

研究报告

食盐水浸泡法去除对虾干中亚硝酸盐的实验研究

潘华英¹, 张建云¹, 丁建强²

(1. 苏州卫生职业技术学院, 江苏 苏州 215009; 2. 苏州大学应用技术学院, 江苏 苏州 215325)

摘要:目的 建立食盐水浸泡处理去除海产品(对虾干)中亚硝酸盐的最佳方案。方法 采用分光光度法测定亚硝酸盐含量,通过正交试验法研究浸泡盐水的质量浓度、用量、温度和时间与去除亚硝酸盐效果的影响关系。结果 每10 g对虾干加入100 ml质量浓度为9 g/L的生理盐水,在常温或低温下浸泡20 min对去除其亚硝酸盐有较好的效果。结论 食盐水浸泡处理能有效去除对虾干中亚硝酸盐,其中食盐水质量浓度和用量是影响去除亚硝酸盐的主要因素。

关键词:海产品;亚硝酸盐;正交试验;食盐水浸泡处理

中图分类号:R155.5;TS254.7 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)06-0533-04

Study on elimination of nitrite in dried prawns with saline immersion method

Pan Huaying, Zhang Jianyun, Ding Jianqiang

(Suzhou Health College, Jiangsu Suzhou 215009, China)

Abstract: **Objective** Developing an optimized method to remove nitrite in marine products (dried prawns) by saline immersion treatment. **Methods** After the determination of nitrite content by spectrophotometric, the effect of nitrite reduction was studied through orthogonal testing method, and factors including concentration, amount, temperature and immersion time of saline were tested. **Results** The optimized condition for nitrite reduction is 10.00 g of dried prawns in 100 ml of 0.9 g/L saline, 20 min immersion at room temperature or below. **Conclusion** The experiment indicated that saline immersion treatment was effective for nitrite reduction, the concentration and amount of saline were the primary factors.

Key words: Marine products; nitrite; orthogonal test; saline immersion treatment

海产品中的硝酸盐在细菌或酶的作用下会形成亚硝酸盐。一些存储时间较长、有腐蚀变质倾向以及本身肉质成份较多的海产品(如对虾干、凤尾鱼干等)其亚硝酸盐含量相对较高^[1],甚至超过食品安全国家标准中鱼肉类的限量指标(3 mg/kg)^[2]。

人们利用一些天然食物(如洋葱、大蒜、萝卜、樱桃汁等)去除亚硝酸盐已作了不少的探索^[3-8],这些方法操作并不简便。食前浸泡处理对去除蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐有一定效果^[9-10],根据民间食用海产品前有使用盐水浸泡的习惯,本研究采用了正交实验法^[11]来验证食盐水浸泡处理对去除海产品(对虾干)亚硝酸盐的作用,分析了盐水质量浓度、用量、浸泡时间和温度对去除亚硝酸盐的影响关系。

1 材料与方法

1.1 样品

根据文献资料,对虾干、凤尾鱼干的亚硝酸盐含量较高^[1],确定从苏州家乐福大型超市分批次选购能持续供货的某水产有限公司的散装对虾干为研究试验样品(每批次样品不小于400 g)。

1.2 试剂与仪器

试剂:对氨基苯磺酸(A.R)、N-1-萘乙二胺盐酸盐、亚铁氰化钾(A.R)、乙酸锌(A.R)、硼砂(A.R)、亚硝酸钠(A.R)、活性炭等。

仪器:SP-723型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)、粉碎机、控温水浴锅等。

1.3 实验方法

1.3.1 样品的前处理

称取若干份10.00 g对虾干,制作直接样品、水洗样品和食盐水浸泡样品,以测定不同方法处理后的对虾干中亚硝酸盐含量。直接样品:仅作粉碎处理后备用,作为对照样品之一,用于计算去除率;水洗样品:先后用100 ml自来水和100 ml蒸馏水各冲洗3遍,然后粉碎备用,作为对照样品之二,用于评

收稿日期:2012-06-17

基金项目:苏州卫生职业技术学院科研课题(szwzy201115)

作者简介:潘华英 女 副教授 研究方向为分析化学应用

E-mail:uupanhy@163.com

价去除效果;食盐水浸泡样品:先放入食盐水溶液中,搅拌后浸泡,取出后用自来水和蒸馏水各冲洗 3 遍,粉碎备用(食盐水浸泡时间、用量和质量浓度根据不同实验确定)。

1.3.2 测定方法

根据国家标准采用分光光度法制备各样品的提取液,测定其吸光度^[12]。为提高数据处理效率,利用数学软件 MATLAB 中的一维插值函数 interp1,建立吸光度 A 与 NO₂⁻ 质量浓度的函数关系,由吸光度 A 快速计算出质量浓度。

1.3.3 数据处理及统计分析

为进一步分析 NO₂⁻ 去除效果,定义去除率计算公式:

去除率 =
$$\frac{\text{对照样品的 NO}_2^- \text{ 含量} - \text{测试样品的 NO}_2^- \text{ 含量}}{\text{对照样品的 NO}_2^- \text{ 含量}}$$

首先测定食盐水浸泡浓度对去除亚硝酸盐的影响。分别取不同质量浓度的食盐水各 200 ml,按浸泡时间为 60 min 制作食盐水浸泡样品,以及对照用的直接样品和水洗样品,在相同环境温度条件下,制备提取液,测定 NO₂⁻ 含量。

为保证数据有效性,先后分 6 个批次进行重复实验,利用 MATLAB 统计工具箱中的 swtest 函数对数据进行夏皮洛-威尔克(Shapiro-Wilk)正态性检验^[13],采用格拉布斯(Grubbs)检验法进行离群值的判断和处理^[14]。经数据有效性验证后,获得浸泡处理后各样品 NO₂⁻ 含量,然后取直接样品为对照样品,按去除率计算公式,求出各测试样品 NO₂⁻ 去除率的平均值、标准偏差及置信区间,浸泡处理后各样品的亚硝酸盐质量浓度和去除率的参数估计及置信区间分别见表 1 和表 2 所示。

表 1 各样品的亚硝酸盐质量浓度
Table 1 The nitrite content of part marine products samples(mg/kg)

批次	对照样品		不同浓度食盐水浸泡的样品(g/L)									
	直接样品	水洗样品	0	4.5	9	18	27	36	45	54	63	72
1	7.194	5.000	1.136	1.000	0.838	0.892	0.919	1.046	1.046	1.046	1.091	1.182
2	6.837	4.640	1.091	1.046	0.892	0.838	0.892	0.946	0.973	0.946	1.046	1.000
3	7.347	4.880	1.227	1.182	0.892	0.919	1.000	1.091	1.136	1.136	1.182	1.182
4	8.163	5.306	1.364	1.364	0.946	0.973	1.136	1.227	1.136	1.182	1.273	1.455
5	7.806	5.051	1.318	1.227	0.838	1.000	1.091	1.227	1.227	1.182	1.318	1.318
6	7.602	4.720	1.227	1.136	0.946	0.946	1.000	1.091	1.136	1.182	1.227	1.364

表 2 浸泡处理后亚硝酸盐去除率的参数估计及置信区间
Table 2 The parameter estimates and confidence intervals for removal rate with saline immersion (α=0.05)

样品	水洗样品的 去除率参数	不同浓度食盐水浸泡样品的去除率参数(g/L)									
		0	4.5	9	18	27	36	45	54	63	72
去除率均值(%)	34.1	83.6	84.6	88.1	87.6	86.6	85.3	85.2	85.2	84.1	83.4
去除率均值的 置信区间(%)	31.3 ~ 36.8	83.2 ~ 84.1	83.5 ~ 85.6	87.2 ~ 88.9	87.3 ~ 87.9	86.1 ~ 87.1	84.6 ~ 86.1	84.5 ~ 85.9	84.5 ~ 85.9	83.5 ~ 84.8	82.1 ~ 84.7
标准差	0.026	0.005	0.010	0.008	0.003	0.005	0.006	0.007	0.007	0.006	0.012
标准差的 置信区间	0.016 ~ 0.064	0.003 ~ 0.011	0.006 ~ 0.024	0.005 ~ 0.020	0.002 ~ 0.007	0.003 ~ 0.012	0.004 ~ 0.016	0.004 ~ 0.017	0.004 ~ 0.016	0.004 ~ 0.016	0.008 ~ 0.030

为进一步寻求确定食盐水浸泡的其他影响因素,采用正交实验法。设浸泡食盐水的 4 个影响因素分别为 A 浓度、B 体积、C 温度和 D 时间,每个因素设置 3 个水平,A 浓度的水平为 0 g/L(蒸馏水)、9 g/L(相当于生理盐水)和 30 g/L(感觉稍咸的盐水);B 体积的水平为 50 ml、100 ml 和 200 ml;C 温度的水平为 0℃(冰水环境)、30℃(室温)和 50℃(恒温水浴锅);D 时间的水平为 10 min、20 min 和 40 min。采用 L9(34)正交表进行实验,正交实验设计表见表 3。另增加 3 个在 0℃、30℃和 50℃环境下水洗样品的实验内容,获取对照数据,实验编号分别设为 10、11 和 12。

取 12 份对虾干为实验样品,每份 10.00 g,按表 3 设计的环境浸泡处理,实验次序按不同温度环境

分 3 批进行(即按实验编号 1、6、8、10;3、5、7、12 和 2、4、9、11)。

制备对照样品和浸泡处理后的样品的提取液,然后测定其吸光度,求出亚硝酸盐含量及去除率。

表 3 食盐水浸泡处理的正交实验设计表
Table 3 Orthogonal test design table of saline immersion

实验编号	A 浓度(g/L)	B 体积(ml)	C 温度(℃)	D 时间(min)
1	0	50	0	10
2	0	100	30	20
3	0	200	50	40
4	9	50	30	40
5	9	100	50	10
6	9	200	0	20
7	30	50	50	20
8	30	100	0	40
9	30	200	30	10

2 结果与数据分析

2.1 食盐水浓度对去除 NO₂⁻ 效果的影响

对浸泡处理后获得的去除率,作两因素(浸泡处理因素和批次区组因素)方差分析^[15](见表4),从中可看出,不同浸泡处理对去除 NO₂⁻ 效果有统计意义,而批次区组因素对统计无意义。说明食盐水浓度对去除 NO₂⁻ 效果有影响,而不同批次的实验环境对去除 NO₂⁻ 效果无明显影响。

表4 亚硝酸盐去除率的两因素方差分析
Table 4 Two-way analysis of variance for nitrite removal rate(α=0.05)

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
处理间	1.448 87	10	0.144 89	1252.06	<0.01
区组间	0.000 3	5	0.000 06	0.52	0.759 1
误差	0.005 79	50	0.000 12		
总变异	1.454 96	65			

2.2 去除亚硝酸盐的因素分析

通过正交实验,以水洗样品作为对照样品(即实验编号为10~12样品),测得 NO₂⁻ 含量分别为4.880、5.051、5.306 mg/kg,由此可计算出实验编号1~9测试样品的去除率(见表5)。

表5 亚硝酸盐去除率实验数据
Table 5 Nitrite removal efficiency of experimental data

实验编号	测试样品吸光度	测试样品 NO ₂ ⁻ 含量	对照样品 NO ₂ ⁻ 含量	去除率(%)
1	0.062	2.107	4.880	56.8
2	0.051	1.636	5.051	67.6
3	0.049	1.546	5.306	70.9
4	0.057	1.909	5.051	62.2
5	0.045	1.364	5.306	74.3
6	0.033	0.892	4.880	81.7
7	0.104	4.120	5.306	22.4
8	0.074	2.536	4.880	48.0
9	0.087	3.000	5.051	40.6

对9个去除率数据进行极差分析和方差分析^[16](见表6)。由于D因素的均方MS最小,故可作为误差平方和SSE,进一步求出各因素的F值和P值。由此可看出因素A浓度和因素B体积的P值<0.05是显著的,是去除亚硝酸盐的主要因素。

表6 亚硝酸盐去除率的极差分析和方差分析
Table 6 Range analysis and variance analysis of nitrite removal rate

因素	A 浓度(g/L)	B 体积(ml)	C 温度(℃)	D 时间(min)
水平1 平均值T1(%)	65.1	47.1	62.2	57.2
水平2 平均值T2(%)	72.7	63.3	56.8	57.2
水平3 平均值T3(%)	37.0	64.4	55.8	60.4
极差R(%)	35.7	17.3	6.4	3.1
离差平方和SS	0.213	0.056	0.007	0.002
自由度DF	2	2	2	2
均方MS	0.106	0.028	0.004	0.001
F 值	107.985	28.533	3.573	1.000
P 值	0.009	0.034	0.219	0.500

分析数据可得相应的效应曲线如图1所示,其中极差R从大到小的因素分别为A浓度、B体积、C温度和D时间,而因素A浓度影响程度比较明显,因素B体积其次。

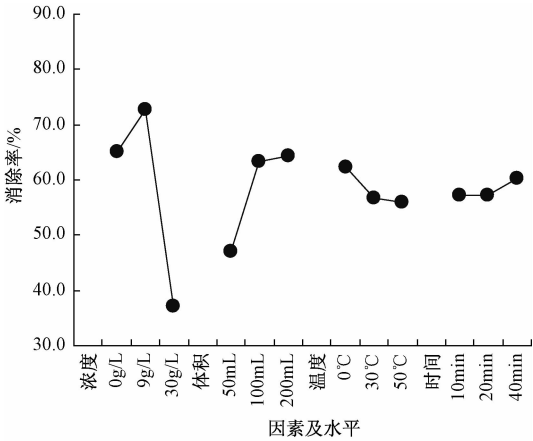


图1 亚硝酸盐去除率的效应曲线
Figure 1 Nitrite removal effect curve

3 讨论

海产品对虾干含有丰富的蛋白质,鲜虾中的含量约18%,而虾干中的含量则超过40%^[17],其中部分亚硝酸盐可能与蛋白质结合在一起。蛋白质在水溶液中的溶解度是由其周围亲水基团与水形成水化膜的程度以及所带电荷情况决定的。蛋白质本身存在两性离子,稀盐水中的少量离子会与蛋白质本身离子起中和作用,破坏其原来的离子键,把基团隔离开来,促进蛋白质的溶解,从而使 NO₂⁻ 溶解度比在水中大。在浓盐水中,溶液内离子浓度过大,水合离子周围吸引了过多的水分子,蛋白质分子周围的水化膜层减弱、消失。同时,蛋白质因离子强度的改变而使表面电荷大量被中和,导致蛋白质溶解度降低,因而使 NO₂⁻ 的溶解度也降低。这种现象与蛋白质的变性和功能性质相吻合^[18]。对虾干中蛋白质的溶解度可能以生理盐水为平衡点,使蛋白质中的 NO₂⁻ 在生理盐水中的溶解度达到最大。实验说明食盐水浸泡处理能有效去除对虾干中亚硝酸盐,使用质量浓度为9 g/L生理盐水浸泡对去除对虾干中亚硝酸盐的效果相对较好,盐水浓度过高效果反而不理想。每10 g对虾干盐水浸泡用量控制在100 ml左右在常温或低温下,浸泡时间在20 min左右有较好的效果,延长浸泡时间对去除效果不明显。

参考文献

[1] 张建业,潘华英.食用海产品中亚硝酸盐含量的分析[J].南京工业大学学报,2011,33(6):107-110.

- [2] 中华人民共和国卫生部. GB2762—2005 食品中污染物限量[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
- [3] 刘世明. 洋葱对亚硝酸盐去除作用的实验研究[J]. 食品工业科技,2004,25(2):81-82.
- [4] 吴文泉,李炳焕,祁建敏. 洋葱去除蔬菜中亚硝酸盐的实验研究[J]. 微量元素与健康研究,2009,26(4):31-32.
- [5] 李炳焕,杨怡,郭佳. 大蒜对亚硝酸盐去除作用的实验研究[J]. 微量元素与健康研究,2007,24(5):27-28.
- [6] 王长祥,毕海燕. 萝卜对亚硝酸盐清除作用的研究[J]. 中国卫生检验杂志,2009,19(2):443,466.
- [7] 王耀荣,吴强,冯翠萍. 蔬菜汁对亚硝酸盐的清除作用研究[J]. 现代农业科技,2010,21:374.
- [8] 王红霞,张稳娣. 樱桃汁去除亚硝酸盐的研究[J]. 安徽农业科学,2009,37(5):1878,1891.
- [9] 黄敏,李静静,余萃,等. 几种食前处理对蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐的去除效果[J]. 食品科学,2011,32(09):82-86.
- [10] 张庆乐,王浩,李瑞,等. 食前处理方式对蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐含量的影响[J]. 中国食品卫生杂志,2008,20(03):267-269.
- [11] 刘文卿. 实验设计[M]. 北京:清华大学出版社,2005:69-104.
- [12] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.33—2010 食品安全国家标准-食品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [13] 国家质量技术监督局. GB T4882—2001 数据的统计处理 and 解释正态性检验[S]. 北京:中国标准出版社,2001.
- [14] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 4883—2008 数据的统计处理 and 解释正态样品离群值的判断和处理[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
- [15] 颜虹. 医学统计学[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:133-139.
- [16] 李发美. 分析化学[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:17-27.
- [17] 杨月欣,王光亚,潘兴昌. 中国食物成分表[M]. 北京:北京大学医学出版社,2009:128-129.
- [18] 王璋. 食品化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999:149-156.

研究报告

非脱羧勒克菌 YT-1107 生理生化特性研究及 16S rRNA 序列分析

伍海燕¹, 李振军², 宋燕¹, 张萍¹, 孙振璐¹, 姜照¹, 金东², 韩文清¹

(1. 烟台市疾病预防控制中心, 山东 烟台 264003; 2. 中国疾病预防控制中心, 北京 100021)

摘要:目的 菌株 YT-1107 是一株从污染食物中分离得到的非脱羧勒克菌, 对其进行生理生化特性研究及 16S rRNA 序列分析确定其归属。方法 根据流行病学调查及临床表现, 选择疑似病原菌, 用 ATB 微生物自动鉴定系统对采集的样品进行病原菌分离与鉴定。对菌株的 16S rRNA 基因测序结果进行同源性分析, 采用 MEGA4.0 软件的 Neighbor-Joining 方法构建系统发育树。结果 对该菌株生理生化特征的研究及 16S rRNA 序列分析表明, 该菌株是革兰阴性菌, 属于 *Enterobacter asburiae*。结论 通过 16S rRNA 基因序列的同源性比对, 系统进化树的构建, 初步认定菌株 YT-1107 与 *Enterobacter asburiae* LF7a 为同一物种。

关键词:非脱羧勒克菌; 鉴定; 16S rRNA; 序列分析; 食品安全

中图分类号:TS207.4;R155.5 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2012)06-0536-03

Physiological and biochemical characteristics of *Leclercia adecarboxylata*

YT-1107 and 16S rRNA sequencing

Wu Haiyan, Li Zhenjun, Song Yan, Zhang Ping, Sun Zhenlu, Jiang Zhao, Jin Dong, Han Wenqing
(Yantai Center for Disease Control and Prevention, Shandong Yantai 264003, China)

Abstract: Objective YT-1107 is a *Leclercia adecarboxylata* strain isolated from contaminated food. The study of physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA sequencing was aimed to identify its species. **Methods** Suspected pathogens were selected according to epidemiological survey and clinical manifestations, and then samples were isolated and identified by ATB Biolog microbial identification system. 16S rRNA gene sequencing results were analyzed for homology and MEGA4.0 Neighbor-Joining method was used to construct phylogenetic tree. **Results** Based on the physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA sequencing, the strains were gram negative bacteria,

收稿日期:2012-07-07

作者简介:伍海燕 女 副主任技师 研究方向为食品微生物检验

通信作者:韩文清 女 主任技师 研究方向为分子病原微生物 E-mail:ythwq405@yahoo.com.cn