

# 纳米硒提高双孢菇子实体的硒含量和品质

陈静如<sup>1</sup>, 冯拓<sup>1</sup>, 单培<sup>1</sup>, 张卢军<sup>2</sup>, 王博<sup>1</sup>, 张智宏<sup>1</sup>, 高献礼<sup>1\*</sup>

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013) (2. 江苏佳谷生物科技有限公司, 江苏南京 211164)

**摘要:** 该研究制备了性状稳定的纳米硒, 并对其表征; 并分析了不同浓度纳米硒对双孢菇子实体中硒含量、水分、粗多糖、总氮、粗脂肪、粗纤维、总游离氨基酸、总氨基酸含量及双孢菇单朵均重的影响; 以及培养基中添加不同浓度纳米硒对双孢菇子实体的综合品质。结果表明, 除水分和硒含量随着纳米硒浓度的增加而上升, 其他成分含量均随着培养基中纳米硒含量的增加呈现先上升后下降的趋势。双孢菇培养基中纳米硒添加量为 0.5~2.5 mg/kg 时, 双孢菇子实体中硒含量达到 0.19~0.90 mg/kg 干物质, 比对照双孢菇中硒含量提高 2.38~11.25 倍。聚类分析和主成分分析结果均表明培养基中纳米硒添加量为 1.0 mg/kg 时, 双孢菇子实体的综合品质最佳, 单朵均重达到 22.90 g, 保藏期约延长 1~2 d。上述研究结果可为富硒双孢菇的深入研究以及其大规模生产提供数据支撑。

**关键词:** 纳米硒; 双孢菇; 品质; 聚类分析; 主成分分析

文章编号: 1673-9078(2022)06-179-190

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.6.0912

## Enhancing Selenium Content and Quality of Fruiting Body of *Agaricus bisporus* by Nano-selenium

CHEN Jingru<sup>1</sup>, FENG Tuo<sup>1</sup>, SHAN Pei<sup>1</sup>, ZHANG Lujun<sup>2</sup>, WANG Bo<sup>1</sup>, ZHANG Zhihong<sup>1</sup>, GAO Xianli<sup>1\*</sup>

(1.College of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

(2.Jiangsu Carpo Biotechnology Co. Ltd., Nanjing 211164, China)

**Abstract:** In this study, nano-selenium with stable properties was prepared and characterized; The effects of different concentrations of nano-selenium on selenium content, water content, crude polysaccharide, total nitrogen, crude fat, crude fiber, total free amino acid, total amino acid content and average weight of single flower of *Agaricus bisporus* were analyzed; And the comprehensive quality of fruiting bodies of *Agaricus bisporus* with different concentrations of nano-selenium in the culture medium was also explored. The results showed that the content of other components increased first and then decreased with the increase of nano-selenium content in the culture medium, except that the content of water and selenium increased with the increase of nano-selenium concentration. When the amount of nano-selenium in *Agaricus bisporus* medium was 0.5~2.5 mg/kg, the selenium content in fruiting body of *Agaricus bisporus* reached 0.19~0.90 mg/kg dry matter, which was 2.38~11.25 times higher than that in the control. Cluster analysis and principal component analysis showed that the comprehensive quality of fruiting body of *Agaricus bisporus* was the best, the average weight of single flower reached 22.90 g, and the storage period could be prolonged for 1~2 d when the optimal addition amount of nano-selenium in the culture medium was 1.0 mg/kg. The above results can provide data support for the in-depth study of selenium-enriched *Agaricus bisporus* and its large-scale production.

**Key words:** nano-selenium; *Agaricus bisporus*; quality; cluster analysis; principal component analysis

引文格式:

陈静如,冯拓,单培,等.纳米硒提高双孢菇子实体的硒含量和品质[J].现代食品科技,2022,38(6):179-190

CHEN Jingru, FENG Tuo, SHAN Pei, et al. Enhancing selenium content and quality of fruiting body of *Agaricus bisporus* by nano-selenium [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(6): 179-190

收稿日期: 2021-08-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31301537); 中山市科技专项(2018A1007); 阳西市科技创新战略专项(SDXZ2021030)

作者简介: 陈静如(2001-), 女, 本科生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 2290795424@qq.com

通讯作者: 高献礼(1979-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: gaolianli@ujs.edu.cn

1915年, 科学研究发现硒(selenium, Se)能够抑制肿瘤生长, 1949年, 动物实验证实硒具有抗癌活性, 人们逐渐意识到硒对健康的重要性。硒作为人体必需的微量非金属元素, 享有“生命的火种”、“心脏守护神”、“天然解毒剂”和“长寿元素”等美誉, 常以辅酶因子或辅基形式存在于膜硒蛋白(包括脱碘酶类等)和游离硒蛋白(蛋氨酸硫氧化物还原酶、谷胱

甘肽过氧化物酶、硫氧环蛋白还原酶类)等<sup>[1,2]</sup>。硒缺乏会影响硒蛋白合成并导致硒酶活力降低,导致免疫力降低、新陈代谢紊乱,进而引发各类疾病如甲状腺疾病、糖尿病、人类生殖障碍和肥胖症等<sup>[3,4]</sup>。因此,硒是人体所不可或缺的一种微量营养素。

日常饮食是获取硒的最佳途径<sup>[5]</sup>。我国居民膳食结构以蔬菜和谷物为主,其硒含量依赖于种植土壤中硒含量。然而,我国72%以上国土面积为低硒地区,特别是黑龙江和东部沿海地区,土地上生产的大部分蔬菜和谷物中硒量低于0.01 mg/kg,而且超过1/3以上的居民硒摄入量不足国家最低推荐量的一半(50 μg/d)<sup>[6,7]</sup>。因此,大力开发富硒农产品、改善国民缺硒状况,具有重大现实意义。

双孢菇(*Agaricus bisporus*)属蘑菇科蘑菇属,色白质嫩,味道鲜美,营养丰富,药食两用<sup>[8,9]</sup>。双孢菇广泛栽培于北美、欧洲和亚洲的温带地区,随着栽培技术的推广和发展,双孢菇的工厂化大规模生产,被称为“世界菇”,深受消费者青睐<sup>[8,9]</sup>。研究表明,双孢菇富硒能力很强,能将大部分无机硒转化为易吸收代谢的有机硒<sup>[9,10]</sup>。Prange等<sup>[10]</sup>研究了经10 mg/kg亚硒酸盐处理后的双孢菇中硒的形态特征,结果发现双孢菇中有机硒含量占总硒的90%,由此可见双孢菇优良的硒有机转化能力。

双孢菇的富硒栽培,目前多数研究集中于无机硒(包括硒酸盐、亚硒酸盐等)的应用,如果使用不当,将对生物和环境造成危害。纳米硒具有低毒安全、高吸收率和高生物活性等特性<sup>[11]</sup>,其体内、体外抗氧化活性<sup>[11]</sup>、抑菌<sup>[12]</sup>、抗真菌活性<sup>[13]</sup>和提高免疫能力<sup>[14]</sup>已经被证明。然而,纳米硒在双孢菇的富硒栽培中的应用却鲜有报道。

壳聚糖,甲壳素脱乙酰基后的产物,是自然界中天然碱性多糖,具备优良生物可降解性、生物相容性和无毒等特性,来源和应用非常广泛<sup>[11,15]</sup>。

蒋斌<sup>[15]</sup>研究了在镉污染条件下,在生菜和水稻叶面喷施纳米硒-壳聚糖复合肥料对生菜和水稻生长和品质的影响,结果表明纳米硒-壳聚糖复合肥料能够有效降低生菜中镉的含量,并能显著提高生菜的营养品质,同时纳米硒-壳聚糖复合肥料不仅能够降低水稻对镉的吸收率,同时也能使水稻富硒,提高大米的品质,由此可见纳米硒和壳聚糖复合物具有良好且正向的生物协同效应。

因此,本研究使用壳聚糖软模板法制备了性质稳定的纳米硒,并以栽培范围广泛、富硒能力及硒有机转化能力强和营养丰富的双孢菇为研究对象,采用将纳米硒溶液添加到培养基中的方法,进行双孢菇的富

硒栽培,通过分析不同浓度纳米硒处理对双孢菇子实体基本成分含量和单朵均重的影响,并借助聚类分析和主成分分析法来确定纳米硒的最佳使用量,以期富硒双孢菇的深入研究以及工厂化的生产提供理论依据和参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料与试剂

双孢菇菌种为As2796,由福建省农业科学院食用菌研究所提供。抗坏血酸、硒标准溶液、18种氨基酸标准品购自美国Sigma公司。三氯乙酸、苯酚、氢氧化钠、亚硒酸钠、石油醚、氢氧化钾、葡萄糖等其他化学药品为分析纯,购自国药集团有限公司。

### 1.2 仪器与设备

S-3700N型高新扫描电子显微镜,日立科学仪器(北京)有限公司;HORIBA EMAX型X射线能谱仪,天美仪拓实验室设备(上海)有限公司;电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;SH220F型石墨消解仪,济南海能仪器股份有限公司;DFY1000型摇摆式粉碎机,温州顶历医疗器械有限公司;Agilent 1260型高效液相色谱仪,美国安捷伦公司;EX223型电子天平,奥豪斯仪器(上海)有限公司;K1100F型全自动凯氏定氮仪,济南海能仪器股份有限公司;MD SpectraMax M2型多功能酶标仪, Molecular Devices, USA。

### 1.3 纳米硒的制备与表征

活性纳米硒制备参照高献礼等<sup>[16]</sup>的方法,具体步骤如下:取25 mL 0.1 mol/L的 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ 和30 mL 10 g/L的壳聚糖溶液置于250 mL的具塞棕色锥形瓶中,于恒温摇床中振摇0.5 h后,再加入25 mL 0.5 mol/L的抗坏血酸溶液,并加蒸馏水至总体积为100 mL,混合均匀后,置于恒温摇床中振摇1 h,获得0.025 mol/L(以Se计)红色纳米硒溶液。

利用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)和X射线能谱分析仪对制备的纳米硒进行形貌观察及成分分析。

### 1.4 双孢菇培养基设计及配置

双孢菇培养基的配方参照陈全胜等<sup>[17]</sup>确定的最佳配方,培养基的发酵及双孢菇的培养参照陈全胜等<sup>[17]</sup>的方法,其中在培养基翻堆补水时,分别向培养基中加入不同量的纳米硒,使纳米硒的浓度分别为0.5

mg/kg 干基 (Treatment 1, T1)、1.0 mg/kg 干基 (Treatment 2, T2)、1.5 mg/kg 干基 (Treatment 3, T3)、2.0 mg/kg 干基 (Treatment 4, T4)、2.5 mg/kg 干基 (Treatment 5, T5), 对照组 (Control Check, CK) 中不添加纳米硒。

## 1.5 基本成分的测定

### 1.5.1 水分含量的测定

将待测鲜双孢菇子实体样品切片, 称取约 100.0 g (精确到小数点后四位) 样品置于电热鼓风干燥箱内, 在 108 °C 下干燥至恒重后, 称量样品干样并计算结果。将干样粉碎后过 60 目筛, 得到的双孢菇干粉样品置于干燥皿中保存, 便于后续指标的测定。

### 1.5.2 粗多糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法测定双孢菇子实体中粗多糖含量, 具体参照 NY/T 1676-2008, 该结果以 g/100 g dry weight (g/100 g DW) 表示。

### 1.5.3 总氮含量的测定

准确称取约 1.0 g (精确到小数点后四位) 双孢菇干粉样品与 1~2 片定氮消化片放入消化管中, 加入 10~15 mL 浓硫酸溶液, 先设置消解仪温度 220 °C 消化 40 min 后, 再设置消解仪温度 420 °C 消化约 2 h 至溶液变澄清, 待消化管冷却后使用全自动凯氏定氮仪蒸馏检测。

### 1.5.4 粗脂肪含量的测定

参照王宇等<sup>[8]</sup>的方法略作修改用以测定双孢菇子实体中粗脂肪含量, 该结果以 g/100 g DW 表示。

### 1.5.5 粗纤维含量的测定

双孢菇子实体中粗纤维含量的测定参照 GB/T 5009.10-2003, 该结果以 g/100 g DW 表示。

### 1.5.6 硒含量的测定

参照 GB 5009.93-2017 中的第三法, 电感耦合等离子体质谱法来测定双孢菇子实体中硒含量, 该结果以 mg/kg DW 表示。

### 1.5.7 游离氨基酸的测定

根据 Gao 等<sup>[9]</sup>的方法稍加修改来测定游离氨基酸。用天平称取 1.0 g 左右 (精确到小数点后四位) 的双孢菇干粉样品, 用 5 g/100 mL 三氯乙酸定容至 25 mL, 混匀后常温超声 20 min, 静置 2 h 后用双层滤纸过滤, 取 1 mL 澄清滤液于 1.5 mL 离心管内, 置于离心机中以 15000 r/min 离心 30 min, 再将上清液用 0.45 μm 孔径的微孔过滤器过滤, 通过柱前衍生化后上机分析。采用 PICO-TAG 氨基酸分析柱 (3.9 mm×150 mm), 测定波长为 254 nm, 温度为 38 °C, 洗脱液流速为 1.0 mL/min, 进样量为 10 μL, 用氨基酸标准样

品来定量。

### 1.5.8 总氨基酸的测定

在孙鹏飞等<sup>[20]</sup>的方法基础上稍加修改, 具体方法如下: 称取 0.2 g 左右的双孢菇干粉样品, 先加入 4 mL 6 mol/L HCl 摇匀润湿, 再加入 4 mL 6 mol/L HCl, 摇匀充氮气 (调节 N<sub>2</sub> 流速, 使溶液呈微沸状态) 3 min 后拧紧水解管盖, 放入已设定为 120 °C 的烘箱中, 水解 22 h。水解结束后, 待溶液冷却, 将水解管样品全部转移至容量瓶中, 加 4.8 mL 10 mol/L NaOH 中和, 用蒸馏水定容至 25 mL, 双层滤纸过滤后, 取 1 mL 澄清滤液于 1.5 mL 离心管内, 置于离心机中以 15000 r/min 离心 30 min, 再将上清液用 0.45 μm 孔径的微孔过滤器过滤, 通过柱前衍生化后上机分析。其他步骤参照游离氨基酸的测定方法。测定结果为除色氨酸外的常见 17 种氨基酸含量。

称取 0.2 g 左右的双孢菇干粉样品, 先加入 4 mL 5 mol/L NaOH 摇匀润湿, 再加入 4 mL 5 mol/L NaOH, 摇匀充氮气 (调节 N<sub>2</sub> 流速, 使溶液呈微沸状态) 3 min 后拧紧水解管盖, 放入已设定为 120 °C 的烘箱中, 水解 22 h。水解结束后, 待溶液冷却, 将水解管样品全部转移至容量瓶中, 加 6.7 mL 6 mol/L HCl 中和, 用蒸馏水定容至 25 mL, 双层滤纸过滤后, 取 1 mL 澄清滤液于 1.5 mL 离心管内, 置于离心机中以 15000 r/min 离心 30 min, 再将上清液用 0.45 μm 孔径的微孔过滤器过滤, 通过柱前衍生化后上机分析。其他步骤参照游离氨基酸的测定方法。测定结果为色氨酸含量。

### 1.5.9 单朵均重的测定

将采集的双孢菇子实体按尺寸大小分类好, 各处理选择尺寸基本相当且量最多的双孢菇子实体 100 个, 测定总重, 取平均值为单朵均重。

### 1.5.10 保藏期的测定

将采集的双孢菇子实体包装好后, 置于冷库中 0~4 °C 低温冷藏。每日定时去冷库观察双孢菇子实体样品的褐变、开伞、腐烂和失水情况, 及时记录并拍照。

## 1.6 数据分析

所有实验数据均测定 3 次, 以平均值±标准偏差的形式表示各测定数据。运用 SPSS 18.0 软件 (SPSS 公司, 美国) 进行单因素方差分析 (在检验水平为 0.05 的条件下进行显著性差异分析)、聚类分析 (采用的聚类方法为组间联接; 度量标准下区间采用的平方 Euclidean 距离) 以及主成分分析 (采用因子分析)。

## 2 结果与讨论

## 2.1 纳米硒的微观形貌及粒径大小

图 1a 和图 1b 展示了纳米硒的扫描电子显微镜图像。如图 1a 所示, 本研究制备的纳米硒颗粒在纳米硒-壳聚糖体系中呈现出相对均匀的分散状态。将图 1a 放大 10 倍的 SEM 图像如图 1b 所示, 可以看出该纳米硒的形貌完整, 呈现为规则的球形状态, 而硒纳米球体系通常应用于膳食补充领域<sup>[11]</sup>, 因此本研究制备的纳米硒可应用于富硒双孢菇的开发中。此外, 如图 1c 所示, 绝大部分球形纳米硒的直径范围为 37.5~75 nm, 平均直径在 52 nm 左右, 同样地, Bai 等<sup>[21]</sup>以壳聚糖为软模板, 合成了平均直径约 50 nm、高度均匀的纳米硒; 翟晓娜<sup>[11]</sup>以分子量小于等于 3 ku 的壳聚糖, 脱乙酰度大于 85% 的壳聚糖为稳定剂, 成功制备出分散状态良好、粒径约为 50 nm 左右的球形纳米硒颗粒, 很明显, 本研究所制备出的纳米硒平均粒径与 Bai 等<sup>[21]</sup>和翟晓娜<sup>[11]</sup>的基本相当。

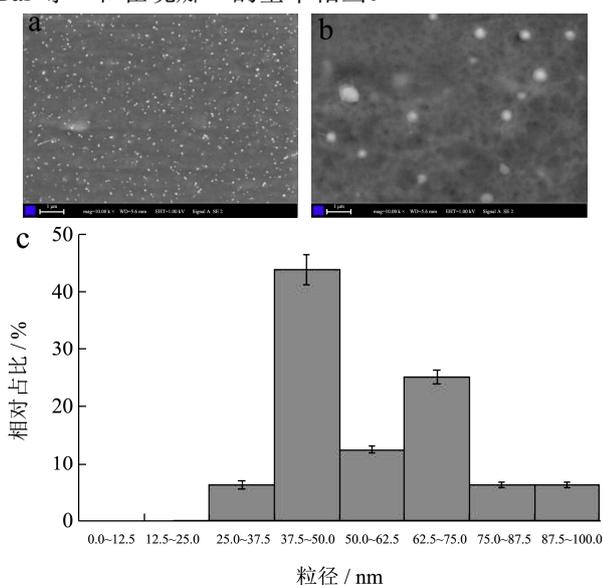


图 1 (a、b) 纳米硒的扫描电子显微镜图像; (c) 纳米硒的粒径分布

Fig.1 (a, b) SEM image of nano-selenium; (c) Particle size distribution of nano-selenium

注: a: 1 μm; b: 100 nm.

## 2.2 纳米硒的元素组成

如图 2a 所示, 实验制备的纳米硒含 C、O、Na、Se 四种主要元素: C、O 元素来自软模板壳聚糖  $[(C_6H_{11}NO_4)_n]$  和被还原的  $Na_2SeO_3$ , Na、Se 元素来自被还原的  $Na_2SeO_3$ 。N 元素与 C、O 元素相邻, 纳米硒中含 N 量很低, 不易被能量分析光谱仪所识别, 导致本次实验 N 元素未被检出。

纳米硒的元素分布如图 2b 所示, 纳米硒主要由

57%左右的 C 元素、21%左右的 Se 元素、16%左右的 O 元素和 6%左右的 Na 元素所组成, C 元素含量如此之高的原因在于本研究所制备的纳米硒可能为“单核-单壳”结构, 即单个纳米硒被一层较厚的壳聚糖所包埋, 而壳聚糖的基本组成单位为氨基葡萄糖, 有 6 个 C 原子, 这可以很好的解释 C 元素显著含量高于 Se 元素的原因<sup>[11]</sup>。

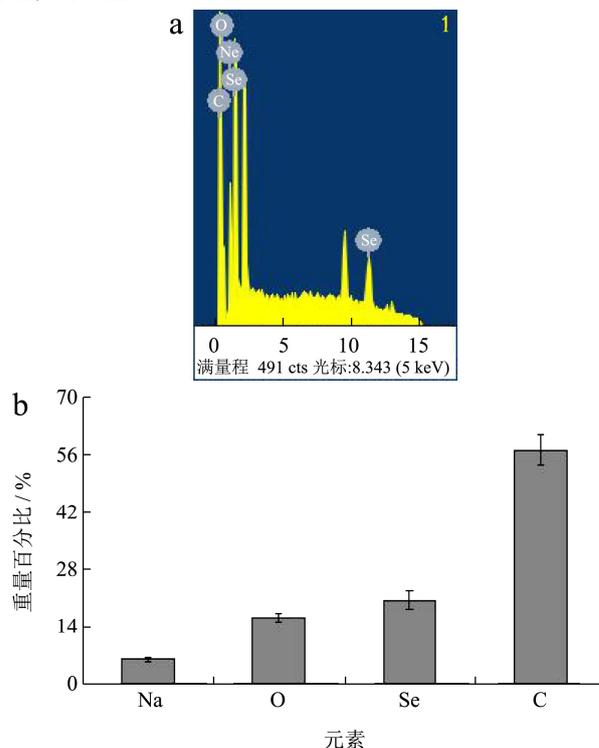


图 2 (a) 纳米硒的能谱分析; (b) 纳米硒的元素分布

Fig.2 (a) Energy spectrum analysis of nano-selenium; (b) Element distribution of nano-selenium

## 2.3 基本成分的比较

### 2.3.1 水分

水分分析结果如表 1 所示, 不同处理组的水分含量范围为 90.15%(CK, 对照)~91.58%(T5, 2.5 mg/kg), 且各样品间均无显著差异 ( $p>0.05$ )。Pei 等<sup>[22]</sup>将双孢菇鲜样切片后, 于 105 °C 下干燥 7~8 h 后, 测得其含水量为 92.19%左右, 与本研究所测双孢菇水分含量基本相当。潘亚璐<sup>[23]</sup>研究了不同浓度的亚硒酸钠对双孢菇菌丝体干重的影响, 结果发现当硒浓度  $\leq 20$  mg/L 时, 双孢菇菌丝体干重无显著差异, 当硒浓度  $\geq 40$  mg/L 时, 双孢菇菌丝体的生长受到了很明显的抑制, 说明在高浓度硒的作用下, 双孢菇的生长会受到抑制, 阻碍双孢菇中有机物质的合成, 并且由于其生长环境比较潮湿, 水分可能更容易在生长受到抑制的双孢菇内积累, 从而导致双孢菇水分含量的上升。因此, 尽管本研究的纳米硒处理浓度较低, 对双孢菇的水分含量

无显著影响,但双孢菇的水分含量还是会随着纳米硒处理浓度的增大而缓慢上升,在纳米硒处理浓度为2.5 mg/kg 有较为明显的上升,说明纳米硒处理浓度的高低会对双孢菇的生长和代谢产生一定积极或消极的影响。

### 2.3.2 粗多糖

粗多糖分析结果如表1所示,不同处理组的粗多糖含量范围为2.94 g/100 g FW (T5, 2.5 mg/kg)~3.76 g/100 g FW (T2, 1.0 mg/kg),除T2 (1.0 mg/kg)与T3 (1.5 mg/kg)、T4 (2.0 mg/kg),T1 (0.5 mg/kg)与CK (对照)间无显著差异 ( $p>0.05$ )外,其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。吴圣进等<sup>[24]</sup>研究了覆土添加亚硒酸钠对双孢菇中粗多糖的影响,结果表明双孢菇中粗多糖范围为3.37%~3.75%,与本研究的基本相当。从表1可以看出双孢菇中粗多糖的含量随着纳米硒处理浓度的升高呈现先上升后下降的趋势,当纳米硒处理浓度达到2.5 mg/kg时,双孢菇中粗多糖含量已经显著低于对照,可能原因在于过高的纳米硒处理浓度会诱导双孢菇进行脂质过氧化反应,该反应产生的大量活性氧自由基会严重阻碍糖类物质的合成<sup>[9]</sup>。

### 2.3.3 总氮

总氮分析结果如表1所示,不同处理组的总氮含量范围为5.63% (T5, 2.5 mg/kg)~6.39% (T2, 1.0 mg/kg),除T2 (1.0 mg/kg),T1 (0.5 mg/kg)与T3 (1.5 mg/kg)、T1 (0.5 mg/kg),T3 (1.5 mg/kg),CK (对照)与T4 (2.0 mg/kg)、CK (对照),T4 (2.0 mg/kg)与T5 (2.5 mg/kg)间无显著差异 ( $p>0.05$ )外,其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。吴圣进等<sup>[24]</sup>研究结果表明不同处理的双孢菇子实体中粗蛋白含量范围为44.2%~46.5%,根据1 g氮 $\approx$ 6.25 g蛋白质,将本研究所测出的总氮量进行换算,发现蛋白质含量范围为35.19%~39.94%,低于吴圣进等<sup>[24]</sup>研究结果,可能是因为两项研究的测定方法不同而导致的结果差异。

此外,从表1可以看出双孢菇中总氮的含量随着纳米硒处理浓度的升高呈现先上升后下降的趋势,可以看出纳米硒能够影响双孢菇中含氮物质的合成与积累。

硒在生物体内主要通过硒蛋白来发挥生理活性作用<sup>[2]</sup>,而硒主要以硒代半胱氨酸和硒代蛋氨酸等形式存在于硒蛋白中<sup>[25]</sup>,并且硒蛋白的合成离不开硒的参与,譬如分泌蛋白,又称硒蛋白P,其存在10个硒代半胱氨酸残基,是血液硒的主要贡献者<sup>[1]</sup>,它的正常合成需要摄入高于机体合成正常水平的谷胱甘肽过氧化物酶所需的硒<sup>[26]</sup>,可以推断多摄入的硒会增强谷胱甘肽过氧化物酶的活性,从而合成更多的分泌蛋白,

因此相对低浓度的纳米硒更有利于促进双孢菇正常的生长与代谢,从而合成更多的含氮类物质,而高浓度的纳米硒则可能会诱导双孢菇进行脂质过氧化反应,产生的大量活性氧自由基会破坏双孢菇的代谢酶系<sup>[23]</sup>,从而阻碍蛋白质的合成,使含氮类物质的含量有所降低。

### 2.3.4 粗脂肪

粗脂肪分析结果如表1所示,不同处理组的粗脂肪含量范围为2.65 g/100 g DW (CK, 对照)~3.54 g/100 g DW (T2, 1.0 mg/kg),除T2 (1.0 mg/kg)与T3 (1.5 mg/kg)、T1 (0.5 mg/kg)、T5 (2.5 mg/kg)与CK (对照)间无显著差异 ( $p>0.05$ )外,其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。Öztürk等<sup>[27]</sup>研究发现双孢菇中总饱和脂肪酸和总不饱和脂肪酸分别占总脂肪酸的20.28%和79.72%,其中亚油酸(67.29%)占主导地位。作为人体所必需的脂肪酸之一,亚油酸能够降低血液中的胆固醇含量,并能够通过影响脂质风险标志物(血清甘油三酯、低密度脂蛋白、极低密度脂蛋白等)来降低心血管疾病的风险<sup>[28]</sup>,同时亚油酸也能通过抑制胰岛素抵抗相关蛋白酪氨酸磷酸酶来发挥抗糖尿病作用<sup>[29]</sup>,基于上述研究,可以推断出富含亚油酸的双孢菇具有一定的药用价值。从表1可以看出双孢菇中粗脂肪的含量随着纳米硒处理浓度的升高呈现先上升后下降的趋势,说明低浓度的纳米硒更有利于双孢菇在生长和代谢的过程中合成更多富含亚油酸的脂肪,从而提高双孢菇的营养价值。

### 2.3.5 粗纤维

粗纤维分析结果如表1所示,不同处理组的粗纤维含量范围为5.73 g/100 g DW (T5, 2.5 mg/kg)~6.41 g/100 g DW (T2, 1.0 mg/kg),除T2 (1.0 mg/kg)与T3 (1.5 mg/kg)、T4 (2.0 mg/kg),T1 (0.5 mg/kg),CK (对照)与T5 (2.5 mg/kg)间无显著差异 ( $p>0.05$ )外,其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。吴圣进等<sup>[24]</sup>测定的粗纤维范围为6.6%~7.4%,高于本研究,可能是因为两者不同的栽培条件和培养基质等,双孢菇中的纤维含量有所差异属于正常范畴。

### 2.3.6 硒

微量元素硒分析结果如表1所示,不同处理组的硒含量范围为0.08 mg/kg DW (CK, 对照)~0.90 mg/kg DW (T5, 2.5 mg/kg),且各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。根据中华人民共和国供销合作行业标准GH/T 1135-2017对于富硒农产品的界定,当食用菌类中的总硒含量在0.10 mg/kg DW~5.00 mg/kg DW范围内,方可标识为富硒食用菌。本研究中除对照外,其他经过不同浓度纳米硒处理的双孢菇样品中的总硒含

量在 0.19 mg/kg DW~0.90 mg/kg DW 之间, 达到了富硒食用菌的标准要求。

从表 1 可以看出, 随着纳米硒处理浓度的提高, 双孢菇中的硒含量逐渐上升, 这与吴圣进等<sup>[24]</sup>和施怡等<sup>[9]</sup>的研究结果基本相符。通过换算, 不同处理的双孢菇硒含量在 7.96 μg/kg FW (CK, 对照)~75.78 μg/kg FW (T5, 2.5 mg/L), 每人每天需要食用 0.26 kg (T5, 2.5 mg/L)~2.51 kg (CK, 对照) 左右的双孢菇, 即

可满足每人每天最低硒需要量 (20 μg), 由此可见富硒农产品对于国民补硒的重要性。

此外, 本研究对照的硒含量为 0.08 mg/kg DW, 仅差 0.02 mg/kg DW 即可迈入天然富硒食用菌产品之列, 可能原因在于本研究所用的禽类氮源、麦草等培养基质含有较为可观含量的硒, 加上双孢菇强大的硒富集能力, 使得其不需要经过富硒处理, 总硒含量即可达到 0.08 mg/kg DW。

表 1 纳米硒处理对双孢菇子实体中基本成分的影响

Table 1 Effects of nano-selenium treatments on basic components in fruiting body of *Agaricus bisporus*

项目	水分/ (%, FW)	粗多糖/ (g/100 g DW)	总氮/ (%, DW)	粗脂肪/ (g/100 g DW)	粗纤维/ (g/100 g DW)	硒/ (mg/kg DW)
CK (对照)	90.15±0.92 <sup>a</sup>	3.22±0.13 <sup>b</sup>	5.92±0.13 <sup>b,c</sup>	2.65±0.09 <sup>c</sup>	5.86±0.18 <sup>b</sup>	0.08±0.01 <sup>f</sup>
T1 (0.5 mg/kg)	90.21±1.01 <sup>a</sup>	3.25±0.10 <sup>b</sup>	6.11±0.18 <sup>a,b</sup>	2.80±0.08 <sup>c</sup>	5.88±0.21 <sup>b</sup>	0.19±0.01 <sup>e</sup>
T2 (1.0 mg/kg)	90.37±0.95 <sup>a</sup>	3.76±0.17 <sup>a</sup>	6.39±0.20 <sup>a</sup>	3.54±0.13 <sup>a</sup>	6.41±0.25 <sup>a</sup>	0.42±0.02 <sup>d</sup>
T3 (1.5 mg/kg)	90.61±0.91 <sup>a</sup>	3.68±0.19 <sup>a</sup>	6.00±0.17 <sup>a,b</sup>	3.53±0.16 <sup>a</sup>	6.36±0.17 <sup>a</sup>	0.69±0.02 <sup>c</sup>
T4 (2.0 mg/kg)	90.97±0.98 <sup>a</sup>	3.31±0.12 <sup>b</sup>	5.83±0.12 <sup>b,c</sup>	3.22±0.09 <sup>b</sup>	6.02±0.15 <sup>b</sup>	0.81±0.04 <sup>b</sup>
T5 (2.5 mg/kg)	91.58±1.06 <sup>a</sup>	2.94±0.09 <sup>c</sup>	5.63±0.15 <sup>c</sup>	2.79±0.10 <sup>c</sup>	5.73±0.14 <sup>b</sup>	0.90±0.03 <sup>a</sup>

注: 结果为平均值±标准差 (n=3); 同一列数值上标注不含有相同小写字母表示数据之间存在显著性差异 (p<0.05); 鲜重 (fresh weight, FW), 干重 (dry weight, DW)。表 2~4 同。

表 2 纳米硒处理对双孢菇子实体中游离氨基酸组成的影响

Table 2 Effects of nano-selenium treatments on free amino acid compositions in fruiting body of *Agaricus bisporus*

游离氨基酸含量/(g/kg DW)	CK(对照)	T1(0.5 mg/kg)	T2(1.0 mg/kg)	T3(1.5 mg/kg)	T4(2.0 mg/kg)	T5(2.5 mg/kg)
天冬氨酸	2.41±0.07 <sup>b</sup>	2.55±0.10 <sup>b</sup>	2.73±0.11 <sup>a</sup>	2.46±0.05 <sup>b</sup>	2.23±0.06 <sup>c</sup>	2.79±0.13 <sup>a</sup>
谷氨酸	2.11±0.08 <sup>c</sup>	2.28±0.05 <sup>b</sup>	2.78±0.14 <sup>a</sup>	2.36±0.07 <sup>b</sup>	2.41±0.10 <sup>b</sup>	2.36±0.06 <sup>b</sup>
丝氨酸	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.14±0.01 <sup>a,b</sup>	0.15±0.01 <sup>a</sup>	0.14±0.01 <sup>a,b</sup>	0.14±0.01 <sup>a,b</sup>	0.14±0.01 <sup>a,b</sup>
组氨酸	0.34±0.01 <sup>c</sup>	0.36±0.01 <sup>c</sup>	0.50±0.02 <sup>b</sup>	0.82±0.04 <sup>a</sup>	0.48±0.02 <sup>b</sup>	0.23±0.01 <sup>d</sup>
甘氨酸	0.64±0.01 <sup>d</sup>	0.69±0.03 <sup>b</sup>	0.74±0.02 <sup>a</sup>	0.68±0.01 <sup>b,c</sup>	0.65±0.02 <sup>c,d</sup>	0.64±0.01 <sup>d</sup>
人体非必需氨基酸						
脯氨酸	1.43±0.04 <sup>c</sup>	1.69±0.06 <sup>b</sup>	2.46±0.10 <sup>a</sup>	1.77±0.05 <sup>b</sup>	1.77±0.07 <sup>b</sup>	1.48±0.03 <sup>c</sup>
精氨酸	0.67±0.02 <sup>b</sup>	0.62±0.01 <sup>c</sup>	0.72±0.02 <sup>a</sup>	0.67±0.03 <sup>b</sup>	0.64±0.03 <sup>b,c</sup>	0.64±0.02 <sup>b,c</sup>
丙氨酸	3.68±0.11 <sup>b,c</sup>	3.76±0.15 <sup>b</sup>	4.29±0.20 <sup>a</sup>	3.72±0.12 <sup>b</sup>	3.59±0.07 <sup>b,c</sup>	3.44±0.10 <sup>c</sup>
酪氨酸	0.58±0.02 <sup>a</sup>	0.53±0.02 <sup>b</sup>	0.60±0.03 <sup>a</sup>	0.60±0.02 <sup>a</sup>	0.51±0.02 <sup>b</sup>	0.41±0.01 <sup>c</sup>
半胱氨酸	0.07±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0.01 <sup>a</sup>	0.02±0.01 <sup>b</sup>
小计	12.06	12.68	15.04	13.29	12.48	12.15
人体必需氨基酸						
苏氨酸	0.83±0.02 <sup>b,c</sup>	0.78±0.02 <sup>c</sup>	0.83±0.03 <sup>b,c</sup>	0.86±0.04 <sup>a,b</sup>	0.85±0.02 <sup>a,b</sup>	0.89±0.03 <sup>a</sup>
缬氨酸	0.81±0.03 <sup>b,c</sup>	0.86±0.04 <sup>a,b</sup>	0.87±0.02 <sup>a</sup>	0.88±0.04 <sup>a</sup>	0.83±0.02 <sup>a,b,c</sup>	0.78±0.02 <sup>c</sup>
蛋氨酸	0.16±0.01 <sup>c</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>	0.15±0.01 <sup>c,d</sup>	0.15±0.01 <sup>c,d</sup>	0.14±0.01 <sup>d</sup>	0.20±0.01 <sup>b</sup>
色氨酸	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.30±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.31±0.01 <sup>a</sup>	0.30±0.01 <sup>a</sup>	0.28±0.01 <sup>b</sup>
苯丙氨酸	0.93±0.04 <sup>a</sup>	0.88±0.02 <sup>a,b</sup>	0.85±0.01 <sup>b,c</sup>	0.90±0.04 <sup>a,b</sup>	0.82±0.02 <sup>c,d</sup>	0.79±0.02 <sup>d</sup>
异亮氨酸	0.55±0.02 <sup>b,c</sup>	0.52±0.02 <sup>c</sup>	0.62±0.03 <sup>a</sup>	0.63±0.02 <sup>a</sup>	0.59±0.03 <sup>a,b</sup>	0.56±0.02 <sup>b,c</sup>
亮氨酸	0.65±0.03 <sup>b,c</sup>	0.62±0.02 <sup>c</sup>	0.73±0.03 <sup>a</sup>	0.73±0.04 <sup>a</sup>	0.71±0.03 <sup>a</sup>	0.70±0.02 <sup>a,b</sup>
赖氨酸	0.77±0.03 <sup>a,b</sup>	0.74±0.03 <sup>b,c</sup>	0.70±0.02 <sup>c</sup>	0.81±0.04 <sup>a</sup>	0.81±0.03 <sup>a</sup>	0.82±0.04 <sup>a</sup>
小计	5.01	4.94	5.06	5.27	5.05	5.02
总计	17.07	17.62	20.10	18.56	17.53	17.17

表3 纳米硒处理对双孢菇子实体中总氨基酸组成的影响

Table 3 Effects of nano-selenium treatments on total amino acid compositions in fruiting body of *Agaricus bisporus*

总氨基酸含量/(g/kg DW)	CK(对照)	T1(0.5 mg/kg)	T2(1.0 mg/kg)	T3(1.5 mg/kg)	T4(2.0 mg/kg)	T5(2.5 mg/kg)
天冬氨酸	27.53±0.83 <sup>c</sup>	28.86±1.04 <sup>b,c</sup>	30.91±1.14 <sup>a</sup>	30.75±0.86 <sup>a</sup>	29.09±0.90 <sup>a,b,c</sup>	29.91±0.96 <sup>a,b</sup>
谷氨酸	48.37±1.69 <sup>c</sup>	51.07±2.04 <sup>b,c</sup>	54.21±2.22 <sup>a,b</sup>	56.10±1.90 <sup>a</sup>	49.25±1.53 <sup>c</sup>	55.08±2.37 <sup>a</sup>
丝氨酸	12.56±0.38 <sup>a,b</sup>	12.98±0.45 <sup>a,b</sup>	13.13±0.53 <sup>a</sup>	13.04±0.50 <sup>a,b</sup>	13.00±0.61 <sup>a,b</sup>	12.15±0.39 <sup>b</sup>
组氨酸	5.71±0.22 <sup>a</sup>	5.59±0.24 <sup>a</sup>	5.51±0.17 <sup>a</sup>	5.56±0.20 <sup>a</sup>	5.41±0.27 <sup>a</sup>	5.34±0.23 <sup>a</sup>
甘氨酸	14.18±0.52 <sup>a</sup>	14.26±0.40 <sup>a</sup>	14.37±0.68 <sup>a</sup>	14.15±0.57 <sup>a</sup>	13.49±0.47 <sup>a</sup>	13.42±0.36 <sup>a</sup>
人体非必需氨基酸	14.37±0.56 <sup>b</sup>	15.05±0.48 <sup>b</sup>	16.26±0.45 <sup>a</sup>	13.37±0.52 <sup>c</sup>	11.90±0.33 <sup>d</sup>	9.57±0.27 <sup>e</sup>
精氨酸	15.48±0.48 <sup>a</sup>	15.56±0.61 <sup>a</sup>	15.88±0.44 <sup>a</sup>	15.46±0.53 <sup>a</sup>	15.03±0.54 <sup>a,b</sup>	14.41±0.36 <sup>b</sup>
丙氨酸	24.13±0.72 <sup>b</sup>	24.90±0.90 <sup>a,b</sup>	25.85±1.03 <sup>a</sup>	25.21±0.68 <sup>a,b</sup>	26.02±1.09 <sup>a</sup>	23.64±0.57 <sup>b</sup>
酪氨酸	6.65±0.23 <sup>c</sup>	7.12±0.25 <sup>b</sup>	7.61±0.29 <sup>a</sup>	7.31±0.28 <sup>a,b</sup>	7.56±0.21 <sup>a,b</sup>	6.04±0.18 <sup>d</sup>
半胱氨酸	0.41±0.01 <sup>d</sup>	0.65±0.02 <sup>c</sup>	0.90±0.04 <sup>b</sup>	1.10±0.04 <sup>a</sup>	0.93±0.03 <sup>b</sup>	0.37±0.01 <sup>d</sup>
小计	169.39	176.04	184.63	182.05	171.68	169.93
苏氨酸	13.11±0.38 <sup>a,b</sup>	13.45±0.54 <sup>a,b</sup>	13.88±0.44 <sup>a</sup>	13.64±0.43 <sup>a,b</sup>	13.33±0.60 <sup>a,b</sup>	12.75±0.33 <sup>b</sup>
缬氨酸	14.21±0.45 <sup>b,c</sup>	14.81±0.44 <sup>a,b</sup>	15.36±0.61 <sup>a</sup>	14.92±0.58 <sup>a,b</sup>	14.41±0.50 <sup>a,b,c</sup>	13.66±0.38 <sup>c</sup>
蛋氨酸	6.47±0.25 <sup>a</sup>	6.19±0.17 <sup>a</sup>	5.85±0.23 <sup>b</sup>	5.35±0.15 <sup>c</sup>	5.06±0.16 <sup>c</sup>	3.80±0.10 <sup>d</sup>
色氨酸	6.11±0.21 <sup>a,b</sup>	6.26±0.25 <sup>a,b</sup>	6.52±0.31 <sup>a</sup>	6.19±0.22 <sup>a,b</sup>	6.06±0.27 <sup>a,b</sup>	6.01±0.17 <sup>b</sup>
人体必需氨基酸	11.80±0.41 <sup>a</sup>	11.99±0.48 <sup>a</sup>	12.39±0.52 <sup>a</sup>	11.93±0.38 <sup>a</sup>	11.72±0.34 <sup>a,b</sup>	11.00±0.28 <sup>b</sup>
异亮氨酸	13.30±0.53 <sup>a,b</sup>	13.60±0.46 <sup>a</sup>	13.90±0.58 <sup>a</sup>	13.42±0.62 <sup>a,b</sup>	13.02±0.38 <sup>a,b</sup>	12.59±0.50 <sup>b</sup>
亮氨酸	19.10±0.76 <sup>a,b</sup>	19.32±0.58 <sup>a</sup>	19.71±0.71 <sup>a</sup>	19.09±0.59 <sup>a,b</sup>	18.87±0.74 <sup>a,b</sup>	17.85±0.51 <sup>b</sup>
赖氨酸	13.93±0.35 <sup>b,c</sup>	14.64±0.44 <sup>a,b</sup>	14.95±0.47 <sup>a</sup>	14.56±0.58 <sup>a,b</sup>	14.15±0.64 <sup>a,b,c</sup>	13.52±0.43 <sup>c</sup>
小计	98.03	100.26	102.56	99.10	96.62	91.18
总计	267.42	276.30	287.19	281.15	268.30	261.11

### 2.3.7 游离氨基酸

双孢菇子实体中游离氨基酸组成如表2所示,不同处理组的游离氨基酸含量范围为17.07 g/kg DW (CK, 对照)~20.10 g/kg DW (T2, 1.0 mg/kg),其中人体非必需氨基酸含量范围为12.06 g/kg DW (CK, 对照)~15.04 g/kg DW (T2, 1.0 mg/kg),必需氨基酸含量范围为4.94 g/kg DW (T1, 0.5 mg/kg)~5.27 g/kg DW (T3, 1.5 mg/kg)。

Pei 等<sup>[22]</sup>测定的双孢菇鲜菇中的游离氨基酸含量为44.2 mg/g DW, 经过冷冻干燥1、3、5、6.5、8 h处理的双孢菇中的游离氨基酸含量分别为44.6、45.3、48.9、31.8、24.3 mg/g DW, 经过微波真空干燥5.15 h处理的双孢菇中的游离氨基酸含量分别为42.0 mg/g DW, 很明显双孢菇经过不同的处理后,其中所含的游离氨基酸含量均不相同,尤其当冷冻干燥时间达到8 h后游离氨基酸含量会大大降低。本研究所测得的双孢菇子实体中游离氨基酸含量相对偏小,可能原因在于本研究是在108 °C下将双孢菇子实体鲜样烘干至恒重,时间在12 h左右,可能是过高的烘干温度以及偏长的烘干时间促进了氨基酸与还原糖之间的美拉德反应,当然,也有可能是在烘干的过程中引发了氨基酸

的史崔克降解,从而使双孢菇子实体中游离氨基酸含量大大降低<sup>[30,31]</sup>。

从表2可以看出,当纳米硒处理浓度为1.0 mg/kg时,双孢菇子实体中游离氨基酸中的人体非必需氨基酸最多,当纳米硒处理浓度为1.5 mg/kg时,双孢菇子实体中游离氨基酸中的人体必需氨基酸最多,但就双孢菇子实体中总游离氨基酸而言,纳米硒处理浓度为1.0 mg/kg的效果优于1.5 mg/kg。

### 2.3.8 总氨基酸

双孢菇子实体中总氨基酸组成如表3所示,不同处理组的总氨基酸含量范围为261.11 g/kg DW (T5, 2.5 mg/kg)~287.19 g/kg DW (T2, 1.0 mg/kg),其中人体非必需氨基酸含量范围为169.39 g/kg DW (CK, 对照)~184.63 g/kg DW (T2, 1.0 mg/kg),必需氨基酸含量范围为91.18 g/kg DW (T5, 2.5 mg/kg)~102.56 g/kg DW (T2, 1.0 mg/kg)。

Prange 等<sup>[10]</sup>研究发现经亚硒酸盐处理后双孢菇中Se-(甲基)硒基-L-半胱氨酸(Se-MeSeCys)、硒代蛋氨酸(Se-Met)和亚硒酸钾的含量分别占总硒含量的55%、35%、10%; Maseko 等<sup>[32]</sup>研究发现单独用水灌溉的双孢菇/用亚硒酸钠溶液灌溉的双孢菇的帽部和

茎部硒代氨基酸含量最大值分别为: 硒代半胱氨酸 (Se-Cys) 为 4.16/9.65  $\mu\text{g/g DW}$ , Se-Met 为 0.08/0.58  $\mu\text{g/g DW}$ , Se-MeSeCys 为 0.031/0.10  $\mu\text{g/g DW}$ 。以上研究表明双孢菇强大的硒富集能力以及硒有机转化能力, 并能够在较大程度上转化为更易于人体吸收代谢的硒代氨基酸。尽管本研究并没有研究经纳米硒处理后双孢菇中硒的形态特征, 但有趣的是, 双孢菇子实体中总氨基酸组成中蛋氨酸含量随着纳米硒处理浓度的增加而不断下降, 而半胱氨酸含量随着纳米硒处理浓度的增加呈现先上升后下降的趋势, 可能原因在于在纳米硒处理浓度 $\leq 1.5 \text{ mg/kg}$ 时, 能够促进双孢菇的生长代谢, 从而使其生成半胱氨酸的速率远高于半胱氨酸转化为 Se-Cys 和 Se-MeSeCys 的速率, 导致半胱氨酸含量随纳米硒处理浓度的增加而上升, 当纳米硒处理浓度达到  $2.5 \text{ mg/kg}$  时, 较高浓度的硒干扰了双孢菇自身正常的生长代谢, 使其生成半胱氨酸的速率远低于半胱氨酸转化为 Se-Cys 和 Se-MeSeCys 的速率, 导致半胱氨酸含量急剧降低。

此外, 经亚硒酸盐处理后双孢菇通过自身的代谢更偏向于将无机硒转化为 Se-Cys 或 Se-MeSeCys, 而与之不同的是, 经纳米硒处理后双孢菇通过自身的代谢可能更偏向于将无机硒转化为 Se-Met, 从而使其中的蛋氨酸含量随着纳米硒处理浓度的增加而不断降低。另外, 从表 3 可以很明显看出, 无论是双孢菇子实体中总氨基酸中的人体非必需氨基酸和必需氨基酸含量, 还是双孢菇子实体中总氨基酸含量, 纳米硒处理浓度为  $1.0 \text{ mg/kg}$  的效果最优。

## 2.4 纳米硒对双孢菇子实体单朵均重的影响

在双孢菇子实体单朵均重方面, 如表 4 所示, 不同处理组的单朵均重范围为  $20.50 \text{ g}$  (T5,  $2.5 \text{ mg/kg}$ ) ~  $22.90 \text{ g}$  (T2,  $1.0 \text{ mg/kg}$ ), 除 T2 ( $1.0 \text{ mg/kg}$ ) 与 T3 ( $1.5 \text{ mg/kg}$ )、T3 ( $1.5 \text{ mg/kg}$ ) 与 T4 ( $2.0 \text{ mg/kg}$ )、T4 ( $2.0 \text{ mg/kg}$ )、T1 ( $0.5 \text{ mg/kg}$ ), CK (对照) 与 T5 ( $2.5 \text{ mg/kg}$ ) 间无显著差异 ( $p>0.05$ ) 外, 其余各样品间均有显著差异 ( $p<0.05$ )。吴圣进等<sup>[24]</sup>研究结果发现在覆土中添加亚硒酸钠能够在一定程度上提高双孢菇子实体的产量, 本研究也有类似之处, 纳米硒处理浓度为  $1.0 \text{ mg/kg}$  和  $1.5 \text{ mg/kg}$  时的双孢菇子实体单朵均重均显著高于对照, 说明施用适量的纳米硒能够促进双孢菇的生长, 获得增产效果, 可能是因为在低硒

地区, 施用适量的硒能够提高双孢菇中多种抗氧化酶的活性, 使其体内抗氧化能力增强, 并清除其中多余的不利于双孢菇生长代谢的脂质过氧化物, 从而增强了双孢菇的抗衰老能力和抗逆性, 提高了双孢菇生长性能, 导致双孢菇子实体单朵均重显著提高<sup>[33]</sup>。

## 2.5 纳米硒对双孢菇保藏期的影响

不同浓度纳米硒处理对双孢菇子实体保藏期的影响如图 3 所示, 对照组的双孢菇子实体随着保藏时间的延长, 褐变程度越来越深, 而低浓度纳米硒处理组的双孢菇子实体随着保藏时间的延长, 褐变程度不明显, 但高浓度纳米硒处理组的双孢菇子实体, 尤其是  $2.5 \text{ mg/kg}$  纳米硒处理组的双孢菇子实体, 从采摘后所呈现的微微发红的状态尤为明显, 改变了双孢菇子实体颜色洁白的固有性状, 可能原因在于纳米硒本身的颜色为橙色或红色, 高浓度纳米硒处理组的双孢菇子实体吸收了大量的纳米硒, 高浓度纳米硒抑制了其正常的生长代谢, 使得其吸收的红色纳米硒未能全部转化为无色的有机硒, 导致剩余未能成功转化的红色纳米硒分散在双孢菇子实体中, 使双孢菇子实体呈现微红的状态。

双孢菇发生褐变的主要原因有酶促褐变 (包括多酚氧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶等)、自身衰老 (活性氧的积累是主要原因之一) 和腐败微生物。本研究采用的是低温保藏, 低温能够抑制氧化酶类的活性和腐败微生物的活性、降低双孢菇的代谢速率以及减少活性氧的积累, 从而延缓了双孢菇子实体的褐变进度<sup>[34]</sup>, 以致于保藏 6 d 的对照组的双孢菇子实体的褐变程度适中, 而低浓度纳米硒处理组的双孢菇子实体褐变不明显, 除了低温保藏的缘故, 可能也因为双孢菇子实体适量浓度的硒提高了双孢菇子实体中多种依赖硒的抗氧化酶的活性, 增强了双孢菇子实体的抗氧化能力, 并清除了相当一部分会使双孢菇子实体衰老的活性氧, 并且作为软模板的壳聚糖具有防腐杀菌的作用, 可以起到抑制甚至杀死腐败微生物的作用。因此, 在多方面因素的协同作用下, 低浓度纳米硒处理组的双孢菇子实体褐变不明显, 其保藏期也得到了较大的延长, 有利于双孢菇的贮藏、货运与售卖<sup>[11,15,33,34]</sup>。

从 6 d 的观察和图 3 来看, 低浓度纳米硒处理组的双孢菇子实体保藏期更长, 其中尤以  $1.0 \text{ mg/kg}$  纳米硒处理组的最为明显, 相较于对照组, 其保藏期至少能够延长 1~2 d。

表 4 纳米硒处理对单朵双孢菇子实体均重的影响

Table 4 Effects of nano-selenium treatments on average weight of each fruiting body of *Agaricus bisporus*

项目	CK(对照)	T1(0.5 mg/kg)	T2(1.0 mg/kg)	T3(1.5 mg/kg)	T4(2.0 mg/kg)	T5(2.5 mg/kg)
单朵均重/(g, FW)	20.79 $\pm$ 0.69 <sup>c</sup>	21.01 $\pm$ 0.63 <sup>c</sup>	22.90 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>	22.33 $\pm$ 0.78 <sup>a,b</sup>	21.24 $\pm$ 0.62 <sup>b,c</sup>	20.50 $\pm$ 0.57 <sup>c</sup>

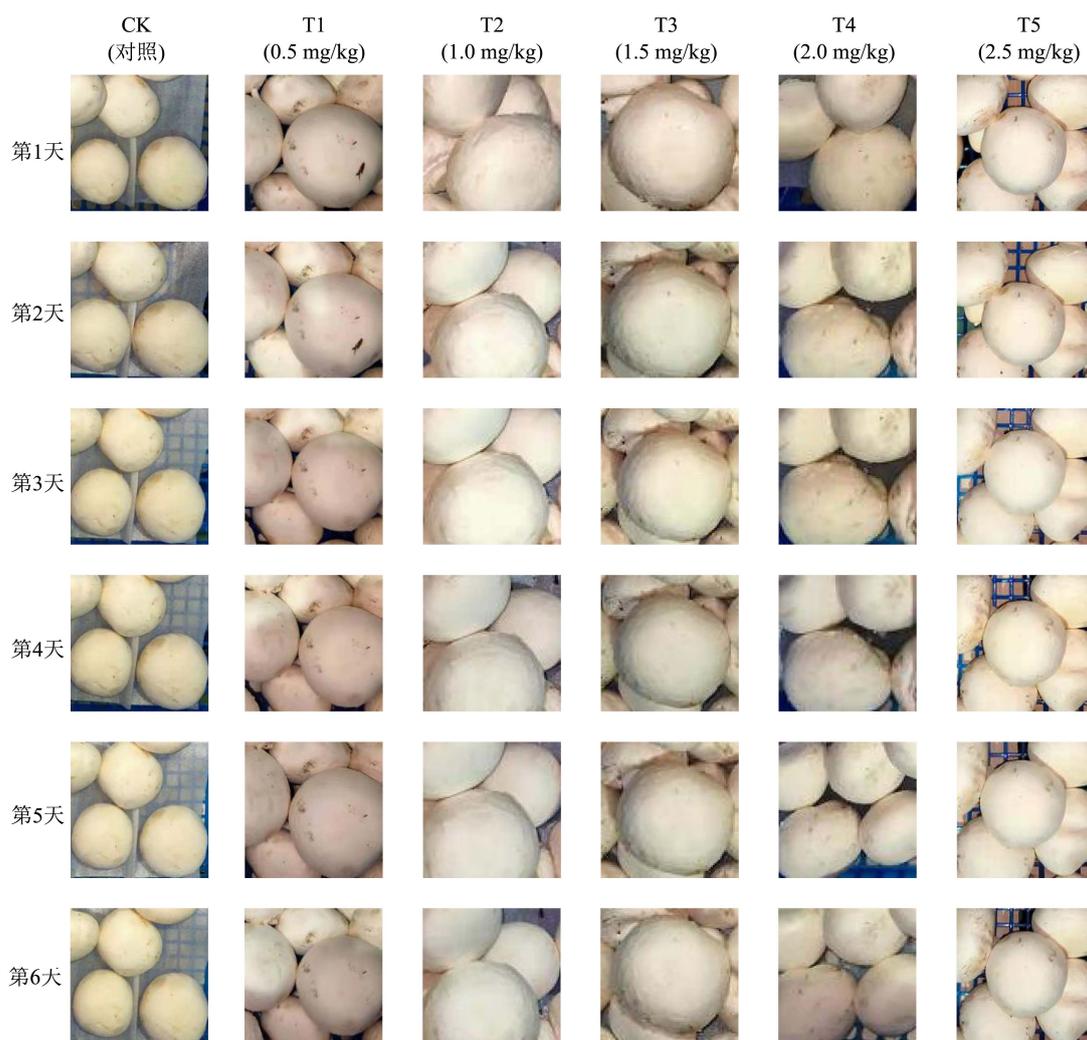


图3 纳米硒处理对双孢菇保藏期的影响

Fig.3 Effects of nano-selenium treatments on storage period of *Agaricus bisporus*

### 2.6 聚类分析

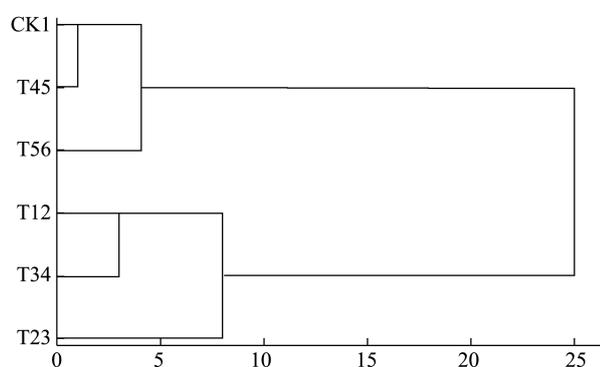


图4 不同处理的聚类分析树状图

Fig.4 Tree diagram of cluster analysis of different treatments

对不同浓度纳米硒处理的双孢菇子实体中的8种基本成分(水分、粗多糖、总氮、粗脂肪、粗纤维、硒、总游离氨基酸、总氨基酸)和单朵均重进行系统的聚类分析,采用平方 Euclidean 距离为度量准则,得

到聚类分析如图4所示。

当距离大于10小于25时,样品可分为2类;当距离大于5小于10时,可将不同浓度纳米硒处理的双孢菇子实体很好地分为3大类,其中T2(1.0 mg/kg)为第1类,T3(1.5 mg/kg)和T1(0.5 mg/kg)为第2类,T5(2.5 mg/kg)、T4(2.0 mg/kg)和CK(对照)为第3类。结合具体数据与分析可知,根据综合的基本成分含量和单朵双孢菇子实体均重进行排序为:第1类>第2类>第3类,也即1.0 mg/kg的纳米硒处理的双孢菇子实体综合品质更好,且单朵均重更大。

### 2.7 主成分分析

对测定所得到的包括基本成分(水分、粗多糖、总氮、粗脂肪、粗纤维、硒、总游离氨基酸、总氨基酸)和单朵均重这9个变量的原始数据进行主成分分析,为了保证信息的完整性和可靠性,累计方差贡献率应该达到80%以上,结果见表5、表6、表7。

表5 主成分的初始特征值及累积方差贡献率

Table 5 Initial eigenvalue and cumulative variance contribution rate of principal components

主成分	特征值	方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	6.457	71.750	71.750
2	2.207	24.517	96.267
3	0.259	2.877	99.144
4	0.055	0.614	99.757
5	0.022	0.243	100.000
6	3.669E-16	4.077E-15	100.000
7	2.691E-17	2.990E-16	100.000
8	-4.721E-17	-5.245E-16	100.000
9	-2.489E-16	-2.766E-15	100.000

由表5可知,前两个主成分的特征值均大于1,累计方差贡献率为96.267%,故提取了前两个主成分。其中,第1主成分(PC1)的特征值是6.457,是最重要的,解释71.750%的变异,如表6所示,粗多糖、总氮、粗脂肪、粗纤维、总游离氨基酸、总氨基酸和单朵均重在PC1上有较高的载荷,分别为0.981、0.886、0.843、0.958、0.939、0.974和0.978,说明第1主成分基本反映了这些指标的信息;第2主成分(PC2)的特征值是2.207,解释24.517%的变异,如

表6所示,水分和硒在PC2上有较高的载荷,分别为0.833和0.980,说明第2主成分基本反映了水分和硒的信息。由于提取前两个主成分可以基本反映全部指标的信息,因此决定用2个新变量(PC1和PC2)来代替原来的9个变量。通过计算得出PC1得分、PC2得分和综合得分,如表7所示,结果表明,T2(1.0 mg/kg)综合得分排名第一,其次是T3(1.5 mg/kg)、T4(2.0 mg/kg)、T1(0.5 mg/kg)、CK(对照)和T5(2.5 mg/kg)。

表6 前2个主成分的变异来源

Table 6 Variation source for first two principal components (PC1 &amp; PC2)

项目	第1主成分PC1	第2主成分PC2
水分	-0.513	0.833
粗多糖	0.981	0.057
总氮	0.886	-0.386
粗脂肪	0.843	0.517
粗纤维	0.958	0.233
硒	-0.176	0.980
总游离氨基酸	0.939	0.162
总氨基酸	0.974	-0.118
单朵均重	0.978	0.194

表7 不同处理的主成分得分和综合得分

Table 7 Main component score and comprehensive score of different treatments

编号	样品名称	PC1 得分 F1	F1 排名	PC2 得分 F2	F2 排名	综合得分	综合得分排名
CK	对照	-1.41527	5	-1.93955	6	-1.54882	5
T1	0.5 mg/kg	-0.39658	3	-1.69695	5	-0.72783	4
T2	1.0 mg/kg	3.84415	1	0.05471	4	2.87886	1
T3	1.5 mg/kg	2.03290	2	0.99947	3	1.76965	2
T4	2.0 mg/kg	-0.81774	4	1.12192	2	-0.32364	3
T5	2.5 mg/kg	-3.24745	6	1.46042	1	-2.04821	6

### 3 结论

本研究以壳聚糖为模板,化学法制备纳米硒,呈现为规则球形状,平均粒径为52 nm,性质均一稳定。在双孢菇栽培过程中,通过在培养基中添加浓度为1.0 mg/kg干基的纳米硒,可以提升双孢菇子实体的综合营养品质,显著提高双孢菇子实体中的硒含量,使其达到中华人民共和国供销合作行业标准中的富硒食用菌标准,最长可延长双孢菇的保藏期2 d。本研究为富硒双孢菇的研发提供了重要参考,为纳米硒产业化应用和富硒农产品生产提供了数据支撑和理论借鉴。

### 参考文献

[1] 陈长兰,郇丰宁,孟雪莲,等.硒对人体的作用机理及科学补

硒方法[J].辽宁大学学报(自然科学版),2016,43(2):155-168,92

CHEN Changlan, HUAN Fengning, MENG Xuelian, et al. The effects of selenium on human health and diseases and the scientifically supplementation of selenium to human bodies [J]. Journal of Liaoning University (Natural Sciences Edition), 2016, 43(2): 155-168, 92

[2] 徐贵法.蛋白硒的研究进展及富硒鸡蛋的价值[J].现代食品,2020,15:26-31

XU Guifa. Research progress of protein selenium and the value of selenium-enriched eggs [J]. Modern Food, 2020,15: 26-31

[3] Huang J Q, Zhou J C, Wu Y Y, et al. Role of glutathione peroxidase1 in glucose and lipid metabolism-related diseases

- [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2018, 127: 108-115
- [4] Köhrle J. Selenium in endocrinology-selenoprotein-related diseases, population studies and epidemiological evidence [J]. Endocrinology, 2021, 162(2): bqaa228
- [5] 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
- [6] Dinh Q T, Cui Z W, Huang J, et al. Selenium distribution in the Chinese environment and its relationship with human health: a review [J]. Environment International, 2018, 112: 294-309
- [7] 姚远溪,顾艳耿,吕蒙,等.富硒蔬菜和谷物与人体健康分析[J].农产品加工,2018,24:80-82,85  
YAO Yuanxi, GU Yangeng, LYU Meng, et al. Analysed on the relationship between selenium-rich vegetables, selenium-rich grains and human health [J]. Farm Products Processing, 2018, 24: 80-82, 85
- [8] Usman M, Murtaza G, Ditta A. Nutritional, medicinal, and cosmetic value of bioactive compounds in button mushroom (*Agaricus bisporus*): a review [J]. Applied Sciences, 2021, 11(13): 5943-5943
- [9] 施怡,胡兴锁,潘亚璐,等.富硒双孢蘑菇硒形态分布及其营养品质和抗氧化特性[J].食品科学,2017,38(9):99-105  
SHI Yi, HU Xingsuo, PAN Yalu, et al. Selenium speciation distribution, nutritional quality and antioxidant activity of Se-enriched *Agaricus bisporus* [J]. Journal of Food Science, 2017, 38(9): 99-105
- [10] Prange A, Sari M, Ameln S V, et al. Characterization of selenium speciation in selenium-enriched button mushrooms (*Agaricus bisporus*) and selenized yeasts (dietary supplement) using X-ray absorption near-edge structure (XANES) spectroscopy [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2019, 51: 164-168
- [11] 翟晓娜.壳聚糖纳米硒体系的制备及其物化特性和生物活性的研究[D].北京:中国农业大学,2017  
ZHAI Xiaona. Synthesis, physicochemical characteristics and bioactivity of selenium nanosystem stablized by chitosan [D]. Beijing: China Agricultural University, 2017
- [12] Wang Q, Larese-Casanova P, Webster T J. Inhibition of various gram-positive and gram-negative bacteria growth on selenium nanoparticle coated paper towels [J]. International Journal of Nanomedicine, 2015, 10(1): 2885-2894
- [13] Vrandečić K, Ćosić J, Ilić J, et al. Antifungal activities of silver and selenium nanoparticles stabilized with different surface coating agents [J]. Pest Management Science, 2020, 76(6): 2021-2029
- [14] Qin F J, Shi M M, Yuan H X, et al. Dietary nano-selenium relieves hypoxia stress and, improves immunity and disease resistance in the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2016, 54: 481-488
- [15] 蒋斌.叶面施硒-壳聚糖肥对镉污染条件下作物生长及品质影响研究[D].长沙:湖南大学,2014  
JIANG Bin. Effect of foliar selenium-chitosan fertilizations on crops grown and quality under conditions of cadmium [D]. Changsha: Hunan University, 2014
- [16] 高献礼,冯拓,单培,等.一种以活性纳米硒为硒源制备富硒酸奶的方法[P].江苏省:CN112674167A,2021-04-20  
GAO Xianli, FENG Tuo, SHAN Pei, et al. A method for preparing selenium-rich yoghurt using active nano-selenium as selenium source [P]. Jiangsu Province: CN112674167A, 2021-04-20
- [17] 陈全胜,周桃英,杨辉德,等.双孢菇培养料配方试验[J].湖北农业科学,2014,53(21):5195-5196,5275  
CHEN Quansheng, ZHOU Taoying, YANG Huide, et al. Compost formula of *Agaricus bisporus* [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2014, 53(21): 5195-5196, 5275
- [18] 王宇,张爽,候宇,等.食用菌中粗脂肪测定结果不确定度的评定[J].吉林农业科学,2013,38(5):93-96  
WANG Yu, ZHANG Shuang, HOU Yu, et al. Evaluation of uncertainty of results of crude fat measurement in edible mushroom [J]. Jilin Agricultural Sciences, 2013, 38(5): 93-96
- [19] Gao X L, Zhang J K, Liu E M, et al. Enhancing the taste of raw soy sauce using low intensity ultrasound treatment during moromi fermentation [J]. Food Chemistry, 2019, 298: 124928
- [20] 孙鹏飞,高献礼,闫爽,等.酱油二次沉淀蛋白质的分离、鉴定及氨基酸分析[J].食品工业科技,2014,35(5):87-90  
SUN Pengfei, GAO Xianli, YAN Shuang, et al. Distirbution, identification and amino acid composition analysis of proteins in the secondary precipitate of soy sauce [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(5): 87-90
- [21] Bai K K, Hong B H, Hong Z, et al. Selenium nanoparticles-loaded chitosan/citrate complex and its protection against oxidative stress in D-galactose-induced aging mice [J]. Journal of Nanobiotechnology, 2017, 15(1): 92
- [22] Pei F, Shi Y, Gao X Y, et al. Changes in non-volatile taste components of button mushroom (*Agaricus bisporus*) during different stages of freeze drying and freeze drying combined

- with microwave vacuum drying [J]. Food Chemistry, 2014, 165: 547-554
- [23] 潘亚璐.富硒栽培对双孢蘑菇生长特性及硒形态分布的影响[D].南京:南京农业大学,2013
- PAN Yalu. Effect of Se-accumulation cultivation on the growth characteristics and selenium distribution of *Agaricus bisporus* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013
- [24] 吴圣进,陈雪凤,张雯龙,等.覆土添加硒对双孢蘑菇产量与品质的影响[J].中国食用菌,2021,40(1):71-74,90
- WU Shengjin, CHEN Xuefeng, ZHANG Wenlong, et al. Effect of addition of selenium in casing on yield and quality of *Agaricus bisporus* [J]. Edible Fungi of China, 2021, 40(1): 71-74, 90
- [25] Burk R F, Hill K E. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis [J]. Annual Review of Nutrition, 2005, 25: 215-235
- [26] Xia Y M, Hill K E, Byrne D W, et al. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China [J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81(4): 829-834
- [27] Öztürk M, Duru M E, Kivrak S, et al. *In vitro* antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: a comparative study on the three most edible mushrooms [J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(6): 1353-1360
- [28] Erik F, Bonny B W. The effects of linoleic acid consumption on lipid risk markers for cardiovascular disease in healthy individuals: a review of human intervention trials [J]. Nutrients, 2020, 12(8): 2329
- [29] Yoon S Y, Ahn D, Hwang J Y, et al. Linoleic acid exerts antidiabetic effects by inhibiting protein tyrosine phosphatases associated with insulin resistance [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 83: 104532
- [30] Li Q, Zhang H H, Claver I P, et al. Effect of different cooking methods on the flavour constituents of mushroom (*Agaricus bisporus* (Lange Sing) soup [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2011, 46(5): 1100-1108
- [31] Kebede B T, Grauwet T, Palmers S, et al. Effect of high pressure high temperature processing on the volatile fraction of differently coloured carrots [J]. Food Chemistry, 2014, 153: 340-352
- [32] Maseko T, Callahan D L, Dunshea F R, et al. Chemical characterisation and speciation of organic selenium in cultivated selenium-enriched *Agaricus bisporus* [J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3681-3687
- [33] 索艳敏,咎丽霞,王超.硒对植物生长作用的研究进展[J].农业技术与装备,2020,4:60-62
- SUO Yanmin, ZAN Lixia, WANG Chao. Research progress of selenium on plant growth [J]. Agricultural Technology & Equipment, 2020, 4: 60-62
- [34] 孙若兰,肖靛,易有金,等.双孢蘑菇采后贮藏保鲜研究进展[J].食品科学,2021,42(1):333-340
- SUN Ruolan, XIAO Liang, YI Youjin, et al. Progress in techniques for postharvest quality preservation of *Agaricus bisporus* [J]. Journal of Food Science, 2021, 42(1): 333-340

---

(上接第 247 页)

- [31] Fang S, Ning J, Huang W J, et al. Identification of geographical origin of Keemun black tea based on its volatile composition coupled with multivariate statistical analyses [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(9): 4344-4352
- [32] Fang S, Huang W J, Wei Y, et al. Geographical origin traceability of Keemun black tea based on its non-volatile composition combined with chemometrics [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(15): 6937-6943
- [33] Zhang D, Wu W, Qiu X, et al. Rapid and direct identification of the origin of white tea with proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2020, 34(20): e8830
- [34] 田甜,韦锦坚,文金华,等.不同季节凌云白毫绿茶的香气成分差异分析[J].食品科学,2020,41(22):252-259
- TIAN Tian, WEI Jinjian, WEN Jinhua, et al. Seasonal variability of aroma components of Lingyun pekoe green tea [J]. Food Science, 2020, 41(22): 252-259
- [35] 张纪伟,沈雪梅,张钊,等.不同产地和贮存年份普洱生茶香气和呈味物质变化的比较研究[J].食品研究与开发,2021, 42(9):11-18
- ZHANG Jiwei, SHEN Xuemei, ZHANG Qian, et al. Comparative study on changes of aroma and flavor components of raw Pu-erh tea produced in different producing areas and storage years [J]. Food Research and Development, 2021, 42(9): 11-18