

有机酸对泡菜中亚硝酸盐的降解作用

Effect of degradation of nitrite by organic acids in pickles

商景天^{1,2}

王修俊^{1,2}

王继辉^{1,2}

SHANG Jing-tian^{1,2} WANG Xiu-jun^{1,2} WANG Ji-hui^{1,2}

(1. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州 贵阳 550025;

2. 贵州大学发酵工程与生物制药省级重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

(1. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China;

2. Guizhou Provincial Key Laboratory of Fermentation Engineering and Biopharmacy,
Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

摘要:通过高效液相色谱法对泡菜在自然发酵过程中产生的有机酸种类进行分析,对6种不同有机酸体外降解亚硝酸盐的作用进行研究。结果表明:泡菜中含有草酸、酒石酸、乳酸、乙酸、琥珀酸等有机酸。在72 h反应周期内,6种有机酸均能降解亚硝酸盐,对亚硝酸盐降解能力顺序为草酸>酒石酸>柠檬酸>苹果酸>乳酸>丁二酸>乙酸;亚硝酸盐降解率随有机酸起始浓度的增加而增大,升高温度也能提高有机酸对亚硝酸盐的降解能力。

关键词:泡菜;有机酸;亚硝酸盐;高效液相色谱法;降解

Abstract: In order to investigate the degradation of nitrite by organic acids during the fermentation of pickles, the organic acids were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), and 6 different kinds of organic acid for nitrite degradation in vitro were studied. The results showed that the pickles contained oxalic acid, tartaric acid, lactic acid, acetic acid, succinic acid and other organic acids. In 72 hours, all 6 kinds of organic acid could degrade nitrite; the order of ability of nitrite degradation was: oxalic acid > tartaric acid > citric acid > malic acid > lactic acid > succinic acid > acetic acid, and the nitrite degradation rate also increased with the increase of the initial concentration of organic acid. The temperature could also improve the degradation of organic nitrite.

Keywords: pickles; organic acids; nitrite; high performance liquid chromatography (HPLC); degradation

泡菜又称腌渍菜、发酵蔬菜,是以新鲜蔬菜作为原料,加

基金项目:贵州省农业攻关项目(编号:黔科合NY字[2012]3018号);贵州省农业攻关项目(编号:黔科合NY字[2015]3025-1号)

作者简介:商景天,男,贵州大学在读硕士研究生。

通信作者:王修俊(1965—),男,贵州大学教授,学士。

E-mail: 775298123@qq.com

收稿日期:2017-12-11

入一定浓度的食盐与各种香辛调味料后置于密封厌氧环境下泡制,通过蔬菜本身附着的细菌或人工接种的乳酸菌剂发酵而成的一种传统发酵食品^[1]。泡菜加工工艺简单、成本低廉,口感独特、营养丰富,深受大众的喜爱。

亚硝酸盐的积累是泡菜发酵过程中常见问题^[2]。亚硝酸盐在人体内会积累转变为强致癌物质——亚硝胺,进而诱发急性中毒,食用亚硝酸盐对人体健康构成危害的途径有以下3种类型:①亚硝酸盐能氧化血液中的低铁血红蛋白生成高铁血红蛋白,导致低氧血症,引起组织缺氧,产生一系列相应的中毒症状^[3-4];②广泛的试验和流行病学数据表明,亚硝酸盐内源性亚硝化反应所产生的N-亚硝基化合物容易致癌^[5-7];③亚硝酸盐会引起人体心血管系统的紊乱,导致心跳加快,血脂降低,并引起维生素A缺乏症^[8]。因为亚硝酸盐中毒后发病迅速、潜伏期短,危害性极大^[9],所以如何控制发酵过程并运用化学、生物方法降低泡菜中亚硝酸盐的含量已成为了国内外学者的研究重点。

Klampfl等^[10-11]发现蔬菜中含有草酸、苹果酸、柠檬酸、琥珀酸、酒石酸、乙酸、富马酸等多种有机酸。胡继贵等^[12]用高效液相色谱法测得泡菜样品中含有乙酸、柠檬酸、苹果酸和草酸。邹辉等^[13]研究表明草酸、柠檬酸、乳酸等对食品中亚硝酸盐有显著的降解作用。刘晓英^[14]研究了泡菜发酵中产生的草酸等有机酸对亚硝酸盐含量的影响,结果表明在12 h反应周期内不同有机酸对亚硝酸盐的降解能力有较大差别,且酸度越大降解率越高。因此泡菜中所含的有机酸是亚硝酸盐降解的主要原因之一。但泡菜发酵周期较长,而目前文献对于不同有机酸在较长周期内对亚硝酸盐的降解规律鲜有报道。

本试验以萝卜为原料,研究蔬菜在发酵过程中产生的有机酸种类,并模拟泡菜中有机酸种类进行72 h体外试验,进一步探究不同种类和不同浓度的有机酸对亚硝酸盐的降解

作用,为有机酸降解泡菜发酵过程中产生的亚硝酸盐的机理研究提供参考依据,同时为提高工业加工泡菜的安全性提供基础研究。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

萝卜:贵阳市花溪区吉林村农贸市场;

白砂糖:食用级,武汉成达食品有限公司;

食盐:食用级,四川久大制盐有限公司;

甲醇、异丙醇:色谱级,天津市科密欧化学试剂有限公司;

磷酸:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司;

磷酸二氢钾:分析纯,天津市大茂化学试剂厂;

草酸、乳酸、乙酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、丁二酸:色谱级,美国 Sigma 公司;

亚硝酸钠:分析纯,成都金山化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

电子精密天平:FA2002B 型,上海越平科学仪器有限公司;

电热鼓风恒温干燥箱:GZX-GF101-3-BS-II 型,上海贺德实验设备有限公司;

分光光度计:722 型,上海佑科仪器仪表有限公司;

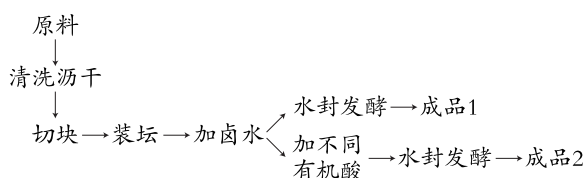
高效液相色谱仪:Agilent1260 型,安捷伦科技有限公司;

色谱柱(250 mm×4.6 mm×5.0 μm):ZORBAXSB-Aq 型,安捷伦科技有限公司;

贝克曼离心机:Allegrax-30RCentrifuge 型,贝克曼库尔特有限公司。

1.2 方法

1.2.1 发酵萝卜工艺路线



工艺要点:

(1) 成品 1 用于有机酸高效液相色谱分析,成品 2 用于分析不同有机酸种类对泡菜中亚硝酸盐含量的影响。

(2) 泡菜需切分成长宽高为 2 cm×2 cm×2 cm 的小正方体。

(3) 卤水配置:4%食盐和 0.7%蔗糖以及其他辅料,以萝卜:卤水=1:1.5 的质量比配置。

(4) 水封需用 8%食盐水,发酵温度为 30 ℃。

(5) 加酸步骤需用草酸、乳酸、乙酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、丁二酸分别调节发酵液初始 pH 值为 3.0,4.0。

1.2.2 亚硝酸盐标准曲线的绘制 从 5 μg/mL 的亚硝酸钠标准液中吸取 0.00,0.50,1.00,2.00,3.00,4.00,5.00 mL 于 25 mL 具塞比色管中,加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液

(4 g/L),混匀后静置 3~5 min,再加入 1 mL 盐酸萘乙二胺(2 g/L),加水至刻度,混匀,静置 15 min,用 2 cm 玻璃比色皿,以蒸馏水为空白对照,于波长 538 nm 处以零管调节零点来测定吸光度值,绘制标准曲线^[15]。

1.2.3 泡菜中亚硝酸盐含量的测定 采用分光光度法^[16],亚硝酸盐含量按式(1)计算:

$$X_1 = \frac{A_1 \times 1\,000}{m \times \frac{V_1}{V_0} \times 1\,000}, \quad (1)$$

式中:

X_1 ——试样中亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)的含量,mg/kg;

A_1 ——由标准曲线计算得到被测试样中亚硝酸钠的含量,μg;

m ——试样质量,g;

V_1 ——测定用样液体积,mL;

V_0 ——试样处理液总体积,mL。

1.2.4 发酵蔬菜中总酸含量的测定 根据 GB/T 12456—2008,采用 pH 电位法测定总酸含量,总酸度按式(2)计算:

$$X_2 = \frac{C \times V \times K}{M} \times 100, \quad (2)$$

式中:

X_2 ——总酸度(以乳酸计),g/100 g;

V ——滴定时消耗标准 NaOH 溶液的量,mL;

C ——已知 NaOH 标准溶液的浓度,mol/L;

M ——样品质量,g;

K ——换算系数,乳酸的换算系数为 0.09。

1.2.5 泡菜中有机酸种类的测定

(1) 有机酸标准溶液的配制:准确称取色谱级草酸、乳酸、乙酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、丁二酸用超纯水配制成 0.1 mg/mL 的有机酸混合储备液,将储备液于 2 ℃冰箱中保存,使用前混标溶液经 0.45 μm 水系滤膜过滤后上样分析^[17]。

(2) 样品前处理:准确称取经过研钵研磨后混匀的样品 2.500 0 g 于 50 mL 小烧杯中加入适量超纯水,75 ℃水浴 20 min,在水浴的过程中搅拌 1~2 次使有机酸充分溶出,冷却后用超纯水定容到 50 mL。过滤取滤液离心(10 000 r/min, 10 min),上清液经 0.45 μm 水系滤膜过滤后上机分析^[18]。

(3) 色谱检测:由于 SB-Aq 柱适合用于难以分离的碱性、酸性以及极性化合物的分离测定,而且保留分离作用比传统的 C_{18} 色谱柱性能更强^[19-21]。因此,选择 SB-Aq 色谱柱进行分离。

磷酸盐缓冲溶液体系比较适合用于有机酸成分的分析。试验研究了各种待测有机酸的最大吸收峰值,最终确定了相对较优的分离条件:色谱柱为 SB-Aq(250 mm×4.6 mm×5.0 μm),流动相为 97% pH 值为 2.0 的 0.02 mol/L 磷酸二氢钾缓冲溶液(经 0.45 μm 水系滤膜抽滤,超声脱气 30 min)和 3% 的色谱级甲醇溶液(经 0.45 μm 有机相滤膜过滤,超声脱气 30 min),紫外检测波长为 210 nm,流速为 0.8 mL/min,

进样量为 10 μL ,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,DAD 检测器^[22]。通过有机酸标准品色谱峰的保留时间与样品中有机酸成分的保留时间进行对照,对泡菜中有机酸种类进行分析。

1.2.6 温度对有机酸降解亚硝酸盐的影响 分别吸取 1 mL 浓度为 0.07 g/mL 草酸、乳酸、乙酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、丁二酸溶液与浓度为 160 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硝酸盐溶液反应,反应液为 40 mL,反应温度分别设置为 10,20,30,40,50 $^{\circ}\text{C}$,12 h 后用移液枪吸取 1 mL 反应液于 25 mL 带塞比色管中测定吸光度值,计算亚硝酸盐降解率。

1.2.7 有机酸种类浓度对亚硝酸盐降解的影响 分别吸取浓度为 0.03,0.07,0.11,0.15,0.19 g/mL 草酸、乳酸、乙酸、酒石酸、苹果酸、柠檬酸、丁二酸溶液各 1 mL 于 40 mL 浓度为 160 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硝酸盐溶液中,混匀后于 30 $^{\circ}\text{C}$ 下反应,每隔 12 h 取 1 mL 于 25 mL 带塞比色管中测定吸光度值用于计算亚硝酸盐降解率。亚硝酸盐降解率按式(3)计算:

$$X_3 = \frac{m_0 - m}{m_0} \times 100\%, \quad (3)$$

式中:

X_3 ——亚硝酸盐降解率,%;

m_0 ——未加入有机酸时亚硝酸盐的含量, μg ;

m ——加入有机酸后亚硝酸盐的含量(以标准曲线计算), μg 。

1.3 试验数据统计分析

数据采用平均值 $\pm$ 标准差表示,采用 SPSS 1.90 对组间和组内数据进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 亚硝酸盐标准曲线的绘制

亚硝酸盐含量标准曲线见图 1。

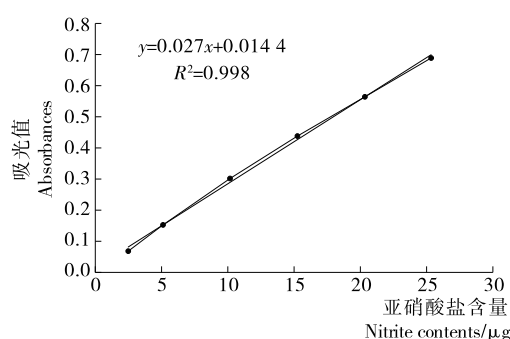


图 1 亚硝酸盐含量测定标准曲线

Figure 1 The standard curve of sodium nitrite content

2.2 泡菜发酵过程中总酸含量和有机酸种类的测定

2.2.1 总酸含量变化 由图 2 可以看出,萝卜在发酵过程中,0~120 h 阶段总酸含量随着发酵时间的延长呈现上升的趋势,120 h 之后随着发酵的继续,总酸含量基本趋于稳定,发酵 168 h 时总酸含量达到最高为 0.195 g/100 g。其原因主要是在发酵初期,乳酸菌大量生长繁殖,成为优势菌群,发酵速度快,总酸含量增加迅速,而后进入发酵中后期,乳酸菌产生有机酸导致腌渍液总酸含量增加,抑制乳酸菌的生长代谢,总酸含量趋于稳定。

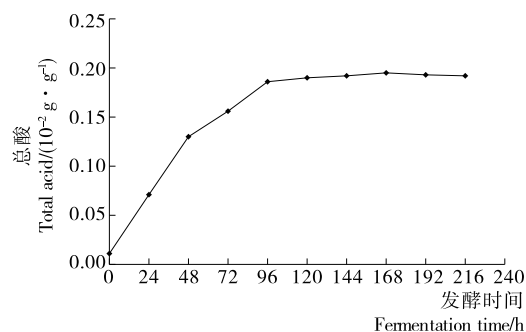


图 2 自然发酵过程中总酸含量变化

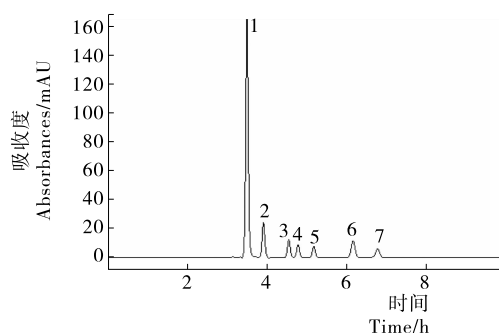
Figure 2 Changes of total acid content in natural fermentation process

2.2.2 有机酸种类 试验在较优的色谱分离条件下,通过测定单一有机酸标准品和混合有机酸标准品对每种有机酸的保留时间进行测定,从而对每种有机酸进行定性分析,有机酸标准品色谱图以及泡菜中有机酸色谱图分别见图 3、4。

从图 3、4 中可以看出,各种有机酸在较短的时间内得到了分离,泡菜在腌制过程中,产生的有机酸种类主要有草酸、酒石酸、乳酸、乙酸、琥珀酸等有机酸。

2.3 温度对有机酸降解亚硝酸盐的影响

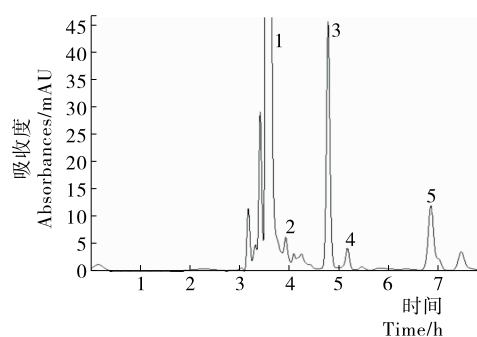
从图 5 可以看出,亚硝酸盐降解率随着反应温度的升高



1. 草酸 2. 酒石酸 3. 苹果酸 4. 乳酸 5. 乙酸 6. 柠檬酸 7. 琥珀酸

图 3 有机酸混合标准样品色谱图

Figure 3 Chromatogram of mixtures of organic acid standard sample



1. 草酸 2. 酒石酸 3. 乳酸 4. 乙酸 5. 琥珀酸

图 4 发酵样品有机酸色谱图

Figure 4 Organic acid chromatogram of fermented sample

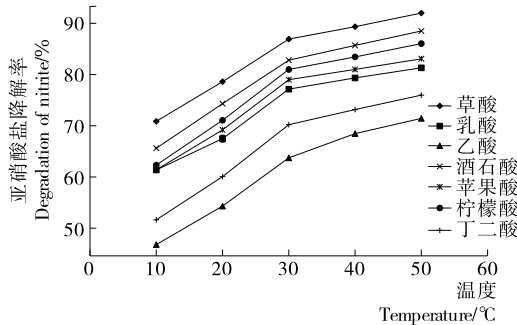


图5 温度对有机酸降解亚硝酸盐的影响
Figure 5 Effect of temperature on degradation of nitrite by organic acid

而增大,10℃时除乙酸和丁二酸亚硝酸盐降解率未能达到60%以上,另外5种有机酸亚硝酸盐降解率都在60%以上,其中乙酸亚硝酸盐降解率为46.79%、丁二酸亚硝酸盐降解率为51.62%,而亚硝酸盐降解率最高为草酸70.86%,与亚硝酸盐降解率最低的乙酸相比,相差24.07%。10~30℃时

亚硝酸盐降解速率增加较快,30~50℃时亚硝酸盐降解速率有所减缓,但仍在增加。其中7种有机酸对亚硝酸盐降解能力的顺序为草酸>酒石酸>柠檬酸>苹果酸>乳酸>丁二酸>乙酸。

2.4 有机酸对亚硝酸盐降解作用的影响

通过高效液相色谱对泡菜发酵过程中产生的有机酸种类进行测定,得到了泡菜中有机酸的成分,进而对不同有机酸种类浓度降解亚硝酸盐进行研究,鉴于苹果酸和柠檬酸是泡菜中常见的2种有机酸,也是食品添加剂中常用的,因此也一并进行研究。

不同浓度有机酸对亚硝酸盐降解的影响见表1。

从表1可以看出,7种有机酸浓度的增加都会使亚硝酸盐降解率表现为增大的趋势,反应初期亚硝酸盐降解速率较快,随着降解反应的进行,亚硝酸盐降解速率逐渐减慢,但亚硝酸盐降解率仍继续增加。而随着降解反应的进行,各组空白亚硝酸盐溶液中亚硝酸盐不发生降解,说明在自然条件下亚硝酸盐是很难发生降解的。

表1 酸浓度对降解亚硝酸盐的影响[†]
Table 1 Effects of different concentrations of acid on nitrite degradation %

种类	浓度/ (g·mL ⁻¹)	反应时间/h						
		0	12	24	36	48	60	72
草酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^b
	0.03	0.00±0.00 ^a	82.54±0.35 ^d	91.77±0.09 ^d	95.34±0.81 ^b	96.89±0.14 ^a	97.97±0.56 ^a	98.64±0.25 ^a
	0.07	0.00±0.00 ^a	85.12±0.78 ^c	93.07±0.43 ^c	96.35±0.11 ^{ab}	97.76±1.26 ^a	98.59±0.31 ^a	98.86±0.42 ^a
	0.11	0.00±0.00 ^a	86.81±0.65 ^b	94.19±0.23 ^b	96.84±1.02 ^a	97.88±0.62 ^a	98.68±1.02 ^a	99.07±0.75 ^a
	0.15	0.00±0.00 ^a	88.40±0.99 ^a	94.51±1.00 ^b	96.87±1.34 ^a	98.01±1.21 ^a	98.68±0.85 ^a	99.13±0.65 ^a
	0.19	0.00±0.00 ^a	88.83±0.56 ^a	95.54±0.12 ^a	97.05±0.17 ^a	98.08±0.65 ^a	98.75±1.12 ^a	99.20±0.47 ^a
乳酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^b
	0.03	0.00±0.00 ^a	70.53±1.69 ^d	82.45±2.78 ^b	89.16±1.79 ^b	92.53±2.47 ^b	94.42±0.81 ^b	95.92±2.13 ^a
	0.07	0.00±0.00 ^a	79.15±2.13 ^c	89.05±1.05 ^a	93.77±1.56 ^a	95.77±2.49 ^{ab}	97.07±2.01 ^{ab}	97.92±2.07 ^a
	0.11	0.00±0.00 ^a	81.46±1.21 ^{bc}	90.24±2.10 ^a	94.49±4.20 ^a	96.33±1.13 ^a	97.58±2.02 ^a	98.28±1.03 ^a
	0.15	0.00±0.00 ^a	83.46±1.21 ^{ab}	91.30±2.40 ^a	94.75±2.71 ^a	96.39±0.98 ^a	97.74±2.16 ^a	98.44±1.25 ^a
	0.19	0.00±0.00 ^a	85.21±1.04 ^a	92.24±4.50 ^a	95.34±1.28 ^a	96.98±3.01 ^a	97.88±0.65 ^a	98.50±0.78 ^a
乙酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
	0.03	0.00±0.00 ^a	46.72±1.08 ^d	60.20±2.21 ^d	68.71±1.05 ^c	73.78±2.25 ^c	79.85±0.97 ^c	81.93±0.89 ^c
	0.07	0.00±0.00 ^a	62.73±0.99 ^c	76.18±2.56 ^c	84.43±1.98 ^b	88.47±0.87 ^b	91.52±1.79 ^b	93.50±0.68 ^b
	0.11	0.00±0.00 ^a	67.63±2.36 ^b	80.02±1.65 ^b	86.83±1.85 ^{ab}	90.71±1.97 ^{ab}	93.23±0.85 ^{ab}	94.93±0.76 ^{ab}
	0.15	0.00±0.00 ^a	72.82±1.13 ^a	82.88±1.24 ^{ab}	89.14±2.12 ^a	92.26±4.00 ^{ab}	94.24±0.98 ^{ab}	95.63±0.53 ^{ab}
	0.19	0.00±0.00 ^a	75.42±2.91 ^a	84.92±1.29 ^a	90.65±3.65 ^a	93.30±1.79 ^a	95.25±2.95 ^a	96.37±3.05 ^a
酒石酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^b
	0.03	0.00±0.00 ^a	75.85±1.03 ^c	87.25±0.74 ^c	92.58±1.54 ^b	94.06±1.29 ^b	95.01±0.13 ^b	97.40±0.11 ^a
	0.07	0.00±0.00 ^a	79.91±1.12 ^b	90.29±2.01 ^b	94.53±2.45 ^{ab}	96.24±1.09 ^{ab}	97.52±0.61 ^{ab}	98.28±1.25 ^a
	0.11	0.00±0.00 ^a	82.02±1.99 ^b	91.30±1.20 ^{ab}	95.23±0.55 ^a	96.91±2.01 ^{ab}	98.02±0.57 ^a	98.53±1.27 ^a
	0.15	0.00±0.00 ^a	86.13±0.99 ^a	92.31±1.56 ^{ab}	95.97±0.52 ^a	97.02±0.86 ^{ab}	98.10±0.09 ^a	98.59±1.14 ^a
	0.19	0.00±0.00 ^a	87.17±1.87 ^a	93.32±0.98 ^a	96.86±1.52 ^a	97.58±0.78 ^a	98.44±1.23 ^a	98.91±0.85 ^a

续表 1

种类	浓度/ (g · mL ⁻¹)	反应时间/h						
		0	12	24	36	48	60	72
苹果酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
	0.03	0.00±0.00 ^a	74.57±0.98 ^c	85.01±3.82 ^b	90.33±2.42 ^b	92.80±1.50 ^b	95.07±1.55 ^b	96.33±0.85 ^b
	0.07	0.00±0.00 ^a	82.25±1.18 ^b	90.02±2.79 ^a	93.83±2.81 ^a	95.91±1.95 ^a	97.09±1.54 ^{ab}	97.81±1.25 ^{ab}
	0.11	0.00±0.00 ^a	84.49±2.12 ^a	91.54±1.64 ^a	95.07±2.04 ^a	96.57±1.43 ^a	97.72±0.94 ^a	98.28±0.95 ^a
	0.15	0.00±0.00 ^a	85.08±0.47 ^a	92.22±1.37 ^a	95.50±1.24 ^a	96.78±1.40 ^a	97.81±1.25 ^a	98.37±1.55 ^a
	0.19	0.00±0.00 ^a	85.59±1.04 ^a	92.49±1.22 ^a	95.61±1.65 ^a	97.13±0.87 ^a	98.06±1.41 ^a	98.59±0.11 ^a
柠檬酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c	0.00±0.00 ^c
	0.03	0.00±0.00 ^a	74.07±1.06 ^c	84.20±1.07 ^b	90.11±2.46 ^b	92.76±0.71 ^b	94.01±1.26 ^b	96.01±1.54 ^b
	0.07	0.00±0.00 ^a	82.07±1.19 ^b	90.17±0.82 ^a	94.28±2.56 ^a	95.92±2.31 ^a	97.29±1.16 ^a	97.94±0.66 ^a
	0.11	0.00±0.00 ^a	83.17±1.75 ^b	91.77±0.77 ^a	95.14±0.72 ^a	96.66±1.60 ^a	97.83±1.30 ^a	98.44±1.11 ^a
	0.15	0.00±0.00 ^a	85.73±2.45 ^a	92.33±2.57 ^a	95.59±1.73 ^a	97.02±0.55 ^a	98.03±1.12 ^a	98.59±0.85 ^a
	0.19	0.00±0.00 ^a	85.86±0.89 ^a	92.62±3.25 ^a	95.97±2.04 ^a	97.25±2.50 ^a	98.19±1.15 ^a	98.71±0.93 ^a
丁二酸	0.00	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
	0.03	0.00±0.00 ^a	57.41±0.96 ^e	66.44±0.79 ^d	75.67±1.01 ^c	81.33±1.40 ^c	85.30±2.31 ^c	88.40±2.52 ^c
	0.07	0.00±0.00 ^a	69.52±0.86 ^d	81.19±1.16 ^c	87.23±0.99 ^b	90.87±0.97 ^b	93.09±0.32 ^b	94.44±1.20 ^b
	0.11	0.00±0.00 ^a	74.66±0.81 ^c	85.17±1.03 ^b	90.85±1.45 ^a	93.21±1.37 ^a	95.20±0.91 ^a	96.42±0.82 ^{ab}
	0.15	0.00±0.00 ^a	77.62±1.24 ^b	86.69±1.40 ^{ab}	91.68±1.25 ^a	94.08±1.02 ^a	95.38±0.85 ^a	96.66±1.04 ^{ab}
	0.19	0.00±0.00 ^a	79.37±1.11 ^a	87.97±1.70 ^a	92.67±1.15 ^a	95.02±2.08 ^a	96.42±0.77 ^a	97.31±0.55 ^a

† 同列不同字母表示差异显著(P<0.05)。

反应 12 h 时,草酸除空白外,5 个浓度之间亚硝酸盐降解率均在 80% 以上;草酸浓度为 0.19,0.15 g/mL 之间亚硝酸盐降解率没有显著性差异,但是与 0.03,0.07,0.11 g/mL 之间存在差异。乳酸浓度为 0.03,0.07 g/mL 时亚硝酸盐降解率分别为 70.53%,79.15%,除空白外,其他乳酸浓度亚硝酸盐降解率都达到了 80%;浓度 0.19,0.15,0.11 g/mL 之间除 12 h 外其他均不存在差异(P>0.05),0.03 g/mL 与其他 4 个浓度之间均存在差异(P<0.05)。乙酸浓度 0.03 g/mL 时亚硝酸盐降解率仅为 46.72%,与乙酸浓度为 0.19 g/mL 亚硝酸盐降解率相差 29%;浓度 0.03,0.07,0.11 g/mL 与 0.19,0.15 g/mL 之间均存在差异(P<0.05),且 0.03,0.07,0.11 g/mL 两两之间也存在差异(P<0.05)。酒石酸浓度为 0.03,0.19 g/mL 时亚硝酸盐降解率分别为 75.85%,87.17%,相差 11%;浓度 0.19,0.15,0.11 g/mL 之间在 36 h 时和 60 h 后不存在差异(P>0.05),0.03 g/mL 与其他浓度之间均存在差异(P<0.05)。苹果酸浓度除 0.03 g/mL 亚硝酸盐降解率为 74.57%,其他浓度亚硝酸盐降解率均能达到 80% 以上;浓度 0.19,0.15,0.11 g/mL 之间不存在差异(P>0.05),其他浓度两两之间也存在差异(P<0.05)。柠檬酸浓度为 0.03 g/mL 时亚硝酸盐降解率为 74.07%,与最高浓度亚硝酸盐降解率 85.86% 相差 12%;浓度 0.19,0.15 g/mL 与 0.11,0.07 g/mL 之间除 12 h 以外均不存在差异(P>0.05)。丁二酸各浓度亚硝酸盐降解率分别为 57.41%,69.52%,74.66%,77.62%,79.37%,最低浓度与最高浓度亚硝酸盐降

解率相差 22%,两两之间均存在差异(P<0.05)。

反应 72 h 时,草酸各浓度组亚硝酸盐基本完全降解。乳酸浓度 0.03,0.19 g/mL 亚硝酸盐降解率的差异不明显。乙酸除浓度为 0.03 g/mL 亚硝酸盐降解率为 81.93%,其他浓度亚硝酸盐降解率均在 90% 以上。酒石酸浓度 0.03 g/mL 亚硝酸盐降解率为 97.40%,与 0.19 g/mL 亚硝酸盐降解率 98.91% 仅相差 1.5%。苹果酸浓度 0.03 g/mL 与 0.19 g/mL 亚硝酸盐降解率仅相差 2.3%。柠檬酸浓度 0.03 g/mL 与 0.19 g/mL 亚硝酸盐降解率相差 3.0%。

综上可知,空白亚硝酸盐溶液在自然条件下是很难发生降解的,而添加有机酸能有效地对亚硝酸盐实施降解,以上有机酸浓度为 0.07 g/mL,反应 12 h 时,亚硝酸盐降解率均能达到 60% 以上,反应 72 h 时,7 种有机酸基本能完全降解亚硝酸盐。

3 结论

本试验结果表明泡菜中含有的草酸、酒石酸、乳酸、乙酸、琥珀酸等有机酸均能降解亚硝酸盐,降解率也随有机酸起始浓度的增加而增大,其中草酸对亚硝酸盐降解能力最强,可能与其有很强的还原性有关。亚硝酸盐的降解率随着反应温度的升高而增大,但是由于泡菜发酵菌种的最适生长温度为 30 ℃ 左右,因此后续试验反应温度选择为 30 ℃。本试验进一步探究了在 72 h 反应周期下有机酸对亚硝酸盐的降解规律,但对于不同有机酸降解亚硝酸盐的产物问题仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 闫凯. 泡菜发酵工艺及保藏性的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013; i.
- [2] HASHIMOTO T. The Cause on the abnormal accumulation of nitrite in pickles of chinese cabbage (*Brassica pekinensis* Rupr)[J]. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 2001, 48(6): 409-415.
- [3] COCKBURN A, BRAMBILLA G, FERNANDEZ M L, et al. Nitrite in feed: From Animal health to human health[J]. *Toxicology & Applied Pharmacology*, 2013, 270(3): 209-217.
- [4] 张英. 亚硝酸盐在肉制品中的作用及其替代物的研究现状[J]. *江苏调味副食品*, 2012(6): 22-24.
- [5] 毛青秀, 邓钢桥, 邹朝辉, 等. 蔬菜中亚硝酸盐降解方法研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2012(7): 109-111.
- [6] CABALLERO-SALAZAR S, RIVERON-NEGRET L, ORDOÑEZ-TELLEZ M G, et al. Evaluation of the antimutagenic activity of different vegetable extracts using an in vitro screening test[J]. *Proc West Pharmacol Soc*, 2002, 45: 101-103.
- [7] KIM S H, KANG K H, KIM S H, et al. Lactic acid bacteria directly degrade N-nitrosodimethylamine and increase the nitrite-scavenging ability in kimchi [J]. *Food Control*, 2017, 71: 101-109.
- [8] 李文婷, 车振明. 泡菜中亚硝酸盐安全性研究新进展[J]. *中国调味品*, 2011, 36(7): 1-3.
- [9] 何金奎, 王丹丹. 亚硝酸盐中毒临床分析[J]. *中国社区医师: 医学专业*, 2013, 15(1): 176.
- [10] KLAMPFL C W, BUCHBERGER W, HADDAD P R. Determination of organic acids in food samples by capillary zone electrophoresis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 881(1/2): 357-364.
- [11] 徐慧敏, 施婷婷, 檀华蓉, 等. 高效液相色谱法同时测定蔬菜中有机酸与磺胺类抗生素[J]. *分析试验室*, 2016(10): 1 135-1 139.
- [12] 胡继贵, 赵雪梅. HPLC法测定泡菜中有机酸的方法探究[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(3): 78-84.
- [13] 邹辉, 刘晓英, 陈义伦, 等. 泡菜(白菜)腌制过程中有机酸对亚硝酸盐含量的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(11): 29-32.
- [14] 刘晓英. 泡菜中有机酸对亚硝酸盐降解作用及机理的初步研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013: 20.
- [15] 黄珊, 王修俊, 范志平, 等. 复合菌剂对辣椒发酵过程中亚硝酸盐含量的影响[J]. *中国酿造*, 2017, 36(7): 129-134.
- [16] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB 5009.33—2016 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 4-9.
- [17] 贾洪锋, 贺雅非, 李洪军, 等. 高效液相色谱法测定发酵辣椒中的有机酸[J]. *食品科学*, 2008, 29(3): 374-379.
- [18] 王冉, 李小林, 李敏, 等. 反相高效液相色谱法测定泡萝卜中的有机酸[J]. *食品工业科技*, 2014, 35(13): 283-287.
- [19] WANG Min, FENG Qiu, SHAN Xiao-quan, et al. Development and optimization of a method for the analysis of low-molecular-mass organic acids in plants by capillary electrophoresis with indirect UV detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 989(2): 285-292.
- [20] FLORES P, HELLIN P, FENOLL J. Determination of organic acids in fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem-mass spectrometry [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(2): 1 049-1 054.
- [21] JIMIDAR M, HARTMANN C, COUSEMENT N, et al. Determination of nitrate and nitrite in vegetables by capillary electrophoresis with indirect detection[J]. *Journal of Chromatography A*, 1995, 706(1/2): 479-492.
- [22] 李志华. 泡菜中五种有机酸的高效液相色谱分离分析[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2011: 14.

信息窗

印度企业推出 能够延长煎炸油保质期的防腐剂

印度一家公司不久前推出了一种全新的天然防腐剂, 用于食品抗氧化、热降解和延长植物油的油炸周期。

这种纯天然防腐剂不仅为纯素食, 还具有油溶性。据悉, 产品刚刚问世就获得了较好的市场反响, 该公司已决定在全球范围内推广这种天然油炸解决方案。

印度食品安全和标准管理局(FSSAI)已经修订了植物油使用标准, 允许在油炸和烹饪应用中重复使用植物油, 直到油达到最大总极限化合物(TPC)极限值的 25%。这家公司的配方可以帮助食品制造商使用油来减少因重复使用而导致的氧化降解, 从而保持油炸品的安全。

据称, 这种防腐剂可以帮助食品加工企业每升油炸出的产品批次数量增加, 推迟了最大总极限化合物的产生, 减少了酸败的时间。新的防腐剂配方可以帮助食品生产商达到印度食品安全和标准管理局的新标准, 并保持油炸食用的经济性。

据悉, 2016年, 这家公司曾推出一系列天然防腐剂, 用来保持食物新鲜, 延长产品的保质期, 这些防腐剂产品由精油和含油树脂专有混合物的独特配方制成。

(来源: <http://news.foodmate.net>)