

鹅膏菌的傅里叶变换红外光谱研究

赵德璋¹, 刘刚^{1*}, 宋鼎珊², 刘剑虹³, 周翊蓝⁴, 欧家鸣¹, 孙世中³

1. 云南师范大学物理系, 云南 昆明 650092
2. 昆明食用菌研究所, 云南 昆明 650223
3. 云南师范大学分析测试中心, 云南 昆明 650092
4. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204

摘要 利用傅里叶变换红外光谱对云南野生鹅膏科蘑菇子实体及孢子进行了研究, 二者的光谱差异显著。子实体光谱的最强峰出现在蛋白质酰胺 I 的特征峰 1655 cm^{-1} 附近, 在碳水化合物的 C—O 特征振动峰 $1077, 1042\text{ cm}^{-1}$ 附近也有强吸收, 表明鹅膏科蘑菇子实体的主要成分是蛋白质和碳水化合物; 孢子的三个强峰在 $2926, 2855, 1747\text{ cm}^{-1}$, 归属为脂类物质的吸收。在 $1800\sim 750\text{ cm}^{-1}$, 不同属、不同种的鹅膏科蘑菇光谱有区别, 以此可以区分不同种类的蘑菇。此外, 隐花青鹅膏菌不同部位的光谱也有差异, 表明蘑菇的化学组分在子实体的不同部位有不同分布。利用傅里叶变换红外光谱可以区分不同种类的蘑菇。

关键词 鹅膏菌; 傅里叶变换红外光谱; 鉴别

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2007)06-1086-04

引言

鹅膏菌是常见的伞菌目(Agaricales)蘑菇, 在分类学上, 鹅膏菌科(Amanitaceae)主要包含鹅膏菌属(Amanita)和鸡枞菌属(Termitomyces)^[1]。鹅膏菌属是一个近世界性广布的大属, 大约包含有 900~1 000 种蘑菇^[2]。虽然鹅膏菌属的少数种可以食用, 但这个属是以其有毒的种类而著称的, 其中一些种含有对生命有威胁的毒素, 这些毒素都是环肽, 在生物化学及分子生物学研究中具有重要价值^[3, 4]。鸡枞菌是一种生态类型极为特殊的与白蚁共生的食用菌^[5]。近年来, 鹅膏科蘑菇引起了人们广泛的关注^[6]。

传统的蘑菇分类鉴别方法是建立在蘑菇子实体的外观形貌, 孢子的显微形貌和生长特性等基础上的, 这类方法既需要丰富的经验, 又耗时费力。随着生物化学、遗传学以及分子生物学等相关学科的发展, 在蘑菇的现代分类学中引入了分子生物学技术的鉴定方法, 例如 DNA 碱基组成、限制性片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性 DNA(RAPD)、Southern 印迹分析、脉冲电场凝胶电泳(PFGE)以及小亚基 rDNA(或 rRNA)序列测定等^[7-9]。尽管这些方法特异性高, 准确可靠, 但需要熟练的操作技术, 且成本高。所以, 要快捷、准确地鉴别各种蘑菇, 并且获取其有关的化学信息就显得十分重要和必要。振动光谱技术正是满足这一需要的有力

手段。

傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术是一种能够提供分子化学结构信息的技术手段, 结合化学计量学方法, 可以对样品进行定性定量分析^[10, 11]。Naumann 指出 FTIR 技术可以在亚种水平上对微生物进行区分、鉴别和分类^[12]。目前, FTIR 技术已经广泛应用于各种微生物的分类鉴别研究^[13-17]。然而近年来只有少量的文献报道了对蘑菇的振动光谱研究^[18-21]。

本文对五种鹅膏菌属蘑菇(浅橙黄鹅膏菌(Amanita hemibapha(Berk. et Br.)), 隐花青鹅膏菌(Amanita manginiana Pat. et Har.), 格纹鹅膏菌(Amanita fritillaria(Berk.) Sacc.), 红托鹅膏菌(Amanita rubrovolvata Imai), 锥鳞白鹅膏菌(Amanita virgineoides Bas.)和两种鸡枞菌属蘑菇(根柄鸡枞菌(Termitomyces radicans Natarajan), 鸡枞菌(Termitomyces albuminosus(Berk.) Heim), 以及隐花青鹅膏菌的菌褶、菌皮、菌肉、菌托、菌环、菌柄, 格纹鹅膏菌的孢子进行 FTIR 研究, 以期鉴别不同属、不同种的鹅膏科蘑菇提供一种快捷、准确的途径, 并为鹅膏科蘑菇的深入研究提供必要的振动光谱信息和化学信息。

1 实验部分

1.1 仪器设备及测试条件

收稿日期: 2006-02-16, 修订日期: 2006-05-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(30360068)资助

作者简介: 赵德璋, 1975 年生, 云南师范大学物理系硕士研究生

* 通讯联系人

e-mail: gliu66@163.com

BIO-RAD公司的FTS-40傅里叶变换红外光谱仪,硅碳棒光源,MCT探测器,测量范围 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$,光谱分辨率为 4 cm^{-1} ,信号扫描累加16次。

1.2 样品及制备

蘑菇样品均采自云南山区,多糖和蛋白质标样购自Sigma-Aldrich。取少许样品研成粉末掺入溴化钾,磨细混匀压片测红外光谱。

2 结果与讨论

2.1 鹅膏科蘑菇的光谱特征

图1为7种鹅膏科蘑菇的FTIR光谱图,在以下4个波数区间显示出特征谱峰:在 $4\,000\sim 1\,800\text{ cm}^{-1}$ 区是一个以 $3\,390\text{ cm}^{-1}$ 为中心的强宽峰,此峰归属为羟基伸缩振动峰,中等强度峰 $2\,925\text{ cm}^{-1}$ 及其肩峰 $2\,855\text{ cm}^{-1}$ 为 CH_2 , CH_3 伸缩振动峰^[21, 22];在羰基和 $\text{C}=\text{C}$ 特征振动区 $1\,800\sim 1\,500\text{ cm}^{-1}$,强峰 $1\,655\text{ cm}^{-1}$ 归属为蛋白质酰胺I的特征振动峰, $1\,744\text{ cm}^{-1}$ 处的弱峰来自羰基伸缩振动吸收^[21, 22];第三个区 $1\,500\sim 1\,200\text{ cm}^{-1}$ 主要是蛋白质、脂肪酸和多糖的混合振动区,在此区内主要有以下几个峰: $1\,455$, $1\,401$, $1\,379$, $1\,315$, $1\,248$, $1\,204\text{ cm}^{-1}$;第四个区 $1\,200\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 主要是多糖的特征峰 $1\,154$, $1\,075$, $1\,042$, 895 和 800 cm^{-1} ,其中 $1\,075\text{ cm}^{-1}$ 峰为此区内最强峰,归属为碳水化合物的 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动峰^[21, 22]。谱图特征表明7种蘑菇的主要成分是蛋白质和碳水化合物。

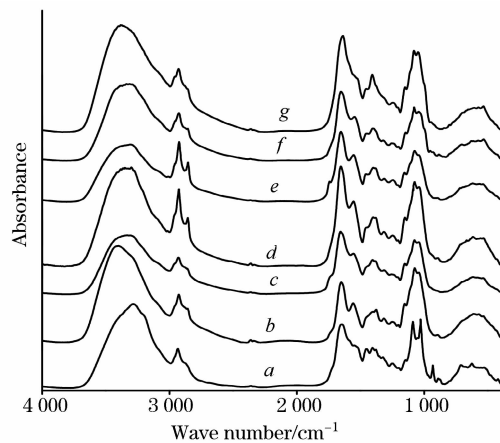


Fig. 1 FTIR spectra of *Amanitaceae* mushrooms

a: *Amanita. virgineoides*; b: *A. hemibapha*;

c: *A. fritillaria*; d: *A. manginiana*;

e: *A. rubrovolvata*; f: *Termitomyces. radicatus*; g: *T. albuminosus*

$950\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 区内的峰,尽管吸收强度都很弱,但利用这些峰可以鉴别多糖的构型类别。如 890 cm^{-1} 附近的峰可以归属为 β 构型多糖的特征峰,而 α 构型多糖的特征峰位于 $860\sim 800\text{ cm}^{-1}$ ^[23]。图2是几种标样物质的FTIR光谱图,图2a和图2b分别为 β -1,3葡聚糖(β -1,3 Glucan)和脱乙酰壳多糖(Chitosan)的谱线属于 β 构型的多糖,在其光谱图中,分别在 889 和 897 cm^{-1} 处出现吸收峰;图2d则属于淀粉

(Starch)的 α 构型多糖,其特征峰出现在 858 cm^{-1} 处。所有的蘑菇样品都在 890 和 800 cm^{-1} 附近有弱的吸收峰,表明鹅膏科蘑菇含有两种构型的多糖。

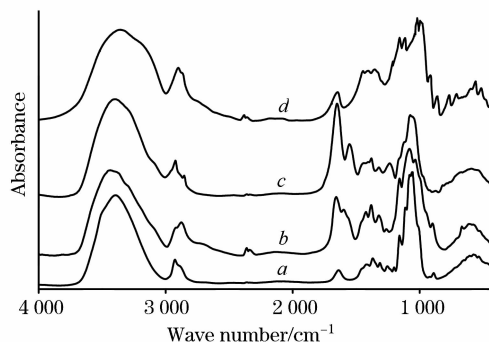


Fig. 2 FTIR spectra of reference substances

a: β -1,3 Glucan; b: Chitosan; c: Glycoprotein; d: Starch

另一方面,鹅膏菌属和鸡枞菌属蘑菇的FTIR光谱也表现出了较明显的区别。鸡枞菌(图1g)和根柄鸡枞菌(图1f)分别在 946 和 953 cm^{-1} 处有一明显的尖峰,鹅膏菌属蘑菇中,除了锥鳞白鹅膏菌(图1a)在 969 cm^{-1} 处有一肩峰外,其他几种都没有显示此峰。鸡枞菌和根柄鸡枞菌在 $1\,254$ 和 $1\,243\text{ cm}^{-1}$ 附近表现为两个强度相当的弱峰,而鹅膏菌属蘑菇在此波数附近则表现为一个较宽的弱峰。此外,鹅膏菌属蘑菇在 $1\,400\text{ cm}^{-1}$ 附近表现为两个强度相当的双峰,而鸡枞菌属蘑菇则只在 $1\,401\text{ cm}^{-1}$ 附近有一明显的中等强度峰。根据这些差异,可以把两个属区分开来。

2.2 不同种鹅膏菌的光谱区别

根据FTIR光谱图的特征峰峰位和吸收强度比,可以区分鹅膏菌属不同种的蘑菇。锥鳞白鹅膏菌(图1a)和浅橙黄鹅膏菌(图1b)的FTIR谱图明显有别于其他三种鹅膏菌,最明显的区别是锥鳞白鹅膏菌的吸收强度比 $A_{1\,643}/A_{1\,026}$ 和浅橙黄鹅膏菌的吸收强度比 $A_{1\,652}/A_{1\,075}$ 都小于1(分别为 0.871 , 0.886),而其他三种鹅膏菌对应的吸收强度比均大于1。另一方面,锥鳞白鹅膏菌和浅橙黄鹅膏菌之间的差别也很明显,前者在 $1\,087$ 和 $1\,026\text{ cm}^{-1}$ 处显示了强双峰,而且在 $1\,453$, 969 , 933 和 875 cm^{-1} 处都有明显吸收,而后者则只在 $1\,075\text{ cm}^{-1}$ 处有全谱最强峰;另外,锥鳞白鹅膏菌强宽峰的中心峰位较其他鹅膏菌的中心峰位都低,在 $3\,287\text{ cm}^{-1}$ 附近。浅橙黄鹅膏菌也有其独特的峰形特征,如其 $1\,401$ 和 $1\,378\text{ cm}^{-1}$ 两峰的吸收强度比为 0.98 ,而其他鹅膏菌相应的吸收强度比均大于1。利用这些峰形特征,可以把锥鳞白鹅膏菌和浅橙黄鹅膏菌区分开来。

格纹鹅膏菌(图1c)、隐花青鹅膏菌(图1d)和红托鹅膏菌(图1e)的峰形很相似,都在 $1\,656$ 和 $1\,076\text{ cm}^{-1}$ 附近显示出强的吸收峰,在 $2\,925\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰两侧,都有较弱的肩峰出现在 $2\,954$ 和 $2\,855\text{ cm}^{-1}$ 附近。格纹鹅膏菌明显有别于红托鹅膏菌和隐花青鹅膏菌的特征是 $2\,856$ 和 $1\,454\text{ cm}^{-1}$ 两个吸收峰不如后两种鹅膏菌的相应吸收峰强,而且格纹鹅膏菌的吸收强度比 $A_{2\,926}/A_{1\,656}$ 为 0.696 ,红托鹅膏菌和隐花青鹅膏菌相应的吸收强度比均接近于1。利用这些特征可以把格

纹鹅膏菌从红托鹅膏菌和隐花青鹅膏菌中区别出来。红托鹅膏菌最有别于其他鹅膏菌的特征是在 $1\,744\text{ cm}^{-1}$ 处有一明显的吸收峰。

两种鸡枞菌属蘑菇的光谱区别在 $1\,200\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 区表现最为明显, 根柄鸡枞菌在 $1\,205, 953, 929, 885, 800\text{ cm}^{-1}$ 等处有非常明显的弱尖峰, 而鸡枞菌则仅在 $946, 800\text{ cm}^{-1}$ 处表现出两个弱肩峰。两者的另一个区别是根柄鸡枞菌在 $1\,547, 1\,322\text{ cm}^{-1}$ 处有明显的吸收峰, 而鸡枞菌在相应波数附近没有吸收峰。根柄鸡枞菌 $1\,401\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收强度较 $1\,150\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收强度弱, 而鸡枞菌 $1\,408\text{ cm}^{-1}$ 峰的吸收强度比 $1\,150\text{ cm}^{-1}$ 处的强。

2.3 鹅膏菌属蘑菇不同部位的光谱区别

鹅膏菌不同部位的 FTIR 光谱如图 3 所示。隐花青鹅膏菌菌褶(图 3a)和菌环(图 3b)的光谱十分相似, 分别在 $1\,656$ 和 $1\,652\text{ cm}^{-1}$ 处显示为全谱最强峰, 菌褶的吸收强度比 $A_{1\,656}/A_{1\,075}$ 为 1.385 , 菌环的吸收强度比 $A_{1\,656}/A_{1\,075}$ 为 1.234 , 均大于 1。另一方面, 两者之间也有明显差别, 菌褶在 $1\,458\text{ cm}^{-1}$ 处有一明显的吸收峰, 菌环则没有。菌褶的吸收强度比 $A_{2\,925}/A_{3\,291}$ 和 $A_{1\,546}/A_{1\,075}$ 分别为 1.005 和 1.106 , 而菌环相应吸收强度比分别为 0.647 和 0.871 , 都小于 1。

菌柄(图 3c)的谱图在 $1\,077$ 和 $1\,032\text{ cm}^{-1}$ 处显示为强双峰, 而其他部位的谱图则仅在 $1\,075\text{ cm}^{-1}$ 附近显示为强单峰。菌盖肉(图 3f)和其他部位的 FTIR 光谱最明显的区别在于其全谱最强峰为以 $3\,900\text{ cm}^{-1}$ 为中心的强宽峰, 而其他部位的全谱最强峰均为碳水化合物的特征吸收峰 $1\,075\text{ cm}^{-1}$ 。此外, 菌盖皮(图 3e)和菌托(图 3d)的光谱没有明显的差别。结果表明, 即使是同一种蘑菇, 不同部位的 FTIR 光谱吸收亦有区别, 说明蘑菇的化学组分在不同部位有不同的分布。

图 3g 是格纹鹅膏菌孢子的 FTIR 光谱, 其全谱最强峰出现在 $2\,926\text{ cm}^{-1}$ 处, $2\,855, 1\,747\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收也很强, 上述三个强峰都来自脂类物质的吸收^[24]; 而子实体的强峰主要来自蛋白质酰胺 I 和糖类物质的特征振动, 这是孢子和子实体光谱的主要区别。孢子光谱中, $1\,652, 1\,542\text{ cm}^{-1}$ 处的峰归属为蛋白质酰胺 I, II 的特征峰。孢子光谱还显示了

以下峰: $3\,497\text{ cm}^{-1}$ 处的宽峰, $1\,464, 1\,161, 1\,084\text{ cm}^{-1}$ 等处中等强度的峰和 $1\,542, 1\,379, 1\,241, 1\,036, 888\text{ cm}^{-1}$ 等处的弱峰。这些光谱差异表明孢子和子实体的化学成分有显著的区别, 子实体的成分主要是蛋白质和碳水化合物, 而孢子的主要化学成分是脂类物质和蛋白质, 这和 Gussem 等利用傅里叶变换拉曼光谱对乳菇属孢子的研究结果是一致的^[25]。

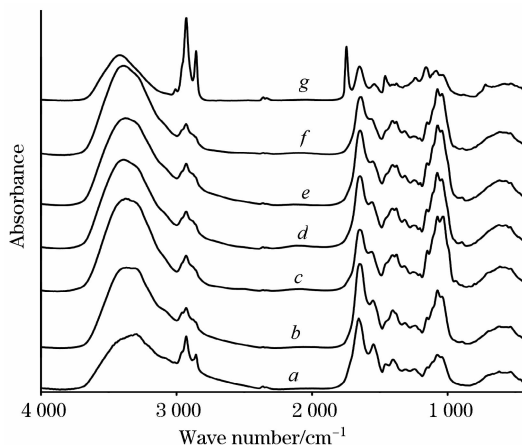


Fig. 3 FTIR spectra of different parts of *Amanita manginiana* and spore of *A. fritillaria*.

a: Gills; b: Annulus; c: Stalk; d: Volva;
e: Cap skin; f: Cap meat; g: spore of *A. fritillaria*

3 结 论

利用傅里叶变换红外光谱研究了鹅膏科蘑菇子实体和孢子。 $1\,800\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 区间段的光谱差异可以用来区分鉴别不同属、不同种的鹅膏科蘑菇。由于隐花青鹅膏菌化学组分在不同部位的分布各异, 其光谱也有所区别。此外, 格纹鹅膏菌孢子和子实体的光谱有明显差异。总之, 利用 FTIR 郊术可以对鹅膏科蘑菇进行快速、无损的鉴别研究。

参 考 文 献

- [1] HUANG Nian-lai(黄年来). Colored Illustrations of Macrofungi (Mushroom) of China(中国大型真菌原色图鉴). Beijing: Chinese Agricultural Press(北京: 中国农业出版社), 1998. 132.
- [2] Li C, Oberlies N H. Life Sciences, 2005, 78: 532.
- [3] Alexopoulos C J, Blackwell M, Mims C W(C J 阿历索保罗, C W 明斯, M 布莱克韦尔, 著). Translated by YAO Yi-jian, LI Yu(姚一建, 李 玉, 译). Introductory Mycology(Fourth Edition)(菌物学概论, 第 4 版). Beijing: Chinese Agricultural Press(北京: 中国农业出版社), 2002. 467.
- [4] CHEN Zuo-hong, ZHANG Zhi-guang, LIANG Song-ping, et al(陈作红, 张志光, 梁宋平, 等). Mycosystema(菌物系统), 1999, 18(4): 415.
- [5] YANG Xin-mei(杨新美). Impartment and Exploitations of Mycology in China(中国菌物学传承与开拓). Beijing: Chinese Agricultural Press(北京: 中国农业出版社), 2001. 69.
- [6] YANG Zhu-liang(杨祝良). Acta Botanica Yunnanica(云南植物研究), 2000, 22(2): 135.
- [7] XING Lai-jun, LI Chun-ming(邢来君, 李春明). General Mycology(普通真菌学). Beijing: Higher Education Press(高等教育出版社), 1999. 270.

- [8] Leonardi M, Paolocci F, Rubini A, et al. FEMS Microbiology Letters, 2005, 243: 411.
- [9] CHEN Ji-yue, LIU Pei-gui, FU Jian-guo, et al(陈吉岳, 刘培贵, 付建国, 等). Acta Botanica Yunnanica(云南植物研究), 2004, 26(4): 434.
- [10] Nieuwoudt H H, Prior B A, Pretorius I S, et al. J. Agric. Food Chem., 2004, 52: 3726.
- [11] Inón F A, Garrigues S, Guardia M D L. Analytica Chimica Acta, 2004, 513: 401.
- [12] Naumann D, Helm D, Labischinski H. Nature, 1991, 351(6321): 8.
- [13] Naumann D. SPIE Fourier Comput. Infrared Spectrosc., 1985, 553: 268.
- [14] Mariey L, Signolle J P, Amiel C, et al. Vibrational Spectroscopy, 2001, 26: 151.
- [15] Kanisiz M, Heraud P, Wood B, et al. Phytochemistry, 1999, 52: 407.
- [16] Garcia-Caurel E, Nguyen J, Schwartz L, et al. Thin Solid Films, 2004, 455-456: 722.
- [17] Sockalingum G D, Sandt C, Toubas D, et al. Vibrational Spectroscopy, 2002, 28: 137.
- [18] LIU Gang, LIU Jian-hong, YANG Ai-min, et al(刘 刚, 刘剑虹, 杨爱民, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(8): 941.
- [19] LIU Gang, LIU Jian-hong, SONG Ding-shan, et al(刘 刚, 刘剑虹, 宋鼎珊, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(7): 1053.
- [20] SUN Su-qin, LIANG Xi-yun, YANG Xian-rong(孙素琴, 梁曦云, 杨显荣). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(2): 226.
- [21] Grošev V M, Boffiac R, Puppels G J. Spectrochimica Acta A, 2001, 57: 2815.
- [22] Lin M S, Holy M A, Qadiri H A, et al. J. Agric. Food Chem., 2004, 52: 5769.
- [23] Gutiérrez A, Prieto A, Martínez A T. Carbohydrate Research, 1996, 281: 143.
- [24] Albuquerque M L S, Guedes I, Alcantara P Jr., et al. Vibrational Spectroscopy, 2003, 33: 127.
- [25] Gussem K D, Vandenabeele P, Verbeke A, et al. Spectrochimica Acta Part A, 2005, 61: 2896.

Investigation of *Amanitaceae* Mushrooms by Fourier Transform Infrared Spectroscopy

ZHAO De-zhang¹, LIU Gang^{1*}, SONG Ding-shan², LIU Jian-hong³, ZHOU Yi-lan⁴, OU Jia-ming¹, SUN Shi-zhong³

1. Department of Physics, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China

2. Kunming Institute of Edible Fungi, Kunming 650223, China

3. Center of Analysis and Testing, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China

4. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China

Abstract In the present paper, FTIR was used for obtaining vibrational spectra of untreated *Amanitaceae* mushrooms harvested in the mountains of Yunnan province, Southwest of China. The results show that the spectra of fruiting body and spore exhibit obvious differences. In the spectra of fruiting body, the strongest absorption band appears at about $1\ 655\ \text{cm}^{-1}$, which is described as amide I. There are two strong absorption bands at $1\ 077$ and $1\ 042\ \text{cm}^{-1}$ which are assigned to C—O stretching in carbohydrate. The vibrational spectra indicate that the main compositions of the *Amanitaceae* mushrooms are protein and carbohydrate. The spectrum of spore of *Amanita fritillaria* shows strong bands at $2\ 926$, $2\ 855$ and $1\ 747\ \text{cm}^{-1}$, which can be assigned to the absorption of lipids. The spectra of fruiting body exhibit complicated patterns in the interval between $1\ 800$ and $750\ \text{cm}^{-1}$, which may be used to discriminate different species of *Amanitaceae* mushrooms. In addition, FTIR spectral differences were observed between different parts of *Amanita manginiana*. The result suggests that the chemical constituents are various in different parts of fruiting bodies. It is showed that FTIR spectroscopic method is a valuable tool for rapid and nondestructive identification of *Amanita* mushrooms.

Keywords *Amanitaceae* mushrooms; FTIR; Identification

(Received Feb. 16, 2006; accepted May 28, 2006)

* Corresponding author