

虎掌菌菌丝富硒培养的研究

周连玉, 焦璐, 李逢劲

(青海师范大学生命科学学院 青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室, 青海 西宁 810008)

摘要 为生产合适的硒源提供一种思路,以菌丝体生物量、含硒量、还原糖、氨态氮和蛋白质为指标,采用四因素三水平正交设计法优化虎掌菌的富硒发酵条件,探讨不同浓度的硒对虎掌菌固体培养菌丝生长和液体培养产生的生物组分的影响。结果表明,高浓度的硒抑制虎掌菌菌丝体生长;正交试验选择不同的衡量指标,由极差分析得出各因素的影响程度大小,结合证实试验得到以还原糖为指标的最优组合为葡萄糖 6% (质量分数)、酵母浸膏 3% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.1% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.6 mmol/L,其菌丝体生物量和氨态氮含量较高。与对照相比,加硒后虎掌菌发酵液中氨态氮、还原糖和总糖含量显著增加 ($P < 0.05$);当硒浓度为 0.5 mmol/L 时,氨态氮、还原糖和总糖含量均达到最高值。菌丝体生物量和可溶性蛋白质分别在硒浓度为 0.2 mmol/L 和 0.4 mmol/L 时达到最大值。虎掌菌富硒培养后,发酵液的营养成分含量会发生变化。

关键词 虎掌菌;富硒;发酵条件;优化

中图分类号 Q93-31

文献标识码 A

文章编号 1005-7021(2020)02-0072-09

doi:10.3969/j.issn.1005-7021.2020.02.009

The Selenium-Enrichment Cultivation of *Sarcodon aspratus* Mycelial

ZHOU Lian-yu, JIAO Lu, LI Feng-jin

(Key Lab. of Official Plant & Animal Res. of Qinghai-Tibetan Plat. in Qinghai Prov.,
Schl. of Life Sci., Qinghai Normal Uni., Xining 810008)

Abstract In order to provide a line of thinking to produce a suitable selenium source, the selenium-enrichment fermentation conditions of *Sarcodon aspratus* was optimized adopting orthogonal design of four factors and three levels as tested indicators including mycelial biomass, selenium content, reducing sugar, ammonia nitrogen and soluble protein, and the effects of different concentrations of selenium on mycelial growth in solid culture and biological components in liquid culture of *S. aspratus* were studied. The results showed that high selenium concentration inhibited the mycelial elongation growth of *S. aspratus*. The extreme difference analysis results of orthogonal experiments showed the order of the four factor effects for testing indicators, combined with the results obtained by certifying experiment confirmed that the optimized combination of taking reducing sugar as a target was glucose 6% (w/v), yeast extract 3% (w/v), KH_2PO_4 0.1% (w/v), and Na_2SeO_3 0.6 mmol/L, and the mycelial biomass and the content of ammonia nitrogen were comparatively high. As compared with the control, after adding selenium the contents of ammonia nitrogen, reducing sugar, and total sugar in the liquid fermented broth of *S. aspratus* significantly increased ($P < 0.05$), when the selenium concentration was at 0.5 mmol/L the ammonia nitrogen, reducing sugar and total sugar were all reached to the peak. The mycelial biomass and soluble protein content reached the maximum when the selenium concentration was at 0.2 mmol/L and 0.4 mmol/L respectively. The content of nutritional components in fermentation broth would change after *S. aspartus* was cultured in selenium enrichment.

Keywords *Sarcodon aspratus*; selenium-enrichment; fermentation condition; optimization

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(31760697);青海师范大学本科生科技创新项目(qhnuxskj2019018)

作者简介:周连玉 女,副教授,博士。主要从事微生物资源开发与研究。E-mail: zly7604@163.com

收稿日期:2019-10-09

虎掌菌(*Sarcodon aspratus*)又名翘鳞肉齿菌,是一种比较名贵的野生食用菌,其研究多集中于人工栽培^[1-2]、组成成分的提取^[3-5]以及活性的测定^[6]等方面。以菌丝体生物量或胞外多糖为指标,采用正交设计方法优化液体培养虎掌菌发酵条件^[7-8]。目前采用液体发酵技术生产菌丝体和一些代谢物,可以克服栽培蕈菌子实体时遇到的困难。微量元素硒(Se)在人及动物体内发挥着许多生物学功能。硒的吸收利用与其化学形态有关,无机硒毒性较大且不利于吸收,而有机硒毒性较弱又利于吸收^[9]。目前较多的生物可以将外源无机硒转换为有机硒,香菇、灵芝、灰树花、鸡腿菇等多种蕈菌都具有富硒能力,并且不同的蕈菌液体耐硒能力不同^[10-13]。适宜的亚硒酸钠浓度可以增加不同蕈菌菌株液体发酵的菌丝体干重和发酵液中营养成分以及提高生物活性^[13-15]。而有关虎掌菌液体富硒培养的研究鲜见报道。本研究采用多个衡量指标通过三因素四水平正交设计优化虎掌菌富硒液体发酵工艺条件,进而筛选最佳发酵条件;基于优化的发酵条件,添加不同硒浓度,探讨硒对虎掌菌液体培养液中生物组分的影响,为更好理解蕈菌富硒机理提供科学依据,为生产合适的硒源提供一种思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 虎掌菌(*Sarcodon aspratus*)菌株 HZ,由青海师范大学生命科学学院微生物实验室提供。

1.1.2 培养基 PDA 培养基:用于纯化菌株和固体培养;液体种子培养基:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 自然;基础发酵培养基:葡萄糖 20 g,酵母浸膏 15 g, KH_2PO_4 1.0 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 自然。

1.1.3 仪器与设备 立式压力蒸汽灭菌锅(LS-35HD 型,江阴滨江医疗设备有限公司);生化培养箱(250B 型,金坛市富华仪器有限公司);超净工作台(CJ-1S 型,天津市泰斯特仪器有限公司);可见分光光度计(V-5100 型,金坛市富华仪器有限公司);水浴恒温振荡器(SHA-C 型,金坛市天竞实验仪器厂);离心机(TD5A 型,湖南赫西仪器装备有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 虎掌菌固体富硒培养 分别制备含亚硒酸钠浓度 0(CK)、0.2、0.4、0.6、0.8 mmol/L 的 PDA 平板,使用打孔器将虎掌菌菌落打孔成 4 mm 直径规格的菌块,接入制备好的平板中央,每个浓度重复 10 个培养皿,25 ℃ 培养,待菌丝萌发后,观察菌丝生长情况。

1.2.2 制备液体菌种 250 mL 三角瓶中装入 100 mL 培养液,取 3 块直径 4 mm 菌块接到三角瓶中,25 ℃,130 r/min 振荡培养 4 d,所得发酵液即为液体菌种。

1.2.3 虎掌菌液体富硒条件的优化及验证 选择葡萄糖(A)、酵母浸膏(B)、 KH_2PO_4 (C)、 Na_2SeO_3 (D)为主要影响因素,每个因素设定 3 个水平(表 1),通过正交试验确定 9 个试验组合(表 2),按 5% 接种量将液体菌种接入到发酵培养基中,25 ℃ 培养 6 d。以菌丝体干重、硒含量、还原糖、氨态氮、蛋白质为衡量指标,根据正交试验的结果选择最优发酵条件的组合进行验证试验。

表 1 富硒虎掌菌液体培养的正交试验设计
Table 1 Orthogonal experimental design for liquid culture of selenium-enriched *S. aspratus*

水平	因素			
	A/%	B/%	C/%	D/(mmol · L ⁻¹)
1	2	1.5	0.1	0.2
2	4	3.0	0.2	0.4
3	6	4.5	0.3	0.6

1.2.4 不同浓度硒对虎掌菌液体培养的影响 结合上述试验结果,选择最佳的发酵条件,分别配置含亚硒酸钠浓度为 0(CK)、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mmol/L 的液体培养基,250 mL 三角瓶中装入 95 mL 的培养液,接入 5 mL 液体菌种,25 ℃ 培养 6 d。

1.2.5 测定指标 ①菌丝体生物量:将发酵产物 4 000 r/min 离心 10 min,分别收集菌丝体和发酵液。菌丝体于 60 ℃ 烘干至恒重,电子分析天平称重。②pH:pH 测试仪测定发酵液的 pH。③氨态氮:甲醛滴定法测定发酵液氨态氮含量^[16]。④蛋白质:考马斯亮蓝 G-250 法测定发酵液蛋白质的含量。⑤还原糖:3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定发酵液还原糖的含量^[16]。⑥总糖:蒽酮-硫酸法测定

发酵液总糖的含量^[16]。⑦硒含量:广东东方纵横检测有限公司采用 GB5009.93-2017 氢化物原子荧光光谱法^[17]测定发酵液和菌丝体的硒含量。

1.2.6 统计分析 试验数据结果均采用平均值±标准差表示,各项指标采用 SPSS16.0 统计分析软件进行相关性分析或单因素方差分析(LSD, $P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同硒浓度对虎掌菌菌丝生长的影响

由图 1 可以看出,在固体培养基上不同浓度的亚硒酸钠对虎掌菌菌丝生长有一定的抑制作用,且随着亚硒酸钠浓度的增加,其抑制作用呈增强趋势。

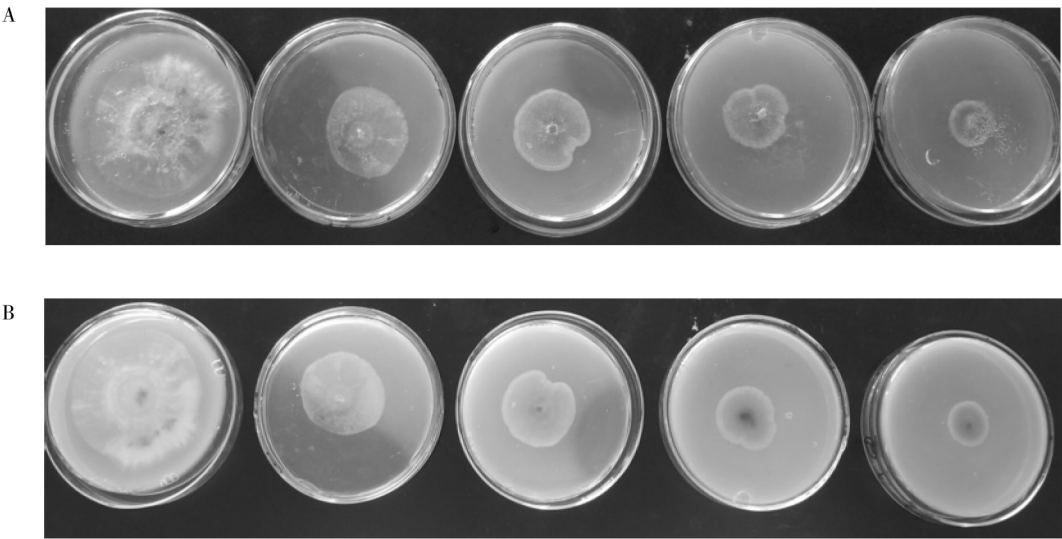


图 1 虎掌菌菌株在 PDA 培养基上培养 10 d 菌落特征的正面视图(A)和反面视图(B)

Fig. 1 Upper surface (A) and underside (B) of the 10 day colony of *S. aspratus* cultured in PDA medium

从左至右亚硒酸钠浓度依次为 0、0.2、0.4、0.6、0.8 mmol/L

Sodium selenite concentrations from left to right are 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mmol/L, respectively

2.2 虎掌菌液体富硒条件的优化

采用四因素三水平的正交试验得到各项指标

的测定值(表 2),并进行极差分析,结果见表 3。

表 2 富硒虎掌菌正交试验

Table 2 Orthogonal test results of selenium-enriched *S. aspratus*

试验 编号	因素				菌丝体干重/ (mg·mL ⁻¹)	菌丝体含硒量/ (×10 ⁴ mg·kg ⁻¹)	发酵液含硒量/ (mg·L ⁻¹)	蛋白质/ (μg·mL ⁻¹)	还原糖/ (mg·mL ⁻¹)	氨态氮/ (mg·mL ⁻¹)	pH
	A	B	C	D							
1	1	1	1	1	0.14±0.02	2.74±0.03	1.47±0.08	66.33±2.74	1.51±0.07	0.27±0.01	5.26
2	1	2	2	2	0.41±0.02	5.64±0.05	1.50±0.06	51.90±0.43	1.99±0.02	0.42±0.01	5.21
3	1	3	3	3	0.42±0.01	9.94±0.11	4.34±0.05	73.91±1.64	1.86±0.02	0.74±0.03	5.25
4	2	1	2	3	0.42±0.01	5.48±0.13	7.55±0.17	38.57±0.79	2.30±0.05	0.29±0.01	5.42
5	2	2	3	1	0.25±0.03	3.12±0.07	0.61±0.06	43.68±1.11	3.19±0.05	0.44±0.02	5.20
6	2	3	1	2	0.40±0.02	5.18±0.13	2.48±0.04	35.98±0.34	2.28±0.08	0.45±0.01	4.78
7	3	1	3	2	0.50±0.03	4.65±0.11	8.21±0.15	32.71±0.17	3.33±0.04	0.47±0.01	5.31
8	3	2	1	3	0.44±0.02	6.62±0.19	1.43±0.03	30.41±0.78	5.27±0.09	0.39±0.02	5.20
9	3	3	2	1	0.18±0.02	2.39±0.04	1.04±0.06	32.42±0.43	4.47±0.03	0.50±0.01	5.13

以菌丝体干重为指标,由表 3 可知,各因素影响效果大小为亚硒酸钠 > KH_2PO_4 > 葡萄糖 > 酵母浸膏,最佳组合为 $\text{A}_3\text{B}_2\text{C}_3\text{D}_2$ 。以菌丝体硒含量为指标,各因素影响效果大小为 Na_2SeO_3 > 葡萄糖 > 酵母浸膏 > KH_2PO_4 ,最佳组合为 $\text{A}_1\text{B}_3\text{C}_3\text{D}_3$ 。以发酵液硒含量为衡量指标,影响效果大小依次为酵母浸膏 > Na_2SeO_3 > KH_2PO_4 > 葡萄糖,最佳组合为 $\text{A}_3\text{B}_1\text{C}_3\text{D}_3$ 。以蛋白质含

量为衡量指标的影响效果大小依次为葡萄糖 > KH_2PO_4 > Na_2SeO_3 > 酵母浸膏,最佳组合为 $\text{A}_1\text{B}_3\text{C}_3\text{D}_3$ 。以氨态氮含量为衡量指标,影响效果大小依次为酵母浸膏 > KH_2PO_4 > 葡萄糖 > Na_2SeO_3 ,最佳组合为 $\text{A}_1\text{B}_3\text{C}_3\text{D}_3$ 。以还原糖含量为衡量指标的影响效果大小依次为葡萄糖 > 酵母浸膏 > Na_2SeO_3 > KH_2PO_4 ,最佳组合为 $\text{A}_3\text{B}_2\text{C}_1\text{D}_3$ 。

表 3 正交试验极差分析
Table 3 Range analysis of orthogonal experiments

测定 指标	菌丝体干重/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)				菌丝体硒含量/ ($\times 10^4 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				发酵液硒含量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)				蛋白质/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)				还原糖/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)				氨态氮/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
K_1	0.97	1.06	0.98	0.57	18.32	12.87	14.54	8.25	7.31	17.23	5.38	3.12	192.14	137.61	132.72	142.43	5.36	7.14	9.06	9.17	1.43	1.03	1.11	1.21
K_2	1.07	1.10	1.01	1.31	13.78	15.38	13.51	15.47	10.64	3.54	10.09	12.19	118.23	125.99	122.89	120.59	7.77	10.45	8.76	7.60	1.18	1.25	1.21	1.34
K_3	1.12	1.00	1.17	1.28	13.66	17.51	17.71	22.04	10.68	7.86	13.16	13.32	95.54	142.31	150.30	142.89	13.07	8.61	8.38	9.43	1.36	1.69	1.65	1.42
R	0.15	0.10	0.19	0.74	4.66	4.64	4.20	13.79	3.37	13.69	7.78	10.20	96.60	16.32	27.41	22.30	7.71	3.31	0.68	1.83	0.25	0.66	0.54	0.21
水平 大小	321	213	321	231	123	321	312	321	321	132	321	321	123	312	312	312	321	231	123	312	132	321	321	321
主次因素	D>C>A>B				D>A>B>C				B>D>C>A				A>C>D>B				A>B>D>C				B>C>A>D			

2.3 验证虎掌菌富硒发酵条件

以菌丝体干重、硒含量、还原糖、氨态氮、蛋白质为衡量指标,得到 4 种最优组合的富硒发酵条件,进一步验证,结果见表 4。与 CK 处理相比,虎掌菌在 4 种优化发酵条件下所获得菌丝体生物量、氨态氮以及还原糖的含量均显著性增多($P < 0.05$),而蛋白质的含量显著性减少($P < 0.05$),综合各项指标,以还原糖含量为指标的发酵条件下产生的还原糖、氨态氮及菌丝体生物量均较高,所以确定最佳发酵条件为葡萄糖 6% (质量分数)、酵母浸膏 3% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.1% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.6 mmol/L。

2.4 不同硒浓度对虎掌菌液体培养生物组分的影响

2.4.1 不同硒浓度对虎掌菌液体培养菌丝体和 pH 的影响 不同硒浓度对虎掌菌液体培养菌丝体生物量和 pH 的影响见图 2。与 CK 相比较,0.1~0.3 mmol/L 硒浓度下,pH 值有所增高,而 0.4~0.7 mmol/L 硒浓度下,pH 值有所降低。与 CK 相比较,0.2 mmol/L 硒浓度培养情况下,菌丝体干重含量最高。

表 4 富硒虎掌菌正交试验的验证结果

Table 4 Verification results of orthogonal test of selenium-enriched *S. aspratus*

编号	pH	菌丝体/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	氨态氮/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	还原糖/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	蛋白质/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
CK	5.21	0.81±0.05c	0.19±0.02c	1.30±0.04e	64.53±1.04a
1	5.15	1.13±0.21a	0.58±0.01a	3.56±0.09d	29.87±0.53d
2	5.17	1.02±0.03ab	0.58±0.01a	6.10±0.01a	31.37±0.20e
3	5.28	0.90±0.11bc	0.54±0.00b	3.82±0.10c	36.20±0.53b
4	5.13	1.03±0.05ab	0.53±0.02b	4.59±0.07b	32.40±0.53c

注:1:以菌丝体干重为指标的优化培养基配方:葡萄糖 6% (质量分数)、酵母浸膏 3% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.3% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.4 mmol/L; 2:以还原糖含量为指标的优化培养基配方:葡萄糖 6% (质量分数)、酵母浸膏 3% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.1% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.6 mmol/L;3:以氨态氮、蛋白质、发酵液硒含量为指标的优化培养基配方:葡萄糖 6% (质量分数)、酵母浸膏 1.5% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.1% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.6 mmol/L;4:以菌丝体硒含量为指标的优化培养基配方:葡萄糖 2% (质量分数)、酵母浸膏 4.5% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.3% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.6 mmol/L。同列的小写字母表示试验组之间所测指标的显著性差异($P < 0.05$)

2.4.2 不同硒浓度对虎掌菌液体培养还原糖和总糖的影响 从图 3 可以看出,不同硒浓度对虎

掌菌液体培养还原糖和总糖的影响,与 CK 相比较,加硒后发酵液中还原糖及总糖显著增多($P < 0.05$)。在硒浓度为 0.5 mmol/L 时,还原糖和总糖含量达到最高值。

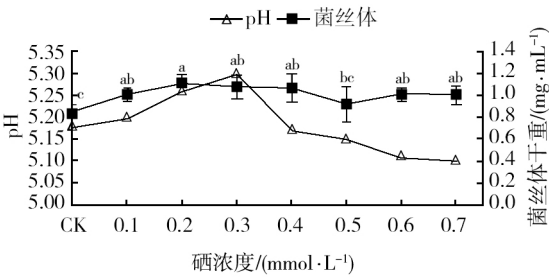


图2 不同硒浓度对虎掌菌液体培养菌丝体和 pH 的影响

Fig. 2 Effects of selenium concentration on mycelial and pH of *S. aspratus* in liquid culture

小写字母表示不同硒浓度之间虎掌菌液体培养菌丝体的显著性差异($P < 0.05$)

Non-matching lower case letters indicate a significant difference in mycelial of *S. aspratus* in liquid culture($P < 0.05$)

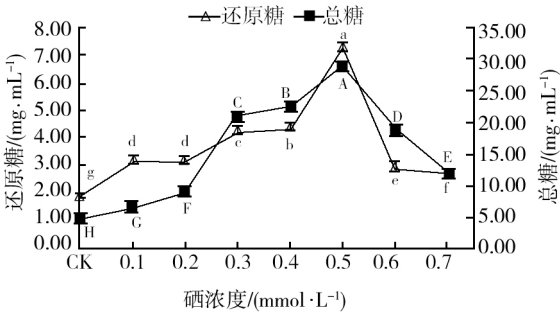


图3 不同硒浓度对虎掌菌液体培养还原糖和总糖的影响

Fig. 3 Effects of selenium concentration on reducing sugar and total sugar of *S. aspratus* in liquid culture

小写字母表示不同浓度之间虎掌菌液体培养还原糖的显著性差异($P < 0.05$),大写字母表示不同浓度之间虎掌菌液体培养总糖的显著性差异($P < 0.05$)

Non-matching lower case letters indicate a significant difference in reducing sugar of *S. aspratus* in liquid culture($P < 0.05$),

Non-matching upper case letters indicate a significant difference in total sugar of *S. aspratus* in liquid culture($P < 0.05$)

2.4.3 不同硒浓度对虎掌菌液体培养氨态氮和可溶性蛋白质的影响

不同硒浓度对虎掌菌液体培养氨态氮和可溶性蛋白质的影响结果见图 4。

与 CK 相比较,不同硒浓度培养情况下氨态氮含量显著增加($P < 0.05$),当硒浓度为 0.5 mmol/L 时氨态氮含量达到最高值。与 CK 相比较,硒浓度为 0.3 ~ 0.4 mmol/L 时,可溶性蛋白质含量显著性增多,而其他硒浓度下,可溶性蛋白质显著下降($P < 0.05$)。

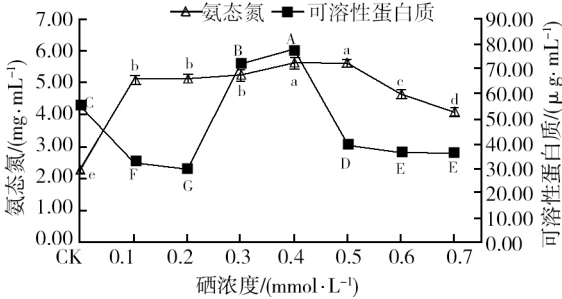


图4 不同硒浓度对虎掌菌液体培养氨态氮和可溶性蛋白质的影响

Fig. 4 Effects of selenium concentration on ammonia nitrogen and soluble protein of *S. aspratus* in liquid culture

小写字母表示不同浓度之间虎掌菌液体培养氨态氮的显著性差异,大写字母表示不同浓度之间虎掌菌液体培养可溶性蛋白质的显著性差异($P < 0.05$)

Non-matching lower case letters indicate a significant difference in ammonia nitrogen of *S. aspratus* in liquid culture($P < 0.05$),

Non-matching upper case letters indicate a significant difference in soluble protein of *S. aspratus* in liquid culture($P < 0.05$)

3 讨论

一些研究者通过添加不同浓度的硒源研究蕈菌菌丝在固体培养基上的耐受力。香菇 Q12 菌株菌丝在 0 ~ 110 mg/L 不同亚硒酸钠的固体培养基上均能生长,0 ~ 30 mg/L 菌丝生长速度不断增加,而大于 30 mg/L 后,菌丝生长速度逐渐降低^[18]。用含有不同浓度亚硒酸钠(0、20、50、100、150、200、250、300 mg/kg)的固体培养基对灰树花 GF5 菌株进行培养,菌丝在含 20 ~ 100 mg/kg 平板上能正常萌发,其生长速度明显高于对照;150 ~ 200 mg/kg 硒浓度抑制菌丝萌发和生长速度^[13]。本研究发现虎掌菌在不同亚硒酸钠 0、0.2、0.4、0.6、0.8 mmol/L 条件下,随着硒浓度增加菌丝生长的速度减慢(图 1)。可见不同蕈菌对硒的耐受性不同。

蕈菌液体富硒培养产生的菌丝生物量、菌体含硒量等物质与所选择的培养基成分及含量有

关。以大球盖菇菌丝体生物量、总硒浓度、富硒率和有机化程度为指标,选取葡萄糖、酵母浸粉和亚硒酸钠进行 $L_9(3^3)$ 正交试验,对培养基组分进行优化。极差分析结果表明各因素对大球盖菇生物量和富硒的影响大小依次为亚硒酸钠添加量 > 酵母浸粉 > 葡萄糖,最优组合为葡萄糖 20 g/L、酵母浸粉 4 g/L、 $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 20 mg/L^[19]。以菌丝生物量、有机硒及富硒率为指标,碳源、氮源、pH、维生素 4 种因素对茶树菇 3 个指标的影响主次关系不一致,根据硒含量和富硒率确定最优组合^[20]。本研究结果表明,4 个因素对不同指标的影响也有差异,通过验证试验得到最优组合为葡萄糖 6% (质量分数)、酵母浸膏 3% (质量分数)、 KH_2PO_4 0.1% (质量分数)、 Na_2SeO_3 0.6 mmol/L。不同蕈菌采用不同的衡量指标得到的富硒液体优化条件不同。

通过微生物富集硒后,菌丝体或发酵液的营养价值会发生变化。不同亚硒酸钠浓度(0 ~ 300 mg/L)对金耳发酵液中游离氨基酸、蛋白质、总糖和还原糖含量的作用也各异^[14],当在 10 mg/L 浓度下蛋白质含量最多,而游离氨基酸的含量为最低值;总糖和还原糖的含量随着 Na_2SeO_3 浓度的增加而逐渐增加,而菌丝生长量反之下降。本研究为亚硒酸钠浓度为 0 ~ 0.7 mmol/L,在 0.2 mmol/L 浓度下菌丝体生物量最多,还原糖和总糖含量均为硒浓度为 0.5 mmol/L 时达到最高值;与 CK 相比较,不同硒浓度促进氨态氮显著增加($P < 0.05$),当硒浓度为 0.3 ~ 0.4 mmol/L 时,可溶性蛋白质含量显著性增多($P < 0.05$)。不同菌株在一定硒浓度下富硒后能提高蕈菌代谢产物的营养价值,因此可作为补硒营养品。

本研究发现虎掌菌具有一定耐硒能力,以不同指标得到不同的虎掌菌富硒发酵条件,经过验证试验得出虎掌菌富硒最优条件,不同浓度的硒对虎掌菌液体培养液中的 pH、菌丝体、还原糖、总糖、氨态氮和蛋白质有一定的影响,而对虎掌菌液体培养菌丝体中生物组分或生物组分的生物活性的影响还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 马占宝. 虎掌菌种植对温度的要求及调控[J]. 山东林业科技, 2015, 45(3): 89-90.
- [2] 王文和. 虎掌菌林地仿生态种植技术[J]. 山东林业科技, 2014, 44(5): 98-100.
- [3] 刘源, 杨刚, 杨学武. 微波预处理水提法优化甘孜虎掌菌多糖的提取工艺[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(4): 127-129.
- [4] 苗笑, 谷大海, 王桂瑛, 等. 响应曲面法优化超临界 CO_2 萃取虎掌菌精油工艺及其挥发性化合物成分分析[J]. 现代食品科技, 2018, 34(5): 148-157.
- [5] 王雪冰, 赵天瑞, 樊建. 响应曲面法优化虎掌菌多糖提取工艺研究[J]. 西南大学学报, 2011, 33(7): 146-152.
- [6] 陈龙, 郭永红, 曹建新, 等. 虎掌菌酶解提取物抑菌试验研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(1): 42-44.
- [7] 刘成荣, 张力夫. 虎掌菌液体发酵工艺条件研究[J]. 德州学院学报, 2009, 25(6): 34-37.
- [8] Joo JH, Lim JM, Kim HO, et al. Optimization of submerged culture conditions for exopolysaccharide production in *Sarcodon aspratus* (Berk) S. Ito TG-3[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2004, 20(7): 767-773.
- [9] Rayma MP. The importance of selenium to human health[J]. Lancet, 2000, 356(9225): 233-241.
- [10] Vetchinkina E, Loshchinina E, Kursky V, et al. Reduction of organic and inorganic selenium compounds by the edible medicinal basidiomycete *Lentinula edodes* and the accumulation of elemental selenium nanoparticles in its mycelium[J]. Journal of Microbiology, 2013, 51(6): 829-835.
- [11] Vetchinkina EP, Loshchinina EA, Kursky VF, et al. Biological synthesis of selenium and germanium nanoparticles by xylophilic basidiomycetes[J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2016, 52(1): 87-97.
- [12] 胡海涛, 袁林喜, 郑璞, 等. 4 种食用菌硒积累能力比较与硒形态研究[J]. 中国食用菌, 2012, 31(3): 38-41.
- [13] 沈霞, 余胜光. 灰树花的富硒深层培养及其营养成分分析[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2009, 40(4): 521-527.
- [14] 黄六容, 赵康妹, 张莹, 等. 硒对金耳发酵液营养成分和抗氧化能力的影响[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(9): 2231-2233.
- [15] Hu Y, Shi SY, Lu L, et al. Effects of selenizing modification on characteristics and antioxidant activities of *Inonotus obliquus* polysaccharide[J]. Macromolecular Research, 2017, 25(3): 222-230.
- [16] 李和生. 食品分析[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- [17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会和国家食品药品监督管理总局. GB5009.93-2017 食品安全国家标准食品中硒的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [18] 乔艳明, 柳林, 陈文强. 基于富硒条件下高温型香菇的液体培养基优化[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2018, 40(3): 34-41.
- [19] 余海立, 汪瑾雨, 毛成凤, 等. 正交试验优化大球盖菇富硒发酵工艺[J]. 食品工业, 2018, 39(2): 103-107.
- [20] 赵金凤, 刘朝贵. 茶树菇富硒液体发酵培养基的优化[J]. 食用菌, 2018, (2): 21-24.