

响应面法优化六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的提取工艺

张凤明¹, 甄梦玲², 赵硕¹, 田霞^{2*}, 于富强^{1*}

1 中国科学院昆明植物研究所 中国西南野生生物种质资源库 云南省真菌多样性与绿色发展重点实验室, 云南 昆明 650201

2 云南经济管理学院, 云南 昆明 650106

摘要: 为提高六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的得率, 以麦角硫因得率为评价标准, 分析了提取温度、乙醇浓度、液料比、提取时间等单因素对麦角硫因提取量的影响, 在单因素实验的基础上通过响应面法对六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的提取工艺条件进行了优化。单因素和响应面法得到的麦角硫因最佳提取工艺条件: 液料比为 40:1 (体积质量比)、乙醇浓度为 50%、提取温度为 60 °C、提取时间为 20 min。以该条件进行验证实验所得麦角硫因提取量为 $(0.236 \pm 0.000\ 887)$ mg/g, 与预测值 0.235 mg/g 无显著差异(误差值 0.426%), 表明优化得到的工艺具有有效性和可靠性。本研究确定了六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的最佳提取工艺, 为六妹羊肚菌边角料的开发利用提供基础数据。

关键词: 六妹羊肚菌; 边角料; 麦角硫因; 响应面法; 含量测定

[引用本文]

张凤明, 甄梦玲, 赵硕, 田霞, 于富强, 2025. 响应面法优化六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的提取工艺. 菌物学报, 44(3): 240232
Zhang FM, Zhen ML, Zhao S, Tian X, Yu FQ, 2025. Optimization of extraction process of ergothioneine from *Morchella sextelata* scraps by response surface methodology. Mycosystema, 44(3): 240232

资助项目: 云南省重大科技专项计划(202202AE090001); 云南省博士后定向资助项目(E23174K2); 云南省博士后科研基金(E2313442)

This work was supported by the Yunnan Key Project of Science and Technology (202202AE090001), the Postdoctoral Directional Training Foundation of Yunnan Province (E23174K2), and the Postdoctoral Research Funding Projects of Yunnan Province (E2313442).

*Corresponding authors. E-mail: YU Fuqiang, fqyu@mail.kib.ac.cn; TIAN Xia, 276761926@qq.com

ORCID: ZHANG Fengming (0000-0002-2066-4766)

Received: 2024-08-14; Accepted: 2024-09-13

Optimization of extraction process of ergothioneine from *Morchella sextelata* scraps by response surface methodology

ZHANG Fengming¹, ZHEN Mengling², ZHAO Shuo¹, TIAN Xia^{2*}, YU Fuqiang^{1*}

¹ The Germplasm Bank of Wild Species, Yunnan Key Laboratory for Fungal Diversity and Green Development, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, Yunnan, China

² Yunnan College of Business Management, Kunming 650106, Yunnan, China

Abstract: The effect of extraction temperature, ethylalcohol concentration, liquid to material ratio and extraction time on the extraction yield of ergothioneine in *M. sextelata* scraps were studied by using the content of ergothioneine obtained as indicator, and the response surface methodology based on single factor experiment was applied to optimize the technological process of extraction. The results obtained by single factor experiment and response surface methodology indicated that liquid to material ratio of 40:1 (mL/g), ethylalcohol concentration of 50%, extraction temperature of 60 °C, and extraction time of 20 min were the optimum extraction condition. Under this optimized condition, the extraction yield of ergothioneine was (0.236±0.000 887) mg/g, no significantly difference was found as compared with estimated value 0.235 mg/g (error value 0.426%), indicating that the optimized process was effective and reliable. This study provides basic data for utilization of *M. sextelata* scraps.

Keywords: *Morchella sextelata*; scrap; ergothioneine; response surface methodology; content determination

1909年 Charles Tanret 首次从麦角菌 *Claviceps purpurea* 中分离出麦角硫因(ergothioneine), 是食用菌中最重要的生理活性物质之一(Tanret 1909; 潘虹余等 2019; Cheah & Halliwell 2021), 麦角硫因是一种与抗氧化应激疾病相关的天然抗氧化剂, 具有抗炎(Valachova *et al.* 2020; Koh *et al.* 2021)、抗紫外损伤(Bazela *et al.* 2014; Ko *et al.* 2021)、抗氧化作用(Borodinal *et al.* 2022; Kitsanayanyong & Ohshima 2022)、促进神经元分化(Ishimoto *et al.* 2014)、降低心血管疾病(Smith *et al.* 2020; Daniel *et al.* 2021)、改善有氧运动(Fovet *et al.* 2022)、增强免疫力(Yoshida *et al.* 2017)等功效, 近年来引起了学界的广泛关注。目前, 国内外有关麦角硫因含量测定的食用菌有 91 余种, 包含 77 种子实体和 31 种菌丝体(表 1, 表 2), 其中鄂恒超等(2022)发现羊肚菌 *Morchella esculenta* 干燥子实体中的麦

角硫因含量为 1.1 mg/g; Kalaras *et al.* (2017)在 *M. esculenta* 冻干子实体中检测到的麦角硫因含量为 0.47 mg/g。

羊肚菌 *Morchella*, 是一种食药食用菌, 富含三大营养素(蛋白质、脂类、碳水化合物)以及维生素、矿物质等营养元素, 具有极高的营养保健作用和药用价值, 备受广大消费者的青睐, 已成为国内外研究的关注焦点(戴玉成和杨祝良 2008; Tietel & Masaphy 2018; 田金凤等 2024)。长期食用具有抗疲劳(曹亮 2020)、抗肿瘤(薛莉 2014; 黄瑶 2019)、抗氧化(Gursoy *et al.* 2009; 范三红等 2019; Tang *et al.* 2019; Wu *et al.* 2019; 徐鸿雁等 2022)、抗增殖(Lee *et al.* 2018; Tang *et al.* 2019)、抗炎(Ramya *et al.* 2022; Chen *et al.* 2023)、降血糖降血脂(李井雷等 2020)、免疫调节(Kuang *et al.* 2022; Li *et al.* 2022)、肝保护(Nitha *et al.* 2013)、肾毒性保护

表 1 食用菌子实体中麦角硫因含量

Table 1 Quantification of ergothioneine in fruiting body of different edible fungi

中文名	拉丁学名	麦角硫因含量	文献来源
Chinese name	Scientific name	Quantification of ergothioneine (mg/g)	Reference
糙态细球菌	<i>Cyttaria espinosae</i>	0.000	Ito <i>et al.</i> 2011
灰树花	<i>Grifola frondosa</i>	0.670	
刺芹侧耳	<i>Pleurotus eryngii</i>	1.410	
光帽鳞伞	<i>Pholiota nameko</i>	0.460	
口蘑	<i>Ticholoma</i> sp.	0.910	
毡盖木耳	<i>Auricularia mesenterica</i>	0.149	
大杯伞	<i>Clitocybe maxima</i>	0.664	
斑玉蕈	<i>Hypsizygus marmoreus</i>	0.409	
桦褐孔菌	<i>Inonotus obliquus</i>	0.048	
泡囊侧耳	<i>Pleurotus cystidiosus</i>	0.259	
阿魏侧耳	<i>Pleurotus ferulae</i>	0.464	Chen <i>et al.</i> 2012a
糙皮侧耳	<i>Pleurotus ostreatus</i>	0.944	
桃红侧耳	<i>Pleurotus salmoneostramineus</i>	1.245	
冬虫夏草	<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	0.052	
巴西蘑菇	<i>Agaricus blazei</i>	0.037	
毛头鬼伞	<i>Coprinus comatus</i>	0.764	
金针菇	<i>Flammulina velutipes</i>	0.099	
玉蕈离褶伞	<i>Lyophyllum shimeji</i>	0.432	
火木层孔菌	<i>Phellinus igniarius</i>	0.297	
双孢蘑菇	<i>Agaricus bisporus</i>	0.240	Dubost <i>et al.</i> 2005; Dubost <i>et al.</i> 2007
金顶侧耳	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	3.940	
柱状田头菇	<i>Agrocybe cylindracea</i>	1.290	
蜜环菌	<i>Armillaria mellea</i>	1.940	
黄牛肝菌	<i>Boletus auripes</i>	2.400	
红缘拟层孔菌	<i>Fomitopsis pinicola</i>	0.070	
树舌灵芝	<i>Ganoderma applanatum</i>	0.060	
黑紫灵芝	<i>Ganoderma neo-japonicum</i>	0.070	
灰树花	<i>Grifola gargal</i>	2.040	
黄卷缘齿菌	<i>Hydnum repandum</i>	0.780	Kalaras <i>et al.</i> 2017
红菇蜡伞	<i>Hygrophorus russula</i>	4.980	
毛头乳菇	<i>Lactarius torminosus</i>	0.820	
月夜菌	<i>Lampteromyces japonicus</i>	0.430	
大白桩菇	<i>Leucopaxillus giganteus</i>	1.700	
簇扇菌	<i>Polyozellus multiplex</i>	0.510	
葡萄状枝瑚菌	<i>Ramaria botrytis</i>	0.290	
变绿红菇	<i>Russula virescens</i>	0.680	
香肉齿菌	<i>Sarcodon aspratus</i>	1.790	
绣球菌	<i>Sparassis crispa</i>	2.370	Martinez-Medina <i>et al.</i> 2021
粘盖乳牛肝菌	<i>Suillus bovinus</i>	1.090	
点柄粘盖牛肝菌	<i>Suillus granulatus</i>	0.090	
褐环乳牛肝菌	<i>Suillus luteus</i>	2.270	
茶色银耳	<i>Tremella foliacea</i>	0.610	
赭红拟口蘑	<i>Tricholomopsis rutilans</i>	2.500	
柔软田头菇	<i>Agrocybe aegerita</i>	0.110	
黑木耳	<i>Auricularia auricula</i>	0.420	

(待续)

(续表 1)

中文名	拉丁学名	麦角硫因含量	文献来源
Chinese name	Scientific name	Quantification of ergothioneine (mg/g)	Reference
牛肝菌	<i>Boletus</i> sp.	10.20	
蛹虫草	<i>Cordyceps militaris</i>	0.000	
长裙竹荪	<i>Dictyophora indusiata</i>	0.822	
灵芝	<i>Ganoderma lucidum</i>	0.000	
猴头菇	<i>Hericium erinaceus</i>	0.085	
香菇	<i>Lentinula edodes</i>	0.957	
冬菇	<i>Phallus dongsun</i>	0.251	
皱环球盖菇	<i>Stropharia rugosoannulata</i>	0.131	
银耳	<i>Tremella fuciformis</i>	0.046	
草菇	<i>Volvariella volvacea</i>	0.347	
美味牛肝菌	<i>Boletus edulis</i>	1.090–7.270	He et al. 2023
鸡油菌	<i>Cantharellus cibarius</i>	0.200–4.090	
紫丁香菇	<i>Lepista nuda</i>	5.540	
羊肚菌	<i>Morchella esculenta</i>	0.470	
豹皮新香菇	<i>Neolentinus lepideus</i>	2.410	
白黄侧耳	<i>Pleurotus cornucopiae</i>	3.500	
灰树花	<i>Ramalina maitake</i>	1.130	
松口蘑	<i>Tricholoma. matsutake</i>	0.740–2.560	
暗褐网柄牛肝菌	<i>Phlebopus portentosus</i>	52.000	Mukaidaisi 2023
美味牛肝菌	<i>Boletus bainiugan</i>	1.263	Wan 2019
玫黄黄油牛肝菌	<i>Butyriboletus roseoflavus</i>	0.301	
兰茂牛肝菌	<i>Lanmaoa asiatica</i>	1.393	
茶褐牛肝菌	<i>Neoboletus brunneissimus</i>	0.097	
皱盖牛肝菌	<i>Rugiboletus extremiorientalis</i>	0.332	
蒙古口蘑	<i>Tricholoma mongolicum</i>	0.550	Zhang et al. 2013
香杏口蘑	<i>Tricholoma gambosum</i>	1.730	
彩绒革盖菌	<i>Coriolus versicolor</i>	0.004	Zhao et al. 2016
木蹄层孔菌	<i>Fomes fomentarius</i>	0.001	
薄皮纤孔菌	<i>Inonotus cuticularis</i>	0.085	
疏色绚孔菌	<i>Laetiporus sulphureus</i>	0.174	
松木层孔菌	<i>Phellinus pini</i>	0.002	
粗毛褐孔菌	<i>Xanthochrous hispidus</i>	0.000	

(Nitha & Janardhanan 2008)以及减缓动脉粥样硬化(Wang et al. 2021)等功效。

麦角硫因的提取方法有回流提取法、超声提取法、微波提取法、酶解提取法并结合响应面法和正交试验法,其中响应面法的优点包括:可连续地对各个水平因素进行分析,可克服正交试验只能分析孤立试验点而无法提供直观图形的局限性(杨辉和闫明明 2012;李娅丽等 2015);建立的复杂曲面图较接近实际情况,所需试验组数较少,具有高效性和经济性(冯路路等 2021)。目前,羊肚菌初级加工产品主要通

过速冻和干制 2 种方式制造成冷冻产品和干制品(田金凤等 2024),而干品在加工运输过程中会产生大量边角料(子实体干品收集、运输过程中产生的菌盖、菌柄碎屑),造成资源浪费。通过文献检索发现羊肚菌麦角硫因含量相对较高(Kalaras et al. 2017;鄂恒超等 2022),为此,本研究以六妹羊肚菌边角料作为原料,采用单因素实验和响应面实验对六妹羊肚菌中麦角硫因的提取工艺进行优化(李亚欢 2016),为六妹羊肚菌边角料高效利用和麦角硫因的原料供应提供新思路,促进六妹羊肚菌边角料的综合开

发利用。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 材料

六妹羊肚菌边角料(云南省昆明市官渡区木水花野生菌交易市场购买,由中国科学院昆明植物研究所刘伟博士鉴定)。

1.1.2 主要试剂

麦角硫因标准品(Sigma 公司),无水乙醇为分析纯(昆明仁科商贸有限公司),乙酸铵为分

析纯(上海吉至生化科技有限公司),纯净水、甲醇、乙腈均为色谱纯(云南佰柠科技有限公司)。

1.1.3 仪器

高效液相色谱仪(Agilent1260,安捷伦公司),Chromcore HILIC-Amide 色谱柱[纳谱分析技术(苏州)有限公司],ME 104E 型万分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司],超声波提取器(SK7200BT,上海科导超声仪器有限公司),智能高速冷冻离心机(3H16RI,湖南赫西仪器装备有限公司)。

表 2 食用菌菌丝体中麦角硫因含量

Table 2 Quantification of ergothioneine in mycelium of different edible fungi

中文名	拉丁学名	麦角硫因含量	文献来源
Chinese name	Scientific name	Quantification of ergothioneine (mg/g)	Reference
巴西蘑菇	<i>Agaricus blazei</i>	0.080	Chen <i>et al.</i> 2012b
柱状田头菇	<i>Agrocybe cylindracea</i>	0.279	
樟味薄孔菌	<i>Antrodia camphorata</i>	0.282	
粉红薄孔菌	<i>Antrodia salmonea</i>	0.008	
蜜环菌	<i>Armillaria mellea</i>	0.220	
毛头鬼伞	<i>Coprinus comatus</i>	0.399	
蝉虫草	<i>Cordyceps cicadae</i>	0.588	
蛹虫草	<i>Cordyceps militaris</i>	0.123	
虫草	<i>Cordyceps sinensis</i>	0.142	
彩绒革盖菌	<i>Coriolus versicolor</i>	0.013	
灰树花	<i>Grifola frondosa</i>	0.296	Cohen <i>et al.</i> 2014
斑玉蕈	<i>Hypsizygus marmoreus</i>	0.207	
桦褐孔菌	<i>Inonotus obliquus</i>	0.252	
裂蹄木层孔菌	<i>Phellinus linteus</i>	0.182	
刺芹侧耳	<i>Pleurotus eryngii</i>	1.515	
灵芝	<i>Ganoderma lucidum</i>	0.220	
猴头菇	<i>Hericium erinaceus</i>	0.149	
冬虫夏草	<i>Ophiocordyceps sinensis</i>	0.052	
变色栓菌	<i>Trametes versicolor</i>	0.120	
黑木耳	<i>Auricularia auricula-judae</i>	0.010	Tepwong <i>et al.</i> 2012
毛木耳	<i>Auricularia polytricha</i>	0.030	
多色韧伞	<i>Lentinus polychrous</i>	2.180	
香菇	<i>Lentinula edodes</i>	2.370	
荷叶离褶伞	<i>Lyophyllum decastes</i>	1.060	
多脂鳞伞	<i>Pholiota adiposa</i>	0.050	
光帽鳞伞	<i>Pholiota microspora</i>	0.050	
糙皮侧耳	<i>Pleurotus ostreatus</i>	0.460	
肺形侧耳	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	1.760	
金顶侧耳	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	1.300	He <i>et al.</i> 2023
白黄侧耳	<i>Pleurotus cornucopiae</i>	0.030	
淡红侧耳	<i>Pleurotus djamor</i>	0.030–0.710	

1.2 方法

1.2.1 六妹羊肚菌边角料预处理

将六妹羊肚菌边角料用鼓风干燥机在 60 °C 下干燥直至恒重,在高速粉碎机中进行充分粉碎后,经过 18 目不锈钢网筛选,并在室温下密封保存,以备后续使用。

1.2.2 六妹羊肚菌边角料提取麦角硫因的单因素实验

(1) 液料比对麦角硫因提取量的影响:取六妹羊肚菌边角料粉末 2 g,以 50%乙醇,40 °C水浴下,分别以不同液料比 10:1、20:1、30:1、40:1、50:1、60:1、70:1 (mL/g)下超声浸提 40 min,于离心管中 4 410 ×g 离心 10 min,收取上清液,用 50%乙醇定容,检测麦角硫因含量。

(2) 乙醇浓度对麦角硫因提取量的影响:取六妹羊肚菌边角料粉末 2 g,以液料比 40:1,40 °C水浴下,分别用 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%乙醇为溶剂超声浸提 40 min,于离心管中 4 410 ×g 离心 10 min,收取上清液,用相应的提取溶剂定容,检测麦角硫因含量。

(3) 提取时间对麦角硫因提取量的影响:取六妹羊肚菌边角料粉末 2 g,以液料比 40:1,50%乙醇,40 °C水浴,分别超声浸提 10、20、30、40、50、60 min,于离心管中 4 410 ×g 离心 10 min,收取上清液,50%乙醇定容,检测麦角硫因含量。

(4) 提取温度对麦角硫因提取量的影响:取六妹羊肚菌边角料粉末 2 g,以液料比 40:1,50%乙醇,分别在 30、40、50、60、70 °C下超声浸提 20 min,于离心管中 4 410 ×g 离心 10 min,收取上清液,用 50%乙醇定容,检测麦角硫因含量。

(5) 响应面法对六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的提取工艺进行优化:根据前期单因素实验结果,选取了对提取量影响显著的 3 个因

素:液料比、乙醇浓度、提取温度,通过 Design Expert 8.0.6 软件中的 Box-behnken 进行优化设计,响应面实验设计的因素和水平情况,见表 3。

表 3 响应面实验因素和水平

Table 3 The factors and levels of response surface experiment

因素 Factor	水平 Level		
	-1	0	1
A 液料比 Liquid-solid ratio (mL/g)	30:1	40:1	50:1
B 乙醇浓度 Ethylalcohol concentration (%)	40	50	60
C 提取温度 Extraction temperature (°C)	50	60	70

1.2.3 麦角硫因含量的检测

通过高效液相色谱法检测麦角硫因的含量(李亚欢 2016;胡晶晶等 2019;莫宇丽等 2020)。检测条件:色谱柱为 HILIC 色谱柱(5 μm, 250 mm × 4.60 mm),流动相为乙腈:5 mmol/L 乙酸铵=80:20 (体积比),流量为 1.0 mL/min,检测波长为 254 nm,柱箱温度为 30 °C,进样量为 5 μL。制作标准曲线:将 1 mg 麦角硫因标准品用 10 mL 流动相溶剂(乙腈:5 mmol/L 乙酸铵=80:20)溶解,制成浓度为 0.1 mg/mL 的标准原液,随后将原液分别稀释至 75、50、25 和 5 μg/mL 的麦角硫因标准溶液,标准品和提取液均按照上述检测条件进行检测;纵坐标 y 为麦角硫因浓度(mg/mL),横坐标 x 为峰面积(mAU·s),绘制麦角硫因的标准曲线(图 1),曲线回归方程: $y=0.000\ 04x+0.000\ 6$ ($R^2=0.999\ 8$), $R^2>0.9$,数据拟合程度高。

1.2.4 麦角硫因含量的计算

麦角硫因含量计算公式如下

$$Y=y \times V/m$$

其中:Y 为边角料中麦角硫因含量(mg/g),y 为对应标准曲线计算出的边角料麦角硫因浓度(mg/mL),V 为各因素条件下的定容体

积(mL), m 为各因素提取麦角硫因时所用边角料质量(g)。

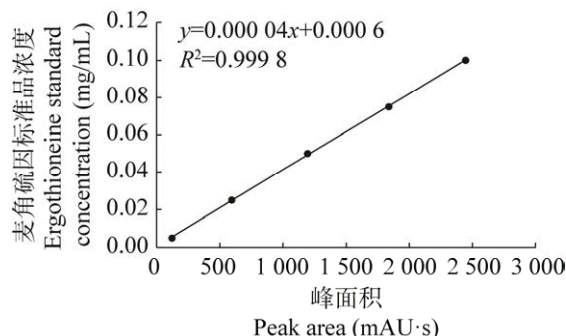


图1 麦角硫因标准曲线

Fig. 1 Ergothioneine standard curve.

1.3 数据处理

每组试验做3次平行,结果取平均值($\bar{x} \pm SD$)表示;利用SPSS统计软件进行数据分析;采用Origin2021软件绘图;使用Design Expert 8.0.6软件进行响应面分析。

2 结果与分析

2.1 六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的单因素实验

2.1.1 液料比对边角料麦角硫因提取量的影响

随着液料比的逐渐增加,麦角硫因的提取量呈现先上升后下降的趋势(图2)。当液料比达到40:1时,羊肚菌边角料中麦角硫因的得率达到饱和状态,为0.2736 mg/g,这一结果与李亚欢(2016)、胡晶晶等(2019)和莫宇丽等(2020)关于液料比对麦角硫因提取量影响的研究结论相符。产生这一现象的原因在于液料比的增加扩大了液体与固体接触面积,增加了麦角硫因的溶出度,使得其提取量升高。然而当液料比大于40:1时,麦角硫因的提取量逐步降低。这可能是因溶剂用量的增加,使得提取温度上升减缓,溶剂分子运动减缓,溶剂黏度变大,导致液料之间碰撞接触缓慢,麦角硫因的提取量也随之降低。因此,最适提取液料比选择40:1。

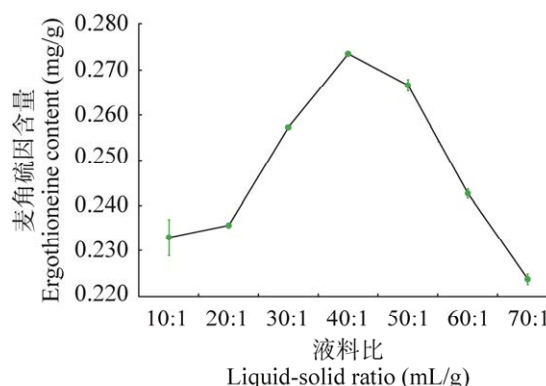


图2 液料比对麦角硫因提取量的影响

Fig. 2 Effects of liquid-solid ratio on extraction of ergothioneine.

2.1.2 乙醇浓度对边角料麦角硫因提取量的影响

随着乙醇浓度的逐渐增加,麦角硫因的提取量先增加后居于平稳再急速下降(图3),在50%乙醇浓度时,麦角硫因提取量最大(0.2343 mg/g)。这与胡晶晶等(2019)分析乙醇浓度对金针菇麦角硫因提取量影响的结果相似。可能是乙醇浓度增加后,使得溶剂中的脂溶性成分(小极性成分)溶出度升高,麦角硫因所占比例减小,导致麦角硫因提取量降低。因此,最适乙醇提取浓度选择50%。

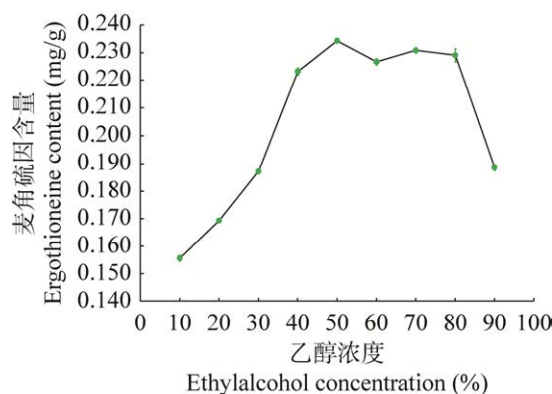


图3 乙醇浓度对麦角硫因提取量的影响

Fig. 3 Effects of ethylalcohol concentration on extraction of ergothioneine.

2.1.3 提取时间对边角料麦角硫因提取量的影响

提取时间对麦角硫因提取量的影响结果

(图 4)显示:在 10–20 min 区间内,麦角硫因的溶出度增大,在 20 min 时提取量达到最大值(0.218 7 mg/g)。20 min 后,随着提取时间的延长,推测麦角硫因与溶剂中其他成分发生反应,产生消耗,从而导致麦角硫因含量逐步降低。这与鄂恒超等(2022)研究的提取时间对食用菌(金针菇、杏鲍菇、香菇、银耳)麦角硫因提取量影响的结果一致。因此,提取时间选择为 20 min。

2.1.4 提取温度对边角料麦角硫因提取量的影响

在温度 30–70 °C 的温度范围内,随着提取温度的升高,麦角硫因的提取量先增加,随后又有所下降(图 5),在 60 °C 时麦角硫因提取量达到最高值(0.231 8 mg/g)。这与王艳辉等(2023)分析提取温度对皱环球盖菇麦角硫因提取量影响的结果一致。可能是因为当温度升高至 60 °C,溶剂的运动加快导致黏度降低,从而提高了溶剂与原料之间的传质效率,这使得麦角硫因的提取量增加;然而,当温度超过 60 °C,其他成分的溶出量也相继升高,这使得其他成分在提取液中的比例上升,从而导致麦角硫因提取量减少。因此,最佳提取温度选取 60 °C。

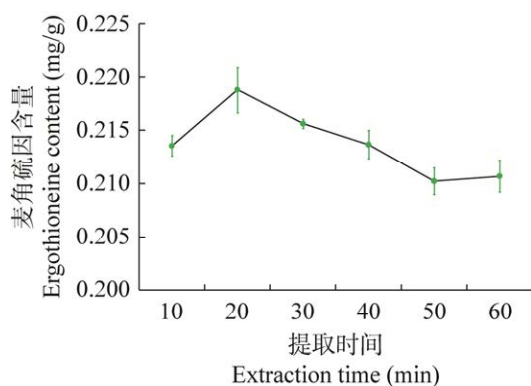


图 4 提取时间对麦角硫因提取量的影响

Fig. 4 Effects of extraction time on the yield of ergothioneine.

2.1.5 单因素实验显著性分析

单因素实验中选取的 4 个影响因素对六妹

羊肚菌边角料麦角硫因提取量的影响均为极显著($P < 0.001$),且影响程度依次为:乙醇浓度>液料比>提取温度>提取时间(表 4)。因此,选择液料比、乙醇浓度、提取温度进行响应面法优化试验。

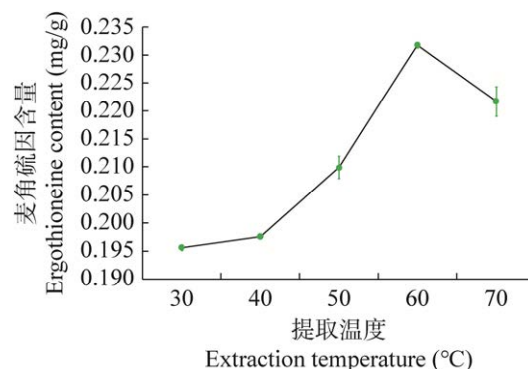


图 5 提取温度对麦角硫因提取量的影响

Fig. 5 Effects of extraction temperature on the yield of ergothioneine.

表 4 单因素实验的显著性检验分析

Table 4 One-factor experiential significance analysis

因素	F 值	P 值
Factor	F value	P value
A 液料比	363.060	$1.541\ 51 \times 10^{-14}$
Liquid-solid ratio (mL/g)		
B 乙醇浓度	1\ 780.419	$1.782\ 17 \times 10^{-24}$
Ethylalcohol concentration (%)		
C 提取温度	312.387	$1.880\ 15 \times 10^{-10}$
Extraction temperature (°C)		
D 提取时间	16.025	$5.998\ 54 \times 10^{-5}$
Extraction time (min)		

2.2 响应面法优化六妹羊肚菌边角料中麦角硫因的提取工艺

2.2.1 响应面分析实验

综合单因素实验的结果,固定提取时间为 20 min,选取液料比(A)、乙醇浓度(B)、提取温度(C) 3 个因素,在单因素实验的基础上,利用 Design Expert 8.0.6 软件中的 Box-behnken 实验设计原理,进行 3 因素 3 水平响应面设计,以优化麦角硫因提取工艺(表 5)。通过优化,得到的六妹羊肚菌边角料麦角硫因提取量的拟合方程为:

$$Y = 0.23 + 3.500 \times 10^{-4}A - 2.075 \times 10^{-3}B + 3.575 \times 10^{-3}C -$$

$$3.525\times10^{-3}AB+2.250\times10^{-4}AC+2.275\times10^{-3}BC-6.602\times10^{-3}A^2-6.003\times10^{-3}B^2-9.203\times10^{-3}C^2。$$

2.2.2 方差分析与二次元回归方程拟合

对数据进行方差分析，本实验模型的 $R^2=0.9306$ ，表明麦角硫因提取量的实验值与预测值之间具有良好的一致性。多元二次模型的 $P=0.0033$ ($P<0.01$)，表明该回归模型具有极显著的统计学意义，实验方法是可靠的；而失拟项的 $P=0.1486$ ($P>0.05$)，不显著，说明试验误差小，方程与实际拟合中非正常误差所占比例较低，表明方程拟合程度较好，该方程能够真实反映实验过程，并可用于分析和预测不同提取条件下麦角硫因提取量的变化(表 6)。显著性检验结果显示，对于响应值(麦角硫因含量)， A^2 、 B^2 、 C^2 的影响为极显著($P<0.01$)，而 C 的影响为显著($P<0.05$)， A 、 B 、 AB 、 AC 、 BC 的影响为不显著($P>0.05$)。各因素影响程度依次为 $C>B>A$ ，表明提取温度对麦角硫因的提取影响最大。

2.2.3 交互作用分析

为了深入探讨变量之间的相互作用并确定最佳条件，使用 Design Expert 软件绘制了响应面图(图 6，图 7，图 8)，展示了 3 组以麦角硫因提取量为响应值的趋势图，反映了两种被测变量之间的交互作用是否显著。等高线图呈现圆形则表示交互作用不显著，而呈现椭圆形则表明两种变量之间的交互作用显著(鄂恒超等 2022)。

由乙醇浓度和提取温度对麦角硫因提取量的响应面图及等高线图可见(图 6)，在固定液料比为 40:1 的条件下，随着温度和乙醇浓度的升高，麦角硫因的提取量呈现出先上升后下降的趋势。等高线在提取温度轴向上分布较为密集，而在乙醇浓度轴上则相对稀疏，这表明乙醇浓度对提取量的影响小于提取温度。结合单因素实验的显著性检验分析结果(表 4)，可以进一步看出，麦角硫因提取量对提取温度的变化更为敏感，尽管两者之间存在一定的交互性，但不

表 5 响应面分析实验设计及实验结果

Table 5 Response surface analysis experimental design and results

序号 No.	A 液料比 Liquid-solid ratio (mL/g)	B 乙醇浓度 Ethylalcohol concentration (%)	C 提取温度 Extraction temperature (°C)	Y 麦角硫因的提取量 Extraction yield of ergothioneine (mg/g)
1	30:1	50	70	0.222 2
2	40:1	60	50	0.211 8
3	30:1	40	60	0.220 4
4	50:1	50	50	0.215 5
5	40:1	50	60	0.230 8
6	50:1	60	60	0.217 1
7	40:1	40	50	0.217 5
8	40:1	50	60	0.235 6
9	40:1	50	60	0.237 2
10	40:1	50	60	0.235 2
11	40:1	50	60	0.235 6
12	40:1	40	70	0.223 0
13	40:1	60	70	0.226 4
14	50:1	50	70	0.220 2
15	50:1	40	60	0.231 3
16	30:1	50	50	0.218 4
17	30:1	60	60	0.220 3

表 6 回归方程方差分析

Table 6 Regression equation analysis of variance

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
Source	Sum of squares	df	Mean quare	F value	P value
模型 Model	9.774×10^{-4}	9	1.086×10^{-4}	9.77	0.003 3**
A	9.800×10^{-7}	1	9.800×10^{-6}	0.088	0.775 2
B	3.445×10^{-5}	1	3.445×10^{-5}	3.10	0.121 8
C	1.022×10^{-4}	1	1.022×10^{-5}	9.20	0.019 0*
AB	4.970×10^{-5}	1	4.970×10^{-5}	4.47	0.072 3
AC	2.025×10^{-7}	1	2.025×10^{-7}	0.018	0.896 4
BC	2.070×10^{-5}	1	2.070×10^{-5}	1.86	0.214 6
A ²	1.835×10^{-4}	1	1.835×10^{-4}	16.51	0.004 8**
B ²	1.517×10^{-4}	1	1.517×10^{-4}	13.64	0.007 7**
C ²	3.566×10^{-4}	1	3.566×10^{-5}	32.07	0.000 8**
残差 Residual	7.783×10^{-5}	7	1.112×10^{-5}		
失拟项 Lack of fit	5.467×10^{-5}	3	1.822×10^{-5}	3.15	0.148 6
纯误差 Pure error	2.317×10^{-5}	4	5.792×10^{-6}		
总离差 Cor total	1.055×10^{-3}	16			

注：*表示 $P<0.05$ ，差异显著；**表示 $P<0.01$ ，差异极显著

Note: * indicates $P<0.05$, significant difference; ** indicates $P<0.01$, extremely significant difference.

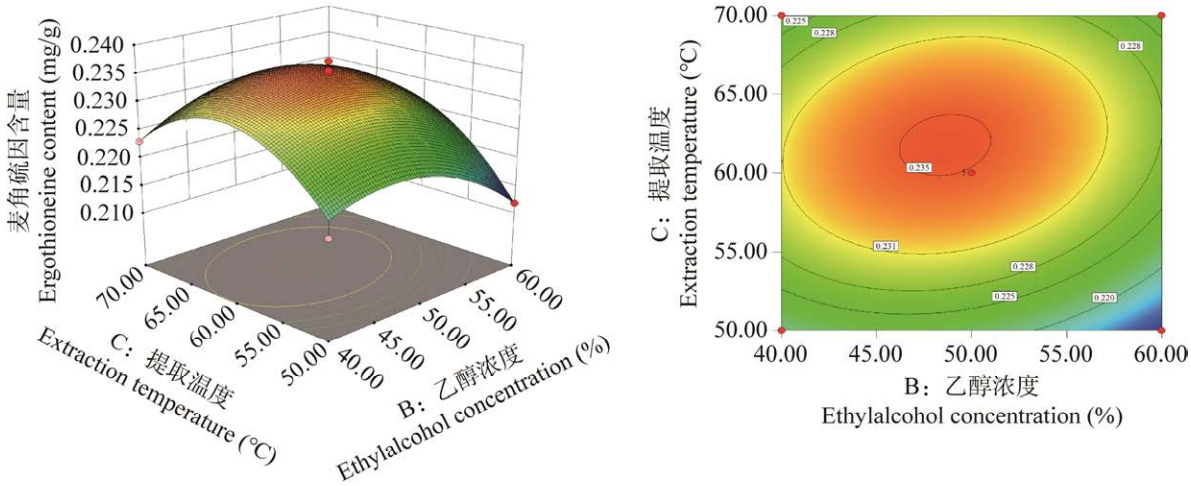


图 6 乙醇浓度和提取温度对麦角硫因提取量的响应面图及等高线图

Fig. 6 Response surface curve and contour plots of the interaction of ethylalcohol concentration and extraction temperature.

显著($P>0.05$)。响应面图开口向下，表明在所选实验范围内存在一个极大值，最佳提取条件在乙醇浓度 45%–55%、温度 55–65 °C 范围内。

由乙醇浓度和液料比对麦角硫因提取量的响应面图与等高线图可见(图 7)，在温度固定为

60 °C 的条件下，随着液料比和乙醇浓度的升高，麦角硫因的提取量呈现先上升后下降的趋势。等高线在液料比轴向上分布较为密集，而在乙醇浓度轴向上相对稀疏，这表明液料比对麦角硫因提取量的影响非常显著，而乙醇浓度

的影响相对较小。结合单因素实验的显著性检验分析结果(表 4),可以进一步确认麦角硫因提取量对液料比的变化更敏感,但两者之间交互作用不显著($P>0.05$)。此外,响应面图开口向下,表明在所选实验范围内存在极大值,最佳提取条件在乙醇浓度 45%–55%、液料比 35:1–50:1 范围内。

由液料比和提取温度对麦角硫因提取量的响应面图与等高线图可见(图 8),当乙醇浓度保

持在 50%时,随着温度和液料比的升高,麦角硫因的提取量呈现先上升后下降的趋势。等高线在提取温度轴向上较为密集,而液料比轴向上则相对稀疏,结合单因素实验的显著性检验分析结果(表 4),可以看出麦角硫因提取量对提取温度的变化更加敏感,但两者之间的交互性并不显著($P>0.05$)。响应面图开口朝下,表明在所选实验范围内存在极大值,最佳提取条件在液料比 35:1–50:1 和温度 55–65 °C 范围内。

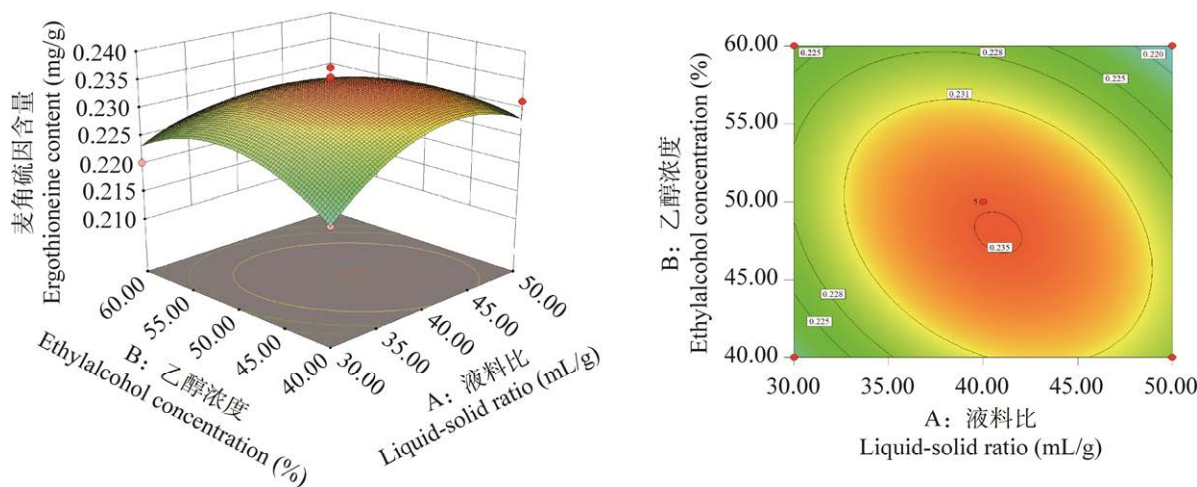


图 7 液料比和乙醇浓度对麦角硫因提取量的响应面图及等高线图

Fig. 7 Response surface curve and contour plots of the interaction of liquid-solid ratio and ethylalcohol concentration.

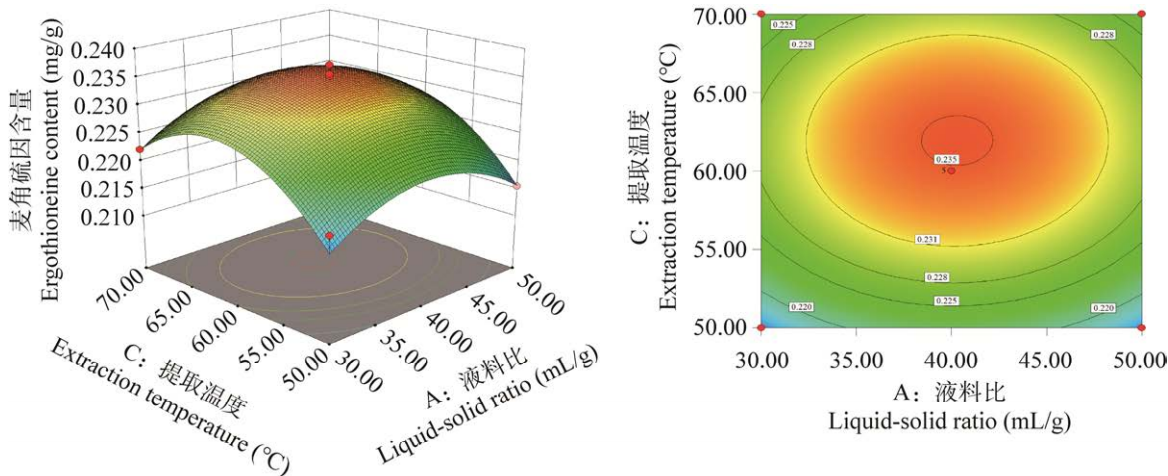


图 8 液料比和提取温度对麦角硫因提取量的响应面图及等高线图

Fig. 8 Response surface curve and contour plots of the interaction of liquid-solid ratio and extraction temperature.

2.2.4 响应面优化最佳工艺条件预测和验证

经 Design expert 8.0.6 软件优化得到的最优工艺参数为: 乙醇浓度 48.38%、液料比 40.73:1, 提取温度 61.75 °C、超声提取时间(35 kHz、20 min), 预计麦角硫因提取量为 0.235 mg/g。为便于操作, 将最佳工艺参数设定为乙醇浓度 50%、液料比 40:1、提取温度 60 °C。在该条件下进行 3 次平行实验, 最终计算出六妹羊肚菌边角料麦角硫因提取量为 $(0.236 \pm 0.000\ 887)$ mg/g, 与预测结果接近, 表明模型构建成功, 最佳工艺合理, 参数准确可靠。同时, 以此条件分别提取六妹羊肚菌的菌盖和菌柄中的麦角硫因, 提取量分别为: $(0.238 \pm 0.014\ 458)$ mg/g 和 $(0.225 \pm 0.020\ 289)$ mg/g, 证明六妹羊肚菌边角料(子实体干品收集、运输过程中产生的菌盖、菌柄碎屑)中麦角硫因含量介于二者之间, 具有极好的利用价值。

3 讨论与结论

Paul & Snyder (2009)发现麦角硫因是一种重要的生物抗氧化剂, 它能够与其他抗氧化剂一起作用, 防止线粒体中的氧化应激。早期的研究表明, 麦角硫因不是由动物合成的, 而是从饮食中大量摄取的(Cheah *et al.* 2017), 蘑菇的麦角硫因含量是所有食物来源中最高的, 是麦角硫因的主要膳食来源(Dubost *et al.* 2005; Tucker *et al.* 2019)。

本研究以干燥六妹羊肚菌边角料为原材料, 运用单因素实验和响应面法对六妹羊肚菌边角料中的麦角硫因进行提取工艺优化, 确定最佳提取工艺条件为: 液料比 40:1、乙醇浓度 50%、提取温度 60 °C、提取时间 20 min, 麦角硫因提取量为 $(0.236 \pm 0.000\ 887)$ mg/g, 与预测值误差为 0.426% (在 1%以内), 证明了二次回归方程的可靠合理和可行性。与羊肚菌 *M. esculenta* 中的麦角硫因提取量 0.47 和 1.1 mg/g 相比(Kalaras *et al.* 2017; 鄂恒超等 2022), 含量相对较少的原因可

能是: 羊肚菌的种类不同, 导致麦角硫因含量不同; 但六妹羊肚菌边角料中的麦角硫因含量高于冬虫夏草、灵芝、猴头菇、黑木耳、毛木耳、金针菇、猴头菇、银耳、蜜环菌等常见菌(表 1, 表 2)。因此, 本研究的提取方案可以为食药菌的麦角硫因提取提供参考, 为羊肚菌深加工产品开发以及边角料的再利用提供基础数据。

作者贡献

张凤明: 前期调查、论文构思及撰写; 甄梦玲: 数据收集与分析管理; 赵硕: 图表制作、软件; 田霞: 数据验证及审核; 于富强: 提供实验材料和菌种、论文设计。

利益冲突

作者声明, 该研究不存在任何潜在利益冲突的商业或财务关系。

[REFERENCES]

- Bazela K, Solyga-Zurek A, Debowska R, Rogiewicz K, Bartnik E, Eris I, 2014. L-ergothioneine protects skin cells against UV-induced damage-a preliminary study. *Cosmetics*, 1(1): 51-60
- Borodinal I, Kenny LC, McCarthy CM, Paramasivan K, Pretorius E, Roberts TJ, van der Hoek SA, Kell DB, 2022. The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical. *Nutrition Research Reviews*, 33(2): 190-217
- Cao L, 2020. Effects of *Morchella esculenta* polysaccharide on anti-fatigue and anti-hypoxia in mice. *Edible Fungi of China*, 39(6): 40-42 (in Chinese)
- Cheah IK, Halliwell B, 2021. Ergothioneine, recent developments. *Redox Biology*, 42: 101868
- Cheah IK, Tang RM, Yew TS, Lim KH, Halliwell B, 2017. Administration of pure ergothioneine to healthy human subjects: uptake, metabolism, and effects on biomarkers of oxidative damage and inflammation. *Antioxidants & Redox Signaling*, 26(5): 193-206
- Chen Q, Che CC, Yang SS, Ding PP, Si MR, Yang G, 2023. Anti-inflammatory effects of extracellular vesicles from *Morchella* on LPS-stimulated RAW264.7 cells via the ROS-mediated p38 MAPK signaling pathway. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 478(2): 317-327
- Chen SY, Ho KJ, Hsieh YJ, Wang LT, Mau JL, 2012a.

- Contents of lovastatin, γ -aminobutyric acid and ergothioneine in mushroom fruiting bodies and mycelia. *LWT-Food Science and Technology*, 47(2): 274-278
- Chen SY, Ho KJ, Liang CH, Tsai CH, Huang LY, Mau JL, 2012b. Preparation of culinary-medicinal king oyster mushroom *Pleurotus eryngii*-fermented products with high ergothioneine content and their taste quality. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(1): 85-93
- Cohen N, Cohen J, Asatiani MD, Varshney VK, Yu HT, Yang YC, Li YH, Mau JL, Wasser SP, 2014. Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher basidiomycetes mushroom. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(3): 273-291
- Dai YC, Yang ZL, 2008. A revised checklist of medicinal fungi in China. *Mycosystema*, 27: 801-824 (in Chinese)
- Daniel LS, Peters KM, Borradaile NM, 2021. Mushroom-derived medicine? Preclinical studies suggest potential benefits of ergothioneine for cardiometabolic health. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6): 3246
- Dubost NJ, Beelman RB, Peterson D, Royse DJ, 2005. Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography-mass spectroscopy. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 8(3): 215-222
- Dubost NJ, Beelman RB, Royse DJ, 2007. Influence of selected cultural factors and postharvest storage on ergothioneine content of common button mushroom *Agaricus bisporus* (J. Lge.) Imbach (Agaricomycetidae). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 9(2): 163-176
- E HC, Feng LL, Zhao XY, Li XB, Zhao ZY, He XW, Zhang YM, 2022. Determination of L-ergothioneine in edible fungi by ultra performance liquid chromatography and confirmation by mass spectrometry. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 41(5): 529-534 (in Chinese)
- Fan SH, Ren JX, Zhang JH, Jin XD, Bai BQ, 2019. Extraction optimization of *Morchella esculenta* polysaccharides by response surface methodology and its antioxidant activity. *Science and Technology of Food Industry*, 40(6): 179-185, 192 (in Chinese)
- Feng LL, E HC, Zhang YM, Li XB, Zhou CY, Zhao XY, Ren JL, 2021. Research progress on extraction, separation and detection of ergothioneine in edible fungi. *Acta Edulis Fungi*, 28(1): 115-123 (in Chinese)
- Fovet T, Guilhot C, Delobel P, Chopard A, Py G, Brioché T, 2022. Ergothioneine improves aerobic performance without any negative effect on early muscle recovery signaling in response to acute exercise. *Frontiers in Physiology*, 13: 834597
- Gursoy N, Sarikurkcu C, Cengiz M, Solak MH, 2009. Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9): 2381-2388
- He XY, Zhou ZY, Chen YY, Zhao JC, Li FH, Ming J, 2023. Bioactivity of ergothioneine and its application in food industry: a review. *Food and Fermentation Industries*, 49(10): 285-292 (in Chinese)
- Hu JJ, Zhang YX, Wang Y, Mo YL, Wang J, 2019. Optimization of extraction process of ergothioneine from *Flammulina velutipes* by response surface methodology. *Science and Technology of Food Industry*, 40(9): 171-177 (in Chinese)
- Huang Y, 2019. The studies on structure identification, bioactivity activity and the mechanism of anti-tumor activity of the *Morehella esculenta* (L.) Pers. polysaccharide (ME-X). MS Thesis, China West Normal University, Nanchong. 1-78 (in Chinese)
- Ishimoto T, Nakamichi N, Hosotani H, Masuo Y, Sugiura T, Kato Y, 2014. Organic cation transporter-mediated ergothioneine uptake in mouse neural progenitor cells suppresses proliferation and promotes differentiation into neurons. *PLoS One*, 9(2): e89434
- Ito T, Kato M, Tsuchida H, Harada E, Niwa T, Osawa T, 2011. Ergothioneine as an anti-oxidative/anti-inflammatory component in several edible mushroom. *Food Science and Technology Research*, 17(2): 103-110
- Kalaras MD, Richie JP, Calcagnotto A, Beelman RB, 2017. Mushrooms: a rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry*, 233: 429-433
- Kitsanayanyong L, Ohshima T, 2022. Ergothioneine: a potential antioxidative and antimelanosis agent for food quality preservation. *FEBS Letters*, 596(10): 1330-1347
- Ko HJ, Kim J, Ahn M, Kim JH, Lee GS, Shin T, 2021. Ergothioneine alleviates senescence of fibroblasts induced by UVB damage of keratinocytes via activation of the Nrf2/HO-1 pathway and HSP70 in keratinocytes. *Experimental Cell Research*, 400(1): 112516
- Koh SS, Ooi SCY, Lui NMY, Qiong C, Ho LTY, Cheah IKM, Halliwell B, Herr DR, Ong WY, 2021. Effect of ergothioneine on 7-ketocholesterol-induced endothelial injury. *Neuromolecular Medicine*, 23(1): 184-198
- Kuang MT, Xu JY, Li JY, Yang L, Hou B, Zhao Q, Hu JM, 2022. Purification, structural characterization and immunomodulatory activities of a polysaccharide from the fruiting body of *Morchella sextelata*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 213: 394-403

- Lee SR, Roh HS, Lee S, Park HB, Jang TS, Ko YJ, Baek KH, Kim KH, 2018. Bioactivity-guided isolation and chemical characterization of antiproliferative constituents from morel mushroom (*Morchella esculenta*) in human lung adenocarcinoma cells. *Journal of Functional Foods*, 40: 249-260
- Li F, Wang KH, Dong XB, Xu HD, 2022. Structure, conformation and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Morchella sextelata*. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(7): 4628-4637
- Li JL, Liu YT, Zong S, Zhang JQ, Ye M, 2020. *In vitro* hyperglycemic and hypolipidemic activity of *Morchella esculenta* extra-cellular polysaccharides. *Food Research and Development*, 41(16): 39-45 (in Chinese)
- Li YH, 2016. Study on processes of extraction and purification of ergothioneine from *Pleurotus eryngii* and its antioxidant activity. MS Thesis, South China Agricultural University, Guangzhou. 1-73 (in Chinese)
- Li YL, Zhang YF, Liu Z, Liu D, Chi RA, 2015. Optimization of microwave assisted extraction of ginsenosides and polysaccharide by response surface methodology. *China Medical Herald*, 12(16): 42-47 (in Chinese)
- Martinez-Medina GA, Chávez-González ML, Verma DK, Prado-Barragán LA, Martínez-Hernández JL, Flores-Gallegos AC, Thakur M, Srivastav PP, Aguilar CN, 2021. Bio-funcional components in mushrooms, a health opportunity: ergothioneine and huitlacoche as recent trends. *Journal of Functional Foods*, 77: 104326
- Mo YL, Li YH, Wang Y, Hu JJ, Zhang YX, Wang J, 2020. Optimization of ultrasonic combined microwave-assisted extraction of ergothioneine in *Pleurotus eryngii* by response surface methodology. *Science and Technology of Food Industry*, 41(1): 143-149 (in Chinese)
- Mukaidaisi MHMT, 2023. Isolation and purification of ergothioneine from *Phlebopus portentosus* and transcriptomic study on its inhibition of melanin production in B16F10 cells. MS Thesis, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou. 1-69 (in Chinese)
- Nitha B, Fijesh PV, Janardhanan KK, 2013. Hepatoprotective activity of cultured mycelium of morel mushroom, *Morchella esculenta*. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 65(1-2): 105-112
- Nitha B, Janardhanan KK, 2008. Aqueous-ethanolic extract of morel mushroom mycelium *Morchella esculenta*, protects cisplatin and gentamicin induced nephrotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 46(9): 3193-3199
- Pan HY, Guo LQ, Lin JF, 2019. Recent advances in understanding the *in vivo* distribution and metabolism of ergothioneine and its roles in disease prevention. *Food Science*, 40(23): 334-340 (in Chinese)
- Paul BD, Snyder SH, 2009. The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant. *Cell Death and Differentiation*, 17(7): 1134-1140
- Ramya H, Ravikumar KS, Fathimathu Z, Janardhanan KK, Ajith TA, Shah MA, Farooq R, Reshi ZA, 2022. Morel mushroom, *Morchella* from Kashmir Himalaya: a potential source of therapeutically useful bioactives that possess free radical scavenging, anti-inflammatory, and arthritic edema-inhibiting activities. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(5): 2014-2023
- Smith E, Ottosson F, Hellstrand S, Ericson U, Orho-Melander M, Fernandez C, Melander O, 2020. Ergothioneine is associated with reduced mortality and decreased risk of cardiovascular disease. *Heart*, 106(9): 691-697
- Tang Y, Chen JL, Li FH, Yang YX, Wu SR, Ming J, 2019. Antioxidant and antiproliferative activities of modified polysaccharides originally isolated from *Morchella angusticeps* Peck. *Journal of Food Science*, 84(3): 448-456
- Tanret C, 1909. The new base drawn from rye ergot, ergothioneine. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, 149: 222-224
- Tepwong P, Giri A, Sasaki F, Fukui R, Ohshima TM, 2012. Mycobial enhancement of ergothioneine by submerged cultivation of edible mushroom mycelia and its application as an antioxidative compound. *Food Chemistry*, 131(1): 247-258
- Tian JF, Shang YH, Xiao ZN, 2024. Research progress on nutrient composition, function and processing of morels. *Science and Technology of Food Industry*, 45(9): 419-428 (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
- Tucker RAJ, Cheah IK, Halliwell B, 2019. Specificity of the ergothioneine transporter natively expressed in HeLa cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 513(1): 22-27
- Valachova K, Svik K, Biro C, Collins MN, Jurcik R, Ondruska L, Soltes L, 2020. Impact of ergothioneine, hercynine, and histidine on oxidative degradation of hyaluronan and wound healing. *Polymers*, 13(1): 95
- Wan AL, 2019. Study of protective effects of ergothioneine in five boletus on liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. MS Thesis, Kunming University of Science and Technology, Kunming. 1-86 (in Chinese)
- Wang DD, Yin ZQ, Ma LK, Han L, Chen Y, Pan WJ, Gong K,

- Gao YY, Yang XX, Chen YL, Han JH, Duan Y, 2021. Polysaccharide MCP extracted from *Morchella esculenta* reduces atherosclerosis in LDLR-deficient mice. *Food & Function*, 12(11): 4842-4854
- Wang YH, Yan LL, Li JR, Zheng GY, 2023. Optimizing the extraction of ergothioneine from *Stropharia rugosoannulata* by response surface methodology and evaluating the stability of *in vitro* antioxidant capacity. *Journal of Food Safety and Quality*, 14(16): 293-302 (in Chinese)
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Xu HY, Xie ZL, Meng Q, Ma DJ, Sun LZ, 2022. Oxidative damage and antioxidant defenses of *Morchella spongiosa* in response to Cd stress. *Mycosystema*, 41(4): 668-679 (in Chinese)
- Xue L, 2014. Inhibitory effects of extracellular polysaccharides extracted from *Morchella esculenta* on S₁₈₀ sarcoma. *Journal of Shanxi College of Traditional Chinese Medicine*, 15(2): 27-29 (in Chinese)
- Yang H, Yan MM, 2012. Extraction of jujube polysaccharides with pectinase. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology*, 30(5): 62-66 (in Chinese)
- Yoshida S, Shime H, Funami K, Takaki H, Matsumoto M, Kasahara M, Seya T, 2017. The anti-oxidant ergothioneine augments the immunomodulatory function of TLR agonists by direct action on macrophages. *PLoS One*, 12(1): e0169360
- Zhang C, Zhao YM, Bai SF, Liu DL, 2013. HPLC determination of ergothioneine in mushrooms of different species. *Science and Technology of Food Industry*, 34(23): 307-310 (in Chinese)
- Zhao YM, Lei ZD, Liu CH, Liu DL, 2016. Determination of ergothioneine in multiple species of fungi by HPLC. *Food Research and Development*, 37(2): 117-119 (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 曹亮, 2020. 羊肚菌多糖对小鼠抗运动疲劳及耐缺氧的影响. *中国食用菌*, 39(6): 40-42
- 戴玉成, 杨祝良, 2008. 中国药用真菌名录及部分名称的修订. *菌物学报*, 27: 801-824
- 鄂恒超, 冯路路, 赵晓燕, 李晓贝, 赵志勇, 何香伟, 张艳梅, 2022. 超高效液相色谱法测定食用菌中 L-麦角硫因及质谱确证. *分析试验室*, 41(5): 529-534
- 范三红, 任嘉兴, 张锦华, 金晓弟, 白宝清, 2019. 响应面优化羊肚菌多糖提取工艺及抗氧化性. *食品工业科技*, 40(6): 179-185, 192
- 冯路路, 鄂恒超, 张艳梅, 李晓贝, 周昌艳, 赵晓燕, 任佳丽, 2021. 食用菌中麦角硫因提取分离和检测方法研究进展. *食用菌学报*, 28(1): 115-123
- 何鑫怡, 周子艺, 陈媛媛, 赵吉春, 李富华, 明建, 2023. 麦角硫因生物活性及其在食品工业中的应用. *食品与发酵工业*, 49(10): 285-292
- 胡晶晶, 张怡馨, 王艳, 莫宇丽, 王杰, 2019. 响应面法优化金针菇麦角硫因的提取工艺. *食品工业科技*, 40(9): 171-177
- 黄瑶, 2019. 羊肚菌多糖(ME-X)结构鉴定、生物活性及抗肿瘤机制的研究. 西华师范大学硕士论文, 南充. 1-78
- 李井雷, 刘玉婷, 宗帅, 张家奇, 叶明, 2020. 羊肚菌胞外多糖体外降血糖降血脂活性研究. *食品研究与开发*, 41(16): 39-45
- 李亚欢, 2016. 杏鲍菇中麦角硫因的提取纯化和抗氧化活性研究. 华南农业大学硕士论文, 广州. 1-73
- 李娅丽, 张越非, 刘哲, 刘迪, 池汝安, 2015. 响应曲面法优化人参皂苷及多糖微波辅助提取工艺. *中国医药导报*, 12(16): 42-47
- 莫宇丽, 李亚欢, 王艳, 胡晶晶, 张怡馨, 王杰, 2020. 响应面法优化超声微波联合提取杏鲍菇中麦角硫因工艺. *食品工业科技*, 41(1): 143-149
- 木开代斯·买合木提, 2023. 黑牛肝菌麦角硫因的分离纯化及抑制 B16F10 细胞黑色素生成的转录组学研究. 仲恺农业工程学院硕士论文, 广州. 1-69
- 潘虹余, 郭丽琼, 林俊芳, 2019. 麦角硫因机体内的分布与代谢及其在疾病中的作用研究进展. *食品科学*, 40(23): 334-340
- 田金凤, 尚远宏, 肖宗妮, 2024. 羊肚菌的营养成分、功能和加工的研究进展. *食品工业科技*, 45(9): 419-428
- 万安露, 2019. 五种牛肝菌中麦角硫因对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用. 昆明理工大学硕士论文, 昆明. 1-86
- 王艳辉, 闫林林, 李俊仁, 郑光耀, 2023. 响应面法优化大球盖菇麦角硫因的提取工艺及其体外抗氧化能力稳定性的考察. *食品安全质量检测学报*, 14(16): 293-302
- 徐鸿雁, 谢占玲, 孟清, 马德娟, 孙灵芝, 2022. 镉胁迫小海绵羊肚菌氧化损伤及其抗氧化防御. *菌物学报*, 41(4): 668-679
- 薛莉, 2014. 羊肚菌胞外粗多糖对 S₁₈₀ 肉瘤小鼠的抑制实验. *山西中医学院学报*, 15(2): 27-29
- 杨辉, 闫明明, 2012. 果胶酶提取大枣多糖的工艺研究. *陕西科技大学学报*, 30(5): 62-66
- 张翠, 赵艳敏, 白淑芳, 刘岱琳, 2013. HPLC 法测定不同品种蘑菇中麦角硫因的含量. *食品工业科技*, 34(23): 307-310
- 赵艳敏, 雷智东, 刘成航, 刘岱琳, 2016. 高效液相色谱法测定多种真菌中麦角硫因含量. *食品研究与开发*, 37(2): 117-119