略高于冬虫夏草。可见，其脂肪酸剖面样式可用于区分判识蛹虫草与冬虫夏草。

虫草菌丝体：在虫草菌丝体 BLJN 和 CMJN 的中性油脂的脂肪酸剖面（图 2 A-2 和图 2A-3）中，特征峰出现于 $C_{16:0}$ 和 $C_{18:2}$ 处；在其极性油脂的脂肪酸剖面（图 2 B-2 和图 2B-3）中，特征峰出现于 $C_{16:0}$、$C_{18:0}$ 和 $C_{18:2}$ 处；然而，在 CMJN 的极性油脂中，$C_{18:0}$ 的含量显著高于其它样品。因此，上述脂肪酸剖面样式及

$C_{18:0}$ 含量可用于判识不同的虫草菌丝体产品。与冬虫夏草相比，虫草菌丝体 BLJN 和 CMJN 的中性油脂中 $C_{18:2}$ 及 CMJN 的极性油脂中 $C_{18:0}$ 含量显著高于冬虫夏草，故其脂肪酸剖面样式可用于判识虫草菌丝体产品与冬虫夏草。

表 2 冬虫夏草及其替代品中极性油脂的脂肪酸相对含量（%）

Table 2 Relative abundances of fatty acids (%) in polar lipids from *Ophiocordyceps sinensis* and its substitutes

样号	$C_{14:0}$	$C_{14:1}$	$C_{15:0}$	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{17:0}$	$C_{17:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	$C_{20:0}$	$C_{20:1}$	$C_{20:2}$	$C_{22:0}$	$C_{22:4}$	$C_{24:0}$	UFA	SFA	UFA/SFA
CM1	0.08	0.02	0.89	18.60	0.78	0.26	0.39	6.25	7.75	60.50	2.73	0.19	0.19	0.37	0.09	0.71	0.17	73.44	26.56	2.77
CM2	0.08	0.02	0.91	16.94	0.80	0.27	0.40	6.38	7.91	61.73	2.79	0.19	0.19	0.38	0.09	0.72	0.17	74.94	25.06	2.99
CM3	0.08	0.02	0.91	18.98	0.80	0.27	0.40	6.38	7.91	59.69	2.79	0.19	0.19	0.38	0.09	0.72	0.17	72.90	27.10	2.69
CM4	0.07	0.83	0.04	19.80	0.73	0.24	0.37	5.91	8.58	61.90	0.73	0.08	0.08	0.16	0.04	0.31	0.07	73.69	26.31	2.80
CM5	0.07	0.85	0.04	18.16	0.74	0.24	0.38	6.03	8.76	63.16	0.74	0.08	0.08	0.16	0.04	0.32	0.07	75.19	24.81	3.03
CM6	0.07	0.86	0.04	20.41	0.75	0.25	0.38	6.09	8.85	60.72	0.75	0.08	0.08	0.16	0.04	0.32	0.07	72.88	27.12	2.69
CM AVR	0.08	0.43	0.47	18.82	0.77	0.25	0.39	6.17	8.29	61.29	1.75	0.14	0.14	0.27	0.07	0.52	0.12	73.84	26.16	2.82
BLJN	0.07	0.06	0.29	17.10	0.69	0.23	0.34	10.60	1.86	66.30	1.51	0.10	0.10	0.20	0.05	0.39	0.09	71.45	28.55	2.50
CMJN	0.09	0.15	0.08	16.60	0.89	0.30	0.44	29.89	1.46	41.90	5.54	0.29	0.29	0.58	0.15	1.11	0.26	52.36	47.64	1.10
OS-S	0.05	0.04	0.14	12.38	0.25	0.18	0.75	12.07	5.02	68.31	0.21	0.13	0.10	0.20	0.08	0.07	0.07	74.95	25.05	2.99
OS AVR[8]	0.08	0.08	0.12	13.26	1.17	0.29	0.55	3.96	24.95	50.98	1.96	0.32	0.52	0.79	0.47	0.20	0.42	81.20	18.80	4.32

注：数值为 3 次检测结果的均值，且 3 次检测值的标准偏差（SD）小于 0.50%；ND，未检测；UFA，不饱和脂肪酸；SFA，饱和脂肪酸；CM AVR 为蛹虫草的均值，OS AVR 为冬虫夏草的均值[8]。

冬虫夏草子座：在冬虫夏草子座的中性油脂和极性油脂脂肪酸剖面（图 2 A-4 和图 2 B-4）中，特征峰出现于 $C_{16:0}$、$C_{18:0}$ 和 $C_{18:2}$ 处；与冬虫夏草的全草脂肪酸剖面相比，其子座的中性油脂和极性油脂中 $C_{18:0}$ 和 $C_{18:2}$ 相对含量显著高于冬虫夏草全草。可见，该脂肪酸剖面样式可用于区分冬虫夏草子座与冬虫夏草的全草产品。

3 结论

通过对冬虫夏草替代品和冬虫夏草子座样品的稳定碳同位素比值和脂肪酸组成的研究，可以得出如下结论：不同冬虫夏草替代品在粗脂肪含量、脂肪酸组成和稳定碳同位素比值上具有明显的差异性；冬虫夏草中的粗脂肪和不饱和脂肪酸含量显著高于冬虫夏草替代品，展现出冬虫夏草的不可替代性；稳定碳同位素比值和脂肪酸组成不仅是冬虫夏草及其替代品的品质指标，而且也是冬虫夏草替代品掺杂判识的两类重要标志，可为规范冬虫夏草及其替代品市场提供强有力的技术支撑。

参考文献

[1] Xing XK, Guo SX. The structure and histochemistry of sclerotia of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. Mycologia, 2008, 100: 616-625

[2] Li Y, Wang XL, Jiao L, et al. A survey of the geographic distribution of *Ophiocordyceps sinensis* [J]. The Journal of Microbiology, 2011, 49: 913-919

[3] Zhou XW, Li LJ, Tian EW. Advances in research of the artificial cultivation of *Ophiocordyceps sinensis* in China [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2013, doi:10.3109/07388551.2013.791245

[4] 蒋毅,姚一建.冬虫夏草无性型研究概况[J].菌物系统, 2003, 22(1):161-176
JIANG Yi, YAO Yi-jian. Anamorphic fungi related to *Cordyceps sinensis* [J]. Mycosystema, 2003, 22(1): 161-176

[5] 刘少霞,陈立静,马款,等.关于蛹虫草人工液体培养条件的研究[J].辽宁农业科学,2001,1:44-45
LIU Shao-xia, CHEN Li-jing, MA Kuan, et al. On liquid culture condition of *Cordyceps* militaris [J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2001, 1: 44-45

[6] 何新发,赵淑蓉.人工虫草菌丝粉的开发研究与展望[J].青海医药杂志,1999,29(10):60-61
HE Xin-fa, ZHAO Shu-rong. A review and prospect on the development of *Cordyceps* mycelium [J]. Qinghai Medical Journal, 1999, 29(10): 60-61

[7] 陈俐彤,曹红峰,黄文芳.蛹虫草的化学成分、药效及应用[J].现代食品科技,2005,21(3):192-194
CHEN Li-tong, CAO Hong-feng, HUANG Wen-fang. Chemical composition, pharmic effect and application of *Cordyceps Militaris* [J]. Modern Food Science & Technology, 2005, 21(3): 192-194

[8] Guo LX, Xu XM, Wu CF, et al. Fatty acid composition of

lipids in wild *Cordyceps sinensis* from major habitats in China [J]. Biomedicine & Preventive Nutrition, 2012, 2: 42-50

[9] 刘微,吕豪豪,陈英旭,等.稳定碳同位素技术在土壤-植物系统碳循环中的应用[J].应用生态学报,2008,19(3):674-680
LIU Wei, LV Hao-hao, CHEN Ying-xu, et al. Application of stable carbon isotope technique in the research of carbon cycling in soil-plant system [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(3): 674-680

[10] Caut S, Angulo E, Courchamp F, et al. Variation in discrimination factors(δ15N and δ13C): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction [J]. Journal of Applied Ecology, 2009, 46(2): 443-453

[11] 周小罡.西藏冬虫夏草形成过程中物质传递的稳定碳同位素示踪研究[D].广州:中山大学,2009
ZHOU Xiao-gang. Stable carbon isotope tracing the mass transfer in the formation of *Cordyceps sinensis* in the Tibetan plateau [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2009

[12] 郭莲仙.野生冬虫夏草及其替代品中脂肪酸和稳定碳同位素组成研究[D].广州:中山大学,2010
GUO Lian-xian. Fatty acid and stable carbon isotopic composition in lipids from wild *Cordyceps sinensis* [D]. Guangzhou:Sun Yat-sen University, 2010

[13] 古德祥,张古忍,王江海等.冬虫夏草研究的回顾与展望[J].中国食品学报,2006,6(2):137-141
GU De-xiang, ZHANG Gu-ren, WANG Jiang-hai, et al. A review and prospect on the study of *Cordyceps sinensis*(Berk) *Sacc* [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(2): 137-141

[14] 孙付军,路俊仙,崔璐,等.不同含油量木鳖子霜抗炎镇痛作用比较[J].时针国医国药,2010,21(5):1084-1085
SUN Fu-jun, LU Jun-xian, CUI Lu, et al. The inflammatory and analgesic effects of momordica products with different oil content [J]. Lishizhen Medcine and Materia Medica Research, 2010, 21(5): 1084-1085

[15] 王炜,张伟敏.单不饱和脂肪酸的功能特性[J].中国食物与营养,2005,4:44-46
WANG Wei, ZHANG Wei-min. The Function and Characters of Monounsaturated Fatty Acids(MUFA) [J]. Food and Nutrition in China, 2005, 4: 44-46

[16] Guo LX, Xu XM, Yuan JP, et al. Characterization and authentication of significant Chinese edible oilseed oils by stable carbon isotope analysis [J]. Journal of American Oil Chemists' Society, 2010, 87: 839-848

[17] Rebecca ED, Geoff NE, Kenneth JG, et al. Comparison of phospholipid fatty acid(PLFA) and total soil fatty acid methyl esters(TSFAME) for characterizing soil microbial communities [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2004, 36: 1793-1800

现代食品科技