

## 研究报告

## 富硒酵母的筛选优化及其对心肌肥大的影响

刘龙兴<sup>1</sup>, 付丹<sup>2</sup>, 伍友玉<sup>1</sup>, 何艺林<sup>3</sup>, 徐力<sup>3</sup>, 石佳<sup>1</sup>, 葛子杰<sup>2</sup>,  
邹小已<sup>2</sup>, 马毓<sup>2</sup>, 丁耀成<sup>2</sup>, 钱凯<sup>\*2</sup>

1 宜春学院 化学与生物工程学院, 江西 宜春 336000

2 宜春学院 医学院, 江西 宜春 336000

3 江西承葛生物科技有限公司, 江西 宜春 336000

刘龙兴, 付丹, 伍友玉, 何艺林, 徐力, 石佳, 葛子杰, 邹小已, 马毓, 丁耀成, 钱凯. 富硒酵母的筛选优化及其对心肌肥大的影响[J]. 微生物学通报, 2025, 52(5): 2291-2301.

LIU Longxing, FU Dan, WU Youyu, HE Yilin, XU Li, SHI Jia, GE Zijie, ZOU Xiaoyi, MA Yu, DING Yaocheng, QIAN Kai. A selenium-rich yeast strain: screening, culture condition optimization, and protecting effect against myocardial hypertrophy[J]. Microbiology China, 2025, 52(5): 2291-2301.

**摘要:** 【背景】宜春的温汤温泉是天然富硒温泉, 同时也是富硒土壤区域。【目的】筛选优化富硒酵母并研究其对心功能的保护作用。【方法】实验选取了 60 个典型土壤样本, 并通过筛选抗性平板获得了一种具有高硒富集能力的酵母菌株。显微镜和扫描电子显微镜观察表明, 此酵母是一种典型的酵母菌株, 通过 18S 测序鉴定为葡萄汁有孢汉逊酵母(*Hanseniaspora uvarum*)。实验进一步优化了亚硒酸钠的添加量、添加时间、发酵时间和温度, 优化后酵母中的有机硒含量进一步提高。在发酵罐中进一步放大发酵后有机硒含量达到高水平,  $OD_{600}$  在 56 h 后高达 132。为了研究富硒酵母的生理功能, 实验通过阿霉素(doxorubicin, ADR)建立了心肌肥大小鼠模型。【结果】富硒酵母对改善心肌肥大有良好的效果, 其机制可能与抗氧化和抗凋亡作用有关。【结论】筛选出一种高硒含量的酵母菌株。通过优化培养条件和 5 L 发酵罐的发酵, 表明所获得的酵母具有良好的工业应用前景, 并且这种富硒酵母具有良好的抗氧化活性。

**关键词:** 富硒酵母; 筛选; 培养条件优化; 发酵罐; 抗氧化

资助项目: 江西省教育厅基金(GJJ2401615, JXJG-24-15-15)

This work was supported by the Jiangxi Provincial Department of Education Fund (GJJ2401615, JXJG-24-15-15).

\*Corresponding author. E-mail: qqkkqian@126.com

Received: 2024-08-08; Accepted: 2024-09-17; Published online: 2024-10-24

## A selenium-rich yeast strain: screening, culture condition optimization, and protecting effect against myocardial hypertrophy

LIU Longxing<sup>1</sup>, FU Dan<sup>2</sup>, WU Youyu<sup>1</sup>, HE Yilin<sup>3</sup>, XU Li<sup>3</sup>, SHI Jia<sup>1</sup>, GE Zijie<sup>2</sup>, ZOU Xiaoyi<sup>2</sup>, MA Yu<sup>2</sup>, DING Yaocheng<sup>2</sup>, QIAN Kai<sup>\*2</sup>

1 School of Chemical and Biological Engineering, Yichun University, Yichun 336000, Jiangxi, China

2 College of Medicine, Yichun University, Yichun 336000, Jiangxi, China

3 Jiangxi Chengge Biotechnology Co., Ltd., Yichun 336000, Jiangxi, China

**Abstract:** [Background] The water and soil of Wentang hot spring in Yichun is rich in selenium. In this study, a selenium-rich yeast strain was isolated from this natural selenium-rich area. [Objective] To optimize the culture conditions of the selenium-rich yeast strain and study the protective effect of this strain on cardiac function. [Methods] Sixty typical soil samples were collected, from which a yeast strain with high selenium was screened out on the plate with antibiotics. Microscopy and scanning electron microscopy showed that the isolate was a typical yeast strain. The strain was identified by 18S sequencing as *Hanseniaspora uvarum*. The addition amount and time of sodium selenate, fermentation time, and fermentation temperature were optimized to improve the selenium content in this strain. The further scale-up fermentation in a fermenter showed a high level of organic selenium content, and the cell density ( $OD_{600}$ ) reached 132 after 56 h. Furthermore, a mouse model of cardiac hypertrophy was established with doxorubicin to study the physiological function of selenium-rich yeast. [Results] The selenium-rich yeast strain alleviated myocardial hypertrophy, which may be related to its anti-oxidation and anti-apoptosis effects. [Conclusion] We successfully isolated a yeast strain with high selenium content. The culture condition optimization and scale-up fermentation in a 5-L fermenter showed that the obtained yeast strain had a broad industrial application prospect, and such selenium-rich yeast had a strong antioxidant activity.

**Keywords:** selenium-rich yeast; screening; optimization of culture conditions; fermenter; antioxidant

硒最早由瑞士化学家贝采留斯发现,当时被认为是一种有毒重金属。直到1957年,科学家们成功地用硒治愈了动物的肝坏死,硒的营养效果才进入公众视野<sup>[1]</sup>。1973年,科学家利用同位素示踪技术发现谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)的活性中心需要硒的参与,随后对硒的功能进行了深入研究<sup>[2]</sup>。如今,硒作为人体不可缺少的微量元素已被科学家广泛证实和接受。在过去的10年中,随着对硒的广泛深入研究,硒在生命中的重要作用逐渐被认识<sup>[3]</sup>。硒在人体的抗氧化、免疫促进

和防癌方面发挥着重要的调节作用<sup>[4]</sup>。

微生物是一个高效的生物工厂。酵母能够在细胞内用无机硒替代含硫氨基酸中的硫生成硒氨基酸,将无机硒转化为有机硒并消除有机硒的毒性效应<sup>[5]</sup>。酵母如今已广泛应用于现代食品和医药领域中,其安全性也得到了美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)的认可<sup>[6]</sup>。临床试验证明,摄入富含硒的酵母可以增加血浆中的硒含量,降低癌症的发病率和死亡率<sup>[7]</sup>。在有机硒的开发应用中,它具有转化效率高、有机硒浓度高、人体容易吸

收和安全性强的优势<sup>[8]</sup>。因此,富硒酵母是一种营养功能较全面的高效有机补硒剂。

根据现有临床和动物实验研究,硒主要有抗氧化、抗炎、抗凋亡作用,这些作用可能有助于预防或减缓心肌肥大的发展<sup>[9]</sup>。硒是 GPX 的辅助因子,这种酶能够清除有害的自由基,减少氧化应激,氧化应激是心肌肥大和心脏疾病发展的一个关键因素;硒的补充可能有助于提高 GPX 的活性,从而保护心肌细胞免受氧化损伤,硒同时可以通过改变某些基因的表达来影响细胞的生存和凋亡;例如,硒可以增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,减少促凋亡蛋白 Bax 的表达从而对心肌肥大产生影响,硒的补充也可以有助于保护心脏结构和功能,在硒缺乏的个体中产生的作用会更加明显<sup>[10]</sup>。

富硒酵母是一种特殊的有机硒补充形式,它以生物利用度高、营养全面、稳定和安全而被广泛应用,然而不同的富硒酵母其酵母菌种和生产工艺等的不同,会导致其所含营养成分特别是硒含量有所不同,进而产生其稳定性、生物利用度和健康效益等的差异。近年来,国内外对富硒酵母的研究进展显著,在富硒酵母的筛选与培养条件优化方面,研究人员通过不同的培养基和培养条件,筛选出具有高富硒能力的酵母菌株。例如, Yin 等<sup>[11]</sup>通过响应面方法优化富硒酵母的培养条件,研究了与富硒酵母总硒产量相关的主要因素,包括温度、初始 pH 值和体积,应用 Box-Behnken 设计优化培养条件参数,并建立了二次多项式回归模型,探讨了可以获得最丰富的富硒酵母的条件。在 *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 上发表的综述文章中,描述了富硒酵母、乳酸菌、双歧杆菌的特性,并讨论了它们的富硒机制,文章还评估了富硒益生菌代谢的硒产物,如硒纳米颗粒和硒蛋白,并综述了影响益生菌富硒能力的因素及其在动物饲料、食品添加剂和功能性食品生产中的应用<sup>[12]</sup>。目前,富硒酵母在预防肿瘤、降低三高(高血压、高血脂、高血糖)

及提高机体免疫力等方面发挥着重要作用,多国官方已经批准富硒酵母作为特殊医学用途食品的硒源。

宜春有富硒土壤和富硒温泉。在长期高富硒土壤和水中,宜春地区可以培育出富硒酵母。我们的目标是通过筛选当地的富硒酵母资源并优化发酵条件获得一种高含量的富硒酵母,在此基础上进一步研究富硒酵母对心肌的保护作用。富硒酵母作为一种有机硒的来源,研究其对心肌的保护作用可能揭示富硒酵母在预防心脏病,如冠心病、心肌梗死和心肌肥大等方面的作用机制,从而为心脏病的预防提供新的策略。开发和推广富硒酵母作为心肌保护的营养补充剂,以满足特定人群如硒缺乏地区居民的健康需求,可能带来经济效益和社会效益。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品

宜春温汤镇的土壤长期富硒并拥有天然富硒温泉,被选为土壤样本采集地。从该地区的果园农场随机采集样本,土壤样本采集深度为地表以下 5–10 cm。

雄性 C57/B6 小鼠 33 只,8–12 周龄,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。动物实验操作严格遵循国家卫生研究院实验室动物护理和使用指南,并得到宜春学院动物伦理委员会的批准(编号:2021-046)。

### 1.2 培养基

改良酵母浸出粉胨葡萄糖(yeast extract peptone dextrose, YPD)培养基(g/L):葡萄糖 20.0,胰蛋白胨 20.0,酵母粉 10.0,在固体培养基中加入 15.0 g/L 琼脂。改良发酵培养基(g/L):葡萄糖 40.0,胰蛋白胨 30.0,酵母粉 10.5,磷酸缓冲液(0.1 mol/L,其中,磷酸二氢钾 8.77 g/L,磷酸氢二钾 12.3 g/L, pH 6.0) 100 mL/L。5 L 发酵罐中培养基(g/L):胰蛋白胨 40.0,酵母提取物 20.0,葡萄糖 20.0, pH 6.0。改良培养基(g/L):葡萄糖 10.0,胰蛋白胨 5.0,

酵母粉 5.0。

### 1.3 主要试剂和仪器

蛋白胨, 北京奥博星生物技术有限公司; 酵母浸出粉, 上海盛思生化科技有限公司; 琼脂粉, 上海山浦化工有限公司; 葡萄糖、磷酸二氢钾、磷酸二氢钠和亚硒酸钠, 上海沪试生物科技有限公司; 阿霉素、青霉素和链霉素, 北京索莱宝生物科技有限公司; 酵母基因组 DNA 提取试剂盒, 天根生化科技(北京)有限公司; Bcl-2 抗体、Bax 抗体、NF- $\kappa$ B 抗体、SOD 抗体、GPX4 抗体、GAPDH 抗体, 细胞信号技术公司。

恒温培养振荡器, 上海市智诚分析仪器有限公司; 台式高速冷冻离心机, 湖南星科科学仪器有限公司; 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 纯水系统仪器, 鼎技科学仪器有限公司; 原子荧光光度计, 北京海光仪器有限公司; 发酵罐, 上海保兴生物设备工程有限公司。ChemiDoc™ XRS+系统, Bio-Rad 公司。

### 1.4 土壤中酵母菌株的筛选与鉴定

选择典型采样点对具有富硒泉水的果园进行采样。从 5–10 cm 的土层中取样, 称取 1 g 土壤加入 5 mL YPD 液体培养基(100  $\mu$ g/mL 青霉素), 在 25  $^{\circ}$ C、200 r/min 的条件下振荡 3–8 min。过滤后, 继续在 200 r/min 的条件下培养 2 h。在 25  $^{\circ}$ C 条件下, 将 20  $\mu$ L 培养物涂布在含有 50  $\mu$ g/mL 链霉素和 100  $\mu$ g/mL 青霉素的 YPD 平板上培养 2–3 d 至单菌落形成。选择典型的酵母单菌落后通过含有高浓度(150  $\mu$ g/mL)亚硒酸钠的 YPD 平板筛选出对亚硒酸钠耐受性高的典型酵母单菌落。进一步观察酵母菌落特征, 进行形态学鉴定。

### 1.5 酵母菌株的培养

将菌株接种到含有亚硒酸钠(60  $\mu$ g/mL)的改良发酵培养基中, 并在 200 r/min、30  $^{\circ}$ C 的条件下进行培养。

### 1.6 富硒酵母中硒含量的检测

将酵母发酵液以 6 000 r/min 的速度离心

5 min, 加入 50 倍的纯化水。在 28 kHz、100 W 的条件下超声清洗 5 min 后, 在 4 000 r/min 的条件下离心 10 min 收集酵母。根据富硒酵母中有机硒的检测方法<sup>[13]</sup>, 使用原子吸收光谱法检测富硒酵母中的硒含量<sup>[14]</sup>。

### 1.7 酵母菌株的 18S rRNA 基因检测

使用酵母基因组 DNA 提取试剂盒提取酵母基因组。根据真核微生物保守的 18S rRNA 基因序列设计引物 5P (5'-CCAACCTGGTTG ATCCTGCCAGTA-3')和 3P (5'-CCTTGTTACG ACTTCACCTTCCTCT-3')进行扩增。PCR 反应体系: 10 $\times$ buffer 10  $\mu$ L, dNTPs 混合液 2  $\mu$ L, 正、反向引物(10  $\mu$ mol/L)各 2  $\mu$ L, 模板 DNA (50 ng/ $\mu$ L) 2  $\mu$ L, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/ $\mu$ L) 0.5  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 1.5  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 补足 100  $\mu$ L。PCR 反应条件: 94  $^{\circ}$ C 3–5 min; 94  $^{\circ}$ C 30 s, 50–55  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 1–2 min, 30 次循环; 72  $^{\circ}$ C 5–10 min。扩增产物送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

### 1.8 不同浓度亚硒酸钠对酵母硒富集的影响

在改良发酵培养基上, 最终亚硒酸钠的浓度分别为 0、20、60、100、140、180  $\mu$ g/mL。500 mL 摇瓶中的液体量为 150 mL, 接种量为 1 mL。在 200 r/min、30  $^{\circ}$ C 的条件下培养 72 h 后, 收集样本以检测酵母浓度(*OD*<sub>600</sub>)和酵母中的有机硒含量。

### 1.9 亚硒酸钠添加时间对酵母硒富集的影响

在最佳亚硒酸钠补充水平的基础上, 进一步研究了亚硒酸钠的补充时间对硒富集的影响。在改良发酵培养基上, 500 mL 摇瓶的液体量为 150 mL, 接种量为 1 mL, 在 200 r/min、30  $^{\circ}$ C 的条件下进行培养。在 0、6、12、28、24 和 30 h 添加亚硒酸钠至最终浓度 100  $\mu$ g/mL。发酵持续至 72 h。收集样本以检测酵母浓度(*OD*<sub>600</sub>)和酵母中的有机硒含量。

### 1.10 发酵时间对酵母硒富集的影响

在最佳亚硒酸钠补充量和添加时间的基础上,进一步研究了发酵时间对硒富集的影响。在改良发酵培养基上,500 mL 摇瓶的液体量为150 mL,接种量为1 mL。发酵12 h后添加亚硒酸钠至最终浓度100  $\mu\text{g/mL}$ ,并在200 r/min、30  $^{\circ}\text{C}$ 的条件下进行培养。收集24、36、48、60、72、84和96 h样本以检测酵母浓度( $OD_{600}$ )和酵母中的有机硒含量。

### 1.11 发酵温度对酵母硒富集的影响

在优化条件的基础上,进一步研究了发酵温度对硒富集的影响。在改良发酵培养基上,500 mL 摇瓶的液体量为150 mL,接种量为1 mL。发酵12 h后添加亚硒酸钠至最终浓度100  $\mu\text{g/mL}$ ,在200 r/min下培养84 h。培养温度设置为26、28、30、32和34  $^{\circ}\text{C}$ 。收集样本以检测酵母浓度( $OD_{600}$ )和酵母中的有机硒含量。

### 1.12 发酵罐中的放大培养

在摇瓶优化条件的基础上,进一步研究了发酵参数,在5 L发酵罐中进一步优化。发酵研究在5 L发酵罐中进行。将200 mL菌种培养液接种到含有3 L培养基的5 L发酵罐中。发酵开始时温度设定为30  $^{\circ}\text{C}$ ,溶解氧维持在30%饱和度,并通过添加30%磷酸和2 mol/L氢氧化钾维持pH值6.0。发酵24 h后,连续3 d每1 h补充10 mL改良培养基。每4 h收集1次样本,以检测酵母浓度( $OD_{600}$ )和酵母中的有机硒含量。

### 1.13 动物实验分组

宜春学院动物中心提供8-12周龄的雄性C57/B6小鼠。所有小鼠置于明/暗周期(12 h/12 h)、温度( $25\pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$ 和湿度( $55\pm 5$ )%的环境中,自由饮水和进食。小鼠随机分为3组:(1)对照组:每日灌胃生理盐水;(2)阿霉素(doxorubicin, ADR)组:每周5 mg/kg阿霉素腹腔注射3周;(3)阿霉素硒(ADR+Se)组:每周5 mg/kg阿霉素腹腔注射,每2 d 50 mg/kg富硒酵母灌胃给药,3周。每组有11只小鼠。

### 1.14 多普勒超声心动图

用1.5%异氟醚麻醉小鼠,连接到呼吸机以维持正常呼吸。在乳突水平使用辛普森方法测量主要的心脏功能指标<sup>[15]</sup>。

### 1.15 蛋白免疫印迹法(Western blotting)

从左心室心肌提取动物蛋白,将蛋白裂解并定量。蛋白质通过SDS-PAGE分离并转移到聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene difluoride membrane, PVDF膜)上。室温下用5%脱脂奶粉封闭4 h后将膜与一抗在4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,一抗包括Bcl-2抗体(1:1 000稀释)、Bax抗体(1:1 000稀释)、NF- $\kappa\text{B}$ 抗体(1:1 000稀释)、SOD抗体(1:1 000稀释)、GPX4抗体(1:1 000稀释)、GAPDH抗体(1:2 000稀释)。然后用Tris缓冲盐溶液+Tween-20 (Tris-buffered saline with Tween-20, TBST)洗涤,膜与二抗(CST, 7074, 1:5 000稀释)在室温下孵育2 h,并再次用TBST洗涤。使用ChemiDoc<sup>TM</sup> XRS+系统和Image Lab<sup>TM</sup>软件来可视化信号。

### 1.16 统计分析

所有统计数据均使用GraphPad Prism 5分析。值表示为均值 $\pm$ SE。两组之间的差异使用*t*检验进行分析。 $P<0.05$ 被认为在统计学上存在显著差异。

## 2 结果与分析

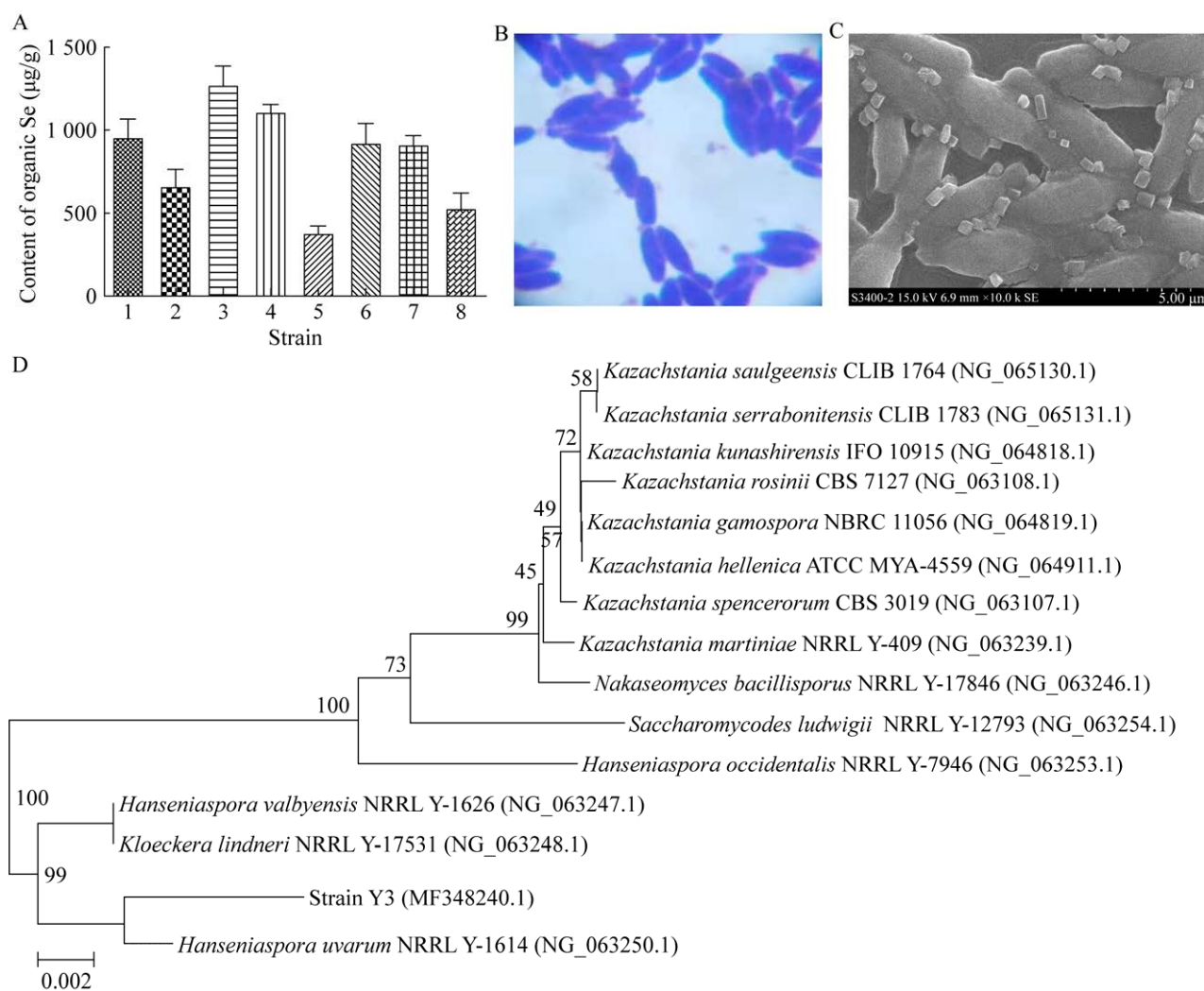
### 2.1 菌株的筛选和鉴定结果

在5个不同的典型区域中,每个区域选择12个土壤样本,共选择了60个土壤样本。将这些土壤样本在含有20倍富集溶液的链霉素和青霉素抗性的YPD平板上进行条件筛选。筛选出60种典型的酵母菌株,并在含有高浓度(150  $\mu\text{g/mL}$ )亚硒酸钠的YPD平板上进行进一步的硒耐受性筛选。30  $^{\circ}\text{C}$ 培养48 h后选出了生长良好的8株菌株。其中,3号菌株具有最高的硒富集能力,有机硒的含量高达1 476  $\mu\text{g/g}$ (图1A)。

为了进一步研究该菌株,需要对其进行鉴

定。光学显微镜结果表明, 该菌株呈卵圆形, 是典型的酵母形态(图 1B)。电子显微镜观察菌株 Y3 的形态显示, 酵母菌菌落大而厚, 表面光滑、湿润、黏稠, 容易挑起, 质地均匀, 颜色为乳白色, 是典型的酵母菌形态(图 1C)。NCBI

数据库 BLAST 比较结果显示, 筛选出的菌株 Y3 的 18S rRNA 基因序列与葡萄汁有孢汉逊酵母 (*Hanseniaspora uvarum*) 相似性为 99% (图 1D)。该菌株已保存在中国典型培养物保存中心, 保存编号为 CCTCC M2019304。



**图 1 菌株 Y3 的初筛硒含量测定、形态学检测和系统发育树** A: 不同酵母菌株中硒含量的检测。B: 菌株 Y3 的光学显微镜检测。C: 菌株 Y3 的电子显微镜图像。D: 菌株 Y3 的系统发育树。在系统发育树中, 每个结点代表一个分类单元, 其后的分支代表的是进化支, 每一个分支点上的数字指的是 bootstrap 值, 用来评估该分支的可信度, 分支后面的序号为基因组区域的标识符, 分支的长度代表进化支变化的程度。

Figure 1 Screening and identification of strain Y3. A: Detection of selenium content in different yeast strains. B: Optical microscopic observation of strain Y3. C: Electron microscopy of strain Y3. D: Phylogenetic tree of strain Y3. In a phylogenetic tree, each node represents a taxonomic unit, and the branches following it represent evolutionary lineages. The numbers at each branch point refer to the bootstrap values, which are used to assess the credibility of the branch. The identifiers following the branches are the identifiers for genomic regions, and the length of the branches represents the degree of change in the evolutionary lineage.

## 2.2 亚硒酸钠浓度和添加时间对酵母的影响

亚硒酸钠是酵母中有机硒的来源，亚硒酸钠的浓度和添加时间对酵母非常重要。如图 2A 所示，较高浓度的亚硒酸钠抑制了酵母的生长，但培养基中亚硒酸钠浓度的增加有利于酵母中硒的富集。最终，选择 100  $\mu\text{g/mL}$  作为下一步发酵的最佳浓度。

为了减少亚硒酸钠对酵母生长的抑制作用，在不同的时间添加了亚硒酸钠。结果表明，越晚添加亚硒酸钠，对酵母生长越有利，但有机硒的含量就越低(图 2B)。因此，我们选择在发酵的初始阶段添加亚硒酸钠。

## 2.3 发酵时间和温度对酵母的影响

为了测得最佳的发酵时间，我们在上述优化的基础上进一步测试了不同的发酵时间。结果

显示，随着发酵时间的增加，酵母中的细胞密度和有机硒含量也随之增加。在发酵 84 h 时，细胞密度达到了最高值 26.5，酵母中有机硒的含量也达到了最高值 2 400.7  $\mu\text{g/g}$  (图 3A)。随着发酵时间的延长，酵母中的细胞密度和有机硒含量都有所下降，这可能与营养物质的耗尽有关<sup>[16]</sup>。

温度对发酵的影响是非常全面的<sup>[17]</sup>。为了研究温度对酵母生长和硒富集能力的影响，我们进一步设计了 5 个温度梯度。最适宜的生长温度是 30  $^{\circ}\text{C}$ ， $OD_{600}$ =24.9，硒含量高达 2 255.5  $\mu\text{g/g}$  (图 3B)。结果表明高温培养可以抑制酵母的生长和有机硒的富集。

## 2.4 发酵放大试验结果

对摇瓶条件进行参数优化后得到最佳的摇瓶条件为：亚硒酸钠浓度 100  $\mu\text{g/mL}$ ，亚硒酸钠添加时间 0 h，发酵时间 84 h，发酵温度 30  $^{\circ}\text{C}$ 。

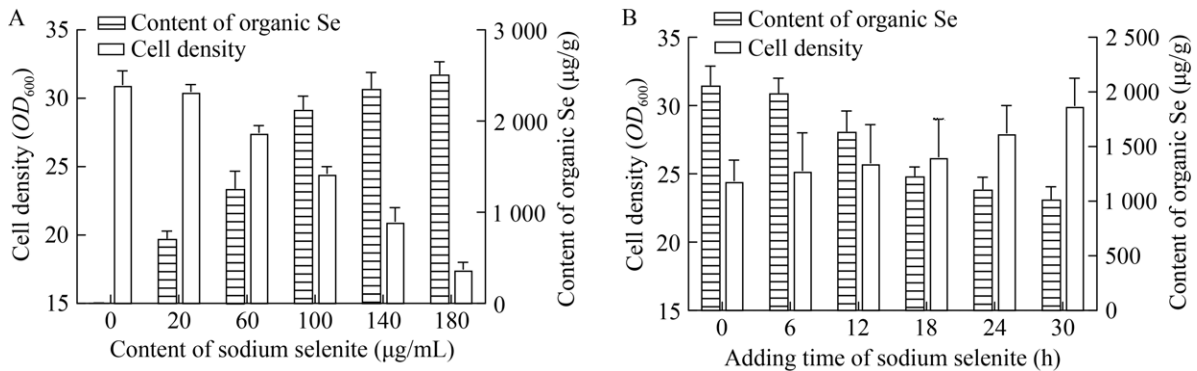


图 2 亚硒酸钠浓度(A)和添加时间(B)对酵母发酵的影响

Figure 2 Effect of sodium selenium concentration (A) and adding time (B) for yeast fermentation.

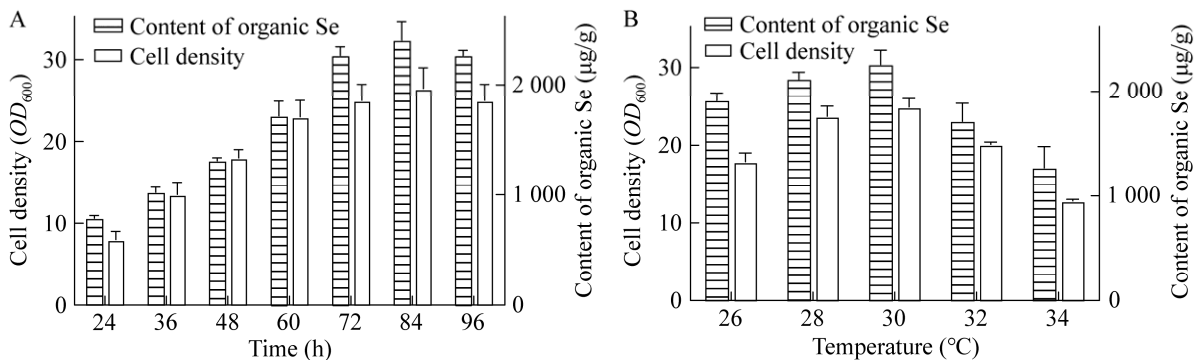


图 3 酵母发酵时间(A)和温度(B)对酵母发酵的影响

Figure 3 Effect of fermentation time (A) and temperature (B) for yeast fermentation.

为了进一步研究菌株 Y3 的硒富集能力,选择在 5 L 发酵罐中进行发酵。在 pH 6.0、溶解氧 30%和发酵温度 30 °C的条件下向 5 L 发酵罐中加入含 200 mL 菌种培养液的 3 L 改良发酵培养基。发酵 24 h 后,以 10 mL/h 的速度补充改良培养基。结果表明,菌株 Y3 在 12 h 后进入生长期,葡萄糖消耗速率在 1.46 g/(L·h)达到峰值,但在 40 h 后下降到 0.8 g/(L·h),同时菌株 Y3 的  $OD_{600}$  在 48 h 发酵时达到了最高值 132。在 56 h 时,葡萄糖消耗和细胞密度的并行下降,可能是由于细胞活性降低,这表明发酵在 56 h 停止。菌株 Y3 中的有机硒含量也逐渐增加,在 56 h 达到了最高的 2 332  $\mu\text{g/g}$ 。56 h 后,菌株 Y3 中的有机硒含量显著下降(图 4)。结合有机硒的浓度和含量,确定 56 h 作为最佳发酵时间。

## 2.5 富硒酵母改善 C57/B6 小鼠的心肌肥大

为了研究富硒酵母的生理功能,我们通过 ADR 建立了心肌大小鼠模型。然后给予富硒酵母灌胃 3 周。相较于对照组,ADR 组心脏体积明显增大,富硒酵母治疗组(ADR+Se)心脏增大状况有所改善(图 5A)。图 5B 为对照组、ADR 组、ADR+Se 组的心脏组织切片苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色图,相较于对照组,ADR 组心肌细胞排列无序,ADR+Se 组心肌细

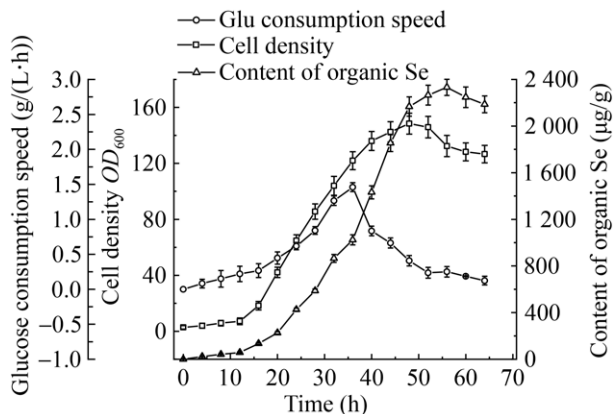


图 4 5 L 发酵罐中富硒酵母的发酵放大实验  
Figure 4 Fermentation amplification experiment of selenium-enriched yeast in 5 L fermenter.

胞形态明显改善。超声心动图显示,相较于 ADR 组,ADR+Se 组的心肌肥大状况有所改善(图 5C),心脏重量/体重比和肺重量/体重比显著降低(图 5D、5E)。同时左心室内径较 ADR 组显著减小(图 5F)。图 5G 为各蛋白免疫印迹图,其中 Bax 促进细胞凋亡,而 Bcl-2 抑制细胞凋亡<sup>[18]</sup>。相较于 ADR 组,ADR+Se 组能够提高 Bcl-2 并降低 Bax 以保护心肌细胞(图 5H、5I)。SOD1 和 GPX4 是重要的细胞内抗氧化基因,相较于 ADR 组,ADR+Se 组心肌细胞中的 SOD1 和 GPX4 含量明显升高(图 5J、5K)。同时,NF- $\kappa$ B 作为炎症因子,在补充富硒酵母后与 ADR 组相比有所减少(图 5L)。所有结果表明富硒酵母对改善心肌肥大具有良好的效果,这些效果可能与抗氧化和抗凋亡作用有关。

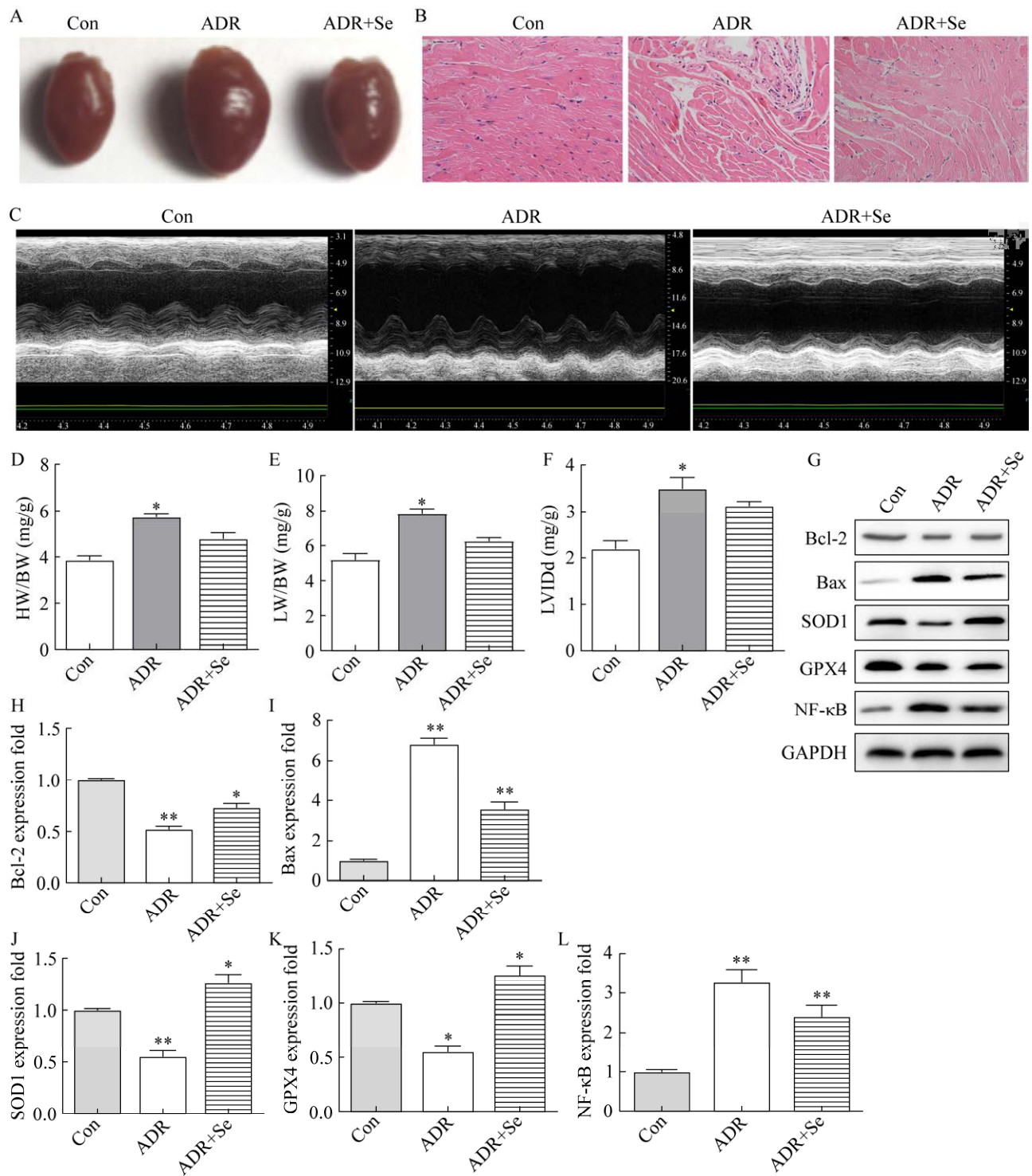
## 3 讨论

酵母细胞中的有机硒化合物包括硒晶体蛋白、硒甲基硒半胱氨酸、硒半胱氨酸和  $\gamma$ -硒代蛋氨酸<sup>[19]</sup>。与其他存在于酵母细胞中的硒形式相比,硒甲基硒半胱氨酸具有强大的抗癌效果<sup>[20]</sup>。还有一种存在于酵母中的有机硒化合物称为硒代半胱氨酸,它被广泛认为是第 21 种氨基酸,并参与了硒蛋白的生物合成<sup>[21]</sup>。

在无机硒向有机硒的生物转化过程中,相较于植物和动物的转化,微生物转化具有明显的优势,特别是在富硒酵母的研究中。有机硒的积累与硒的吸附、运输和固化有显著关系<sup>[22]</sup>。Wang 等<sup>[23]</sup>的研究中发现,有机硒的生物积累过程存在多种方式,酵母在硒转化和积累中存在不同的运输机制。在酵母生长过程中,向培养中添加不同剂量的硒有利于早期生长阶段有机硒的积累<sup>[24]</sup>。在发酵罐研究层面,通过优化碳源并限制硒元素的参与,得到结论为葡萄糖是最佳碳源<sup>[25]</sup>。

基于富硒酵母的研究进展,筛选菌株尤为重要。特别是在宜春富硒土壤和富硒温泉中,应该存在具有高硒富集能力的微生物。本实验的创新点在于从基础筛选工作中选取了 60 个典





**图 5** 富硒酵母改善小鼠心肌肥大及不同动物组心肌细胞蛋白变化 A: 心脏大体形态图。B: 苏木精-伊红染色图。C: 各组的代表性超声心动图短轴图像。D: 不同组小鼠的心脏重量/体重比例(HW/BW: 心脏重量/体重比例)。E: 不同组小鼠的肺/重量体重比例(LW/BW: 肺重量/体重比例)。F: 不同组小鼠的左室内径。G: 蛋白质免疫印迹图。H-L: 免疫印迹分析 Bcl-2、Bax、SOD1、GPX4、NF-κB 蛋白的表达。

Figure 5 Selenium-rich yeast improved myocardial hypertrophy in mice and Cardiomyocytes protein changes in different animal groups. A: Map of gross heart. B: Hematoxylin-eosin staining map. C: Representative M-mode echocardiographic images in short axis from each group. D: The heart/body weight ration of mice in different groups (HW/BW stands for the heart weight to body weight ratio). E: The lung/body weight ration of mice in different groups. F: The lung/body weight ration of mice in different groups (LW/BW stands for the lung weight to body weight ratio). G: The protein immunoblotting map. H-L: Immunoblot analysis of the expression of Bcl-2, Bax, SOD1, GPX4, NF- $\kappa$ B proteins. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

型土壤样本, 并通过抗性平板和摇瓶中的再筛选获得了一种具有高硒富集能力的酵母菌株, 硒含量高达  $1\,476\ \mu\text{g/g}$ 。通过优化亚硒酸钠的添加量、添加时间、发酵时间和温度, 酵母中的硒含量高达  $2\,400.7\ \mu\text{g/g}$ 。在  $5\ \text{L}$  发酵罐中进一步发酵和放大表明,  $56\ \text{h}$  菌株的硒含量达到了  $2\,332\ \mu\text{g/g}$ 。本研究成功筛选出一种高硒含量的酵母菌株, 酵母中的硒含量已达到领先水平, 易于在发酵罐中培养, 具有良好的工业应用前景, 也为富硒酵母在医药领域的应用提供了基础。

为了研究富硒酵母的生理功能, 本实验通过阿霉素建立了心肌肥大小鼠模型。结果表明, ADR 组小鼠心脏体积明显增大, 心肌细胞杂乱无序, 经过富硒酵母治疗后, ADR+Se 组心脏体积明显变小, 心肌细胞排列情况等指标也有明显改善。进一步检测凋亡指标 Bax 和 Bcl-2, 结果显示与 ADR 组相比, ADR+Se 组能够提高 Bcl-2 并降低 Bax 含量, 发挥抗凋亡作用以保护心肌细胞。实验检测氧化指标 SOD1 和 GPX4, 结果表明与 ADR 组相比, ADR+Se 组心肌细胞中的 SOD1 和 GPX4 含量明显升高, 表明该组抗氧化能力的提升。同时, NF- $\kappa$ B 作为炎症因子, 在补充富硒酵母后较 ADR 组有所减少。实验表明富硒酵母对改善心肌肥大具有良好的效果, 这些效果与抗氧化和抗凋亡作用有关, 这表明富硒酵母在治疗心肌肥大上具有潜在的应用前景, 尤其是在抗氧化和抗凋亡方面。

富硒酵母在人体内具有重要的生理功能, 如抗氧化、免疫调节等, 并在医药、保健品等行业具有广泛应用。随着人们对健康意识的提高, 富硒酵母市场正迎来更广阔的发展前景。技术进步和产业升级使富硒酵母的生产效率和

硒含量得到了显著提升, 同时, 对其生物利用度和安全性的研究也在不断深入。未来, 富硒酵母的应用将更加广泛和深入。一方面, 可通过优化发酵工艺和遗传工程技术提高硒的吸收率和稳定性; 另一方面, 可以进一步探索其在医药领域的新应用, 例如开发针对特定疾病的治疗性食品或药物, 以及研究其作为疫苗佐剂以增强免疫效果的潜力。综上所述, 富硒酵母对心肌肥大影响的研究前景是积极的, 随着对硒元素生理功能认识的深入, 富硒酵母在医药和保健领域的应用潜力将进一步被挖掘。同时, 市场需求的增长和技术进步也会为富硒酵母行业带来更多的发展机遇。

## 4 结论

经过实验证明, 在宜春的富硒土壤中可以通过实验筛选出富硒能力强的酵母菌株, 该类酵母菌的最佳培养条件为: 亚硒酸钠浓度  $100\ \mu\text{g/mL}$ , 亚硒酸钠添加时间  $0\ \text{h}$ , 发酵时间  $84\ \text{h}$ , 发酵温度  $30\ ^\circ\text{C}$ , 最终酵母中的硒含量高达  $2\,400.7\ \mu\text{g/g}$ 。动物实验表明该富硒酵母具有较强的抗氧化能力, 同时可以通过抗凋亡和抗炎作用改善阿霉素诱导的小鼠心肌肥大。本研究通过以上一系列实验, 对富硒酵母的培养进行了优化, 并初步探究了其功能。这些实验结果表明, 优化后的培养条件既稳定又准确, 同时确认了富硒酵母具有抗氧化特性。因此, 可以进一步在发酵罐中扩大富硒酵母的培养规模, 推动其工业化生产, 为富硒酵母的深入研究和实际应用奠定理论基础。

## REFERENCES

- [1] CAI ZL, ZHANG JZ, LI HJ. Selenium, aging and

- aging-related diseases[J]. *Aging Clinical and Experimental Research*, 2019, 31(8): 1035-1047.
- [2] MIZUNO A, TOYAMA T, ICHIKAWA A, SAKAI N, YOSHIOKA Y, NISHITO Y, TOGA R, AMESAKA H, KANEKO T, ARISAWA K, TSUTSUMI R, MITA Y, TANAKA SI, NOGUUCHI N, SAITO Y. An efficient selenium transport pathway of selenoprotein P utilizing a high-affinity ApoER2 receptor variant and being independent of selenocysteine lyase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2023, 299(8): 105009.
- [3] HENDAWY AO, SUGIMURA S, SATO K, MANSOUR MM, ABD EL-AZIZ AH, SAMIR H, ISLAM MA, BOSTAMI ABMR, MANDOUR AS, ELFADADNY A, RAGAB RF, ABDELMAGEED HA, ALI AM. Effects of selenium supplementation on rumen microbiota, rumen fermentation, and apparent nutrient digestibility of ruminant animals: a review[J]. *Fermentation*, 2022, 8(1): 4.
- [4] CEBECIOGLU R, YILDIRIM M, AKAGUNDUZ D, KORKMAZ I, TEKIN HO, ATASEVER-ARSLAN B, CATAL T. Synergistic effects of quercetin and selenium on oxidative stress in endometrial adenocarcinoma cells[J]. *Bratislavské Lekárske Listy*, 2019, 120(6): 449-455.
- [5] KRAUSOVA G, KANA A, HYRSLOVA I, MRVIKOVA I, KAVKOVA M. Development of selenized lactic acid bacteria and their selenium bioaccumulation capacity[J]. *Fermentation*, 2020, 6(3): 91.
- [6] ESCOBAR-RAMÍREZ MC, CASTAÑEDA-OVANDO A, PÉREZ-ESCALANTE E, RODRÍGUEZ-SERRANO GM, RAMÍREZ-MORENO E, QUINTERO-LIRA A, CONTRERAS-LÓPEZ E, AÑORVE-MORGA J, JAIMEZ-ORDAZ J, GONZÁLEZ-OLIVARES LG. Antimicrobial activity of Se-nanoparticles from bacterial biotransformation[J]. *Fermentation*, 2021, 7(3): 130.
- [7] WOOTEN DJ, SINHA I, SINHA R. Selenium induces pancreatic cancer cell death alone and in combination with gemcitabine[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(1): 149.
- [8] LUI PPY, HUANG CH, ZHANG X. Selenium nanoparticles suppressed oxidative stress and promoted tenocyte marker expression in tendon-derived stem/progenitor cells[J]. *Antioxidants*, 2024, 13(2): 1536.
- [9] GU WJ, ZHAO FZ, HUANG W, ZHU MG, HUANG HY, YIN HY, CHEN TF. Selenium nanoparticles activate selenoproteins to mitigate septic lung injury through miR-20b-mediated ROR $\gamma$ t/STAT3/Th17 axis inhibition and enhanced mitochondrial transfer in BMSCs[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2025, 23(1): 226.
- [10] MAHMOUDI L, MOBASSERI M, OSTADRAHIMI A, POURMORADIAN S, SOLEIMANZADEH H, KAFILI B. Effect of selenium-enriched yeast supplementation on serum thyroid-stimulating hormone and anti-thyroid peroxidase antibody levels in subclinical hypothyroidism: randomized controlled trial[J]. *Advanced Biomedical Research*, 2021, 10: 33.
- [11] YIN HF, FAN GJ, GU ZX. 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.
- [12] YANG JP, YANG H. Recent development in Se-enriched yeast, lactic acid bacteria and bifidobacteria[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(3): 411-425.
- [13] ANGAÏTS A, BIERLA K, SZPUNAR J, LOBINSKI R. Extraction recovery and speciation of selenium in Se-enriched yeast[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2024, 416(23): 5111-5120.
- [14] ZHANG XF, TIAN L, ZHAI SS, LIN ZP, YANG HY, CHEN JP, YE H, WANG WC, YANG L, ZHU YW. Effects of selenium-enriched yeast on performance, egg quality, antioxidant balance, and egg selenium content in laying ducks[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7: 591.
- [15] KOMANEK T, RABIS M, OMER S, PETERS J, FREY UH. Quantification of left ventricular ejection fraction and cardiac output using a novel semi-automated echocardiographic method: a prospective observational study in coronary artery bypass patients[J]. *BMC Anesthesiology*, 2023, 23(1): 65.
- [16] KIELISZEK M, BIERLA K, JIMÉNEZ-LAMANA J, KOT AM, ALCÁNTARA-DURÁN J, PIWOWAREK K, BŁAŻEJAK S, SZPUNAR J. Metabolic response of the yeast *Candida utilis* during enrichment in selenium[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(15): 5287.
- [17] WANG J, CHEN CH, ZHAO FY, WANG JC, LI A. Process optimization of microbial fermentation with parameter uncertainties via distributionally robust discrete control[J]. *Journal of Process Control*, 2023, 132: 103116.
- [18] ZHANG Y, YANG X, GE XH, ZHANG FY. Puerarin attenuates neurological deficits via Bcl-2/Bax/cleaved caspase-3 and Sirt3/SOD2 apoptotic pathways in subarachnoid hemorrhage mice[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 109: 726-733.
- [19] ADADI P, BARAKOVA NV, MURAVYOV KY, KRIVOSHAPKINA EF. Designing selenium functional foods and beverages: a review[J]. *Food Research International*, 2019, 120: 708-725.
- [20] GUO CH, HSIA S, HSIUNG DY, CHEN PC. Supplementation with Selenium yeast on the prooxidant-antioxidant activities and anti-tumor effects in breast tumor xenograft-bearing mice[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2015, 26(12): 1568-1579.
- [21] CAIN A, KRAHN N. Overcoming challenges with biochemical studies of selenocysteine and selenoproteins[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(18): 10101.
- [22] ZHANG SQ, SHEN S, ZHANG Y. Comparison of bioavailability, pharmacokinetics, and biotransformation of selenium-enriched yeast and sodium selenite in rats using plasma selenium and selenomethionine[J]. *Biological Trace Element Research*, 2020, 196(2): 512-516.
- [23] WANG FR, LI XB, WANG X, KURTOVIC I, YAN M, WEI JP, ZHANG T, ZENG XJ, YUAN YH, YUE TL. Accumulation and metabolism of selenium in the rare yeast *Kazachstania unispora* during the selenium enrichment process[J]. *Food Chemistry*, 2024, 459: 140375.
- [24] ZARE H, OWLIA P, VAHIDI H, HOSSEINDOKHT KHUJIN M. Simultaneous optimization of the production of organic selenium and cell biomass in *Saccharomyces cerevisiae* by Plackett-Burman and Box-Behnken design[J]. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, 17(3): 1081-1092.
- [25] KIELISZEK M, BŁAŻEJAK S, BZDUCHA-WRÓBEL A, KOT AM. Effect of selenium on growth and antioxidative system of yeast cells[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019, 46(2): 1797-1808.