

文章编号:1673-1689(2009)02-0167-05

尼泊金酯对蒸煮袋熟鱼防腐保藏

邹玉萍, 夏文水*

(江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要:研究了尼泊金酯在蒸煮袋熟鱼中的防腐应用。通过对各类尼泊金单酯对引起鱼制品腐败变质常见菌的抑菌作用比较以及尼泊金单酯进行复配后抑菌试验,并应用于蒸煮袋熟鱼防腐保藏,结果表明:各种单酯的防腐能力为丁酯>丙酯>乙酯;当尼泊金乙酯:尼泊金丙酯:尼泊金丁酯质量分数比 1:1:3 时能达到最优的抑制效果;在尼泊金复合酯质量分数为 0.025% 时能使蒸煮袋熟鱼在 4℃ 的保质期比不加防腐剂的空白对照延长 10 d,且不影响熟鱼制品的口感。

关键词: 尼泊金酯;防腐;复配;蒸煮袋熟鱼

中图分类号: S 983.06

文献标识码: A

Study on Application of Nipagin Esters in Preservation for Cooked Fish

ZOU Yu-ping, XIA Wen-shui*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Preservation of nipagin esters in cooked fish was investigated in this manuscript. The antibacterial effect of nipagin esters on the bacterias which often attract the spoilage of cooked fish was compared, and antibacterial effect was tested after nipagin esters were combined proportionally which was used in the preservation of cooked fish. The results showed that butyl nipagin was the most effective ester, followed by propyl nipagin and ethyl nipagin, the greatest preservative effect can be obtained. when butyl nipagin:propyl nipagin:ethyl nipagin=1:1:3, the addition of nipagin esters complex in cooked fish at a concentration of 0.025% can prolong the shelf life of cooked fish for 10 days at 4℃, compared with the control and have no side effect on flavour of fish products.

Key words: Nipagin ester, antisepticise, compound, packing cooked fish

食品的腐败变质主要是由微生物作用引起而导致食品品质下降或失去食用价值^[1-2]。鱼制品是具有高营养价值和广受欢迎的食物,市场需求量大。目前,国内方便或即食水产品加工业发展较快,如蒸煮袋熟鱼。蒸煮袋熟鱼是一种不经过高温

杀菌的产品,虽然这样的工艺能保证其良好的口感,但使得这类产品易腐败变质,从而保藏期短,影响产品销售。因此,防止鱼制品的腐败变质越来越引起人们的重视^[3-4]。

化学保藏方法与其它食品保藏方法如罐藏、冷

收稿日期:2008-04-17

基金项目:国家 863 计划项目(2007 AA100401);省部产学研结合项目(2007 A090302059)。

* 通讯作者:夏文水(1958-),男,江苏南京人,工学博士,教授,博士生导师,主要从事食品加工技术研究。

Email:xiaws@jiangnan.edu.cn

冻保藏、干藏等相比,有着简单易行、经济等优点,因此被广泛应用。化学防腐剂如苯甲酸、山梨酸极其盐类是国内几类常用的食品防腐剂,成本比天然防腐剂低,但其防腐效果受微生物种类、食品成分、pH值和溶解性等因素的影响而有一定的使用局限性,一般只能在酸性条件下使用^[5]。而尼泊金酯是一类广谱、高效、低毒的防腐剂,且不易受食品pH的影响,在pH值为4~8的范围内都具有很好的抑菌能力。我国已批准尼泊金酯应用于某些乳制品、肉类、水果、饮料等许多食品工业中。现国内已有报道证明尼泊金酯在酱油、醋等调味品中具有很好的防腐效果,但将其用于水产加工制品的防腐保藏研究还未见文献报道^[6-8]。

作者通过对各类尼泊金酯防腐剂对引起鱼制品腐败变质常见菌的抑菌作用比较,探讨尼泊金酯的复配以提高防腐剂的防腐效果和解决尼泊金酯溶解度低、有涩味的缺陷,应用于蒸煮袋熟鱼的防腐,以达到延长保藏期的目的,为尼泊金酯在水产加工制品中的扩大应用提供依据。

1 材料与试剂

1.1 原料

鲢鱼,农贸市场购得。

1.2 试剂

尼泊金酯,食品级,由江苏无锡江南大学科技园合成。

2 方法

2.1 蒸煮袋熟鱼的加工工艺

防腐剂 → 调味料
 ↓
 鲢鱼 → 切块 → 调味 → 装袋(蒸煮袋) → 真空封口 → 蒸煮 → 储存

2.2 腐败菌的分离

将市场上购回的新鲜鲢鱼按照蒸煮袋熟鱼进行加工,做5份平行样,放于37℃的培养箱中储存,5d后分离腐败菌。将鱼肉用无菌剪刀剪碎,称取碎鱼肉25g。加入225mL 0.1%蛋白胨无菌生理盐水,剧烈振荡30min后静止放置,待澄清后取1mL上清液以10倍稀度进行级数稀释,取3个合适的稀释度各1mL于培养皿中,倒入20mL的营养琼脂培养基,每个稀释液做两个平行样。37℃培养48h后,观察菌落形态,对菌落形态有区别的菌进行革兰氏染色、芽孢染色^[11]。将分离的菌混合培养,以备后用。

2.3 尼泊金单酯的抑菌实验

配制营养肉汤培养基,向每个250mL的三角瓶中添加100mL的培养基,121℃灭菌备用。将混合菌活化,并取2mL与每个250mL的三角瓶中,再往每个250mL的三角瓶添加不同浓度(质量分数)的尼泊金单酯(用乙醇助溶)^[9],于37℃、转速为100r/min的恒温恒湿培养箱中培养,每隔4h在600nm的波长下测其OD值,以时间为横坐标,OD值为纵坐标绘制抑菌曲线。

2.4 尼泊金复合酯的正交实验

根据尼泊金单酯的抑菌实验结果来设计尼泊金复合酯的正交实验。三因素为:A(尼泊金乙酯)、B(尼泊金丙酯)、C(尼泊金丁酯),水平为各尼泊金单酯在复合酯中所占的比例,复合酯的总浓度为0.03%(质量分数)。接种量为2mL,于37℃、转速为100r/min的恒温恒湿培养箱中培养10h后测其菌落数,计算抑菌率。

表1 尼泊金单酯复配实验的三因素三水平正交表

Tab.1 Orthogonal test for the mixing experiment of Nipogin monoester

水平/因素	A	B	C
1	1	1	1
2	2	2	3
3	4	4	6

$$\text{抑菌率} / \% = \frac{a-b}{a} \times 100$$

其中,a为未加防腐剂的总菌落数,b为加了防腐剂的总菌落数。

2.5 尼泊金复合酯的防腐实验

将尼泊金单酯按照最佳比例复配应用到蒸煮鱼中,进行防腐应用研究。添加质量分数分别为0.01%、0.025%、0.05%、0.1%的尼泊金复合酯于蒸煮袋鱼调味料中,每个浓度做10组样品,放于4℃下储存,每隔5d检测总菌落数^[11]、口感。对照组为分别添加质量分数为0.05%乙酯、丙酯、丁酯、0.1%山梨酸钾的蒸煮袋熟鱼。

3 结果与讨论

3.1 尼泊金酯的抑菌作用

3.1.1 分离的蒸煮袋熟鱼腐败菌 通过镜检可以发现蒸煮袋熟鱼制品的腐败菌主要是有由3种菌组成,见表2。

而霉菌和酵母未检出。将检出的主要菌进行斜面混合培养,以备后用。

表 2 分离的熟鱼腐败菌
Tab. 2 Putrefactive bacteria of cooked fish

菌种	革兰氏阳性/阴性	有无芽孢	菌落形态
1	革兰氏阳性杆菌	有	乳白色, 中间隆起, 表面多褶皱, 边缘整齐。
2	革兰氏阴性杆菌	无	灰白色透明, 中间隆起, 表面多褶皱, 边缘整齐。
3	革兰氏阴性杆菌	无	白色, 边缘整齐, 呈脐状, 湿润。

3.1.2 尼泊金单酯的抑菌作用比较

从图 1 可以看出乙酯对腐败菌有一定的抑制作用, 但是只有在达到很高的浓度下才能完全抑制腐败菌的生长, 当质量分数为 0.005% 时, 其抑菌能力已经不明显。说明乙酯对细菌的抑制效果一般。

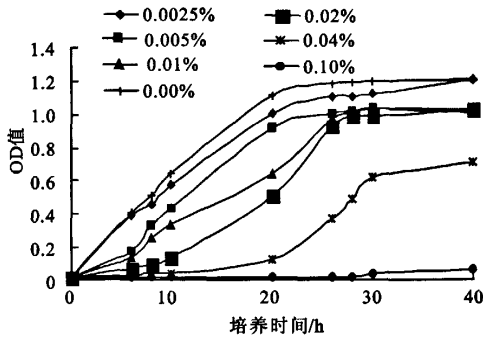


图 1 乙酯对蒸煮袋鱼腐败菌的抑制曲线

Fig. 1 Suppression curve of ethyl nipagin to Putrefactive bacteria of cooked fish

从图 2 中可以看出, 当丙酯的质量分数为 0.04% 时能完全抑制住腐败菌的生长, 当其质量分数为 0.02% 时, 能有效的推迟腐败菌的对数生长期的到来, 能使腐败菌的延滞期延长 16 h 以上, 而且也能有效的降低总菌数。但是当其质量分数为 0.01% 的时候, 只有微弱的抑菌能力。但总的来说, 丙酯的抑菌能力比乙酯的抑菌能力强, 相当于乙酯的 2.5 倍。

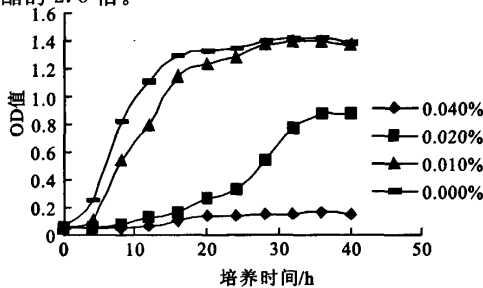


图 2 丙酯对蒸煮袋鱼腐败菌的抑制曲线

Fig. 2 Suppression curve of propyl nipagin to Putrefactive bacteria of cooked fish

从图 3 中可以看出, 当丁酯的质量分数为 0.02% 时能完全抑制住腐败菌的生长, 当其质量分数为 0.01% 时, 也能有效的抑制腐败菌, 相当于质量分数为 0.04% 丙酯的抑制能力。但是当其质量分数为 0.005% 的时候, 只有微弱的抑菌能力, 相当于质量分数为 0.01% 丙酯的抑制能力。总的来说, 丁酯的抑菌能力比丙酯、乙酯的抑菌能力强, 相当于丙酯的 4 倍, 乙酯的 10 倍。

从尼泊金单酯的抑菌实验的研究中可以得出, 尼泊金酯对蒸煮鱼腐败菌的抑制能力大小为: 丁酯 > 丙酯 > 乙酯。

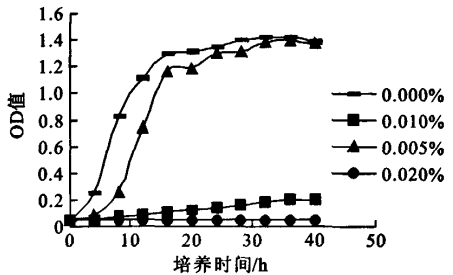


图 3 丁酯对蒸煮袋鱼腐败菌的抑制曲线

Fig. 3 Suppression curve of butyl nipagin to Putrefactive bacteria of cooked fish

3.2 尼泊金酯的复配及抑菌作用

根据以上各个单因素的抑菌实验, 进行正交实验。由于单酯的溶解度低, 且抑菌能力也有限, 只有当浓度比较高时才能完全抑制腐败菌的生长。但是当尼泊金酯浓度过高时, 其对食品的口感影响会很大。因此需要将单酯进行复配, 从而达到添加低剂量的防腐剂就能达到食品长期保存的效果。

以下为安排三因素三水平正交实验的结果。

表 3 正交实验及其结果分析

Tab. 3 Orthogonal experiment and result analysis

实验	乙酯	丙酯	丁酯	抑菌效率/%
1	1	1	1	60.72
2	1	2	2	60.28
3	1	3	3	52.24
4	2	1	2	64.92
5	2	2	3	57.33
6	2	3	1	41.27
7	3	1	3	51.44
8	3	2	1	35.67
9	3	3	2	43.32
均值 1	57.747	59.027	45.887	
均值 2	54.507	51.093	56.173	
均值 3	43.477	45.610	53.670	
极差 R	14.270	13.417	10.247	

从表3中可以看出极差: $R_a > R_b > R_c$, 即乙酯浓度对复配防腐剂抑菌能力的影响最大, 其次是丙酯, 最后是丁酯。因此先选择乙酯的最优水平, 根据乙酯的3个均值可知均值1 > 均值2 > 均值3, 所以选择均值1对应的水平, 即乙酯在复合酯中占的比例为1, 以此类推, 可得丙酯最优水平为占复合酯的比例为1, 丁酯在复合酯中占的比例为3, 根据以上结果可以得出三酯的最佳复配质量比例为1:1:3。根据表4方差分析可以看出乙酯的F值大于临界值, 具有显著性, 对复合防腐剂的抑菌能力有显著影响。

3.3 尼泊金复合酯应用于蒸煮熟鱼的防腐保藏研究

将尼泊金复合酯应用到蒸煮袋熟鱼中, 并与尼泊金单酯、山梨酸钾对照, 以细菌总数、口感为指标, 进行防腐应用研究。结果见表4、表5。

从表5中可以看出尼泊金复合酯比单酯有更强的防腐效果, 且随着浓度的增大其防腐能力增强, 尤其当其质量分数为0.1%, 蒸煮袋熟鱼贮存30 d其菌落总数未超过国标值 1.0×10^4 , 当其质量分数为0.05%时, 蒸煮袋熟鱼贮存25 d其菌落总数也未超过国标值 1.0×10^4 。其防腐效果分别是尼

泊金乙酯、尼泊金丙酯4倍, 尼泊金丁酯的2倍。原因可能是: 尼泊金复合酯中的乙、丙、丁酯的侧面碳链长短的不同, 因而其在穿透细胞膜的能力不同, 并且其抑菌的作用位点也就不同, 所以各种单酯针对不同种类微生物的抑制能力就不同, 所以经过复配后尼泊金酯的抑菌能力会大大地加强, 在与各个单酯同等用量的情况下, 经过复配的尼泊金酯的抑菌能力明显地强于尼泊金单酯。在单酯中丁酯的防腐效果高于其它两种单酯, 能较好的抑制腐败菌的生长。对于常用防腐剂山梨酸钾来说, 其对于蒸煮袋鱼制品的防腐效果不是很理想, 比尼泊金酯的防腐能力低, 其防腐效果只有尼泊金复合酯的1/10。

表4 方差分析

Tab.4 Variance analysis

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
乙酯	335.791	2	21.107	19.000	*
丙酯	273.012	2	17.161	19.000	
丁酯	172.662	2	10.853	19.000	
误差	15.91	2			

表5 细菌总数(个/g)

Tab.5 Bacterium total

防腐剂	添加质量分数/%	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
复合酯	0.01	98	4.2×10^2	7.3×10^2	5.3×10^3	6.4×10^4		
	0.025	96	2.1×10^2	3.8×10^2	4.5×10^3	4.8×10^3	2.8×10^4	
	0.05	88	1.6×10^2	4.4×10^2	5.1×10^2	6×10^2	3×10^2	8.4×10^4
	0.1	88	1.0×10^2	1.2×10^2	2.4×10^2	3.2×10^2	4×10^2	4.4×10^2
乙酯	0.05	102	4.4×10^2	8.4×10^2	9.6×10^3	4.8×10^4		
丙酯	0.05	88	3.2×10^2	4.4×10^2	1.0×10^3	3.2×10^4		
丁酯	0.05	90	1.2×10^2	4.8×10^2	9.6×10^2	1.0×10^3	3.2×10^4	
山梨酸钾	0.1	90	2.3×10^2	4.8×10^2	7.2×10^3	2×10^4	8.8×10^4	
无	0	104	4.8×10^2	2.0×10^3	8.4×10^4			

表6 蒸煮袋鱼口感

Tab.6 Feeling in the mouth of cooked fish

质量分数/%	有无麻舌感	
0.01	无	
复合酯	0.025	无
	0.05	无
	0.1	稍有
	乙酯	0.05
丙酯	0.05	稍有
丁酯	0.05	稍有
山梨酸钾	0.1	无

从表6中可以看出当复合酯的质量分数达到0.05%时未有麻舌感, 而尼泊金单酯在质量分数0.05%的时候已经影响蒸煮袋熟鱼口感。根据表4和表5可以得出当复合酯的质量分数为0.025%时对蒸煮袋鱼有很好的防腐效果且不影响其口感, 使蒸煮袋熟鱼的保质期比未加防腐剂的空白对照延长了至少10 d, 比尼泊金乙酯、尼泊金丙酯、山梨酸钾延长了至少5 d, 同尼泊金丁酯的防腐效果。所以尼泊金复合酯能够在低浓度情况下即不产生舌麻感的浓度下, 也能够达到很好的防腐效

果,这样就可以克服尼泊金单酯的口感和溶解性问题。

4 结 语

1) 尼泊金单酯对蒸煮袋熟鱼腐败菌的防腐效果: 丁酯 > 丙酯 > 乙酯;

2) 当以尼泊金乙酯: 尼泊金丙酯: 尼泊金丁酯质量比为 1: 1: 3 的比例复配时能达到最优的抑制效果。

3) 当尼泊金复合酯质量分数为 0.025% 时,能使蒸煮袋熟鱼的保质期延长至少 10 d, 又不影响熟鱼制品的口感。

参考文献(References):

- [1] A Logrieco. Biodiversity of complexes of mycotoxigenic fungal species associated with *Fusarium ear rot* of maize and *Aspergillus rot* of grape[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 11: 16—119.
- [2] Enzo A T, Edmundo R, Marta E O, et al. Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*[J]. *Food Chemistry*, 2007, 1025: 1029—104.
- [3] Khalid I S. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids[J]. *Food Chemistry*, 2007, 1011: 1014—102.
- [4] Barakat S M, Koji Y, Kazoo M, et al. Preservative effect of combined treatment with electrolyzed NaCl solutions and essential oil compounds on carp fillets during convectional air-drying[J]. *Food Microbiology*, 2006, 331: 337—106.
- [5] 夏文水. 食品工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007, 242—245.
- [6] 万素英. 食品防腐与食品防腐剂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998, 76—83.
- [7] 张显久, 戴小弟, 顾海涛, 等. 复合尼泊金酯保鲜青鱼片的初步研究[J]. *齐鲁渔业*, 2005, 22(9): 38—40.
ZHANG Xian-jiu, Dai Xiao-di, Gu Hai-tao, et al. A primary research of keeping blue fish fresh by nipagin esters[J]. *Qi and Lu Fishery*, 2005, 38: 40—22. (in Chinese)
- [8] 李永飞, 彭昌亚, 许敏燕, 等. 尼泊金复合酯在食醋中的应用[J]. *中国调味品*, 2004(10): 19—22.
LI Yong-fei, PENG Chang-ya, XU Min-yan, et al. Application of nipagin esters in food vinegar[J]. *Chinese Seasoning*, 2004, 19: 22—10. (in Chinese)
- [9] 俞宜霞. 改进尼泊金酯加入法减少析出[J]. *海峡药学*, 1997(9): 63.
YU Yi-xia. Improve method that putting nipagin esters to anchor to reduce separation[J]. *Channel Pharmacy*, 1997, 63—9. (in Chinese)
- [10] 郝林. 微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001. 13—20.
- [11] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准委员会. 食品卫生微生物学检验菌落总数测定[S]. GB/T 4789. 2 中国国家标准出版社, 2003.

(责任编辑: 杨 萌)