

蒸煮火腿储藏期亚硝胺和亚硝酸钠含量的变化及其相关性研究*

孙敬, 郇延军, 詹文圆, 陆瑞琪, 余鹏

(江南大学食品学院, 农产品加工与贮藏重点实验室, 江苏 无锡, 214122)

摘要 为探讨蒸煮火腿储藏期亚硝酸钠(NaNO_2)含量的变化对二乙基亚硝胺(NDEA)形成的影响,在腌制过程中添加了不同含量的 NaNO_2 ,分别研究了不同储藏条件下低温蒸煮火腿中NDEA及 NaNO_2 含量的变化,研究确定了NDEA的形成量与储藏过程中 NaNO_2 含量的相关性。所选择的储藏条件是为了反映超市的实际保藏情况(4°C 和 25°C)。结果表明; NaNO_2 含量随着储藏时间的延长显著($P < 0.05$)下降,并且室温放置比冷藏下降速率要快;随储藏时间的延长,NDEA含量先逐步上升然后下降,上升阶段,室温放置比冷藏增加速率快,下降阶段,室温比冷藏降低速率慢;相关性分析表明,2种储藏条件下NDEA含量与储藏过程中 NaNO_2 含量的相关系数都较低($P > 0.05$),冷藏比室温其总体相关系数偏高,随着 NaNO_2 添加量的升高,相关系数波动较大。

关键词 蒸煮火腿,储藏, NaNO_2 ,NDEA

亚硝胺(N-nitrosamines)是指在酸性(或碱性)环境及一定温度条件下,由 NaNO_2 和氮氧化物或一些含氮物质如胺类或氨基酸等反应形成,具有致畸性和致癌性。肉制品在腌制阶段通常添加亚硝酸钠(NaNO_2)进行腌制,由于 NaNO_2 具有抑制肉毒梭状芽孢杆菌(*Clostridium botulinum*)的生长、形成腌肉的特征粉红色和风味等重要作用,已成为肉制品加工过程不可完全替代的添加剂。但是 NaNO_2 过量使用存在安全问题,会引起亚硝基化反应形成致癌物质亚硝胺。世界各国都对 NaNO_2 的使用量以及亚硝胺含量制定严格限制,我国的限量是 NaNO_2 150 mg/kg,而产品中的二甲基亚硝胺(NDMA)和二乙基亚硝胺(NDEA)的含量不得超过 $3.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ ^[1]。

有关培根(Bacon)和法兰克福香肠(Frankfurters)中亚硝胺形成的研究已多有报道^[2,3],这些研究对于深入了解和掌握腌腊肉制品生产中亚硝胺含量的变化及机理有着重要的帮助。大量的研究表明^[4,5],影响肉制品中亚硝胺形成的因素主要包括温度、时间、pH、游离氮浓度和微生物的参与。至今国内对肉制品中亚硝胺的出现及形成的研究甚少,马丽珍等人^[6]对肉制品中亚硝胺的形成进行了初步探索,发现经过加工的腌腊肉制品存在一定量的二乙基亚硝胺(NDEA)。蒸煮火腿属于中低温西式肉制品,在其生产过程中, NaNO_2 是最为常用的添加剂^[7]。目前肉制品中主要的挥发性亚硝胺是二甲基亚硝胺

(NDMA)、二乙基亚硝胺(NDEA)和亚硝基吡咯烷(NPYR)^[6],本实验中检测对象为NDEA。

本研究试图通过腌制过程中添加不同含量的 NaNO_2 ,在不同储藏条件下对蒸煮火腿中 NaNO_2 及NDEA含量进行分析测定,研究储藏期间 NaNO_2 含量与NDEA形成量的相关性。从肉制品的安全性角度出发,对国内肉制品实际储藏过程中工艺参数的确定提供理论依据,为进一步研究腌腊肉类制品中亚硝胺的形成机理奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

原料:新鲜猪后腿精肉,购自无锡大润发超市。

二乙基亚硝胺(NDEA),Sigma公司,色谱纯;N-1-萘基乙二胺,Sigma公司;二氯甲烷(全玻璃仪器重蒸),其余试剂均为分析纯。

气相色谱-质谱联用仪(英国菲尼根质谱公司),旋转蒸发器(德国IKA),微量注射器($50 \mu\text{L}$),电子调温电热套(江苏常州市金坛荣华仪器制造有限公司),721型分光光度计(上海第三分析仪器厂),BS223S型电子天平(上海电子天平厂)。

1.2 实验及测定方法

1.2.1 腌制方法

食盐3%,复合磷酸盐0.4%,抗坏血酸钠0.05%, NaNO_2 0~200 mg/kg,均为食品级添加剂,水30%。

原辅料混合均匀后,置于平罐中,保持组织紧密、表面平整,于 $0\sim 4^\circ\text{C}$ 冰箱中腌制并计时,并隔3~5h

第一作者:硕士研究生

*江苏省自然科学基金项目(BK2005213)

收稿日期:2008-06-04

翻拌1次。

1.2.2 工艺流程

后腿精肉和修整→腌制(0~4℃, 48h)→翻拌挤压→装模压制并蒸煮(80℃, 60 min)→冷却并包装。

1.2.3 亚硝胺和 NaNO₂ 的测定原理

亚硝胺的测定原理:样品中的 N-亚硝胺类化合物经水蒸气蒸馏和有机溶剂萃取后,浓缩至一定量,采用气相色谱-质谱联用仪的高分辨峰匹配法进行确认和定量。

NaNO₂ 的测定原理:样品经沉淀蛋白质、除去脂肪后,在弱酸条件下亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后,再与 N-1-萘基乙二胺偶合形成紫红色染料,与标准比较定量。

1.2.4 亚硝胺和 NaNO₂ 的测定方法

亚硝胺形成量的测定:根据 GB/T 5009.26-1996 第二法气相色谱-质谱仪法^[8],测定条件为色谱条件:汽化室温度 190℃,色谱柱温度 145℃(二乙基亚硝胺),色谱柱内径 1.8~3.0 mm、长 2 m 玻璃柱、内装涂以 15%PEG20 固定液和 KOH 溶液(10 g/L)的 80~100 目 Chromosorb W AW~DMCS,载气氮气、流速为 40 mL/min;质谱仪条件:分辨率≥7 000,离子化电压 70 V,离子化电流 300 μA,离子源温度 180℃,离子源真空度 1.33×10⁻⁴ Pa,界面温度 180℃。每个样品均重复 3 次测定。测定中添加二丙基亚硝胺作为内标以测定回收率,其平均回收率为 83%。经过检测样品中不含二丙基亚硝胺。

NaNO₂ 含量的测定根据 GB/T 5009.33-1996 第一法并稍加改进^[9,10],每个样品均重复 3 次测定。

1.2.5 实验设计

分为两组实验组进行,腌制过程中均添加不同水平的 NaNO₂ 分别为:0、50、100、150、200 mg/kg,其中 200 mg/kg NaNO₂ 为国家标准的适当外延,0 mg/kg NaNO₂ 组为对照组,按照相同的工艺流程加工制作蒸煮火腿。在真空包装之后立即将成品分别在 4℃ 和 25℃ 条件下放置 28 d,每批样品中均包含各添加量水平的火腿,储藏期间从第 0 天开始每 4 d 取样,分析火腿中 NaNO₂ 和 NDEA 的变化。

1.2.6 统计分析

应用 DPS For Windows (V. 3.1) 统计软件,计算 NaNO₂ 和 NDEA 含量的平均值,应用 Fisher's LSD 方法进行多重比较。采用 SPSS 数据处理软件计算上述测定平均值的 Pearson 相关系数,分析储藏过程中 NaNO₂ 含量和 NDEA 形成量的相关性。

因亚硝胺具有潜在的强烈致癌性,操作中需谨慎,必须在通风中操作并佩戴护罩。

2 结果与分析

2.1 储藏过程中蒸煮火腿中 NaNO₂ 含量的变化

不同储藏条件下蒸煮火腿中 NaNO₂ 含量的变化情况如表 1、表 2 所示。

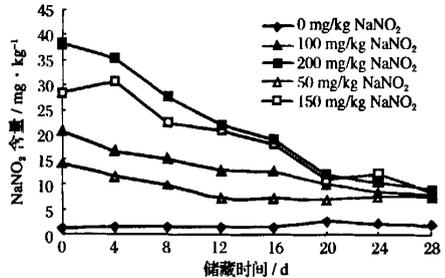


图 1 蒸煮火腿在 4℃ 条件下储藏 NaNO₂ 含量的变化

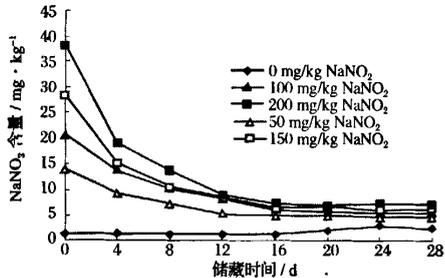


图 2 蒸煮火腿在 25℃ 条件下储藏 NaNO₂ 含量的变化

由图 1 和 2 可以看出,不同储藏条件下放置,蒸煮火腿中 NaNO₂ 含量随着储藏时间发生明显变化。低温(4℃)下冷藏及室温(25℃)下放置,不添加 NaNO₂(对照组)时火腿中也含有一定量的 NaNO₂,但是含量较少,分别为 1.29~2.74 和 1.20~2.98 mg/kg。这与 Wesley 等人^[11,12]报道相符。这主要是由于储藏过程中微生物生长繁殖造成污染或其他化合物结合转化为 NaNO₂。另外,肉中的 L-精氨酸降解也可以产生 NaNO₂。当添加 50 mg/kg NaNO₂ 或更多时,2 种储藏环境下,随着储藏时间的延长,NaNO₂ 含量均显著($P < 0.05$)下降。NaNO₂ 下降速率主要依赖储藏温度,室温比冷藏放置下降速率要快。冷藏条件下 0~16 d 内,NaNO₂ 含量随时间的增加逐步下降,但在 16 d 之后,NaNO₂ 含量随时间下降的趋势明显趋缓。28 d 之后,最高添加量(200 mg/kg NaNO₂)组中只剩下 9.01 mg/kg。在室温下放置,前 4 d NaNO₂ 损失率最高。12 d 之后,各添加组的 NaNO₂ 含量都在 10 mg/kg 以下。当放置

时间达 28 d 时, NaNO_2 含量分别减少至 4.64、5.44、6.33、7.23 mg/kg。储藏期间, 2 种储藏条件下不同添加量的处理组中, NaNO_2 含量都呈下降趋势, 由此可以推断出 NaNO_2 在火腿中参与了多种反应。Cas-sens 等人^[13] 研究证明, 肉制品储藏过程中 NaNO_2 的减少是由于 NO_2^- 与肌红蛋白、巯基、脂类和蛋白质等多种组织成分发生反应并且经过氧化反应可以转变为 NaNO_3 。低温下这些反应会有所抑制; 在室温条件下, 各种反应加快。因此, 室温放置比冷藏下的 NaNO_2 含量下降程度要明显。

实验中采用 0、50、100、150 和 200 mg/kg NaNO_2 添加到火腿中, 国内目前对肉制品中添加的 NaNO_2 含量限制在 150 mg/kg, 而在实验室条件下加工制作蒸煮火腿并进行储藏, 添加量 150 mg/kg 时火腿中的 NaNO_2 残留量未超过卫生标准的 30 mg/kg。虽然国标规定 NaNO_2 添加量必须限制在 150 mg/kg, 但实际生产中由于腌制时肉体系与腌制液混合的不均匀性以及蒸煮时肉块内外的加热温度不同会导致局部 NaNO_2 含量过高, 因此本实验中 NaNO_2 添加量 200 mg/kg 这种极限条件反映了实际生产中出现的腌制液混合的不均匀情况。实验结果表明, 当 NaNO_2 添加量为 200 mg/kg 时产品中 NaNO_2 残留量超过国家标准, 随着储藏期的延长, NaNO_2 含量逐渐降低至 30 mg/kg 以下, 并且室温条件下放置比冷藏的 NaNO_2 含量下降更快。

2.2 储藏过程中蒸煮火腿中 NDEA 含量的变化

不同储藏条件下蒸煮火腿中 NDEA 含量的变化情况如表 1、表 2 所示。

由表 1 和表 2 可见, 储藏期的温度和时间显著影响 NDEA 形成量的变化。4℃ 冷藏和 25℃ 下放置, 对照组 (0 mg/kg NaNO_2) 中储藏前期未检测出 NDEA, 12~16d 之后形成微量的 NDEA (4℃ 0.57~0.68 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 25℃ 0.54~0.73 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。腌制时添加 50 mg/kg 或更高浓度的 NaNO_2 时, 随储藏时间的延长, 2 种储藏环境下蒸煮火腿的 NDEA 含量均呈现先逐步上升后下降趋势。NDEA 形成量的变化同样依赖储藏温度, 在上升阶段, 室温放置比冷藏增加快; 下降阶段室温比冷藏降低慢。室温放置初期, NDEA 含量显著 ($P < 0.05$) 增加, 16 d 时基本达到最大值, 分别增加到 1.48、2.02、4.18 和 4.37 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 之后逐渐减少, 28 d 时 NDEA 含量分别为 0.90、1.58、2.37、3.13 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。冷藏时 NDEA 含量变化与室温相似, 16 d 之后, 最高添加量 (200 mg/kg) 组中

NDEA 含量显著 ($P < 0.05$) 增加到 4.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 冷藏 28 d 后, NDEA 含量分别减少至 0.8、1.26、1.89、2.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Yurchenko 等人^[14] 研究了罐头肉制品储藏期间亚硝胺的变化, 结果表明, 低温下保藏 5d, 随着时间的积累亚硝胺含量逐渐升高。Domańska 等人^[15] 将肉制品先置于 4℃ 冷藏然后室温放置, 二甲基亚硝胺 (NDMA) 含量明显升高。虽然 NDEA 和 NDMA 是 2 种不同的亚硝胺, 但从理化性质上看, 2 种亚硝胺具有相似之处, 本研究所揭示的储藏初期 NDEA 随 NaNO_2 的变化趋势与 Domańska 等人研究的 NDMA 的变化趋势相似。

表 1 蒸煮火腿在 4℃ 条件下储藏 NDEA 含量的变化

4℃ 储藏时间/d	NaNO_2 添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$				
	0	50	100	150	200
	蒸煮火腿中 NDEA 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$				
0	ND	0.97 ^b	1.01 ^a	2.96 ^{bc}	3.25 ^b
4	ND	1.03 ^{bc}	1.27 ^b	3.16 ^c	3.58 ^{bc}
8	ND	1.18 ^c	1.31 ^b	3.40 ^d	3.84 ^c
12	ND	1.32 ^d	1.62 ^d	3.71 ^e	3.96 ^c
16	0.57 ^a	1.30 ^d	1.81 ^e	3.73 ^e	4.08 ^{cd}
20	0.65 ^a	1.26 ^a	1.80 ^e	3.57 ^{de}	4.41 ^d
24	0.68 ^a	0.78 ^a	1.49 ^c	2.82 ^b	3.50 ^{bc}
28	ND	0.80 ^a	1.26 ^b	1.89 ^a	2.39 ^a

注: (1) 每组所测结果均是利用回收率换算出来, ND 表示未检测出, 每组为测定结果的平均值。(2) 同列中数据后面的角标不同者为差异显著 ($P < 0.05$), 表 2 同。

表 2 蒸煮火腿在 25℃ 条件下储藏 NDEA 含量的变化

25℃ 储藏时间/d	NaNO_2 添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$				
	0	50	100	150	200
	蒸煮火腿中 NDEA 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$				
0	ND	0.97 ^a	1.01 ^a	2.96 ^b	3.25 ^a
4	ND	1.07 ^{ab}	1.24 ^b	3.23 ^c	3.65 ^b
8	ND	1.23 ^b	1.49 ^c	3.54 ^d	3.89 ^c
12	0.54 ^a	1.35 ^c	1.77 ^d	3.85 ^e	4.15 ^d
16	0.63 ^{ab}	1.48 ^c	2.02 ^e	4.18 ^f	4.37 ^e
20	0.73 ^b	1.40 ^c	2.07 ^e	3.64 ^{de}	4.48 ^e
24	0.65 ^{ab}	1.13 ^{ab}	1.75 ^d	2.93 ^b	3.82 ^c
28	ND	0.90 ^a	1.58 ^{cd}	2.37 ^a	3.13 ^a

储藏期间对照组中低含量亚硝胺的出现并非是火腿中存在的 NaNO_2 和胺类等前体物反应形成, 因为对照组中虽然出现一定的 NaNO_2 但是含量太低不足以产生可检测 (检测限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的 NDEA (见图 1 和图 2), 而可能是由于储藏期过程中微生物的作用或某些酶的参与形成 NDEA。

NDEA 含量的变化反映了不同的储藏过程, 其增加和减少取决于 NDEA 的形成和减少量的比率。蒸煮火腿在煮制阶段温度为 80℃ 时间为 60 min, 这一加工因温度较低, 导致成品中含有一定数量的微生物。根据 Ayanaba 等人^[16] 大量的研究表明, 微生物

参与亚硝胺形成的方式包括:(1)促使 NaNO_3 还原为 NaNO_2 ; (2)蛋白质降解为胺类和氨基酸;(3)产生利于亚硝基化反应的有关酶;(4)形成有利于亚硝基化反应的 pH 环境。室温下储藏初期 NDEA 含量的增加可能是细菌(如梭菌属)的活性导致的。冷藏初期,通过微生物的作用胺类物质(如乙胺和 L-丙胺)等形成 NDEA 的主要前体物不断积累^[17],与 NaNO_2 经过亚硝基化反应形成 NDEA。随着储藏过程的进行,室温条件下虽然微生物能够创造较好的亚硝基化反应环境,但是 NaNO_2 含量持续降低,28 d 时 NaNO_2 含量远 $< 10 \text{ mg/kg}$,不能提供足够的前体物(NaNO_2)以继续形成 NDEA,同时由于 NDEA 发生分解反应^[18]以及一些腌制剂如抗坏血酸钠的抑制作用^[19],NDEA 的降低速率超过形成速率,NDEA 含量逐渐下降,冷藏后期 NDEA 含量的变化与室温相似。储藏期间 NDEA 含量的变化是火腿中存在的或形成的前体物发生亚硝基化反应以及微生物的参与共同造成的结果。室温储藏 NDEA 的变化更多的是由于微生物的作用导致的;冷藏下 NDEA 的变化则更多是亚硝基化反应的结果。

实验中将不同水平 NaNO_2 添加到火腿进行加工制作,冷藏和室温放置期间 NDEA 的变化趋势有

表 3 储藏条件下 NDEA 含量与储藏过程中 NaNO_2 含量的 Pearson 相关系数

储藏条件 /°C	Pearson 相关系数及 P 值							
	50 mg/kg NaNO_2		100 mg/kg NaNO_2		150 mg/kg NaNO_2		200 mg/kg NaNO_2	
	R	P	R	P	R	P	R	P
4	0.524	0.183	0.562	0.147	0.367	0.385	0.424	0.275
25	0.305	0.436	0.478	0.231	0.245	0.520	0.409	0.292

由表 3 可以看出,2 种储藏条件下,不同 NaNO_2 添加量的蒸煮火腿中 NDEA 含量与储藏过程中 NaNO_2 含量的相关系数都比较低。说明了在冷藏和室温条件下,储藏期间(0~28 d)蒸煮火腿 NaNO_2 的含量并不是影响 NDEA 变化的关键因素。大量研究表明^[20,21],肉制品生产过程中 NaNO_2 含量与亚硝胺的形成量具有显著正相关性。该结论与本实验结果的差异主要是研究对象不同,前者是研究加工过程,而本实验是对储藏期进行研究。储藏过程没有腌制和热加工的处理,亚硝胺的形成较为缓慢。

由表 3 还可以看出,冷藏比室温其总体相关系数偏高,说明了储藏期间 NaNO_2 对 NDEA 形成量的影响与储藏温度有关,冷藏条件下 NaNO_2 对 NDEA 的形成的影响比室温要明显。随着 NaNO_2 添加量的升高,相关系数变化无规律,并且波动较大,说明蒸煮

所差别,储藏初期,室温下 NDEA 形成量比冷藏要快;而后期室温比冷藏降低速度慢。室温储藏 28d 时添加量 150 mg/kg 和 200 mg/kg 时火腿中的 NDEA 含量分别降低至 2.37 和 3.13 $\mu\text{g/kg}$,而冷藏下 NDEA 含量分别减少为 1.89 和 2.39 $\mu\text{g/kg}$ 。虽然含量都在国家标准范围内,但是更长的储藏期 NDEA 的变化仍需要进行进一步的研究。

2.3 不同储藏条件下(4°C 和 25°C) NDEA 含量与储藏过程中 NaNO_2 含量变化的相关性

储藏时间和温度对 NDEA 形成量影响的程度与储藏过程中 NaNO_2 含量的变化有关,蒸煮火腿中 NaNO_2 含量越少,NDEA 形成量也就越少。进一步研究储藏期蒸煮火腿 NaNO_2 含量的变化与 NDEA 含量的关系,运用软件对数据进行分析。由于 0 mg/kg NaNO_2 的火腿中 NDEA 含量变化在 ND(未检测到或在检测限以下)~0.73 $\mu\text{g/kg}$,与 NaNO_2 的变化之间无明显相关性,因此不考虑这一处理组。运用 SPSS 软件对以上不同水平的 NaNO_2 添加量的处理组储藏中的 NaNO_2 含量与 NDEA 形成量进行相关分析,得到 NDEA 含量与储藏过程中 NaNO_2 含量的 Pearson 相关系数,见表 3。

过程中 NaNO_2 添加量对 NDEA 形成的影响不明显。

肉制品中亚硝胺的形成是一个复杂的过程,依赖于多种因素如亚硝基化的催化剂或抑制剂的存在以及微生物的参与。储藏期 NDEA 的变化是多种因素共同作用的结果。

3 结 论

(1)不同的储藏环境下, NaNO_2 下降速率与储藏温度和时间有关。随储藏时间的延长, NaNO_2 含量均显著($P < 0.05$)下降;室温比冷藏放置下降速率要快。

(2)2 种储藏条件下,随着储藏过程的进行,NDEA 形成量都经历先逐步上升后下降的变化趋势。储藏初期,室温放置比冷藏上升速率快;后期室温比冷藏降低速率慢。较长储藏阶段 NDEA 含量的

变化仍需要进行进一步的研究。

(3) 相关性分析表明, 2 种储藏条件下不同 NaNO_2 添加量的蒸煮火腿中, NDEA 含量与储藏过程中 NaNO_2 含量的相关系数都比较低 ($P > 0.05$)。说明在冷藏和室温条件下, 储藏期间 (0~28 d) 蒸煮火腿 NaNO_2 的含量并不是影响 NDEA 变化的重要因素。冷藏比室温 NDEA 总体相关系数偏高, 说明了冷藏条件下 NaNO_2 含量对 NDEA 的形成的影响比室温要明显。随着 NaNO_2 添加量的升高, 相关系数波动较大, 说明蒸煮过程中 NaNO_2 添加量对 NDEA 含量变化的影响不明显。

参 考 文 献

- 1 食品中 N-亚硝胺限量卫生标准[S]. GB/T 9677 —1998
- 2 Sen N P, Iyengar J R, Donaldson B A, et al. The effect of sodium nitrite concentration on the formation on nitrosopyrrolidine and dimethylnitrosamine in fried bacon[J]. J Agr Food Chem, 1974, 22; 540~541
- 3 Pensabene J W, Fiddler W F, Gates R A, et al. Effect of frying and other cooking conditions on nitrosopyrrolidine formation in bacon[J]. Journal of Food Science, 1974, 39:314~316
- 4 Joseph G Sebranek. Advances in the technology of nitrite use and consideration of alternative[J]. Food Technology, 1979, 33; 58~62
- 5 Ryszard Rywotycki. The effect of baking of various kinds of raw meat from different animal species and meat with functional additives on nitrosamine contamination level[J]. Food Chemistry, 2007, 101; 540~548
- 6 马俪珍, 杨 华, 阎 旭, 等. 盐水火腿加工中影响亚硝基化合物生成因素的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(1)82~85
- 7 Cassens R G. Composition and safety of cured meats in the USA[J]. Food Chemistry, 1997, 59; 561~566
- 8 食品中 N-亚硝胺类的测定方法[S]. GB/T 5009. 26—1996
- 9 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定方法[S]. GB/T 5009. 33—1996
- 10 谭帼馨. 蔬菜和肉类亚硝酸盐的测定研究及其在贮藏中的变化[D]. 广州: 广州工业大学, 2001. 9~16
- 11 Roger L Wesley, William W Marion, Joseph G. Sebranek. Effect of sodium nitrite concentration, sodium erythorbate and storage time on the quality of Franks manufactured from mechanically deboned turkey [J]. Journal of Food Science, 1982, 47; 1 626~1 630
- 12 Gerald O Hustad, John G Cervený, Hugh Trenk, et al. Effect of sodium nitrite and sodium nitrate on botulinal toxin production and nitrosamine formation in wieners [J]. Applied Microbiology, 1973, 26 (1); 22~26
- 13 Cassens R G, Greaser M L, Ito T, et al. Reactions of nitrite in meat[J]. Food Technology, 1979; 46~55
- 14 Yurchenko Y, Mölder. The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products[J]. Food Chemistry, 2007, 100; 1 713~1 721
- 15 Domańska K, Kowalski, B Effect of different storage conditions on N-nitrosamines content in Polish edible offals processed meat products[J]. Bull Vet Inst Pulawy, 2002, 46; 317~324
- 16 Ayanaba A, Alexander M. Microbial formation of nitrosamines in vitro[J]. App, Microbiol, 1973, 25; 862~868
- 17 Silla-Santos M H Biogenic amines; their importance in foods[J]. Intern. J Food Microbiol, 1996, 29; 213~231
- 18 Keki R Bharucha, Charles K Cross, Leon J. Rubin. Mechanism of N-nitrosopyrrolidine formation in bacon [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1979, 27, 1; 63~69
- 19 Rheiler R F, Sato K, Aspeland T G, et al. Model system studies on N-nitrosamine formation in cured meats; effect of curing solution ingredients[J]. Journal of Food Science, 1981, 46; 996~998
- 20 Nrisinha P Sen, et al. Volatile N-Nitrosamines in various cured meat products; effect of cooking and recent trends [J]. J Agric and Food Chemistry, 1979, 27(6): 1 354~1 357
- 21 Fiddler W, Piotrowski E G, Pensabene J W, et al. Effect of sodium nitrite concentration on N-nitrosodimethylamine formation in Frankfurters [J]. Journal of Food Science, 1972, 37; 668~670

补充说明 《食品与发酵工业》2008 年第 8 期第 42 页刊登的论文“黄酒机械成型麦曲制曲过程中真菌动态变化的研究”为: 长江学者和创新团队发展计划资助 (IRT0532), 工业生物技术教育部重点实验室开放课题资助课题 (KLIB-KF200709), 江苏省“青蓝工程”资助, 绍兴市重点科研工业项目 (2006A21036)。特此说明。

Changes of N-nitrosamine and Sodium Nitrite Contents in Cooked Ham During Storage and Study on the Corresponding Correlations

Sun Jing, Huan Yanjun, Zhan Wenyuan, Lu Ruiqi, Yu Peng

(The State Key Laboratory of Storage and processing of agricultural products,
School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

ABSTRACT In order to study the effect of nitrite contents during storage on the formation of N-nitrosodiethylamine (NDEA) in cooked ham, the changes of concentrations of NDEA as well as nitrite in cooked ham containing various levels of initial nitrite under different storage conditions were determined respectively. The NDEA concentrations and its correlation with nitrite contents during storage were studied in cooked ham. The chosen storage conditions (e. g. 4°C and 25°C) were intended to reflect these ones which could occur in the routine storage management in the Supermarket. With the increase of storage time, the concentrations of nitrite significantly decreased under $P < 0.05$. Nitrite reduction at room temperature was more rapid than under refrigeration. The levels of NDEA gradually increased with the increase of storage time, after which it decreased. The rate of the increase of NDEA at room temperature was more rapid than under refrigeration, however, it decreased slowly at room temperature than at lower temperature. The correlation analysis showed that both the correlative coefficients with the respect of different storage conditions were relatively lower under $P > 0.05$, however, the total correlative coefficient with the respect of refrigeration was slightly higher than that of room temperature. In addition, the correlative coefficient varied largely with the increase of added nitrite contents.

Key words cooked ham, storage, sodium nitrite, N-nitrosodiethylamine

(上接第 33 页)

Gene Synthesis and Expression of Thermoacidophili α -amylase in *Escherichia coli*

Ke Tao¹, Xiong Lan², Shi Qingfang², Ma Xiangdong²

1(College of Life Science and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China)

2(College of Life Science, Hubei University, Wuhan 430062, China)

ABSTRACT α -Amylase BD5088 is a thermostable and acid-resistance α -amylase from *Thermococcus* sp. In this research, the BD5088 gene with optimal codon usage was synthesized by two-step synthesis method. This synthesized amylase gene encodes a protein of 436 amino acids, without the nature signal peptide sequence. It was cloned into expression vector pET30a, and the reconstructed vector was designed as pET-BD5088 and transformed into BL21 (DE3). Positive transformant was cultivated and IPTG was added into culture to induce expression of the α -amylase. The recombinant enzyme BD5088 had a molecular mass of 48 ku which was analyzed by SDS-PAGE. The optimum reaction temperature and pH scope of the recombinant α -amylase were 70~85°C and 5.6~6.0 respectively. The half life of the enzymatic activity at 100°C was 30 min, and the activity of BD5088 was not depended on the addition of Ca²⁺.

Key words thermoacidophili α -amylase, gene synthesis, expression, enzyme characterization