

野生沙柞菇的分子鉴定和主要呈味物质分析

刘洋^{1,2*}, 楚天舒^{1,2}, 宋欣泽^{1,2}, 金小龙³, 张焱如^{1,2#}

¹内蒙古农业大学生命科学学院, 内蒙古 呼和浩特

²内蒙古农业大学生物制造重点实验室, 内蒙古 呼和浩特

³漠菇生物科技有限公司, 内蒙古 鄂尔多斯

Email: 1019246659@qq.com, #yanru1964@163.com

收稿日期: 2021年4月17日; 录用日期: 2021年5月19日; 发布日期: 2021年5月26日

摘要

目的: 明确沙柞菇生物学分类地位及其主要呈味物质。材料: 采集于鄂尔多斯市准格尔旗沙漠地的野生沙柞菇。方法: 采用形态学和分子鉴定, 分析沙柞菇的种属关系; 采用氨基酸分析仪、高效液相色谱, 研究野生沙柞菇中主要呈味物质。结果: 1) 根据形态学特征综合分析, 初步断定野生沙柞菇为毛头鬼伞; 2) 通过构建进化树和分子鉴定显示, 沙漠地中野生沙柞菇与中国江西毛头鬼伞亲缘关系最为接近; 3) 野生沙柞菇的呈味物质进行检测, 其呈鲜呈甜氨基酸含量达1.952 g/100g, 呈鲜核苷酸达0.385 mg/g, 乙酸、柠檬酸含量高, 可溶性糖含量为4.5%。4) 野生沙柞菇中检测到17种氨基酸, 含人体必需氨基酸7种, 占总氨基酸含量的49.73%。结论: 确定野生沙柞菇为毛头鬼伞, 其呈鲜呈甜氨基酸、呈鲜核苷酸、有机酸和可溶性糖含量丰富, 是生长在西北沙漠地中一种味道鲜美的食用菌。

关键词

分子鉴定, 毛头鬼伞, 呈味物质

Molecular Identification and Main Flavor Components Analysis of Wild Shachu Mushroom

Yang Liu^{1,2*}, Tianshu Chu^{1,2}, Xinze Song^{1,2}, Xiaolong Jin³, Yanru Zhang^{1,2#}

¹College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot Inner Mongolia

²Key Laboratory of Biomanufacturing of Inner Mongolia Autonomous Region, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot Inner Mongolia

³Mogu Biotechnology Limited Company, Ordos Inner Mongolia

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 刘洋, 楚天舒, 宋欣泽, 金小龙, 张焱如. 野生沙柞菇的分子鉴定和主要呈味物质分析[J]. 食品与营养科学, 2021, 10(2): 148-158. DOI: 10.12677/hjfn.2021.102018

Email: 1019246659@qq.com, #yanru1964@163.com

Received: Apr. 17th, 2021; accepted: May 19th, 2021; published: May 26th, 2021

Abstract

The wild shachu mushroom collected in desert of Jungar banner, Ordos City was used as test material. The species relationship and molecular identification of Shachu mushroom were studied by morphology and ITS sequence analysis, and the main flavor substances in wild Shachu mushroom were studied by amino acid analyzer, high performance liquid chromatography and other modern detection techniques. The results showed that: 1) According to the comprehensive analysis of traditional morphological characteristics, the wild Shachu mushroom was preliminarily identified as *Coprinus comatus*; 2) The ITS sequence clustering of shachu mushroom, 6 species of *Coprinus comatus* in southern China and 10 species of shachu mushroom with highly similar sequence homology on NCBI showed that shachu mushroom was identified as *Coprinus comatus*. 3) The results showed that the content of amino acid was 1.952 g/100g, the content of nucleotide was 0.385 mg/g, the content of acetic acid and citric acid was high, and the content of soluble sugar was 4.5%. 4) 17 kinds of amino acids were detected in wild shachu mushroom, including 7 kinds of essential amino acids, accounting for 49.73% of the total amino acids. Conclusion: Wild Shachu mushroom is identified as *Coprinus comatus*, and its main flavor substances are free amino acids, flavor nucleotides, organic acids and soluble sugars.

Keywords

Molecular Identification, *Coprinus comatus*, Flavor Substance

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

沙柞菇是一种生长在内蒙古自治区鄂尔多斯市准格尔旗沙漠地的野生食用菌。该地区气候干燥，地表有砾石，土壤为砂壤质草原土，因此当地生长出此类菌种十分罕见。本地农牧民喜食沙柞菇，因其味道鲜美常常用来做调味品，它外表类似棒槌，故称其为“沙棒槌”。每年夏、秋季雨后在沙漠地中不时生长出沙柞菇的菌体，由于其数量稀少而又过度采摘，导致沙漠地中野生沙柞菇数量急剧下降。迄今为止，人们尚不清楚沙柞菇的种属类别以及生物学分类地位，对其鲜美味道的呈味物质鲜也未知。当地菌菇公司为了保护这一罕见菌种而对其进行了种属鉴定以及呈味物质分析，这对人工驯养沙柞菇以及进一步开发、利用和保护提供了有效的科学资料。

ITS (internal transcribed spacer)序列分析是用于食用菌分子鉴定的主要手段[1]。ITS 是真菌核糖体DNA 内转录间隔区，作为非编码区，其承受的自然选择压力较小，相对变化较大，将其序列进行分析，可用于对真菌的同种属进行分类鉴定。氨基酸是蛋白质的组成成分，是人体各项生理活动不可或缺的物质，同时还是食用菌重要的呈味物质之一。食用菌中可以呈味的游离氨基酸含量丰富，每种氨基酸都必须达到它的味道阈值才会呈现出味道[2]。呈味物质的含量与其阈值的比值称为TAV (taste activity value)值，TAV 值大于 1，则说明这种呈味物质对该食品的风味做出了贡献[3]。利用高效液相色谱法(High

Performance Liquid Chromatography, HPLC)可以检测并分析呈味核苷酸[4]和有机酸[5]。氨基酸分析仪是对样品氨基酸的组分含量进行分析[6]。可溶性糖醇可以使用离子色谱法进行检测,是一种可以连续检测分离离子的方法[7]。为了更加全面评价食用菌的鲜味,一般采用味精当量(Equivalent umami concentration, EUC)来衡量鲜味强度。味精当量表示食物中呈鲜氨基酸与呈鲜核苷酸协同作用能产生的鲜味强度相当于多少浓度味精所产生的鲜味强度[8]。

本文采用形态学和 ITS 序列分析法来鉴定沙柞菇菌种,并且利用现代检测技术分析野生沙柞菇中主要呈味物质。目的是为了弄清沙柞菇的生物学分类地位以及其呈现鲜美味道的原因,为沙柞菇的市场推广和今后的各项研究提供理论依据和参考资料。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

新鲜的沙柞菇样本采集于鄂尔多斯市准格尔旗布尔陶亥苏木尔圪壕嘎查沙漠地, -20°C 冰箱冷冻保存。6 种不同地区毛头鬼伞样本分别取自于云南、江西、上海、福建、浙江、江苏等地。

2.2. 实验药品

主要试剂:十六烷基三基溴化铵(CTAB)、乙二胺四乙酸(EDTA)、Taq DNA 聚合酶、Gelview 核酸染料、混合氨基酸标准溶液、17 种氨基酸标准品、茚三酮溶液、混合氨基酸标准溶液、核苷酸标准液、有机酸标准品、葡萄糖标准溶液。真菌通用引物 ITS4、ITS5 由生工生物工程(上海)有限公司合成。PCR 反应预混液 Premix PrimeSTAR[®] HS 购于宝日医生物技术(北京)有限公司。

2.3. 实验仪器

仪器:高速离心机、PCR 仪、凝胶成像分析系统、GM-0.20 隔膜真空泵、酒精喷灯、DHG-9146A 电热鼓风干燥箱、日立 L-8900 氨基酸分析仪、超声波提取设备系统、岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪、高速组织捣碎机。

2.4. 生长环境形态学观察

观察野生沙柞菇子实体的生长环境和形态,生长环境主要包括地理位置、出菇条件和周边物种等,形态主要包括观察菌盖与菌柄的外观、菌褶的颜色及其连接处的外形,测量菌盖大小、菌柄长度与宽度、菌褶的宽度等各项形态学特征[9]。

2.5. 野生沙柞菇基因组 DNA 提取

采用 CTAB 法提取沙柞菇以及采自云南、江西、上海、福建、浙江、江苏的同类别食用菌(分别标记为:YN、JX、SH、FJ、ZJ、JS)的基因组 DNA [10]。

2.6. 沙柞菇 ITS 序列的 PCR 扩增

PCR 引物:PCR 所用到的真菌 ITS 序列通用引物 ITS4、ITS5 均由生工生物工程(上海)有限公司合成,序列如下:ITS4:5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'; ITS5:5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3' [9]。PCR 扩增:50 μl 扩增反应体系:25 μl Premix PrimeSTAR[®] HS、1 μl 稀释的沙柞菇基因组 DNA、1 μl 引物 ITS4、1 μl 引物 ITS5、22 μl 蒸馏水。扩增程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min 45 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

2.7. PCR 扩增产物的检测

PCR 扩增产物检测用紫外分光光度法和琼脂糖凝胶电泳法来分析, 检测完毕后将 PCR 扩增产物送往华大基因测序, 将结果在 NCBI 上做 BLAST 对比, 记录下同源性较高的物种, 确定沙柞菇的生物类别。

2.8. 野生沙柞菇系统发育研究

将 7 种测序结果和从 NCBI 中搜索到的 10 种同源性较高的序列进行比对, 并辅以人工校对截取序列。将截取后的序列用 MEGA-X 软件采用最大邻接法构建进化树。

2.9. 沙柞菇呈味物质分析和鲜味评价

2.9.1. 游离氨基酸测定

参考 Wen Li [11] 的方法并适当修改对氨基酸进行提取, 使用 L-8900 氨基酸分析仪测定氨基酸含量。

2.9.2. 主要呈味核苷酸测定

参照 S. Beluhan [12] 的方法提取核苷酸, 使用 LC-20AT 高效液相色谱仪测定核苷酸含量。

2.9.3. 有机酸测定

参考张陈[13]提取有机酸, 使用 LC-20AT 高效液相色谱仪测定有机酸含量。

2.9.4. 可溶性糖测定

参照薛俊杰[14]的方法对样本进行提取, 采用 LC-20AT 高效液相色谱仪测定可溶性糖。

2.9.5. 鲜味评价

使用味精当量(Equivalent umami concentration, EUC)来评价沙柞菇的鲜味强度, 根据所测量的呈鲜氨基酸和呈鲜核苷酸的数据代入公式 $EUC = \sum a_i b_i + 1218 (\sum a_i b_i) (\sum a_j b_j)$, 计算出沙柞菇的鲜味强度[15]。EUC 为味精当量, g MSG/100g; a_i 为鲜味氨基酸(Asp 或 Glu)的浓度, g/100g; b_i 为鲜味氨基酸相对于 MSG 的相对鲜度系数(Glu = 1, Asp = 0.077); a_j 为呈味核苷酸(5'-IMP、5'-GMP、5'-AMP、5'-XMP)的浓度, g/100g; b_j 为呈味核苷酸相对于 IMP 的相对鲜度系数(5'-IMP = 1, 5'-GMP = 2.3, 5'-AMP = 0.18, 5'-XMP = 0.61); 1218 为协同作用常数[16]。

2.9.6. 野生沙柞菇氨基酸营养价值评价

根据 FAO/WHO 建议的氨基酸模式和全鸡蛋蛋白质的氨基酸模式, 氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)分别按以下公式计算: $AAS = aa/AA(\text{FAO/WHO})$; $CS = aa/AA(\text{Egg})$ [17]。[式中: aa 为试验样品氨基酸含量(mg/g); $AA(\text{FAO/WHO})$ 为 FAO/WHO 评分标准模式该种氨基酸含量(mg/g); $AA(\text{Egg})$ 为鸡蛋蛋白质中该种氨基酸含量(mg/g)。]必需氨基酸指数(EAAI)根据下列公式计算: $EAAI = (100 \text{ 异亮氨酸 } t/\text{异亮氨酸 } s \times 100 \text{ 色氨酸 } t/\text{色氨酸 } s \times 100 \text{ 亮氨酸 } t/\text{亮氨酸 } s \times 100 \text{ 苯丙氨酸 } t/\text{苯丙氨酸 } s) 1/n$ 。[n 为比较的氨基酸数; t 为实验蛋白质的氨基酸含量; s 为标准蛋白质的氨基酸含量。]

3. 结果与分析

3.1. 野生沙柞菇的分类鉴定

3.1.1. 生长环境和形态学描述

沙柞菇采集地位于鄂尔多斯市准格尔旗西北部的沙漠地, 该菌株每年夏秋季, 天气转凉的雨后出菇, 生长地主要是长满蒿属植物的沙地。

沙杵菇子实体菌盖为圆柱形，高约 10 cm，直径约 4 cm，菌盖与菌褶表面为白色或浅灰色，较为光滑，颜色随成长逐渐加深，菌盖表皮开裂成鳞片状。菌柄为细长的白色光滑圆柱体，根部粗壮，长度约 15 cm，直径约 2 cm。菌肉呈白色，孢子呈黑色，椭圆形(见图 1)。初步判断沙杵菇属于毛头鬼伞。



Figure 1. Morphological map of shachu mushroom
图 1. 沙杵菇形态图

3.1.2. PCR 扩增产物的检测与分析

用真菌 ITS 通用引物 ITS4 和 ITS5 对沙杵菇进行了 PCR 扩增获得了在 500~750 bp 之间的单一条带(见图 2)。

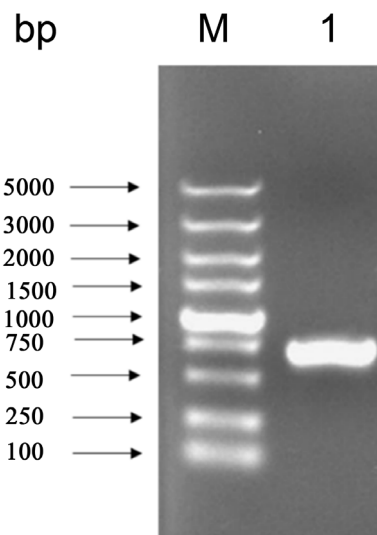


Figure 2. The PCR result of ITS of shachu mushroom. M: DL5000 Marker; 1: PCR results of shachu mushroom
图 2. 沙杵菇 ITS 序列 PCR 结果。M: DL5000 Marker; 1: 沙杵菇 PCR 结果

3.1.3. ITS 序列分析

PCR 扩增产物经华大基因测序，得到 633 bp 的沙杵菇 ITS 序列(见图 3)。经 BLAST 比对得到相似度较高的序列全部来源于鬼伞属的毛头鬼伞，最高相似度可达 98%。为构建这株鬼伞属的系统发育树，从 NCBI 上下载其他 10 个相似度最高的毛头鬼伞序列(登录号为：JF907838.1、MN622775.1、EU326221.1、KX015766.1、FJ501551.1、EU520190.1、EU520139.1、JQ901433.1、KR733588.1、JQ901440.1)。

```

AGAAGGGGTCAAAGTTCAATATTGTTGTCCTTTAATAGGACAGTTAGAAGCAGAACACT 60
ACAGAGAGCGTTTACAGTCTATGGCGTAGATAATTATCACACCGGTGACGGATCGCAAAC 120
GGTTCCACTAATACATTTTCAGGAGAGCTGATCTCGAATGAGACCAGCAAACACTCCCATA 180
TCCAAGCCACAACCAGCAACAAAAGCTGGAGGGGTTGAGAATTTAATGACACTCAAACAG 240
GCATGCTCCTCGGAATACCAAGGAGCGCAAGGTGCGTTCAAAGATTGATGATTCACTGA 300
ATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAA 360
GAGATCCGTTGCTGAAAAGTTGTATTTTGTATATAGGCACTGAGGCCCAAATACTTTCATT 420
TACGACATACTAAGTGGTTTATGATAACATAGACCCAGAGGACGACATGGCAACAAAAA 480
ATTGTCACATAATCAATCCCCAAGACTACAATGTGTGCACAGGTGGATAGATAAAGACGG 540
CAGGTGTGCACATACTCCTAGGAGTCAGCTACAACCCAACCATGTTTATTCAATAATGAT 600
CCTTCCGAGGTTACCTACGGAAACCTTGTT 633

```

Figure 3. Base sequence in the ITS region of shachu mushroom

图 3. 沙杵菇 ITS 区域碱基序列

3.1.4. ITS 序列琼脂糖凝胶电泳检测

经 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 可以看到以 CTAB 法提取的 6 份来自不同地区的毛头鬼伞基因组 DNA 为模板 PCR 扩增的 ITS 序列均在 750 bp 左右, 条带单一明亮, 无拖尾(见图 4)。

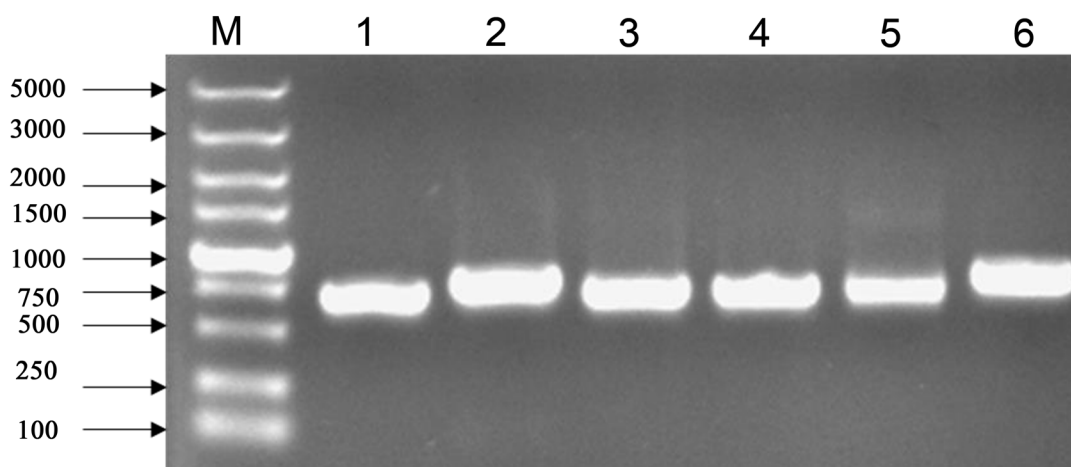


Figure 4. ITS sequence of 6 areas of the *Coprinucomatus*. M: DL5000 Marker; 1~6: The PCR results of *Coprinucomatus* ITS sequences were obtained from Yunnan, Jiangxi, Shanghai, Fujian, Zhejiang and Jiangsu

图 4. 6 个地区毛头鬼伞 ITS 序列 PCR 扩增结果。M: DL5000 Marker; 1~6: 分别为云南、江西、上海、福建、浙江、江苏毛头鬼伞 ITS 序列 PCR 结果

3.1.5. 测序结果和 BLAST 序列比对结果分析

将沙杵菇 ITS 序列与 6 份不同地区采集的毛头鬼伞 ITS 序列以及 NCBI 上相似度最高的 10 个毛头鬼伞 ITS 序列进行对比。沙杵菇 ITS 序列和 6 份不同地区采集的毛头鬼伞(*Coprinu comatus*)的 ITS 序列同源性高达 100%, 与 NCBI 上毛头鬼伞 ITS 序列同源性最低为 97%。

3.1.6. 系统发育分析结果

NCBI 上选取与沙杵菇 ITS 序列相似度最高的 10 株毛头鬼伞, 以及从 6 个不同地区(浙江、江苏、云南、上海、福建、江西)采集的毛头鬼伞, 使用 MEGA-X 软件, 采用最大邻接(Neighbor-Joining method)法构建系统发育树(见图 5)。由系统发育树可以看出, 17 份毛头鬼伞分为两大支。沙杵菇与来自江西、上海、江苏、福建、云南、浙江的毛头鬼伞聚为一支, 其中与来自江西的毛头鬼伞亲缘关系最为接近, 而数据库中相似性最高的 10 株被聚在另一支。

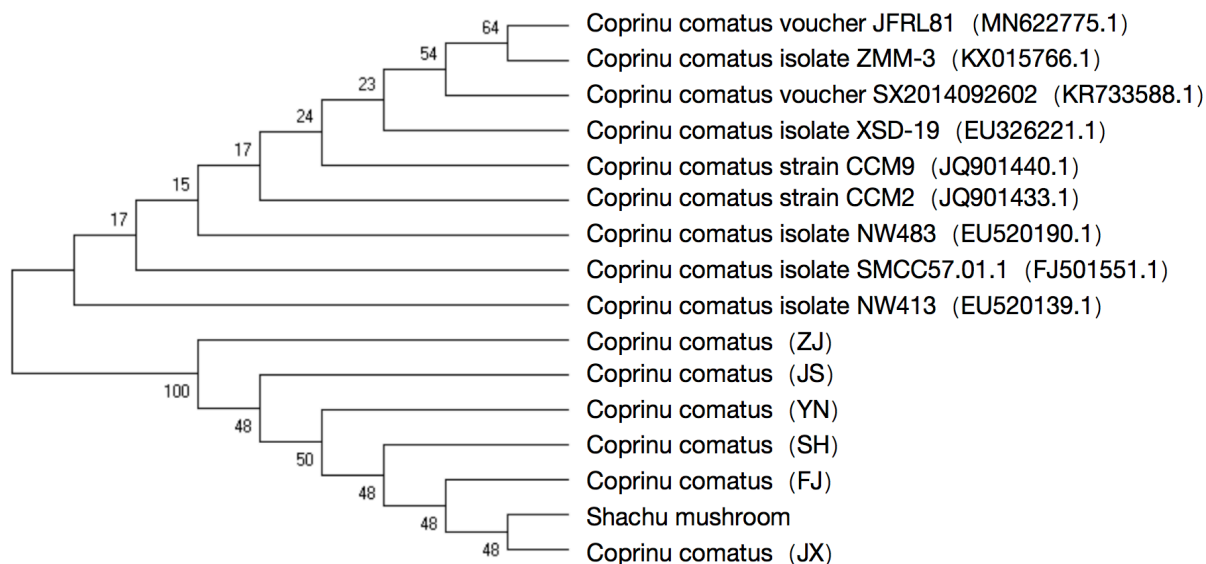


Figure 5. A phylogenetic tree of shachu mushroom based on ITS sequence

图 5. 基于 ITS 序列构建的沙枰菇系统发育树

3.2. 沙枰菇呈味物质分析和鲜味评价

3.2.1. 游离氨基酸

沙枰菇样品中呈鲜氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸)和呈甜氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸)含量丰富,占游离氨基酸总量的 41.44%,各组分浓度均大于味道阈值,说明呈味氨基酸对于沙枰菇的鲜美口感有较高贡献(见表 1)。

Table 1. The contents of fresh and sweet amino acids in shachu mushroom

表 1. 沙枰菇中呈鲜和呈甜氨基酸含量

氨基酸种类 Types of amino acids	含量(g/100g 干样品) Content (g/100g dry sample)	含量(g/100g 鲜样品) Content (g/100g fresh sample)
天冬氨酸 Aspartic acid	0.214	0.022
谷氨酸 Glutamate	0.481	0.050
丙氨酸 Alanine	0.537	0.056
甘氨酸 Glycine	0.096	0.010
丝氨酸 Serine	0.223	0.023
苏氨酸 Threonine	0.401	0.042
总量 Total	1.952	0.203

注: 鲜味(Asp + Glu); 甜味(Ser + Gly + Thr + Ala + Pro); 苦味(His + Ile + Leu + Phe + Arg + Met + Val); 无滋味(Cys + Lys + Tyr)。

3.2.2. 主要呈味核苷酸

沙枰菇中含有较为丰富的 5'-腺苷酸和 5'-鸟苷酸,未检出 5'-肌苷酸,其中 5'-鸟苷酸超过阈值对沙枰菇的呈鲜有一定贡献(见表 2)。

Table 2. The content of 5'-nucleotide in shachu mushroom**表 2.** 沙柞菇中 5'-核苷酸的含量

	5'-腺苷酸 5'-adenosine monophosphate	5'-鸟苷酸 5'-guanosine acid	5'-肌苷酸 5'-inosinic acid
1	0.135 mg/g	0.250 mg/g	未检出
2	0.134 mg/g	0.259 mg/g	未检出
阈值 Threshold	0.5 mg/g	0.125 mg/g	0.5 mg/g

3.2.3. 有机酸

沙柞菇鲜样和干样中有机酸含量丰富, 乙酸与柠檬酸的含量显著, 其次是苹果酸和丁二酸, 酒石酸、抗坏血酸、富马酸在沙柞菇含量稍低(见表 3)。

Table 3. The contents of various organic acids in the shachu mushroom**表 3.** 沙柞菇中各种有机酸的含量

有机酸种类 Types of organic acids	含量(mg/100g 干样品) Content (mg/100g dry sample)	含量(mg/100g 鲜样品) Content (mg/100g fresh sample)
酒石酸 Tartaric acid	1791.81	184.65
苹果酸 Malic acid	4200.18	212.65
抗坏血酸 Ascorbic acid	614.21	18.29
乙酸 Acetic acid	15500.60	540.84
柠檬酸 Citric acid	10824.87	740.64
富马酸 Fumaric acid	34.88	26.05
丁二酸 Succinic acid	4299.90	918.10

3.2.4. 可溶性糖

经过检测, 沙柞菇内可溶性糖的含量为 4.5%。

3.2.5. 鲜味评价

经过计算得出, 沙柞菇的 EUC 值为 37.43 g MSG/100g。其含义为每 1 g 沙柞菇干粉所能产生的鲜味强度相当于 0.3743 g 味精所产生的鲜味。EUC 值被分为 4 个水平: 第一水平为 1000 g MSG/100g 干重以上, 第 2 水平为介于 100~1000g MSG/100g 干重, 第 3 水平为介于 10~100g MSG/100g 干重, 小于 10 g MSG/100g 属第 4 水平[18]。可以看出沙柞菇属于第 3 水平。

3.2.6. 野生沙柞菇氨基酸营养价值评价

沙柞菇总氨基酸含量丰富, 共检测到 17 种氨基酸(色氨酸未检测), 其中人体必需氨基酸 7 种, 非必需氨基酸 10 种。必需氨基酸含量占总氨基酸含量的 49.73%, 总氨基酸含量有 11.369 mg/100mg 干样品(见表 4)。参考 FAO/WHO 提出的理想模式, 必需氨基酸含量在 40%左右的蛋白质质量较优。沙柞菇蛋白质氨基酸属优质蛋白食材, 是一种氨基酸含量丰富的营养食品。按照 FAO/WHO 的标准和全鸡蛋模式, 沙柞菇的 EAAI 分别为 139.17 和 105.69 (高于常见的松蘑: 74.46、肉蘑: 86.83、牛肝菌: 70.97), 说明沙柞菇中必需氨基酸比例较适宜, 容易被人体消化和利用。由 AAS 和 CS 可知, 沙柞菇的第一限制氨基酸是赖氨酸, 第二限制氨基酸是亮氨酸(见表 5)。

Table 4. Total amino acid content of shachu mushroom
表 4. 沙杵菇样品总氨基酸含量

氨基酸种类 Types of amino acids	含量(g/100g 干样品) Content (g/100g dry sample)	含量(g/100g 鲜样品) Content (g/100g fresh sample)
天冬氨酸 Aspartic acid	1.061	0.111
苏氨酸 Threonine	0.597	0.063
丝氨酸 Serine	0.500	0.052
谷氨酸 Glutamate	1.507	0.158
甘氨酸 Glycine	0.509	0.053
丙氨酸 Alanine	0.906	0.095
胱氨酸 Cystine	0.195	0.020
缬氨酸 Valine	1.323	0.139
蛋氨酸 Methionine	0.561	0.059
异亮氨酸 Isoleucine	0.553	0.058
亮氨酸 Leucine	0.850	0.089
酪氨酸 Tyrosine	0.475	0.050
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.583	0.061
赖氨酸 Lysine	0.530	0.056
组氨酸 Histidine	0.176	0.018
精氨酸 Arginine	0.509	0.053
脯氨酸 Proline	0.534	0.056
总含量 Total content	11.369	1.191

Table 5. AAS, CS and EAAI of the shachu mushroom
表 5. 沙杵菇的 AAS、CS、EAAI

氨基酸 Amino acids	沙杵菇 Shachu mushroom	FAO/WHO 模式 FAO/WHO model	全鸡蛋模式 Whole egg mode	氨基酸评分(AAS) Amino acid score (AAS)	化学评分(CS) Chemical score (CS)
异亮氨酸 Isoleucine	49	40	52.4	1.23	0.94
亮氨酸 Leucine	75	70	84.1	1.07	0.89
苏氨酸 Threonine	53	40	53.9	1.33	0.98
缬氨酸 Valine	116	50	57.6	2.32	2.01
蛋氨酸 + 胱氨酸 Methionine + Cystine	66	35	51.2	1.89	1.28
苯丙氨酸 + 酪氨酸 Phenylalanine + Tyrosine	93	60	95.5	1.55	0.97
赖氨酸 Lysine	47	55	64.9	0.85	0.72
必需氨基酸指数(EAAI) Essential amino acid index (EAAI)				139.17	105.69

4. 讨论与结论

食用菌种类繁多,形态易受环境因素影响,很多种类用传统方法难以鉴别。ITS 序列是真核生物核糖体内转录间隔区,属非编码区,因此承受自然选择的压力较小,可以存在更多变异,用于区分关系很近的种。本实验通过传统形态学鉴定结合 ITS 序列分析技术明确了生长在内蒙古西部地区沙漠中沙柞菇的种属关系,系统发育树显示沙柞菇与中国江西的毛头鬼伞亲缘关系较近,基本明确了野生沙柞菇的生物学地位。通过系统发育树,发现江西、上海、江苏、福建、云南、浙江的毛头鬼伞聚为一类亲缘关系较近,NCBI 上序列同源性高度相似的毛头鬼伞亲缘关系较远。

野生沙柞菇呈鲜氨基酸(天冬氨酸、谷氨酸)含量达 0.695 g/100g,呈甜氨基酸(丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸)含量达 2.494 g/100g。游离氨基酸是食用菌最主要的呈味物质之一,很多食用菌是因为其游离氨基酸含量高而具有特殊的鲜味。张璐等研究显示,常见食用菌如香菇,呈鲜和呈甜氨基酸含量分别为 0.113 g/100g、0.316 g/100g,远低于野生沙柞菇的含量。因此,我们通过检测游离氨基酸含量,发现远高于常见食用菌的游离氨基酸含量是野生沙柞菇独特鲜味的物质基础[19]。野生沙柞菇中 5'-腺苷酸和 5'-鸟苷酸含量分别为 0.135 mg/g 和 0.250 mg/g。呈味核苷酸与谷氨酸、天冬氨酸一起呈现鲜味,一些常见的香菇中,这两种核苷酸含量为 0.35 mg/g 和 1.23 mg/g。可见呈味核苷酸虽然参与了形成沙柞菇的鲜味,但与其他常见食用菌相比,野生沙柞菇呈味核苷酸含量并不突出。因此,可以断定呈味核苷酸对野生沙柞菇鲜美味道形成有贡献,但作用较小。

沙柞菇中有机酸含量丰富,乙酸与柠檬酸的含量显著高于其他几种有机酸,其中乙酸通常作为增香剂使用,这两种有机酸可能对沙柞菇风味的形成起到了一定的作用。苹果酸和丁二酸含量次之,苹果酸香菇的鲜味强度有关[20],丁二酸与钠离子形成的盐类物质可呈现出鲜味,因此这两种有机酸在一定程度上参与了沙柞菇鲜美口感形成。酒石酸、抗坏血酸、富马酸在沙柞菇含量低,酒石酸作为食品添加剂的主要作用是抗氧化,抗坏血酸就是维生素 C,富马酸与柠檬酸一样都是常见的酸味剂,它们在一定程度上影响了沙柞菇的口感。有研究表明,口蘑中主要有机酸是乙酸、琥珀酸、草酸、苹果酸、焦谷氨酸、一酮戊二酸以及胡索酸,其中琥珀酸与草酸的含量在数种有机酸中占优势;香菇中的有机酸含量最高的是苹果酸,还含有少量的琥珀酸和柠檬酸。因此,不同的食用菌所含有有机酸种类和含量不一,野生沙柞菇在有机酸种类和含量上与其他食用菌的差异,也是造成其独特口感的原因之一。

野生沙柞菇内可溶性糖的含量为 4.5%。有研究显示,在一些常见食用菌中,平菇可溶性糖达 6.9%,香菇达 5.3%,黑木耳达 2.9%。可溶性糖与呈甜氨基酸一样都是食用菌内呈现甜味的物质。中国人的烹饪习惯中,食用菌常用来炒菜、煲汤等,烹饪过程中常放入大量食盐,使得食用菌内甜味并不呈现出来。食用菌中的一些甜味物质的存在可以掩盖一些不愉快的味道,如呈现苦味的游离氨基酸常常不能表现出味觉活性,就是因为甜味物质的作用,这样会有助于提升食用菌的整体风味。其中一些甜味物质含量较高的食用菌,食用起来往往会有爽口的甜味。所以可溶性糖的存在也为形成沙柞菇的整体口感,做出了一定的贡献。

氨基酸是食物中重要的营养物质,其种类和含量直接反映了食物的营养价值。本实验研究通过对野生沙柞菇总氨基酸种类和含量测定,计算出各氨基酸的氨基酸评分、化学评分。计算了野生沙柞菇的必需氨基酸指数,在 FAO/WHO 的标准和全鸡蛋模式下,必需氨基酸指数分别为 139.17 和 105.69。与一些其他食用菌和常见的普遍认为蛋白质含量比较高的食材相比,沙柞菇的氨基酸营养价值较为突出[21] [22] [23]。

综上所述,野生沙柞菇是一种氨基酸营养价值较高的食物。

基金项目

内蒙古准格尔旗科技局科技计划项目(2019008)。

参考文献

- [1] He, H.Y. and Zhang, D. (2019) Identification and Evaluation of *Lonicera japonica* Flos Introduced to the Hailuogou Area Based on ITS Sequences and Active Compounds. *PeerJ*, **7**, e7636. <https://doi.org/10.7717/peerj.7636>
- [2] 王道君, 谷大海, 王雪峰, 等. 五种云南野生食用菌中非挥发性的主要呈味物质比较研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(3): 306-312.
- [3] Chen, D.-W. and Zhang, M. (2007) Non-Volatile Taste Active Compounds in the Meat of Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*). *Food Chemistry*, **104**, 1200-1205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.042>
- [4] 张倩, 刘睿, 王欣之, 等. 高效液相色谱法测定四角蛤蜊、菲律宾蛤仔中呈味核苷酸[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(3): 224-228.
- [5] 卢叶, 张季, 向丽萍, 等. HPLC 法同时测定赤水晒醋中 9 种有机酸[J]. 现代食品, 2020(13): 149-153+160.
- [6] 刘雨, 蒋耀兴. 氨基酸分析方法及测试仪器的比较[J]. 现代丝绸科学与技术, 2012, 27(1): 10-12+25.
- [7] 曹世宁, 陈相艳, 崔文甲, 等. 食用菌中呈味物质的研究进展[J]. 食品工业, 2016, 37(3): 231-234.
- [8] 郭全友, 张秀洁, 姜朝军. 大黄鱼成鱼养殖阶段滋味物质分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(4): 222-229.
- [9] 王锋尖, 周向宇, 甘露. 一株野生食用菌的形态及分子鉴定[J]. 北方园艺, 2017(21): 159-162.
- [10] Fu, Z.-Y., Song, J.-C. and Jamesont, P.E. (2017) A Rapid and Cost Effective Protocol for Plant Genomic DNA Isolation Using Regenerated Silica Columns in Combination with CTAB Extraction. *Journal of Integrative Agriculture*, **16**, 1682-1688. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61534-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61534-4)
- [11] Li, W., Gu, Z., Yang, Y., et al. (2014) Non-Volatile Taste Components of Several Cultivated Mushrooms. *Food Chemistry*, **143**, 427-431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.006>
- [12] Beluhan, S. and Ranogajec, A. (2010) Chemical Composition and Non-Volatile Components of Croatian Wild Edible Mushrooms. *Food Chemistry*, **124**, 1076-1082. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.081>
- [13] 张陈, 郑晓敏, 马长中, 等. 高效液相色谱法对青稞酒中有机酸、醇及糖含量的测定[J]. 食品科技, 2020, 45(7): 317-323.
- [14] 薛俊杰, 唐庆九, 刘艳芳, 等. 蛹虫草水溶性多糖含量测定方法的比较与优化[J]. 菌物学报, 2012, 31(3): 443-449.
- [15] Yamaguchi, S. (2006) The Synergistic Taste Effect of Monosodium Glutamate and Disodium 5-Nosinate. *Journal of Food Science*, **32**, 473-478. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1967.tb09715.x>
- [16] 余昌霞, 赵妍, 陈明杰, 等. 香菇失香突变菌株的营养成分和呈味物质分析[J]. 上海农业学报, 2019, 35(6): 17-23. 18.
- [17] Eggum, B. (2005) Comments on Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Protein Quality Evaluation, Rome 1990. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, **30**, 81-88. <https://doi.org/10.1007/BF01610063>
- [18] Mau, J.L. (2005) The Umami Taste of Edible and Medicinal Mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **7**, 119-126. <https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v7.i12.120>
- [19] 张璐, 弓志青, 王文亮, 等. 7 种大宗食用菌的呈味物质分析及鲜味评价[J]. 食品科技, 2017, 42(3): 274-278+283.
- [20] 何旭孔, 邢增涛, 饶钦雄, 等. HPLC 法测定香菇中有机酸含量的检测技术研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(10): 1444-1448.
- [21] 孙雷, 周德庆, 盛晓风. 南极磷虾营养评价与安全性研究[J]. 海洋水产研究, 2008(2): 57-64.
- [22] 徐薇薇, 姚瑞基, 袁维新, 等. 宁夏滩羊后腿肉营养评价及挥发性风味物质分析[J]. 肉类研究, 2017, 31(10): 41-45.
- [23] 王雪锋, 涂行浩, 吴佳佳, 等. 草鱼的营养评价及关键风味成分分析[J]. 中国食品学报, 2014, 14(12): 182-189.