

黄芩对发酵白菜亚硝酸盐含量影响

贾晶晶, 陈燕飞, 程晖, 燕平梅*

(太原师范学院 生物系, 太原 030619)

摘要: 实验以白菜为材料, 将不同浓度(1%、5%、10%)的黄芩溶液加入泡菜中, 以不添加黄芩溶液为对照组, 研究在泡菜发酵过程中亚硝酸盐含量的变化情况。每隔5 d用分光光度计测定发酵液中亚硝酸盐的含量, 并采用平板菌落计数法计算亚硝酸盐形成菌的数量。结果显示: 在15 d时亚硝酸盐含量和亚硝酸盐形成菌的数量最少, 表明在15 d时效果最好。黄芩浓度为5%的处理组的亚硝酸盐含量为2.74 mg/kg, 极显著低于对照组4.96 mg/kg和1%(3.16 mg/kg)、10%(3.06 mg/kg)的处理组。黄芩浓度为5%的处理组的亚硝酸盐形成菌数量为10.38 lg CFU/mL, 极显著低于对照组10.67 lg CFU/mL和1%(10.48 lg CFU/mL)、10%(10.46 lg CFU/mL)的处理组。表明黄芩浓度为5%的处理组的泡菜亚硝酸盐含量最低, 亚硝酸盐形成菌数量最少, 因此添加5%黄芩泡菜对人体危害最小, 适宜使用。

关键词: 黄芩; 亚硝酸盐; 亚硝酸盐形成菌; pH

中图分类号: TS201.5

文献标志码: A

doi:10.3969/j.issn.1000-9973.2020.10.015

文章编号: 1000-9973(2020)10-0072-03

Effect of *Scutellaria baicalensis* on Nitrite Content in Fermented Cabbage

JIA Jing-jing, CHEN Yan-fei, CHENG Hui, YAN Ping-mei*

(Department of Biology, Taiyuan Normal University, Taiyuan 030619, China)

Abstract: In this experiment, take cabbage as the material, *Scutellaria baicalensis* solution with different concentration (1%, 5%, 10%) is added into pickle, and take the pickle without adding *Scutellaria baicalensis* solution as the control group, to study the change of nitrite content during the fermentation process of pickle. The content of nitrite in fermentation broth is detected by spectrophotometer every 5 d, and the number of nitrite-forming bacteria is counted by plate colony counting method. The results show that the nitrite content and the number of nitrite-forming bacteria are the least at the 15th day, indicating that the effect is the best at the 15th day. The nitrite content of the treatment group with 5% *Scutellaria baicalensis* concentration is 2.74 mg/kg, which is significantly lower than that of the control group with 4.96 mg/kg, 1% (3.16 mg/kg) and 10% (3.06 mg/kg). The number of nitrite-forming bacteria of the treatment group with 5% *Scutellaria baicalensis* concentration is 10.38 lg CFU/mL, which is significantly lower than that of the control group with 10.67 lg CFU/mL and 1% (10.48 lg CFU/mL) and 10% (10.46 lg CFU/mL). The results show that the treatment group with 5% *Scutellaria baicalensis* concentration has the lowest nitrite content and the least number of nitrite-forming bacteria. Therefore, the pickle adding 5% *Scutellaria baicalensis* concentration is the least harmful to humans and is suitable for eating.

Key words: *Scutellaria baicalensis*; nitrite; nitrite-forming bacteria; pH

泡菜常作为下饭菜食用。它起源于3000多年前, 具有保留所需原材料的营养成分、色泽和香味等功能, 这种功能使得泡菜在国内外都备受欢迎^[1,2]。乳酸菌在泡菜的发酵过程中通过产生有机酸来促进胃肠蠕动, 帮助消化, 预防便秘, 增强人体免疫力。但目前在

泡菜发酵过程中最受人们关注的问题就是亚硝酸盐含量过高引起的安全问题^[3]。在泡菜发酵初期, 蔬菜中的乳酸菌生长缓慢, 酸碱环境还未形成, 泡菜中含有的其他有害菌(大肠杆菌、黄杆菌属等)中所含的硝酸还原酶可将泡菜中的硝酸盐还原成亚硝酸盐^[4], 当亚硝

收稿日期: 2020-04-29

* 通讯作者

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171743); 山西省重点研发项目(201603D221008-1)

作者简介: 贾晶晶(1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物生态学;

燕平梅(1968—), 女, 山西太原人, 教授, 博士, 研究方向: 微生物生态学。

酸盐进入人体后,一是可以引起高铁血红蛋白症,这是由于血液中正常的低铁血红蛋白被氧化为高铁血红蛋白,降低红细胞的携氧能力;二是危害人类健康,甚至导致癌症^[5,6],因此,如何在制作泡菜的过程中降低亚硝酸盐的含量已成为首要问题。

随着社会的急速进步,人们的健康意识也在逐步加强,中药的副作用小并易得,因此,使得很多学者开始研究^[7]。黄芩是一种常用的中药,有很好的清热解毒、清火、止血、安胎、抗病毒、抗癌、降血脂等功效^[8,9]。目前,刘云波等已证实黄芩具有体外抑制大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、链球菌等作用^[10],但是中草药在蔬菜发酵中的应用研究还很少,尤其是黄芩,这使得此次实验具有极大的研究价值。

本次实验以白菜为材料,通过借助黄芩的抑菌功效进而探索在泡菜发酵过程中加入黄芩导致 pH、亚硝酸盐含量变化的过程以及对亚硝酸盐形成菌数量的影响,从而找到一个在泡菜发酵过程中对人体危害较少、适宜食用的黄芩添加量。

1 材料和方法

1.1 材料

新鲜白菜、无碘食盐:购自附近商店;黄芩:购自药房。

1.2 实验方法

1.2.1 材料处理

将实验用到的刀、案板、电子天平等放入洁净的工作台中紫外杀菌 20 min。将 16 个 100 mL 锥形瓶(洗净并用棉塞塞住)置于立式灭菌器中,在 121 °C 下灭菌 20 min,并置于洁净的工作台中冷却。将白菜用蒸馏水冲洗,在洁净的工作台上案板上切碎,分别称取 30 g 置于灭好菌备用的 16 个锥形瓶内。贴上标签(对照、1%、5%、10%各 4 瓶)。

量取适量自来水,按 4% 的比例加入食盐、1% 的比例加入黄芩,在电磁炉上加热煮沸,冷却后在带有 1% 标签的锥形瓶内加入 100 mL 上述溶液。以不添加黄芩的为对照组,按上述步骤制作对照、5%、10% 的黄芩溶液并分装。

将 16 个分装好的锥形瓶放入霉菌培养箱于 30 °C 下培养备用。腌制那天算 1 d,其后的 5 d 为第一次,每隔 5 d 选取含有不同浓度黄芩的泡菜各 1 瓶,在洁净的工作台上各取 1 mL,用移液管稀释至 10^{-9} 进行涂布。

1.2.2 发酵蔬菜卤中亚硝酸盐形成菌的分离和计数

将培养皿于立式灭菌器中灭菌,待冷却后在洁净工作台内将营养琼脂培养基(NA)倒入培养皿中,培养基凝固后,用移液枪将 0.1 mL 浓度为 10^{-9} 的稀释样品涂布到培养基上,而后倒置放在霉菌培养箱内于 30 °C 进行培养。第 2 天待菌落长出来后再盖一层 SAN 琼脂培养基,固化后滴入 N-1-萘基乙二胺溶液(1 g/L)1 mL,在霉菌培养箱中于 30 °C 培养 1 d 后对变红的菌落进行计数,此为亚硝酸盐形成菌。

1.2.3 发酵白菜卤中亚硝酸盐含量的测定^[11]

亚硝酸盐含量标准曲线的制备:取 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 的亚硝酸钠标准使用液,于 25 mL 带塞试管内备用。

称取 2.5 g 从发酵瓶中排出的大白菜梗,用研钵研磨,加蒸馏水 450 mL,加 NaOH 溶液,调节 pH 至 7.5 以上,转移至 100 mL 容量瓶中,加入 5 mL $ZnSO_4$ 溶液并混匀。在 60 °C 水浴中加热 10 min,取出并静置 30 min 充分摇匀,用滤纸过滤,弃去 30 mL 滤液后收集 10 mL 滤液倒入 25 mL 带塞试管内备用。

在上述备用试管内加入氯化铵溶液(4.5 mL)、乙酸(2.5 mL)、显色剂(5 mL)后加水至刻度,于暗处静置 25 min 取出,用分光光度计在波长 550 nm 处测吸光度并记录,绘制标准曲线。

1.2.4 发酵白菜卤中 pH 值的测定

通过数字 pH 计测定白菜发酵液的 pH 值。

1.2.5 数据分析

每 5 d 重复上述操作,并对所测数据进行记录,实验最终结果为多次平行实验的平均值。使用 Duncan 单因素方差分析判断其差异显著性。

2 结果及分析

2.1 不同浓度黄芩处理液对发酵白菜亚硝酸盐含量的影响

表 1 发酵白菜中亚硝酸盐含量(mg/kg)

黄芩浓度(%)	5 d	10 d	15 d	20 d
0	19.74±0.09 ^a	12.86±0.04 ^a	4.96±0.04 ^a	5.31±0.06 ^a
1	12.37±0.03 ^b	7.40±0.02 ^b	3.16±0.00 ^b	3.26±0.00 ^b
5	7.86±0.06 ^d	4.32±0.00 ^d	2.74±0.01 ^d	3.01±0.04 ^d
10	8.31±0.02 ^c	4.52±0.01 ^c	3.06±0.01 ^c	3.15±0.01 ^c

由表 1 可知,从同一黄芩浓度的处理来看,亚硝酸盐含量最高即“亚硝峰”均是在第 5 天出现。而后第 5~15 天的泡菜中亚硝酸盐含量在显著性降低,第 20 天时又开始显著性增加,且第 15 天时亚硝酸盐含量显著性低于其他天数,说明黄芩处理 15 d 时的泡菜是最好的。

从同一天的测量结果来看,随着黄芩浓度的升高,亚硝酸盐含量在显著性下降,但是在浓度为 10% 时又开始显著上升,此外,黄芩浓度为 1%、5%、10% 的处理组泡菜中亚硝酸盐含量显著低于对照组,说明泡菜在黄芩浓度为 5% 时适宜食用。

2.2 不同浓度黄芩处理液对发酵白菜亚硝酸盐形成菌数量的影响

表 2 发酵白菜中亚硝酸盐形成菌数量(lg CFU/mL)

黄芩浓度(%)	5 d	10 d	15 d	20 d
0	11.28±0.01 ^a	10.96±0.03 ^a	10.67±0.02 ^a	10.72±0.03 ^a
1	11.23±0.01 ^b	10.88±0.01 ^b	10.48±0.01 ^b	10.51±0.01 ^b
5	11.12±0.02 ^d	10.72±0.01 ^d	10.38±0.02 ^d	10.47±0.01 ^d
10	11.18±0.03 ^c	10.83±0.02 ^c	10.46±0.01 ^c	10.51±0.03 ^c

由表 2 可知,从同一黄芩浓度的处理来看,第

5 天、第 10 天、第 15 天泡菜中亚硝酸盐形成菌的数量显著减少,第 20 天时又显著性开始增加,且第 15 天亚硝酸盐形成菌的数量显著性低于其他天数,说明黄芩处理 15 d 时的泡菜是最好的。

从同一天的测量结果来看,随着黄芩浓度的升高,亚硝酸盐形成菌数量在显著性降低,但是在浓度为 10% 时又开始显著上升,此外,黄芩浓度为 1%、5%、10% 的处理组泡菜中亚硝酸盐形成菌的数量显著性低于对照组,说明泡菜在黄芩浓度为 5% 时适宜食用。

2.3 不同浓度黄芩处理液对发酵白菜 pH 值的影响

表 3 发酵白菜中 pH 值

Table 3 The pH values of fermented cabbage

黄芩浓度(%)	5 d	10 d	15 d	20 d
0	5.71±0.02 ^a	4.56±0.05 ^a	4.17±0.02 ^a	4.33±0.04 ^a
1	5.39±0.03 ^b	4.39±0.02 ^b	3.70±0.04 ^b	3.78±0.04 ^b
5	5.15±0.02 ^d	4.11±0.02 ^d	3.38±0.03 ^d	3.44±0.04 ^d
10	5.19±0.02 ^c	4.17±0.06 ^c	3.39±0.03 ^c	3.46±0.03 ^c

pH 值是判断白菜发酵成熟度的关键指标之一,同时 pH 值能改变微生物的生存环境,影响其生长和代谢,间接影响泡菜的口感和风味^[12,13]。由表 3 可知,从同一黄芩浓度的处理来看,泡菜在第 5~15 天 pH 值有显著下降趋势,第 20 天时 pH 值又开始回升,且第 15 天时 pH 值显著性低于其他时间,说明黄芩处理 15 d 时的泡菜是较好的。

从同一天的测量结果来看,随着黄芩浓度的升高,pH 值也在显著性降低,但是在浓度为 10% 时又开始显著性上升,并且黄芩浓度为 1%、5%、10% 的处理组的泡菜 pH 值显著性低于对照组,说明泡菜在黄芩浓度为 5% 时适合食用。

3 讨论

从本实验的研究中可以看出,在发酵到第 5 天时出现“亚硝峰”,研究表明亚硝酸盐的产生是由于在发酵开始时发酵液中一些革兰氏阴性菌(大肠杆菌等硝酸还原菌)的大量增殖,将白菜中的硝酸盐还原为亚硝酸盐,使得亚硝酸盐含量升高^[14,15]。随着发酵时间的继续增加,瓶内的氧气含量降低抑制了需氧菌的产生,厌氧性的乳酸菌成为优势菌种,乳酸含量增加,pH 值降低,并且有害细菌的生长受到抑制,因此硝酸盐难以转化为亚硝酸盐,亚硝酸盐含量开始降低。但是在发酵到第 20 天时,发酵瓶内开始出现大量霉菌,霉菌具有很强的抗酸能力,因此在这个低 pH 值环境下能够生存,但是发酵环境中的营养物质有限,霉菌会和乳酸菌争夺发酵环境内的糖类物质^[16],从而使得乳酸菌含量降低,对这些有害菌的抑制作用开始减弱,硝酸盐又开始被还原为亚硝酸盐,因此在发酵到第 20 天时,亚硝酸盐含量又开始有上升趋势。

本实验中添加黄芩溶液的处理组亚硝酸盐含量显著低于未添加黄芩溶液的对照组,表明向泡菜中加入黄芩溶液可以降低亚硝酸盐含量。黄芩抑菌功效的发挥得益于它体内的黄酮类化合物黄芩苷,它可以通过破坏细菌的细胞壁和细胞膜结构来抑制它们的生长繁

殖。泡菜发酵过程中产生的革兰氏阴性菌会被黄芩苷破坏细胞结构^[17],数量减少,硝酸盐难以被还原,亚硝酸盐的含量逐步降低。但是随着黄芩浓度的增加,当添加的黄芩溶液为 10% 时亚硝酸盐含量显著高于添加 5% 的黄芩溶液,而王娜的研究显示:在中草药水煮过程中除了会分离出有抑菌作用的黄酮类化合物,还会分离出淀粉、蛋白质等无抑菌作用的物质,而这类物质往往会影响抑菌效果^[18],这也恰好说明了随着黄芩浓度的提高,抑菌作用不一定会越来越好,因此可以得出结论:向泡菜中添加 5% 的黄芩溶液可以将亚硝酸盐含量降低至合适的可食用状态。

4 结论

在泡菜发酵过程中,黄芩溶液的添加会降低发酵白菜中的亚硝酸盐含量。添加 5% 的黄芩溶液发酵 15 d 时泡菜中亚硝酸盐的含量、亚硝酸盐形成菌的数量均最少,使得泡菜对人体的危害最低,最适宜食用。

参考文献:

- [1] 贾金溢,杨立风,刘光鹏. 微生物在食品加工中的应用[J]. 食品研究与开发,2018,39(11):214-219.
- [2] 周强,黄林,田陈鹏,等. 发酵条件对腌制功能性泡菜的品质影响及工艺优化[J]. 中国调味品,2018,43(11):12-17.
- [3] 燕平梅,李润花,张小冰,等. 蔗糖对发酵蔬菜品质的影响[J]. 中国调味品,2018,43(12):76-79.
- [4] 赵鑫磊,燕平梅. 葡萄糖对发酵蔬菜微生物区系的影响[J]. 中国调味品,2016,41(6):93-96.
- [5] 郑琳,王向明,张娟. 影响甘蓝泡菜中亚硝酸盐含量因素的研究[J]. 中国调味品,2005(3):26-29.
- [6] Hou Jun-cai, Jiang Cheng-gang, Long Zhong-chen. Nitrite level of pickled vegetables in Northeast China[J]. Food Control,2013,29(1):7-10.
- [7] 杜莉. 四川泡菜的文化特色与川菜烹调中的运用[J]. 中国调味品,2016,41(12):138-141.
- [8] 王丽芳,何勇,谢宁生. 不同方式黄芩提取液体外抑菌作用比较[J]. 亚太传统医药,2013,9(10):36-37.
- [9] 石浩,王仁才,王琰,等. 黄芩抑菌物的提取工艺及抑菌稳定性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2019,45(2):199-204.
- [10] 刘云波,邱世翠,高飞,等. 黄芩体外抑菌作用研究[J]. 时珍国医国药,2002,13(10):596.
- [11] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京:轻工业出版社,1989:19-21.
- [12] 甘奕,李洪军,付杨,等. 韩国泡菜制作过程中理化特性及微生物的变化[J]. 食品科学,2014,35(15):166-171.
- [13] Kim S D. Effect of pH adjuster on the fermentation of kimchi[J]. Journal of the Korean Society of Food and Nutrition,1985,14(3):259-264.
- [14] 张庆芳,迟乃玉,魏毓棠. 大白菜腌渍发酵亚硝酸盐含量的研究[J]. 食品工业,2001(1):38-39.
- [15] 岳志芳,燕平梅. 温度对发酵白菜中亚硝酸盐含量的影响[J]. 中国酿造,2009(3):144-147.
- [16] 郑炯,黄明发. 泡菜发酵生产的研究进展[J]. 中国调味品,2007(5):23-25.
- [17] 刘昊,赵自冰,王新. 黄芩苷抗菌作用研究进展[J]. 畜牧与饲料科学,2017,38(7):61-63.
- [18] 王娜. 中药黄芩、黄芩有效成分的体外抑菌作用研究[D]. 秦皇岛:燕山大学,2009.