

不同碳氮源及前体物质对金顶侧耳菌丝体生物量和麦角硫因含量影响

王琳^{1,2}, 王语聪², 姜水地², 谢智鑫², 刘丹怡¹, 全润², 高志威²,
刘容旭^{1*}, 韩建春^{1,2*}

1 黑龙江省绿色食品科学研究院, 黑龙江 哈尔滨 150028

2 东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030

摘要: 麦角硫因是一种天然的抗氧化剂, 具有较强的抗氧化、清除自由基和螯合金属离子等功能。金顶侧耳中富含丰富的麦角硫因, 本研究主要以金顶侧耳菌丝体生物量和麦角硫因含量为指标, 筛选出高产菌丝体生物量和麦角硫因的发酵培养基碳氮源, 从而对发酵培养基进行优化, 同时筛选出优势菌株, 并探究不同前体物质的添加对金顶侧耳菌丝体生物量和麦角硫因含量的影响。研究结果显示, 在发酵培养基碳氮源的筛选中, 以乳糖为碳源, 酪蛋白胨为氮源时, 金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 这 4 株菌菌丝体生物量和麦角硫因含量均达到最高值, 故选择乳糖和酪蛋白胨为发酵培养基的最佳碳氮源。发酵培养基经优化后, 4 株菌中金顶侧耳 1 号菌丝体生物量和麦角硫因含量最高, 分别为 1.52 g/100 mL、106.81 μg/mL, 故选择金顶侧耳 1 号为优势菌株。筛选最佳前体物质为甲硫氨酸, 添加后金顶侧耳 1 号菌丝体生物量为 1.98 g/100 mL, 麦角硫因含量为 228.908 μg/mL, 较添加前提高了 1 倍。

关键词: 金顶侧耳; 菌丝体生物量; 麦角硫因; 碳氮源; 前体物质

[引用本文]

王琳, 王语聪, 姜水地, 谢智鑫, 刘丹怡, 全润, 高志威, 刘容旭, 韩建春, 2025. 不同碳氮源及前体物质对金顶侧耳菌丝体生物量和麦角硫因含量影响. 菌物学报, 44(8): 250021

Wang L, Wang YC, Jiang SD, Xie ZX, Liu DY, Quan R, Gao ZW, Liu RX, Han JC, 2025. Effects of various carbon and nitrogen sources as well as precursor substance on mycelial biomass and ergothioneine content of *Pleurotus citrinopileatus*. Mycosystema, 44(8): 250021

资助项目: 黑龙江省自然科学基金(LH2022C084); 省属科研院所科研业务费(CZKYF2024-1-C012); 大学生 SIPT 创新创业训练项目(202410224187)

This work was supported by the Natural Science Foundation Project of Heilongjiang Province (LH2022C084), the Research Fund of Provincial Research Institutes in Heilongjiang Province (CZKYF2024-1-C012), and the SIPT Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (202410224187).

*Corresponding authors. E-mail: LIU Rongxu, rongxuli@163.com; HAN Jianchun, hanjianchun@hotmail.com

ORCID: WANG Lin (0009-0006-0162-8571)

Received: 2025-02-25; Accepted: 2025-03-04

Effects of various carbon and nitrogen sources as well as precursor substance on mycelial biomass and ergothioneine content of *Pleurotus citrinopileatus*

WANG Lin^{1,2}, WANG Yucong², JIANG Shuidi², XIE Zhixin², LIU Danyi¹, QUAN Run², GAO Zhiwei², LIU Rongxu^{1*}, HAN Jianchun^{1,2*}

¹ Heilongjiang Institute of Green Food Science, Harbin 150028, Heilongjiang, China

² College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China

Abstract: Ergothioneine is a natural antioxidant with strong functions of anti-oxidation, free radical scavenging, and metal ion chelation. *Pleurotus citrinopileatus* is rich in ergothioneine. In this study, the biomass and ergothioneine content of *P. citrinopileatus* strains were used as main indicators and the optimal carbon and nitrogen sources of fermentation medium were screened out for obtaining high-yield mycelium biomass and ergothioneine. At the same time, the excellent strains were screened out, and the effects of adding different precursor substances on the biomass and ergothioneine content of *P. citrinopileatus* strains were investigated. The results showed that using lactose as the carbon source and casein peptone as the nitrogen source, the mycelium biomass and ergothioneine content of the four strains, *P. citrinopileatus* No.1, No.2, No.3 and No.83520, reached the highest value. *P. citrinopileatus* No.1 has the highest mycelium biomass and ergothioneine content, reaching 1.52 g/100 mL and 106.81 µg/mL respectively. The optimal precursor substance was methionine. After addition of methionine, the mycelial biomass of *P. citrinopileatus* No.1 was 1.98 g/100 mL, and the ergothioneine content was 228.908 µg/mL, being double of those before addition.

Keywords: *Pleurotus citrinopileatus*; mycelium biomass; ergothioneine; carbon and nitrogen source; precursor substance

麦角硫因(ergothioneine, EGT)是一种人类自身无法合成,但在人体内普遍存在的含硫氨基酸衍生物,具有良好的抗炎、抗癌以及抗氧化作用(Borodina *et al.* 2020; Cheah *et al.* 2023; Duan *et al.* 2023)。区别于其他抗氧化剂,EGT被人体吸收后,不会被快速代谢,而是以硫酮的形式稳定存在,在人体几乎所有的细胞和组织中都有所积累,尤其会存在于受氧化损伤的细胞和组织中(Lam-Sidun *et al.* 2021; 陶冶等 2021; 李娜 2024; 朱敏等 2025)。基于优良的抗氧化特点,近年来,EGT陆续通过了安全性的认证,在食品、医药和化妆品等行业具有广泛的应用前景(Lam-Sidun *et al.* 2021)。食用菌是能天然合成EGT且含量较高的生物类群,是人类获得EGT

最好的食材来源(Stampfli *et al.* 2020; Roda *et al.* 2022; Rauf *et al.* 2023; 杨林雷等 2025),同时EGT还被称作是食用菌中的“长寿维生素”(荣爽 2024; Wei *et al.* 2024)。

金顶侧耳 *Pleurotus citrinopileatus* Singer是我国东北地区常见的食用菌之一(戴玉成和图力古尔 2007),又名榆黄蘑,隶属担子菌门 Basidiomycota、蘑菇纲 Agaricomycetes、蘑菇目 Agaricales、侧耳科 Pleurotaceae (严源辉等 2021)。研究表明金顶侧耳中EGT含量远高于糙皮侧耳、猴头菇和茶树菇等常见食用菌,是良好的EGT来源(Cheah & Halliwell *et al.* 2012; Dumitrescu *et al.* 2022; 冉思婷等 2025)。利用食用菌液体深层发酵生产EGT,具有生产成本

低、易于工业化连续生产、产品安全等优点，是生物合成 EGT 的发展方向(Liang *et al.* 2013; Lin *et al.* 2015; Kalaras *et al.* 2017)。刘新琦(2020)发现，金顶侧耳中的 EGT 含量丰富，显著优于其他食用菌。并且从金顶侧耳中提取的 EGT 还具备良好的抗氧化性能，是生物发酵法生产 EGT 的优良菌种(黄怡雯 2018)。虽然利用食用菌菌丝体液体发酵制备 EGT 是一种较好的产业化生产方式，但仍有必要进一步研究如何提高食用菌菌丝体深层发酵液中的 EGT 含量(Valachová *et al.* 2019)。

Hu *et al.* (2014)利用生物信息学及生物化学等手段，发现并证实仅由 2 个合成酶 Egt1、Egt2 即可合成 EGT。Egt1 是一种催化连续反应的双功能酶，首先催化组氨酸和 S-腺苷蛋氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)形成组氨酸甜菜碱(hercynine, HER)，随后与半胱氨酸(Cys)生成组氨酸甜菜碱半胱氨酸亚砷(hercynylcysteine sulfoxide, HcySul)；Egt2 是一种磷酸吡哆醛(pyridoxal phosphate, PLP)依赖性的半胱氨酸脱

硫酶，裂解 C-S，催化 Cys-HER 生成 EGT (van der Hoek *et al.* 2022)。真菌中麦角硫因合成路径见图 1。所以在发酵过程中补充相应的前体物质可有效参与菌丝体的生理代谢过程，从而提高菌丝体生物量并促进 EGT 的合成。

因此，本研究通过对比不同碳氮源对金顶侧耳菌丝体生物量及 EGT 含量的影响，筛选出高产菌丝体生物量和 EGT 的发酵培养基碳氮源，培养基经优化后筛选出金顶侧耳优势菌株，并探究不同前体物质的添加对金顶侧耳菌丝体生物量和 EGT 含量的影响。以期为金顶侧耳菌丝体生产及 EGT 提取提供新菌种选择，同时为开发利用金顶侧耳深层发酵生产菌丝体和 EGT 提供理论基础和依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料

菌种：金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 菌种均由黑龙江省微生物研究所提供，其中金

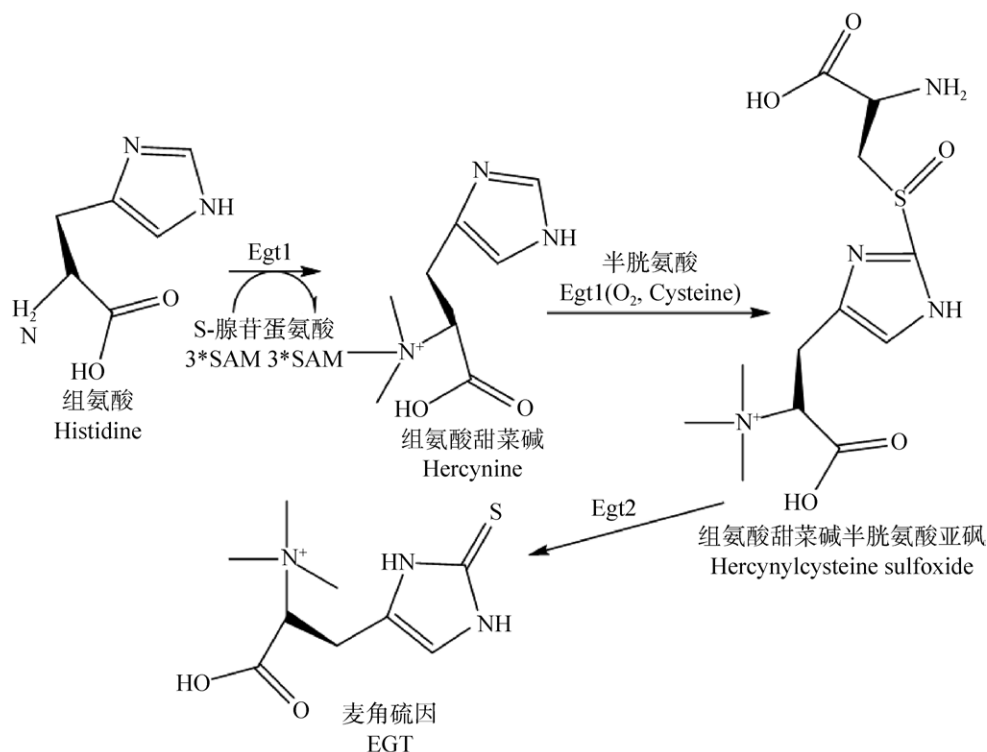


图 1 真菌中麦角硫因合成路径

Fig. 1 Ergothioneine (EGT) synthesis pathway in fungi.

顶侧耳 1 号是从野生金顶侧耳中分离得到,该菌株于 2024 年 06 月 26 日保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心 CGMCC,保藏编号为 CGMCC No.41349,分类命名为金顶侧耳 *Pleurotus citrinopileatus*; EGT 标准品,上海麦克林生化科技股份有限公司;试验所需的碳源、氮源、氨基酸以及其他试剂均购于天津市科密欧化学试剂有限公司,化学试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器和设备

ALC-310.3 型电子分析天平(北京利多奥仪器有限公司); IKA T25 型高剪切混合乳化机(艾卡仪器设备有限公司); YPS11B-HB 型超声设备(杭州成功超声设备有限公司); H2100R 型冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); HZQ-Q 型全温振荡培养箱(哈尔滨东联电子技术开发有限公司); Waters e 2695 型高效液相色谱仪(北京科益恒达科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 金顶侧耳菌种的活化

固体斜面培养的基础培养基为马铃薯综合培养基(CPDA 培养基)(彭述敏等 2010):去皮马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,磷酸二氢钾 3 g,硫酸镁 1.5 g,维生素 B₁ 0.05 mg,琼脂 20 g,水 1 L,酸碱度自然,培养基配制好后,分装于试管中于 121 °C 高压灭菌 20 min。

液体种子培养基: 25 g/L 葡萄糖, 2 g/L 酵母浸粉, 1 g/L 谷氨酸, 0.5 mg/L 生物素, 0.1 g/L 硫胺素, 2 g/L 磷酸二氢钾, 0.5 g/L 硫酸镁, 5 mL 0.1 mol/L 氯化铁, 5 mL 0.1 mol/L 硫酸锰,加水定容至 1 L,在 250 mL 三角瓶中的装液量为 100 mL。121 °C 高压灭菌 20 min。

发酵培养基: 4 g/L 磷酸二氢钾、2 g/L 七水硫酸镁、1 g/L 磷酸二氢铵、1 g/L 半胱氨酸、1 g/L 蛋氨酸和 1 mg/L 维生素 B₁ 的混合物。不同碳源: 甘油、葡萄糖、乳糖、麦芽糖、糊精、淀粉。不同氮源: 酪蛋白胨、酵母浸粉、牛肉膏、豆饼粉、脱脂奶粉。121 °C 高压灭菌 20 min。

菌种活化: 在实验台上放 1 支厚度为 1 cm

左右的木条,培养基灭菌后将试管头部枕在木条上,使管内培养基自然倾斜,冷却凝固后于无菌操作台中接入金顶侧耳菌块,置于 25 °C 培养箱内遮光培养 9 d,菌丝长满试管即完成活化,每个处理设计 3 次重复。

种子液培养: 将上述 CPDA 斜面菌种接种至液体种子培养基中, 26.5 °C、130 r/min 振荡培养 4 d,制备种子液。

发酵培养: 将上述种子液按 5%接种量接种至发酵培养基中,装液量为 100 mL, 25–28 °C、130 r/min 振荡培养 10 d,得到发酵液。

1.2.2 菌丝体生物量测定

采用真空冷冻干燥法,将发酵结束后的培养液用滤网过滤进行菌丝体收集,收集的菌丝体于平皿中经过–40 °C 冰箱中预冷 5–10 h 后,于真空冷冻干燥机中冷冻干燥 24 h,利用电子天平称量冻干菌丝体重量并记录。

1.2.3 金顶侧耳中麦角硫因的提取

采用功率超声辅助热提法,取冻干后的金顶侧耳菌丝体,加水稀释到相同浓度(菌丝体与水的质量比为 1:100)后进行高速剪切混匀, 90 °C 振荡提取 30 min, 300W 功率超声处理 10 min 后,经 10 000 r/min 离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 滤膜后待测。

1.2.4 发酵过程中不同前体物质的添加

称取前体物质甲硫氨酸、半胱氨酸、组氨酸各 3 g,加 60 mL 水,充分溶解后 121 °C 灭菌 20 min,筛选出高产 EGT 的金顶侧耳菌种发酵培养 4 d 时,向其中添加 2%的前体物质,继续培养至第 8 天,测定 EGT 含量。

1.2.5 麦角硫因含量测定

标准溶液配制: 精密称取 0.01 g EGT 标准品溶解于适量水,加水定容于 10 mL 容量瓶中,配制成 EGT 标准储备液(1 000 mg/L),置于–18 °C 下避光保存备用。将 EGT 标准储备液用甲醇稀释成浓度分别为 50、20、10、5、2、1 mg/L 的系列标准工作液,过 0.45 μm 有机相滤膜,–18 °C 下避光保存备用。

色谱分析条件: 4.6 mm × 250 mm, 内径 10 μm 液相色谱柱,柱温 35 °C。检测波长 257 nm,流

速 1 mL/min, 流动相为乙腈:5 mmol/L 醋酸铵溶液(80:20), 单次样品分析采集时间 30 min, 进样量 10 μ L。

1.3 数据处理及分析

试验重复 3 次, 使用 SPSS 软件进行方差分析和 LSD 多重比较, 显著性水平 P 设为 0.05, 使用 Origin 软件绘制图形。

2 结果与分析

2.1 不同碳氮源培养基发酵培养对金顶侧耳菌丝体生物量的影响

筛选发酵培养基中氮源时固定葡萄糖为其碳源, 筛选发酵培养基中碳源时固定酵母浸粉为其氮源, 以此开展不同碳氮源培养基对金顶侧耳菌丝体生物量影响的研究。

以葡萄糖为碳源, 在优化氮源培养基的试验中, 金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 菌株均以豆粉为氮源时, 菌丝体生物量最高, 分别为 1.45、1.21、1.08 和 1.0 g, 其次以酪蛋白胨为氮源时, 金顶侧耳 1 号、2 号、3 号菌丝体生物量较高, 分别为 1.33、1.1 和 0.98 g (图 2)。在这两种氮源培养基中, 4 种金顶侧耳之间金顶侧耳 1 号菌丝体生物量显著高于其他 3 株对比菌株($P<0.05$), 且均是金顶侧耳 1 号>金顶侧耳 2 号>金顶侧耳 3 号>金顶侧耳 83520。豆粉培养基中, 金顶侧耳 1、3 号菌丝体生物量显著高于其他氮源培养基($P<0.05$), 金顶侧耳 2、83520 号与以酪蛋白胨、酵母浸粉为氮源培养基发酵培养菌丝体生物量差异不显著($P>0.05$), 显著高于牛肉膏、乳粉培养基($P<0.05$)。以酵母浸粉为氮源时, 在优化碳源培养基的试验中, 金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 菌株均以可溶性淀粉为碳源时, 菌丝体生物量最高, 分别为 2.24、1.88、1.51 和 1.81 g, 且 4 株菌的菌丝体生物量间差异显著($P<0.05$); 其次以乳糖为碳源时, 菌丝体生物量较高, 分别为 1.35、1.09、1.04 和 0.93 g (图 3)。在可溶性淀粉、乳糖、葡萄糖培养基中, 金顶侧耳 1 号菌丝体生物量均显著高于其他 3 株对比菌株, 生物量最小的碳源培养基为甘油培养基。

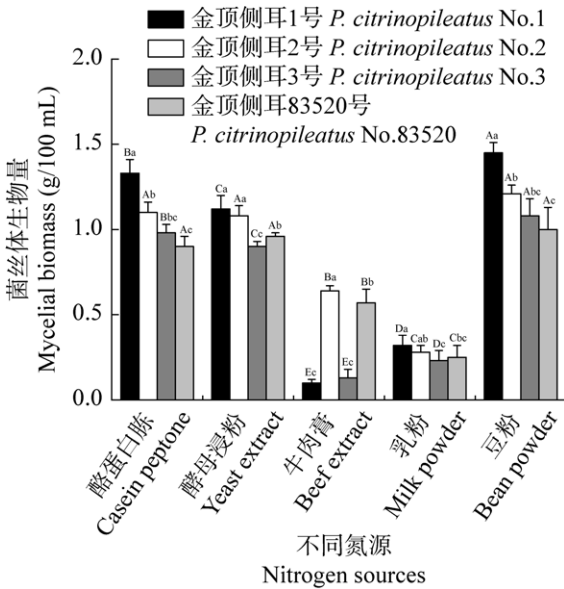


图 2 不同氮源培养基对金顶侧耳菌丝体生物量的影响 大写字母表示组间显著性水平($P<0.05$), 小写字母表示组内显著性水平($P<0.05$). 下同
Fig. 2 Effects of different nitrogen source media on the biomass of *Pleurotus citrinopileatus* mycelium. The uppercase letters indicate the significant level between groups ($P<0.05$), and the lowercase letters indicate the significant level within groups ($P<0.05$). The same below.

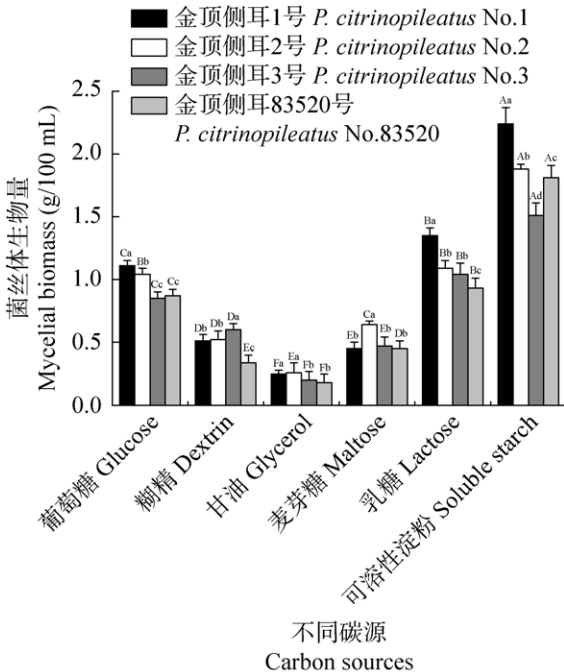


图 3 不同碳源培养基对金顶侧耳菌丝体生物量的影响
Fig. 3 Effects of different carbon source media on the biomass of *Pleurotus citrinopileatus* mycelium.

以菌丝体生物量为参考指标, 4 株菌株最佳氮源为豆粉和酪蛋白胨, 最佳碳源为可溶性淀粉和乳糖。但在实验过程中发现, 分别以豆粉为氮源、可溶性淀粉为碳源时, 发酵液内沉淀物较多, 可能是培养基内的蛋白和淀粉在高温灭菌的过程中发生变性及糊化现象, 导致提取的固形物中菌丝体含量有很大不确定性, 故选择乳糖和酪蛋白胨为金顶侧耳发酵培养基的最佳碳氮源。

2.2 不同碳氮源培养基发酵培养对金顶侧耳 EGT 含量的影响

筛选发酵培养基中氮源时固定葡萄糖为其碳源, 筛选发酵培养基中碳源时固定酵母浸粉为其氮源, 以此开展不同碳氮源对金顶侧耳 EGT 含量的影响。

以酪蛋白胨为氮源的培养基中, 金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 菌株菌丝体中 EGT 含量均为最高且显著高于其他氮源培养基菌丝体中 EGT 含量($P<0.05$), 4 株菌 EGT 含量分别为 90.56、76.35、82.52、56.86 $\mu\text{g/mL}$, 菌株之间 EGT 含量差异显著($P<0.05$), 且金顶侧耳 1 号菌丝体中 EGT 含量最高(图 4)。以豆粉为氮源培养基中 EGT 含量最低。

以乳糖为碳源的培养基中, 金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 菌株菌丝体中 EGT 含量均为最高且与其他碳源培养基相比差异显著($P<0.05$), 金顶侧耳 1 号菌丝体中 EGT 含量显著高于其他 3 株对比菌株($P<0.05$), 分别为 101.18、90.65、95.5、68.4 $\mu\text{g/mL}$ (图 5)。

2.3 优化后培养基发酵培养对金顶侧耳菌丝体生物量及 EGT 含量的影响

通过以上对菌种发酵培养基配方中碳氮源的筛选, 分别以乳糖和酪蛋白胨为发酵培养基的碳氮源对 4 株菌进行发酵培养, 测定其菌丝体生物量及 EGT 含量。

优化培养基后, 金顶侧耳 1 号无论从菌丝体生物量还是 EGT 含量分析, 均显著高于其他 3 株对比菌株($P<0.05$), 菌丝体生物量最高为 1.52 g/100 mL, EGT 含量为 106.81 $\mu\text{g/mL}$ (图 6)。金顶侧耳 2 号菌丝体生物量高于金顶侧耳 3 号,

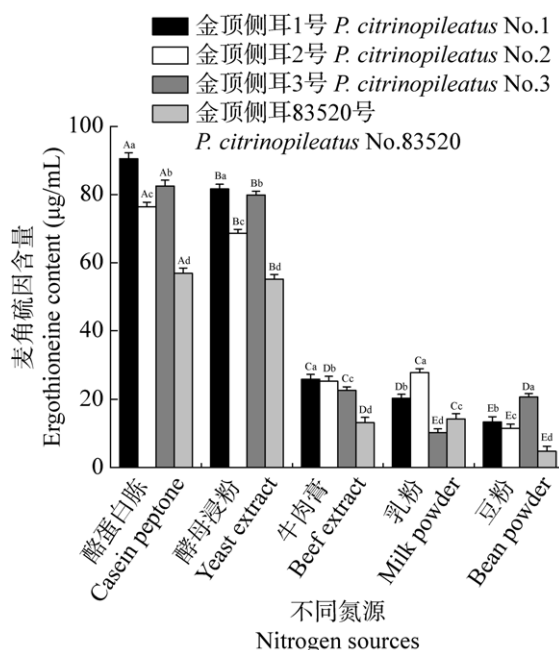


图 4 不同种类氮源对金顶侧耳麦角硫因含量的影响

Fig. 4 Effects of different nitrogen sources on ergothioneine content of *Pleurotus citrinopileatus* mycelium.

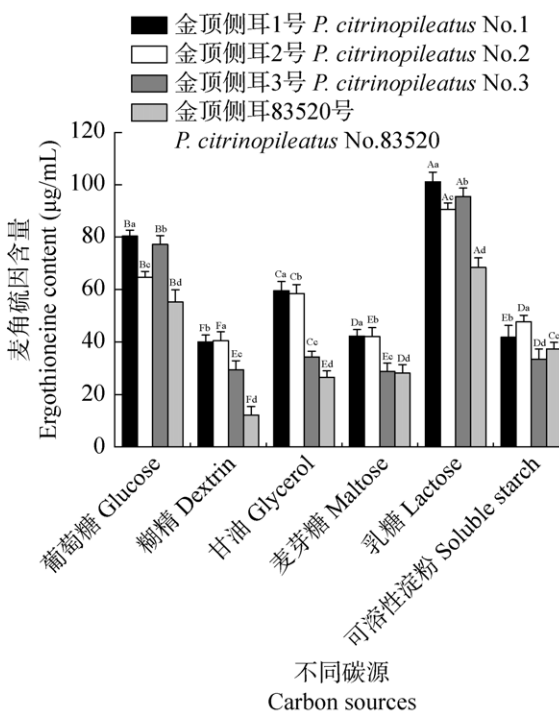


图 5 不同种类碳源对金顶侧耳麦角硫因含量的影响

Fig. 5 Effects of different carbon sources on ergothioneine content of *Pleurotus citrinopileatus* mycelium.

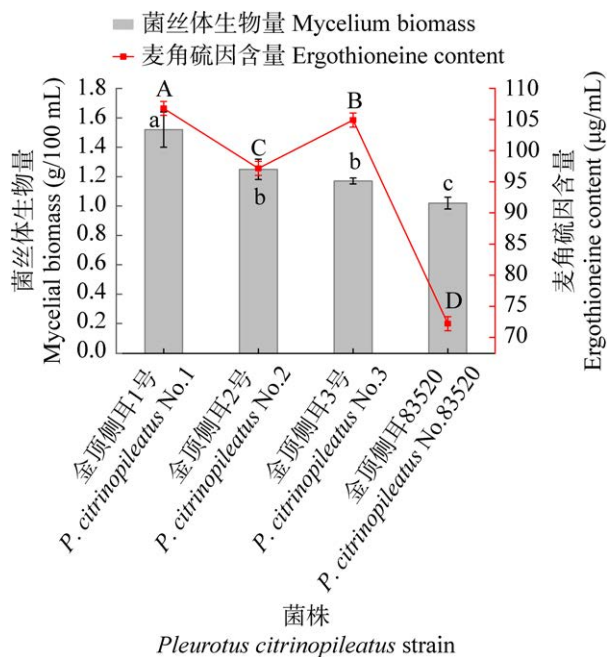


图 6 优化后培养基发酵培养对不同金顶侧耳菌株菌丝体生物量及 EGT 含量的影响 大写字母表示 EGT 含量显著性水平($P<0.05$),小写字母表示菌丝体生物量显著性水平($P<0.05$).下同

Fig. 6 Mycelial biomass and EGT content of different *Pleurotus citrinopileatus* strains. The uppercase letters indicate the significant level of EGT content ($P<0.05$), and the lowercase letters indicate the significant level of mycelium biomass ($P<0.05$). The same below.

差异不显著($P>0.05$),但金顶侧耳 3 号菌丝体 EGT 含量显著高于金顶侧耳 2 号($P<0.05$),金顶侧耳 83520 菌丝体生物量和 EGT 含量均显著低于其他 3 株对比菌株($P<0.05$)。培养基经优化后,4 株菌的菌丝体生物量和 EGT 含量均高于优化前含量,可见优化后的发酵培养基更利于菌丝体生长和 EGT 合成,但其适宜程度并不同。

2.4 不同前体物质对金顶侧耳 1 号菌丝体生物量及 EGT 含量的影响

从以上分析可知,培养基经优化后,金顶侧耳 1 号菌丝体生物量和 EGT 含量均显著高于其他 3 株对比菌株,所以选择金顶侧耳 1 号用于研究不同前体物质对菌丝体生物量及 EGT 含量的影响。

与对照组相比,发酵中途补充前体物质菌

丝体生物量均提高,其中甲硫氨酸与对照组相比差异最为显著($P<0.05$),由 1.52 g/100 mL 升高至 1.98 g/100 mL,而半胱氨酸和组氨酸与对照组相比差异不显著($P>0.05$);从 EGT 含量结果可知,与对照组相比,添加前体物质后菌丝体 EGT 含量显著升高($P<0.05$),其中甲硫氨酸 EGT 含量最高为 228.908 $\mu\text{g/mL}$,对照组 EGT 含量为 106.81 $\mu\text{g/mL}$,产量提高了 1 倍多(图 7)。

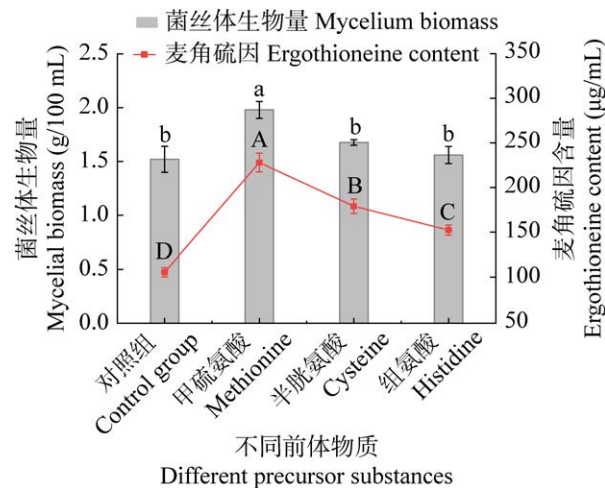


图 7 不同前体物质对金顶侧耳 1 号菌丝体生物量及 EGT 含量的影响

Fig. 7 Effects of different precursors on mycelial biomass and EGT content of *Pleurotus citrinopileatus* No.1.

3 讨论

EGT 作为一种抗氧化因子,在人体内具有多种生理活性,应用前景广泛。在自然界中 EGT 来源于细菌和真菌,真菌中的食用菌作为一种食材具有悠久的食用和栽培历史,是工业化大量生成麦角硫因的最佳原料之一。食用菌的子实体及液体发酵菌丝体均发现具有合成麦角硫因的能力,但从工业生产方面考虑,优选利用液体发酵的方法进行生产,因为食用菌液体发酵生产周期短,且可以连续生产,占地面积也较小。为了使食用菌产麦角硫因的能力提高从而能生产更大量的麦角硫因,建立一个高产麦角硫因的液体发酵体系尤为重要。

碳氮源是菌丝体细胞必不可少的营养物质,是微生物菌丝体生长发育活动的主要能量

来源。在液体发酵的过程中,培养基初始碳源种类的选择会对菌丝体生长和微生物次级代谢产物的产量产生较大的影响(汤葆莎等 2021;戴玉成 2022;戴丹等 2024;肖自添等 2024)。本研究结果表明,筛选发酵培养基最佳碳源为乳糖,该培养条件下金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 这 4 株菌的菌丝体生物量和 EGT 含量较高,其中金顶侧耳 1 号菌丝体生物量最高为 1.35 g/100 mL,EGT 含量最高为 101.18 $\mu\text{g/mL}$;最佳氮源为酪蛋白胨,该培养条件下 4 株菌的菌丝体生物量和 EGT 含量较高,其中金顶侧耳 1 号菌丝体生物量最高为 1.33 g/100 mL,EGT 含量最高为 90.56 $\mu\text{g/mL}$ 。由此可知,金顶侧耳 1 号、2 号、3 号、83520 菌株能利用所有供试碳氮源,但是对其喜好和利用能力不同,这与刘利平等(2021)以金顶侧耳菌丝体生物量为指标筛选最适碳氮源研究结果一致。不同碳氮源培养基对金顶侧耳合成 EGT 的含量有一定的影响,可能是因为金顶侧耳对不同碳氮源的吸收利用程度不同,导致其合成 EGT 的能力也不相同,这与刘利平等(2021)研究不同碳氮源对金顶侧耳菌丝体代谢产物的影响结果一致。综合金顶侧耳菌丝体生物量和 EGT 含量的影响,选择乳糖和酪蛋白胨作为菌种发酵培养基配方的最佳碳氮源(汤葆莎等 2021),这与 Liang *et al.* (2013)筛选 *Pleurotus ostreatus* 菌丝体发酵生物合成 EGT 的最适氮源结果一致。

培养基碳氮源经筛选优化后,4 株菌的菌丝体生物量和 EGT 含量均高于优化前含量,可见优化后的发酵培养基更利于菌丝体生长和 EGT 合成,但其适宜程度并不同,其中金顶侧耳 1 号菌丝体生物量最高,为 1.52 g/100 mL,EGT 含量最高,为 106.81 $\mu\text{g/mL}$ 。在研究中发现,菌丝体生物量高并不表示其 EGT 含量也高,这与刘雨等(2024)以糙皮侧耳为发酵菌种,添加枸杞子和党参的复配提取液后菌丝体生物量和 EGT 含量之间变化关系一致,菌丝体生物量与 EGT 含量并不存在正比关系,其他因素可能同时影响了两者的变化,而不是单纯

由于菌丝体生物量的增加直接导致 EGT 含量的增加。

EGT 是次级代谢产物,前体物质氨基酸常常是次级代谢物生物合成的重要营养和调节因子,可以强化 EGT 的发酵积累过程,促进 EGT 生成。本研究筛选最佳前体物质为甲硫氨酸,添加后金顶侧耳 1 号菌丝体生物量提高至 1.98 g/100 mL,EGT 含量提高至 228.908 $\mu\text{g/mL}$ 。这是因为 EGT 是由组氨酸、半胱氨酸以及 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)通过一系列酶催化合成,补充前体物质在一定程度上会促进 EGT 的生成。甲硫氨酸是合成 SAM 的底物(李桂瑶 2020),通过补充甲硫氨酸,促进表达 SAM 合成酶将其高效转化为 SAM,从而促进 EGT 的生物合成。

发酵中途补充前体物质时,菌丝体生物量和 EGT 含量与对照组相比均提高,但提高的显著性并不相同。这与刘艺等(2016)对灵芝液体发酵菌丝体中 agaricoglyceride A 前体物质筛选研究结果一致,在菌种发酵期间,在发酵液中直接滴加前体可显著提高发酵效价,但前体物质的种类、浓度、滴加时间、加入量均对发酵效价有一定的影响。

本研究以金顶侧耳菌丝体生物量及 EGT 含量为依据,筛选出高产菌丝体生物量和 EGT 的发酵培养基碳氮源,对发酵培养基进行优化,同时筛选出优势菌株,并探究不同前体物质的添加对金顶侧耳菌丝体生物量和麦角硫因含量的影响,为工业化大规模发酵生产金顶侧耳菌丝体以及其代谢产物奠定了研究基础。

作者贡献

王琳:论文构思、撰写;王语聪、姜水地:查阅文献;谢智鑫:图表制作、软件应用;刘丹怡:数据收集与分析;全润、高志威:实验操作;刘容旭、韩建春:文章审核。

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]

- Borodina I, Kenny LC, McCarthy CM, Paramasivan K, Pretorius E, Roberts TJ, Hoek VD, Steven A, Kell DB, 2020. The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical. *Nutrition Research Reviews*, 33(2): 190-217
- Cheah IK, Halliwell B, 2012. Ergothioneine: antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica Et Biophysica Acta-molecular Basis of Disease*, 1822(5): 784-793
- Cheah IK, Tang RMY, Wang XY, Karishma S, Chong SY, Lim LHK, Wang JW, Halliwell B, 2023. Protection against doxorubicin-induced cardiotoxicity by ergothioneine. *Antioxidants*, 12(2): 320
- Dai D, Wang Z, Hu J, Dai JC, Peng XH, Sun P, Chen XT, Wang ZW, Wei YH, Li Y, 2024. Biological characteristics and domestication of *Piptoporellus soloniensis* (Piptoporellaceae, Basidiomycota). *Mycosystema*, 43(7): 230333 (in Chinese)
- Dai YC, 2022. New trend of edible and medicinal fungi research in China—based on publications in *Mycosystema* during 2000–2021. *Journal of Fungal Research*, 20: 141-156 (in Chinese)
- Dai YC, Bau T, 2007. Illustrations of edible and medicinal fungi in northeastern China. Science Press, Beijing. 1-231 (in Chinese)
- Duan R, Pan HC, Li D, Liao S, Hao B, 2023. Ergothioneine improves myocardial remodeling and heart function after acute myocardial infarction via S-glutathionylation through the NF- κ B dependent Wnt5a-sFlt-1 pathway. *European Journal of Pharmacology*, 950: 175759
- Dumitrescu DG, Gordon EM, Kovalyova Y, Seminara AB, Duncan LB, Forster ER, Zhou W, Booth CJ, Shen A, Kranzusch PJ, Hatzios SK, 2022. A microbial transporter of the dietary antioxidant ergothioneine. *Cell*, 185(24): 4526-4540
- Hu W, Song H, Her AS, Bak DW, Liu P, 2014. Bioinformatic and biochemical characterizations of C-S bond formation and cleavage enzymes in the fungus *Neurospora crassa* ergothioneine biosynthetic pathway. *Organic Letters*, 16(20): 5382-5385
- Huang YW, 2018. Research and application of the extract from *Pleurotus citrinopileatus* in cosmetics. MS Thesis, Shanghai University of Applied Technology, Shanghai. 1-60 (in Chinese)
- Kalaras MD, Richie JP, Calcagnotto A, Beelman RB, 2017. Mushrooms: a rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry*, 233: 429-433
- Lam-Sidun D, 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
- Li GY, 2020. Reprogramming *Bacillus subtilis* for the production of ergothioneine. MS Thesis, Nanjing University, Nanjing. 1-62 (in Chinese)
- Li N, 2024. Mechanisms of ergothioneine in alleviating cognitive dysfunction in alzheimer's disease. PhD Dissertation, Central South University of Forestry and Technology, Changsha. 1-159 (in Chinese)
- Liang CH, Huang LY, Ho KJ, Lin SY, Mau JL, 2013. Submerged cultivation of mycelium with high ergothioneine content from the culinary-medicinal king oyster mushroom *Pleurotus eryngii* (higher Basidiomycetes) and its composition. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 15(2): 153-164
- Lin SY, Chien SC, Wang, Mau ZJ, 2015. Submerged cultivation of mycelium with high ergothioneine content from the culinary-medicinal golden oyster mushroom, *Pleurotus citrinopileatus* (higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 17(8): 749-761
- Liu LP, Sun Y, Shuai JC, Ma YC, Zhang ZC, Mao C, Sun L, 2021. Effects of different carbon and nitrogen sources on mycelium biomass and metabolites of *Pleurotus citrinopileatus* Sing. *Edible Fungi of China*, 40(4): 78-86 (in Chinese)
- Liu XQ, 2020. Efficacy evaluation of ergothioneine and development and application of raw materials. MS Thesis, Shanghai University of Applied Technology, Shanghai. 1-67 (in Chinese)
- Liu Y, Chen SY, Yu J, Gao W, Xie AD, 2024. Effects of five Chinese herbal extracts on the fermentation of ergothioneine from *Pleurotus ostreatus*. *China Food Additives*, 35(7): 1-8 (in Chinese)
- Liu Y, Feng KM, Di ZB, Zhang PP, Han CC, Gu ZW, 2016. Screening of agaricoglyceride A precursor in *Ganoderma lucidum* liquid-state fermentation mycelium. *China Brewing*, 35(7): 45-49 (in Chinese)
- Peng SM, Chen YH, Cheng LJ, Jiang SS, Feng XF, 2010. Screening of growth condition for 2 *Armillaria mella* strains symbiotic with *Gastrodia elata*. *Edible Fungi of China*, 29(4): 22-25 (in Chinese)
- Ran ST, Zhang JQ, Wang J, 2025. Breeding of high-yield ergothioneine *Pleurotus citrinopileatus* strain by mutagenesis technology. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 39(2): 204-213 (in Chinese)
- Rauf A, Joshi PB, Ahmad Z, Ahmad Z, Hemeg HA, Olatunde A, Naz S, Hafeez N, Simal GJ, 2023. Edible mushrooms as potential functional foods in amelioration of hypertension. *Phytotherapy Research*, 37(6): 2644-2660
- Roda E, Ratto D, Luca FD, Desiderio A, Ramieri M, Goppa L, Savino E, Bottone M, Locatelli C, Rossi P, 2022. Searching for a longevity food, we bump into *Hericum*

- erinaceus* primordium rich in ergothioneine: the “longevity vitamin” improves locomotor performances during aging. *Nutrients*, 14(6): 1177
- Rong S, 2024. Ergothioneine, “longevity vitamin” in edible fungi. *China Food*, 2024(1): 132-133 (in Chinese)
- Stampfli AR, Blankenfeldt W, Seebeck FP, 2020. Structural basis of ergothioneine biosynthesis. *Current Opinion in Structural Biology*, 65: 1-8
- Tang BS, Wu L, Weng MJ, Lai PF, Li YB, 2021. Optimization of medium for biosynthesis of ergothioneine by submerged fermentation of *Pleurotus eryngii* 528. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 36(6): 728-734 (in Chinese)
- Tao Y, Xiao S, Cai JM, Wang JH, Liu BN, Wang L, 2021. Effect of *Flammulina velutipes* extract rich in ergothioneine on the quality of frozen pork patties. *Science and Technology of Food Industry*, 42(9): 306-312 (in Chinese)
- Valachová K, Mach M, Mubovicky D, Oltés L, 2019. The importance of ergothioneine synthesis in ancient time by organisms living in oxygen free atmosphere. *Medical Hypotheses*, 123: 72-73
- van der Hoek SA, Rusnak M, Wang G, Stanchev LD, Alves LDF, Jessop-Fabre MM, Paramasivan K, Jacobsen IH, Sonnenschein N, Martinez JL, 2022. Engineering precursor supply for the high-level production of ergothioneine in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering*, 70: 129-142
- Wei L, Liu L, Gong W, 2024. Structure of mycobacterial ergothioneine-biosynthesis C-S lyase Egt E. *Journal of Biological Chemistry*, 300(1): 105539
- Xiao ZT, He HQ, Peng YY, Liu M, Xu J, Qiu YH, Sun YF, Cui BK, 2024. Domestication and antioxidant activities of five wild *Sanguinoderma* species. *Mycosystema*, 43(6): 230253 (in Chinese)
- Yan YH, Song S, Song QG, Liu XK, Song ZJ, Liu Y, Bi Q, 2021. Comparative test on application of three types of *Pleurotus citrinopileatus* strains. *Edible Fungi*, 43(5): 63-65 (in Chinese)
- Yang LL, Shen ZH, Luo XY, Li RP, Li RC, 2025. Recent progress in ergothioneine of edible fungi. *Chinese Journal of Biotechnology*, 41(2): 1-16 (in Chinese)
- Zhu M, Guo X, Yan C, Li ZY, Ren LJ, 2025. Effects of different sulfur sources on ergothioneine production by submerged fermentation of *Pleurotus citrinopileatus*. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1706.q.20240903.1427.002.html> (in Chinese)
- [附中文参考文献]
- 戴丹, 王振, 胡佳, 戴建成, 彭新红, 孙鹏, 陈绪涛, 王志伟, 魏云辉, 李玉, 2024. 梭伦小剥管孔菌生物学特性和驯化栽培. *菌物学报*, 43(7): 230333
- 戴玉成, 2022. 中国食药真菌研究发展的新趋势——以《菌物学报》2000–2021 年发表论文分析. *菌物研究*, 20: 141-156
- 戴玉成, 图力古尔, 2007. 中国东北野生食药真菌图志. 北京: 科学出版社. 1-231
- 黄怡雯, 2018. 榆黄菇提取液在化妆品中的研究与应用. 上海应用技术大学硕士论文, 上海. 1-60
- 李桂瑶, 2020. 基于芽孢杆菌细胞重编程的麦角硫因生物合成研究. 南京大学硕士论文, 南京. 1-62
- 李娜, 2024. 麦角硫因缓解改善阿尔茨海默症认知障碍的机制研究. 中南林业科技大学博士论文, 长沙. 1-159
- 刘利平, 孙宇, 帅纪晨, 马云驰, 张志才, 毛超, 孙玲, 2021. 不同碳氮源对榆黄蘑菇丝体生物量及其代谢产物的影响. *中国食用菌*, 40(4): 78-86
- 刘新琦, 2020. 麦角硫因的功效评价及原料的开发、应用. 上海应用技术大学硕士论文, 上海. 1-67
- 刘艺, 冯坤苗, 狄志彪, 张盼盼, 韩春超, 顾正位, 2016. 灵芝液体发酵菌丝体中 Agaricoglyceride A 前体物质筛选. *中国酿造*, 35(7): 45-49
- 刘雨, 陈思宇, 余杰, 高娃, 谢爱娣, 2024. 5 种中草药提取液对糙皮侧耳发酵产麦角硫因的影响. *中国食品添加剂*, 35(7): 1-8
- 彭述敏, 陈玉惠, 程立君, 蒋仕坤, 冯小飞, 2010. 2 株优良天麻共生蜜环菌生长条件筛选. *中国食用菌*, 29(4): 22-25
- 冉思婷, 张嘉琪, 王杰, 2025. 诱变技术选育高产麦角硫因的榆黄菇菌株. *核农学报*, 39(2): 204-213
- 荣爽, 2024. 麦角硫因, 食用菌类中的“长寿维生素”. *中国食品*, 2024(1): 132-133
- 汤葆莎, 吴俐, 翁敏劼, 赖谱富, 李怡彬, 2021. 杏鲍菇 528 深层发酵生物合成麦角硫因的培养基优化. *福建农业学报*, 36(6): 728-734
- 陶冶, 肖珊, 蔡嘉铭, 王际辉, 刘冰南, 王亮, 2021. 富含麦角硫因的金针菇提取物对冷冻猪肉糜品质的影响. *食品工业科技*, 42(9): 306-312
- 肖自添, 何焕清, 彭洋洋, 刘明, 徐江, 邱远辉, 孙一翡, 崔宝凯, 2024. 五种野生血芝的驯化栽培及其抗氧化活性. *菌物学报*, 43(6): 230253
- 严源辉, 宋爽, 宋庆港, 刘新康, 宋忠娟, 刘宇, 毕倩, 2021. 三种类型榆黄菇菌种应用比较试验. *食用菌*, 43(5): 63-65
- 杨林雷, 沈真辉, 罗祥英, 李荣平, 李荣春, 2025. 食用菌麦角硫因的研究进展. *生物工程学报*, 41(2): 1-16
- 朱敏, 郭迅, 严川, 李子彦, 任路静, 2025. 不同硫源对榆黄菇深层发酵产麦角硫因的影响. *生物加工过程*, <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1706.q.20240903.1427.002.html>