玉米醇溶蛋白涂膜保鲜章鱼烧的品质分析

李苗苗[1]，张后程[2]，张萌[1]，徐大伦[1]，王江峰[3]，杨文鸽[1]，张进杰[1]
（1.宁波大学食品系，浙江宁波 315211）（2.宁波大学理学院，浙江宁波 315211）
（3.宁波虬龙水产有限公司，浙江宁波 315040）

摘要：本文通过研究玉米醇溶蛋白(Zein)、nisin和EDTA组合的Zein涂膜液的抑菌作用，及Zein涂膜章鱼烧保质期内微生物、TVB-N值和感官品质的变化，分析Zein涂膜对章鱼烧的保鲜效果。Nisin或Nisin-EDTA显著提高Zein涂膜液的菌抑制性，4 ℃的冷藏条件下，在18 d的贮藏过程中组合nisin或nisin-EDTA的Zein涂膜液涂膜处理章鱼烧样品的微生物总数升高值均低于1 log cfu/g，而对照章鱼烧样品微生物总数升高值高于3 log cfu/g；Zein涂膜处理显著性的抑制了章鱼烧的TVB-N值的升高、水分损失和冷藏过程中感官品质的劣变（$p<0.05$），在4 ℃冷藏条件下，Zein涂膜可以将高品质章鱼烧货架期延长至12 d，复配有nisin或nisin-EDTA的Zein涂膜可以将高品质章鱼烧货架期延至第18 d。Zein涂膜能可作为改进章鱼烧生产工艺的技术参考。

关键词：章鱼烧；玉米醇溶蛋白；nisin
文章篇号：1673-9078(2015)8-273-279 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.043

Preservation of the Commercial Quality of Takoyaki by Antimicrobial Zein Coating

LI Miao-miao[1], ZHANG Hou-cheng[3], ZHANG Meng[1], XU Da-lun[2], WANG Jiang-feng[2], YANG Wen-ge[1], ZHANG Jin-jie[1]
(1.Department of Food Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China) (2.Faculty of Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China) (3.Ningbo Qiulong Aquatic Products Co.,Ltd., Ningbo 315040, China)

Abstract: To enhance the practical application of active edible coatings in the food industry, edible zein coatings incorporated with nisin or nisin/ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) were used to preserve the quality of commercially manufactured Takoyaki. The microbial load, total basic volatile nitrogen (TVB-N) content, weight loss and sensory quality were served as quality indicators. The increase of microbial load of Takoyaki coated with antimicrobial zein during a 18-day refrigeration storage period was less than 1 log cfu/g, while the microbial load increased about 3 log cfu/g for the control group without the coating treatment. The formation of TVB-N was significantly ($P<0.05$) reduced when Takoyaki were coated with antimicrobial zein. With or without antimicrobial agent, coated Takoyaki exerted significantly ($P<0.05$) less weight loss and better sensory quality than uncoated Takoyaki. The zein coating can extend the high quality Takoyaki shelf life to 12 days, and the zein coatings incorporated with nisin or nision-EDTA can prolong the high quality Takoyaki shelf life to 18 days. The result of this study can be a technical reference to improve the process technology of Takoyaki.

Key words: takoyaki;zein; nisin

章鱼烧又名章鱼小丸子，是以新鲜章鱼为原料，以章鱼、面粉、蛋白粉、糖、鸡蛋、卷心菜、扬玉（小麦粉、味精、发酵粉、盐、水混合物）经过油煎而成的圆形丸子，它具有皮酥内嫩、味鲜而香、营养丰富等优点，是日本的国粹小吃，也深受东南亚国家消费者喜爱[1]。章鱼烧是宁波水产品精深加工企业的主营创汇产品，主要出口日本、韩国和台湾等亚洲地区或国家。由于章鱼烧在储运过程中品质极易衰变，尤其是经二次烹饪处理食用时形状容易软塌，且易滋染微生物，严重影响了章鱼烧产品市场的拓展，且使贮运成本急剧上升，在一定程度上阻碍了这一食品产业的生产规模化和标准化。如何保证该产品的品质已成为当前企业经营者重视的问题。

玉米蛋白粉是玉米淀粉生产过程中的主要副产物，它蛋白含量高达60%左右，其中有40%左右的蛋白具有醇溶性，这种可以被醇溶解的蛋白称为玉米醇溶蛋白(Zein)，又被称为玉米朊。醇溶蛋白独特的氨基酸组成和分子结构使其具有良好的成膜性，所形成的膜具有很强的耐水性、耐热性和耐脂性，是一种优质

收稿日期：2014-10-14
项目基金：宁波市农业创新创业重点项目（2012092016）；国家科技支撑计划项目（2014BAD04B00）
作者简介：李苗苗（1992-），女，本科生，研究方向：食品科学与工程
通讯作者：张进杰（1981-），男，讲师，研究方向为水产品加工

的可食性蛋白成膜材料。它可以作为一种食品的保鲜包被材料，用来保持水分、隔绝氧气、防止微生物生长[2,3]。

Nisin 是一种乳酸链球菌代谢产生、利用生物技术提取的一种纯天然、高效、安全的多肽活性物质（亦称乳链菌肽）。研究表明，Nisin 能有效地杀死或抑制引起食品腐败的革兰氏阳性菌，如乳酸杆菌、利斯特菌、芽孢杆菌等，被认为是安全、高效、可靠的食品防腐剂，到目前为止已在全世界 50 多个国家广泛应用[4]。Nisin 与某些盐类复合或与其它保鲜方法配合使用要比单独使用 Nisin 的效果好[5]。Lin 等[6]研究发现经由 EDTA 与 Nisin 制成的 Zein 复合保鲜膜可有效抑制革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌且应用于鱼丸保鲜效果良好。抗菌剂和可食用膜等多种方法联用以抑制腐败微生物生长是目前研究的新趋势。

本研究针对企业化生产的熟制水产制品-章鱼烧在贮运过程中易发生品质衰变、滋生微生物等问题，以玉米醇溶蛋白结合甘油成膜助剂，辅以生物抗菌剂对章鱼烧进行涂膜处理，从微生物和感官品质上研究醇溶蛋白复合膜对章鱼烧在储藏过程中品质衰变的抑制效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

章鱼烧：采自宁波市虬龙水产品有限公司章鱼烧生产车间，煎制成熟出锅，置于灭菌样品盒（乐扣保鲜盒12LHPL889，316×232×230 mm，乐扣乐扣有限公司）中，于10 min内送至企业实验室进行涂膜包装贮藏处理，生产工艺简介[1]：

将章鱼原料洗净、切段后入沸水中煮制，沥水，得章鱼段；称取小麦淀粉、大豆分离蛋白粉、鸡蛋和水混匀后用漏斗滴入沸油中炸制至金黄色，得面颗粒；称取葡萄糖、鳕鱼粉、小麦面粉、小麦淀粉、食盐、味精、白糖、植物油、鸡蛋和水，与葱末、姜末、大头菜块混合均匀，得面菜浆；面颗粒与面菜浆拌和后倒入刷有食用油的、预加热的丸子模具中，再放入章鱼段，煎制，熟化成型；脱模、冷却、包装，即成成品。

工艺流程：

配菜→清洗→切割→混合　涂膜

↓　↓

章鱼丁→解冻→清洗→挑选→章鱼烧成型→烧烤→装盘→冷却→冷藏

↑　↑

混合粉→过滤→混合搅拌　涂膜

玉米蛋白粉：购于山西省忻州市谷氨酸厂；乙醇：天津化学试剂三厂，分析纯；甘油：天津化学试剂三厂，分析纯；乳酸菌素(nisin)：10^6 IU/g，购自浙江银象生物工程有限公司。

革兰氏阳性菌：金黄色葡萄球菌(*Staphyloccocus arueus*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)；革兰氏阴性菌：大肠杆菌（*Escherichia coli*）产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)和副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*) 购自浙江省疾病预防控制中心。

效价测定培养基(%)：牛肉浸膏0.3、蛋白胨1.0、氯化钠0.5、琼脂1.5、吐温80与水（体积比1:1）的混合物2.0、pH 7.0、121 ℃灭菌20 min；

细菌液体培养基(%)：牛肉浸膏0.3、蛋白胨1.0、氯化钠0.5、pH 7.0、121 ℃、灭菌20 min。

1.2 试验仪器

自动定氮仪：DDY-1A型，北京兴华真空仪表厂；真空干燥箱：JK-82A型，上海市实验仪器总厂。

1.3 试验方法

1.3.1 Zein 涂膜液准备和使用

（1）醇溶蛋白提取方法：将玉米蛋白粉过80目筛，用pH值为12的70%的乙醇在温度70 ℃，超声提取30 min，料液比1:6的条件下提取醇溶蛋白。过滤取上清液，55 ℃条件下旋转蒸发至泥浆状（乙醇大量挥发至醇溶蛋白析出），并抽滤醇溶蛋白沉淀，用5℃，pH值为5的去离子水洗涤；低温干燥醇溶蛋白备用。

（2）Zein膜液制备：将醇溶蛋白按照1:10（*m/V*）溶于pH值12，85%的乙醇溶液，并添加2%的甘油搅拌至Zein全部溶解，分别添加抗菌剂Nisin（100 IU/mL、200 IU/mL、400 IU/mL、800 IU/mL、1600 IU/mL），Nisin（100 IU/mL、200 IU/mL、400 IU/mL、800 IU/mL、1600 IU/mL）+EDTA（0.005 g/mL），EDTA（0.005 g/mL）搅拌至溶解，4 ℃下密封静置12 h，除气泡，得各处理Zein膜液备用。

（3）涂膜使用方法：采自章鱼烧生产车间的成品章鱼烧，就近在宁波虬龙水产有限公司产品化验实验室进行涂膜处理，涂膜处理章鱼烧外表余温在60~70 ℃，立即浸入涂膜液中2 s后立即捞出，置于塑料盘上，30 ℃通风干燥4~5 min，乙醇挥发后在样品表面

自然形成一层透明薄膜，目测，此处理不影响章鱼烧的感官形态。

1.3.2 涂膜液乳酸菌素（Nisin）活力检测方法[4]

采用琼脂扩散法(agar diffusion assay)，在无菌条件下，将培养基溶化倒入培养皿里，待其凝固后，取15 μL 指示菌悬浊液均匀的涂布在培养皿平板上，每个平板放入 2~3 个牛津杯，然后取 20 μL 涂膜液，加入牛津杯内，然后放入 28 ℃的培养箱内培养 18 h。涂膜液中抗菌素扩散后形成的透明的抑菌圈，用游标卡尺测量出抑菌圈的直径，抑菌圈大小与抗菌性效价取对数后呈直线关系。

1.3.3 章鱼烧的水分含量、粗蛋白、油脂、可溶性糖、淀粉、膳食纤维和灰分均测定

参照 AOAC1990 标准测定[8]。

1.3.4 微生物分析细菌总数按 GB 4789.2-2010[9]规定的方法进行平板计数

按GB / T 4789规定的方法分别对金黄色葡萄球菌（*S. arueus*）和枯草芽孢杆菌（*B. subtilis*）；大肠杆菌（*E. coli*）、产气肠杆菌(*E. aerogenes*)和副溶血弧菌(*V. parahaemolyticus*) 的G(-)和G(+)进行检测。

1.3.5 总挥发性盐基氮（TVB-N）测定

使用 FOSS KJELTEC 2300 全自动定氮仪，设定仪器条件为[10]：无氮称量纸称取 15 g 样品，置 750 mL 整流管中，精确到 0.1 mg。在整流管中加入 50 mL 蒸馏水，摇匀，然后加入 1g MgO 和 3 滴消泡剂（正辛醇），连接整流器。设定仪器为 1%硼酸接收液 30 mL，蒸馏 5 min，0.1 moL/mL 盐酸标准滴定液，结果用 mgN/100 g 表示。

1.3.6 重量损失率

实验前准确称取每个章鱼烧样品质量(m_1)，实验过程中定期称量章鱼烧重量(m_2)，按下式计算贮藏过程中章鱼烧的重量损失率：

$$重量损失率=(m_1-m_2)/m_1\times100\% \quad (1)$$

1.3.7 感官评分

感官评定由 5 名专业人员组成的感官评定小组进行，首先对章鱼烧的色泽、气味和表观特征进行评分。用各因素的分数乘以权重比例后相加，以综合分数评定其感官质量，评分标准见表 l。

表 1 章鱼烧感官评定分值标准

Table 1 Sensory score of Takoyaki

因素（权重）	5 分	4 分	3 分	2 分	1 分
气味（0.25）	有烧烤海鲜食品的鲜香味，无异味	鱼肉味较淡，无异味	无鱼肉鲜味,鱼腥味浓，无异味	有酸臭味，有腐败的腥臭味	浓烈酸臭味，及鱼类腐败气味
滋味（0.3）	口感爽，外酥内嫩滑	口感较爽，外酥内嫩滑	口感一般	口感较差	已不能食用
色泽（0.15）	表面金黄色，有光泽，无杂色	表面金黄色，稍暗	无光泽，局部有黄褐色斑块	表面多处黄褐斑块，暗淡无光泽	整个章鱼烧黄褐，暗淡无光泽
表观特征（0.3）	表面致密完整，无不良特征	表面致密完整，有少量汁液流失	表面有粗糙感，局部有塌陷	表面松软发黏，有多处塌陷	表面发黏，有多处塌陷，并有破裂现象

1.5 数据分析

试验所有指标至少 3 个平行测定，通过肖维勒准则对可疑值进行剔除，采用 Origin 8.0 绘图，SPSS 17.0 进行方差分析，显著性水平设置为 P<0.05。

2 结果与讨论

2.1 章鱼烧基本成分组成分析

章鱼烧味道鲜美，口感丰富却又层次分明，深受亚洲消费者欢迎。章鱼烧不仅口感好，营养也非常均衡，主要营养成分如水分、蛋白质、油脂、可溶性糖、淀粉、膳食纤维和灰分含量如表 2 所示。因为原料中有蔬菜的添加，这不仅改善了口感还增加了膳食纤维(0.82±0.37 g·100/g FW)；尽管章鱼烧是煎制烧烤类型食品，但由于章鱼烧是面粉浆凝聚的表面，吸油量较少，总油脂含量仅为 5.56±0.82 g·100/g FW。

表 2 章鱼烧的基本营养成分（g/100 g FW）

Table 2 Proximate composition of Takoyaki （g/100 g FW）

水分	蛋白质	油脂	可溶性糖	淀粉	膳食纤维	灰分
51.29±1.73	15.76±1.65	5.56±0.82	7.23±0.57	17.23±0.87	0.82±0.37	1.95±0.09

2.2 玉米醇溶蛋白包埋抗菌素后的抗菌活性

有研究报道包埋有Nisin和月桂酸的玉米醇溶蛋白膜对革兰氏阳性菌具有较好的抑制作用[11]。金黄色葡萄球菌(*S. Arueus*) 和枯草芽孢杆菌(*B. Subtilis*)是两种常见的食源性革兰氏阳性菌。如表3所示，本实验中Zein涂膜液和含低浓度Nisin（活力为100 IU/mL）的Zein涂膜液均对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌无抑制作用。对于实验的两种微生物，Zein涂膜液中Nisin的最低抑制活力浓度为200 IU/mL，但当Nisin浓度>400 IU/mL，Zein涂膜液的抑菌面积随Nisin浓度增大而扩大的趋势不明显，这和注入牛津杯的涂膜液扩散过程中乙醇挥发后形成固态膜层束缚了Nisin进一步扩散的作用有关。这有利于章鱼烧涂涂膜后外包抗菌膜中抗菌成分的持久保存，延长其抗菌功效。

表 3 Nisin包埋于醇溶代表膜中对菌金黄色葡萄球菌（*S. arueus*）和枯草芽孢杆菌（*B. subtilis*）革兰氏阳性菌的抑菌作用

Table 3 Effects of nisin-incorporated zein films against the growth of gram-positive bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*

涂膜液中 Nisin 浓度/(IU/mL)	抑菌面积/cm²	
	S. aureus 金黄色葡萄球菌	*B. subtilis* 枯草芽孢杆菌
0	-	-
100	-	-
200	0.468±0.036^{b}	0.386±0.015^{c}
400	0.505±0.036^{ab}	0.518±0.038^{a}
800	0.577±0.073^{a}	0.408±0.014^{bc}
1600	0.543±0.033^{a}	0.517±0.032^{a}

注：*“-”未检出；a，b，c，d 不同字母表示相同指标内的显著性差异（P<0.05）。

Zhou 等[12]报道称 Nisin 只对革兰氏阳性菌有抑菌作用，对革兰氏阴性菌抑菌效果不明显，而螯合剂 EDTA 和柠檬酸协同 Nisin 可对革兰氏阴性菌起到抑菌作用。本实验选择大肠干菌(*E. Coli*)、产气肠杆菌(*E. aerogenes*)和副溶血弧菌(*V. parahaemolyticus*)三种革兰氏阴性菌对包埋有 Nisin 和 EDTA 的玉米醇溶蛋白膜的抑菌效果进行检验，结果如表 4 所示，Zein 涂膜液和包埋有 Nisin 的 Zein 涂膜液对革兰氏阴性菌(G-)没有抑菌效果。有报道称 EDTA 可协同增加天然抗菌素的抑菌作用[13]。根据前期预实验，本研究选择 5 mg/mL 的 EDTA 浓度作为玉米醇溶蛋白膜的抑菌辅助剂添加量。含有 5 mg/mL EDTA 的 Zein 涂膜液却对 G-有一定抑制作用。而 Nisin 和 EDTA 的组合添加显著性提高 Zein 涂膜液的对 G-的抑制能力，且随 Nisin 添加浓度增加而增强，在 Nisin 浓度>400 IU/mL 后，Nisin+EDTA 复合 Zein 涂膜液抑菌面积增大缓慢，这也与乙醇挥发后 Zein 成膜后对 Nisin 和 EDTA 的束缚有关，说明 Zein 可以较好的包埋抗菌成分 Nisin 和 EDTA。

表 4 Nisin、EDTA 单独或协同复合包埋于玉米醇溶蛋白后，对革兰氏阴性菌的抑制效果

Table 4 Effects of nisin-and/or EDTA-incorporated zein films against the growth of gram-negative bacteria, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, and *Citrobacter freundii*.

膜内包埋抗菌剂浓度		抑菌面积/cm²*		
Nisin /(IU/mL)	EDTA /(mg/mL)	大肠干菌 *E. coli*	产气肠杆菌 *E. aerogenes*	副溶血弧菌 *V. parahaemolyticus*
0	0	-*	-	-
100	0	-	-	-
200	0	-	-	-
0	5	0.689±0.036^{d}	0.622±0.036^{c}	0.577±0.036^{c}
100	5	0.682±0.036$_{d}$	0.631±0.036^{c}	0.645±0.036
200	5	0.703±0.036^{d}	0.992±0.036^{bc}	0.762±0.036^{b}
400	5	1.486±0.036^{b}	1.328±0.036^{b}	0.916±0.036^{a}
800	5	1.135±0.036^{c}	1.228±0.036^{b}	0.960±0.036^{a}
1600	5	1.616±0.036^{a}	1.400±0.036^{a}	0.937±0.036^{a}

注：*“-”未检出；a，b，c，d 不同字母表示相同指标内的显著性差异（P<0.05）。

2.3 包埋抗菌素的玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧后的抗菌效果

按照前文叙述企业生产线制作章鱼烧过程中，在章鱼烧生产线煎盘的温度达到 250 ℃以上，煎制的章鱼烧的中心温度达到了 80 ℃以上，几乎所有微生物均可被杀死或钝化，但是章鱼烧营养丰富，且水分含量高，在后续的冷却、包装、贮运及二次加热食用过程中都可能染菌，因此在不影响章鱼烧营养和风味的前提下，为章鱼烧包上一层抗菌膜非常有必要，章鱼烧的涂膜抗菌保鲜具备潜在的商业应用价值，本实验以章鱼烧贮藏过程中总菌落数进行章鱼烧在贮藏过程中的微生物风险分析。基于 2.1 和 2.2 实验结果，采取 Nisin 浓度为 400 IU/mL，和 Nisin（400 IU/mL）-EDTA（5 mg/mL）作为 Zein 最佳抗菌剂添加浓度。

本实验条件下测得新鲜章鱼烧的菌落数为 3.11 log cfu/g（表 5），未经任何处理的章鱼烧在 4 ℃贮藏条件下贮藏至 15 d 菌落总数已升至 5.91 log cfu/g，第

18 d达到 6.85 log cfu/g。无添加抑菌剂的 Zein 涂膜有一定的抑菌效果，其抑菌效果可能与涂膜液溶剂乙醇的杀菌作用和 Zein 涂膜的隔离作用有关。Nisin 作为抑菌添加剂的玉米醇溶蛋白涂膜抑菌效果显著，在贮藏至第 18 d时菌落总数仅为 3.85 logcfu/g。Nisin-EDTA 组合作为抑菌剂添加至玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧抑菌效果最好，与新鲜章鱼烧对照的菌落数 3.11 log cfu/g 相比，直至贮藏的第 18 d，微生物菌落数增殖仅仅增加了 0.50 log cfu/g。有报道壳聚糖涂膜鱼丸具有 3 周的保质期[14]，但是壳聚糖涂膜液是用 1%的醋酸作为溶剂，对产品风味会造成影响且降低产品 pH 值。我们的实验 Zein 涂膜液为纯天然物，实验章鱼烧为企业生产线取样产品，实验结果更适用于实际生产应用。Nisin 和 Nisin-EDTA 作为抑菌剂包埋于 Zein 的涂膜液，在涂膜章鱼烧贮藏过程中抑菌效果无明显差异。EDTA 的加入主要是针对革兰氏阴性菌，Nisin 和 nisin-EDTA 处理样品的微生物菌落总数无显著差异，说明章鱼烧表面的污染微生物主要为革兰氏阳性菌。

表 5 4℃贮藏条件下的 Nisin，Nisin-EDTA 包埋于玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧的总菌落数分析（Nisin：400 IU/mL；Nisin-EDTA： 400 IU/mL Nisin，5 mg/mL EDTA）

Table 5 Total viable counts (log cfu/g) of Takoyaki coated with nisin- or nisin/EDTA– incorporated zein or zein without additive during storage at 4 ℃. (Nisin: 400 IU/mL; Nisin/EDTA: Nisin, 400 IU/mL, EDTA, 5 mg/mL)

涂膜处理	贮藏时间/d						
	0	3	6	9	12	15	18
参考	3.11±0.03	3.21±0.11^{a}	4.31±0.04^{a}	4.95±0.28^{a}	5.37±0.17^{a}	5.91±0.25^{a}	6.85±0.25^{a}
Zein	3.11±0.03	3.11±0.05^{b}	3.57±0.11^{b}	4.21±0.14^{b}	4.06±0.04^{b}	4.73±0.19^{b}	5.43±0.11^{b}
Zein-Nisin	3.11±0.03	3.07±0.06^{c}	3.18±0.08^{c}	3.38±0.03^{c}	3.52±0.05^{c}	3.70±0.04^{c}	3.85±0.04^{c}
Zein -Nisin + EDTA	3.11±0.03	3.06±0.07^{c}	3.15±0.04^{c}	3.28±0.04^{c}	3.46±0.04^{c}	3.55±0.05^{c}	3.61±0.02^{c}

注：a、b、c、d 不同字母表示相同指标内的显著性差异（P<0.05）。

2.4 玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧贮藏过程中 TVB-N 变化研究

如表 6 所示，新鲜章鱼烧 TVB-N 值为 0.82 mg/100 g，4 ℃冷藏 18 d 升高至 13.59 mg/100 g。玉米醇溶蛋白涂膜处理的章鱼烧样品的 TVB-N 值显著低于对照样品。以 Nisin 和 Nisin-EDTA 为抗菌剂包埋于玉米醇溶蛋白涂膜处理对贮藏过程中章鱼烧样品的 TVB-N 值上升的抑制最为明显，且二者差异不显著。

大多数文献报道水产制品 TVB-N 值范围在 20~30 mg/100 g 之间[15]。本实验室中由于章鱼烧主要成分除开新鲜章鱼肉外，还有大量的蔬菜、面粉等原材料。本实验新鲜章鱼烧TVB-N 值 0.82 mg/100 g，当TVB-N 值超过 9 mg/100 g 的范围，章鱼烧的品质就低至不可被食用。

表 6 4℃贮藏条件下的 Nisin 或 nisin-EDTA 包埋于玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧的 TVB-N 分析（Nisin:400 IU/mL;Nisin-EDTA：400 IU/mL Nisin，5 mg/mL EDTA）

Table 6 TVB-N content (mg/100 g)* of Takoyaki coated with nisin- or nisin/EDTA - incorporated zein or zein without additive during storage at 4 ℃ (Nisin: 400 IU/mL; Nisin/EDTA: Nisin, 400 IU/mL, EDTA, 5 mg/mL)

涂膜处理	贮藏时间/d						
	0	3	6	9	12	15	18
参考	0.82±0.01	1.18±0.01	2.52±0.06^{a}	4.87±0.03^{a}	7.25±0.05^{a}	11.03±0.09^{a}	13.59±0.09^{a}
Zein	0.82±0.01	1.07±0.04	1.26±0.10^{b}	2.52±0.08^{b}	3.92±0.07^{b}	5.29±0.10^{b}	8.29±0.52^{b}
Zein nisin	0.82±0.01	1.02±0.01	1.09±0.04^{c}	1.75±0.03^{c}	2.53±0.24^{c}	3.76±0.42^{c}	4.62±0.32^{c}
Zein-nisin + EDTA	0.82±0.01	1.09±0.05	1.11±0.03^{bc}	1.76±0.07^{c}	2.47±0.11^{c}	3.70±0.03^{c}	4.21±0.18^{c}

注：a、b、c、d 不同字母表示相同指标内的显著性差异（P<0.05）。

2.5 抗菌剂-玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧贮藏过程中重量损失研究

章鱼烧虽是煎炸类食品，其内部是面浆和新鲜蔬菜碎块在高温下凝聚而成的凝胶状的高含水量混合物，贮藏和冷冻过程中水分的散失极易导致章鱼烧内部凝胶状的改变，影响口感，降低产品品质。涂膜保鲜重要功能之一就是降低产品水分散失，如表 7 所示，在 18 d 的冷藏过程中，对照样品由于水分散失导致重量损失率达到 3.13%；醇溶蛋白涂膜能显著抑制章鱼烧水分散失现象，Zein 涂膜、Nisin-Zein 涂膜和

Nisin-EDTA-Zein 涂膜保鲜处理的章鱼烧在第 18 d 时重量损失率仅分别为 1.11%、1.28%和 1.35%。由此说明 Zein 涂膜能有效抑制章鱼烧贮藏过程中水分的散失，且抑菌剂的添加对玉米醇溶蛋白涂膜的水分透过性影响不大。

表 7 4℃贮藏条件下，含 Nisin，Nisin-EDTA 的 Zein 涂膜章鱼烧的重量损失率分析（Nisin：400 IU/mL；Nisin-EDTA：400 IU/mL Nisin，5 mg/mL EDTA）

Table 7 Weight loss (%) of Takoyaki coated with nisin- or nisin/EDTA -incorporated zein or zein without additive during storage at 4 ℃ (Nisin:400 IU/mL; Nisin/EDTA: Nisin, 400 IU/mL, EDTA, 5 mg/mL)

涂膜处理	Storage time/d					
	3	6	9	12	15	18
参考	0.55±0.01^{a}	0.71±0.05^{a}	1.51±0.06^{a}	1.94±0.07^{a}	2.73±0.15^{a}	3.13±0.15^{a}
Zein	0.10±0.00^{b}	0.26±0.02^{b}	0.41±0.02^{b}	0.66±0.02^{c}	1.01±0.08^{b}	1.11±0.08^{b}
Zein-nisin	0.10±0.00^{b}	0.20±0.02^{b}	0.33±0.01^{b}	0.76±0.02^{bc}	0.98±0.05^{b}	1.28±0.05^{b}
Zein- nisin + EDTA	0.07±0.02^{b}	0.27±0.05^{b}	0.37±0.03^{b}	0.86±0.05^{b}	1.15±0.17^{b}	1.35±0.17^{b}

注：a，b，c，d 不同字母表示相同指标内的显著性差异（P<0.05）。

2.6 抗菌剂-玉米醇溶蛋白涂膜章鱼烧贮藏过程中感官品质变化

4 种处理章鱼烧样品在 4 ℃贮藏条件下，感官品质评分变化如表 8 所示，3 种涂膜处理对章鱼烧感官品质略有作用，主要是因为涂膜液的溶剂为 85%的乙醇，在涂膜处理后乙醇的挥发导致章鱼烧特有的香味变得略清淡了些，但整体感官品质无差异。Zein 涂膜和含有抗菌素的 Zein 涂膜能显著性的抑制贮藏过程中章鱼烧的感官品质劣变速度。无任何处理的章鱼烧参考样品，第 6 d 后感官品质就低于优质章鱼烧范畴（<4 分），第 12 d 以后感官品质就降低至不可接受范畴，第 15 d 已不宜食用；而经 Zein 涂膜处理章鱼烧贮藏至 12 d 还处于优质章鱼烧范畴（4 分），贮藏 18 d 的 Zein 涂膜章鱼烧产品感官品质仍可接受；应用 Nisin-Zein 涂膜和 Nisin-EDTA-Zein 涂膜章鱼烧，在整个贮藏过程中，章鱼烧感官品质变化无明显差别，且贮藏至第 18 d 仍具有优质章鱼烧的品质。在贮藏后期对照章鱼烧样品表面发生局部塌陷，外观上变形严重，而经 Zein 涂膜处理章鱼烧依然保持较好外观形状，这与 Zein 膜对水分的阻隔性和具一定硬度起到支持作用有关[16]。

表 8 4℃贮藏条件下的 Nisin/Nisin-EDTA-Zein 涂膜章鱼烧的感官变化（Nisin：400 IU/mL；Nisin-EDTA：400 IU/mL Nisin，5 mg/mL EDTA）

Table 8 Sensory quality of Takoyaki coated with nisin- or nisin/EDTA– incorporated zein or zein without additive during storage at 4 ℃ (Nisin: 400 IU/mL; Nisin/EDTA: Nisin, 400 IU/mL, EDTA, 5 mg/mL)

涂膜处理	Storage time/d						
	0	3	6	9	12	15	18
参考	5.00±0.00	4.55±0.01	4.01±0.05	3.65±0.06^{a}	3.04±0.07^{a}	2.53±0.15^{a}	1.83±0.15^{a}
Zein	4.93±0.01	4.61±0.00	4.26±0.02	4.31±0.02^{b}	3.97±0.02^{c}	3.51±0.08^{b}	3.21±0.08^{b}
Zein-nisin	4.95±0.03	4.50±0.00	4.50±0.02	4.33±0.01^{b}	4.26±0.02^{bc}	4.15±0.05^{b}	4.01±0.05^{b}
Zein-nisin-EDTA	4.92±0.02	4.57±0.02	4.57±0.05	4.37±0.03^{b}	4.16±0.05^{b}	4.15±0.17^{b}	4.07±0.17^{b}

注：a，b，c，d 不同字母表示相同指标内的显著性差异（P<0.05）。

3 结论

Zein 涂膜能显著改善章鱼烧能贮藏过程中品质的劣变，尤其是对章鱼烧贮藏过程中水分蒸发导致失重和变形有很好的保护作用。天然抗菌素 Nisin 和 EDTA 的添加可以提高 Zein 涂膜的抗菌效果；在 4 ℃冷藏条件下，从 TVB-N 和感官品评分初步判断，Zein 涂膜可以将高品质章鱼烧货架期延长至 12 d，复配有 Nisin 或 Nisin-EDTA 的 Zein 涂膜可以将高品质章鱼烧货架期延至第 18 d。

参考文献

[1] 李苗苗,倪孔魏,赵明忠.等.章鱼烧安全加工的 HACCP 质量管理体系建立[J].食品工业,2014,8:45-48
LI Miao-miao, NI Kong-wei, ZHAO Ming-zhong, et al. Establishment of HACCP quality management system in safe

processing of takoyaki production [J]. The Food Industry, 2014, 8: 45-48

[2] Kushwaha AK, Kawtikwar PS. Zein as a natural film forming agent: a review [J]. International Journal of Pharmacy and Technology, 2013, 5(2): 2578-2593

[3] Luo Y, Wang Q. Zein-based micro- and nano-particles for drug and nutrient delivery: a review [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2014, 131(16): 40696

[4] Lu F, Ding Y, Ye X, et al. Cinnamon and nisin in alginate-calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets [J]. Food Science and Technology, 2010, 43: 1331-1335

[5] Economou T, Pournis N, Ntzimani A, et al. Nisin-EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life [J]. Food Chemistry, 2009, 114(4): 1470-1476

[6] Lin LS, Wang BJ, Weng YM. Quality preservation of commercial fish balls with antimicrobial zein coatings [J]. Journal of Food Quality, 2011, 34: 81-87.

[7] Dawson P L, Hirt DE, Rieck JR, Acton JC, Sotthibandhu A. Nisin release from films is affected by both protein type and film-forming method [J]. Food Research International, 2003, 36(9-10): 959-968

[8] AOAC 1990. Official methods of analysis, 15th Ed., pp. 1126-1256, 877-878, Assoc. of Official Analytical Chemists,Arlington,VA

[9] GB/T 4789.2-2010,食品卫生微生物学检验 菌落总数测定[S].中华人民共和国卫生部,中国标准出版社,2010
GB/T 4789.2-2010, National food safety standard, food microbiological examination: aerobic plate count [S]. Ministry of Health of PRC, Chinese Standards Press, 2010

[10] 魏广东.水产品质量安全检验手册[M].北京:中国标准出版社,2003
WEI Guang-dong. Quality supervision and test of aquatic products manul [M]. Beijing: Chinese Standards Press, 2003: 153

[11] Padgett T, Han Y, Dawson PL. Effect of lauric acid addition on the antimicrobial efficacy and water permeability of corn zein films containing nisin [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2000, 24(5): 423-432

[12] Zhou H, Fang J, Tian Y, et al. Mechanisms of nisin resistance in gram-positive bacteria [J]. Annals of Microbiology, 2014, 64(2): 413-420

[13] Boziaris IS, Adams MR. Effect of chelators and nisin produced in situ on inhibition and inactivation of gram negatives [J]. International Journal of Food Microbiology, 1999, 53(2-3): 105-113

[14] Kok TN, Park JW. Extending the shelf life of set fish ball [J]. Journal of Food Quality, 2007, 30(1): 1-27

[15] 张进杰,阙婷婷,曹玉敏,等.壳聚糖、Nisin 涂膜在鲢鱼块冷藏保鲜中的应用[J].中国食品学报,2013,13(8):132-139
ZHANG Jin-jie, QUE Ting-ting, CAO Yu-min, et al. Effect of chitosan and nisin coatings on the shelf life of silver carp (*Hypophthalmichthys Molitrix*) [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(8): 132-139

[16] Shi W, Dumont MJ. Review: bio-based films from zein, keratin, pea, and rapeseed protein feedstocks [J]. Journal of Materials Science, 2014, 49(5): 1915-1930