

金针菇提取液中麦角硫因氨基酸的功能及其在食品工业中的应用前景

张萌萌, 张倩, 张国琛* (大连海洋大学机械与动力工程学院, 辽宁大连 116023)

摘要 麦角硫因氨基酸是金针菇提取液中富含的一种天然抗氧化物质, 可作为食品抗氧化剂使用。然而, 国内对麦角硫因氨基酸研究甚少。介绍了金针菇提取液中麦角硫因氨基酸的特性、检测方法及其在食品工业中的应用前景, 并提出其对生鲜肉类货架期的延长以及肉质的提高具有重要的意义。

关键词 金针菇提取液; 麦角硫因氨基酸; 抗氧化性; 功能; 食品工业

中图分类号 S646.1+5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)11-03385-03

The Function of Ergothioneine in the Extracts from *Flammulina velutipes* and Its Application Prospects on Food Industry

ZHANG Meng-meng, ZHANG Guo-chen et al (College of Mechanical and Power Engineering, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023)

Abstract *Flammulina velutipes* is a kind of edible mushroom widely cultivated in China, with high value of medicinal and food therapy. Ergothioneine, which can be used as food antioxidant, is a natural antioxidant substance rich in *Flammulina velutipes* extracts. However, ergothioneine has been hardly investigated in China. In this article, the characteristics, determination methods and application prospects in food industry of ergothioneine in the extracts from *Flammulina velutipes* were introduced, and its significance for lengthening the shelf life of fresh meat and improvement of meat quality was proposed.

Key words *Flammulina velutipes* extracts; Ergothioneine; Antioxidant activity; Function; Food industry

人们日常食用的蘑菇品种中, 金针菇以其健康美味、药食两用的特点受到广泛欢迎, 养殖规模逐年扩大。金针菇提取液具有抗氧化活性, 活性成分包括酚类、麦角硫因氨基酸和多糖^[1-3]。麦角硫因氨基酸以其有效的抗氧化、清除自由基、螯合金属离子和抵抗紫外线辐射等功能而受到越来越多的关注, 逐渐成为研究热点。有研究发现, 金针菇废弃培养基的提取液也能有效防止脂肪氧化, 同时保持低温储藏的牛肉和鱼肉的色泽^[4-5]。收获金针菇的可食部分实体之后, 其固体培养基通常当做工业废料来处理, 只有极少数用来堆肥和可溶性糖的重提取^[6]。因此, 回收利用废弃培养基从而获得富含麦角硫因氨基酸的提取液, 将在食品工业有一定的应用前景。然而, 国内对麦角硫因氨基酸的研究甚少, 在其应用方面更是未见报道。笔者在阐述这种天然抗氧化剂麦角硫因氨基酸特性和检测方法的基础上, 探讨具有一定麦角硫因氨基酸含量的金针菇提取液在食品工业中的应用前景。

1 麦角硫因氨基酸的特性

1.1 麦角硫因氨基酸的发现和分布 1909年, Charles和Tanret同时研究了侵蚀黑麦的麦角真菌, 从中分离出一种晶态的含硫化合物, 这种特殊的化合物便是麦角硫因氨基酸^[7]。麦角硫因氨基酸以硫醇-硫酮互变异构体的形式存在, 在水溶液中硫酮的形式占优势。尽管麦角硫因氨基酸只能在真菌、蓝藻细菌和分支杆菌里合成, 但它却存在于大多数植物和哺乳动物的细胞和组织里^[8]。麦角硫因氨基酸在绝大多数生物体中的含量均极少, 而在某些蘑菇品种、黑豆、红豆、红肉、肝、肾和谷物中却含量丰富^[9]。人体内的麦角硫因氨基酸大部分存在于红细胞、骨髓、肝、肾、精液以及眼睛

的晶状体和角膜中, 含量从100 μmol/L到2 mmol/L不等^[10]。在早期的研究中科学家们意识到麦角硫因氨基酸可通过饮食而获得。如谷物饲养的猪血中能够检测出麦角硫因氨基酸, 而纯化酪蛋白饲养的猪却没有检测出^[11]。给小鼠喂食人工合成的麦角硫因氨基酸后, 能够在其血液和组织中检测出麦角硫因氨基酸^[12]。尽管麦角硫因氨基酸在组织中的分布较为广泛, 但缺乏麦角硫因氨基酸并不会造成任何病症, 因此现在仍不能将它视为必需的饮食营养成分。

1.2 麦角硫因氨基酸的功能特性

1.2.1 抗氧化特性。麦角硫因氨基酸已被证实是一种有效的天然抗氧化剂, 其抗氧化能力可与常规抗氧化剂谷胱甘肽、维生素C等相媲美, 国外进行过麦角硫因氨基酸抗氧化性研究的学者较多, 由于这一特性较早已被定论, 更多学者转而研究麦角硫因氨基酸其他生物特性和在体内存在的状态, 然而将其抗氧化性利用到实际生产中的案例还未见报道。麦角硫因氨基酸在体外的抗氧化性主要体现在可以结合组织中羟自由基、次氯酸、单线态氧以及过氧亚硝酸盐等的自由电子。与谷胱甘肽、维生素C等抗氧化剂相比, 麦角硫因氨基酸能更有效预防酪氨酸的硝化和α1-抗蛋白酶的钝化^[13]。麦角硫因氨基酸还能保护DNA免受损伤以及防止由过氧化氢和过氧化氢亚铁血红素蛋白质混合物导致的花生四烯酸过氧化^[14]。Arduini等还发现麦角硫因氨基酸能够阻止血红蛋白与过氧化氢的反应^[15]。

1.2.2 与金属离子螯合的作用。麦角硫因氨基酸可以与二价的金属离子发生螯合反应。现已发现的此类金属离子有Cu²⁺、Hg²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺、Co²⁺、Fe²⁺和Ni²⁺^[16-18]。麦角硫因氨基酸可在体内螯合这些金属离子, 从而能够有效阻止活性氧的合成。与谷胱甘肽等在体内的作用相比, 麦角硫因氨基酸的优势在于当二价铜离子等诱发产生活性氧时, 谷胱甘肽形成具有较强氧化还原性的活跃一价铜离子和谷胱甘肽的化合物, 并没有完全去除产生活性氧的隐患。麦角硫因氨基

基金项目 辽宁省科学技术重点项目(2008228001)。

作者简介 张萌萌(1988-), 女, 山东泰安人, 硕士研究生, 研究方向: 食品机能保全化学。*通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事水产品加工机械与控制技术研究。

收稿日期 2014-03-08

酸与二价铜离子螯合产生的化合物性质相对稳定,因此不会分解产生自由基^[19]。

1.2.3 在细胞内的作用。细胞内存在麦角硫因氨基酸的有机阳离子转运体 OCTN1,可以实现麦角硫因氨基酸在胞内的转运,从而保护 DNA 及其他线粒体成分免受电子传递链产生的活性氧的损伤。目前国外对此转运体的研究已成为一大研究热点,人类若想真正掌握麦角硫因氨基酸在体内的存在机理,此转运体便是一个突破点。Paul 等证明了当细胞暴露于过氧化氢,会导致 OCTN1 沉默,线粒体 DNA 受损伤的可能性增加^[20]。此外当细胞里的麦角硫因氨基酸耗尽,将会导致蛋白羰基化、脂质过氧化反应以及过氧化氢易感细胞的死亡。

1.2.4 对紫外线和 γ 射线的防护作用。麦角硫因氨基酸能够保护细胞免受紫外线和 γ 射线所导致的细胞损伤甚至死亡。对皮肤免疫组织的化学分析可知角质细胞和纤维母细胞中存在麦角硫因氨基酸的阳离子转运体 OCTN1,这就提高了麦角硫因氨基酸抑制皮肤免受生理损伤的可能性。在抵抗紫外线损伤方面,有研究发现暴露于紫外线辐射的角质细胞细胞活力显著降低,且半胱天冬酶的活性提高了 5 倍,而添加了麦角硫因氨基酸之后细胞活力显著提高,半胱天冬酶的活性得到抑制^[21]。此外,Obayashi 等证明了麦角硫因氨基酸能够抑制纤维母细胞中肿瘤坏死因子- α (TNF α) 和因紫外线辐射产生的基质金属蛋白酶-1 的表达^[22]。在抑制 γ 射线方面,Motohashi 等发现高铁血红蛋白受到 γ 辐射会导致显著的结构变化,然而添加 0.5 mM 麦角硫因氨基酸就能阻止这一变化^[23]。同样,Hartman 等证明了添加 1 mmol/L 麦角硫因氨基酸可以完全抑制由 γ 射线导致的噬菌体失活^[24]。

1.2.5 在血液中的作用。麦角硫因氨基酸在血液中起到抗氧化剂的作用,表现为其能阻止血红蛋白受过氧化氢的影响并减少血红蛋白的高铁化,Spicer 等通过对兔血的研究发现,血红蛋白氧化为高铁血红蛋白的速率与麦角硫因氨基酸的浓度成反比,而继续添加麦角硫因氨基酸可使高铁血红蛋白变回血红蛋白,相应地,在兔饲料中加入麦角硫因氨基酸后,抑制了高铁血红蛋白的生成^[25]。另外,麦角硫因氨基酸还可以保护血红蛋白免受中性粒细胞损伤且清除血液中的次氯酸,甚至在红细胞的糖酵解代谢中也起到积极的作用^[26]。

1.2.6 与其他细胞内防御系统的相互作用。麦角硫因氨基酸与其他细胞内防御系统的作用主要表现在可还原在体内已被氧化的抗氧化剂。Arduini 等发现当细胞内有过度氧化负担的时候,麦角硫因氨基酸可以还原被氧化的谷胱甘肽^[15]。麦角硫因氨基酸还可以保护细胞内的酶。川野博子等通过研究从小鼠体内分离出的肝微粒体,发现在添加了麦角硫因氨基酸之后,肝微粒体中谷胱甘肽过氧化物酶、谷胱甘肽还原酶以及线粒体超氧化物歧化酶含量显著提高^[27]。另外还有学者提出氧化后的麦角硫因氨基酸能够被半胱氨酸或谷胱甘肽还原,但这只是在体外特定情况下,在体内并非一定如此^[28]。同样的,体外试验中被高铁肌红蛋白氧化的麦角硫因氨基酸能够在添加谷胱甘肽之后再生^[15]。这些

均需在体内试验中进一步验证。

2 麦角硫因氨基酸的检测

麦角硫因氨基酸在生物样品中的检测方法不断发展改进,以增加量化方法的特异性和灵敏度。早期的研究者使用化学药品分析和比色技术,如从血液中分离和鉴定麦角硫因氨基酸,由于这些技术缺乏特异性,因而常高估了血液中麦角硫因氨基酸的含量。这不禁使人怀疑早期估计的动植物中麦角硫因氨基酸含量的可靠性,因此应该使用目前的可行技术重新验证。Mayumi 第一个使用了液相色谱法来分析老鼠血液和组织中麦角硫因氨基酸的含量,随后 Dubost 等将液相色谱-质谱法用于蘑菇中麦角硫因氨基酸的量化^[3,29]。Nguyen 等将高效液相色谱柱后反应分析系统应用到了定量分析蘑菇子实体以及生产废料中麦角硫因氨基酸的含量中来^[30]。除此之外,一些动物的血液以及肌肉中的麦角硫因氨基酸也可用此方法定量检测。Nguyen 等对此检测方法的流速、温度、pH 等参数以及组合解决方案分别进行了优化,其中分析物分离的最佳条件是使用 10% 的甲醇作为恒定流动相,溶液的最佳流速为 0.15 ml/min,柱后最适宜反应温度是 25 $^{\circ}\text{C}$, 2-Py-S-S-2-Py 溶液的最佳浓度是 50 $\mu\text{g/ml}$ (0.23 mmol/L),衍生反应的最佳状态是在 pH=1 时^[30]。此种柱后分析方法是一种可靠、简单、快速、准确、灵敏的分析方法,可适用于不同生物样品中麦角硫因氨基酸含量的检测,且检测结果合理有效。

3 金针菇提取液在食品工业中的应用前景

金针菇作为菌类物质中富含麦角硫因氨基酸的佼佼者已被研究者们熟知,而将其作为天然添加剂的研究却较少。目前对其应用的研究主要分为 2 种,一是外源性的添加,主要表现为应用含有一定剂量金针菇提取液的溶液浸泡生物材料;二是内源性的喂养,即将金针菇提取液添加到生物体饲料中作为饮食补充。以下将从提取液抗氧化作用和应用方式 2 个方面对其应用前景进行阐述。

3.1 金针菇提取液的抗氧化作用 无论在体内或体外,蘑菇提取液均有清除自由基和抗氧化的功能^[31-32]。麦角硫因氨基酸和酚类被认为是蘑菇提取液中最有力的抗氧化剂^[33-34]。Bao 等研究显示麦角硫因氨基酸在金针菇的柄和底部的末端中含量最高,而在金针菇培养基的表层含量甚微,因此培养基中的麦角硫因氨基酸应该是菌丝体产生的^[5]。如今金针菇在加工过程中,其菌丝体等不可食部分以工业废物处理。因此可以利用这些菌丝体来制备具抗氧化作用的提取液,以应用于食品工业。

3.2 金针菇提取液的应用前景

3.2.1 外源性添加。将金针菇提取液外源性添加在甲壳类水产品中能有效降低化酵素活性以及抑制酚氧化酶原基因的表达。这是由于金针菇提取液对采后虾黑变病的抑制功效不亚于传统黑变病抑制剂亚硫酸钠(SS)和 4-己基-1,3-苯二酚(HR)。浸泡试验显示金针菇提取液能够降低虾血淋巴中聚对苯氧化物的生成,阻止酚氧化酶原的基因表达^[35]。Encarnacion 等将活蟹浸泡在金针菇提取液中之后,发现蟹体

内化酵素的活性降低,酚氧化酶原基因的表达得到抑制,其黑变病被有效遏制^[36]。因此,在肉类食品中添加金针菇提取液可以提升食用品质。

3.2.2 内源性添加。尽管高等植物和动物的某些组织中也存在麦角硫因氨基酸,但它却只能在某些真菌和放线菌中合成。为验证麦角硫因氨基酸能否在体内发挥其抗氧化及细胞保护等功能,Bao 等使用黄尾鲷进行了饮食添加试验,将金针菇培养基提取液添加到黄尾鲷的饲料中,其而合肉的色变和脂肪的氧化均得到了有效控制,并提出此发现可以应用到工业生产中^[37]。Misiti 等研究指出麦角硫因氨基酸在生物体中不仅能够保护各器官免受脂类过氧化的不利影响,且可以作为内源性抗氧化剂谷胱甘肽和抗坏血酸的保护剂^[38]。众所周知,肉的变色是肌红蛋白和脂类过氧化之间的反应所致,抗氧化剂谷胱甘肽和抗坏血酸通常被用来稳定肉的颜色而被氧化,此时加入的麦角硫因氨基酸能够保护这些内源性抗氧化剂且将其还原,从而保证了鱼肉和畜禽肉颜色的稳定性^[39]。Nguyen 等的研究显示喂食了金针菇提取液黄尾鲷全血中麦角硫因氨基酸的含量显著高于对照组,且在冷冻储存条件下其而合肉的货架期明显延长,随后将同样的提取液添加到牛饲料中,可观察到牛肌肉中麦角硫因氨基酸的含量显著提高^[30]。由此可见,在畜禽鱼类的饲料中加入金针菇提取液成分,可以提高产出肉类的抗氧化性,从而提升色泽等感官品质。

4 小结与展望

金针菇在我国有悠久的养殖历史,因营养、美味和食药两用价值而广受人们喜爱。富含的麦角硫因氨基酸因其出色的抗氧化特性、细胞保护功能、强有力的金属螯合效果和抵抗紫外线辐射等功效而越来越受到科研工作者的关注。金针菇养殖的废弃固体培养基中含有相当可观的麦角硫因氨基酸,这一发现为其大规模生产提供了可靠保障。国内目前金针菇的养殖规模已较为可观,然而对麦角硫因氨基酸的研究还较少,因此应借鉴国外的研究成果积极展开这种天然物质的相关研究,将其变废为宝,并逐渐深入到商业生产领域,这将对生鲜肉类货架期的延长以及肉质的提高具有重要的意义。

参考文献

- [1] WASSER S. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, 60(3): 258–274.
- [2] QUANG D N, HASHIMOTO T, ASAKAWA Y. Inedible mushrooms: a good source of biologically active substances[J]. *The Chemical Record*, 2006, 6(2): 79–99.
- [3] DUBOST N J, BEELMAN R B, PETERSON D, et al. Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography–mass spectroscopy[J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2006, 8(3): 215–222.
- [4] BAO H N D, USHIO H, OHSHIMA T. Antioxidative activity and antidiscoloration efficacy of ergothioneine in mushroom (*Flammulina velutipes*) extract added to beef and fish meats[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(21): 10032–10040.
- [5] BAO H N D, OCHIAI Y, OHSHIMA T. Antioxidative activities of hydrophilic extracts prepared from the fruiting body and spent culture medium of *Flammulina velutipes*[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(15): 6248–6255.
- [6] MAKISHIMA S, NOZAKI K, MIZUNO M, et al. Recovery of soluble sugars

- from waste medium for Enokitake (*Flammulina velutipes*) mushroom cultivation with hydrothermal reaction and enzyme digestion[J]. *Journal of Applied Glycoscience*, 2006, 53(4): 261–266.
- [7] TANRET C. Sur une base nouvelle retiree du seigle ergote, l'ergothioneine[J]. *Compt Rendu*, 1909, 49: 22–224.
- [8] MELVILLE D B. Ergothioneine[J]. *Vitamins & Hormones*, 1959, 17: 155–204.
- [9] EY J, SCHÖMIG E, TAUBERT D. Dietary sources and antioxidant effects of ergothioneine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(16): 6466–6474.
- [10] MELVILLE D B, HORNER W H, LUBSCHEZ R. Tissue ergothioneine[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1954, 206(1): 221–228.
- [11] EAGLES B A, VARS H M. The physiology of ergothioneine[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1928, 80(2): 615–622.
- [12] HEATH H, RIMINGTON C, SEARLE C E, et al. Some effects of administering ergothioneine to rats[J]. *Biochemical Journal*, 1952, 50(4): 530.
- [13] FRANZONI F, COLOGNATO R, GALETTA F, et al. An in vitro study on the free radical scavenging capacity of ergothioneine: comparison with reduced glutathione, uric acid and trolox[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2006, 60(8): 453–457.
- [14] COLOGNATO R, LAURENZA I, FONTANA I, et al. Modulation of hydrogen peroxide-induced DNA damage, MAPKs activation and cell death in PC12 by ergothioneine[J]. *Clinical Nutrition*, 2006, 25(1): 135–145.
- [15] ARDUINI A, EDDY L, HOCHSTEIN P. The reduction of ferryl myoglobin by ergothioneine: a novel function for ergothioneine[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1990, 281(1): 41–43.
- [16] HANLON D P. Interaction of ergothioneine with metal ions and metalloenzymes[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1971, 14(11): 1084–1087.
- [17] MOTOHASHI N, MORI I, SUGIURA Y, et al. Metal complexes of ergothioneine[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1974, 22: 654–657.
- [18] MOTOHASHI N, MORI I, SUGIURA Y. Complexing of copper ion by ergothioneine[J]. *Chemical & pharmaceutical Bulletin*, 1976, 24(10): 2364.
- [19] SPEISKY H, GÓMEZ M, CARRASCO-POZO C, et al. Cu(I)-Glutathione complex: A potential source of superoxide radicals generation[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2008, 16(13): 6568–6574.
- [20] PAUL B D, SNYDER S H. The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant[J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17: 1134–1140.
- [21] MARKOVA N G, KARAMAN-JURUKOVSKA N, DONG K K, et al. Skin cells and tissue are capable of using L-ergothioneine as an integral component of their antioxidant defense system[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 46(8): 1168–1176.
- [22] OBAYASHI K, KURIHARA K, OKANO Y. L-Ergothioneine scavenges superoxide and singlet oxygen and suppresses TNF- and I κ B expression in[J]. *J Cosmet Sci*, 2005, 56: 17–27.
- [23] MOTOHASHI N, MORI I, SUGIURA Y, et al. Effect of ergothioneine on gamma-irradiation of metmyoglobin [R]. Japan: Kobe Women's Coll, 1973.
- [24] HARTMAN P E, HARTMAN Z, CITARDI M J. Ergothioneine, histidine, and two naturally occurring histidine dipeptides as radioprotectors against gamma-irradiation inactivation of bacteriophages T4 and P22[J]. *Radiation Resources*, 1988, 114: 319–330.
- [25] SPICER S S, WOOLEY J G, KESSLER V. Ergothioneine depletion in rabbit erythrocytes and its effect on methemoglobin formation and reversion[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 1951, 77(3): 418–420.
- [26] 川野博子, 尾谷三枝子, 竹山惠子, 等. Studies on ergothioneine. VI. Distribution and fluctuations of ergothioneine in rats[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1982, 30(5): 1760–1765.
- [27] 川野博子, 村田博臣, 入口貞文, 等. Studies on ergothioneine. XI. Inhibitory effect on lipid peroxide formation in mouse liver[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1983, 31(5): 1682–1687.
- [28] HEATH H, TOENNIES G. Preparation and properties of ergothioneine disulphide[J]. *Biochemistry Journal*, 1958, 68: 204–210.
- [29] 真弓忠範, 川野博子, 坂本芳子, 等. Studies on ergothioneine. V. Determination by high performance liquid chromatography and application to metabolic research[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1978, 26(12): 3772–3778.
- [30] NGUYEN T H, GIRI A, OHSHIMA T. A rapid HPLC post-column reaction analysis for the quantification of ergothioneine in edible mushrooms and in animals fed a diet supplemented with extracts from the processing waste of cultivated mushrooms[J]. *Food Chemistry*, 2012, 133(2): 585–591.
- [31] PUTTARAJU N G, VENKATESHAIAH S U, DHARMESH S M, et al. Antioxidant activity of indigenous edible mushrooms[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(26): 9764–9772.

究成果易于推广到其他抗癌物质及其药理作用靶点的物系,具有普遍应用价值。

2.5 细胞生物学方法 紫杉醇作为一种抗癌药物,其抗癌机理是在一定条件下诱导微管蛋白聚合并抑制其解聚,从而抑制细胞分裂。根据这一特性,利用紫杉醇依赖性细胞系的这种可逆性的、特异性的相互作用,紫杉醇及其紫杉烷类化合物达到了分离纯化的目的。但因该方法缺少专一性,限制其生产中的应用。

3 结论

从红豆杉属植物中提取紫杉醇的方法已相当成熟,但因其其在红豆杉中的含量很低,随着紫杉醇在市场上的需求增加,仅依靠从红豆杉属植物中提取紫杉醇是根本无法满足日益增长的市场需求。红豆杉属植物不是优势树种,红豆杉的大量砍伐不仅会导致红豆杉资源的枯竭,还会造成环境的破坏,带来严重的环保问题。随着新方法、新技术在紫杉醇生产工艺中的不断引入,加上提取分离技术的不断更新。这些技术方法必将促进紫杉醇的高效、环保、经济的产业化进程,改变目前紫杉醇在市场上供不应求局面,并促进医药卫生行业的发展及人类健康事业的较大进步。

参考文献

- [1] WANG F, CAO Y, LIU H Y, et al. Anti-invasion and anti-angiogenesis effect of taxol and camptothecin on melanomacells [J]. Journal of Asian Natural Products Research, 2003, 5(2): 121 - 129.
- [2] STREL KOVA M A, KIRILLOVAN V. Anti-tumour activity of ex-tracts from biomass of *Taxus baccata* L. cell culture [J]. Rastitiefnye Resursy, 2002, 38(3): 70 - 77.
- [3] MCPARTLAND T J, PATIL R A, MICHAEL F, et al. Liquid - Liquid Extraction for Recovery of Paclitaxel from Plant Cell Culture: Solvent Evaluation and Use of Extractants for Partitioning and Selectivity [J]. Biotechnol Prog, 2012, 28(4): 990 - 997.
- [4] 锅田怎助, 田崎弘之, 江部洋史, 等. 日本: 特开平, 6 - 157329 [P]. 1994.
- [5] QIAO L J, MAN R L, NI W D, et al. Research of extracting and purifying taxol from the branches of *Taxus media* [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2009, 34(8): 973 - 976.

- [6] HOKE S H, WOOD J M, COOKS R G, et al. Rapid Screening for taxanes by tandem mass spectrometry [J]. Analytical Chem, 1992, 64: 2313.
- [7] LEE J Y, KIM J H. Development and optimization of a novel simultaneous microwave - assisted extraction and adsorbent treatment process for separation and recovery of paclitaxel from plant cell cultures [J]. Separation and Purification Technology, 2011, 28(4): 175 - 206.
- [8] LI C M, LI Z G. Method for separating and purifying taxol; 中国, CN 102417492 A [P]. 2011 - 04 - 18.
- [9] 庞欣, 章光明, 张瑞萍. 固相萃取 - 高效液相色谱法测定真菌产紫杉醇 [J]. 色谱, 2004, 22(2): 185 - 497.
- [10] CARVER D R, PROUT T R, WORKMAN C T, et al. Separation of taxane Solutes by reverse osmosis; WO, 9412268, 1994.
- [11] 张梅, 彭学东, 赵金召等. 一种紫杉醇的提取分离纯化方法; 中国, CN 103232417 A [P]. 2013 - 08 - 07.
- [12] CHEN J X, NIE N, MA J S. Method for separating taxol and related taxane compounds [J]. Process Biochemistry, 2011, 42(3): 97 - 121.
- [13] 李勇超, 杨靖, 职明星, 等. D4020 大孔树脂提纯发酵液中紫杉醇的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2010, 29(5): 710 - 714.
- [14] 雒丽娜, 董慧茹, 张建军, 等. 正相色谱和反相色谱法分离提纯东北红豆杉中紫杉醇和三尖杉宁碱 [J]. 分析科学学报, 2006, 22(1): 59 - 81.
- [15] PYO SANG HYUN, CHOI HO - JOON. An improved high - performance liquid chromatography process for the large - scale production of paclitaxel [J]. Separation and Purification Technology, 2011, 76(3): 5 - 23.
- [16] 李长明 李智高. 一种分离纯化紫杉醇的方法; 中国, CN 102417492 A [P]. 2012 - 04 - 18.
- [17] LI L L, ZHOU Q C. Successive purification of paclitaxel by column chromatography; 中国, CN 103275039 A [P]. 2013 - 09 - 04.
- [18] GANGADEVI, MUTHUMARY J. A simple and rapid method for the determination of taxol produced by fungal endophytes from medicinal plants using high performance thin layer chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2008, 26(1): 104 - 426.
- [19] WATCHUENG J, KAMNAING P, GAO J M, et al. Efficient purification of paclitaxel from yews using high - performance displacement chromatography technique [J]. Journal of Chromatography A, 2011, 13(3): 43 - 57.
- [20] CHAN K C, MUSCHIK G M, ISSAQ H J, et al. Separation of taxol and related compounds by micellar electrokinetic chromatography [J]. High Resolution Chromatogr, 1994, 17(1): 51 - 52.
- [21] 李隆, 秦月红, 冉秀琼, 等. 一种三尖杉宁碱和紫杉醇的分离方法; 中国, CN 102020619 A [P]. 2011 - 04 - 20.
- [22] 郑玲, 刘玉华, 严明娟. 三尖杉宁碱溴代分离紫杉醇的方法 [J]. 中国现在药物应用, 2009, 3(2): 35 - 40.
- [23] 肖剑. 药理作用靶点法分离纯化紫杉醇的研究 [D]. 天津: 天津大学化工学院, 1999: 140 - 183.

(上接第 3387 页)

- [32] JANG J H, ARUOMA O I, JEN L S, et al. Ergothioneine rescues PC12 cells from β -amyloid-induced apoptotic death [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2004, 36(3): 288 - 299.
- [33] FU H U I Y I N, SHIEH D E N E N, HO C H I T. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms [J]. Journal of Food Lipids, 2002, 9(1): 35 - 43.
- [34] DUBOST N J, OU B, BEELMAN R B. Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity [J]. Food Chemistry, 2007, 105(2): 727 - 735.
- [35] ADACHI K, HIRATA T, NISHIOKA T, et al. Hemocyte components in crustaceans convert hemocyanin into a phenoloxidase-like enzyme [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2003, 134(1): 135 - 141.

- [36] ENCARNACION A B, FAGUTAO F, SHOZEN K, et al. Biochemical intervention of ergothioneine-rich edible mushroom (*Flammulina velutipes*) extract inhibits melanosis in crab (*Chionoecetes japonicus*) [J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1594 - 1599.
- [37] BAO H N D, SHINOMIYA Y, IKEDA H, et al. Preventing discoloration and lipid oxidation in dark muscle of yellowtail by feeding an extract prepared from mushroom (*Flammulina velutipes*) cultured medium [J]. Aquaculture, 2009, 295(3): 243 - 249.
- [38] MISITI F, CASTAGNOLA M, ZUPPI C, et al. Role of ergothioneine on S-nitrosoglutathione catabolism [J]. Biochem J, 2001, 356: 799 - 804.
- [39] RENERRE M. Factors involved in the discoloration of beef meat [J]. International Journal of Food Science & Technology, 1990, 25(6): 613 - 630.