

硒对松口蘑深层发酵的作用研究

王晓光, 辛树权, 赵骥民

(长春师范学院 生命科学院 吉林 长春 130032)

摘要:以松口蘑为材料,在发酵培养基中添加不同浓度的硒,测定分析了松口蘑菌丝体的生物量、多糖含量、硒的积累量。结果表明:0~40 $\mu\text{g/mL}$ 的硒浓度对松口蘑菌丝体的生物量和多糖含量的增加都有促进作用,且随着浓度的增高促进作用加强,40 $\mu\text{g/mL}$ 以上的硒浓度有抑制作用,随着浓度的增高抑制作用增强;硒浓度在 0~50 $\mu\text{g/mL}$ 时,硒在菌丝体中的积累量随着硒浓度的增加而增加,当硒浓度超过 50 $\mu\text{g/mL}$ 时,硒在菌丝体中的积累量开始下降。

关键词: 硒;松口蘑;深层发酵

中图分类号: S 646.1⁺5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)12-0156-03

硒(Se)是人体必需的微量元素之一,参与人体许多生理代谢过程,缺硒会导致多种疾病^[1]。世界上有 40 多个国家土壤中缺硒,我国有 72% 的地区属于缺硒地区,且自然界中硒常以无机盐形式存在,不利于人体吸收^[2]。近年来,国内外研究发现,真菌的菌丝体具有较强的富集硒的能力,能将无机硒结合到生物大分子上,转化为有机硒多糖和硒蛋白,从而有利于人体吸收,并使之成为对人类较为理想的富硒保健品^[3]。

松口蘑是一种珍贵的野生食用菌,被称之为食用

菌之王。松口蘑菇体肥厚,鲜香宜人,具有香味独特、营养丰富、强身驱虫、止痛理气、化痰、抗癌等功效^[4]。由于松口蘑是与赤松等共生的菌根真菌,在很多共生理方面的问题没有探明之前,还难以像其它食用菌那样进行人工栽培^[5]。试验分析证明,松口蘑菌丝体的营养价值、保健功能、香气成分等十分近似于子实体。以松口蘑菌丝体为媒介,采用深层发酵工艺培养菌丝体来富集和转化硒,进行保健食品和饮品加工是松口蘑研究和开发的方向。但是,硒属于微量元素,硒在被松口蘑菌丝体富集和转化的同时,过量的硒浓度可能对松口蘑菌丝体生长和菌丝体中的成分积累起到阻碍作用。为了探讨硒在松口蘑菌丝体中的富集和硒对菌丝体生长影响之间的关系,研究了不同硒浓度对深层培养的松口蘑菌丝体生长、胞外多糖、胞内多糖及菌丝中硒积累量的影响,以期开发富硒松口蘑保健食品和饮品提供依据。

第一作者简介: 王晓光(1958-),女,教授,现主要从事细胞及遗传学的教学工作。E-mail: zhaogroup @126.com.

基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20100255)。

收稿日期: 2011-04-01

Screening Test on Recipes of Liquid Spawn Culture Solution of *Flammulina velutipes* (Fr.) Sing.

GAO Shu-min

(Research Center of Edible Mushroom, Institute of Wild Plants Qinghai Academy of Agriculture and Forestry, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: In order to meet the climatic conditions at high altitude scale cultivation of mushroom production to wild plants in Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Research Institute of the lily No. 1 breeding strains used to study the five kinds of culture medium on the growth of mushroom spawn impact. The results showed that 2 culture medium(5% corn flour, wheat bran, 1%, yeast powder 0.5%, glucose 2%, KH_2PO_4 0.1%, MgSO_4 0.05%, CaCO_3 0.2%, vitamin B₁ 1 mg), 25 °C, 180 r/min of the culture conditions, incubation 6~7 d, out of the mushroom liquid spawn cultivation broth clear, color yellow, mushroom flavor, pellet diameter is small, density, planting bags after inoculation, up and down at the same time made more bacteria, fungi fat fast bacteria consistent with age, and the control of solid fat bacteria after inoculation compared to shorten the time 18 d.

Key words: Mushroom; liquid strain; culture medium screening.

1 材料与方法

1.1 试验材料

菌种: 松口蘑采于吉林省延边朝鲜族自治州龙井市三合镇, 从子实体分离得到试验菌种。

仪器设备: 高速冷冻离心(Beckman 仪器公司); T6 新悦可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); 电子分析天平(Precisa 仪器有限公司); 全温振荡培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 固体种子培养基 采用改良 MMN 培养基活化菌种。从母种试管中切出蚕豆大小的菌丝块接种于斜面的中部, 于 25℃培养 10 d。

1.2.2 液体种子培养基 葡萄糖 20 g, 蛋白胨 2.5 g, 酵母膏 2.5 g, KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, VB₁ 0.1 g, 麸皮浸汁 50 g, CMC 0.5 g, 定容至 1.0 L, 初始 pH 值自然^[6]。250 mL 三角瓶, 装培养基 100 mL, 将已活化的斜面菌种切成黄豆大小的菌丝块, 接种于培养基中, 于 25℃, 150 r/min 培养 4 d。

1.2.3 摇瓶发酵基本培养基 葡萄糖 2%, 酵母膏 0.2%, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.1%。250 mL 三角瓶, 装培养基量 100 mL, 液体菌种接种量为 10%, 于 25℃, 150 r/min 培养 6 d。

1.2.4 富硒培养 在摇瓶发酵基本培养基中加入亚硒酸钠溶液, 使培养基中的硒浓度分别为: 0、10、20、30、40、50、60、70 μg/mL。

1.3 指标测定

菌丝体生物量的测定: 取一定体积的发酵液, 在 3 000 r/min 下离心 20 min, 用去离子水反复洗涤菌丝体后, 于 105℃烘干至恒重, 分析天平称重; 多糖含量的测定: 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量; 胞外粗多糖的提取: 按白晨等^[7]法提取胞外粗多糖; 胞内粗多糖的提取: 参照王淑珍等^[8]的方法提取胞内粗多糖。

1.4 硒含量测定

1.4.1 硒标准曲线的绘制 取硒浓度为 0、10、20、30、40、50、60、70 μg/mL 的标准品溶液分别置于 125 mL 分液漏斗中, 加水 25 mL, 用 80% 甲酸溶液调 pH 为 2, 再加 1% 邻苯二胺溶液 2 mL, 振摇, 放置 2 h。用甲苯 10 mL 萃取, 强力振摇 15 min, 收集甲苯层, 以 335 nm 处峰值吸收度 A 对浓度 C 进行回归, 获得标准曲线。

1.4.2 硒含量的测定 将富硒菌丝体按刘庆堂等^[9]的方法进行消解和测定硒含量。

2 结果与分析

2.1 硒浓度对松口蘑菌丝体生长的影响

为了探讨硒对松口蘑菌丝体深层发酵的影响, 首先在摇瓶发酵基本培养基中分别加入不同浓度的硒, 观测硒对菌丝体生物量增长的影响, 试验结果见图 1。结果表明, 硒浓度在 10、20、30、40 μg/mL 时可促进松口蘑菌丝体的生长, 各处理组菌丝体生物量的积累与对照组相比, 增加百分率依次为 7.82%、15.33%、24.31%和 32.03%, 即随着硒浓度的增加对菌丝体生

长的促进作用增强。硒浓度在 50、60 和 70 μg/mL 时可抑制松口蘑菌丝体的生长, 与对照组相比, 抑制百分率依次为 1.69%、9.09%和 16.49%, 即随着硒浓度的增加, 对菌丝体生长的抑制作用增强。

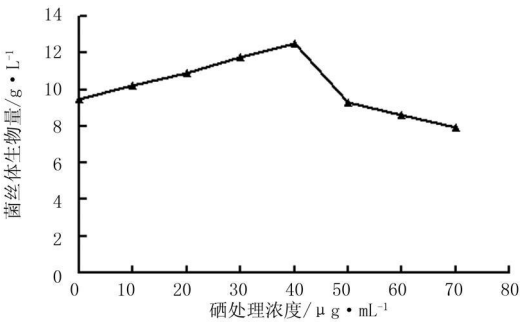


图 1 硒浓度对松口蘑菌丝体生物量的影响

2.2 硒浓度对松口蘑胞外多糖形成的影响

将各个处理组及对照组的松口蘑菌丝体发酵液分别取样, 测定其胞外多糖的含量, 研究硒对松口蘑菌丝体深层发酵过程中胞外多糖代谢产物的影响, 由图 2 可看出, 硒浓度在 10、20、30、40 μg/mL 时可促进松口蘑菌丝体胞外多糖的形成, 各处理组胞外多糖的产量与对照组相比, 增加百分率依次为 4.35%、17.39%、30.43%和 39.13%, 随着硒浓度的增加胞外多糖的产量呈上升趋势。硒浓度在 50、60 和 70 μg/mL 时可抑制松口蘑菌丝体胞外多糖的形成, 与对照组相比, 抑制百分率依次为 4.35%、34.78%和 47.83%, 即随着硒浓度的增高, 对胞外多糖形成的抑制作用加强。

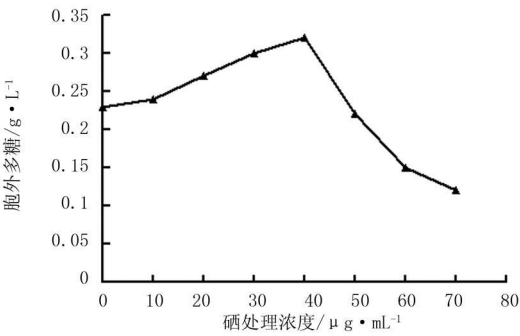


图 2 硒浓度对松口蘑菌丝体胞外多糖形成的影响

2.3 硒浓度对松口蘑菌丝体胞内多糖形成的影响

将各个处理组及对照组的松口蘑菌丝体分别取样, 测定其胞内多糖的含量, 研究硒对松口蘑菌丝体深层发酵过程中胞内多糖代谢产物的影响。从图 3 可看出, 硒浓度在 10、20、30、40 μg/mL 时可促进松口蘑菌丝体胞内多糖的形成, 各处理组胞内多糖的产量与对照组相比, 增加百分率依次为 15.91%、25.00%、54.55%和 79.55%, 即随着硒处理浓度的增加胞内多糖的产量呈上升趋势。硒浓度在 50、60 和 70 μg/mL 时可抑制松口蘑菌丝体胞内多糖的形成, 与对照组相比, 抑制百分率依次为 9.09%、29.55%和 43.18%, 即随着硒浓度的增高, 对胞内多糖形成的抑制作用加强。

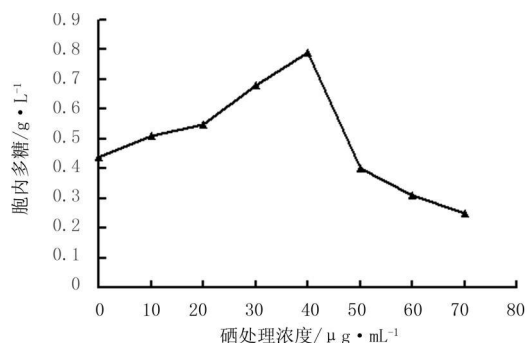


图3 硒浓度对松口蘑菌丝体胞内多糖形成的影响

2.4 硒浓度对松口蘑菌丝体富硒作用的影响

按 1.4.1 方法在 335 nm 处测得吸光度 A, 对浓度 C 进行回归, 获得标准曲线, 得回归方程为: $A = 0.00265 + 0.1392C$, $R^2 = 0.9925$ 。

测定在不同硒浓度下培养获得的松口蘑菌丝体的吸光度, 将测得的吸光度带入回归方程得到松口蘑菌丝中的硒含量, 由图 4 可看出, 硒浓度在 10、20、30、40、50、60、70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时都能促进硒在松口蘑菌丝中的积累, 各处理组菌丝体中硒的含量与对照组相比, 增加百分率依次为 14.99%、24.14%、31.91%、44.48%、20.82%和 6.54%。硒浓度在 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 硒在

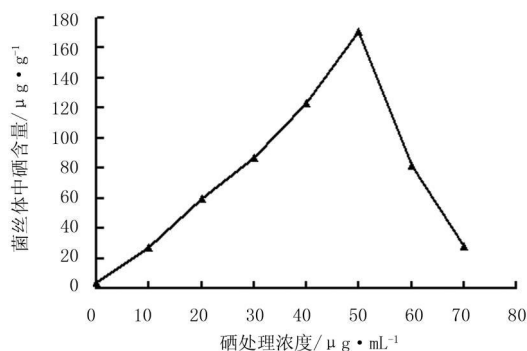


图4 硒在菌丝体内的含量

菌丝体的含量, 随着硒处理浓度的增加呈上升趋势, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时达到最高, 硒浓度高于 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 硒的含量开始明显下降, 随着硒浓度的增高, 下降呈剂量效应。

3 结论

对松口蘑深层发酵的研究表明, 硒浓度在 0~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对松口蘑菌丝体的生物量、胞外多糖含量、胞内多糖含量的增加都有促进作用, 且随着浓度的增高促进作用加强, 硒浓度 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上有抑制作用, 随着硒浓度的增高抑制作用增强。硒浓度在 0~50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 硒在菌丝体中的积累量随着硒浓度的增高而增加, 当硒浓度超过 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 硒在菌丝体中的积累量开始下降。

试验结果说明, 低浓度的硒可以促进深层发酵的松口蘑菌丝体的代谢、细胞分裂和生长。过量的硒浓度对松口蘑菌丝体的代谢、生长和菌丝体对硒的富集有抑制作用。因此, 考虑到松口蘑菌丝体的生长、物质积累和富硒能力等, 以向培养基中加入 30~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的硒为宜。

参考文献

- [1] Rayman M P. The importance of selenium to human health[J]. Lancet, 2000, 356(9225): 233-241.
- [2] 陆利霞, 沈爱光. 食用菌富集微量元素的研究与展望[J]. 中国食用菌, 1999, 18(4): 10-12.
- [3] 刘文群, 徐尔尼, 李曼, 等. 真菌对微量元素铁、锌、硒生物富集作用的研究[J]. 环境与开发, 2000, 15(3): 3-4.
- [4] 孟雪, 邹莉, 李纯. 松口蘑菌丝体培养特性初步研究[J]. 河南农业科学, 2007(5): 84-86.
- [5] 傅禄敏, 李玉花. 松口蘑的研究热点[J]. 食用菌学报, 2003, 10(3): 49-55.
- [6] 刘萍, 陶文沂, 许正宏, 等. 松口蘑深层发酵工艺的研究[J]. 微生物学通报, 2002, 29(5): 5-9.
- [7] 白晨, 王淑珍, 灵芝—松茸混菌共酵对胞外活性多糖积累的影响因素研究[J]. 食品科学, 2001, 22(9): 22-25.
- [8] 王淑珍, 白晨, 高雁, 等. 灵芝—松茸混菌菌丝体的成分分析[J]. 上海师范大学学报, 2002, 31(2): 69-73.
- [9] 刘庆堂, 李锐增, 李坚. 紫外分光光度法测定龙胆中微量元素硒[J]. 广东药学, 2001, 11(6): 30-32.

The Effect of Selenium on the Submerged Fermentation for *Tricholoma matsutake*

WANG Xiao-guang, XIN Shu-quan, ZHAO Ji-min

(College of Life Science, Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130032)

Abstract: *Tricholoma matsutake* Singer was used as material and cultured in the fermentation medium supplemented with different concentration of selenium, and then the biomass, the content of polysaccharide and the accumulated content of selenium in mycelium of *Tricholoma matsutake* Singer was measured. The results showed that selenium promoted the biomass and polysaccharide content with its concentration ranged from 0 to 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, meanwhile, the higher the concentration was, the better its effect was; however, when its concentration was above 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the opposite was got. The content of selenium in the mycelium rose up when its concentration became from 0 to 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the content of selenium in the mycelium descended if its concentration was higher than 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Key words: selenium; *Tricholoma matsutake*; submerged fermentation