

# 七妹羊肚菌化学成分及其近缘种麦角甾醇的含量

杨郾然<sup>1</sup>, 刘顶慧<sup>1</sup>, 谢光波<sup>1\*</sup>, 谢丽源<sup>2</sup>

1 电子科技大学生命科学与技术学院, 四川 成都 610054

2 四川省食用菌研究所, 四川 成都 610066

**摘要:** 首先以七妹羊肚菌 *Morchella eximia* 子实体为研究对象, 采用硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶柱色谱等多种色谱分离方法进行化学成分的分离纯化, 并通过核磁共振(NMR)、质谱(MS)等技术鉴定化合物结构。然后以麦角甾醇为测定指标, 建立羊肚菌子实体中含量测定的 HPLC 方法, 并采用该方法对 3 个羊肚菌栽培品种(梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌)及其不同生长期(幼年期、成熟期和老化期)的子实体中麦角甾醇的含量进行比较分析。从七妹羊肚菌子实体中共分离鉴定出 13 个化合物, 包括 5 个麦角甾类化合物, 其中化合物 **2**、**9**、**10** 和 **12** 为首次从羊肚菌属中分离得到。高效液相色谱分析结果显示不同品种、不同生长期的羊肚菌子实体中麦角甾醇含量差异明显, 3 个品种的幼年期子实体中的含量最高[(1.647±0.013)–(2.289±0.011) mg/g], 成熟期子实体中的含量相应降低, 其中六妹羊肚菌最高[(1.796±0.008) mg/g], 梯棱羊肚菌最低[(1.250±0.004) mg/g]。本文首次对七妹羊肚菌的化学成分及羊肚菌中麦角甾醇的含量进行了测定, 该研究对羊肚菌的进一步开发利用和质量评价都具有重要意义。

**关键词:** 羊肚菌; 七妹羊肚菌; 次级代谢产物; 麦角甾醇; 含量测定

## [引用本文]

杨郾然, 刘顶慧, 谢光波, 谢丽源, 2026. 七妹羊肚菌化学成分及其近缘种麦角甾醇的含量. 菌物学报, 45(2): 250135

Yang YR, Liu DH, Xie GB, Xie LY, 2026. Chemical composition of *Morchella eximia* and ergosterol content of its closely related species. Mycosystema, 45(2): 250135

## Chemical composition of *Morchella eximia* and ergosterol content of its closely related species

YANG Yanran<sup>1</sup>, LIU Dinghui<sup>1</sup>, XIE Guangbo<sup>1\*</sup>, XIE Liyuan<sup>2</sup>

1 School of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, Sichuan, China

2 Sichuan Institute of Edible Fungi, Chengdu 610066, Sichuan, China

**Abstract:** The chemical constituents of *Morchella eximia* were isolated by modern chromatographic

资助项目: 四川省科技计划项目(2021YFN0094)

This work was supported by the Sichuan Science and Technology Program (2021YFN0094).

\*Corresponding author. E-mail: gbxie@uestc.edu.cn

ORCID: XIE Guangbo (0000-0001-7600-3214)

Received: 2025-05-08; Accepted: 2025-06-08

separation techniques, and the structures were elucidated by nuclear magnetic resonance (NMR), mass spectrometry (MS), *etc.* Subsequently, a HPLC method was established for determining the ergosterol content in the fruiting bodies of different species of morels. This method was applied to comparatively analyze the ergosterol content in different growth stages (juvenile, mature, and aging stages) of the fruiting bodies of three cultivated species of morels (*Morchella importuna*, *M. sextelata* and *M. eximia*). In total, 13 compounds were isolated and identified from the fruiting bodies of *M. eximia*, including 5 ergosterol-related compounds. Among these, compounds **2**, **9**, **10** and **12** were isolated from the genus *Morchella* for the first time. HPLC analysis revealed significant differences in ergosterol content in the fruiting bodies of different species and growth stages of morels. The highest content was found in the juvenile fruiting bodies of the three species [(1.647±0.013)–(2.289±0.011) mg/g], however the content comparatively decreased in the mature stage. *M. sextelata* had the highest content [(1.796± 0.008) mg/g], while *M. importuna* had the lowest [(1.250±0.004) mg/g] in the mature stage. These findings are significant for the further development, utilization, and quality evaluation of morels.

**Keywords:** morels; *Morchella eximia*; secondary metabolites; ergosterol; content determination

羊肚菌 *Morchella* spp. (羊肚菌科 Morchellaceae) 是一种珍贵的药食两用真菌, 其味道鲜美, 风味独特, 一直被奉为宴席上的美味佳肴(杜习慧等 2014)。羊肚菌营养丰富, 研究表明其含有丰富的蛋白质、氨基酸、肽类、脂肪酸、矿物质、维生素和膳食纤维等多种营养成分, 特别是钾、锌和硒含量高于多数常见的蘑菇(Gursoy *et al.* 2009; Tietel & Masaphy 2018)。除了营养价值高以外, 羊肚菌还富含多糖、酚类、萜类及甾醇类等多种生物活性化合物, 具有机体免疫力调节、抗疲劳、抑制肿瘤、降血脂、抗氧化等多种活性, 使其成为一种潜在的功能食品及营养保健品(尚千涵等 2021; Li *et al.* 2023; Xu *et al.* 2025)。因此, 羊肚菌在国内外市场上备受欢迎, 在欧美、东南亚及我国都有较大需求。

羊肚菌野生资源分布较为稀少, 采集难度大, 难以满足消费者的需求, 现有市场供给的羊肚菌主要以人工栽培品种为主(仲启祥等 2024)。我国是羊肚菌人工栽培大国, 据统计, 2022 年我国羊肚菌栽培面积达 22 680 hm<sup>2</sup>, 总产量达到了 23.95 万 t (唐禹婷等 2024; 魏子涵等 2024)。目前我国羊肚菌规模化、产业化栽培的品种主要包括黑色羊肚菌支系的梯棱羊肚菌 *Morchella importuna* M.Kuo, O'Donnell & T.J. Volk、六妹羊肚菌 *M. sextelata* M. Kuo 和七妹羊肚菌 *M. eximia* Boud. (Liu *et al.* 2018)。七妹羊

肚菌作为重要的羊肚菌栽培品种之一, 相关的研究较少, 目前主要集中在育种、栽培、菌丝体发酵等方面, 关于其化学成分的研究未见报道(马政等 2024; 唐禹婷等 2024; Xie L *et al.* 2024; Zhang *et al.* 2024; 韦春某等 2025)。麦角甾醇是真菌的特征甾醇, 存在于绝大多数真菌细胞膜中, 它既是真菌生物量的重要标志物之一, 也是维生素 D<sub>2</sub> 的合成前体(Mattila *et al.* 2002; Barajas-Aceves *et al.* 2002; Reeslev *et al.* 2003)。同时, 它自身还具有抗炎、降血脂、免疫调节、抑菌和抗肿瘤等多种生物活性(Rodrigues 2018; 程洋洋等 2021; Rangsinth *et al.* 2023)。

前期我们对人工栽培羊肚菌子实体的化学成分进行了系统的研究(Tu *et al.* 2021; 涂小曼等 2021; Xie G *et al.* 2024), 作为羊肚菌化学成分研究工作的延续, 本文对人工栽培的七妹羊肚菌子实体的化学成分进行了研究, 同时以麦角甾醇为指标性成分, 建立了基于高效液相色谱的含量测定方法, 分析比较了人工栽培的梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌在不同生长阶段的麦角甾醇含量。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

#### 1.1.1 羊肚菌子实体

不同生长阶段的(包括幼年期, 成熟期和老

化期)梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌子实体均采集自四川省农业科学院现代农业科技创新示范园羊肚菌种植基地(成都市新都区,海拔 480 m, 104°12'26"E, 30°47'13"N), 菌种由四川省农业科学院土壤肥料研究所刘理旭助理研究员鉴定。

### 1.1.2 试剂

葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20, GE Healthcare), 硅胶(100–200 目, 200–300 目, 硅胶 H, 硅胶 GF254, 青岛海洋化工厂), 麦角甾醇标准品(PS011677, 成都普思生物科技股份有限公司), 甲醇(色谱纯, TEDIA 公司), 其他化学试剂为分析纯(成都科隆化学品有限公司)。

### 1.1.3 仪器

AV II-400 核磁共振仪(TMS 作为内标, Bruker), Impact II ESI-Q-TOF 质谱仪(Bruker), Lyovapor L-200 冷冻干燥机(Buchi), LC-2050 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器、液相处理软件 LabSolutions Version 5.110, Shimadzu), BDS Hypersil C18 色谱柱(3  $\mu\text{m}$ , 100 mm  $\times$  3 mm, Thermo), BSA124S 电子天平(Sartorius), KQ3200DA 超声波清洗机(昆山舒美超声仪器有限公司), XFB-500 高速中药粉碎机(吉首中诚制药机械厂)。

## 1.2 七妹羊肚菌子实体的化学成分提取和分离

将 2.8 kg 干燥的七妹羊肚菌子实体粉碎后, 用 95%乙醇室温浸提 3 次(7 d/次), 合并乙醇提取液后减压浓缩至无醇味, 得到乙醇浸膏 4 L。加入 5 L 纯净水混合后, 用乙酸乙酯萃取 3 次(9 L/次), 合并乙酸乙酯萃取液, 减压浓缩回收溶剂后得到黑褐色乙酸乙酯浸膏 92 g。

乙酸乙酯浸膏(92 g)经硅胶柱色谱(200–300 目, 1.6 kg), 石油醚-乙酸乙酯(体积比: 100:1–1:1)梯度洗脱, 得 25 个组分(Fr.1–Fr.25)。Fr.3 (1.11 g)经硅胶柱色谱(环己烷:乙酸乙酯=70:1)得到 5 个组分 Fr.3.1–Fr.3.5, Fr.3.3 (45 mg)经葡聚糖凝胶柱色谱(Sephadex LH-20, 氯仿:甲醇=2:1, 下同)得到化合物 1 (40 mg, 无色油状物)。Fr.5 (1.37 g)经硅胶柱色谱(环己烷:丙酮=80:1)得 3 个组分 Fr.5.1–Fr.5.3, Fr.5.3 (582 mg)经连续硅胶柱色谱分离及葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 2 (23 mg, 橘

黄色固体)。Fr.6 (717.5 mg)经硅胶柱色谱(环己烷:乙酸乙酯=80:1)得到 5 个组分 Fr.6.1–Fr.6.5, Fr.6.3 经葡聚糖凝胶柱色谱纯化得到化合物 3 (93 mg, 无色油状物)。Fr.9 有白色固体析出, 过滤后以乙酸乙酯为溶剂进行重结晶, 得到化合物 4 (20 mg, 无色针状晶体)。Fr.11 也有白色固体析出, 过滤后同样采用乙酸乙酯为溶剂进行重结晶, 得到化合物 5 (20 mg, 无色针状晶体)。Fr.14 (2.3 g)经硅胶柱色谱(石油醚:乙酸乙酯=20:1)得 5 个组分 Fr.14.1–Fr.14.5, Fr.14.3 (395 mg)经硅胶柱色谱(二氯甲烷:丙酮=200:1)分离及葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 6 (5 mg, 白色固体); Fr.14.5 (153 mg)经连续性硅胶柱色谱分离及葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 7 (13 mg, 白色固体)。Fr.15 (717.5 mg)经硅胶柱色谱(二氯甲烷:丙酮=200:1)得 8 个组分 Fr.15.1–Fr.15.8, Fr.15.4 (336 mg)经葡聚糖凝胶柱色谱(Sephadex LH-20, 氯仿:甲醇=2:1)得到 3 个组分 Fr.15.4.1–Fr.15.4.3, Fr.15.4.1 (191 mg)经硅胶柱色谱(二氯甲烷:丙酮=200:1)分离及葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 8 (15 mg, 无色油状物); Fr.15.7 (76 mg)经硅胶柱色谱(二氯甲烷:丙酮=30:1)及葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 9 (7 mg, 白色固体)。Fr.17 (260.2 mg)经硅胶柱色谱(石油醚:乙酸乙酯=5:1)得 3 个组分 Fr.17.1–Fr.17.3, Fr.17.2 (36 mg)经连续葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 10 (5 mg, 无色胶状物)。Fr.18 中有固体析出, 过滤后分别收集固体(Fr.18.1)和滤液(Fr.18.2), Fr.18.1 (23 mg)经葡聚糖凝胶柱色谱(Sephadex LH-20, 氯仿:甲醇=2:1)纯化分别得化合物 11 (15 mg, 白色固体)和 12 (3 mg, 白色固体); Fr.18.2 (717.5mg)经葡聚糖凝胶柱色谱(Sephadex LH-20, 氯仿:甲醇=2:1)得 4 个组分 Fr.18.2.1–Fr.18.2.4, Fr.18.2.3 (395 mg)经连续性硅胶柱色谱分离及葡聚糖凝胶柱色谱纯化得化合物 13 (5 mg, 白色固体)。

## 1.3 羊肚菌中麦角甾醇的含量测定

### 1.3.1 色谱条件

色谱柱: Thermo BDS Hypersil C18 (100 mm  $\times$  3 mm, 3  $\mu\text{m}$ ); 柱温: 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 检测波长: 282 nm; 流动相: 甲醇:水(95:5); 流速: 0.6 mL/min; 进

样量: 5  $\mu\text{L}$ 。

### 1.3.2 对照品溶液的制备

精密称取麦角甾醇标准品 2.0 mg 于 10 mL 容量瓶中, 加入适量甲醇后超声使其充分溶解, 加入甲醇定容至 10 mL, 得浓度为 0.2 mg/mL 的麦角甾醇对照品溶液, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  下避光保存。

### 1.3.3 供试品溶液的制备

梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌不同生长阶段(幼年期、成熟期和老化期)的子实体分别冷冻干燥后, 粉碎, 过 50 目筛。分别精密称取不同品种、不同生长阶段的羊肚菌子实体粉末 0.4 g, 加入 16 mL 甲醇后称重, 然后超声提取 45 min, 冷却至室温后, 加甲醇补足损失的溶剂, 过 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜, 得供试品溶液, 备用。

### 1.3.4 系统适用性及方法学考察

(1) 理论塔板数、分离度和拖尾因子: 精密吸取供试品溶液按 1.3.1 的色谱条件进行分析, 计算理论塔板数、分离度和拖尾因子。

(2) 灵敏度试验: 取麦角甾醇对照品母液, 稀释配制一系列低浓度的麦角甾醇对照品溶液 (250、125、62.5、31.25、15.625、7.812 5 ng/mL), 按 1.3.1 的色谱条件进行分析, 测定相应浓度下的信噪比(S/N)。

(3) 重复性试验: 取同一浓度的麦角甾醇对照品溶液, 按 1.3.1 的色谱条件下重复进样 6 次, 记录目标峰面积, 计算 RSD 值。

(4) 标准曲线的绘制: 取 1.3.2 项下制备得到的对照品溶液, 用甲醇稀释配成系列浓度梯度 (5、10、20、40、80、160、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 过 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜后, 按 1.3.1 的色谱条件进行分析, 测定峰面积, 以麦角甾醇浓度( $x$ ,  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 对色谱峰面积( $y$ ) 绘制标准曲线, 得回归方程、相关系数与线性关系。

(5) 精密度试验: 按 1.3.3 所述方法平行制备 6 份供试品溶液, 按 1.3.1 的色谱条件分别进样分析, 记录麦角甾醇峰面积并计算 RSD 值。

(6) 溶液稳定性试验: 按 1.3.3 所述方法制备供试品溶液, 按 1.3.1 的色谱条件, 分别在第 0、1、2、4、8、16 和 24 h 时进样分析, 记录麦

角甾醇峰面积并计算 RSD 值。

(7) 准确度试验: 称取 0.2 g 左右的羊肚菌子实体粉末 6 份, 向其中加入 0.43 mg/mL 的麦角甾醇对照品溶液 1 mL, 按 1.3.3 所述方法制备供试品溶液, 按 1.3.1 的色谱条件依次进样分析, 记录麦角甾醇峰面积并计算回收率及 RSD 值。

(8) 系统耐用性试验: 按照 1.3.3 所述方法平行制备供试品溶液两份, 采用 1.3.1 的色谱条件, 分别改变其柱温 (25、30 和 35  $^{\circ}\text{C}$ ) 和流速 (0.5、0.6 和 0.7 mL/min), 然后进行供试品溶液的分析, 记录理论塔板数、分离度、拖尾因子及峰面积, 并计算供试品中麦角甾醇含量及 RSD 值。对于每次色谱条件的改变 (柱温和流速) 都绘制相应的标准曲线, 用于定量。

### 1.3.5 样品测定

分别取梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌不同生长阶段(幼年期、成熟期和老化期)的子实体粉末, 按照 1.3.3 所述方法制备供试品溶液, 每组样品设置 3 个平行试验, 按照 1.3.1 的色谱条件进行分析, 记录麦角甾醇峰面积并计算羊肚菌子实体中麦角甾醇的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物的结构鉴定

化合物 1, 无色油状物,  $\text{C}_{57}\text{H}_{98}\text{O}_6$ , ESI-MS: 896.765 8  $m/z$  [ $\text{M}+\text{NH}_4$ ] $^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.37 (12H, m, H-9'  $\times$  2, 9'', 10'  $\times$  2, 10'', 12'  $\times$  2, 12'', 13'  $\times$  2, 13''), 5.29 - 5.23 (1H, m, Glycerol H-2), 4.29 (2H, dd,  $J = 11.9, 4.3$  Hz, Glycerol H-1a, H-3a), 4.14 (2H, dd,  $J = 11.9, 6.0$  Hz, Glycero H-1b, H-3b), 2.77 (6H, t,  $J = 6.5$  Hz, H-11'  $\times$  2, 11''), 2.31 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-2'), 2.31 (4H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-2  $\times$  2), 2.08 - 1.97 (12H, m, H-8'  $\times$  2, 8'', 14'  $\times$  2, 14''), 1.61 (6H, m, H-3'  $\times$  2, 3''), 1.21 - 1.40 (42H, m, 3  $\times$  7  $\times$   $\text{CH}_2$ ), 0.85 - 0.92 (9H, m, H-18'  $\times$  2, 18'');  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 173.3, 173.2, 172.8 (C-1'  $\times$  2, 1''), 130.2  $\times$  3, 130.0  $\times$  2, 129.9 (C-9'  $\times$  2, 9'', 13'  $\times$  2, 13''), 128.0  $\times$  3, 127.9  $\times$  3 (C-10'  $\times$  2, 10'', 12'  $\times$  2, 12''), 68.8 (Glycerol C-2), 62.1 (Glycerol C-1,

3), 34.2, 34.0 × 2 (C-2'', 2' × 2), 31.9, 31.5 × 2 (C-16'', 16' × 2), 29.0 - 29.7 (3 × 6 × CH<sub>2</sub>), 27.2 × 3 (C-8' × 2, 8''), 25.6 × 3 (C-11' × 2, 11''), 24.8 × 3 (C-3' × 2, 3''), 22.7, 22.5 × 2 (C-17'', 17' × 2), 14.1, 14.0 × 2 (C-18'', 18' × 2)。以上数据与邹建华和戴均贵(2009)的报道一致, 故鉴定为三亚油酸甘油酯(glycerol trilinoleate)。

化合物 2, 橘黄色固体, C<sub>54</sub>H<sub>82</sub>O<sub>4</sub>, ESI-MS: 817.6105 *m/z* [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.15 - 5.02 (8H, m, H-6', 10', 14', 18', 22', 26', 30', 34'), 4.93 (1H, m, H-2'), 3.99 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>), 3.97 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.18 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1'), 2.11 - 2.02 (16H, m, H-5', 9', 13', 17', 21', 25', 29', 33'), 2.01 (3H, s, 5-CH<sub>3</sub>), 2.00 - 1.90 (16H, m, H-4', 8', 12', 16', 20', 24', 28', 32'), 1.73 (3H, s, 3'-CH<sub>3</sub>), 1.67 (3H, s, 35'-CH<sub>3</sub>), 1.59 × 7, 1.57 (24H, s, 8 × CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 184.7 (C-1), 183.9 (C-4), 144.3 (C-3), 144.2 (C-2), 141.7 (C-6), 138.8 (C-5), 137.6 (C-3'), 135.2, 135.0, 134.9 × 4, 134.8 (C-7', 11', 15', 19', 23', 27', 31'), 124.4, 124.2 × 5, 124.1, 123.8 (C-6', 10', 14', 18', 22', 26', 30', 34'), 118.8 (C-2'), 61.1 × 2 (2-OCH<sub>3</sub>, 3-OCH<sub>3</sub>), 39.7 × 8 (C-4', 8', 12', 16', 20', 24', 28', 32'), 26.7 × 6, 26.6, 26.5 (C-5', 9', 13', 17', 21', 25', 29', 33'), 25.7 (35'-CH<sub>3</sub>), 25.3 (C-1'), 17.6 (C-36'), 16.3 (3'-CH<sub>3</sub>), 16.0 × 7 (7 × CH<sub>3</sub>), 11.9 (5-CH<sub>3</sub>)。以上数据与 Kuznetsova *et al.* (2002)的报道一致, 故鉴定为辅酶 Q9 (ubiquinone Q9)。

化合物 3, 无色油状物, C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>, ESI-MS: 279.234 9 *m/z* [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.44 - 5.27 (4H, m, H-9, 10, 12, 13), 2.77 (2H, t, *J* = 6.4 Hz, H-11), 2.34 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, H-2), 2.1 - 1.94 (4H, m, H-8, 14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.20 - 1.40 (14H, m, H-4, 5, 6, 7, 15, 16, 17), 0.88 (3H, m, H-18); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 180.3 (C-1), 130.2, 130.0 (C-9, 13), 128.0, 127.9 (C-10, 12), 34.1 (C-2), 31.5 (C-3), 29.6, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0 (C-4, 5, 6, 7, 15), 27.2, 27.1 (C-8, 14), 25.6 (C-3), 24.6 (C-16), 22.5 (C-17), 14.0 (C-18)。以上数据与 Kim *et al.* (2016)的报

道一致, 故鉴定为亚油酸(linoleic acid)。

化合物 4, 无色针状晶体(乙酸乙酯), C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O, ESI-MS: 437.182 7 *m/z* [M+K]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.34 (1H, m, H-6), 5.25 - 5.10 (2H, m, H-22, 23), 3.52 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-21), 1.00 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28), 0.83 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-27), 0.81 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-26), 0.69 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 140.7 (C-5), 135.8 (C-22), 131.7 (C-23), 121.7 (C-6), 71.8 (C-3), 56.8 (C-14), 56.0 (C-17), 50.1 (C-9), 42.8 (C-24), 42.3 (C-13), 42.2 (C-4), 40.1 (C-20), 39.6 (C-12), 37.2 (C-1), 36.5 (C-10), 33.1 (C-25), 31.9 × 2 (C-2, 8), 31.6 (C-7), 28.5 (C-16), 24.2 (C-15), 21.0 (C-11), 20.9 (C-21), 19.9 (C-26), 19.6 (C-27), 19.4 (C-19), 17.6 (C-28), 12.0 (C-18)。以上数据与 Şavkinci *et al.* (2024)的报道一致, 故鉴定为麦角甾-5,22-二烯-3β-醇(ergosta-5,22-dien-3β-ol)。

化合物 5, 无色针状晶体(乙酸乙酯), C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O, ESI-MS: 397.346 5 *m/z* [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.57 (1H, dd, *J* = 5.5, 2.1 Hz, H-6), 5.38 (1H, m, H-7), 5.19 (2H, m, H-22, 23), 3.63 (1H, m, H-3), 1.03 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.94 (3H, s, H-19), 0.91 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28), 0.83 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-26), 0.82 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-27), 0.63 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 141.3 (C-8), 139.7 (C-5), 135.5 (C-22), 131.9 (C-23), 119.5 (C-6), 116.2 (C-7), 70.4 (C-3), 55.7 (C-17), 54.5 (C-14), 46.2 (C-9), 42.8 × 2 (C-13, 24), 40.7 (C-4), 40.4 (C-20), 39.0 (C-12), 38.3 (C-1), 37.0 (C-10), 33.0 (C-25), 31.9 (C-2), 28.3 (C-16), 23.0 (C-15), 21.1 × 2 (C-11, 21), 19.9, 19.6 (C-26, 27), 17.6 (C-28), 16.2 (C-19), 12.0 (C-18)。以上数据与 Shirane *et al.* (1996)的报道一致, 故鉴定为麦角甾醇(ergosterol)。

化合物 6, 白色固体, C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O, ESI-MS: 416.376 6 *m/z* [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 5.16 (1H, m, H-7), 4.71, 4.65 (each 1H, br s, H-28), 3.59 (1H, m, H-3), 2.23 (1H, m, H-25), 1.02 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-26), 1.02 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-27), 0.95 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-28),

0.79 (3H, s, H-19), 0.54 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 156.9 (C-24), 139.5 (C-8), 117.5 (C-7), 105.9 (C-28), 71.1 (C-3), 56.0 (C-17), 55.0 (C-14), 49.4 (C-9), 43.4 (C-13), 40.2 (C-5), 39.5 (C-12), 38.0 (C-4), 37.1 (C-1), 36.2 (C-20), 34.6 (C-22), 34.2 (C-10), 33.8 (C-25), 31.5 (C-2), 31.1 (C-23), 29.6 (C-6), 27.9 (C-16), 22.9 (C-15), 22.0 (C-26), 21.8 (C-27), 21.5 (C-11), 18.8 (C-21), 13.0 (C-19), 11.8 (C-18)。以上数据与 Shirane *et al.* (1996)的报道一致, 故鉴定为麦角甾-7,24(28)-二烯-3 $\beta$ -醇[ergosta-7,24(28)-dien-3 $\beta$ -ol]。

化合物 7, 白色固体,  $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$ , ESI-MS: 451.303 9  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.50 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-7), 6.24 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-6), 5.22 (1H, dd,  $J = 15.2, 7.4$  Hz, H-23), 5.14 (1H, dd,  $J = 15.3, 8.0$  Hz, H-22), 3.96 (1H, m, H-3), 0.99 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-21), 0.90 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-28), 0.88 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-27), 0.81 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-26), 0.81 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 135.4 (C-6), 135.2 (C-22), 132.3 (C-23), 130.7 (C-7), 82.1 (C-5), 79.4 (C-8), 66.4 (C-3), 56.2 (C-17), 51.7 (C-14), 51.1 (C-9), 44.5 (C-13), 42.7 (C-24), 39.7 (C-20), 39.3 (C-12), 36.9 (C-4), 36.9 (C-10), 34.7 (C-1), 33.0 (C-25), 30.1 (C-2), 28.6 (C-16), 23.4 (C-11), 20.9 (C-21), 20.6 (C-15), 19.9 (C-27), 19.6 (C-26), 18.2 (C-19), 17.5 (C-28), 12.8 (C-18)。以上数据与 Hybelbauerová *et al.* (2008)的报道一致, 故鉴定为过氧麦角甾醇(ergosterol peroxide)。

化合物 8, 无色油状物,  $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_4$ , ESI-MS: 372.308 7  $m/z$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5.41 - 5.28 (4H, m, H-9', 10', 12', 13'), 4.21 - 4.04 (5H, m, Glycerol H-1, 2, 3), 2.77 (2H, t,  $J = 6.2$  Hz, H-11'), 2.34 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz, H-2'), 2.04 (4H, m, H-8', 14'), 1.62 (2H, m, H-3'), 1.40 - 1.20 (14H, m,  $7 \times \text{CH}_2$ ), 0.89 (3H, t,  $J = 6.7$  Hz, H-18');  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 173.9 (C-1'), 130.2, 130.0 (C-9', 13'), 128.0, 127.9 (C-10', 12'), 68.4 (Glycerol C-2), 65.0  $\times$  2 (Glycerol C-1, 3), 34.1 (C-2'), 31.5 (C-16'), 29.7, 29.6, 29.3,

29.1, 29.1 (C-4', 5', 6', 7', 15'), 27.2 (C-8'), 27.2 (C-14'), 25.6 (C-11'), 24.9 (C-3'), 22.6 (C-17'), 14.1 (C-18')。以上数据与王玉莉等 (2007)的报道一致, 故鉴定为 2-亚油酸甘油酯(2-linoleoyl glycerol)。

化合物 9, 白色固体,  $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{O}_3$ , ESI-MS: 449.287 4  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.59 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-7), 6.28 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-6), 5.42 (1H, dd,  $J = 5.9, 1.8$  Hz, H-11), 5.27 - 5.10 (2H, m, H-22, 23), 4.00 (1H, m, H-3), 1.09 (3H, s, H-19), 1.00 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-21), , 0.91 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-28), 0.83 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz, H-26), 0.82 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz, H-27), 0.73 (3H, s, H-18);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 142.5 (C-9), 135.4 (C-6), 135.1 (C-22), 132.4 (C-23), 130.7 (C-7), 119.7 (C-11), 82.7 (C-5), 78.3 (C-8), 66.3 (C-3), 55.8 (C-17), 48.1 (C-14), 43.6 (C-13), 42.7 (C-24), 41.2 (C-12), 39.9 (C-20), 37.9 (C-10), 36.0 (C-4), 33.0 (C-25), 32.5 (C-1), 30.6 (C-2), 28.6 (C-16), 25.5 (C-19), 20.9 (C-15), 20.7 (C-21), 19.9 (C-26), 19.6 (C-27), 17.5 (C-28), 12.9 (C-18)。以上数据与 Hybelbauerová *et al.* (2008) 的报道一致, 故鉴定为 9,11-dehydroergosterol peroxide((22E,24R)-5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxyergosta-6,9(11),22-trien-3 $\beta$ -ol)。

化合物 10, 无色胶状物;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 9.70 (1H, s, 1-CHO), 6.90 (2H, s, H-2, 6), 3.88 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 192.0 (1-CHO), 151.1 (C-3, 5), 141.2 (C-4), 132.3 (C-1), 108.6 (C-2, 6), 59.3 (4-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与 Node *et al.* (2006)的报道一致, 故鉴定为 3,5-二羟基-4-甲氧基苯甲醛(3,5-dihydroxy-4-methoxybenzaldehyde)。

化合物 11, 白色固体,  $\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_4$ , ESI-MS: 376.340 0  $m/z$   $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 4.16 (1H, dd,  $J = 11.3, 4.4$  Hz, Glycerol H-1a), 4.07 (1H, dd,  $J = 11.3, 6.2$  Hz, Glycerol H-1b), 3.83 (1H, m, Glycerol H-2), 3.56 (2H, m, Glycerol H-3), 2.36 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-2'), 1.63 (2H, m, H-3'), 1.30 (28H, br s,  $14 \times \text{CH}_2$ ), 0.91 (3H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-18');  $^{13}\text{C}$  NMR

(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 174.1 (C-1'), 69.7 (Glycerol C-2), 65.0 (Glycerol C-1), 62.6 (Glycerol C-3), 33.5 (C-2'), 31.6 (C-16'), 29.4 - 28.8 (12  $\times$  CH<sub>2</sub>), 24.6 (C-3'), 22.3 (C-17'), 13.0 (C-18'). 以上数据与 Degenhardt & Hofmann (2010)的报道一致, 故鉴定为 1-硬脂酸甘油酯(1-*O*-stearoyl glycerol)。

化合物 12, 白色固体, C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>, ESI-MS: 189.008 9 *m/z* [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 6.41 (1H, br s, H-4), 6.30 (1H, br s, H-6), 5.19 (2H, s, H-3); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 171.8 (C-1), 166.0 (C-5), 158.7 (C-7), 151.7 (C-3a), 103.3 (C-7a), 102.3 (C-6), 100.5 (C-4), 69.5 (C-3)。以上数据与刘晓秋等(2003)的报道一致, 故鉴定为 5,7-二羟基-1(3*H*)-异苯并呋喃酮(5,7-dihydroxy-1(3*H*)-isobenzofuranone)。

化合物 13, 白色固体, C<sub>21</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>, ESI-MS: 372.307 9 *m/z* [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 5.35 (4H, m, H-9', 10', 12', 13'), 4.20 (1H, dd, *J* = 11.6, 4.6 Hz, Glycerol H-1a), 4.15 (1H, dd, *J* = 11.6, 6.1 Hz, Glycerol H-1b), 3.93 (1H, m, Glycerol H-2), 3.69 (1H, dd, *J* = 11.4, 3.9 Hz, Glycerol H-3a), 3.60 (1H, dd, *J* = 11.4, 5.7 Hz,

Glycerol H-3b), 2.77 (2H, t, *J* = 6.3 Hz, H-11'), 2.35 (2H, t, *J* = 7.5 Hz, H-2'), 2.04 (4H, q, *J* = 6.6 Hz, H-8', 14'), 1.63 (2H, m, H-3'), 1.40 - 1.22 (14H, m, 7  $\times$  CH<sub>2</sub>), 0.89 (3H, t, *J* = 6.4 Hz, H-18'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 174.1 (C-1'), 130.2, 130.0 (C-9', 13'), 128.1, 127.9 (C-10', 12'), 70.3 (Glycerol C-2), 65.2 (Glycerol C-1), 63.3 (Glycerol C-3), 34.1 (C-2'), 31.5 (C-16'), 29.7, 29.6, 29.3, 29.1, 29.1 (C-4', 5', 6', 7', 15'), 27.2 (C-8'), 27.2 (C-14'), 25.6 (C-11'), 24.9 (C-3'), 22.6 (C-17'), 14.1 (C-18')。以上数据与 Murata *et al.* (2011)的报道一致, 故鉴定为 1-亚油酸甘油酯(1-linoleoyl glycerol)。

化合物 1-13 的结构见图 1。

## 2.2 不同品种、不同生长期羊肚菌子实体

不同品种、不同生长阶段的羊肚菌子实体, 它们的外部形态特征存在着明显的差异(图 2)。(1)幼年期的羊肚菌菌盖长约 2 cm, 表面呈较浅的羊肚状凹陷, 菌柄长约 1.5 cm, 呈圆柱形, 白色或浅黄白色。3 个不同品种的羊肚菌菌盖外形及颜色有一定差异, 六妹羊肚菌菌盖呈淡黄褐色, 顶部呈尖状, 七妹羊肚菌菌盖呈浅灰褐色, 顶部较圆, 梯棱羊肚菌菌盖颜色和七妹羊肚菌相

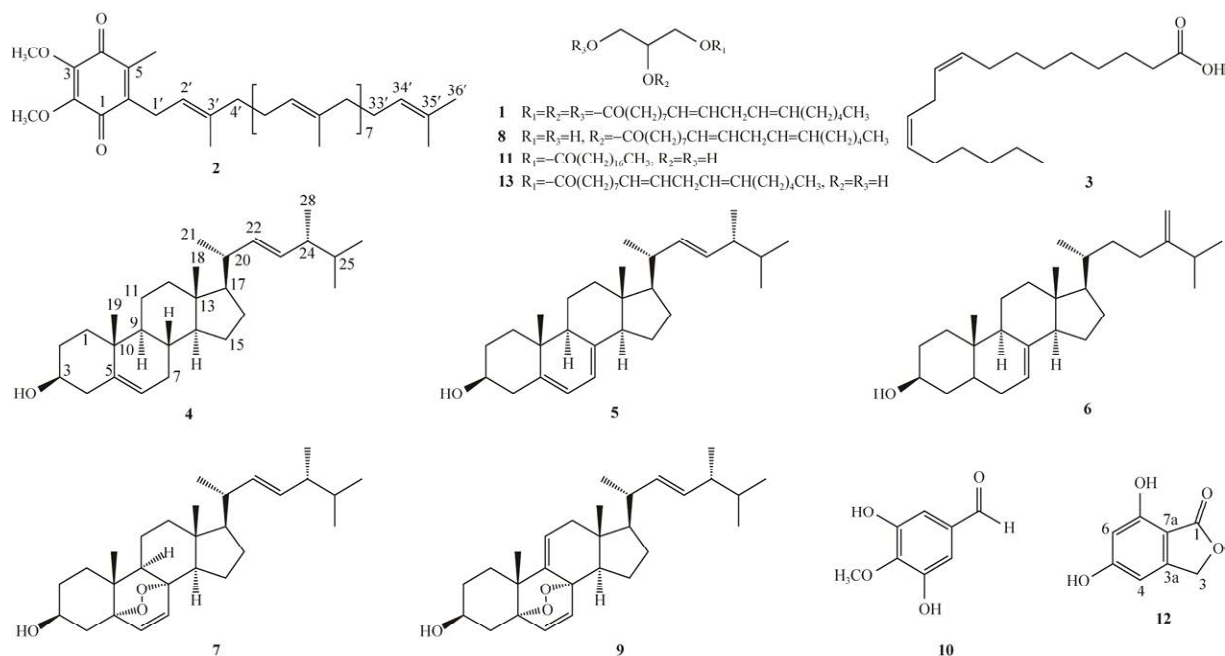


图 1 化合物 1-13 的结构

Fig. 1 The structures of compounds 1-13.

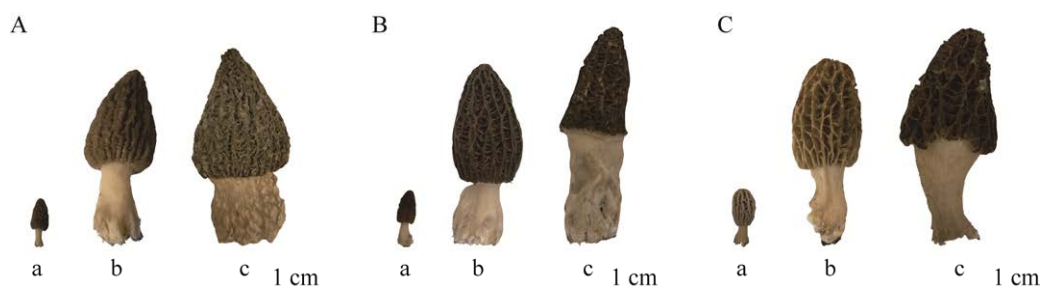


图 2 羊肚菌子实体 A: 梯棱羊肚菌; B: 六妹羊肚菌; C: 七妹羊肚菌; a: 幼年期; b: 成熟期; c: 老化期  
 Fig. 2 The fruiting bodies of morels. A: *Morchella importuna*; B: *M. sextelata*; C: *M. eximia*. a: Juvenile stage; b: Mature stage; c: Aging stage.

似, 但稍深, 菌盖顶部钝尖状。(2)成熟期的羊肚菌可上市销售, 菌盖长 6–7 cm, 外观呈明显的羊肚状, 凹陷明显, 菌柄长约 5–6 cm, 呈圆柱状, 光滑, 白色或淡黄白色, 下部稍膨大, 有褶皱。3 个不同品种的羊肚菌菌盖外形及颜色有一定差异, 六妹羊肚菌和梯棱羊肚菌菌盖灰褐色, 呈锥形, 顶部钝尖状, 而七妹羊肚菌菌盖整体呈椭圆形, 浅灰褐色。(3)老化期的羊肚菌开始产生孢子, 菌盖和菌柄均有所膨大, 特别是菌柄部分膨大明显, 呈不规则圆柱形, 菌盖和菌柄的颜色也较成熟期更深。不同品种的羊肚菌幼年期子实体分别采集 15 朵, 而成熟期及老化期子实体则分别采集 5 朵, 冷冻干燥后粉碎, 充分混

匀, 过 50 目筛备用。

### 2.3 系统适用性及方法学考察

#### 2.3.1 系统适应性考察

##### (1) 理论塔板数、分离度和拖尾因子

在 1.3.1 的色谱条件下, 供试品溶液中麦角甾醇分析的理论塔板数大于 5 000, 分离度大于 2, 拖尾因子小于 2, 说明麦角甾醇的色谱峰与其他杂质的色谱峰分离程度良好, 且色谱峰的对称性良好, 均满足 2020 版中国药典规定的标准(表 1, 图 3)。

##### (2) 灵敏度

灵敏度是用于评价高效液相色谱检测微量物质的能力, 通常以信噪比(S/N)来表示。对一

表 1 理论塔板数、分离度和拖尾因子  
 Table 1 Theoretical plate number, resolution, and tailoring factor

编号 Number	保留时间 Retention time/min	峰面积 Peak area	理论塔板数 Theoretical plate number	分离度 Resolution	拖尾因子 Tailoring factor
1	7.416	477 454	6 680	2.719	1.082
2	7.395	476 741	6 701	2.665	1.082
3	7.443	476 236	6 676	2.686	1.082

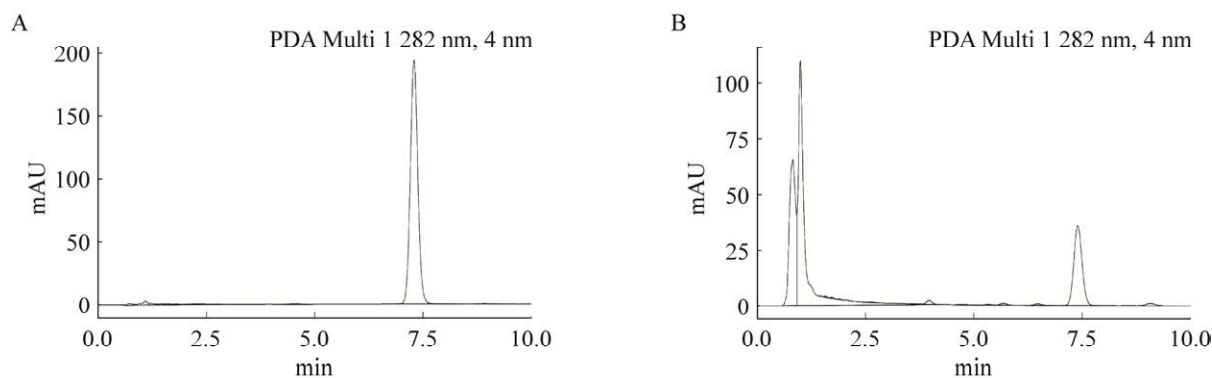


图 3 高效液相色谱图 A: 麦角甾醇; B: 供试品  
 Fig. 3 HPLC chromatography. A: Ergosterol; B: Test sample.

系列低浓度麦角甾醇对照品溶液的分析结果显示,在浓度为 15.625 ng/mL 时,  $S/N > 3$ , 在浓度为 62.5 ng/mL 时,  $S/N > 10$ , 即麦角甾醇的检测限为 15.625 ng/mL, 定量限为 62.5 ng/mL。

### (3) 重复性

重复性是用于评价色谱系统连续进样时响应值的重复性能,针对同一浓度的麦角甾醇对照品溶液,在 1.3.1 的色谱条件下重复进样 6 次,分析结果显示 6 个峰面积数值的 RSD 为 0.076%,远小于 2%,说明重复性较好。

### 2.3.2 方法学考察

#### (1) 线性关系

以麦角甾醇浓度( $x$ ,  $\mu\text{g/mL}$ )对色谱峰面积( $y$ )绘制标准曲线,其线性回归方程为  $y=11\ 630x-4\ 665.4$ ,  $R^2=1$ ,表明麦角甾醇在 5–200  $\mu\text{g/mL}$  的浓度范围内,其浓度和峰面积具有良好的线性关系。

#### (2) 精密度、稳定性和准确度

平行制备的 6 份供试品溶液在 1.3.1 的色谱条件下分析,其峰面积 RSD 为 0.367%,小于 1%,说明该方法的精密度良好。供试品溶液在 24 h 内的 7 次进样分析中,麦角甾醇峰面积 RSD 为 0.086%,远小于 2%,说明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。在加样回收率试验中,回收率在 98.93%–100.80%,平均回收率为 99.93%,RSD 为 0.91%,小于 2% (表 2),说明该方法的准确度良好。

#### (3) 耐用性

耐用性是指分析方法在参数微小变动时保持结果稳定的能力,本试验对柱温和流速 2 个参数微小变动所带来的影响进行了考察。柱温设置为 25、30 和 35  $^{\circ}\text{C}$ ,流速设置为 0.5、0.6 和

0.7 mL/min。分析结果显示各次分离的理论塔板数均大于 5 000,分离度均大于 2,拖尾因子均小于 2,表明色谱条件在参数的微小变动下仍然展示了良好的分离效果,系统适应性良好。供试品溶液在不同的流速,不同的柱温下分别测得的麦角甾醇含量值的 RSD 为 0.721%和 0.875%,均小于 2%,说明该方法在色谱条件出现小的变动时,含量测定结果基本不受影响,显示出较好的耐用性。

### 2.4 样品测定

采用新建立的分析方法对 3 个不同品种及其不同生长阶段的羊肚菌子实体中的麦角甾醇进行定量分析,每个样品平行 3 份,测定结果见图 4。

## 3 讨论

### 3.1 七妹羊肚菌化学成分

七妹羊肚菌是羊肚菌主要栽培品种之一。在对七妹羊肚菌子实体的化学成分研究中,从其乙醇浸膏的乙酸乙酯萃取部位共分离得到 13 个化合物,包括 5 个甾醇类化合物,5 个长链脂肪酸及其甘油酯类化合物,3 个其他类化合物,其中化合物 2、9、10 和 12 为首次从羊肚菌属中分离得到。5 个甾醇类化合物均为麦角甾类,此类化合物多具有生物活性。麦角甾醇(ergosterol)是一种广泛存在于真菌细胞膜中的重要甾醇类化合物,其独特的化学结构赋予了细胞膜特定的物理性质,如流动性和通透性,同时还参与调解真菌细胞的信号转导途径,影响细胞的生长、形态和应激反应(Rodríguez 2018)。此外,麦角甾醇还显示出抗炎、降血脂、免疫调

表 2 准确度(加样回收率)试验结果

Table 2 Accuracy (spiked recovery) test results

编号 Number	样品称取量 Sample weight/g	理论含量 Theoretical content/mg	对照品加入量 Reference standard weight/mg	实测值 Measured value/mg	回收率 Recovery /%	平均回收率 Mean recovery/%	相对标准偏差 RSD/%
1	0.201	0.332 2	0.43	0.759 6	99.39	99.93	0.91
2	0.202	0.333 9	0.43	0.767 3	100.80		
3	0.206	0.340 5	0.43	0.773 7	100.74		
4	0.205	0.338 9	0.43	0.764 2	98.93		
5	0.207	0.342 2	0.43	0.768 0	99.04		
6	0.208	0.343 8	0.43	0.776 9	100.71		

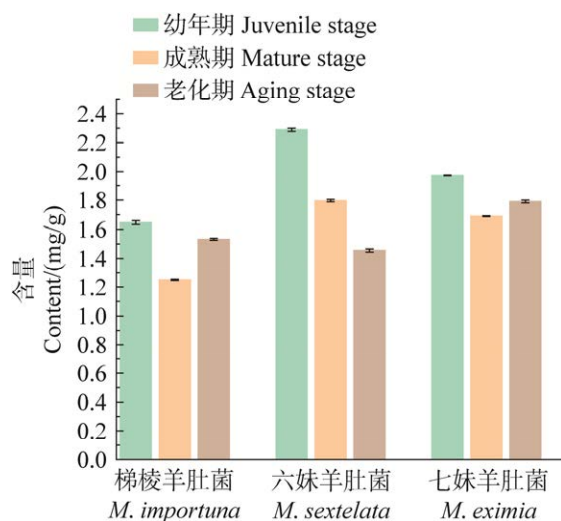


图4 不同品种、不同生长期的羊肚菌子实体麦角甾醇含量  
Fig. 4 Ergosterol content in fruiting bodies of morels of different species and growth stages.

节、抑菌和抗肿瘤等多种生物活性(程洋洋等 2021; Rangsinth *et al.* 2023)。过氧麦角甾醇(ergosterol peroxide)具有独特的 $5\alpha,8\alpha$ -过氧桥结构,该结构赋予了它显著的生物活性,特别是广谱的抗肿瘤活性(Merdivan & Lindequist 2017; 王璐等 2024)。

### 3.2 羊肚菌子实体中麦角甾醇含量测定

#### 3.2.1 羊肚菌样品

梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌均为目前的大田产业化栽培品种。在大田栽培条件下,羊肚菌从子实体的菌盖肉眼可见算起,经过大约 25 d 的生长周期后,其子实体逐渐进入老化阶段。在这个生长周期中,我们将其分为幼年期、成熟期和老化期 3 个不同的生长阶段,以便考察羊肚菌子实体在不同生长阶段次生代谢产物的差异。

#### 3.2.2 样品制备

为了保证羊肚菌子实体内代谢物的稳定,我们采用冷冻干燥的方法对羊肚菌子实体进行干燥,然后粉碎,过 50 目筛备用。在供试品溶液的制备过程中,我们对提取条件进行了考察,涉及提取方法(超声提取、回流提取、冷浸),提取溶剂(丙酮、甲醇、石油醚、乙醇),提取时间(15、30、45 和 60 min)和料液比(1:15、1:25、1:40、1:50),最终确定羊肚菌供试品溶液制备的最佳

提取条件:以甲醇为提取溶剂,在料液比 1:40 (g/mL)下,超声波辅助提取 45 min。目前,已有文献报道了不同食用菌中麦角甾醇含量的测定,涵盖了包括段木灵芝、猴头菌、金针菇、暗褐网柄牛肝菌在内的多种食药菌(戴肖东等 2014; 胡代花等 2017; 钱正明等 2019; 李赛飞等 2024)。在上述供试品溶液制备过程中,尽管提取溶剂、提取时间等参数存在差异,但提取方法无一例外地均采用超声辅助提取法。这表明,该提取方法在麦角甾醇的有效提取方面具有显著优势。

#### 3.2.3 样品分析

甾醇类化合物,特别是麦角甾醇是食用菌中的主要次生代谢产物,我们对六妹羊肚菌和七妹羊肚菌子实体化学成分的研究也证实了这一点(涂小曼等 2021)。在对羊肚菌不同品种、不同生长期子实体中麦角甾醇含量分析的结果中我们发现,梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌 3 个品种的幼年期子实体中的麦角甾醇含量最高,分别为(1.647±0.013)、(2.289±0.011)和(1.974±0.002) mg/g。随着子实体的生长,麦角甾醇的含量都呈下降趋势,但品种间麦角甾醇含量的变化规律却不相同。六妹羊肚菌中的麦角甾醇含量呈一直下降的趋势,从幼年期的(2.289±0.011) mg/g 降到成熟期的(1.796±0.008) mg/g,进而到老化期的(1.456±0.011) mg/g。相应地,梯棱羊肚菌和七妹羊肚菌中麦角甾醇含量则是先降低然后再小幅增加,梯棱羊肚菌从幼年期的(1.647±0.013) mg/g 下降到成熟期的(1.250±0.004) mg/g,然后小幅增加到老化期的(1.533±0.007) mg/g,而七妹羊肚菌则从幼年期的(1.974±0.002) mg/g 降到成熟期的(1.690±0.003) mg/g,然后小幅增加到老化期的(1.791±0.009) mg/g。羊肚菌幼年期子实体中的麦角甾醇含量最高,可能与其处于快速生长和细胞膜合成的活跃阶段有关。不过不同食用菌,其子实体中的麦角甾醇含量在不同生长阶段间的变化趋势不尽相同。李赛飞等(2024)对段木灵芝子实体不同生长阶段的麦角甾醇含量进行了分析,结果显示其子实体中麦角甾醇含量呈现连续降低-趋于平稳-小幅上升的动态变化过程,这一变

化趋势与梯棱羊肚菌和七妹羊肚菌相似。然而戴肖东等(2014)对猴头菌的研究发现,在其子实体分化至成熟阶段,麦角甾醇含量呈上升趋势,当子实体成熟时含量达到最大值,子实体成熟后麦角甾醇合成降低。猴头菌子实体不同生长阶段麦角甾醇含量的变化趋势和羊肚菌明显不同。成熟期的羊肚菌适于上市销售,对此阶段的3个品种羊肚菌子实体中的麦角甾醇含量比较发现,六妹羊肚菌中的含量最高,为(1.796±0.008) mg/g,然后是七妹羊肚菌的(1.690±0.003) mg/g,梯棱羊肚菌最低,仅为(1.250±0.004) mg/g。以上结果说明,同一食用菌的不同品种间麦角甾醇含量存在差异,这一现象在其他研究中也得到证实。相聪坤等(2016)在对真菌类药材马勃进行麦角甾醇含量测定时发现,其含量在不同品种间存在显著差异,表明麦角甾醇含量受品种影响较大。此外,刘京晶等(2011)在分析不同灵芝品种中麦角甾醇含量时发现,灵芝品种间麦角甾醇含量差异也很明显。在相同段木树种栽培的灵芝品种中,麦角甾醇含量从最高的0.243%到最低的0.093%不等。

## 4 结论

本文首先对七妹羊肚菌的化学成分进行了研究,从其成熟子实体中分离得到13个化合物,包括5个甾醇类化合物,5个长链脂肪酸及其甘油酯类化合物,3个其他类化合物,其中化合物**2**、**9**、**10**和**12**为首次从羊肚菌属中分离得到。随后,本文采用高效液相色谱法对羊肚菌子实体中麦角甾醇的含量进行了测定,并从品种和生长期2个维度展开了比较分析。测定结果显示,梯棱羊肚菌、六妹羊肚菌和七妹羊肚菌这3个羊肚菌品种,在幼年期子实体中的麦角甾醇含量均处于最高水平,含量范围在(1.647±0.013) mg/g到(2.289±0.011) mg/g之间。随着羊肚菌子实体生长进程的持续推进,麦角甾醇含量呈现出逐渐降低的趋势。其中六妹羊肚菌子实体中麦角甾醇含量下降过程较为平稳,直至老化期;而梯棱羊肚菌和七妹羊肚菌子实体在从成熟期到老化期的过程中,麦角甾醇含量出现了小幅回升的现象。

此外,对于作为商品销售的成熟期子实体而言,3个羊肚菌品种间麦角甾醇含量的差异同样明显。本文首次对七妹羊肚菌的化学成分和羊肚菌麦角甾醇的含量测定进行了研究,将为羊肚菌的开发利用及质量评价提供科学依据。

## 作者贡献

杨馥然:实验、数据收集及分析、论文撰写;刘顶慧:数据收集及分析;谢光波:实验设计、实验监管及指导、数据分析、论文审阅修订;谢丽源:提供实验材料、实验指导。

## 利益冲突声明

该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

## [REFERENCES]

- Barajas-Aceves M, Hassan M, Tinoco R, Vazquez-Duhalt R, 2002. Effect of pollutants on the ergosterol content as indicator of fungal biomass. *Journal of Microbiological Methods*, 50: 227-236
- Cheng YY, Hui JR, Hao JX, Huang ZW, 2021. Research progress of ergosterol in edible fungi. *Science and Technology of Food Industry*, 42(10): 349-354 (in Chinese)
- Dai XD, Zhang JC, Han ZH, Zhan YG, Wang YJ, 2014. Growth parameters and ergosterol content of mycelia and fruit bodies of ten *Hericium erinaceus* strains collected from the wild in Heilongjiang Province, China. *Acta Edulis Fungi*, 21(3): 45-49 (in Chinese)
- Degenhardt AG, Hofmann T, 2010. Bitter-tasting and kokumi-enhancing molecules in thermally processed avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24): 12906-12915
- Du XH, Zhao Q, Yang ZL, 2014. Diversity, evolutionary history and cultivation of morels: a review. *Mycosystema*, 33(2): 183-197 (in Chinese)
- Gursoy N, Sarikurkcü C, Cengiz M, Solak MH, 2009. Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2381-2388
- Hu DH, Zhang JX, Li CL, Chen W, Zhao HM, Wang WB, 2017. Optimization of ultrasonic - assisted extraction process of ergosterol from *Flammulina velutipes* and its determination by HPLC. *Science and Technology of Food Industry*, 28(23): 192-197 (in Chinese)
- Hybelbauerová S, Sejbál J, Dračinský M, Hahnová A, Koutek

- B, 2008. Chemical constituents of *Stereum subtomentosum* and two other birch-associated basidiomycetes: an interspecies comparative study. *Chemistry & Biodiversity*, 5: 743-750
- Kim HJ, Kim HM, Ryu B, Lee WS, Shin JS, Lee KT, Jang DS, 2016. Constituents of PG201 (Layla®), a multi-component phytopharmaceutical, with inhibitory activity on LPS-induced nitric oxide and prostaglandin E<sub>2</sub> productions in macrophages. *Archives of Pharmacal Research*, 39: 231-239
- Kuznetsova TA, Dmitrenok AS, Sobolevskaya MP, Shevchenko LS, Mikhailov VV, 2002. Ubiquinone Q9 from a marine isolate of an actinobacterium *Nocardia* sp. *Russian Chemical Bulletin*, 51(10): 1951-1953
- Li SF, Zhou J, Tong Y, Gao QH, Sun FD, Wang ZC, Xi Y, Wen Y, Zhang ZG, 2024. Dynamic changes of bioactive substances at the whole basidioma growth stage of *Ganoderma lingzhi* cultivated on wood log. *Mycosystema*, 43(2): 230186 (in Chinese)
- Li Y, Chen H, Zhang X, 2023. Cultivation, nutritional value, bioactive compounds of morels, and their health benefits: a systematic review. *Frontiers in Nutrition*, 10: 1159029
- Liu JJ, Huang WH, Lü ML, Si JP, Guo BL, Li SJ, 2011. Determination of ergosterol in *Ganoderma lucidum* from different varieties and cultured tree species by HPLC. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 34(2): 187-190 (in Chinese)
- Liu Q, Ma H, Zhang Y, Dong C, 2018. Artificial cultivation of true morels: current state, issues and perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(2): 259-271
- Liu XQ, Yu LM, Wu LJ, 2003. Study of the chemical constituents in the roots of *Polygonum cuspidatum* (I). *China Journal of Chinese Materia Medica*, 28(1): 47-49 (in Chinese)
- Ma Z, Qian XH, Yang Y, 2024. Introduction trial of different series of morel mushroom strains. *Edible Fungi*, 46(5): 28-30 (in Chinese)
- Mattila P, Lampi AM, Ronkainen R, Toivo J, Piironen V, 2002. Sterol and vitamin D<sub>2</sub> contents in some wild and cultivated mushrooms. *Food Chemistry*, 76: 293-298
- Merdivan S, Lindequist U, 2017. Ergosterol peroxide: a mushroom-derived compound with promising biological activities - a review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 19(2): 93-105
- Murata T, Mori N, Nishida R, 2011. Larval feeding stimulants for a Rutaceae-feeding swallowtail butterfly, *Papilio xuthus* L. in *Citrus unshiu* leaves. *Journal of Chemical Ecology*, 37: 1099-1109
- Node M, Kodama S, Hamashima Y, Katoh T, Nishide K, Kajimoto T, 2006. Biomimetic synthesis of (±)-galanthamine and asymmetric synthesis of (-)-galanthamine using remote asymmetric induction. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54(12): 1662-1679
- Qian ZM, Huang Q, Shen QH, Xie MX, Li WJ, Dong CH, 2019. Content determination and HPLC fingerprint analysis of uridine and ergosterol in *Phlebopus portentosus*. *Journal of Fungal Research*, 17(2): 103-109 (in Chinese)
- Rangsinth P, Sharika R, Pattarachotanant N, Duangjan C, Wongwan C, Sillapachaiyaporn C, Nilkhet S, Wongsirojkul N, Prasansuklab A, Tencomnao T, Leung GPH, Chuchawankul S, 2023. Potential beneficial effects and pharmacological properties of ergosterol, a common bioactive compound in edible mushrooms. *Foods*, 12: 2529
- Reeslev M, Miller M, Nielsen KF, 2003. Quantifying mold biomass on gypsum board: comparison of ergosterol and beta-N-acetylhexosaminidase as mold biomass parameters. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7): 3996-3998
- Rodrigues ML, 2018. The multifunctional fungal ergosterol. *mBio*, 9(5): e01755-18
- Şavkınıcı G, Küçükaydın MT, Kuş Ç, Küçükaydın S, Duru ME, Öztürk M, 2024. Isolation and characterization of compounds from truffle *Melanogaster broomenaus* and their bioactivities. *Chemistry & Biodiversity*, 21: e202400890
- Shang QH, Yang T, Gao QY, Wang ML, Liang J, Wang L, Sa W, Shen ZQ, Li ZH, 2021. Research progress on classification, phylogeny and medicinal value of *Morchella* species. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 52(7): 2154-2162 (in Chinese)
- Shirane N, Takenaka H, Ueda K, Hashimoto Y, Katoh K, Ishii H, 1996. Sterol analysis of DMI-resistant and -sensitive strains of *Venturia inaequalis*. *Phytochemistry*, 41(5): 1301-1308
- Tang YT, Ma H, Lu MY, Zhang SM, Zhang GW, Liu ZG, Liu KA, 2024. Preliminary study on hybridization conditions of *Morchella*. *Edible Fungi of China*, 43(1): 14-18 (in Chinese)
- Tietel Z, Masaphy S, 2018. True morels (*Morchella*) – nutritional and phytochemical composition, health benefits and flavor: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(11): 1888-1901
- Tu X, Tang L, Xie G, Deng K, Xie L, 2021. Chemical composition of aromas and lipophilic extracts from black morel (*Morchella importuna*) grown in China. *Mycobiology*, 49(1): 78-85
- Tu XM, Xie GB, Tang L, Deng KJ, Xie LY, 2021. Chemical composition of *Morchella sextelata* (Pezizales, Ascomycota). *Mycosystema*, 40(8): 2134-2147 (in Chinese)
- Wang L, Luo R, Zhao YX, Zou Y, Bu M, Lin Y, 2024.

- Ergosterol peroxide inducing apoptosis of human hepatocellular carcinoma by regulating mitochondrial apoptosis pathway. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 49(12): 3365-3372 (in Chinese)
- Wang YL, Yang L, Luo GA, Wang YM, 2007. Study on nonirodoids from fruits of *Lonicera maackii*. *Natural Product Research and Development*, 19: 51-54 (in Chinese)
- Wei CM, Mo ZM, He RJ, Zhang ZC, Feng LJ, Wang T, Gu J, Yang TT, Gu CH, 2025. Comparative cultivation of *Morchella eximia* strains derived from poly-spore and organism separation. *Edible Fungi*, 47(2): 10-14 (in Chinese)
- Wei ZH, Wei J, Kong FJ, Chen QJ, Cao BS, Zhang GQ, 2024. Effects of different formulation and consumption of bagged exogenous nutrient on the nutritional properties of *Morchella sextelata*. *Mycosystema*, 43(11): 240161 (in Chinese)
- Xiang CK, Su SL, Guan SJ, Huang HP, Wang Q, An FL, Chen YC, Wu HY, Zhu S, 2016. Determination of ergosterol in *Lasiosphaera* seu *Calvatia* in various species from different habitats by HPLC. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 47(8): 1397-1400 (in Chinese)
- Xie G, Chen M, Yang Y, Xie Y, Deng K, Xie L, 2024. Comprehensive untargeted lipidomics study of black morel (*Morchella sextelata*) at different growth stages. *Food Chemistry*, 451: 139431
- Xie L, Zhu Y, Gao M, Chen S, Li L, Liu Y, Gu T, Zhang J, 2024. Mechanisms of the increase triterpenoids content of *Morchella eximia* induced by salicylic acid and magnetic field. *Food and Bioproducts Processing*, 145: 12-31
- Xu C, Qian L, Meng Q, Sun Y, 2025. State-of-the-art review of morel: from chemistry to nutrition and health benefits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 141: 107351
- Zhang Q, Lin J, Yan J, Miao R, Feng R, Gan Y, Gan B, 2024. Enhanced heat resistance in *Morchella eximia* by atmospheric and room temperature plasma. *Microorganisms*, 12: 518
- Zhong QX, Li SL, Zhang GW, Wang J, Zhao ZM, Song DG, 2024. Cultivation status of morel mushroom. *Qinghai Prataculture*, 33(2): 27-31 (in Chinese)
- Zou JH, Dai JG, 2009. Study on chemical constituents in marine fungus of *Cladosporium cladosporioides*. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 44(6): 418-421 (in Chinese)
- [附中文参考文献]**
- 程洋洋, 惠靖茹, 郝竞霄, 黄占旺, 2021. 食用菌中麦角甾醇的研究进展. *食品工业科技*, 42(10): 349-354
- 戴肖东, 张介驰, 韩增华, 詹亚光, 王玉江, 2014. 十株野生猴头菌菌株的栽培性状及麦角甾醇含量. *食用菌学报*, 21(3): 45-49
- 杜习慧, 赵琪, 杨祝良, 2014. 羊肚菌的多样性、演化历史及栽培研究进展. *菌物学报*, 33(2): 183-197
- 胡代花, 张嘉昕, 李翠丽, 陈旺, 赵浩名, 王文博, 2017. 超声辅助提取金针菇中麦角甾醇及其 HPLC 测定方法. *食品工业科技*, 28(23): 192-197
- 李赛飞, 周俊, 佟瑶, 高启合, 孙凤丹, 王志春, 席悦, 温雅, 张正高, 2024. 段木灵芝子实体全生长阶段生物活性物质的动态变化. *菌物学报*, 43(2): 230186
- 刘京晶, 黄文华, 吕明亮, 斯金平, 郭宝林, 李世洁, 2011. HPLC 法测定不同品种及段木栽培灵芝子实体中麦角甾醇含量. *中药材*, 34(2): 187-190
- 刘晓秋, 于黎明, 吴立军, 2003. 虎杖化学成分研究(I). *中国中药杂志*, 28(1): 47-49
- 马政, 钱小华, 杨扬, 2024. 羊肚菌不同系列菌株引种试验. *食用菌*, 46(5): 28-30
- 钱正明, 黄琦, 沈千汇, 谢美霞, 李文佳, 董彩虹, 2019. 暗褐网柄牛肝菌尿苷和麦角甾醇含量测定及指纹图谱分析. *菌物研究*, 17(2): 103-109
- 尚千涵, 杨婷, 高其媛, 王玛丽, 梁健, 王乐, 洒威, 申智清, 李忠虎, 2021. 羊肚菌属物种分类、系统进化和药用价值研究进展. *中草药*, 52(7): 2154-2162
- 唐禹婷, 马宏, 鲁铭颖, 张淑曼, 张根伟, 刘振国, 刘昆昂, 2024. 羊肚菌菌株杂交条件初探. *中国食用菌*, 43(1): 14-18
- 涂小曼, 谢光波, 唐岚, 邓科君, 谢丽源, 2021. 六妹羊肚菌的化学成分. *菌物学报*, 40(8): 2134-2147
- 王璐, 罗然, 赵音旭, 邹宇, 卜明, 林宇, 2024. 过氧麦角甾醇通过调控线粒体凋亡途径诱导人肝癌细胞凋亡. *中国中药杂志*, 49(12): 3365-3372
- 王玉莉, 杨立, 罗国安, 王义明, 2007. 金银忍冬果实非环烯醚萜苷类化学成分研究. *天然产物研究与开发*, 19: 51-54
- 韦春某, 莫忠妹, 何荣健, 张志昌, 冯立健, 王涛, 顾娇, 杨田婷, 顾昌华, 2025. 七妹羊肚菌多孢分离和组织分离菌株的栽培比较. *食用菌*, 47(2): 10-14
- 魏子涵, 魏军, 孔繁建, 陈青君, 曹博硕, 张国庆, 2024. 不同外源营养袋配方和放置数量对六妹羊肚菌营养品质的影响. *菌物学报*, 43(11): 240161
- 相聪坤, 宿树兰, 关胜江, 黄怀鹏, 王巧, 安福丽, 陈迎春, 吴海燕, 朱珊, 2016. HPLC 法测定不同产地不同品种马勃药材中麦角甾醇. *中草药*, 47(8): 1397-1400
- 仲启祥, 李生莲, 张广维, 王静, 赵竹梅, 宋道光, 2024. 羊肚菌人工栽培研究. *青海草业*, 33(2): 27-31
- 邹建华, 戴均贵, 2009. 海洋真菌 *Cladosporium cladosporioides* 化学成分研究. *中国药理学杂志*, 44(6): 418-421