

不同初加工方式下莴笋亚硝酸盐含量变化研究

兰全学,陈 晶,刘丛丛,潘兰芳,刘灵燕,杨国武
(深圳市计量质量检测研究院,广东 深圳 518131)

摘要:为揭示莴笋贮藏过程中亚硝酸盐产生的本质原因,对莴笋进行保持原状、颗粒状、粉末状处理,并置于1、4和8℃条件下贮藏,分析莴笋中亚硝酸盐含量和菌落数的变化规律及二者的动态关系。结果表明:粉末状处理在8℃下贮藏时,莴笋最早检出亚硝酸盐,且亚硝酸盐积累量最大。莴笋中菌落总数变化与亚硝酸盐含量变化存在动态关系,3种初加工方式莴笋中微生物的生长速度快慢和亚硝酸盐含量高低及最早检出时间都表现为保持原状<颗粒状<粉末状。分离得到的6株细菌具有硝酸盐还原特性,为挑取总菌落数的6/10,初步推断硝酸盐还原菌的大量繁殖导致了莴笋中亚硝酸盐的积聚。

关键词:莴笋;亚硝酸盐;微生物

中图分类号:TS255.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)07-0117-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.07.0117

蔬菜是易于富集硝酸盐的植物,尤以叶菜类和根茎类蔬菜富集程度最高^[1]。研究表明,蔬菜中的亚硝酸盐含量不仅受到生产过程中的施肥、环境条件、田间管理等因素的影响,而且采后的贮藏、漂烫、浸泡和加工等因素都对其含量有不同程度的影响^[2-5],且后者的影响更为显著^[6]。目前,有关蔬菜栽培过程中硝酸盐积累和控制的相关研究比较多^[3],涉及蔬菜采后贮藏、烹饪方式和熟菜保存等链条化环节对亚硝酸盐的影响很少。中国人蔬菜食用方式复杂,烹饪手法多样。此外,现代快餐业也需要将蔬菜做成半熟品或熟品较长时间保存^[2]。因此,本文以莴笋为代表,研究不同初加工方式和贮藏温度对根茎类蔬菜中亚硝酸盐的影响,并探索亚硝酸盐含量与微生物之间的内在联系,以揭示莴笋中亚硝酸盐产生的本质原因,为科学合理保藏蔬菜以及快餐业的健康发展提供一定的理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试新鲜莴笋来源于同一产地同一批次。试验所用试剂和仪器有硝酸盐和亚硝酸盐快速测定试剂条(反应垫上为固体格利斯试剂)(美国 Industrial Test Systems 公司)、平板计数琼脂

(PCA)(北京陆桥技术有限责任公司)、血琼脂平板(郑州安图绿科生物工程有限公司)、VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定仪(法国生物梅里埃公司)和 SHP-250 生化培养箱(中国上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 预处理及贮藏 将莴笋洗净沥干去外皮,平均分成3份。每份按照3种不同初加工方式进行处理。处理1:去末端叶片部分,整株放置;处理2:切成大小约3~4 cm 颗粒;处理3:颗粒状处理后,在拍击式均质器中拍击2~3 min,制成粉末状样品。处理后的样品装入无菌取样袋中,分别于1、4、8℃条件下贮藏13 d。

1.2.2 亚硝酸盐含量的测定 采用亚硝酸盐和硝酸盐快速测定试剂法进行测定:取5 g 样品,必要时剪碎,加水定容至50 mL,混匀,用亚硝酸盐和硝酸盐快速测定试剂条进行比色测定。所得试验数据为两次测定结果的平均值,所得亚硝酸盐含量单位为 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以N计)。每日取样进行亚硝酸盐含量检测。

1.2.3 菌落总数的测定 无菌抽取莴笋样品25 g,置于225 g 生理盐水中均质1~2 min,根据样品状态进行10倍梯度稀释,选取适宜的稀释梯度,吸取1 mL 样液加入无菌培养皿中,迅速加入15 mL 冷却至45℃的PCA琼脂,混匀。平板凝固后倒置,37℃培养48 h,进行计数。前1~9 d 莴笋菌落总数每2 d 进行一次测定,10~13 d 莴笋菌落总数每天测定一次。

1.2.4 代表性菌落的挑取、培养和鉴定 选取亚

收稿日期:2015-01-09

基金项目:国家质检总局科技计划项目(2013QK275)

第一作者简介:兰全学(1977-),男,四川省富顺县人,硕士,高级工程师,从事食品检测研究。E-mail:61723585@qq.com。

通讯作者:杨国武(1968-),男,博士,教授级高级工程师,从事食品检测工作。E-mail:yangguowu126@126.com.cn。

硝酸盐测量值最高的莴笋样品,按 1.2.3 方法制样获取 PCA 平板。根据平板上菌落颜色、大小、形状、透明度、生长位置等特征,按菌落特征比例挑取 10 个具有代表性的单菌落,挑取的菌落基本反映 PCA 平板上整体菌落特性。将 PCA 平板上挑取的单菌落进行纯化培养,获得的纯化菌株进行革兰氏染色,用 VITEK 2 Compact 进行生化鉴定。

1.2.5 纯化菌株硝酸盐还原特性检测 将纯化菌株接种于硝酸盐肉汤生化管中,37℃培养 24 h,加入硝酸盐还原甲、乙液,观察颜色变化。生化管变红则为阳性反应,反之则为阴性。

2 结果与分析

2.1 贮藏过程中菌落总数的变化

由表 1 可知,各莴笋处理组的初始菌落总数均为 $10^3\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 。3 种贮藏温度条件下,保持原状

的莴笋其菌落总数都是在贮藏的前 3 d 先小幅度增加,后逐渐减少,最后都保持在 $10^2\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$,贮藏后期其细菌生长基本处于停滞状态。颗粒状处理的莴笋其菌落总数在 1℃贮藏过程中随着时间的延长逐渐减少,但在 4 和 8℃贮藏过程都有不同程度的增加,且温度越高增加的速度越快,两种温度下贮藏到第 12 天时菌落总数可分别达到 10^7 和 $10^8\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 。粉末状处理的莴笋其菌落总数在 3 种贮藏温度下都呈现增加趋势,1℃贮藏时在第 12 d 可达到 $10^7\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$,4℃贮藏时在第 10 天就可达到该浓度,而 8℃贮藏时仅需 7 d 即可达到 $10^7\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$,第 10 天时能达到 $10^8\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

综合来看,3 种初加工方式莴笋中微生物的生长速度快慢表现为保持原状<颗粒状<粉末状,且相同加工方式下温度越高微生物生长越快,这与他人研究结果相一致^[7]。

表 1 不同莴笋处理组菌落总数的变化情况

Table 1 The change of total bacteria of different treatments

贮藏时 间/d Time	菌落总数/(cfu·g ⁻¹) Total bacteria								
	1℃			4℃			8℃		
	原状	颗粒状	粉末状	原状	颗粒状	粉末状	原状	颗粒状	粉末状
1	2.2×10^3	3.2×10^3	4.9×10^3	3.3×10^3	3.3×10^3	4.4×10^3	5.3×10^3	5.3×10^3	4.8×10^3
3	2.0×10^4	4.7×10^3	5.2×10^3	8.5×10^4	1.1×10^4	1.2×10^4	2.8×10^5	8.8×10^4	2.8×10^5
5	1.3×10^3	3.6×10^3	3.6×10^4	1.4×10^4	2.4×10^4	4.9×10^5	8.3×10^4	5.3×10^5	2.6×10^6
7	1.5×10^3	4.5×10^3	4.2×10^4	6.7×10^3	2.7×10^5	6.5×10^6	7.2×10^4	7.2×10^6	1.3×10^7
9	3.2×10^2	2.9×10^2	2.9×10^5	5.0×10^2	4.4×10^6	9.2×10^6	6.7×10^3	1.7×10^7	7.7×10^7
10	2.7×10^2	3.7×10^2	4.5×10^6	3.7×10^2	6.8×10^6	3.6×10^7	5.8×10^3	8.8×10^7	4.3×10^8
11	2.2×10^2	2.7×10^2	6.9×10^6	2.2×10^2	8.2×10^6	5.4×10^7	9.3×10^2	1.0×10^8	7.5×10^8
12	1.7×10^2	1.6×10^2	1.2×10^7	2.0×10^2	2.9×10^7	-	4.7×10^2	4.3×10^8	-

2.2 贮藏过程中莴笋中亚硝酸盐含量的变化

由表 2 可知,保持原状的莴笋不管在何种温度下贮存其亚硝酸盐含量都几乎无变化,未能检测到亚硝酸峰值。颗粒状处理的莴笋在 1℃贮藏过程中亚硝酸盐含量也无变化,不会形成亚硝酸峰值;4 和 8℃贮藏时可以检出亚硝酸盐的时间分别为第 12 和第 9 天,对应的菌落总数皆为 $10^7\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$;且 8℃贮藏时颗粒状的莴笋亚硝酸盐含量最高可达 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,此时菌落总数为 $10^8\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 。粉末状处理的莴笋在 1、4 和 8℃贮藏过程中皆可检出亚硝酸盐,检出时间分别为贮藏的第 9、6 和 4 天,且此时对应的菌落总数为 $10^5\sim10^6\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$,当

菌落总数为 $10^7\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}$ 时可形成亚硝酸峰值,亚硝酸盐含量最高可达 $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

综合来看,3 种初加工方式莴笋中亚硝酸盐含量高低和最早检出时间皆表现为保持原状<颗粒状<粉末状,这与不同初加工方式下莴笋中微生物生长速度的表现形式一致,表明莴笋中亚硝酸盐含量的增加与微生物的生长繁殖密切相关。

2.3 莴笋样品中亚硝酸盐还原菌分析

取亚硝酸盐为 $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的莴笋样品获得的 PCA 平板进行菌落分析。在计数范围内的 PCA 平板上共读取单菌落 43 个。根据菌落的生长位置分为两类;第一类为表面生长菌落,约 31 个;第

二类为夹层生长菌落,约 12 个。根据菌落颜色、大小、形状、透明度等特征挑取 7 个表面生长菌落和 3 个夹层生长菌落进行纯化分析。由表 3 可知,共有 3 个革兰氏阴性杆菌和 3 个革兰氏阳性

短杆菌具有硝酸盐还原性,占挑选菌株的 6/10,在总数上占据优势,表明莴笋中亚硝酸盐含量的增加很可能与这些细菌的生长繁殖情况有关。

表 2 不同莴笋处理组亚硝酸盐含量变化情况
Table 2 The change of nitriteof different treatments

贮藏时间/d Time	亚硝酸盐含量(mg•kg ⁻¹ ,以 N 计) Nitrite content								
	1℃			4℃			8℃		
	原状	颗粒状	粉末状	原状	颗粒状	粉末状	原状	颗粒状	粉末状
1	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
2	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3
4	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	15
5	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	60
6	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	5	<0.3	<0.3	60
7	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	5	<0.3	<0.3	70
8	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	<0.3	15	<0.3	<0.3	80
9	<0.3	<0.3	5	<0.3	<0.3	15	<0.3	5	80
10	<0.3	<0.3	5	<0.3	<0.3	30	<0.3	15	70
11	<0.3	<0.3	10	<0.3	<0.3	30	<0.3	30	-
12	<0.3	<0.3	15	<0.3	5	-	<0.3	50	-
13	<0.3	<0.3	15	<0.3	5	-	<0.3	50	-

表 3 10 个单菌落鉴定结果分析
Table 3 Analysis on identification results of ten colony

单菌落 Colony No.	菌落形态 Colony morphology	革兰氏染色 Gram stain	硝酸盐还原试验 Reductiontest of nitrate	生化鉴定(VITEK2 compact) Biochemical identification
1	黄色,菌落较大,湿润,呈环状	G ⁻ ,短杆状	-	普城沙雷菌
2	黄色,菌落较大,湿润,圆形	G ⁺ ,短杆状	+	无鉴定结果
3	灰白色,菌落较大,湿润	G ⁺ ,短杆状	+	无鉴定结果
4	灰白色,菌落小,扁平干燥	G ⁻ ,短杆状	+	水生拉恩菌
5	白色,菌落较小,扁平	G ⁺ ,杆状	-	假肠膜明串珠菌
6	白色,圆形凸起,较透明	G ⁻ ,杆状	-	无鉴定结果
7	白色,菌落小,凸起	G ⁻ ,杆状	+	成团泛菌
8	夹层生长,针尖状菌落,浅黄色	G ⁻ ,短杆状	+	非脱羧勒菌
9	夹层生长,圆形菌落	G ⁺ ,短杆状	-	肠膜明串珠菌
10	夹层生长,灰白色小菌落	G ⁺ ,杆状	+	无鉴定结果

3 结论与讨论

3 种初加工方式莴笋中微生物的生长速度快慢表现为保持原状<颗粒状<粉末状。同时,莴笋中亚硝酸盐含量高低和最早检出时间也都表现

为保持原状<颗粒状<粉末状,由此可知,微生物的快速增长是莴笋中亚硝酸盐含量增加的本质原因^[8]。比较亚硝酸盐初始检出时间、亚硝酸盐峰值出现时间与菌落总数的数量关系发现,莴笋中

菌落总数变化与亚硝酸含量变化存在动态关系。颗粒状莴笋和粉末状莴笋中检出亚硝酸盐时菌落总数分别需要达到 10^7 和 $10^5 \sim 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$; 亚硝酸盐含量达到峰值时二者的菌落总数分别为 10^8 和 $10^7 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 。这种差异很大的可能性在于粉末状处理的莴笋其内源硝酸盐还原酶得到更多的释放,加速了亚硝酸盐的形成^[9-10]。同时,这也表明莴笋在低温贮存过程中微生物的生长繁殖情况是其亚硝酸峰值形成的关键因素,这与其他人的研究结论相符合^[8]。

保持原状的莴笋无论在何种温度下贮存都不能检测到亚硝酸峰值。颗粒状处理的莴笋在 1°C 贮藏过程中也不会形成亚硝酸峰值, 4°C 和 8°C 贮藏时可以检出亚硝酸盐的时间分别为第 12 和 9 天,亚硝酸盐含量最高为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 而粉末状处理的莴笋在 1°C 和 8°C 贮藏过程中皆可检出亚硝酸盐,检出时间分别为贮藏的第 9、6 和 4 天,亚硝酸盐含量最高可达 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。由此可知,贮存温度和粗加工方式都对莴笋中亚硝酸盐的含量有重大影响,相同条件下,贮存温度越高莴笋中亚硝酸盐含量越高且检出时间越早;加工程度越精细莴笋贮存过程中积聚的亚硝酸盐越多。

从高亚硝酸盐粉末状莴笋中挑取有代表性的 10 个菌落,6 株确定为硝酸盐还原菌,表明硝酸盐还原菌在莴笋样品中数量上占优势,进一步证实了样品中亚硝酸盐的大量积累是硝酸盐还原菌快速生长所致。

莴笋经颗粒状和粉末状处理后,在冰箱内长期存放会导致亚硝酸盐的积累。建议家庭或餐饮服务单位将莴笋保持原状贮藏最为适宜。若需要初加工处理,数量不宜过多,且贮藏温度尽可能低,及早食用为佳。

参考文献:

- [1] 张睿,刘好,丁照耘. 17 种蔬菜亚硝酸盐含量测定及评价[J]. 甘肃农业科技,2012(9):24-26.
- [2] 潘静娴,张艳,毛虹斌,等. 不同处理方式对几种根茎类蔬菜亚硝酸盐含量的影响[J]. 食品科学,2011,32(9):118-121.
- [3] 冯晓群,雍东鹤. 蔬菜中硝酸盐和亚硝酸盐的来源及监控措施[J]. 甘肃科技,2011,27(4):143-147.
- [4] 刘受文,陈析,刘小玲. 漂烫及冷藏处理后蔬菜亚硝酸盐的含量变化[J]. 应用科技,2002,29(12):42-43.
- [5] 沈明珠,翟宝杰,东惠茹,等. 不同蔬菜硝酸盐和亚硝酸盐含量评价[J]. 园艺学报,1982,9(4):41-48.
- [6] Jaworska G. Effect of technological measures and storage time on the level of nitrates, nitrites, and oxalates in frozen and canned products of spinach and New Zealand spinach[J]. Food Chemistry, 2005, 93(3):395-401.
- [7] 林周孟,吴叶仙,李建勇,等. 存放时间及存放温度对蔬菜亚硝酸盐含量的影响[J]. 职业与健康,2008,24(24):2676-2678.
- [8] 燕平梅,薛文通,张慧,等. 不同贮藏蔬菜中亚硝酸盐变化的研究[J]. 食品科学,2006,27(6):242-246.
- [9] 游京晶,王晓丽,陆利霞,等. 亚硝酸盐含量及硝酸盐还原酶活性的研究[J]. 食品工业科技,2011,32(6):364-451.
- [10] 别同玉,许加生,杨丽莉,等. 储藏时间对不同种类蔬菜中亚硝酸盐含量的影响[J]. 食品研究与开发,2012,33(12):205-207.

Study on the Nitrite Content of *Lactuca sativa* L. var. by Different Primary Processing

LAN Quan-xue, CHEN Jing, LIU Cong-cong, PAN Lan-fang, LIU Ling-yan, YANG Guo-wu
(Shenzhen Academy of Metrology and Quality Inspection, Shenzhen, Guangdong 518131)

Abstract: In order to reveal the reason of producing nitrite of *Lactuca sativa* L. var. in storage, Asparagus lettuce were pretreated by stay the original state, granular, powdery and stored in 1°C , 4°C and 8°C . The nitrite content was detected and the change pattern of total plate count was analyzed in asparagus lettuce. The results indicated that the nitrite was detected initially and the maximum accumulation was obtained in 8°C . The nitrite content and total number of colonies had dynamic relationship. The microbial growth, nitrite content and the earliest detection time of nitrite in asparagus lettuce which pretreated by different primary processing were all appeared to stay the original state < granular < powdery. Almost six strains had the characteristic of nitrate reduction, accounted for 6/10 of total colony. Reproduction of nitrate reducing bacteria caused nitrite accumulation in asparagus lettuce.

Keywords: asparagus lettuce, nitrite, microorganism, dynamic relationship