

蔬菜腌渍过程亚硝酸盐生成规律与危害防治

武汉市江汉区卫生防疫站 李基银

摘要 本文为三年实验工作小结。据实验观察,腌菜中 NO_2^- 高于同种鲜菜,一般高出几倍至几十倍;不同种属腌菜 NO_2^- 含量不同,叶菜高于根茎菜;蔬菜在腌渍过程中都会出现 NO_2^- 高峰现象(简称“亚硝峰”);亚硝峰出现时间随食盐浓度加大而延缓,其含量以5~10%盐腌菜为高;高温环境腌菜较低温腌菜亚硝峰出现早、峰值低、高峰持续时间短;较高的酸度和糖度可降低 NO_2^- 含量;腌渍过程受害菌污染可使 NO_2^- 上升。正确腌制,防止劣变,可降低 NO_2^- 含量;合理食用,避开亚硝峰,可减少摄入量。于 10°C 左右腌菜(盐量5~10%,叶菜与根茎菜分别于1个月与20天后开坛食用适宜。

亚硝酸盐(NO_2^-)是由植物中的硝酸盐(NO_3^-)经寄生菌还原酶的作用而生成。 NO_2^- 对人体健康的危害,始由1943年Wilson指出蔬菜中的 NO_3^- 被细菌还原成 NO_2^- ,使动物血中产生高铁血红蛋白而致机体中毒;1956年Magee实验证实二甲基亚硝胺使大鼠致癌^[1]。自此以后,作为构成亚硝胺前身物的 NO_2^- 在环境中的存在引起了人们的关注。

酱腌菜是我国人民喜食的佐餐调味副食品。自从医学卫生界关于腌菜中含有 NO_2^- 和亚硝胺以及对食管癌、胃癌高发区病因调查,认为发病与长期食用腌菜有关的报告^[2, 8]相继发表以后,又引起了人们对酱腌菜致癌问题的重视。为此,调查腌菜 NO_2^- 的生成规律及其影响因素,对于制订预防措施,保障食者安全,有实际意义。

一、方法

为比较新鲜蔬菜与腌菜的 NO_2^- 含量和调查蔬菜在不同的盐量、温度、酸度、糖量及受害菌污染等因素下 NO_2^- 的生成情况,我们选用新收获的大白菜、白萝卜,洗净凉干后分别用3%, 5%, 8%, 10%, 15%的盐水泡渍于

陶瓷扑水盖钵坛内。按上法配制四组,分别置于5、10、15、 20°C 左右的温度环境中。另配制加入一定量的食醋、白糖盐腌菜及人为污染的腌菜。上述样品均于腌渍的第一天起逐日测定发酵产酸量与 NO_2^- 含量,同时测定鲜菜 NO_2^- 含量,作比较观察。

NO_2^- 测定用萘乙二胺法,72型分光光度计540毫微米波长比色。

二、结果

1. 腌菜中的 NO_2^- 含量高于同种属鲜菜。以腌白菜为例,从表1可看出,无论盐量多少,气温高低,腌白菜 NO_2^- 含量均高于鲜白菜,一般高出几倍至几十倍,温高差距小,温低差距大。

表1 鲜菜与腌菜亚硝酸盐含量比较(ppm)

室温		5℃			13℃		
项目		检测 天数	含量范围	平均	检测 天数	含量范围	平均
鲜萝卜		28	0~ 0.14	0.04	45	0.02~ 0.32	0.16
腌萝卜	3%	18	0.02~ 7.14	1.46	47	0.04~ 0.85	0.16
	5%	34	0.05~ 1.54	0.45	47	0.04~ 0.57	0.16
	10%	34	0.02~ 1.72	0.32	47	0.04~ 0.55	0.19
	15%	34	0.02~ 1.00	0.19	47	0.09~ 0.50	0.22
鲜白菜		28	0~ 0.64	0.10	45	0~ 0.42	0.13
腌白菜	3%	18	0.01~ 1.17	0.37	51	0.07~ 9.14	0.96
	5%	34	0.05~11.6	4.25	51	0.09~10.33	1.16
	10%	34	0.06~14.48	5.51	51	0.19~ 1.04	0.46
	15%	34	0.03~ 1.41	0.56	51	0.15~ 0.95	0.38

2. 不同种属或同株不同部位的腌菜, NO_2^- 含量不同。如叶菜(腌白菜)高于根茎菜(腌萝卜)(图1、图2);腌白菜的梗部高于叶部(表2);菜体与渍液比较,温度低时菜体中 NO_2^-

高于渍液(表3),温高时渍液中 NO_2^- 高于菜体(表4)。

3. 蔬菜在腌渍过程中,都会出现一个明显的 NO_2^- 高峰现象(下文简称“亚硝峰”),高峰后逐渐下降,呈抛物线状。

4. 腌菜中 NO_2^- 的生成速度与含量受食盐浓度影响。从图1、图2可以看出,不论什么种属的腌菜,亚硝峰的出现时间均随食盐浓度的加大而延迟;而亚硝峰值,腌白菜随食盐浓度的加大顺序上升,腌萝卜随食盐浓度的加大依次下降;观全程累积量均以5~10%盐腌菜为高。

表2 15%腌白菜叶、梗 NO_2^- 含量(ppm)

部 位	第30天	第31天	第32天	第33天	第34天	平均
菜 叶	0.76	0.62	0.78	0.74	0.65	0.71
菜 梗	1.01	0.63	1.08	0.78	0.73	0.85

表3 腌菜与腌渍液 NO_2^- 含量比较(ppm)
(室温5~8°C)

腌渍时间	10%白菜		15%白菜	
	腌菜	腌渍液	腌菜	腌渍液
第53天	0.34	0.19	0.53	0.15
第54天	0.50	0.30	0.63	0.32
第55天	0.19	0.04	0.76	0.21
第56天	0.04	0.07	0.38	0.07
第57天	0.34	0.36	0.53	0.22
第58天	0.15	0.21	0.46	0.17
平 均	0.26	0.20	0.55	0.19

表4 15%腌白菜及其腌渍液 NO_2^- 含量(ppm)
(37°C保温)

项 目	12小时	24小时	36小时	48小时	60小时	72小时	84小时	合计
腌白菜	0.63	0.45	0.30	1.45	4.44	7.99	11.65	26.91
腌渍液	0.24	0.09	0.15	2.16	6.91	11.65	13.35	34.55

5. 在较高温度环境下制作腌菜比低温腌菜亚硝峰出现早、峰值低、高峰持续时间短。从图3、图4可以看出,5%盐白菜在气温20、13、10、5°C腌渍,亚硝峰出现时间分别为第

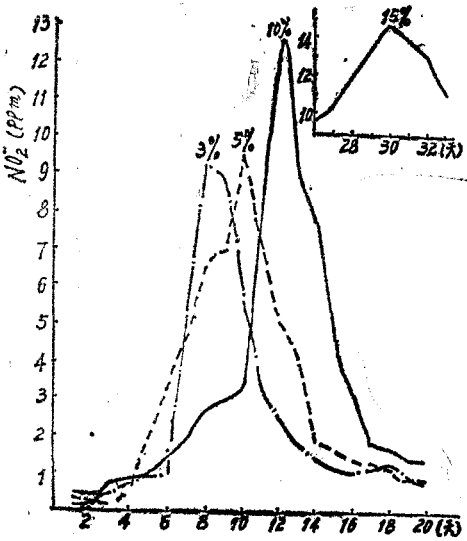


图1 不同盐液腌白菜 NO_2^- 出现情况(10°C)

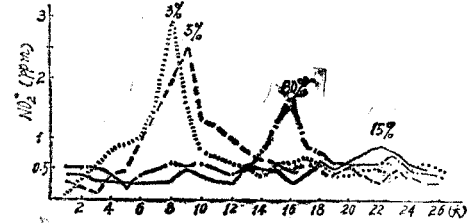


图2 不同盐液腌萝卜 NO_2^- 出现情况(10°C)

6、7、10、15天,亚硝峰值分别为1.4、10.3、9.5、11.6ppm;又如3%盐萝卜于气温13、10、5°C下腌渍,亚硝峰分别于第3、8、10天出现,峰值分别为0.85、2.9、6.5ppm。

6. 较高的酸性环境可以降低 NO_2^- 含量。实验表明,凡能促使腌菜旺盛发酵迅速产生较多乳酸的各种措施,如较高的温度(图5)、向渍液中添加食醋与糖质(图6),均能降低腌菜中的 NO_2^- 含量。

7. 腌渍过程受害菌污染,可使 NO_2^- 含量上升。我们将已经腌熟, NO_2^- 已稳定下降的腌白菜于第19天去掉钵盖,让菜体、渍液接触空气,几天之后,液面出现白霉, NO_2^- 急骤上升,由第20天的1ppm左右,回升到几个至十几个即ppm(图7)。我们又将洗净与未洗的白萝卜分别用8%盐水腌渍,逐日测定 NO_2^- 含量,发觉后者明显高于前者(图8)。

8. 腌菜经水洗和炒熟后可去掉一部分

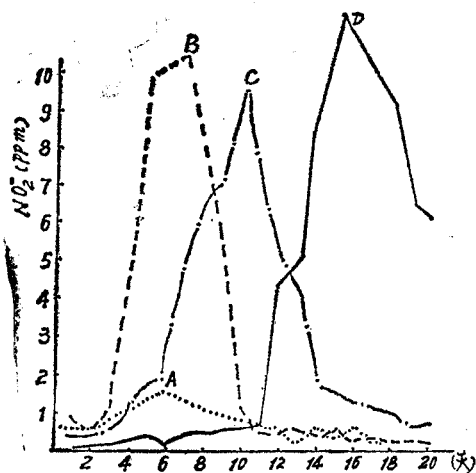


图3 5%盐腌白菜在不同温度下 NO_2^- 出现情况
A. 20°C B. 13°C C. 10°C D. 5°C

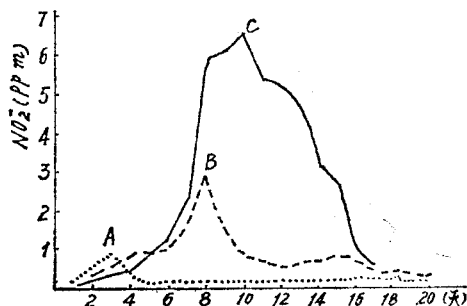


图4 盐3%腌萝卜在不同温度下 NO_2^- 生成情况
A. 13°C B. 10°C C. 5°C

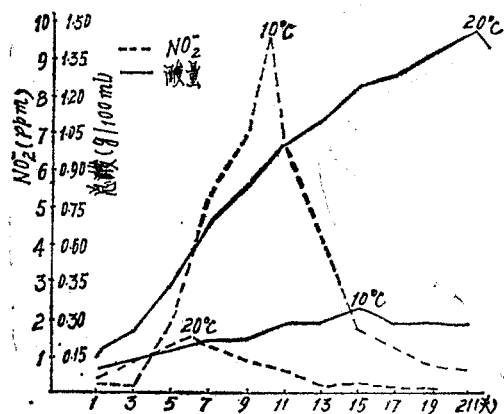


图5 5%盐腌渍白菜期间 NO_2^- 与酸量生成曲线(1983)

NO_2^- ，久置，又可使含量回升(表5)。

三、讨论

1. 腌菜较之鲜菜，由于水份、盐份、养料

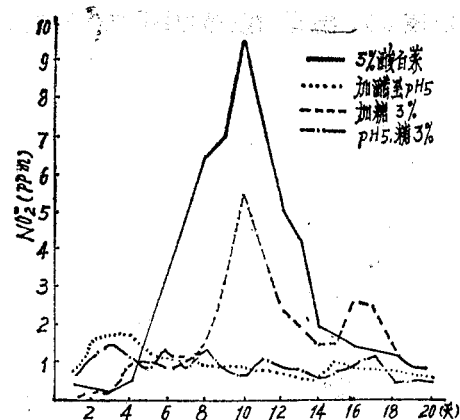


图6 5%盐液酸白菜在糖醋液中 NO_2^- 出现情况(10°C)

表5 5%腌白菜洗炒 NO_2^- 变化情况(ppm)

未洗	水洗	炒熟	炒熟后放置						
			室温	12小时	24小时	36小时	48小时	60小时	72小时
4.2	2.0	1.2	10°C	1.2	1.5	1.6	1.8	1.8	2.0
			20°C	1.4	1.8	2.2	2.4	2.7	5.3

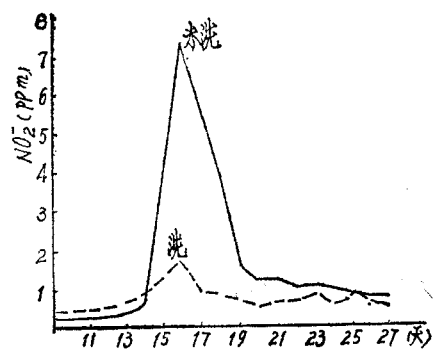


图8 洗与未洗的萝卜用8%盐水腌渍 NO_2^- 出现情况(10°C)

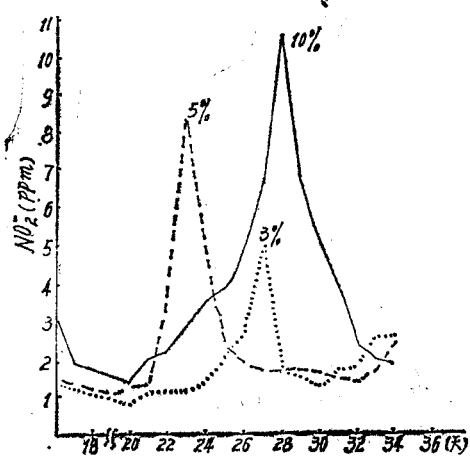


图7 盐腌白菜接触空气生霉 NO_2^- 回升(10°C)

等充足,故腌菜中微生物活跃。虽然腌菜的发酵过程主要是乳酸发酵,乳酸菌不具有细胞色素氧化酶系统因而不还原 NO_3^- 为 NO_2^- ,乳酸菌不具有氨基酸脱羧酶,因而也不产生胺,但目前工厂及民间制作腌菜并非接入纯乳酸菌株,自然混入大量杂菌。所以,腌菜在发酵过程中,菜株中的 NO_3^- 可被某些微生物还原为 NO_2^- ,蛋白质可分解为各种胺类,在酸性环境中具备了合成亚硝胺的条件,尤其在腌制条件控制不当至腌菜劣变时,还原与合成作用更为明显。现有的调查^[2,3]已表明,国内某些食管癌、胃癌高发区的腌菜中含亚硝胺及其前体均较高,认为发病与长期食用腌菜摄入大量 NO_2^- 有一定关系。因此,一方面要加强宣传,正确腌制与合理食用知识,一方面在食管癌及胃癌高发区,应提倡居民多吃新鲜蔬菜,尽量不吃或少吃腌酸菜。

2. 关于腌菜亚硝峰出现时机的商榷。文献^[3]记载,“腌菜过程中,最初2~4天,亚硝酸盐含量有所增加,7~8天,含量最高,至9天后,则趋于下降。所以食盐浓度在15%以下时,初腌制的腌菜(8天以内),易于引起中毒”。我们实验表明,腌菜亚硝峰的出现时机受多种因素影响。因此,笼统定为8天左右的提法,有待商榷。假定民间制作腌菜已有预防微生物污染常识,那么温度和盐量就成为影响亚硝峰出现时机的重要因素。我们曾配制3、5、10、15%盐萝卜,分别置于5、10℃的温度环境,逐日测定 NO_2^- 含量,结果腌萝卜分别对第14、17、28、29天与第8、9、18、22天出现亚硝峰。实际如此,历年气温有变化,南北方气温有差异,各户腌菜时节有早晚,这些不大一致的温度环境,必然影响微生物活力。“7~8天含量最高”的提法,仅适用10℃以上的温度环境制作5%以下的低盐腌菜。同时须指出,文献^[3]称,“15%的盐水不论温度在15~20℃或37℃,亚硝酸盐含量均无明显变化”。我们实验表明(表4),15%食盐浓度的腌白菜在37℃下保温48小时后, NO_2^- 明显上升。

3. 为减少和控制 NO_2^- 对人体健康的危害,

食用腌菜时,应避开亚硝峰及其高峰持续期。据实验观察,蔬菜在腌渍过程中, NO_2^- 主要聚集在高峰持续期,高峰前后含量甚微。如测定10%食盐浓度的腌白菜(5℃环境),全程36天 NO_2^- 总量187.13毫克(日均1.00ppm),高峰持续19天含 NO_2^- 183.89毫克(日均12.71ppm),时间上高峰期占全程一半,而在含量分配上高峰期却占总量的98%。可见,食用腌菜避开高峰期是何等重要。据实验观察,3~10%盐腌菜,温度在10℃左右时,叶菜和根茎菜分别于1个月与20天后开坛食用为好。也可根据盐量和温度变化适当提前或推后。总之,须待旺盛乳酸发酵致腌菜成熟后食用较为安全。

4. 对同品种不同食盐浓度的腌菜 NO_2^- 含量不同现象的认识。腌菜的腌渍原理^[4],一是利用有益微生物——乳酸菌,在较低食盐浓度(2~4%)下进行乳酸发酵,达到保藏制品的目的;一是利用食盐溶液具有高度的渗透压,采用较高浓度(10~15%)的盐水来抑制微生物的生长,达到保存制品的目的。前者腌菜在腌制初期,由于盐度低,许多有害菌类未被完全抑制,其中一些 NO_3^- 还原菌将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ,使其含量迅速上升,脱氮菌类的继续活动,将 NO_2^- 还原为氨或氮。同时,乳酸菌在2~4%盐水中发育迅速,乳酸发酵作用快,迅速形成的酸性环境可以抑制不耐酸菌的生长和分解部份 NO_2^- 。上述作用导致低盐量腌菜 NO_2^- 生成快、消失快、峰值低。15%高盐量腌菜,由于同时抑制了乳酸菌和 NO_3^- 还原菌的活动,致使乳酸发酵及 NO_3^- 还原过程缓慢而微弱。而介于5~10%的盐腌菜,乳酸菌活动稍有减弱,酸性环境形成慢,一些能够耐盐、耐酸、厌氧之类的还原菌活动相对加强,使 NO_2^- 逐渐积累而形成高峰。

5. 对同浓度不同品种的腌菜 NO_2^- 含量不同现象的认识。蔬菜的腌渍,其发酵作用与含糖量成正比关系^[4]。是否可以说,腌菜中的 NO_2^- 含量与蔬菜的含糖量成反比关系。白萝卜含糖量(6%)高于大白菜(3%),制成腌菜后,腌白菜 NO_2^- 则远远高于腌萝卜。C.II.科斯蒂切

附表 白萝卜、大白菜在不同盐液与温度下腌渍NO₂-生成情况(ppm)(1986)

温 度	品 种	食盐 浓度	测 定 天 数	含量范围	累积量	中 位 数	明显上升		亚硝峰		高峰 持 续			明显下降	
							出现时间	含量	出现时间	含量	时 期	天数	含量范围	累积量	中位数
							出现时间	含量	出现时间	含量	时 期	天数	含量范围	累积量	中位数
5℃	白萝卜	3%	18	0.02~7.14	49.76	1.20	第5天	0.78	第14天	7.14	第5~16天	12	0.78~7.14	48.07	5.00
		5%	36	0.05~1.54	15.27	0.35	第8天	1.51	第17天	1.54	第8~19天	12	0.34~1.54	10.68	0.98
		10%	36	0.02~1.73	10.73	0.29	第24天	0.60	第28天	1.73	第24~30天	7	0.60~1.73	5.13	0.75
		15%	36	0.02~1.00	6.58	0.21	第26天	0.62	第29天	1.00	第26~29天	4	0.62~1.00	2.50	0.89
	大白菜	3%	18	0.01~1.17	6.59	0.20	第10天	0.70	第15天	1.21	第10~18天	9	0.16~1.21	5.50	0.65
		5%	36	0.05~11.6	144.44	4.63	第11天	0.76	第15天	11.60	第11~38天	26	0.76~11.60	137.65	5.19
		10%	36	0.06~14.48	187.13	1.00	第18天	0.71	第35天	14.48	第18~36天	19	0.71~14.48	183.89	12.71
		15%	36	0.03~1.41	18.94	0.40	第22天	0.71	第36天	1.41	第22~36天	15	0.27~1.41	12.07	0.88
10℃	白萝卜	3%	36	0~2.9	22.5	1.58	第4天	0.80	第8天	2.90	第4~10天	7	0.8~2.9	9.3	1.05
		5%	36	0~2.5	23.3	0.51	第6天	1.00	第9天	2.50	第6~12天	7	1.0~2.5	10.4	1.35
		8%	36	0.2~1.7	21.9	0.40	第14天	0.80	第16天	1.70	第14~18天	5	0.8~1.7	5.5	0.95
		10%	36	0~5.2	29.6	0.66	第15天	0.90	第18天	5.20	第15~20天	6	0.9~5.2	13.4	1.60
	大白菜	15%	36	0~0.9	15.69	0.45	第20天	0.70	第22天	0.90	第20~24天	5	0.7~0.9	3.3	0.83
		3%	36	0.2~9.2	88.8	1.53	第6天	1.00	第8天	9.20	第6~19天	14	1.0~9.2	16.9	1.50
		5%	36	0.2~9.5	98.5	1.71	第5天	0.90	第10天	9.50	第5~19天	15	0.9~9.5	56.9	1.98
		8%	36	0.2~13.9	89.1	1.75	第6天	0.90	第11天	13.90	第6~20天	15	0.9~13.9	40.2	2.55
	白萝卜	10%	36	0.2~12.7	127.3	2.60	第5天	1.40	第12天	12.70	第5~20天	16	1.4~12.7	64.4	2.70
		15%	36	0.05~14.8	198.7	2.00	第19天	1.30	第30天	14.80	第19~36天	18	1.3~14.8	180.9	10.8
13℃	白萝卜	3%	54	0.04~0.85	7.34	0.14	第2天	0.46	第3天	0.85	第2~4天	3	0.26~0.85	1.57	0.52
		5%	54	0.04~0.57	7.22	0.13	第2天	0.26	第3天	0.50	第2~4天	3	0.26~0.50	1.04	0.35
		10%	54	0.04~0.55	8.86	0.18	第3天	0.26	第4天	0.36	第3~6天	4	0.19~0.36	1.02	0.26
		15%	54	0.09~0.50	10.49	0.20	第40天	0.28	第51天	0.50	第40~54天	13	0.22~0.50	4.37	0.34
	大白菜	3%	58	0.07~9.14	49.01	0.32	第2天	1.29	第4天	9.14	第2~8天	7	0.63~9.14	35.25	4.41
		5%	58	0.09~10.33	59.19	0.35	第1天	0.90	第7天	10.33	第1~10天	10	0.34~10.33	45.21	4.52
		10%	58	0.19~1.04	23.63	0.49	第11天	0.63	第28天	0.85	第11~47天	37	0.22~0.85	16.22	0.52
		15%	58	0.15~0.95	19.41	0.31	第34天	0.57	第48天	0.95	第11~58天	25	0.26~0.95	11.83	0.59

→ 表示继续上升

夫院士等曾研究证实^[5]，“在有显著数量的糖存在时，不论是亚硝酸或者氨都不蓄积起来。在这些条件下，这两种产物都继续发生转化。”

上述实验与理论，给我们启示：欲降低腌制品中 NO_2^- ，在腌制过程中，除注意保持厌氧环境、掌握食盐浓度、控制温度、防止害菌污染等环节外，适量加点食醋和白糖，对促进乳酸发酵，提高渍液酸度，抑制害菌生长，阻止 NO_3^- 还原及加速脱氮过程，不无裨益。

四、小结

1. 腌菜 NO_2^- 含量均高于同种新鲜蔬菜，一般高出几倍至几十倍。
2. 腌菜过程一般都出现亚硝峰现象。
3. 亚硝峰的产生与腌菜环境的盐量、温度、

糖量、酸度、害菌污染等因素有关。

4. 凡能促使乳酸迅速而旺盛发酵及阻止腌菜劣变的一切措施，均可降低 NO_2^- 含量。

5. 合理食用，避开亚硝峰，可减少摄入量。

参考文献

- 〔1〕许后效等：硝酸盐、亚硝酸盐与人类环境。环境科学2:59, 1979
- 〔2〕中国医学科学院肿瘤研究所化学病因室：食管癌病因的进一步研究。中华医学杂志58(10):593, 1978
- 〔3〕武汉医学院主编：营养与食品卫生学，1版，335~337页，人民卫生出版社，北京，1981
- 〔4〕轻工业部上海食品工业学校编：食品工艺学，1版，202~210页，中国财政经济出版社，北京，1963
- 〔5〕C.П. 科斯蒂切夫院士著，周丰译：微生物的生理学生物化学著作集（卷二），1版，121~136页，科学出版社，北京，1964

肽混合物的过氧化氢脱色试验

潍坊医学院 任维栋 黄焕生 刘 艳

摘 要

过氧化氢在40℃，pH7，加入量为3%(V/V)时，用于某些肽类混合物的脱色，效果较理想，产品收率较高。并与活性炭和某些树脂的脱色效果和收率进行了比较。讨论了在此条件下，对肽组成成份中的色氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、组氨酸等的氧化作用。

酸解某些蛋白质，制备氨基酸或肽类混合物时，水解液常呈黑褐色，为了得到外观色泽较为理想的产品，一般采用活性炭脱色，近年来，许多人致力于研究树脂脱色，许多脱色树脂也不断问世。我们在从猪骨制备平均分子量300~500的肽混合物时，采用酸解法，水解液呈浓重的黑褐色，我们最初采用活性炭脱色，随后又用了个别树脂脱色，但脱色后产品的收率偏低，颜色仍较深。我们参照有关文献，采用了过氧化氢法脱色，结果表明，该法比较简单易行，脱色效果好，产品收率高。现将试验结果汇总如下：

一、材料和方法

过氧化氢(分析纯)，氢氧化铵(分析纯)等试剂均为国产。酸解法制备肽混合物，由本室从猪骨中制备。

仪器：S₆₄₈型电热恒温水浴箱。SBXZ-1型旋转蒸发器；S-3A型酸度计；S.C.101型鼓风电热恒温干燥箱；721-型分光光度计。

(一)pH对 H_2O_2 脱色的影响

取酸解后的肽混合液等体积分为五份，然后用 NH_4OH 分别调至pH为：3.75，4.55，7.10，8.21，9.00在各试样中均按体积3%加入 H_2O_2 ，充分摇匀后放置40℃水浴过液，次日见各试样有不同程度的脱色，并用721分光光度计分别测各试样光密度。

(二)温度对 H_2O_2 脱色的影响

在做pH对 H_2O_2 脱色影响试验的基础上，选定pH7为最适条件，进一步做不同温度对 H_2O_2 脱色影响试验。取酸解后的肽类混合液