

# 小孢粉孢牛肝菌营养成分及化学成分分析与评价

谢莎<sup>1,2,3</sup>, 赵秋钰<sup>1,2</sup>, 杨发忠<sup>1,2</sup>, 杨晓琴<sup>1,2</sup>, 李云仙<sup>1,2\*</sup>

(1. 西南地区林业生物质资源高效利用国家林业和草原局重点实验室, 云南昆明 650224) (2. 西南林业大学材料与化学工程学院, 云南昆明 650224) (3. 石家庄龙泽制药股份有限公司, 河北石家庄 050000)

**摘要:** 小孢粉孢牛肝菌 (*Tylophilus microsporus*) 属牛肝菌科真菌, 来源于云南省曲靖市陆良县。对该菌营养成分的研究结果表明其营养成分含量丰富, 主要营养成分 (g/100 g) 为: 粗蛋白 29.9, 粗多糖 3.68, 必需氨基酸 11.18, 总氨基酸 23.80; 必需氨基酸对非必需氨基酸指数 (E/N) 为 0.89, 必需氨基酸对总氨基酸 (E/E+N) 为 46.97%。总必需氨基酸达到 FAO/WHO 标准模式, 营养成分均衡; EAAI 值 (必需氨基酸指数) 为 1.05。其矿物质营养成分主要包括 Ca、K、Mg、P、Fe、Cu、Mn、Se 等, 特别是 K 含量较高。从该菌中鉴定出 949 个代谢物, 其中有 798 个代谢物包括 10 个超类匹配到人类代谢数据库中, 且具有多个含量较高的活性代谢物。小孢粉孢牛肝菌 (*Tylophilus microsporus*) 为高蛋白质、低含糖量的野生牛肝菌, 其氨基酸含量高且种类相对齐全, 同时苦味氨基酸和钾含量为新型牛肝菌的苦味研究及开发利用提供了重要依据。

**关键词:** 小孢粉孢牛肝菌; 矿物质元素; 氨基酸; 氨基酸评价; 苦味氨基酸; 静电场轨道阱高分辨质谱

文章编号: 1673-9078(2024)10-113-124

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.10.1229

## Analysis and Evaluation of Nutritional and Chemical Components of *Tylophilus microsporus*

XIE Sha<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Qiuyu<sup>1,2</sup>, YANG Fazhong<sup>1,2</sup>, YANG Xiaoqin<sup>1,2</sup>, LI Yunxian<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Highly-Efficient Utilization of Forestry Biomass Resources in Southwest China, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)  
(2. College of Materials and Chemical Engineering, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)  
(3. Shijiazhuang Lonzeal Pharmaceuticals Co. Ltd., Shijiazhuang 050000, China)

**Abstract:** *Tylophilus microsporus* belongs to the Boletaceae family, and is sourced from Luliang County, Qujing City, Yunnan Province. The analysis results of the nutritional composition of *Tylophilus microsporus* shows that *Tylophilus microsporus* is rich in nutrients, and the main nutritional components (g/100 g) were: crude protein 29.9, crude polysaccharide 3.68, essential amino acid 11.18, and total amino acids 23.80. The essential amino acids to non-essential amino acids (E/N) index was 0.89, and the essential amino acids to total amino acids (E/E+N) was 46.97%. The total essential amino acids meet the FAO/WHO standard mode, with balanced nutritional composition. The EAAI value (essential amino acid index) was

引文格式:

谢莎, 赵秋钰, 杨发忠, 等. 小孢粉孢牛肝菌营养成分及化学成分分析与评价[J]. 现代食品科技, 2024, 40(10): 113-124.

XIE Sha, ZHAO Qiuyu, YANG Fazhong, et al. Analysis and evaluation of nutritional and chemical components of *Tylophilus microsporus* [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(10): 113-124.

收稿日期: 2023-10-15

基金项目: 云南省农业基础研究联合专项面上项目 (202301BD070001-118; 202101BD070001-107); 国家林业和草原局西南地区林业生物质资源高效利用重点实验室开放基金项目 (2022-KF11); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202205AC160049)

作者简介: 谢莎 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品药品化学分析及检测, E-mail: xiesha011@126.com

通讯作者: 李云仙 (1980-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品化学分析及检测, E-mail: liyunxian@swfu.edu.cn

1.05. *Tylopilus microspores* was rich in mineral nutrients, mainly including Ca, K, Mg, P, Fe, Cu, Mn and Se, in particular, the K content was high. A total of 949 metabolites were identified from *Tylopilus microsporus*, in which 798 metabolites, including 10 superclasses, matched to the human metabolic database. There were multiple active metabolites with relatively high contents. *Tylopilus microsporus* is a wild bolete with high protein content and low sugar content. Its amino acid content was high and had a relatively complete range of species. Meanwhile, the content of bitter amino acids and potassium content provide an important basis for bitter research and development utilization of new boletes.

**Key words:** *Tylopilus neofelleus*; mineral elements; amino acids; amino acid evaluation; bitter amino acids; UHPLC-Q-Orbitrap HRMS

牛肝菌科真菌资源丰富, 富含蛋白质、氨基酸和矿物元素<sup>[1-4]</sup>, 是我国广泛食用的高等真菌。研究表明, 牛肝菌科真菌具有清热的功效, 是优良的药用真菌。小孢粉孢牛肝菌 (*Tylopilus microsporus*) 属牛肝菌科真菌, 主要分布于云南中部、四川和贵州等地, 是一种大型真菌。但小孢粉孢牛肝菌目前在生态环境部中国科学院发布的《中国生物多样性红色名录-大型真菌卷》中属于 DD 等级, 研究数据不足, 缺乏其相关营养成分分析的研究, 导致国内外文献对小孢粉孢牛肝菌的研究报道较少。因此, 在不同地区对于该真菌的食用人们持有不同态度, 部分地区通常认为它是一种有毒的真菌; 然而, 在云南省曲靖市陆良县, 小孢粉孢牛肝菌是当地人餐桌上的美味佳肴, 它具有独特的苦涩味道, 回味清凉。

真菌属或种科目丰富, 数量繁多, 不同菌种间差异明显。通常真菌的 ITS [内部转录间隔区 (Internal Transcribed Spacer)] 序列在不同的物种间高度保守, 不同的物种间序列各不相同, 因而对此序列通过 PCR [聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction)] 扩增、测序, 与 GenBank 中的已知序列进行比对后, 则可判定真菌种类, 将其划分到属或种。内转录间隔区 ITS 由于不需要加入成熟核糖体, 因此在进化过程中能够承受更多的变异, 属于中度保守的区域, 其保守性基本上表现为种内相对一致, 种间差异比较明显。这种特点使 ITS 适合于真菌物种的分子鉴定以及属内物种间或种内差异较明显的菌群间的系统发育关系分析。目前牛肝菌的化学成分分类主要有十种, 其中最常见的是有机酸及其衍生物, 核苷、核苷酸和类似物, 有机杂环化合物, 有机氧化合物, 脂质与类脂分子, 生物碱及其衍生物等。本文基于 ITS 测序结果对云南省曲靖市陆良县所采集的菌种进行了鉴定, 确认所研究真菌的属和种为小孢粉孢牛肝菌 (*Tylopilus*

*microsporus*), 然后参照国家食品安全标准对该小孢粉孢牛肝菌样品中各种营养素进行检测, 并根据 FAO/WHO [FAO: 联合国粮食及农业组织 Food and Agriculture Organization, WHO: 世界卫生组织 (World Health Organization)] 的规定, 比较人类必需氨基酸模型和鸡蛋蛋白氨基酸模型、计算化学评分 (CS) 和氨基酸评分 (AAS), 并评估必需氨基酸指数 (EAAI)<sup>[5]</sup>。小孢粉孢牛肝菌中包括脂类和类脂分子、苯丙素类和芳香聚酮、有机酸及其衍生物有机杂环类、有机氧化合物、生物碱及其衍生物、核苷酸及其衍生物、木质素及相关化合物等多种代谢物成分; 同时其子类也较为丰富, 通常牛肝菌中富含萜类、黄酮类、生物碱类、香豆素类、肉桂酸类、酚类、二苯乙烯类等生物活性代谢物。超高效液相色谱串联四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 技术具有高分辨率和高分离度的特点<sup>[6]</sup>, 可以对样品实现快速准确的分析, 允许基于精确质量测量的精确定量<sup>[7]</sup>。本次研究中通过上述技术对牛肝菌成分进行了分析, 并与数据库数据进行了详细比对, 确认了小孢粉孢牛肝菌的成分及代谢物组分。综合上述研究内容, 本文旨在为小孢粉孢牛肝菌的开发利用提供充分的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

小孢粉孢牛肝菌 (*Tylopilus microsporus*), 来源于云南省曲靖市陆良县, 为当地采摘获得。

盐酸溶液、磺基水杨酸、柠檬酸钠、氢氧化钠、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、硼酸、甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、亚甲基蓝指示剂、 $\phi=95\%$  乙醇等级别均为 AR (分析纯), 购自天津市科密欧、永大等化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈、甲酸、异丙醇的

级别均为 HPLC (色谱纯), 购自上海安谱实验科技股份有限公司; 常用氨基酸对照品均购自 SIGMA; 葡萄糖对照品购自中国食品药品鉴定研究院; 常用金属元素标液购自国家标准物质中心。

## 1.2 仪器和设备

氨基酸自动分析仪, 英国百康; TU1810 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限公司; NexION 2000 ICP-MS 电感耦合等离子体质谱 ICP-MS, 美国 PerkinElmer 公司; CPA225D 天平, Sartorius; PS-100AL 超声波清洗器, 深圳洁康洗净电器; TGL16M 台式高速冷冻离心机, 盐城市凯特试验仪器有限公司; MX-S 涡旋仪, SCILOGEX; 超高效液相色谱 Vanquish, UPLC, Thermo USA; 高分辨质谱 (Q Exactive HFX), Thermo USA; 3730XL 测序仪, Applied Biosystems; 2720 thermal cycler PCR 仪, Applied Biosystems; JY300C 电泳仪、JY04S-3C 凝胶成像仪, 君意东方。

## 1.3 方法

### 1.3.1 样品预处理

在 9 月~10 月份采摘云南省曲靖市陆良县的小孢粉孢牛肝菌 (*Tylopus microsporus*) 若干, 将其大部分晾干, 并用破壁机粉碎, 用自封袋密封保存, 待用; 剩余一小部分新鲜的牛肝菌送至擎科生物进行 ITS 鉴定。

### 1.3.2 蛋白质含量

本文采用凯氏定氮法测定蛋白质含量, 根据《中国药典》2020 年版第四部通则 <0704><sup>[8]</sup>, 取小孢粉孢牛肝菌 1.0 g, 精密称定, 用硫酸消化含氮有机物, 生成硫酸铵, 然后被氢氧化钠分解, 释放出氨。氨通过蒸汽蒸馏到硼酸溶液中, 得到产物硼酸铵, 然后用硫酸滴定剂 (0.5 mol/L) 进行滴定, 以硫酸滴定剂 (0.5 mol/L) 的消耗量计算氮含量, 每 1 mL 的 0.5 mol/L 硫酸滴定剂相当于 1.401 mg 的氮。

### 1.3.3 多糖提取及含量测定

使用紫外法测定多糖<sup>[9]</sup>, 称取 0.5 g 至 1.0 g 粉碎的样品, 并将其置于 50 mL 带塞子的离心管中。加入 25 mL  $\varphi=80\%$  乙醇水溶液, 用涡流振荡器振荡, 充分混合, 放入超声波清洁器中, 用超声波提取 30 min。完成上述提取后, 将样品置于离心机中, 以 4 000 r/min 离心 10 min, 并丢弃上清液。将不溶性物质在  $\varphi=80\%$  乙醇水溶液 (约 10 mL) 中洗涤并

离心, 并丢弃上清液。用水将剩余的不溶性物质转移到圆底烧瓶中, 并继续加入 50 mL 蒸馏水。安装好冷凝器, 并在沸水浴中提取 2 h。提取后, 冷却并过滤。将过滤后的澄清溶液转移到 100 mL 容量瓶中, 残留物需要洗涤 2~3 次。同时, 将洗涤液转移到容量瓶中, 加水至定容, 摇匀, 得到待测溶液。

标准曲线: 取 6 支 20 mL 带塞玻璃试管, 用移液管分别移取 0、0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mL 标准葡萄糖工作溶液移入上述试管中。使用蒸馏水作为稀释剂, 将上述溶液补充至 1.0 mL。在每个供试溶液中加入 1.0 mL 苯酚溶液, 然后迅速加入 5.0 mL 硫酸, 静置 10 min, 添加过程中不要接触管壁。使用涡流振荡器将反应溶液混合均匀后, 将试管置于 30 °C 水浴中 20 min, 并在 490 nm 处测量吸光度。横轴表示葡萄糖的质量浓度, 纵轴表示吸光度值, 形成标准曲线。

测定: 移取 1 mL 样品置 20 mL 带塞玻璃试管中, 照标准曲线操作, 计算公式 (1) 所示:

$$w = \frac{m_1 \times V_1}{m_2 \times V_2} \times 0.9 \times 10^{-4} \quad (1)$$

式中:

$w$ ——试样中粗多糖含量, g/100 g;

$m_1$ ——测定液中的含糖量,  $\mu\text{g}$ ;

$V_1$ ——样品的稀释体积, mL;

$V_2$ ——用于比色测定时移取样品的体积, mL;

$m_2$ ——样品质量, g;

0.9——葡萄糖与葡聚糖的校正系数。

### 1.3.4 矿物质元素的含量

通过 ICP-MS 测定矿物质元素<sup>[10]</sup>。用硝酸适量和称量适量的样品, 并将其放置在用硝酸浸泡和干燥的聚四氟乙烯坩埚中。选择合适的消化方法进行消化。消化后, 冷却至室温, 将消化后的样品转移到容量瓶或离心管中, 然后用纯水清洗坩埚 3~5 次, 并稀释至 25 mL, 做为测试溶液, 并进行空白测试。制备 0.5、1、3、5、10 mg/L 的标准曲线。仪器参数采用最佳设定值, 等离子体射频功率: 1 550 W; 冷却空气流量: 15 L/min; 采样深度: 8 mm; 取样锥 1.1 mm; 雾化器的空气流量: 1.25 L/min; 截取锥: 0.9 mm; 蠕动泵: 0.1 r/s; 测量方法: 跳峰; 雾化室温度: 2.0 °C; 每个峰值的测量点: 3 点; 载气流量: 1.0 L/min; 重复次数: 3 次。

### 1.3.5 氨基酸含量的测定及氨基酸的评分

使用茚三酮柱后衍生化离子交换色谱法 (氨基

酸分析仪)对小孢粉孢牛肝菌中的氨基酸进行检测<sup>[11]</sup>。取50~200 mg的固体样品(可根据氨基酸大概含量进行调整),准确称重,放入水解管中。加入10 mL 50% (V/V)分析纯盐酸(约6 mol/L),向管内吹氮气30 s并密封,置于110 °C油浴中水解22~24 h。水解结束并冷却至室温后,使用0.45 μm滤膜(参考材料:聚醚砜)过滤至50 mL容量瓶中,然后加水至刻度。取上述样品2 mL,置于旋转蒸发器上,控制温度在45 °C,浓缩干燥。此时,瓶子底部会留下少量固体或残渣。加入2 mL样品缓冲溶液,将其完全溶解,然后将其过滤后上机测定(0.45 μm过滤器过滤)。

色谱条件为:缓冲液流速20 mL/hr,反应流量10 mL/h,分离柱Na型阳离子树脂色谱柱,长径200 mm×4.6 mm,紫外检测波长570 nm、440 nm;柱温:55 °C→65 °C→77 °C程序升温,反应槽温度138 °C,进样量50 μL。上述检测方法的原理是:氨基酸在分离柱上分离后与茚三酮反应,生成可以通过分光光度计检测的物质,从而获得样品中氨基酸的浓度。(柱后衍生法)

氨基酸营养化学评价包括:化学评分(CS)、氨基酸评分(AAS)、必需氨基酸指数(EAAI),参照文献<sup>[12]</sup>进行,计算公式如(2)~(4)所示:

$$B = \frac{W_1}{W_2} \times 100\% \quad (2)$$

$$C = \frac{W_1}{W_3} \quad (3)$$

$$D = \sqrt[n]{\frac{A1}{B1} \times \frac{A2}{B2} \times \dots \times \frac{An}{Bn}} \quad (4)$$

式中:

B—氨基酸评分(AAS), %;

W<sub>1</sub>—待测蛋白质中某一必需氨基酸含量, mg/g;

W<sub>2</sub>—FAO/WHO评分标准模式同种氨基酸含量, mg/g;

C—化学评分(CS);

W<sub>3</sub>—鸡蛋蛋白中同种氨基酸含量, mg/g;

D—必需氨基酸指数(EAAI);

An—蛋白质中必需氨基酸的含量, mg/g;

Bn—标准蛋白质(FAO评分模式)中与对应的必需的氨基酸含量, mg/g;

n—被比较的必需氨基酸个数, n≤8。

### 1.3.6 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS鉴定化学成分

样本在4 °C环境下缓慢解冻后,称取适量样本(50~100 mg),加入1 mL水:乙腈:异丙醇

(1:1:1, V/V),涡旋60 s,低温超声30 min,4 °C离心10 min(12 000 r/min)取上清,-20 °C放置1 h沉淀蛋白,4 °C离心10 min(12 000 r/min),取上清真空干燥复溶于200 μL φ=30% ACN(乙腈),涡旋,4 °C离心15 min(14 000 r/min),取上清上机检测。

液相色谱参数:色谱柱:Waters HSS T3(100 mm×2.1 mm,1.8 μm);流动相:A相为0.1%甲酸-水溶液,B相为0.1%甲酸-乙腈;流量0.3 mL/min;柱温40 °C;进样量2 μL;洗脱梯度:0.0~1.0 min B相维持在0%,1.0~9.0 min B相从0%线性变化到95%,9~13 min B相维持在95%,13~13.1 min B相从95%线性变化到0%,13.1~17.0 min B相维持在0%;整个分析过程中样品置于4 °C自动进样器中。为避免仪器检测信号波动而造成的影响,采用随机顺序进行样本的连续分析。

质谱条件:采用美国Thermo公司Q Exactive HFX高分辨质谱系统进行一级、二级谱图的采集。

电喷雾离子源(Electrospray Ionization, ESI)条件如下:鞘气4 MPa;辅助气1 MPa;离子喷雾电压3 000~2 800 V;温度350 °C;离子传输管温度320 °C。扫描模式为Full-ms-ddMS2模式;扫描方式为正离子/负离子。一级扫描范围(scan m/z range):70~1 050 u,一级分辨率70 000,二级17 500。

### 1.3.7 数据分析

MEGA11构建小孢粉孢牛肝菌的系统发育树,Excel 2019进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 小孢粉孢牛肝菌的鉴定

真菌的ITS序列在不同的物种间是高度保守的,不同的物种间序列是不一样的,因而对此序列通过PCR扩增、测序,与GenBank中的已知序列进行比对后,则可判定真菌种类,将其划分到属或种。

真菌鉴定4种基因标记:

ITS:内部转录间隔区(Internal Transcribed Spacer of RNA Pol1),rRNA经翻译后修饰移除部分。共两个间隔区,包括5.8S基因。

LSU:28S核糖体大亚基(28S Nuclear Ribosomal Large Subunit rRNA)

SSU:18S核糖体小亚基(18S Nuclear Ribosomal Small Subunit rRNA)

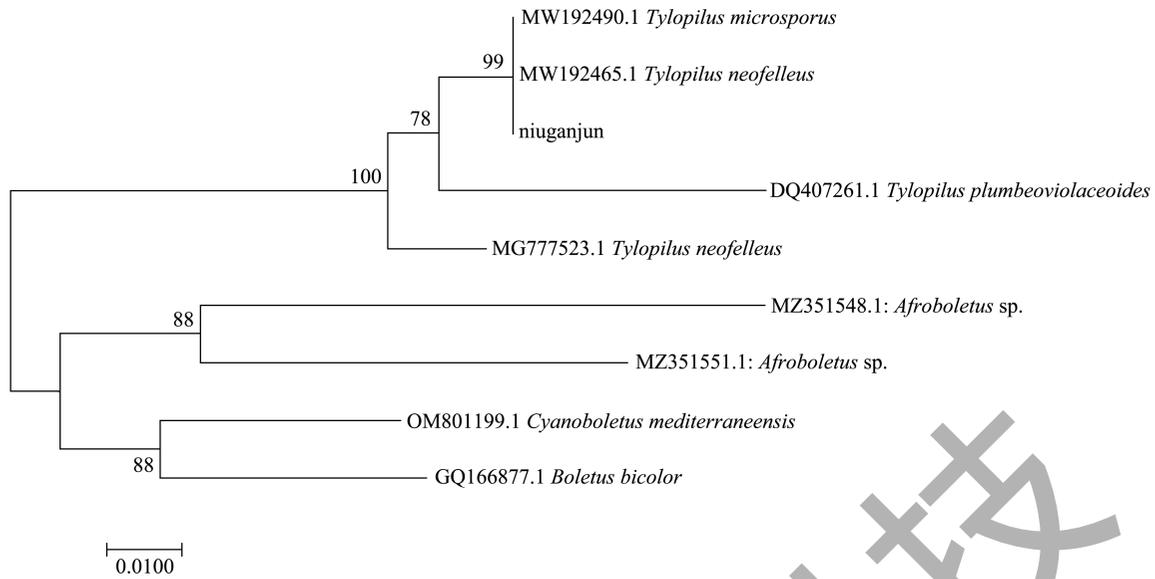


图 1 小孢粉孢牛肝菌的鉴定图

Fig.1 Identification of *Tylopilus microsporus*

表 1 小孢粉孢牛肝菌的门、纲、目、科、属

Table 1 Phylum, class, order, family, and genus of *Tylopilus microsporus*

样品名	Accession	界	门	纲	目	科	属	参考物种	同源度
niuganjun	NR_137924.1	Fungi	Basidiomycota; Agaricomycotina	Agaricomycetes; Agaricomycetidae	Boletales; Boletineae	Boletaceae	<i>Tylopilus</i>	<i>Tylopilus microsporus</i>	99.85%

表 2 小孢粉孢牛肝菌及几种牛肝菌蛋白质、多糖含量 (g/100 g)

Table 2 Protein and polysaccharide content between *Tylopilus microsporus* and several boletus (g/100 g)

测定项目	小孢粉孢牛肝菌	砖红绒盖牛肝菌	灰褐牛肝菌	黑牛肝菌	黄牛肝菌	橙黄疣柄牛肝菌	红乳牛肝菌
粗蛋白	29.9	29.11	28.22	24.4	22.5	21.17	13.2
多糖	3.68		10.11	3.00	5.40		2.20

注: 空格代表未检测。

RPB1 : RNA 聚合酶 2 最大亚基 (the Largest Subunit of RNA Polymerase II), 单拷贝, 遗传趋异慢内转录间隔区 ITS 由于不需要加入成熟核糖体, 因此在进化过程中能够承受更多的变异, 属于中度保守的区域, 其保守性基本上表现为种内相对一致, 种间差异比较明显。这种特点使 ITS 适合于真菌物种的分子鉴定以及属内物种间或种内差异较明显的菌群间的系统发育关系分析。

本文委托昆明攀科生物通过 ITS 测序确认对小孢粉孢牛肝菌进行了鉴定, 比对结果如下图 1、表 1 所示: 鉴别结果如下:

本文所研究牛肝菌为小孢粉孢牛肝菌 (*Tylopilus microsporus*)。

## 2.2 蛋白质与多糖测定结果分析

为了更好地了解小孢粉孢牛肝菌在同类牛肝菌

中蛋白质的含量, 在文献中发现了几种已报道的牛肝菌菌株进行比较分析, 包括黑牛肝菌、橙黄疣柄牛肝菌, 砖色绒盖牛肝菌和灰棕牛肝菌以及黄牛肝菌与红乳牛肝菌<sup>[13-16]</sup>。从表 2 中可以看出, 小孢粉孢牛肝菌菌株的粗蛋白含量最高, 达到 29.9 g/100 g 干重, 多糖含量在文献数据中处于中等水平, 为 3.68 g/100 g 干重。通过比较上述主要营养成分, 可以看出小孢粉孢牛肝菌具备高含量粗蛋白 (29.9%/ 干重), 较文献报道的砖红绒盖牛肝菌 (29.11%)、灰褐牛肝菌 (28.22%)、黑牛肝菌 (24.4%)、黄牛肝菌 (22.5%)、橙黄疣柄牛肝菌 (21.17%)、红乳牛肝菌 (13.2%) 更高; 多糖占干重的 3.68%, 在文献报道的数据中处于中等水平, 可见小孢粉孢牛肝菌为高蛋白质、低含糖量的野生牛肝菌。

表3 小孢粉孢牛肝菌及几种牛肝菌矿物质元素的含量 (mg/100 g)

Table 3 Mineral impurities of *Tylophilus microsporus* and several boletus

	Ca (钙)	K (钾)	Mg (镁)	P (磷)	Na (钠)	Fe (铁)	Zn (锌)	Cu (铜)	Mn (钼)	Se (硒)
小孢粉孢牛肝菌	3.20	$2.62 \times 10^3$	51.9	306	0.70	31.0	21.3	1.66	1.23	1.44
白牛肝菌	2.60	19.0	8.80	/	3.60	32.9	76.9	0.048 0	0.570	/
红牛肝菌	1.10	41.0	3.70	/	7.00	14.2	54.6	0.066 0	0.600	/
黄牛肝菌	1.40	35.0	4.70	/	5.60	16.9	88.6	0.048 0	0.510	/
黑牛肝菌	0.400	122	1.30	/	19.3	5.50	13.5	0.266	2.16	/
美味牛肝菌	1.50	33.0	5.70	/	5.60	17.0	44.3	0.071 0	1.03	/
粉黄牛肝菌	/	319	10.7	75.8	/	8.36	1.55	/	/	0.302
兰茂牛肝菌	/	382	12.2	96.9	/	7.92	2.84	/	/	0.146

注：“/”代表未检测。

### 2.3 矿质元素结果分析

小孢粉孢牛肝菌中可以检测到人体必需的钙、钾、镁、磷、铁、锌、铜、锰和硒等元素。钙存在于人体的重要部位，如骨骼和牙齿。人体缺乏钙很容易导致软骨病和骨质疏松症等疾病。钾是一种非常重要的电解质。钾离子是生命活动所必需的，能够维持人体渗透压和酸碱平衡。钾离子在细胞内的化学反应对生命至关重要，参与能量代谢。镁具有促进细胞内代谢和预防心血管疾病等功能<sup>[17]</sup>。磷在人体和软组织中起着至关重要的作用，其含量仅次于钙，位居第六，两者都是骨骼和牙齿的重要成分。铁是过氧化物酶和过氧化氢酶的重要成分，其能够维持生理功能和生化反应，细胞色素系统、肌红蛋白、血红蛋白和呼吸链的主要复合物是铁，若不足会导致贫血。锌能够维持人体免疫功能和组织细胞。许多疾病，如生长发育迟缓、生化障碍，都是由缺锌引起的。铜在人体内具有重要的生理功能，包括维持中枢神经系统的健康，参与各种代谢过程，维持正常的造血功能。锰是人体中非常重要的元素，分布于各种组织中，与生产发育、造血功能、代谢等有关。硒是人体必需的微量元素之一。它可以在抗衰老、增强免疫力、抗击癌症、调节蛋白质、提高生殖功能和调节维生素方面发挥作用<sup>[18]</sup>。

从表3可以看出小孢粉孢牛肝菌中的矿物质元素并不低于其他牛肝菌<sup>[13-16,19]</sup>。钙、钾、镁、磷、铁、

铜和硒的含量分别为3.20、 $2.62 \times 10^3$ 、51.9、306、31.0、1.66、1.44 mg/100 g干重，上述数据表明，小孢粉孢牛肝菌的矿质元素含量丰富。

### 2.4 氨基酸的组成与含量对比

小孢粉孢牛肝菌必需氨基酸含量高于文献中报道的灰褐色牛肝菌(8.40 g/100 g)、砖红绒盖牛肝菌(5.52 g/100 g)、橙黄疣柄牛肝菌(7.75 g/100 g)更高<sup>[13-16]</sup>(见表4)，为11.18 g/100 g。同时，小孢粉孢牛肝菌必需氨基酸的比例最高，为46.97%，说明牛肝菌富含氨基酸营养。

小孢粉孢牛肝菌氨基酸的总量为23.80%，高于砖红牛肝菌(15.47%)、橙黄疣柄牛肝菌(18.12%)、灰褐色牛肝菌(21.96%)，其中苯丙氨酸、异亮氨酸含量(4.52%、1.46%)相比于文献来源的砖红牛肝菌(0.67%、0.86%)、橙黄疣柄牛肝菌(1.04%、0.76%)、灰褐色牛肝菌(0.79%、0.90%)的苯丙氨酸和异亮氨酸的含量更高，表明其氨基酸种类齐全且含量高。

小孢粉孢牛肝菌为优质蛋白源，其E/N值为0.89、E/(E+N)%值为46.97%、EAAI指数1.05，均大于FAO/WHO规定的0.6、40%、0.95，即必需氨基酸/非必需氨基酸限度、必需氨基酸/总氨基酸限度、必需氨基酸指数。此外其矿质元素含量丰富，包括但不限于K、Mg、P、Fe、Cu、Mu、Se等，尤其是K的含量较高，为2 614.7 mg/100 g。

表 4 小孢粉孢牛肝菌与几种牛肝菌中氨基酸组成比较 (g/100 g)

Table 4 Comparison of amino acid composition between *Tylophilus microsporus* and several boletus (g/100 g)

氨基酸	小孢粉孢牛肝菌 ( <i>Tylophilus microsporus</i> )	砖红绒盖牛肝菌 ( <i>Xerocomus spadiceus</i> )	橙黄疣柄牛肝菌 ( <i>Leccinum aurantiacum</i> )	灰褐色牛肝菌 ( <i>Boletus griseus</i> )
天冬氨酸 (Asp)	1.58	1.51	1.88	2.20
苏氨酸 (Thr)*	1.05	0.97	1.00	1.20
丝氨酸 (Ser)	0.97	0.93	0.95	1.26
谷氨酸 (Glu)	3.11	2.64	2.32	3.08
脯氨酸 (Pro)	1.07	0.80	0.83	1.26
甘氨酸 (Gly)	1.00	0.81	0.86	1.11
丙氨酸 (Ala)	1.30	1.23	1.35	1.76
胱氨酸 (Cys)	1.17	0.10	0.10	0.25
缬氨酸 (Val)*	0.70	0.80	1.80	1.20
蛋氨酸 (Met)*	0.78	0.22	0.17	0.93
异亮氨酸 (Ile)*	1.46	0.86	0.76	0.90
亮氨酸 (Leu)	1.26	1.07	1.16	1.42
酪氨酸 (Tyr)	0.69	0.48	0.58	0.64
苯丙氨酸 (Phe)	4.52	0.67	1.04	0.79
组氨酸 (His)	0.73	0.43	0.52	0.57
赖氨酸 (Lys)*	1.41	0.93	1.06	1.27
精氨酸 (Arg)	1.01	1.02	0.98	1.43
色氨酸 (Trp)*	—	—	0.76	0.69
必需氨基酸 (E)	11.18	5.52	7.75	8.40
非必需氨基酸 (N)	12.62	9.95	10.37	13.56
氨基酸总量 (E+N)	23.80	15.47	18.12	21.96
E/N	0.89	0.55	0.75	0.62
E/(E+N)%	46.97	35.68	42.77	38.25

注：“\*”为必需氨基酸。

## 2.5 小孢粉孢牛肝菌干品蛋白质中必需氨基酸含量评分

通过计算 Ax (必需氨基酸的含量)、AAS (氨基酸评分)、CS (化学评分) 并最终得出小孢粉孢牛肝菌的 EAAI (必需氨基酸指数), 具体数据见表 5。

蛋白质的营养价值由必需氨基酸的含量、种类和比例决定<sup>[20,21]</sup>。本文所评估的氨基酸中 (表 5 所示), 缬氨酸和亮氨酸接近 FAO 标准的 AAS, 其他必需氨基酸均符合标准, 且最后 3 种的指标值远远超过 FAO 标准<sup>[22-24]</sup>。在上述氨基酸中, 前几种氨基酸可以为身体组织提供能量、控制血糖; 蛋氨酸和胱氨酸具有肝脏保护作用。EAAI 表示食物蛋白质的质量水平, 小孢粉孢牛肝菌是一种高质量的食物蛋白质来源, EAAI > 0.95。

## 2.6 小孢粉孢牛肝菌苦味氨基酸的组成及苦味分析

目前, 关于小孢粉孢牛肝菌苦味的报道很少。由于氨基酸侧链中 R 基团的疏水性与氨基酸的味道密切相关, 各种氨基酸在食物的味道中起着重要作用。当氨基酸的疏水性高时, 它们主要表现出苦味。通过分析蛋白质溶液中疏水性氨基酸的含量, 发现疏水性氨基酸含量越高, 苦味越大。典型的包括亮氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、精氨酸等<sup>[25-27]</sup> (见表 6, 图 2)。小孢粉孢牛肝菌的苦味氨基酸含量为 11.15 g/100 g, 高于文献中报道的灰褐色牛肝菌 (5.55 g/100 g)、砖红绒盖牛肝菌 (7.01 g/100 g) 和橙黄疣柄牛肝菌 (7.88 g/100 g)。苦味氨基酸含量高可能是小孢粉孢牛肝菌产生苦味的原因之一。

无机盐本身有苦味，也是食物的重要成分。钾离子的咸味通常具有苦味，而具有苦味的无机盐大多是由于碱金属离子的存在，如钙盐、钾盐、镁盐等<sup>[28-30]</sup>。小孢粉孢牛肝菌中的钾含量特别高，为2 614.70 mg/100 g，这可能是小孢粉孢牛肝菌苦味的另一个原因。

表5 小孢粉孢牛肝菌氨基酸评价

Table 5 Amino evaluation of *Tylophilus microsporus*

氨基酸	小孢粉孢牛肝菌 ( <i>Tylophilus microsporus</i> )				
	AX	AAS	CS	FAO/WHO	鸡蛋评分模式
苏氨酸 (Thr)	34.98	87.45	0.69	40	51
缬氨酸 (Val)	23.43	46.86	0.32	50	73
赖氨酸 (Lys)	47.13	85.69	0.86	55	55
亮氨酸 (Leu)	42.27	60.39	0.48	70	88
异亮氨酸 (Ile)	48.72	121.79	0.74	40	66
蛋氨酸 (Met) + 胱氨酸	65.22	186.34	1.19	35	55
苯丙氨酸 (Phe) + 酪氨酸	174.25	290.41	1.74	60	100
总分	436.00	124.57	0.89	350	488
EAAI	1.05				

注：“Ax”表示必需氨基酸含量 (mg/g)；“AAS”表示氨基酸评分；“CS”表示化学评分；“EAAI”表示必需氨基酸指数。

小孢粉孢牛肝菌味道较其他牛肝菌苦的原因可能是由于碱性氨基酸含量较高，其中典型的有亮氨酸和缬氨酸，均为支链氨基酸。有研究表明，人体补充支链氨基酸，可降低胰岛素抵抗，预防和治疗II型糖尿病和心血管疾病等。支链氨基酸 (Branched Chain Amino Acid, BCAA) 属于必需氨基酸，具有特殊的侧链结构。BCAA可以在植物和微生物中合成，而在动物体内不能合成，但可以通过外部摄入获取。BCAA摄入不足可引起免疫功能异常，导致自身组织及器官受损，补充BCAA可使间充质干细胞内巨噬细胞和淋巴细胞通过调控免疫活性因子来调控细胞的免疫功能。而对于人体代谢方面，BCAA摄入过量，会激活mTORC1通路，使S6K1磷酸化，从而使胰岛素受体底物1 (IRS1) 磷酸化，降低IRS1的活性，导致PI3K/Akt信号传导受到抑制，降低胰岛素的敏感性及糖原的合成。相反，BCAA缺乏可以提高胰岛素的敏感性及糖原的合成。综上，支链氨基酸能够显著影响机体的糖脂代谢和免疫功能。

另外，一些矿质元素含量较高可能也是其产生苦味的另外一个原因。

表6 小孢粉孢牛肝菌与几种牛肝菌的苦味氨基酸对比

Table 6 Comparison of bitter amino acids composition between *Tylophilus microsporus* and several boletus

氨基酸	小孢粉孢牛肝菌	砖红线盖牛肝菌	橙黄疣柄牛肝菌	灰褐色牛肝菌
缬氨酸 (Val)*	0.70	0.80	1.80	1.20
亮氨酸 (Leu)	1.26	1.07	1.16	1.42
异亮氨酸 (Ile)*	1.46	0.86	0.76	0.90
酪氨酸 (Tyr)	0.69	0.48	0.58	0.64
蛋氨酸 (Met)*	0.78	0.22	0.17	0.93
苯丙氨酸 (Phe)	4.52	0.67	1.04	0.79
组氨酸 (His)	0.73	0.43	0.52	0.57
精氨酸 (Arg)	1.01	1.02	0.98	1.43
合计	11.15	5.55	7.01	7.88

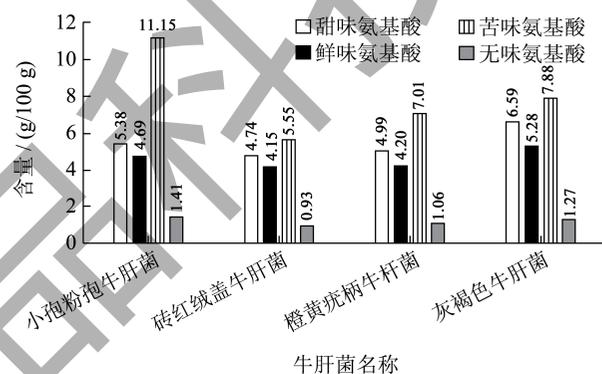


图2 各种呈味氨基酸含量高低对比

Fig.2 Comparison of high and low content of various flavoring amino acids

## 2.7 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS测定结果

通过超高效液相色谱串联四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 技术对提取物进行研究<sup>[6,7]</sup>，原始数据用代谢组学处理软件 Progenesis Q1 (Waters Corporation, Milford, USA) 进行基线过滤、峰识别、积分、保留时间校正、峰对齐，最终得到一个保留时间、质荷比和峰强度的数据矩阵，主要数据库为 <http://www.hmdb.ca/>、<https://metlin.scripps.edu/> 等公共数据库以及自建的数据库。

如图3-4所示，从小孢粉孢牛肝菌中鉴定出949个代谢物，其中有797个代谢物包括10个超类匹配到HMDB和metlin数据库中，包括232个脂类和类脂分子、131个苯丙素类和芳香聚酮、110个有机酸及其衍生物、96个有机杂环类、80个有机氧化物、76个苯类、37个生物碱及其衍生物、21个核苷酸及其衍生物、10个木质素、新木质素及相关化合物、4个有机氮化合物。

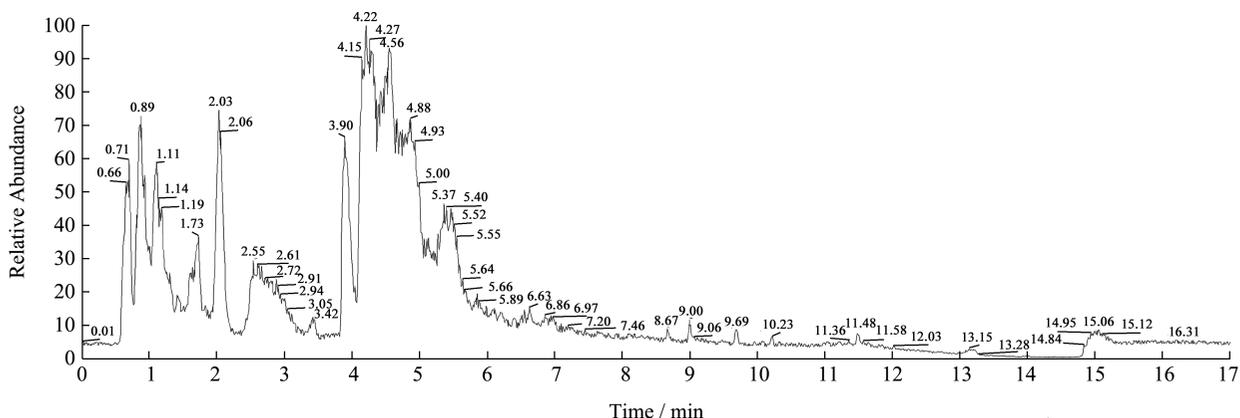


图3 正离子模式下小孢粉孢牛肝菌的总离子流图

Fig.3 Total ion flow diagram of *Tylopilus microsporus* in positive ion mode

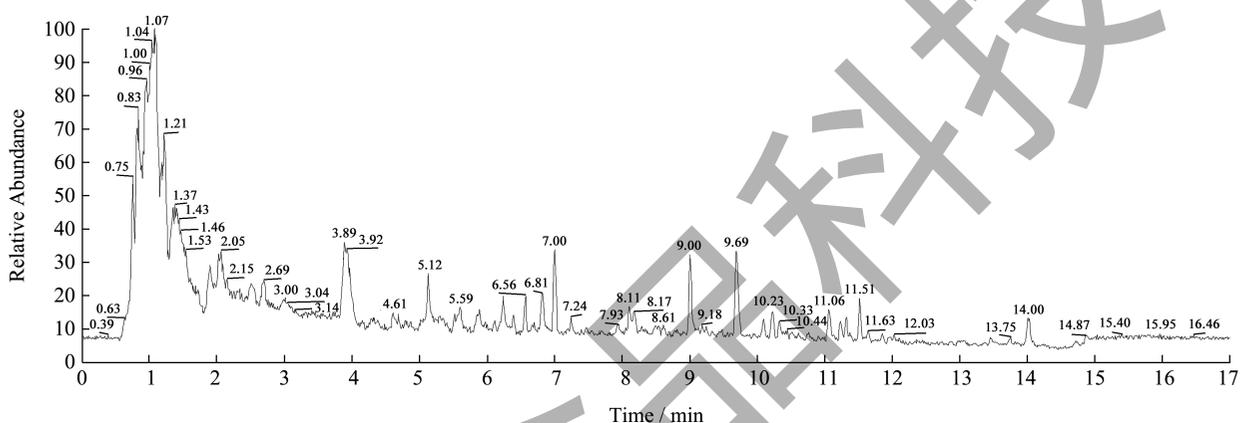


图4 负离子模式下小孢粉孢牛肝菌的总离子流图

Fig.4 Total ion flow diagram of *Tylopilus microsporus* in negative ion mode

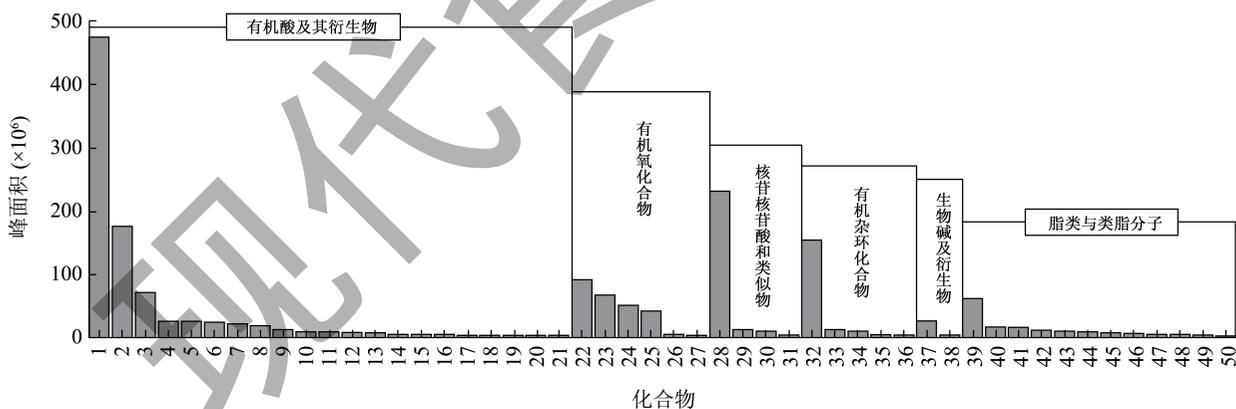


图5 小孢粉孢牛肝菌中前50个高含量代谢物

Fig.5 The top 50 metabolites in the *Tylopilus microspores*

进一步根据 HMDB 和 metlin 的子类, 发现小孢粉孢牛肝菌中富含萜类 (121 个)、黄酮类 (49 个)、生物碱类 (37 个)、香豆素类 (25 个)、肉桂酸类 (22 个)、酚类 (19 个)、二苯乙烯类 (8 个)、二芳基庚烷类 (3 个)、鞣酸类 (2 个) 等生物活性代谢物, 同时检测出大环内酯类 (6 个) 抗生素代谢物, 以及呋喃类、吡咯类、喹啉类、哌啶类、吡

喃类、吡啶类、咪唑类、吲哚类、萘并吡喃类、苯并呋喃类、苯并咪唑类等多个杂环类抗菌剂。

对含量较高的前 50 种代谢物进行分析 (图 5 和表 7 所示), 12 个脂质与类脂质分子, 2 个生物碱及其衍生物, 4 个核苷酸和类似物, 21 个有机酸及其衍生物, 6 个有机氧化物, 5 个有机杂环化合物。在含量前 50 的化合物中, 有 13 种氨基酸,

其中异亮氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸和组氨酸含量均较高,这一结果与氨基酸测定结果一致,且这4种氨基酸均属于苦味氨基酸,这是小孢粉孢牛肝菌具

有苦味的原因。另外,在测试结果中还发现麦角硫因的含量也很高,麦角硫因是一种天然的抗氧化剂,具有抗炎作用,可用于治疗糖尿病。

表7 小孢粉孢牛肝菌中前50的化学成分的UHPLC-Q-Orbitrap HRMS鉴定

Table 7 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS identification results of chemical components of *Tylophilus microsporus*

序号	化合物	分子式	保留时间/min	模式	MS(m/z)	误差( $\times 10^{-6}$ )	评分	分类
1	malate	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	0.92	[M-H] <sup>-</sup>	133.014 1	-1.38	63.0	A
2	Adenosine	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	1.72	[M+H] <sup>+</sup>	268.103 2	-3.01	87.9	B
3	Levulinic acid	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	1.09	[M-H] <sup>-</sup>	115.039 9	-1.45	57.2	A
4	D-Tryptophan	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3.91	[M-H] <sup>-</sup>	203.082 5	-0.73	92.5	C
5	L-Iditol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	0.79	[M-H] <sup>-</sup>	217.048 1	-1.88	79.8	D
6	Succinic acid	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	1.23	[M-H] <sup>-</sup>	117.019 1	-1.55	90.5	A
7	N-Fructosyl isoleucine	C <sub>12</sub> H <sub>23</sub> NO <sub>7</sub>	1.13	[M+H] <sup>+</sup>	294.153 9	-2.93	51.7	D
8	9S,10S,11R-trihydroxy-12Z-octadecenoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	8.62	[M-H] <sup>-</sup>	329.232 9	-1.21	50.6	E
9	Pantothenic acid	C <sub>9</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub>	2.97	[M+H] <sup>+</sup>	220.117 4	-2.55	69.4	D
10	Calcium pantothenate		2.67	[M-H] <sup>-</sup>	218.103 1	-0.92	89.4	D
11	Elasine	C <sub>26</sub> H <sub>39</sub> NO <sub>8</sub>	6.56	[M+H] <sup>+</sup>	557.284 6	2.61	70.0	F
12	D-Valine	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	0.92	[M+H] <sup>+</sup>	118.086 2	-0.46	79.7	A
13	L-Pyroglutamic acid	C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>	1.07	[M+H] <sup>+</sup>	130.049 7	-1.00	84.3	A
14	N-Methylisoleucine	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	1.09	[M+H] <sup>+</sup>	146.117 2	-2.12	61.5	A
15	DL-2-Aminooctanoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	1.61	[M+H] <sup>+</sup>	160.132 9	-2.10	89.2	A
16	Isobutyryl carnitine	C <sub>11</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>	2.42	[M+H] <sup>+</sup>	232.153 8	-2.36	64.5	A
17	Ohchinin	C <sub>36</sub> H <sub>42</sub> O <sub>8</sub>	4.99	[M-H] <sup>-</sup>	601.283 5	4.59	82.9	E
18	13-Hydroperoxy-(9Z,11E)-octadecadienoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	10.31	[M-H] <sup>-</sup>	311.222 4	-1.11	63.4	E
19	L-glutamic acid	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>	0.76	[M-H] <sup>-</sup>	146.045 8	-0.83	69.4	A
20	9-Hydroxy-10,12-octadecadienoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	10.51	[M-H] <sup>-</sup>	311.222 4	-1.15	73.2	E
21	Inosine	C <sub>9</sub> H <sub>7</sub> NO	3.98	[M+H] <sup>+</sup>	146.059 7	-2.23	92.4	B
22	gamma-Decalactone	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	3.68	[M+H] <sup>+</sup>	153.127 0	-2.05	63.1	C
23	Piperidine	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> N	1.11	[M+H] <sup>+</sup>	86.096 8	4.57	67.2	C
24	N6-Acetyl-L-lysine	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.99	[M+H] <sup>+</sup>	189.122 9	-2.29	61.1	A
25	5'-Methylthioadenosine	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> S	4.69	[M+H] <sup>+</sup>	298.096 2	-2.29	90.2	B
26	Ergothioneine	C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	6.63	[M+H] <sup>+</sup>	230.095 2	-2.31	86.4	A
27	Methylsuccinic acid	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	2.53	[M-H] <sup>-</sup>	131.034 8	-1.02	66.0	E
28	D-Histidine	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	0.75	[M+H] <sup>+</sup>	156.076 5	-1.78	93.2	A
29	Traumatic acid	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	8.16	[M-H] <sup>-</sup>	227.128 7	-0.61	72.0	E
30	D-Lysine	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.70	[M+H] <sup>+</sup>	147.112 5	-2.39	93.3	A
31	10-O-Acetylisocalamendiol	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	9.31	[M-H] <sup>-</sup>	325.201 6	-1.76	55.9	E
32	beta-Myrcene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3.71	[M+H] <sup>+</sup>	137.132 2	-1.95	65.2	E
33	(R)-Camphor	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.021	[M+H] <sup>+</sup>	153.127 0	-2.34	86.4	E
34	D-Glutamine	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.79	[M-H] <sup>-</sup>	145.061 7	-0.89	76.7	A
35	19(R)-hydroxy-PGA2	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	8.48	[M-H] <sup>-</sup>	349.201 6	-1.26	68.1	E

续表

序号	化合物	分子式	保留时间/min	模式	MS(m/z)	误差( $\times 10^{-6}$ )	评分	分类
36	Alexine	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>	0.88	[M+H] <sup>+</sup>	222.133 0	-2.93	50.9	C
37	D-Ornithine	C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.70	[M+H] <sup>+</sup>	133.097 0	-1.54	94.4	A
38	N-Acetyl-phenylalanine	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	5.85	M-H	206.082 0	-1.09	65.2	A
39	L(-)-Glutathione	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>12</sub> S <sub>2</sub>	1.36	[M-H] <sup>-</sup>	611.143 7	-1.58	84.9	A
40	2-Aminoacetophenone	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO	3.97	[M+H] <sup>+</sup>	118.065 1	0.18	70.7	D
41	nicotinamide	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	1.45	[M+H] <sup>+</sup>	123.055 2	-0.82	78.2	C
42	9-Oxo-12,13-Epoxy-10-Octadecenoic acid	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	9.82	[M-H] <sup>-</sup>	309.206 8	-1.05	65.0	E
43	N-Methylglutamic acid	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>4</sub>	1.32	[M+H] <sup>+</sup>	144.065 2	-1.85	57.4	A
44	Glutathione (oxidized)	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> N <sub>6</sub> O <sub>12</sub> S <sub>2</sub>	1.39	[M+H] <sup>+</sup>	307.082 5	-2.35	95.1	A
45	N-Acetyl-L-glutamic acid	C <sub>7</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>5</sub>	1.09	[M-H] <sup>-</sup>	188.056 2	-1.06	86.6	A
46	Rauvotetraphylline B	C <sub>31</sub> H <sub>36</sub> N <sub>3</sub> O <sub>6</sub>	11.19	[M-H] <sup>-</sup>	591.260 9	4.13	80.7	F
47	Uridine diphosphate-N-acetylglucosamine	C <sub>17</sub> H <sub>27</sub> N <sub>5</sub> O <sub>17</sub> P <sub>2</sub>	2.35	[M-H] <sup>-</sup>	606.074 0	-0.51	94.1	B
48	D-FRUCTOSE	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	0.81	[M-H] <sup>-</sup>	179.056 0	-0.87	50.3	D
49	L-Cystathionine	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> S	0.75	[M-H] <sup>-</sup>	221.060 0	-0.78	64.7	A
50	Geraniol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	16.59	[M+H] <sup>+</sup>	137.132 2	-1.79	54.9	E

注: a 代表有机酸及其衍生物; b 代表核苷、核苷酸和类似物; c 代表有机杂环化合物; d 代表有机氧化合物; e 代表脂质与类脂分子; f 代表生物碱及其衍生物。

### 3 结论

本文基于 ITS 测序结果对云南省曲靖市陆良县所采集的菌种进行了鉴定, 确认所研究真菌的属和种为小孢粉孢牛肝菌 (*Tylophilus microsporus*), 属牛肝菌科真菌。本文参照国家食品安全标准对该小孢粉孢牛肝菌样品中各种营养素进行检测, 并根据 FAO/WHO 的规定, 比较人类必需氨基酸模型和鸡蛋蛋白氨基酸模型、计算化学评分 (CS) 和氨基酸评分 (AAS), 并评估必需氨基酸指数 (EAAI), 对小孢粉孢牛肝菌进行了分析和评价。通过超高效液相色谱串联四级杆/静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS) 技术鉴定出 949 个代谢物, 其中有 797 个代谢物包括 10 个超类匹配到人类代谢数据库中, 其中有多含量较高的活性代谢物, 在含量排名前 50 的化合物中, 氨基酸占 13/50, 且苦味氨基酸含量较高, 与氨基酸测定结果相符。ICP-MS 测定结果表明, 小孢粉孢牛肝菌含有多种人体必需的矿质元素。综合分析, 小孢粉孢牛肝菌 (*Tylophilus microsporus*) 是一种高蛋白质、低含糖量的野生牛肝菌, 其氨基酸含量高且种类相对齐全, 还含有天然抗氧化剂麦角硫因。由于其口感较苦, 价格远远低于其他味道鲜美的牛肝菌, 大大

降低了其开发成本, 是一种极具开发价值的野生菌。本研究可为小孢粉孢牛肝菌的开发利用提供了重要理论依据。

### 参考文献

- [1] JERZY F, INNOCENT C N, MALGORZATA M. Rare earth elements in *Boletus edulis* (King Bolete) mushrooms from lowland and montane areas in Poland [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(8948): 1-12.
- [2] TAN Y Q, ZENG N K, XU B J. Chemical profiles and health-promoting effects of porcini mushroom (*Boletus edulis*): A narrative review [J]. Food Chemistry, 2022, 390(133199): 1-13.
- [3] MUVHANGO R, ROSHILA M, SREEKANTHA B J. Elemental bioaccumulation and nutritional value of five species of wild growing mushroom from South Africa [J]. Food Chemistry, 2020, 319(126596): 1-11.
- [4] JERZY F. Nutritional and other trace elements and their associations in raw King Bolete mushrooms, *Boletus edulis* [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(8948): 1-17.
- [5] 熊丙全, 兰秀华, 彭卫红, 等. 不同羊肚菌氨基酸比较分析及营养评价 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(2): 114-119.
- [6] QI S L, GUAN H D, DENG G, et al. Rapid, reliable, and sensitive detection of adenosine deaminase activity by

- UHPLC-Q-Orbitrap HRMS and its application to inhibitory activity evaluation of traditional Chinese medicines [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 153: 175-18.
- [7] LUANA L, LUIGI C, ALFONSO N, et al. Analysis of phenolic compounds in commercial *Cannabis sativa* L. inflorescences using UHPLC-Q-orbitrap HRMS [J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2020, 25(3): 631.
- [8] 中国药典 2020年版,第四部[M].中国医药科技出版社,2020.
- [9] NY/T1676-2023,食用菌中粗多糖含量的测定[S].
- [10] GB 5009.268-2016,食品安全国家标准食品中多元素的测定[S].
- [11] GB 5009.124-2016,食品安全国家标准食品中氨基酸的测定[S].
- [12] SHI Y Q, SONG H, LIU J Y, et al. Comprehensive evaluation of clinical application of balanced compound amino acid injection [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9(880256): 1-7.
- [13] 马长中,罗章,辜雪冬.林芝砖红绒盖牛肝菌的营养成分分析及评价[J].*食品科学*,2016,37(24):124-129.
- [14] 鲍长俊,常惟丹,庄永亮,等.灰褐牛肝菌 (*Boletus griseus*) 子实体的营养评价及蛋白质组分分析[J].*食品科学*,2017, 38 (20):83-89.
- [15] 邓雅元,游金坤,华蓉,等.3种常见野生牛肝菌和3种大宗人工食用菌营养成分分析[J].*中国食用菌*,2022,41(3): 45-48.
- [16] 马长中,徐锦华,张景荣,等.林芝橙黄疣柄牛肝菌营养成分分析与评价[J].*食品与发酵工业*,2018,44 (5):259-264.
- [17] KAVEH R, JUSTIN S, ALISON Y L, et al. Binding of calcium and magnesium to human cardiac troponin C [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 296(100350): 1-15.
- [18] WANG N, XIE D X, WU J, et al. Selenium and bone health: a protocol for a systematic review and meta-analysis [J]. *BMJ Open*, 2020, 10(1136): 1-4.
- [19] 伍燕,汪伟,王燕,等.2种牛肝菌分子鉴定及营养成分分析[J].*现代食品科技*,2021,37 (9):102-108.
- [20] 陈巧玲,李忠海,陈素琼.5种产地食用菌氨基酸组成比较及营养评价[J].*食品与机械*,2014,30(6):43-46,81.
- [21] 张秀梅,王锡昌,刘源.食品中的呈味肽及其呈味机理研究进展[J].*食品科学*,2012,33(7):320-326.
- [22] 陆冬林.乳蛋白的氨基酸组成及氨基酸评分[J].*新疆畜牧业*,2014(10):4-8.
- [23] LIU M J, SHI F F, ZHANG Q G. Evaluation of the ultrasonically accelerated debitterizing with citric acid solutions of different pH: On the basis of amino acids changes in apricot kernels during debitterizing [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45, 5(e15403): 1-24.
- [24] ALKAN O, MURAT Y, BAYRAM K, et al. Nutritional quality of amino acid farmed, farm-aggregated and wild Axillary seabream (*Pagellus acarne*) with implications to Human Health [J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(5): 1844-1853.
- [25] TOSHIHIDE N, HIROMICHI K. Taste of free amino acids and peptides [J]. *Food Reviews International*, 1988, 4(2): 175-194.
- [26] ZHOU C Y, LE Y, ZHENG Y Y, et al. Characterizing the effect of free amino acids and volatile compounds on excessive bitterness and sourness in defective dry-cured ham [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 123(109071): 1-9.
- [27] FAN W W, TAN X Y, XU X B, et al. Relationship between enzyme, peptides, amino acids, ion composition, and bitterness of the hydrolysates of Alaska pollock frame [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2019, 43, 4(e12801): 1-20.
- [28] KLAAUW N J, SMITH D V. Taste quality profiles for fifteen organic and inorganic salts [J]. *Physiology & Behavior*, 1995, 58(2): 295-306.
- [29] 代丽凤,罗理勇,罗江琼,等.植物苦味物质概况及其在食品工业的应用[J].*中国食品学报*,2020,20(11):305-318.
- [30] 邵黎雄,陆建梅,姜雪峰.味觉化学之苦味化学[J].*化学教育(中英文)*,2020,41(17):8.