DOI:10.12441/spyswjs.20240202003 [文章编号] 1673-1689(2025)09-0077-14

基于液体培养金耳菌丝体的硒生物强化策略及其营养成分分析

张亚娜[1,2] 张 静[3] 虞锐鹏[4] 徐萌萌[1,2] 陈 磊[1,2] 顾正华[1,2] 石贵阳[1,2] 丁重阳[1,2*]

(1. 江南大学糖化学与生物技术教育部重点实验室,江苏 无锡 214122; 2. 江南大学粮食发酵与食品生物制造国家工程研究中心,江苏 无锡 214122; 3. 江苏中农科食品工程股份有限公司,江苏 宿迁 223800; 4. 江南大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室,江苏 无锡 214122)

摘要:【目的】建立基于液体培养金耳(*Tremella aurantialba*,*T. aurantialba*)菌丝体的高效硒生物强化策略,提高金耳硒的生物富集能力。【方法】分析液体培养硒生物强化过程中,Na_2SeO_3对金耳菌丝体生长表型、代谢及富硒特性的影响。【结果】添加质量分数分别为5、10 mg/kg的Na_2SeO_3会促进金耳菌丝体生长,而Na_2SeO_3质量分数>10 mg/kg可明显抑制金耳菌丝体生长,且抑制作用随Na_2SeO_3质量分数的升高而增强。因此,选择Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg和10 mg/kg,以金耳菌丝体富硒量和生物富集因子(bioconcentration factor,BCF)为主要指标,通过单因素和正交试验对硒生物强化工艺参数进行优化。结果表明,Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时,金耳菌丝体的最佳培养条件为:Na_2SeO_3添加时间为第4天,接种体积分数为2.25%,pH为6,转速为150 r/min;Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时,金耳菌丝体的最佳培养条件为:Na_2SeO_3添加时间为第3天,接种体积分数为2.25%,pH为7,转速为125 r/min。在Na_2SeO_3质量分数分别为5、10 mg/kg的最佳培养条件下,金耳菌丝体富硒量分别为148.24、239.47 mg/kg,较优化前分别提高了26.45%、38.71%;BCF分别为68.42%、51.05%,较优化前分别提高了53.89%、55.31%。此外,富硒金耳菌丝体营养成分分析结果表明,硒元素主要与蛋白质结合(>60%);硒的添加不仅可以维持金耳菌丝体蛋白质的营养价值,还提高了鲜味氨基酸(天冬氨酸和谷氨酸)水平;SeMet是金耳菌丝体的主要硒代氨基酸。【结论】该研究为金耳在食药用真菌富硒和开发天然硒膳食补充剂领域提供了参考依据。

关键词:金耳;硒;生物强化;工艺优化;硒代氨基酸

Selenium Biofortification Strategy Utilizing Liquid Culture of *Tremella aurantialba* Mycelia and Analysis of Its Nutrient Composition

ZHANG Ya'na[1,2] *ZHANG Jing*[3] *YU Ruipeng*[4] *XU Mengmeng*[1,2] *CHEN Lei*[1,2]
GU Zhenghua[1,2] *SHI Guiyang*[1,2] *DING Zhongyang*[1,2*]

(1. Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. National Engineering Research Center for Cereal Fermentation and Food Biomanufacturing, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Jiangsu Zhongnongke Food Engineering Co., Ltd., Suqian 223800, China; 4. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to establish an efficient selenium biofortification strategy based on the liquid culture of *Tremella aurantialba* (*T. aurantialba*) mycelia to enhance its selenium enrichment capacity.

基金项目:国家资助博士后研究人员计划项目(GZC20230988)。

通信作者:丁重阳(1975—),男,博士,教授,博士研究生导师,主要从事基于食药用真菌的活性天然产物与酶资源的开发与应用研究。E-mail:bioding@163.com

收稿日期:2024-02-02 **修回日期:**2024-04-27

[**Method**] The changes of growth phenotype, metabolic behavior, and selenium enrichment characteristics of *T. aurantialba* mycelia were analyzed during the Na_2SeO_3-induced selenium biofortification process in liquid culture. [**Result**] Addition of 5 mg/kg and 10 mg/kg Na_2SeO_3 promoted mycelium growth, whereas Na_2SeO_3 with the mass fraction exceeding 10 mg/kg significantly inhibited the growth of *T. aurantialba* mycelia, with the inhibitory effect intensifying as Na_2SeO_3 mass fraction increased. Therefore, 5 mg/kg and 10 mg/kg of Na_2SeO_3 were selected. With the selenium-enrichment level and the bioconcentration factor (BCF) of the *T. aurantialba* mycelia as the primary indicators, single factor and orthogonal experiments were conducted to optimize the selenium biofortification parameters. The results demonstrated that in the case of the Na_2SeO_3 mass fraction being 5 mg/kg, the optimal culture conditions for *T. aurantialba* mycelia were Na_2SeO_3 addition on the 4th day, inoculum volume fraction of 2.25%, pH 6, and rotational speed of 150 r/min. In the case of the Na_2SeO_3 mass fraction being 10 mg/kg, the optimal culture conditions were Na_2SeO_3 addition on the 3rd day, inoculum volume fraction of 2.25%, pH 7, and rotational speed of 125 r/min. Under these optimized conditions and the Na_2SeO_3 mass fractions being 5 mg/kg and 10 mg/kg, *T. aurantialba* mycelia achieved selenium-enrichment levels of 148.24 mg/kg and 239.47 mg/kg, respectively, representing increases by 26.45% and 38.71% compared with those before optimization. Furthermore, the BCF reached 68.42% and 51.05%, which indicated improvements by 53.89% and 55.31%. Additionally, the analysis of the nutrient composition of selenium-enriched *T. aurantialba* mycelia revealed that proteins were the primary binding agents for selenium (>60%). The addition of selenium not only preserved the nutritional value of *T. aurantialba* mycelial protein but also enhanced the levels of umami amino acids (aspartate and glutamate). Moreover, SeMet was found to be the predominant selenium form in *T. aurantialba* mycelia. [**Conclusion**] This study provides a reference for future endeavors in enriching selenium in *T. aurantialba* for both edible and medicinal purposes and developing natural dietary supplements containing selenium.

Keywords: *Tremella aurantialba*; selenium; biofortification; process optimization; selenium amino acid

硒元素是人体必需的微量元素，在生物体内主要存在于一些含硒酶与含硒蛋白质中，在机体新陈代谢中起着重要作用[1]。人体缺乏硒会使免疫系统功能降低，引发克山病、大骨节病、脑血管疾病等[2]。硒具有双重作用：适量补充硒是有益的，但过量的硒也可能产生细胞毒性，导致不利的健康影响，如肝损伤或硒中毒[3]。作为对人体健康至关重要的微量元素，硒无法在人体内合成，只有通过摄入含硒的营养物质才能满足人体对硒的日常需求[4]。世界卫生组织（WHO）将健康成年人的推荐硒摄入量设定为 60 μg/d[5]；为了预防硒缺乏相关疾病，建议每天最低硒摄入量为 19 μg，上限为每天 400 μg[6]。随着“健康中国 2030”战略的实施，公众健康意识逐渐增强，对功能性膳食硒补充产品的需求日益旺盛。

自然界中的硒元素有 2 种形态，一种是无机硒，如亚硒酸盐和硒酸盐等中的硒元素，但其在低浓度下具有高毒性；另一种是有机硒，有机硒具有更低的毒性和更高的生物可及性[7]。因此，利用硒生物强化技术将外源无机硒代谢转化为有机硒，进而开发功能性补硒食品，已成为满足人体硒需求的重要途径。目前，培育耐硒、聚硒微生物资源成为硒生物强化的重要研究基础。食药用真菌不仅具有丰富的营养价值和药用特性[8]，还具有较强的富硒能力，是重要的硒生物强化资源[9]，用其富硒具有成本低、周期短、产品稳定性高等优点[10]。已有研究表明，黑木耳、真姬菇、香菇、金针菇、猴头菇和蛹虫草的富硒量分别达 88.50、29.67、68.21、112.30、111.80、128.10 mg/kg[11-16]。因此，食药用真菌是最为理想的硒生物强化的微生物资源之一。

金耳是一种营养丰富、兼具降血糖、降血脂等多种功效的珍稀食药用真菌，富含多糖、蛋白质、氨基酸等多种生物活性代谢产物[17]。近年来，关于金耳的研究主要集中在菌种选育、子实体栽培及其主要代谢产物多糖的结构与功能等方面，凭借其丰富的营养成分，金耳可开发为食品添加剂、功能性食品等。但是，鲜有将金耳作为微量元素富集载体开展硒生物强化的研究。因此，该研究以金耳为研究对象，解析液体培养硒生物过程中，Na_2SeO_3 的添加对金耳菌丝体生长及富硒规律的

影响；通过单因素和正交试验优化液体培养硒生物强化工艺条件；在此基础上，分析富硒金耳的主要营养成分，并解析其硒赋存形态及硒代氨基酸。该研究为开发营养丰富的金耳硒膳食补充剂提供了重要基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

金耳：作者所在实验室保藏。

1.1.2 主要试剂

蛋白胨、酵母粉：英国 Oxoid 公司；KH_2PO_4、$MgSO_4•7H_2O$、Na_2SeO_3、体积分数 95% 乙醇、三氯甲烷、正丁醇、苯酚、硫酸：国药集团化学试剂有限公司。

1.1.3 培养基

1）固体培养基（g/L）：马铃薯 200、琼脂 20、葡萄糖 20，pH 7。

2）种子、液体发酵培养基（g/L）：葡萄糖 20、酵母粉 5、蛋白胨 5、KH_2PO_4 3、$MgSO_4•7H_2O$ 2、维生素 B_1 0.1，pH 6。

1.2 仪器与设备

回转式恒温调速摇床：HYL-C 型，太仓市强文实验设备有限公司；微波消解仪：MARS6 型，美国 CEM 公司；电感耦合等离子体质谱仪：ICP TQ 型，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；高效液相色谱仪：安捷伦 1260 Infinity Ⅱ型，美国安捷伦科技公司。

1.3 方法

1.3.1 金耳菌丝体 Na_2SeO_3 耐受性的测定

配制含不同质量分数（0、25、50、75、100、150、200、300 mg/kg）Na_2SeO_3 的固体培养基。将大小一致的金耳菌球用无菌水清洗后接种至固体培养基中心，发酵时间设置为 2、3、4、5、6、7、8 d，拍照记录生长状态并测量菌落直径。

1.3.2 金耳菌丝体生长及富硒特性的测定

配制含不同质量分数（0、5、10、15、20、25 mg/kg）Na_2SeO_3 的液体发酵培养基，以确定适合金耳菌丝体生长的 Na_2SeO_3 质量分数，并从培养第 3 天开始测定菌丝体生物量及富硒量，确定最佳的培养周期。

1）生物量：发酵液经离心后收集沉淀，用去离子水洗涤 3 次，冷冻干燥，称重后计算金耳菌丝体生物量。

2）富硒量：准确称取 50 mg 冻干金耳菌丝体于消解管中，加入 4 mL 硝酸冷消解过夜，再加入 5 mL 超纯水，放入微波消解仪中，在 1 700 W、150 ℃ 的条件下进行微波消解，将消解液定容至 100 mL，过膜后用电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）进行测定。

3）BCF：用 BCF 比较硒富集效率，BCF 定义为金耳菌丝体富硒量与相应液体发酵培养基添加的硒质量分数的比值。

1.3.3 硒生物强化过程的优化

1）Na_2SeO_3 添加时间：分别在第 0、1、2、3、4、5、6 天添加 Na_2SeO_3，测定金耳菌丝体生物量和富硒量，确定最适 Na_2SeO_3 添加时间。

2）接种体积分数：将金耳种子液分别按照接种体积分数 0.75%、1.50%、2.25%、3.00%、3.75%、4.50% 接种至液体发酵培养基中，测定金耳菌丝体生物量和富硒量，确定最适接种体积分数。

3）pH：将液体发酵培养基的 pH 分别调成 4、5、6、7、8，测定金耳菌丝体生物量和富硒量，确定最适发酵 pH。

4）转速：将摇床转速分别设置为：125、150、175、200 r/min，测定金耳菌丝体生物量和富硒量，确定最适转速。

5）正交试验：根据单因素试验筛选出的最适 Na_2SeO_3 添加时间、接种体积分数、pH 和转速，设计 $L_9(3^4)$ 正交试验，每个试验重复 3 次，确定金耳菌丝体富硒的最适液体发酵条件。

1.3.4 硒多糖和硒蛋白提取及其硒质量分数的测定

1）硒多糖提取及其硒质量分数的测定：参照文献[18]的方法并稍加改动，对硒多糖进行提取及测定。将冻干的金耳菌丝体沸水浴提取 3 h，离心后取上清液，加入 3 倍体积的体积分数 95% 乙醇，过夜，离心后弃去上清液，加入体积分数 75% 乙醇清洗 3 次，加水复溶沉淀，用 Sevag 法去除溶液中蛋白质，冷冻干燥后得到金耳粗多糖，用 1.3.2 中的方法测定硒多糖中硒质量分数。

2）硒蛋白提取及其硒质量分数的测定：参照文献[19]的方法并稍加改动，对硒蛋白进行提取及测定。采用超声辅助碱提取法提取硒蛋白，超声功率 100 W，超声时间 2 h，碱液浓度 0.1 mol/L，料液比 1 g∶30 mL，提取温度 50 ℃，离心后取上清液，调节 pH 至 4，沉淀经水洗后冻干，用 1.3.2 中的

方法测定硒多糖中硒质量分数。

1.3.5 金耳菌丝体蛋白质、胞内多糖、胞外多糖质量分数及氨基酸组成的测定

1)总蛋白质:参照国标 GB 5009.5—2025 中的凯氏定氮法进行测定。

2)胞内多糖:将金耳菌丝体冻干后研磨成粉,称取 20.00 mg 于 5 mL 离心管中,加入 4 mL 去离子水,沸水浴提取 3 h,10 000 r/min 离心 10 min,上清液加入 3 mL 体积分数 95% 的乙醇,置于 4 ℃冰箱中过夜沉淀,10 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,沉淀用体积分数 75% 的乙醇清洗 3 次,晾干后加 4 mL 水溶解,采用苯酚-硫酸法测定胞内多糖质量分数。

3)胞外多糖:将金耳发酵液离心,取 1 mL 上清液于 5 mL 离心管中,按照胞内多糖的提取方式进行处理,得到胞外多糖溶液,采用苯酚-硫酸法测定胞外多糖质量分数。

4)氨基酸组成:准确称取 100 mg 冻干金耳菌丝体于水解管中,加入 8.0 mL HCl(6 mol/L),充氮气 3 min,120 ℃水解 22 h,加入 4.8 mL NaOH(10 mol/L)进行中和,用蒸馏水定容至 25 mL,过滤,滤液于 15 000 r/min 离心 30 min,并用高效液相色谱法(HPLC)进行测定。

1.3.6 硒代氨基酸分析

准确称取 100 mg 冻干金耳菌丝体于 20 mL 密闭水解瓶中,加入 15 mL 30 mmol/L 的 Tris-HCL 溶液(pH 8.5),依次向水解瓶中加入 10 mg 碱性蛋白酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K 和蛋白酶 E,在 45 ℃、400 r/min 的条件下磁力搅拌 4 h,离心酶解液,取上清液,将上清液过膜后采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICP-MS)进行测定。

2 结果与讨论

2.1 金耳菌丝体 Na_2SeO_3 耐受性试验结果

不同质量分数 Na_2SeO_3 处理下,金耳菌丝体在平板上的生长状态及菌落直径见图 1~2。金耳菌丝体呈白色,排列紧密,各处理组的菌落形状规则,菌丝体外缘粗糙,且 Na_2SeO_3 的添加不会改变金耳菌丝体密度,这与其他食药用真菌有所不同,如真姬菇[20]、平菇[21]等富硒后会使菌丝体变薄、变短。当 Na_2SeO_3 质量分数为 25 mg/kg 时,金耳菌丝体生长状态与对照组相似,菌落直径与对照组相比无明显差异;Na_2SeO_3 质量分数为 50~75 mg/kg 时,金耳菌丝体生长速度变缓,菌落直径逐渐减小;Na_2SeO_3 质量分数为 100~200 mg/kg 时,金耳菌丝体生长受到抑制,菌落直径明显减小;当 Na_2SeO_3 质量分数为 300 mg/kg 时,金耳菌丝体的生长被完全抑制,无菌丝体出现。

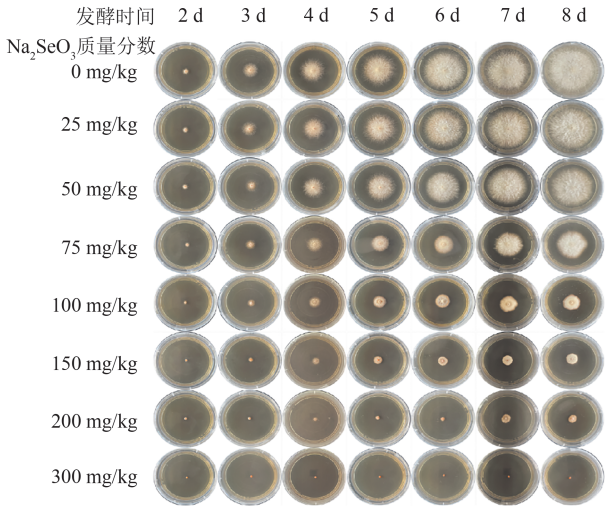


图 1 含不同质量分数 Na_2SeO_3 的固体培养基平板上的金耳菌丝体生长情况

Fig. 1 Mycelial growth characteristics of *T. aurantialba* on solid culture plates containing different mass fractions of Na_2SeO_3

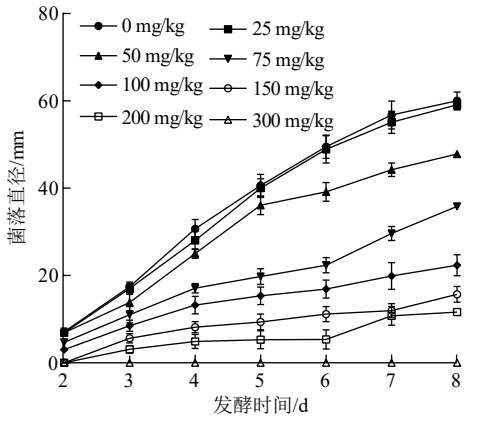


图 2 Na_2SeO_3 处理下的金耳菌落直径

Fig. 2 Colony diameter of *T. aurantialba* cultured with Na_2SeO_3

2.2 基于液体培养金耳菌丝体的硒生物强化条件的确定

2.2.1 菌球宏观表型

基于 2.1 节中金耳菌丝体 Na_2SeO_3 耐受性试验结果,为利用金耳进行高效硒生物强化,在液体培养过程中,选择 Na_2SeO_3 质量分数为 0~25 mg/kg。如图 3 所示,不同质量分数的 Na_2SeO_3 对金耳菌

球宏观表型影响不同。分别添加5、10 mg/kg Na_2SeO_3与不添加Na_2SeO_3的金耳菌球，在颜色、菌球直径上无明显差异；当Na_2SeO_3质量分数>10 mg/kg时，金耳菌球颜色变浅，直径变小，形状也逐渐不规则化，且液体发酵培养基的芳香气味变淡，但并未产生刺激性难闻气味。有研究表明，灵芝在高硒发酵培养过程中会产生刺激性气味，且菌丝体颜色由白色变为红色[22]。

2.2.2　菌丝体生长及多糖代谢

如图4（a）所示，当Na_2SeO_3质量分数为0~25 mg/kg时，金耳菌丝体均能生长，但随着Na_2SeO_3质量分数的升高，其对金耳菌丝体生长的影响由促进转为抑制；当Na_2SeO_3质量分数>10 mg/kg时，能明显抑制金耳菌丝体生长。相较于空白组（0 mg/kg），低质量分数（5、10 mg/kg）的Na_2SeO_3能促进金耳菌丝体生长，发酵7 d时金耳菌丝体生物量分别增加了7.78%和1.54%；而高质量分数（15、20、25 mg/kg）的Na_2SeO_3会抑制金耳菌丝体生长，发酵7 d时金耳菌丝体生物量分别降低了5.42%、6.14%和15.76%。

多糖是金耳重要的活性代谢产物，具有抗氧化、抗炎、降血糖、降血脂等多种生物活性[23]。Na_2SeO_3对金耳菌丝体多糖生成的影响与对其生长的影响结果基本一致，见图4（b）~（c）。当Na_2SeO_3质量分数为5、10 mg/kg时，金耳菌丝体胞内多糖和胞外多糖质量分数的最大值与对照组相比无明显差异，表明低质量分数的Na_2SeO_3对金耳菌丝体多糖的生成无明显负面影响；当Na_2SeO_3质量分数>10 mg/kg时，金耳胞内多糖和胞外多糖的质量分数明显减少，表明高质量分数的Na_2SeO_3对金耳菌丝体多糖的生成具有抑制作用。因此，在金耳液体培养过程中，添加低水平的硒可以兼顾促进其生长与代谢产物生成的作用，而高水平的硒对其生长及代谢产物生成均会产生负面影响。结果表明，金耳菌丝体可以耐受一定水平的硒，是一种良好的硒生物强化载体。

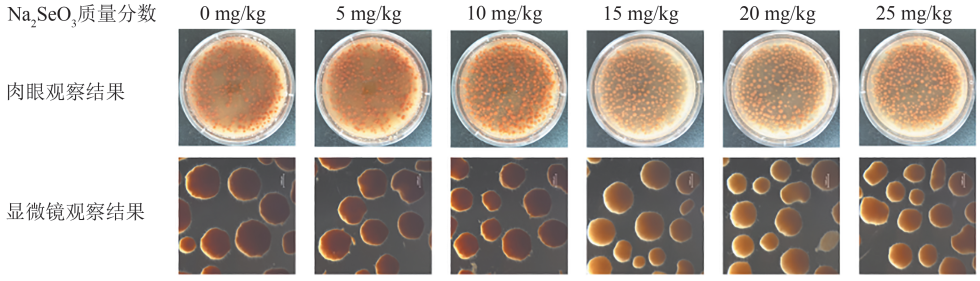


图3　不同质量分数的Na_2SeO_3对金耳菌球宏观表型的影响

Fig. 3　Effects of different mass fractions of Na_2SeO_3 on the macroscopic phenotype of *T. aurantialba* pellets

2.2.3　菌丝体富硒特性

如图4（d）所示，当发酵时间为3~9 d时，金耳菌丝体富硒量呈先上升后下降的趋势，一般在6~7 d时达到最大值。不同质量分数Na_2SeO_3处理下的金耳菌丝体的最大BCF为32.20%~44.46%，最大富硒量为117.23~823.23 mg/kg，且富硒量随Na_2SeO_3质量分数增大而增加。当发酵时间为7 d时，Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时的金耳菌丝体富硒量为117.23 mg/kg，其相应的BCF为44.46%；Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时的金耳菌丝体富硒量为172.64 mg/kg，其相应的BCF为32.87%。

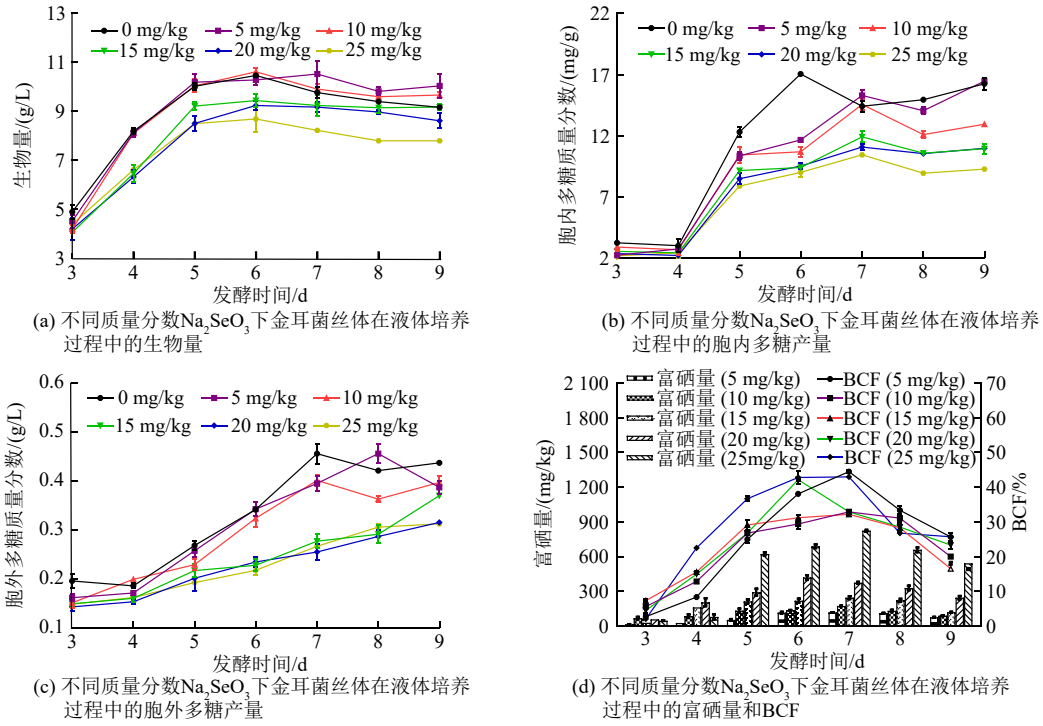
不同种类食药用真菌的富硒能力不同。松茸、杏鲍菇、平菇子实体的富硒量均低于金耳[24-26]，表明金耳吸收利用无机硒的能力较强，是一种优质的硒生物强化微生物载体。

综合菌丝体生长状况及富硒水平，后续分别选择Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg和10 mg/kg，发酵时间为7 d，进行液体培养硒生物强化过程的优化。

2.3　硒生物强化过程的优化结果

2.3.1　Na_2SeO_3添加时间

Na_2SeO_3添加时间是影响金耳菌丝体富硒能力的关键因素。由于菌丝体在不同时间的生理状态不同，所以不同时间加硒，菌丝体的富硒量不同。Na_2SeO_3添加时间对金耳菌丝体的影响见图5。当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，Na_2SeO_3添加时间对金耳菌丝体生物量无显著影响（P>0.05）；当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，金耳菌丝体生物量随着Na_2SeO_3添加时间的延迟显著增加（P<



(a) 不同质量分数Na_2SeO_3下金耳菌丝体在液体培养过程中的生物量

(b) 不同质量分数Na_2SeO_3下金耳菌丝体在液体培养过程中的胞内多糖产量

(c) 不同质量分数Na_2SeO_3下金耳菌丝体在液体培养过程中的胞外多糖产量

(d) 不同质量分数Na_2SeO_3下金耳菌丝体在液体培养过程中的富硒量和BCF

图 4　金耳菌丝体在液体培养过程中的生物量、胞内多糖和胞外多糖质量分数以及富硒量和 BCF

Fig. 4　Biomass, mass fractions of intracellular and extracellular polysaccharides, selenium-enrichment level, and BCF of *T. aurantialba* mycelia during liquid culture

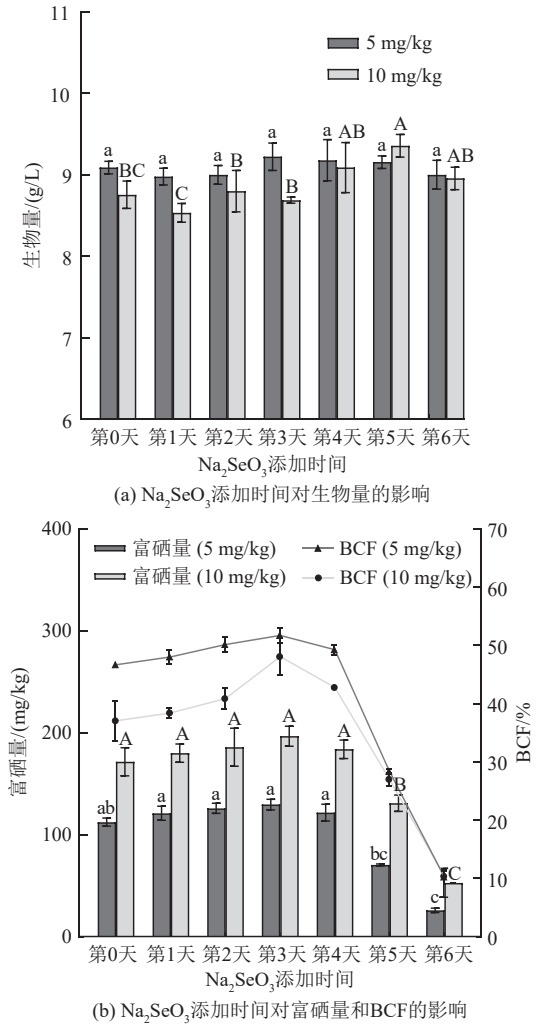
0.05），表明 Na_2SeO_3 质量分数越大，其添加时间对金耳菌丝体生长影响越大。金耳菌丝体的富硒量和 BCF 随着 Na_2SeO_3 添加时间的延迟先增加后减少。在发酵第 3 天添加 Na_2SeO_3，Na_2SeO_3 质量分数为 5、10 mg/kg 的金耳菌丝体富硒量和 BCF 均达到最大值，分别为 129.47 mg/kg、51.67% 和 196.52 mg/kg、48.06%；当 Na_2SeO_3 添加时间为发酵第 5、6 天时，金耳菌丝体富硒量和 BCF 显著降低（$P<0.05$）。这可能是由于金耳菌丝体在发酵第 3 天处于对数生长期，此时菌丝体生长代谢旺盛，硒积累能力最强。因此，选择第 3 天作为最适 Na_2SeO_3 添加时间。

2.3.2　接种体积分数

基于菌群数量平衡原理，摇瓶发酵时，种子液的接种体积分数直接决定了其菌群数量，进而影响其富硒能力[27]。由图 6 可知，在有限的发酵营养环境中，Na_2SeO_3 质量分数为 5、10 mg/kg 时，金耳菌丝体的生物量、富硒量和 BCF 均随着接种体积分数的增大先升高后降低。当接种体积分数<2.25% 时，金耳菌丝体生长过慢，这可能是由于液体培养基中的 Na_2SeO_3 对其生长和代谢产生胁迫作用，导致其生物量、富硒量与 BCF 较低；当接种体积分数为 3.00% 时，Na_2SeO_3 质量分数为 5、10 mg/kg 的金耳菌丝体生物量、富硒量、BCF 均达到最大值，分别为 9.47 g/L、138.50 mg/kg、54.91% 以及 9.43 g/L、226.17 mg/kg、47.95%；随着接种体积分数的持续提升，金耳菌丝体的生长速率较快，导致液体培养基中营养减少和溶氧量不足，无法满足菌丝体的生长代谢需求，致使其生物量、富硒量和 BCF 随之下降。因此，最适接种体积分数为 3.00%。

2.3.3　pH

pH 是发酵中的一个综合性指标，其对食药用真菌各种营养物质的提取和产物的生物合成等具有重要影响[28]。由图 7 可知，金耳菌丝体的生物量随 pH 的升高先增加后减少。当 pH 为 5 时，在 Na_2SeO_3 质量分数为 5、10 mg/kg 的金耳菌丝体生物量达到最大值，分别为 10.22 g/L 和 11.08 g/L，明显高于其他 pH 下的生物量；当 pH 为 6 时，Na_2SeO_3 质量分数为 5 mg/kg 的金耳菌丝体富硒量和 BCF 均达到最大值，分别为 132.22 mg/kg 和 52.53%；当 pH 为 7 时，Na_2SeO_3 质量分数为 10 mg/kg 的金耳菌丝体富硒量和 BCF 均达到最大值，分别为 200.64 mg/kg 和 49.55%，表明金耳菌丝体在弱酸性及中性条件下的富硒能力较强；当 pH>7 时，金耳菌丝



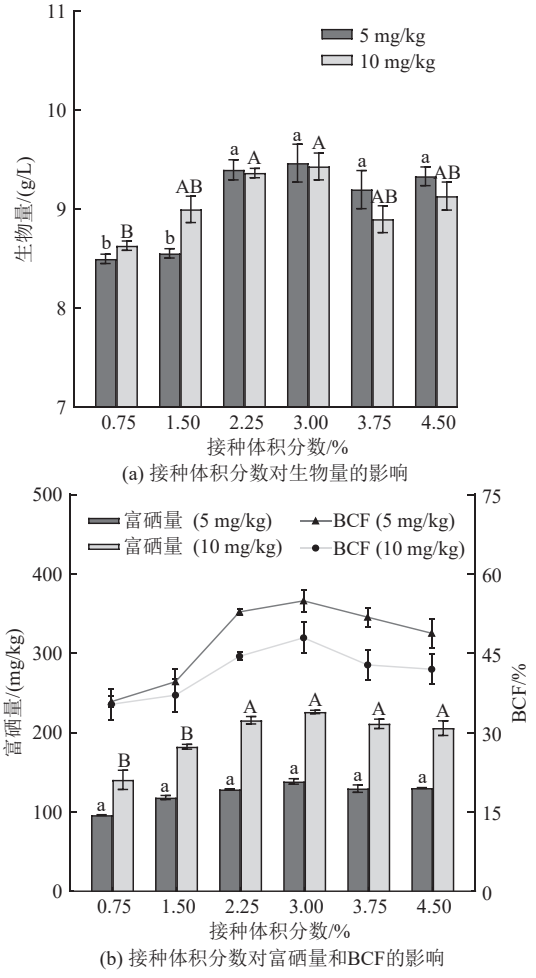
(a) Na_2SeO_3添加时间对生物量的影响

(b) Na_2SeO_3添加时间对富硒量和BCF的影响

不同小写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）；不同大写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）。

图5　Na_2SeO_3添加时间对金耳菌丝体生物量、富硒量和BCF的影响

Fig. 5　Effects of Na_2SeO_3 addition timing on biomass, selenium-enrichment level, and BCF of *T. aurantialba* mycelia



(a) 接种体积分数对生物量的影响

(b) 接种体积分数对富硒量和BCF的影响

不同小写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）；不同大写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）。

图6　接种体积分数对金耳菌丝体生物量、富硒量和BCF的影响

Fig. 6　Effects of inoculum volume fraction on biomass, selenium-enrichment level, and BCF of *T. aurantialba* mycelia

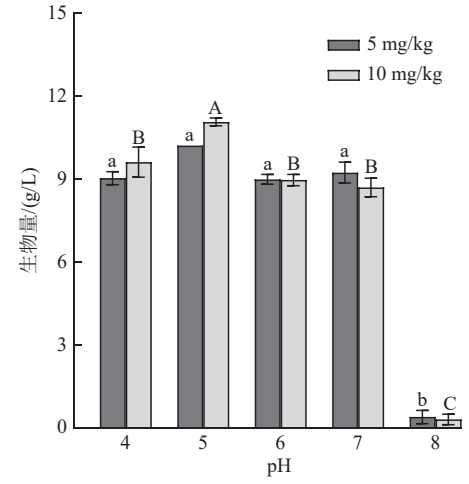
体基本不生长，表明偏酸性的环境适合金耳菌丝体的生长。因此，Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时的最适pH为6，Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时的最适pH为7。

2.3.4　转速

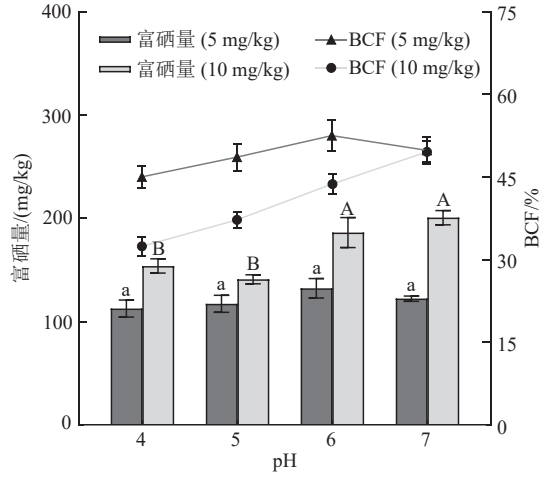
溶氧量会影响食药用真菌的生长代谢，而摇床转速是影响培养液中溶氧量的重要因素。转速过低则溶氧量不足，导致菌丝体生长缓慢；转速过高会使菌丝体无法缠绕形成菌球，甚至会发生菌丝体自溶现象，从而影响其富硒能力[29]。如图8所示，金耳菌丝体生物量和富硒量随着转速的增加呈先增加后减少的趋势，不同转速下的金耳菌丝体生物量无显著差异（P>0.05），表明这些转速均能满足金耳正常生长所需的溶氧量。当转速为150 r/min时，Na_2SeO_3质量分数为5、10 mg/kg的金耳菌丝体生物量、富硒量和BCF均达到最大值，分别为8.91 g/L、133.54 mg/kg、56.13%以及9.07 g/L、242.01 mg/kg、49.38%；当转速持续增加，金耳菌丝体生物量、富硒量和BCF呈下降趋势。因此，选择最适转速为150 r/min。

2.3.5　正交试验及其结果验证

根据单因素试验结果，正交试验的因素与水



(a) pH对生物量的影响

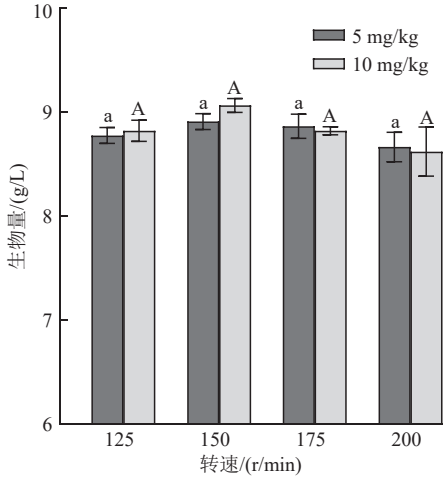


(b) pH对富硒量和BCF的影响

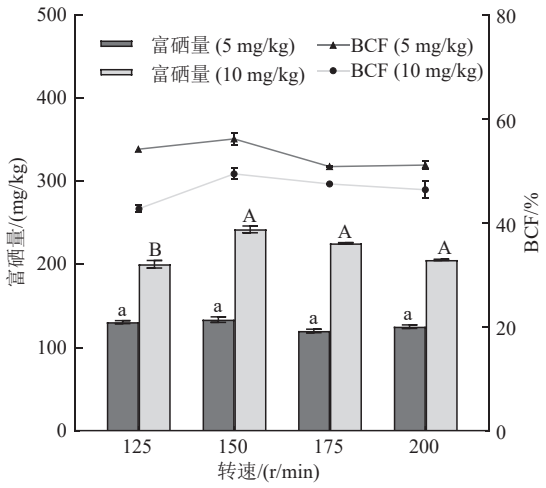
不同小写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）；不同大写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）。

图7 pH对金耳菌丝体生物量、富硒量和BCF的影响

Fig. 7 Effects of pH on biomass, selenium-enrichment level, and BCF of *T. aurantialba* mycelia



(a) 转速对生物量的影响



(b) 转速对富硒量和BCF的影响

不同小写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）；不同大写字母代表当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，同种指标在不同条件下的差异显著（P<0.05）。

图8 转速对金耳菌丝体生物量、富硒量和BCF的影响

Fig. 8 Effects of rotational speed on biomass, selenium-enrichment level, and BCF of *T. aurantialba* mycelia

平见表1。采用SPSS 26软件对正交试验结果进行分析，见表2~3。当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，对金耳菌丝体富硒量影响显著的因素顺序为：$D>B>C>A$，最优组合是$A_1B_3C_2D_2$，即添加时间第4天、接种体积分数2.25%、pH 6、转速150 r/min。当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，对金耳菌丝体富硒量影响显著的因素顺序为：$C>A>B>D$，最优组合是$A_1B_2C_3D_1$，即添加时间第3天、接种体积分数2.25%、pH 7、转速125 r/min。根据K值分析得到最优组合，对其实际效果进行验证。结果表明，采用优化后的培养条件，当Na_2SeO_3质量分数分别为5 mg/kg和10 mg/kg时，金耳菌丝体富硒量分别为148.24 mg/kg和239.47 mg/kg，较优化前分别提高了26.45%和38.71%；BCF分别为68.42%和51.05%，较优化前分别提高了53.89%和55.31%。

影响食药用真菌富硒能力的因素有菌种资源、培养条件、硒源和硒剂量，硒生物强化策略主要是以Na_2SeO_3为硒源，见表4。以Na_2SeO_3为硒源进行固态培养的金针菇[14]、猴头菇[15]、杏鲍菇[30]和蛹虫草[16]子实体的富硒量和BCF明显低于本研究中的金耳菌丝体；以Na_2SeO_3为硒源进行液体培养的黑木耳[31]、平菇[21]和黑皮鸡枞菌[32]菌丝体的富硒量和BCF也明显低于本研究中的金耳菌丝

表1　正交试验因素和水平

Table 1　Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素			
	接种体积分数（*A*）/%	添加时间（*B*）	pH（*C*）	转速（*D*）/（r/min）
1	2.25	第2天	5	125
2	3.00	第3天	6	150
3	3.75	第4天	7	175

表2　当Na_2SeO_3为5 mg/kg时的正交试验设计及结果

Table 2　Design and results of orthogonal experiment with 5mg/kg Na_2SeO_3

组号	水平				富硒量/（mg/kg）
	A	*B*	*C*	*D*	
1	1	1	1	1	85.93
2	1	2	2	2	111.72
3	1	3	3	3	114.36
4	2	1	2	3	103.37
5	2	2	3	1	66.46
6	2	3	1	2	98.15
7	3	1	3	2	96.02
8	3	2	1	3	67.70
9	3	3	2	1	92.74
k_1	104.003	95.107	83.927	81.710	
k_2	89.327	81.960	102.610	101.963	
k_3	85.487	101.750	92.280	95.143	
R	18.516	19.790	18.683	20.253	

注：k_1代表各个因素在水平1下的各指标总和；k_2代表各个因素在水平2下的各指标总和；k_3代表各个因素在水平3下的各指标总和。

体；而灵芝[22]、松茸[18]、真姬菇[33]和大球盖菇[34]菌丝体的富硒量虽高于本研究中的金耳菌丝体，但BCF均明显低于本研究中的金耳菌丝体。综上，金耳的硒富集能力较强，可以吸收和转化更多的无机硒，是硒生物强化的良好微生物载体，富硒处理可进一步提升其开发利用价值，对拓展其实际应用和推动相关创新研究具有重要意义。

2.4　富硒金耳菌丝体的营养成分测定结果

2.4.1　硒多糖和硒蛋白

食药用真菌可以将无机硒在菌丝体细胞内转化为多种有机硒代谢产物，如硒蛋白、硒多糖和硒核酸等。硒代谢产物的分布因真菌种类的不同而存在差异，如金针菇中与蛋白质和多糖结合的硒占比分别为60%和15%[14]，香菇中与蛋白质和多糖结合的硒占比分别为40.09%和27.83%[35]，灵芝

表3　当Na_2SeO_3为10 mg/kg时的正交试验设计及结果

Table 3　Design and results of orthogonal experiment with 10 mg/kg Na_2SeO_3

组号	水平				富硒量/（mg/kg）
	A	*B*	*C*	*D*	
1	1	1	1	1	135.50
2	1	2	2	2	177.69
3	1	3	3	3	232.52
4	2	1	2	3	148.89
5	2	2	3	1	229.39
6	2	3	1	2	113.55
7	3	1	3	2	192.31
8	3	2	1	3	114.29
9	3	3	2	1	134.90
k_1	181.903	158.900	121.113	166.597	
k_2	163.943	173.790	153.827	161.183	
k_3	147.167	160.323	218.073	165.233	
R	34.736	14.890	96.960	5.414	

注：k_1代表各个因素在水平1下的指标总和；k_2代表各个因素在水平2下的指标总和；k_3代表各个因素在水平3下的指标总和。

中与蛋白质和多糖结合的硒占比分别为56%和11%[36]。金耳硒代谢产物分布的分析结果见表5~6。金耳菌丝体中的硒主要以硒蛋白的形式存在，当Na_2SeO_3质量分数为5、10 mg/kg时，结合在硒蛋白上的硒较多，分别占金耳菌丝体富硒量的69.94%和64.21%，硒蛋白中硒质量分数分别为243.18 mg/kg和371.01 mg/kg，且硒蛋白中硒质量分数随Na_2SeO_3质量分数的增加显著提高（$P<0.05$）。结合在胞内多糖上的硒较少，仅占菌丝体富硒量的0.25%和0.42%。

此外，富硒金耳菌丝体的胞内多糖和总蛋白质的质量分数与对照组相比均有所提高，其中总蛋白质量分数显著提高（$P<0.05$）。推测硒元素可能通过取代其他元素进行非特异性结合，从而参与合成蛋白质，使得菌丝体蛋白质水平增加，这与硒主要结合在蛋白质上的结果一致。

2.4.2　氨基酸组成

金耳菌丝体氨基酸种类齐全，测定结果见表7。当Na_2SeO_3质量分数为5、10 mg/kg时，金耳菌丝体的氨基酸总量（TAA）分别为（32.28±0.26）g/100g和（32.65±0.37）g/100g，较未富硒的金耳菌丝体（对照组）分别提高了22.55%和23.96%，表明硒能促进金耳菌丝体中氨基酸的合成，这与富硒姬松

表 4 食药用真菌富硒能力

Table 4 Selenium enrichment capacity of typical edible and medicinal fungi

培养方式	食药用真菌种类	添加的硒化合物及其添加量	富硒量/(mg/kg)	BCF/%	参考文献
固态培养(子实体)	猴头菇	40 mg/kg Na_2SeO_3	111.80	25.00	[15]
	金针菇	20 mg/kg Na_2SeO_3	112.30	32.75	[14]
	杏鲍菇	40 mg/kg Na_2SeO_3	17.81	47.00	[30]
	蛹虫草	40 mg/kg Na_2SeO_3	128.10	15.89	[16]
		40 mg/kg Na_2SeO_4	130.90	13.90	
		10 mg/kg SeMet	28.90	20.40	
液体培养(菌丝体)	灵芝	200 mg/L Na_2SeO_3	2 290.06	23.01	[22]
	平菇	1 mg/L Na_2SeO_3	41.10	27.40	[21]
	松茸	30 mg/L Na_2SeO_3	336.40	11.65	[18]
	黑木耳	60 mg/L Na_2SeO_3	158.40	0.88	[31]
	黑皮鸡枞菌	5 mg/L Na_2SeO_3	60.00	9.28	[32]
	真姬菇	3 mg/L Na_2SeO_3	280.30	21.62	[33]
	大球盖菇	150 mg/L Na_2SeO_3	4 727.68	24.68	[34]
	金耳	5 mg/kg Na_2SeO_3	148.24	68.42	本研究
		10 mg/kg Na_2SeO_3	239.47	51.05	

表 5 金耳菌丝体的硒蛋白分析

Table 5 Analysis of selenprotein in *T. aurantialba* mycelia

Na_2SeO_3质量分数/(mg/kg)	总蛋白质质量分数/(mg/g)	硒蛋白中硒质量分数/(mg/kg)
0	347.53±1.84^b	
5	426.37±1.13^a	243.18±18.13^b
10	414.42±6.34^a	371.01±16.21^a

注:同列不同字母代表数据差异显著(P<0.05)。

表 6 金耳菌丝体的硒多糖分析

Table 6 Analysis of selenium polysaccharides in *T. aurantialba* mycelia

Na_2SeO_3质量分数/(mg/kg)	胞内多糖质量分数/(mg/g)	硒多糖中硒质量分数/(mg/kg)
0	19.72±0.18^a	
5	20.03±0.19^a	18.71±1.61^b
10	20.15±0.02^a	49.77±2.64^a

注:同列不同字母代表数据差异显著(P<0.05)。

茸[37]、松杉灵芝[38]菌丝体蛋白质中氨基酸含量变化结果一致。此外,已有研究表明,硒富集培养可以改变真菌的氨基酸组成和比例,如Na_2SeO_3能显著降低黑木耳子实体的必需氨基酸(EAA)、非必需氨基酸(NEAA)和 TAA 水平[11];富硒大球盖菇菌丝体的 TAA 和 EAA 水平与对照组相比分别提高了 13.5% 和 12.8%[32]。本研究结果表明,与对照组相比,当Na_2SeO_3质量分数为 5 mg/kg 时,金耳菌丝体的 EAA 和 NEAA 水平分别提高了 5.51% 和 32.19%;当Na_2SeO_3质量分数为 10 mg/kg 时,金耳菌丝体的 EAA 和 NEAA 水平分别提高 18.11% 和 27.16%。此外,对照组、Na_2SeO_3质量分数为 5 mg/kg 和 10 mg/kg 的金耳菌丝体的 EAA/TAA 分别为(0.36±0.01)、(0.31±0.01)和(0.34±0.01),EAA/NEAA 分别为(0.56±0.01)、(0.45±0.01)和(0.52±0.01)。FAO/WHO 提出的理想蛋白质标准中,EAA/TAA 为 0.40,EAA/NEAA 高于 0.60,说明富硒金耳菌丝体中的蛋白质较为优质。

根据不同的味感特性,氨基酸可分为鲜味氨基酸、甜味氨基酸、苦味氨基酸和无味氨基酸。其中鲜味氨基酸对食用菌滋味的贡献较大,鲜味氨基酸主要是天冬氨酸和谷氨酸[39]。结果表明,与对照组相比,Na_2SeO_3质量分数为 5、10 mg/kg 的金耳菌丝体的天冬氨酸质量分数分别提升了 6.91% 和 17.45%,谷氨酸质量分数分别提高了 91.52% 和 53.13%,该结果与富硒香菇相似[40],表明添加Na_2SeO_3可增强金耳的鲜味特性,富硒金耳具有作为天然食品添加剂的潜力。

2.4.3 硒代氨基酸组成

通过 HPLC-ICP-MS 分析金耳菌丝体的硒代氨基酸组成,见图 9 和表 8。该研究鉴定到与

表7　金耳菌丝体氨基酸组成

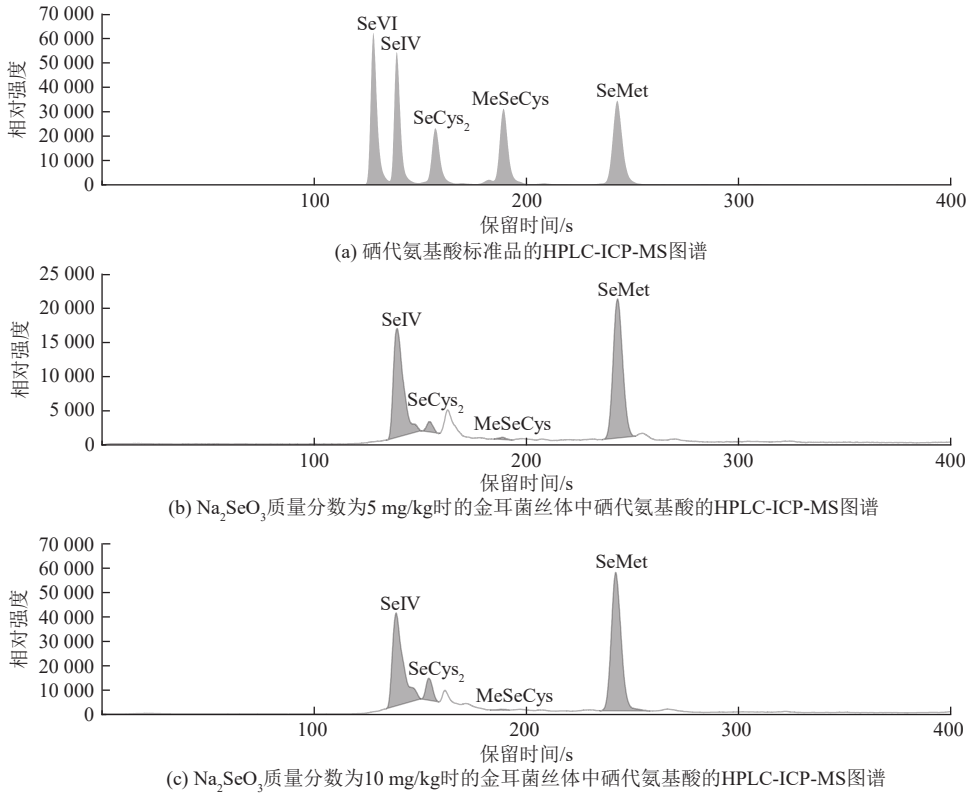
Table 7　Amino acid composition of *T. aurantialba* mycelia

Na_2SeO_3质量分数/(mg/kg)	氨基酸质量分数/(g/100 g)							
	天冬氨酸	谷氨酸	丝氨酸	组氨酸	甘氨酸	苏氨酸*	精氨酸	丙氨酸
0	2.75±0.04^c	4.95±0.12^c	1.17±0.02^c	0.69±0.03^c	1.39±0.01^c	1.24±0.02^c	1.86±0.03^b	1.83±0.04^b
5	2.94±0.04^b	9.48±0.01^a	1.25±0.01^b	0.89±0.02^b	1.47±0.01^b	1.28±0.01^b	2.37±0.01^a	1.85±0.01^b
10	3.23±0.03^a	7.58±0.08^b	1.32±0.02^a	0.98±0.01^a	1.69±0.01^a	1.38±0.02^a	2.39±0.02^a	2.09±0.03^a
Na_2SeO_3质量分数/(mg/kg)	氨基酸质量分数/(g/100 g)							
	酪氨酸	半胱氨酸	缬氨酸*	蛋氨酸*	苯丙氨酸*	异亮氨酸*	亮氨酸*	赖氨酸*
0	0.61±0.02^c	0.05±0.01^a	1.57±0.01^b	0.31±0.02^c	1.26±0.02^b	1.29±0.01^b	2.08±0.01^b	1.69±0.06^c
5	0.65±0.01^b	0.05±0.01^a	1.59±0.01^b	0.41±0.01^b	1.25±0.01^b	1.25±0.01^c	2.03±0.01^c	2.15±0.04^b
10	0.77±0.01^a	0.03±0.01^b	1.79±0.02^a	0.48±0.01^a	1.39±0.02^a	1.46±0.01^a	2.30±0.02^a	2.36±0.03^a

Na_2SeO_3质量分数/(mg/kg)	氨基酸质量分数/(g/100 g)				比值	
	脯氨酸	TAA	EAA	NEAA	EAA/TAA	EAA/NEAA
0	1.61±0.04^a	26.34±0.35^b	9.44±0.11^c	16.90±0.23^c	0.36±0.01^a	0.56±0.01^a
5	1.39±0.27^a	32.28±0.26^a	9.96±0.05^b	22.34±0.21^a	0.31±0.01^c	0.45±0.01^c
10	1.41±0.07^a	32.65±0.37^a	11.15±0.11^a	21.49±0.26^b	0.34±0.01^b	0.52±0.01^b

注：“*”表示必需氨基酸；同列不同字母表示差异显著（P<0.05）。

$SeCys_2$、MeSeCys和SeMet标准品保留时间相同的3个峰，当Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时，金耳菌丝体中的$SeCys_2$、MeSeCys和SeMet质量分数分别为（4.66±0.18）、（0.13±0.06）和（26.46±1.98）mg/kg，这3种硒代氨基酸总质量分数占富硒量的21.08%；当Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时，金耳菌丝体中的$SeCys_2$、MeSeCys和SeMet质量分数分别为（27.81±1.08）、（0.89±0.19）和（75.24±2.77）



(a) 硒代氨基酸标准品的HPLC-ICP-MS图谱

(b) Na_2SeO_3质量分数为5 mg/kg时的金耳菌丝体中硒代氨基酸的HPLC-ICP-MS图谱

(c) Na_2SeO_3质量分数为10 mg/kg时的金耳菌丝体中硒代氨基酸的HPLC-ICP-MS图谱

图9　不同样品中的硒代氨基酸的HPLC-ICP-MS图谱

Fig. 9　HPLC-ICP-MS chromatograms of selenium amino acids in different samples

表 8 金耳菌丝体中硒代氨基酸质量分数

Table 8 Mass fractions of selenium amino acids in *T. aurantialba* mycelia

Na_2SeO_3质量分数/（mg/kg）	硒代氨基酸质量分数/（mg/kg）		
	$SeCys_2$	MeSeCys	SeMet
5	4.66±0.18	0.13±0.06	26.46±1.98
10	27.81±1.08	0.89±0.19	75.24±2.77

mg/kg，占富硒量的 43.40%，表明菌丝体中的硒代氨基酸质量分数与的硒添加量呈正相关。不同食药用真菌富含的硒代氨基酸类型不同。猴头菇[15]、香菇[13]、黑木耳[11]子实体中的主要硒代氨基酸是 SeMet；金针菇子实体中的主要硒代氨基酸是 SeMet、SeCys 和 MeSeCys[14]；真姬菇子实体的主要硒代氨基酸是 SeMet 和 MeSeCys[12]；本研究中金耳菌丝体中的主要硒代氨基酸是 SeMet。有研究表明，SeMet 比多数其他有机硒化合物（如 $SeCys_2$），具有更高的生物可及性[41]。MeSeCys 作为 SeCys 的甲基化产物，是一种不参与蛋白质整合的氨基酸衍生物。在硒超积累植物中，MeSeCys 的生物合成能力与其硒耐受性呈正相关，硒水平越高，其合成的 MeSeCys 越多，以缓解高水平硒添加带来的负面影响。但在金耳菌丝体中，MeSeCy 在富硒量中占比不到 1%，表明 Na_2SeO_3 质量分数为 5、10 mg/kg 时不足以对金耳菌丝体产生负面作用。综上，富硒金耳可以作为一种合适的天然硒补充剂。

按照 WHO 推荐的成人硒摄入量（60 μg/d）计算，每天摄入 400 mg 的 5 mg/kg Na_2SeO_3 处理的金耳，或 250 mg 的 10 mg/kg Na_2SeO_3 处理的金耳，即可满足成人每日的硒需求量；在该条件下，可相应分别摄入硒蛋白 282.24 mg 和 177.65 mg。综上，摄入少量的富硒金耳菌粉即可满足人体对硒的需求，因此可深入开展金耳补硒膳食补充剂的研发，以缓解人群硒摄入不足的现状。

3 结论

该研究通过液体培养金耳菌丝体进行硒生物强化，筛选出最适 Na_2SeO_3 质量分数为 5 mg/kg 和 10 mg/kg，以及最适发酵时间为 7 d。通过单因素试验及正交试验，探究了 Na_2SeO_3 添加时间、接种体积分数、pH 和转速对金耳菌丝体生物量、富硒量和 BCF 的影响。结果表明，当 Na_2SeO_3 质量分数为 5 mg/kg 时，金耳菌丝体的最佳培养条件为：Na_2SeO_3 添加时间为第 4 天，接种体积分数为 2.25%，pH 为 6，转速 150 为 r/min；当 Na_2SeO_3 质量分数为 10 mg/kg 时，金耳菌丝体的最佳培养条件为：Na_2SeO_3 添加时间为第 3 天，接种体积分数为 2.25%，pH 为 7，转速为 125 r/min。在 Na_2SeO_3 质量分数为 5、10 mg/kg 的最佳培养条件下，金耳菌丝体富硒量分别为 148.24、239.47 mg/kg，较优化前分别提高了 26.45%、38.71%；BCF 分别为 68.42%、51.05%，较优化前分别提高了 53.89%、55.31%。富硒金耳菌丝体的营养成分分析结果表明，硒主要与蛋白质结合，与多糖的结合较少；低水平硒的添加不仅可以维持金耳菌丝体蛋白质的营养价值，还提高了其鲜味氨基酸水平；金耳菌丝体中的主要硒代氨基酸是 SeMet。综上，金耳是一种优质的硒生物强化载体，对无机硒的转化率较高且具有丰富的营养价值，适用于开发补硒膳食补充剂。

参考文献

[1] IZQUIERDO A，CASAS C，HERRERO E. Selenite-induced cell death in *Saccharomyces cerevisiae*：protective role of glutaredoxins[J]. Microbiology，2010，156（9）：2608-2620.

[2] 王锐，余涛，曾庆良，等. 我国主要农耕区土壤硒含量分布特征、来源及影响因素[J]. 生物技术进展，2017，7（5）：359-366.
WANG R，YU T，ZENG Q L，et al. Distribution characteristics，origin and influencing factors of soil selenium concentration of main farming areas in China[J]. Current Biotechnology，2017，7（5）：359-366.（in Chinese）

[3] 黄冰霞，支添添，赵志刚，等. 硒元素与人类健康[J]. 宜春学院学报，2019，41（9）：95-101.
HUANG B X，ZHI T T，ZHAO Z G，et al. The relationship between selenium and human heath[J]. Journal of Yichun University，2019，41（9）：95-101.（in Chinese）

[4] 吕欣彧，赵文文，孔祥辉，等. 富硒食用菌最新研究进展[J]. 现代食品，2022，28（13）：29-33.
LÜ X Y，ZHAO W W，KONG X H，et al. The latest research progress on selenium-enriched edible fungi[J]. Modern Food，2022，28（13）：29-33.（in Chinese）

[5] 王一丹，余雍和，杨锐，等. 耐硒菌株 *Cytobacillus firmus* N4 的筛选及其对 α-葡萄糖苷酶抑制活性的影响[J]. 食品与生物技术学报，2023，42（2）：45-50.
WANG Y D，YU Y H，YANG R，et al. Screening of selenium tolerant strain *Cytobacillus firmus* N4 and preliminary effect

of its inhibitory activity against α-glucosidase[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2023, 42(2): 45-50. (in Chinese)

[6] WROBEL J K, POWER R, TOBOREK M. Biological activity of selenium: revisited[J]. IUBMB Life, 2016, 68(2): 97-105.

[7] KIEŁCZYKOWSKA M, KOCOT J, PAŹDZIOR M, et al. Selenium: a fascinating antioxidant of protective properties [J]. Advances in Clinical and Experimental Medicine, 2018, 27(2): 245-255.

[8] YANG M Y, BELWAL T, DEVKOTA H P, et al. Trends of utilizing mushroom polysaccharides (MPs) as potent nutraceutical components in food and medicine: a comprehensive review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 92: 94-110.

[9] 姚佩，史乐伟，樊鑫瑞，等. 富硒食用菌对硒的吸收转化机制及生物功能的研究进展[J]. 食品工业科技，2024，45(16)：439-450.
YAO P, SHI L W, FAN X R, et al. Research progress on absorption and transformation mechanism and biological function of selenium-enriched edible fungi [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(16): 439-450. (in Chinese)

[10] 梁丛丛，孙宇杰，胡治铭，等. 富硒益生菌的筛选及其富硒条件的优化[J]. 食品与生物技术学报，2016，35(6)：667-671.
LIANG C C, SUN Y J, HU Z M, et al. Screening of Se-enriched probiotics and the optimization of Se-enriched conditions [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2016, 35(6): 667-671. (in Chinese)

[11] HU T, LI L, HUI G F, et al. Selenium biofortification and its effect on multi-element change in *Auricularia auricular*[J]. Food Chemistry, 2019, 295: 206-213.

[12] HU T, LI H F, ZHAO G S, et al. Selenium enriched *Hypsizygus marmoreus*, a potential food supplement with improved Se bioavailability[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 140: 110819.

[13] ZHOU F, YANG W X, WANG M K, et al. Effects of selenium application on Se content and speciation in *Lentinula edodes* [J]. Food Chemistry, 2018, 265: 182-188.

[14] DONG Z, XIAO Y Q, WU H. Selenium accumulation, speciation, and its effect on nutritive value of *Flammulina velutipes* (golden needle mushroom) [J]. Food Chemistry, 2021, 350: 128667.

[15] HU T, HUI G F, LI H F, et al. Selenium biofortification in *Hericium erinaceus* (lion's mane mushroom) and its *in vitro* bioaccessibility [J]. Food Chemistry, 2020, 331: 127287.

[16] HU T, LIANG Y, ZHAO G S, et al. Selenium biofortification and antioxidant activity in *Cordyceps militaris* supplied with selenate, selenite, or selenomethionine [J]. Biological Trace Element Research, 2019, 187(2): 553-561.

[17] 张俊波，刘绍雄，华蓉，等. 金耳新品种'中菌金耳4号'选育[J]. 食用菌学报，2023，30(6)：33-44.
ZHANG J B, LIU S X, HUA R, et al. Breeding of *Naematelia aurantialba* new cultivar 'Zhongjunjiner No. 4' [J]. Acta Edulis Fungi, 2023, 30(6): 33-44. (in Chinese)

[18] 王誉. 松茸富硒深层发酵及其菌丝体多糖生物活性的研究[D]. 恩施土家族苗族自治州：湖北民族大学，2023.

[19] 杨梦莲. 高耐硒灵芝的筛选、硒蛋白的提取及破壁专用酶的研究[D]. 无锡：江南大学，2022.

[20] 吴周斌，王锦锋，林占熹. 真姬菇菌丝体对硒耐受性的研究[J]. 微生物学通报，2017，44(1)：96-107.
WU Z B, WANG J F, LIN Z X. Tolerance of *Hypsizygus marmoreus* mycelium to selenium [J]. Microbiology China, 2017, 44(1): 96-107. (in Chinese)

[21] 魏志毅. 平菇液体发酵富集硒和锌的研究[D]. 无锡：江南大学，2021.

[22] 徐萌萌. 灵芝对硒的代谢转化及其耐受机制研究[D]. 无锡：江南大学，2023.

[23] SUN T, WANG R, SUN D F, et al. High-efficiency production of *Tremella aurantialba* polysaccharide through basidiospore fermentation [J]. Bioresource Technology, 2020, 318: 124268.

[24] HU Z Q, YAO Y X, LV M, et al. Isolation and identification of three water-soluble selenoproteins in Se-enriched *Agaricus blazei* Murrill[J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128691.

[25] ZHOU F, PENG Q, WANG M, et al. Influence of processing methods and exogenous selenium species on the content and *in vitro* bioaccessibility of selenium in *Pleurotus eryngii* [J]. Food Chemistry, 2021, 338: 127661.

[26] DE OLIVEIRA A P, NAOZUKA J. Preliminary results on the feasibility of producing selenium-enriched pink (*Pleurotus djamor*) and white (*Pleurotus ostreatus*) oyster mushrooms: bioaccumulation, bioaccessibility, and Se-proteins distribution [J]. Microchemical Journal, 2019, 145: 1143-1150.

[27] 黎青华，堵国成，李江华，等. 红曲色素高产菌的诱变选育与发酵优化[J]. 食品与生物技术学报，2020，39(11)：18-24.

LI Q H, DU G C, LI J H, et al. Mutation breedingand fermentation optimization of the strain with high-yield of *Monascus* red pigment[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2020, 39(11): 18-24.(in Chinese)

[28] YIN H F, FAN G J, GU Z X. Optimization of culture parameters of selenium-enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) by response surface methodology (RSM)[J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(4): 666-669.

[29] 万鹰昕,张静,张子轩,等. 一株富硒菌的鉴定及富硒条件优化[J]. 生态学杂志,2021,40(8):2648-2655.
WAN Y X, ZHANG J, ZHANG Z X, et al. Identification of selenium-enriched strain of bacteria and the optimization of conditions for selenium enrichment[J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(8): 2648-2655.(in Chinese)

[30] 王明洋,方勇,裴斐,等. 硒对杏鲍菇营养品质和抗氧化酶活性的影响[J]. 食品科学,2016,37(11):208-213.
WANG M Y, FANG Y, PEI F, et al. Effects of selenium on nutritional quality and antioxidant enzyme activities of *Pleurotus eryngii*[J]. Food Science, 2016, 37(11): 208-213.(in Chinese)

[31] 柴新义,倪瓒鹏,于士军,等. 黑木耳菌丝体液体发酵富硒条件优化及其多糖抗氧化活性[J]. 浙江农业学报,2017,29(11):1903-1911.
CHAI X Y, NI Z P, YU S J, et al. Optimization of Se-rich liquid fermentation conditions and antioxidant activity of polysaccha-ride from *Auricularia auricula* mycelia[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2017, 29(11): 1903-1911.(in Chinese)

[32] 范颖,牛文华,郑珍,等. 黑皮鸡枞菌菌丝体发酵富硒条件优化及菌丝体多糖抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报,2023,14(18):296-302.
FAN Y, NIU W H, ZHENG Z, et al. Optimization of selenium-enriched fermentation conditions in *Oudemansiella raphanipes* mycelium and study on the antioxidant activities of mycelium polysaccharides[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2023, 14(18): 296-302.(in Chinese)

[33] LIU M, YAO W, ZHU Y F, et al. Characterization, antioxidant and antiinflammation of mycelia selenium polysaccharides from *Hypsizygus marmoreus* SK-03[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 201: 566-574.

[34] SONG Z, JIA L, XU F, et al. Characteristics of Se-enriched mycelia by *Stropharia rugoso-annulata* and its antioxidant activities *in vivo*[J]. Biological Trace Element Research, 2009, 131(1): 81-89.

[35] WU Y, DING L, LI S P, et al. The analysis of selenoprotein and Se-polysaccharide in selenium-enriched *Lentinan edodes*[J]. Advanced Materials Research, 2012, 524/525/526/527: 2325-2329.

[36] ZHAO L, ZHAO G, HUI B, et al. Effect of selenium on increasing the antioxidant activity of protein extracts from a selenium-enriched mushroom species of the *Ganoderma* genus[J]. Journal of Food Science, 2004, 69(3): FCT184-FCT188.

[37] 杨淑云,陈如登,陈仁财,等. 姬松茸富硒液体发酵条件优化及其菌丝营养成分分析[J]. 保鲜与加工,2017,17(3):103-106.
YANG S Y, CHEN R D, CHEN R C, et al. Optimization of liquid fermentation conditions and analysis of mycelium nutrients of Se-enriched *Agaricus blazei* Murill[J]. Storage and Process, 2017, 17(3): 103-106.(in Chinese)

[38] 李昀峰. 亚硒酸钠对松杉灵芝生长发育及富硒效应的影响[J]. 辽宁林业科技,2022(2):17-19,78.
LI Y F. Effects of sodium selenite on growth and selenium enrichment of *Ganodermats tsugae*[J]. Liaoning Forestry Science and Technology, 2022(2): 17-19, 78.(in Chinese)

[39] 刘娜,岳冬,鲁博,等. 黄果番茄果实部分风味品质及氨基酸组成分析[J]. 食品与生物技术学报,2016,35(10):1081-1087.
LIU N, YUE D, LU B, et al. Analysis of amino acid composition and flavor quality-related indexes of yellow-and red-fruited tomato species[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2016, 35(10): 1081-1087.(in Chinese)

[40] 宋文俊,邓海平,刘丹,等. 油茶壳栽培富硒香菇的营养评价与分析[J]. 粮食与油脂,2022,35(5):147-151.
SONG W J, DENG H P, LIU D, et al. Nutritional evaluation and analysis of selenium-enriched *Lentinus edodes* cultivatedin *Camellia oleifera* shell[J]. Cereals & Oils, 2022, 35(5): 147-151.(in Chinese)

[41] KHANAM A, PLATEL K. Bioaccessibility of selenium, selenomethionine and selenocysteine from foods and influence of heat processing on the same[J]. Food Chemistry, 2016, 194: 1293-1299.

(责任编辑:闫林红)