

壳聚糖纳米硒的制备及对冷藏南湾鱼肉贮藏期间品质的影响

王清^{1,2}, 周舟^{1,2}, 雷磊^{1,2}, 孙鹤^{1,2}, 赵署华^{1,2}, 李建芳^{1,2},
朱静^{1,2}, 杨玲玲^{1,2}, 刘涛^{1,2*}

(1. 信阳农林学院 食品科学与工程学院, 河南 信阳 464000;

2. 信阳市健康食品开发与营养调控重点实验室, 河南 信阳 464000)

摘要: **目的** 制备壳聚糖纳米硒 (CS-SeNPs), 将其应用于南湾鱼肉的冷藏保鲜, 以延长货架期。 **方法** 以壳聚糖作为稳定剂和分散剂, 通过化学还原法, 在抗坏血酸的作用下还原亚硒酸钠, 制备 CS-SeNPs; 以壳聚糖浓度、亚硒酸钠和抗坏血酸摩尔比 (Vc/Na_2SeO_3)、反应温度及反应时间为因素进行单因素试验, 在试验基础上, 以 CS-SeNPs 的稳定性为响应值, 选择壳聚糖浓度、 Vc/Na_2SeO_3 、反应温度作为考察对象, 通过响应面优化试验得到 CS-SeNPs 的最佳制备工艺; 将 CS-SeNPs 应用于南湾鱼肉的保鲜, 考察其贮藏保鲜效果。 **结果** CS-SeNPs 的最佳工艺参数如下: 壳聚糖浓度为 20 g/L, 反应温度为 40 °C, Vc/Na_2SeO_3 摩尔比为 4:1, 此时 A_{410}/A_{490} 为 2.176 ± 0.0086 。与对照组相比, 经 CS-SeNPs 处理后具有更好的保鲜效果, 能延缓鱼肉贮藏期间脂质氧化、菌落总数、总挥发性盐基氮值与汁液流失率的升高, 保持鱼肉的 pH 值, 延长其冷藏货架期。相关性分析表明, TVB-N 值和汁液流失率与冷藏鱼肉贮藏品质相关性极强。 **结论** 与对照组相比, 保鲜组能将南湾鱼肉的冷藏货架期延长 3~6 d, 为 CS-SeNPs 在保鲜方面的应用提供一定的数据支撑。

关键词: 壳聚糖; 纳米硒; 南湾鱼肉; 响应面; 保鲜

中图分类号: TB484; TS206.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-3563(2025)07-0133-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2025.07.016

Preparation of Chitosan Nano-selenium and Its Effect on Quality of Cold-stored South Bay Fish

WANG Qing^{1,2}, ZHOU Zhou^{1,2}, LEI Lei^{1,2}, SUN He^{1,2}, ZHAO Shuhua^{1,2}, LI Jianfang^{1,2},
ZHU Jing^{1,2}, YANG Lingling^{1,2}, LIU Tao^{1,2*}

(1. College of Food Science and Engineering, Xinyang Agriculture and Forestry University, Henan Xinyang 464000, China; 2. Xinyang Key Laboratory of Healthy Food Development and Nutrition Regulation, Henan Xinyang 464000, China)

ABSTRACT: The work aims to prepare Chitosan nano-selenium (CS-SeNPs) and apply it in the cold storage of South Bay fish to prolong its shelf life. CS-SeNPs was prepared by chemical reduction of sodium selenite with ascorbic acid using chitosan as stabilizer and dispersant. A single factor test was conducted with the concentration of chitosan, the molar ratio of sodium selenite to ascorbate (Vc/Na_2SeO_3), reaction temperature and reaction time as factors. On the basis of the

收稿日期: 2024-11-25

基金项目: 河南省科技攻关项目 (232102230071, 242102110090, 242102110112); 河南省高等学校重点科研项目 (23B550006, 24B550017, 24B180016); 信阳农林学院高水平科研孵化器建设基金 (FCL202110); 信阳农林学院青年骨干教师培养项目; 信阳农林学院青年教师科研基金项目 (QN2022030)

*通信作者

test, the stability of CS-SeNPs was taken as the response value, and the concentration of chitosan, Vc/Na_2SeO_3 and reaction temperature were selected as the objects of investigation. The optimum preparation process of CS-SeNPs was obtained by response surface optimization test. CS-SeNPs was applied to the preservation of South Bay fish and its preservation effect was investigated. The optimum process parameters of CS-SeNPs were as follows: the concentration of chitosan was 20 g/L, the reaction temperature was 40 °C, the molar ratio of Vc/Na_2SeO_3 was 4:1, and the A_{410}/A_{490} was 2.176 ± 0.008 . Compared with the control group, CS-SeNPs after treatment had a better fresh-keeping effect, which could delay the increase of lipid oxidation, the total number of colonies, the total volatile base nitrogen value and the SAP loss rate during fish storage, maintain the pH value of fish and extend the shelf life of fish in cold storage. The correlation analysis showed that the value of TVB-N and the rate of juice loss were highly correlated with the storage quality of frozen fish. Compared with the control group, the refrigerated shelf life of South Bay fish can be extended by 3-6 days in the treatment group, which provides certain data support for the application of CS-SeNPs in preservation.

KEY WORDS: chitosan; nano-selenium; South Bay fish; response surface; preservation

南湾鱼产自河南省信阳市南湾湖, 肉质细嫩肥美, 富含蛋白质、维生素以及被誉为“抗癌之王”的硒(含量比普通鱼类高 3~5 倍), 是河南十大特色农产品, 年产量 1 800 万 t^[1], 目前主要用于鲜售和加工。南湾鱼易腐败且容易受微生物污染, 鱼肉的保鲜是信阳渔业发展一直面临的挑战, 因此开发有效的保鲜手段对保障南湾鱼品质和延长货架期至关重要。

壳聚糖(Chitosan, CS)由甲壳素脱乙酰制得, 因价廉、安全、无毒、生物相容性好, 被用作食品包装材料^[2]。但 CS 透湿、透氧率高, 涂膜的强度和韧性不足, 随着贮藏时间的延长, 对微生物的抵抗能力减弱^[3]。加入纳米材料可改善 CS 的结构, 增强其强度和韧性, 提升适用性。纳米硒(Selenium Nanoparticles, SeNPs)具有良好的生物利用度和低毒性, 生物安全性^[4]高, 不仅可以作为高效的抗氧化剂, 还可以用于抗菌、治疗药物、功能性包装材料, 具有广泛的应用前景^[5]。由于 SeNPs 容易发生聚集和沉淀现象, 影响其性质和应用, 常采用一些多糖作为表面修饰剂来提高稳定性^[6]。研究表明, SeNPs 可以通过氢键与 CS 中的—NH₂ 和—OH 相互作用, 提高其分散性和延展性。CS 与 SeNPs 复合具有良好的抗菌活性与抗氧化活性, 能够延长食品的货架期^[7-9], 但利用 CS 对 SeNPs 进行修饰并应用于鱼肉保鲜的研究鲜有报道。

基于此, 本文以 CS 为基材, 采用化学还原法制备壳聚糖纳米硒(CS-SeNPs), 通过研究它在南湾鱼肉保鲜上的应用, 旨在探索一种新型的生物可降解纳米复合材料, 并将其应用于南湾鱼肉的保鲜, 以延长货架期, 同时提高产品的安全性和营养价值。

1 试验

1.1 原料与仪器

主要原料: 鲜活南湾鱼(体长 72 cm $\pm$ 3 cm, 质量 4 000 g $\pm$ 260 g), 信阳三桥金润超市; 壳聚糖(分

子量 500 ku, 脱乙酰度 $\geq 95\%$)、硫代巴比妥酸、溴甲酚绿, 上海源叶生物科技有限公司; 抗坏血酸, 湖南比克曼生物科技有限公司; 亚硒酸钠、盐酸, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 三氯乙酸、冰乙酸, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 硼酸, 郑州派尼化学试剂厂; 甲基红, 天津市化学试剂研究所有限公司; 以上均为国产分析纯。

主要仪器: CP214 电子天平, 奥豪斯仪器(上海)有限公司; A390 紫外可见分光光度计, 翱艺仪器(上海)有限公司; HMD-1000 半微量定氮仪, 常州荣华仪器制造有限公司; 310P-01A pH 计, 美国赛默飞世尔科技公司; LDZM-80L-III 高压蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; JW-2016H 离心机, 安徽嘉文仪器装备有限公司; DPH-260 恒温培养箱, 上海梅香仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 CS-SeNPs 的制备

参考徐颖等^[10]方法略作改动, 将一定量的 CS 放入锥形瓶, 加入 1% 的冰乙酸溶液, 在恒温磁力搅拌器上搅拌, 使 CS 充分溶解。将锥形瓶置于水浴磁力搅拌器, 加入浓度为 20 mmol/L 的亚硒酸钠溶液, 再缓慢滴入一定量的抗坏血酸溶液(60 mmol/L), 混合均匀后搅拌至颜色稳定不再发生改变。反应结束后, 将制得的稳定性最佳的 CS-SeNPs 溶液置于截留分子量 3 500 Da 的透析袋内, 在蒸馏水中透析 72 h, 以去除过量的抗坏血酸, 透析完成后应用于南湾鱼肉的保鲜。

1.2.2 双波长比色法

根据胶体溶液的双波长比色法^[11]确定 SeNPs 的最佳制备条件, 以纯净去离子水为参比, 测量样品溶液在 410 和 490 nm 波长下的吸光度, 计算其比值 A_{410}/A_{490} , 比值越大, SeNPs 的粒径越小, 稳定性越高。

1.2.3 单因素试验

以 A_{410}/A_{490} 为优化指标, 分别考察 CS 浓度(10、

15、20、25、30 g/L)、亚硒酸钠和抗坏血酸摩尔比 (Vc/Na₂SeO₃, 3:1、4:1、5:1、6:1、7:1)、反应温度 (30、40、50、60、70 °C)、反应时间 (30、40、50、60、70 min) 对 CS-SeNPs 稳定性的影响。

1.2.4 响应面设计试验

基于单因素试验结果, 通过显著性分析确定 3 个影响最大的因素, 选择反应温度、CS 浓度、Vc/Na₂SeO₃ 进行响应面试验, 以 CS-SeNPs 的稳定性作为响应值, 优化制备条件。试验因素水平见表 1。

表 1 响应面试验因素水平
Tab.1 Factors and levels of response surface test

水平	因素		
	CS 浓度/(g·L ⁻¹)	Vc/Na ₂ SeO ₃	反应温度/°C
-1	15	3:1	30
0	20	4:1	40
1	25	5:1	50

1.2.5 南湾鱼肉样品的处理

宰杀新鲜南湾鳊鱼, 去头、去鳞、去内脏, 先用预先冷却的无菌蒸馏水清洗干净, 然后将鱼背上的白色肌肉切成 4 cm×3 cm×1.5 cm 的小块备用。分别采用无菌水 (对照组)、CS-SeNPs (保鲜组) 浸泡 2 h, 沥水 3 min, 装入无菌自封袋, 贮藏在(4±1)°C 的冰箱内, 于第 0、1、3、6、9 天测定 pH 值、TBA 值等理化指标及菌落总数。

1.2.6 pH 值的测定

参考 GB 5009.237—2016 《食品安全国家标准 食品 pH 值的测定》^[12] 中的方法, 测定鱼肉的 pH 值。

1.2.7 菌落总数的测定

参考 GB 4789.2—2022 《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》^[13] 中的方法, 测定鱼肉的菌落总数。

1.2.8 硫代巴比妥酸 (TBA) 值的测定

参考 GB 5009.181—2016 《食品安全国家标准 食品中丙二醛的测定》^[14] 中的方法略作改动, 测定鱼肉的 TBA 值。称取 10 g 南湾鱼肉, 用无菌剪刀剪碎后置于 100 mL 具塞三角瓶, 加入 50 mL 质量分数为 7.5% 的三氯乙酸后摇匀。50 °C 恒温水浴锅中水浴 30 min, 充分振荡后用双层滤纸片滤出, 吸管吸取 25 mL 上清液至 50 mL 容量瓶, 再加入 0.02 mol/L 的 TBA 溶液, 搅拌均匀后, 在 90 °C 的水浴中加热 40 min, 冷却至室温。取上层溶液样本, 在 532 nm 的特定波长下精确测定其吸光度值, 以此作为稳定性评估的关键参数。TBA 含量的计算见式 (1)。

$$W_{TBA} = \frac{A_{532}}{m} \times 9.48$$

(1)

式中: A₅₃₂ 为上清液在 532 nm 下的吸光度; m 为鱼肉样品质量; 9.48 为恒定常数。

1.2.9 总挥发性盐基氮 (TVB-N) 值的测定

参考 GB 5009.228—2016 《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》中的半微量定氮法测定南湾鱼肉中 TVB-N 含量^[15]。取 10 g 鱼肉样品, 绞碎搅匀, 按照半微量定氮法进行加样、蒸馏、滴定等过程。将甲基红乙醇溶液与溴甲酚绿乙醇溶液按照 1:5 的体积比混合制成指示剂, 滴定终点颜色为紫红色。

1.2.10 汁液流失率的测定

用滤纸包裹 5 g 鱼肉样品, 3 500 r/min 离心 15 min 后, 准确称量离心后的样品质量^[16], 计算汁液流失率, 见式 (2)。

$$R = \left(1 - \frac{m_0 - m_1}{m_0} \right) \times 100\%$$

(2)

式中: m₀ 为离心前南湾鱼肉的质量, g; m₁ 为离心后南湾鱼肉的质量, g。

1.2.11 鱼肉硒含量测定

1.2.11.1 标准曲线的绘制

参考温启华等^[17] 的方法略作改动, 用 Na₂SeO₃ 分别配制 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.3 μg/mL 不同浓度的硒标准溶液 25 mL, 分别加入 2 mL 的 EDTA-2Na 溶液 (10 g/L), 用 1 mol/L 的盐酸调节 pH 值, 然后加入 2.5 mL 邻苯二胺 (10 g/L) 在暗处反应 40 min, 再加入 10 mL 甲苯, 振荡萃取 5 min 后取上层甲苯层, 在波长 334 nm 处测定吸光度值。以硒的质量浓度为横坐标 x, 吸光度值为纵坐标 y 绘制标准曲线, 并建立回归方程 y=0.293x+0.019, 其中相关系数 R²=0.999。吸光度值和硒浓度呈现良好的线性关系, 表明标准曲线真实可靠。

1.2.11.2 硒含量测定

取 5 g 剪碎的样品鱼肉置于小烧杯, 加入 10 mL 浓硝酸、4 mL 高氯酸, 常温放置 20 h, 在电热炉上加热消化。等溶液消化至 10 mL 左右, 加入 10 mL 盐酸 (4 mol/L), 加热消化至溶液为 10 mL 左右, 冷却移至 25 mL 容量瓶定容。按照硒含量标准曲线的测定方法得到吸光度, 并代入标准曲线计算硒含量。硒含量的计算见式 (3)。

$$N = \frac{c \times V}{m}$$

(3)

式中: c 为根据吸光度值计算的硒质量浓度, μg/mL; V 为消化液定容体积, mL; m 为样品质量, g。

1.3 数据统计与分析

采用 Origin 2021 进行绘图, 采用 SPSS 20.0 进行

极差和方差分析,采用 Design-Expert 8.0.6 进行响应面分析,通过 IBM SPSS Statistics 27 软件中的皮尔逊相关性分析,对指标进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 CS-SeNPs 制备的单因素试验

2.1.1 不同 CS 浓度对 CS-SeNPs 溶液稳定性的影响

由图 1a 可知,CS 浓度增加时, A_{410}/A_{490} 先升后降,10 mg/mL 时达到最大值 2.098 ± 0.001 ,表明适量 CS 能够提升 SeNPs 的稳定性,这归因于多糖中的羟基与 SeNPs 的氢键结合,阻止了 SeNPs 的聚集。但 CS 浓度过高会导致多糖分子出现显著的聚集现象,游离羟基减少,影响吸附效率^[18]。因此,选择 15、20、25 g/L 作为响应面试验的 CS 浓度。

2.1.2 不同反应时间对 CS-SeNPs 溶液稳定性的影响

由图 1b 可知,CS-SeNPs 溶液 A_{410}/A_{490} 随反应时间的延长先升后降,反应时间为 50 min 时, A_{410}/A_{490} 达到最大值。这可能是因为随着反应时间的延长,体系中生成的 SeNPs 增多,SeNPs 的粒径减小^[19]。当反

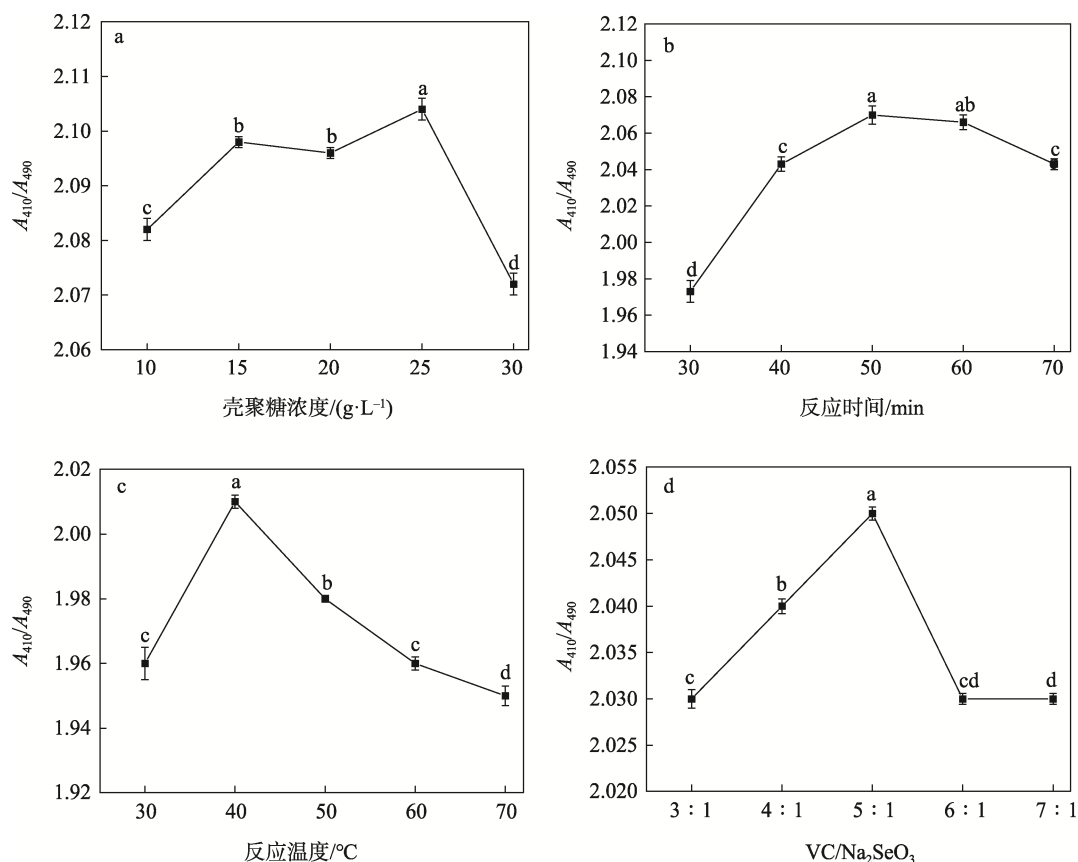
应时间>50 min 时, A_{410}/A_{490} 开始下降,SeNPs 的粒径增大。反应时间越长,SeNPs 聚集越明显,导致粒径增大,因此选择 50 min 作为最佳反应时间。

2.1.3 不同反应温度对 CS-SeNPs 溶液稳定性的影响

由图 1c 可知, A_{410}/A_{490} 随着反应温度的升高先升后降,当反应温度为 40 °C 时, A_{410}/A_{490} 达到最大值 2.012,随后显著减小 ($P<0.05$)。反应后烧杯壁有少量红色物质聚集,这可能是由于高温导致纳米颗粒剧烈运动,颗粒碰撞后不断聚集,使得粒径增大, A_{410}/A_{490} 减小^[20]。因此,选择 40 °C 作为制备 CS-SeNPs 的最佳反应温度。

2.1.4 不同 Vc/ Na_2SeO_3 对 CS-SeNPs 溶液稳定性的影响

由图 1d 可知, A_{410}/A_{490} 随着 Vc/ Na_2SeO_3 的增大而上升,当摩尔比达到 5:1 时 A_{410}/A_{490} 达到最大,随后呈现下降趋势。这可能是因为随着 Vc/ Na_2SeO_3 的增大,亚硒酸钠不断参与反应,比值为 5:1 时得到完全反应,而过多 SeNPs 的生成造成聚集现象,使得 A_{410}/A_{490} 减小。因此,选择 Vc/ Na_2SeO_3 为 5:1 作为最佳比例。



注:不同小写字母表示组内差异显著 ($P<0.05$)

图1 CS 浓度 (a)、反应时间 (b)、反应温度 (c)、Vc/ Na_2SeO_3 (d) 对 CS-SeNPs 稳定性的影响
Fig.1 Effects of CS concentration (a), reaction time (b), reaction temperature (c), Vc/ Na_2SeO_3 (d) on stability of CS-SeNPs

2.2 响应面优化试验结果分析

基于单因素的试验结果进行方差分析, 得出 F 值排序为反应温度>CS 浓度> Vc/Na_2SeO_3 >反应时间, 因此选择 CS 浓度 (A)、反应温度 (B)、 Vc/Na_2SeO_3 (C) 为主要因素, 通过三因素三水平的响应面试验继续优化 CS-SeNPs 的制备工艺, 试验结果见表 2, 方差分析结果见表 3。

使用 Design-Expert 8.0.6 软件分析 3 个因素对 CS-SeNPs 稳定性的影响, 通过 A_{410}/A_{490} (Y) 得到二次回归方程为

$$Y=2.18+0.024A-0.014B+0.049C-0.097AB-0.14AC-0.060BC-0.20A^2-0.25B^2-0.24C^2$$

由表 3 可知, 该二次多项式回归模型极显著 ($P<0.000\ 1$), 失拟项不显著 ($P=0.808\ 3$), 说明该模型拟合效果好, 可用于 CS-SeNPs 稳定性的预测。回归模型中一次项 C 与二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 为极显著 ($P<0.01$), 对 A_{410}/A_{490} 影响极显著, 交互项 AB 、 AC 为极显著 ($P<0.01$), 说明 CS 浓度与反应温度、CS 浓度与 Vc/Na_2SeO_3 之间的交互作用对 A_{410}/A_{490} 影响极显著, 各因素对 A_{410}/A_{490} 的影响依次为 Vc/Na_2SeO_3 >CS 浓度>反应温度。通过软件分析得到 CS-SeNPs 的最佳工艺参数如下: CS 浓度为 20.19 g/L, 反应温度为 39.53 $^{\circ}C$, Vc/Na_2SeO_3 为 4.10:1, 此时 A_{410}/A_{490} 的理论值为 2.185 93。为验证模型预测结果, 且便于试验, 实际设置 CS 浓度为 20 g/L, 反应温度为 40 $^{\circ}C$, Vc/Na_2SeO_3 为 4:1 进行 CS-SeNPs 稳定性的验证试验, 在此条件下制备的 CS-SeNPs 吸光度值

为 $2.176\pm0.008\ 2$, 与预测值 (2.185 93) 极为接近, 说明模型可靠, 可使用该条件制备 CS-SeNPs 进行后续试验。

表 2 响应面分析方案及试验结果
Tab.2 Response-surface analysis and test result

$A/(g\cdot L^{-1})$	$B/^{\circ}C$	C	Y
15	30	4	1.629
25	30	4	1.864
15	50	4	1.796
25	50	4	1.643
15	40	3	1.532
25	40	3	1.875
15	40	5	1.884
25	40	5	1.654
20	30	3	1.584
20	50	3	1.676
20	30	5	1.835
20	50	5	1.685
20	40	4	2.225
20	40	4	2.201
20	40	4	2.224
20	40	4	2.137
20	40	4	2.127

表 3 稳定性方差分析
Tab.3 Analysis of variance for stability

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	0.92	9	0.10	63.43	<0.000 1	**
A	4.753×10^{-3}	1	4.753×10^{-3}	2.96	0.128 8	
B	1.568×10^{-3}	1	1.568×10^{-3}	0.98	0.355 6	
C	0.019	1	0.019	11.92	0.010 7	**
AB	0.038	1	0.038	23.47	0.001 9	**
AC	0.082	1	0.082	51.20	0.000 2	**
BC	0.015	1	0.015	9.13	0.019 3	
A^2	0.18	1	0.18	109.59	<0.000 1	**
B^2	0.25	1	0.23	158.31	<0.000 1	**
C^2	0.25	1	0.23	154.15	<0.000 1	**
残差	0.011	7	1.603×10^{-3}			
失拟项	2.202×10^{-3}	3	7.341×10^{-3}	0.33	0.808 3	
纯误差	9.021×10^{-4}	4	2.255×10^{-3}			
总和	0.93	16				
$R^2=0.987\ 9$				$R^2_{Adj}=0.972\ 3$		

注: **表示差异极显著 ($P<0.01$)。

2.3 CS-SeNPs 溶液对冷藏南湾鱼肉品质的影响

2.3.1 pH 值

由图 2a 可知,贮藏中鱼肉的 pH 值先降后升。贮藏 1 d 时,对照组与保鲜组的 pH 值均下降,这可能与南湾鱼肉内源酶和微生物作用、厌氧糖酵解及 ATP 降解产生的乳酸和磷酸有关^[21],1 d 后 2 组 pH 值均显著上升。从第 3 天起,保鲜组鱼肉的 pH 值显著低于对照组 ($P<0.05$)。保鲜组初期 pH 值略高,但贮藏 1 d 后显著低于对照组 ($P<0.05$),这可能是由于 CS-SeNPs 处理后使得 pH 值暂时上升。2 组 pH 值均随时间延长而上升,但保鲜组上升较缓,表明 CS-SeNPs 能够有效抑制内源酶活性和微生物活动,延缓鱼肉腐败。

2.3.2 TVC 值

由图 2b 可知,随着贮藏时间的延长,对照组与保鲜组样品中的菌落总数均不断增加。贮藏 6 d 后,对照组的菌落总数为 4.71 lg CFU/g;贮藏 9 d 后,对照组的菌落总数接近 6 lg CFU/g,当菌落总数超过 6 lg CFU/g 时,即认为水产品腐败变质^[22]。保鲜组的菌落总数在第 9 天时为 4.62 lg CFU/g,显著低于对照组。贮藏前 3 d,对照组与保鲜组鱼肉的菌落总数无显著差异 ($P>0.05$),随着贮藏时间的延长,对照组的菌落总数显著高于保鲜组 ($P<0.05$),且微生物

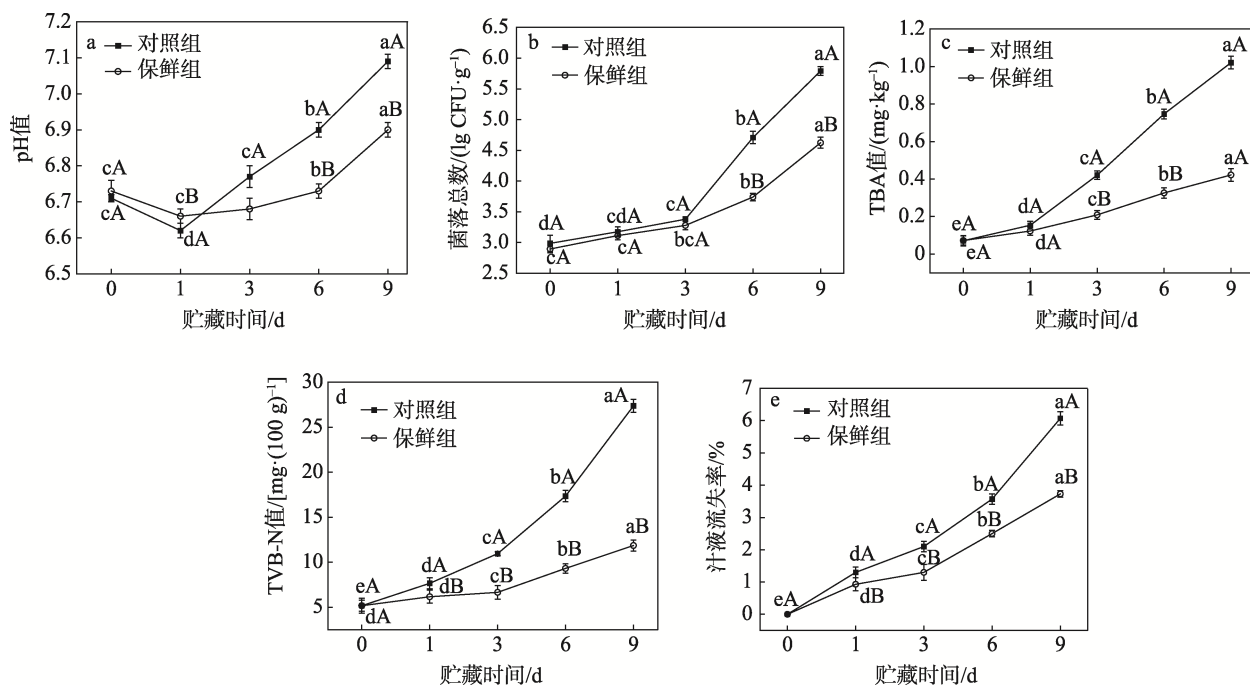
的增长速度也高于保鲜组,说明 CS-SeNPs 对抑制南湾鱼肉冷藏过程中的微生物滋生有显著效果。

2.3.3 TBA 值

由图 2c 可知,随着贮藏时间的延长,各组样品中的 TBA 值均呈现上升趋势。对照组的 TBA 值从初期的 0.071 mg/kg 上升至第 9 天的 1.02 mg/kg,而保鲜组的 TBA 值从初期的 0.072 mg/kg 上升至第 9 天的 0.43 mg/kg。贮藏 1 d 时,2 组样品无显著差异 ($P>0.05$),随着贮藏时间的延长,保鲜组的 TBA 值显著高于对照组 ($P<0.05$)。由于 CS-SeNPs 抑制了南湾鱼肉中油脂的微生物氧化,且 CS 具有较好的抗氧化特性,因此 CS-SeNPs 对延缓南湾鱼肉质氧化具有良好的效果。

2.3.4 TVB-N 值

由图 2d 可知,TVB-N 值随着贮藏时间的延长不断增加。在整个贮藏期间,对照组鱼肉的 TVB-N 值均显著高于保鲜组 ($P<0.05$),且增长速度高于保鲜组。对照组第 9 天的 TVB-N 值为 27.37 mg/100 g,已超过 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》规定的 20 mg/100 g 的限值。保鲜组第 9 天的 TVB-N 值为 11.85 mg/100 g,符合标准规定的含量,说明经 CS-SeNPs 处理可以延长南湾鱼肉的贮藏期,这与 Liu 等^[23]采用 CS 涂膜增加凡纳滨虾的货架期研究结果相似。



注:不同小写字母表示组内差异显著 ($P<0.05$);不同大写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)

图2 冷藏南湾鱼肉的 pH 值 (a)、菌落总数 (b)、TBA 值 (c)、TVB-N 值 (d)、

汁液流失率 (e) 随贮藏时间的变化

Fig.2 Changes of pH value (a), total number of colonies (b), TBA value (c), TVB-N value (d) and juice loss rate (e) of cold-stored South Bay fish

2.3.5 汁液流失率

由图 2e 可知, 在整个贮藏过程中, 对照组与保鲜组南湾鱼肉的汁液流失率均呈持续上升趋势, 但保鲜组均显著低于对照组 ($P<0.05$), 说明 CS-SeNPs 对南湾鱼肉的组织影响较小。在贮藏末期, 保鲜组南湾鱼肉的汁液流失率相较于对照组低 3.04%, 这可能是因为保鲜液能够抑制微生物生长, 减缓肌肉组织分解和蛋白质变性, 保持肌肉组织的致密性, 减少汁液流失^[24]。

2.4 贮藏 9 d 后鱼肉硒含量

由于 CS-SeNPs 溶液直接与鱼肉接触, 溶液中的硒会迁移到鱼肉中, 而硒摄入量过高会对人体健康产生不良影响, 因此需要测定贮藏一段时间鱼肉中的硒含量。贮藏 9 d 后, 鱼肉中硒含量为 2.34 $\mu\text{g/g}$ 。根据《中国居民膳食营养素参考摄入量》的规定, 成年人硒的平均需要量为 50 $\mu\text{g/d}$, 推荐摄入量为 60 $\mu\text{g/d}$ ^[25], 本试验中经 CS-SeNPs 处理的南湾鱼肉贮藏 9 d 后的硒含量远小于日摄入量, 说明 CS-SeNPs 不会对鱼肉的食用安全问题产生不良影响。

2.5 指标间的相关性分析

选取 0~9 d CS-SeNPs 处理后贮藏期间的测定数据, 采用 IBM SPSS Statistics 27 软件中的皮尔逊相关性分析, 对冷藏南湾鱼肉的 5 个指标进行显著性检验。由表 4 可知, pH 值与菌落总数呈显著正相关 ($P<0.05$), 与其他指标的相关性不显著; 菌落总数与 TBA 值呈显著正相关 ($P<0.05$), 与 TVB-N 值、汁液流失率呈极显著正相关 ($P<0.01$); TBA 值与 TVB-N 值、汁液流失率呈极显著正相关 ($P<0.01$); TVB-N 值与汁液流失率呈极显著正相关 ($P<0.01$)。综上所述, CS-SeNPs 处理后冷藏南湾鱼肉的菌落总数、TBA 值、TVB-N 值和汁液流失率与鱼肉的贮藏品质具有相关性, 其中 TVB-N 值和汁液流失率与鱼肉贮藏品质的相关性较强, 说明上述指标的变化均能影响南湾鱼肉贮藏期间的保鲜效果。

表 4 冷藏南湾鱼肉贮藏期间各指标的相关性分析
Tab.4 Correlation analysis of each index of cold-stored South Bay fish

相关指标	pH 值	菌落总数	TBA 值	TVB-N 值	汁液流失率
pH 值	1				
菌落总数	0.936*	1			
TBA 值	0.805	0.955*	1		
TVB-N 值	0.876	0.987**	0.981**	1	
汁液流失率	0.818	0.968**	0.989**	0.991**	1

注: *表示在 0.05 级别相关性显著; **表示在 0.01 级别相关性显著。

3 结语

通过单因素试验和响应面试验对 CS-SeNPs 的制备条件进行优化, 并将其应用于南湾鱼的保鲜, 考察 CS-SeNPs 对南湾鱼的保鲜效果。结果表明, CS 浓度为 20 g/L, 反应温度为 40 $^{\circ}\text{C}$, Vc/ Na_2SeO_3 为 4:1, 在此条件下制备的 CS-SeNPs 稳定性最好。将南湾鱼肉经过 CS-SeNPs 浸渍后进行贮藏保鲜试验, 在鱼肉贮藏期间, 相较于未进行任何处理的对照组, 经 CS-SeNPs 处理后, 能够有效抑制鱼肉中微生物的生长繁殖、脂质氧化和腐败变质, 延缓鱼肉的汁液流失、TVB-N 值与 TBA 值的上升。CS-SeNPs 处理对贮藏期间南湾鱼肉的 pH 值、TBA 值、TVB-N 值、汁液流失率等方面都具有良好的减缓效果, 说明 CS-SeNPs 能够有效提升南湾鱼肉的保鲜效果, 可以延长 3~6 d 的货架期, 且不会影响鱼肉的食用安全。贮藏期间各指标的相关性表明, 5 个指标的变化均能影响南湾鱼肉的保鲜效果, 其中 TVB-N 值和汁液流失率与鱼肉的贮藏品质相关性较强。本研究为新鲜南湾鱼在贮藏期间保持产品的良好品质提供有效的保鲜方案, 后续将增加硒迁移方面的研究, 并对单独使用 CS、CS 与 CS-SeNPs 结合应用于鱼肉保鲜方面的差异性和结构表征进行深入研究。

参考文献:

[1] 王琴, 马凌云, 赵亮. 南湾鲮鱼肌肉氨基酸组成及营养分析[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(2): 131-133.
WANG Q, MA L Y, ZHAO L. Analysis of the Contents of Amino Acids and Nutrition in Muscle of South Bay Bighead Carp[J]. Food Research and Development, 2015, 36(2): 131-133.

[2] 常晶, 李晨辉, 刘尊英, 等. 明胶-壳聚糖-迷迭香提取物复合膜对冷藏鲟鱼品质的影响[J]. 包装工程, 2019, 40(13): 52-57.
CHANG J, LI C H, LIU Z Y, et al. Effect of Gelatin-Chitosan-Rosemary Composite Film on Frozen Sturgeon Quality during Cold Storage[J]. Packaging Engineering, 2019, 40(13): 52-57.

[3] 雷亮. 羧甲基壳聚糖活性膜的制备和表征及其炸虾贮藏中的应用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2021.
LEI L. Preparation and Characterization of Carboxymethyl Chitosan Active Film and Its Application in Fried Shrimp Storage[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2021.

[4] SAYARI N, SILA A, ABDELMALEK B E, et al. Chitin and Chitosan from the Norway Lobster by-Products: Antimicrobial and Anti-Proliferative Activities[J]. In-

- ternational Journal of Biological Macromolecules, 2016, 87: 163-171.
- [5] 李霞, 高恒芳, 白皙, 等. 葡萄皮渣多酚-壳聚糖复合可食膜的性能及应用[J]. 包装与食品机械, 2024, 42(2): 26-34.
- LI X, GAO H F, BAI X, et al. Properties and Application of Grape Pomace Polyphenol-Chitosan Composite Edible Film[J]. Packaging and Food Machinery, 2024, 42 (2): 26-34.
- [6] EMAMIFAR A, BAVAISI S. Nanocomposite Coating Based on Sodium Alginate and Nano-ZnO for Extending the Storage Life of Fresh Strawberries (*Fragaria × ananassa Duch.*)[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020, 14(2): 1012-1024.
- [7] DÍAZ-VISURRAGA J, MELÉNDREZ M F, GARCÍA A, et al. Semitransparent Chitosan-TiO₂ Nanotubes Composite Film for Food Package Applications[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2010, 116(6): 3503-3515.
- [8] HUONG Q T T, NAM N H, DUY B T, et al. Structurally Natural Chitosan Films Decorated with Andrographis Paniculata Extract and Selenium Nanoparticles: Properties and Strawberry Preservation[J]. Food Bioscience, 2023, 53: 102647.
- [9] LIU Y P, REN G, ZHAO X T, et al. Selenium-Chitosan Treatment Affects Amino Acid Content and Volatile Components of Red Globe Grape during Storage[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2023, 2023(1): 3848092.
- [10] 徐颖, 康佳敏, 魏宁果. 多糖-纳米硒复合物的合成方法、稳定性及生物活性研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(8): 119-127.
- XU Y, KANG J M, WEI N G. Study Progress on the Synthesis, Stability and Biological Activity of Polysaccharide-Nano-Selenium Complex[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2023, 14 (8): 119-127.
- [11] 王红艳, 张胜义, 郜洪文, 等. 羧甲基纤维素钠模板法制备纳米硒[J]. 功能材料, 2004, 35(2): 259-261.
- WANG H Y, ZHANG S Y, GAO H W, et al. Synthesis of Selenium Nanoparticles by Sodium Carboxymethyl Cellulose Template[J]. Journal of Functional Materials, 2004, 35(2): 259-261.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品 pH 值的测定: GB 5009.237—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission, People's Republic of China. Determination of pH Value of Food in National Food Safety Standard: GB 5009.237-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [13] 国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2—2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.
- National Health Commission, State Administration for Market Regulation. National Food Safety Standard Food Microbiological Inspection Determination of Total Bacterial Colony: GB 4789.2-2022[S]. Beijing: Standards Press of China, 2022.
- [14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中丙二醛的测定: GB 5009.181—2016[S]. 北京: 中国标准质检出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission, People's Republic of China. Determination of Malondialdehyde in Food of National Standard for Food Safety: GB 5009.181-2016[S]. Beijing: China Standard Quality Inspection Press, 2017.
- [15] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定: GB 5009.228—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission, People's Republic of China. Determination of Volatile Base Nitrogen in Food Safety National Standards: GB 5009.228-2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.
- [16] 王悦. 发酵米糠制备 FOs 对鱼糜凝胶特性和鱼肉保鲜影响的研究[D]. 盐城: 盐城工学院, 2023.
- WANG Y. Study on the Effect of FOs Prepared from Fermented Rice Bran on the Gel Properties of Surimi and the Preservation of Fish Meat[D]. Yancheng: Yancheng Institute of Technology, 2023.
- [17] 温启华, 陆逸昊, 杨露芳, 等. 硒化天麻多糖的制备、结构表征及其抗氧化活性评价[J]. 食品工业科技, 2024, 45(3): 18-30.
- WEN Q H, LU Y H, YANG L F, et al. Preparation, Structure Characterization and Antioxidant Activity Evaluation of Selenized Gastrodia Elata Polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(3): 18-30.
- [18] KONG H L, YANG J X, ZHANG Y F, et al. Synthesis and Antioxidant Properties of Gum Arabic-Stabilized Selenium Nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65: 155-162.
- [19] 郑晓凤, 侯丽然, 廉亚楠, 等. 桔梗多糖软模板法制备纳米硒及表征[J]. 广东化工, 2016, 43(16): 25-26.
- ZHENG X F, HOU L R, LIAN Y N, et al. Preparation and Characterization of Nano-Selenium Using Platycodon

- don Grandiflorum Polysaccharides as Soft Template[J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(16): 25-26.
- [20] ZHANG J L, TENG Z, YUAN Y, et al. Development, Physicochemical Characterization and Cytotoxicity of Selenium Nanoparticles Stabilized by Beta-Lactoglobulin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107: 1406-1413.
- [21] 梅佳林. 芳樟醇/聚己内酯抗菌膜的制备及其在三文鱼保鲜中的应用研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2021.
- MEI J L. Preparation of Linalool/Polycaprolactone Antibacterial Membrane and Its Application in Salmon Preservation[D]. Jinzhou: Bohai University, 2021.
- [22] FIDALGO L G, LEMOS Á T, DELGADILLO I, et al. Microbial and Physicochemical Evolution during Hyperbaric Storage at Room Temperature of Fresh Atlantic Salmon (*Salmo Salar*)[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2018, 45: 264-272.
- [23] LIU X L, ZHANG C H, LIU S C, et al. Coating White Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) with Edible Fully Deacetylated Chitosan Incorporated with Clove Essential Oil and Kojic Acid Improves Preservation during Cold Storage[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 1276-1282.
- [24] GAO N, WANG X X, TIAN J J, et al. Chitosan/Nanoclusters Membrane-Based Sensors with Antibacterial Properties for Rapid Detection of Bacterial Viability and Food Preservation[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 154: 110144.
- [25] 蒋黎艳, 李琳, 李佳灵, 等. 不同产地沙田柚籽油组成及风味特征差异的分析[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(7): 130-139.
- JIANG L Y, LI L, LI J L, et al. Analysis of Composition and Flavor Characteristics of Citrus Grandis Seed Oil from Different Regions[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(7): 130-139.