

固酶的存在是间接表明菌株具有致病力的一项重要判断指标,而血浆凝固酶毒力基因 *coa* 的存在,则从分子基因水平上确认了菌株的致病力。因此提示,可以把实时荧光 PCR 这个高度灵敏、特异、快速的检测方法,运用到金黄色葡萄球菌的检测工作中,以代替金黄色葡萄球菌血浆凝固酶这个传统试验,使之作为其致病力的一项重要检测指标。

## 参考文献

- [ 1 ] U. S. Centers for Disease Control and Prevention. Surveillance for Foodborne Disease outbreaks—United States, 2006 [ EB/OL ]. [ 2009-08-01 ]. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5822a1.htm>.
- [ 2 ] 任艳芳,路燕,庞晶晶,等.一起由金黄色葡萄球菌肠毒素引起的食物中毒[J].首都公共卫生,2011,5(2):90-91.
- [ 3 ] 吴剑阁,刘英豪,楼萍,等.一起由金黄色葡萄球菌肠毒素引起群体性食物中毒的病原学分析[J].现代预防医学,2011,

38(8):1424-1425.

- [ 4 ] Capucine L, Sylvie P, Francoise D, et al. Detection and genotyping by real-time PCR of the *Staphylococcus enterotoxigenes* sea to sej [ J ]. *Molecular and Cellular Probes*, 2003, 17(4) : 139-147.
- [ 5 ] 中华人民共和国卫生部. GB 4789. 10—2010 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验 [ S ]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [ 6 ] 陈智,江元山,熊燕,等.金黄色葡萄球菌食物中毒分离株毒素基因的 PCR 分析 [ J ]. 中国卫生检验杂志, 2009, 19(1) : 21-23.
- [ 7 ] 沈玄艺,宋启发,徐景野,等.食源性金黄色葡萄球菌肠毒素基因型分布研究 [ J ]. 中国食品卫生杂志, 2012, 24(5) : 427-429.
- [ 8 ] 葛小萍,陈棋炯,孙永祥,等.应用实时荧光 PCR 技术检测金黄色葡萄球菌肠毒素基因 [ J ]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(9) : 2099-2101.
- [ 9 ] Lawrynowicz P M, Kochman M, Piekarska K, et al. The distribution of enterotoxin and enterotoxin-like genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal carriers and food samples [ J ]. *Int J Food Microbiol*, 2007, 117(3) : 319-323.

## 研究报告

# 甘肃省市售浆水中亚硝酸盐含量测定

郑洁,胡向轩,张莉,张培,刘晔玮

(兰州大学公共卫生学院营养与食品卫生研究所,甘肃兰州 730000)

**摘要:**目的 了解甘肃省市售浆水中亚硝酸盐的含量。方法 对 GB 5009.33—2010《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》方法做了改进,省略了沉淀蛋白质的步骤;并按照改进的方法测定了采集于 2013 年 4 月至 8 月的 62 份浆水样品中亚硝酸盐的含量。结果 62 份样品中亚硝酸盐含量均低于 2 mg/kg,平均亚硝酸盐含量为 0.64 mg/kg;含菜浆水亚硝酸盐含量高于不含菜浆水。结论 依据 GB 2762—2012《食品中污染物限量》中规定的蔬菜及其制品、腌渍发酵蔬菜中亚硝酸盐最大量为 20 mg/kg,62 份样品中亚硝酸盐含量均未超标。

**关键词:**市售浆水;亚硝酸盐;甘肃;食品污染物

中图分类号:R155;O611.65 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2014)05-0437-04

DOI:10.13590/j.cjfh.2014.05.007

## Nitrite content and safety evaluation of Jiangshui purchased from markets in Gansu

ZHENG Jie, HU Xiang-Xuan, ZHANG Li, ZHANG Pei, LIU Ye-wei

(Institute of Nutrition and Food Hygiene, of Public Health, Lanzhou University, Gansu Lanzhou 730000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the nitrite content of Jiangshui purchased from markets in Gansu. **Methods** Improvements had been made to the GB 5009.33-2010 method for determination of nitrite and nitrate in food, and the protein precipitation step was skipped. 62 samples, collected from April to August 2013, were detected using the modified method of GB 5009.33-2010. **Results** Nitrite contents of 62 samples were lower than 2 mg/kg, and the average content was 0.64 mg/kg. Nitrite content of Jiangshui containing vegetables were higher than those not. **Conclusion** On the basis

收稿日期:2014-03-24

基金项目:兰州市科技发展计划项目(2010-1-164)

作者简介:郑洁 女 研究生 研究方向为食品安全分析及评价 E-mail:zhengj12@lzu.cn

通讯作者:刘晔玮 女 副教授 研究方向为食品安全分析及评价 E-mail:liuyw@lzu.edu.cn

of the national food safety standards for food contaminants (GB 2762-2012), the limit of nitrite in vegetables, their products and pickled vegetables was 20 mg/kg, and the 62 samples didn't exceed the standard.

**Key words:** Jiangshui purchased from market; nitrite; Gansu; food contaminants

浆水是我国西北地区饮食中必不可少的发酵食品。甘肃省食用浆水人群较为广泛,特别是从春末到初秋的气候燥热时节。浆水的制作过程一般是将甘蓝和(或)芹菜(各地区使用菜种略有区别)焯水后,以老浆水为引子,加入清面汤发酵而成。发酵好的浆水其味甘酸、清香诱人,浆水的吃法以浆水面作为主食或喝浆水解渴多见。浆水营养丰富,去热清火,对某些疾病也有特殊疗效。

浆水是一种发酵蔬菜,在发酵过程中会产生亚硝酸盐,一次性大量摄入亚硝酸盐会引起人体急性中毒,同时亚硝酸盐也是致癌、致畸物亚硝酸胺的前体物质<sup>[1]</sup>,且浆水在甘肃省有广泛的食用人群,因此其安全性非常重要。在已有的文献中浆水的研究主要是在发酵过程中亚硝酸盐含量的变化规律和浆水中微生物的分离鉴定等方面<sup>[2-3]</sup>,所用样品均是由实验人员自己制作的,而市售浆水中亚硝酸盐含量状况未见文献报道。在甘肃省主要食用的是浆水汤汁,而国家标准中并无浆水(汤汁)亚硝酸盐限量,也没有浆水的食品安全地方标准。本研究选择甘肃省经常食用浆水地区,测定浆水中亚硝酸盐的含量,为制定浆水的安全标准提供参考。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 样品来源

甘肃省主要食用浆水地区有兰州市、天水市、平凉市和定西市,选取4个市所辖所有区,在市区东西南北方向的有代表性和典型性的菜市场 and 餐馆于2013年4月至8月随机采集样品62份。

#### 1.1.2 主要仪器与试剂

UV-759型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)、PHSJ-3F实验室pH计(上海雷磁)、电子天平、电热鼓风干燥箱、数控超声波清洗器、飞利浦榨汁机。

亚铁氰化、钾硼酸钠、亚硝酸钠均购自天津市大茂化学试剂有限公司,乙酸锌、盐酸萘乙二胺天津市永大化学试剂有限公司,无水对氨基苯磺酸(天津市凯通化学试剂有限公司),盐酸(烟台市双双化工有限公司),以上试剂均为分析纯;亚硝酸钠标准使用液按照GB 5009.33—2010《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》<sup>[4]</sup>中9.22项配制。

## 1.2 方法

### 1.2.1 传统试剂配制方法

按照GB 5009.33—2010方法配制试剂:精密称取浆水样品(含菜浆水用榨汁机打成匀浆)10.00 g,加入饱和硼砂溶液6.0 ml,用60 ml左右蒸馏水洗入100 ml容量瓶内,沸水浴15 min后冷却至室温,加入5 ml亚铁氰化钾溶液,摇匀后再加入5 ml乙酸锌溶液,以沉淀蛋白质,放置30 min,过滤后吸取40.0 ml滤液采用GB 5009.33—2010方法进行测定。

### 1.2.2 改进试剂配制方法

改进方法:精密称取浆水样品(含菜浆水用榨汁机打成匀浆)10.00 g,加入饱和硼砂溶液6.0 ml,用60 ml左右蒸馏水洗入100 ml容量瓶内,沸水浴15 min后冷却至室温,过滤后吸取40.0 ml滤液采用GB 5009.33—2010方法进行测定。

## 2 结果

### 2.1 方法回收率

精密称取浆水样品10.00 g,平行21份,样品中分别精密加入适量亚硝酸钠标准使用液,按1.2的改进方法进行分析,结果见表1。采用改进方法处理浆水样品,回收率在85.3%~87.03%之间,回收率试验结果显示该方法可以满足分析的要求;采用传统方法处理浆水样品,回收率为64.83%,低于改进的浆水样品前处理方法。因此,本试验采用改进的浆水样品前处理方法。

表1 方法回收率试验结果( $n=7$ )

Table 1 Recovery rate of the method

样品本底值 /(mg/kg)	加标质量 /μg	加标后测定均值 /(mg/kg)	RSD /%	回收率 /%
3.47	1.00	4.34	2.27	86.30
3.47	3.00	6.03	2.21	85.32
3.47	6.00	8.69	1.34	87.03

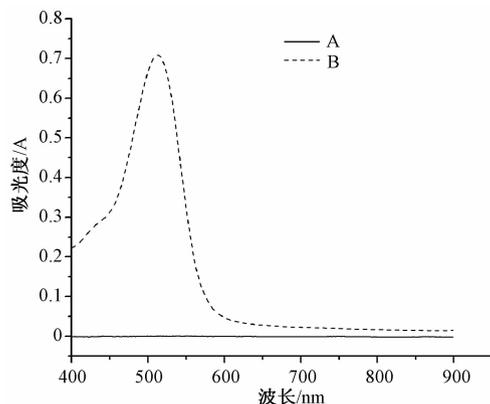
### 2.2 方法精密度

精密称取浆水样品7份每份10.00 g,按改进方法处理浆水样品,采用GB 5009.33—2010方法测定样品中亚硝酸盐含量, $RSD < 5%$ ,表明该方法精密度良好。

### 2.3 最佳测定波长的选择

在400~900 nm范围内对未显色的浆水提取液和显色后的浆水提取液的光谱吸收进行扫描,光谱图见图1。由图1可知,未加入显色剂的浆水提取液在400~900 nm范围内扫描均没有吸收波峰;而

加入显色剂的浆水提取液在波长 538 nm 处有最大吸收峰,故选择 538 nm 为检测波长。



注:A 表示未加入显色剂的浆水提取液吸收光谱图,  
B 表示加入显色剂的浆水提取液吸收光谱图

图 1 未加入显色剂和加入显色剂的浆水提取液的吸收光谱图  
Figure 1 Absorption spectrogram of Jiangshui's extract without adding chromogenic reagent and adding chromogenic reagent

## 2.4 统计学分析

利用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析。统计指标均进行正态性及方差齐性检验,应用两独立样本 *t* 检验、单因素方差分析及 LSD 法多重比较进行数据处理,结果以平均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,  $P < 0.05$  为统计学显著性意义。

## 2.5 亚硝酸盐标准曲线

以亚硝酸盐含量为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线<sup>[3]</sup>。回归方程为:  $y = 0.0293x + 0.0040$ ; 相关系数  $r = 0.9999$ 。

## 2.6 不同地区市售浆水中亚硝酸盐的测定结果

甘肃省各个采样地区的浆水中亚硝酸盐含量水平有所不同。经 LSD 法多重比较分析得到:定西市分别与兰州市、天水市、平凉市的亚硝酸盐含量有所不同,定西市市售浆水中亚硝酸盐含量低于兰州市、天水市和平凉市的市售浆水中亚硝酸盐含量,结果见表 2。

表 2 不同地区市售浆水中亚硝酸盐含量

Table 2 Nitrite content of Jiangshui purchased from market in different regions

采样点	样品数/份	亚硝酸盐含量/(mg/kg)	
		范围	$\bar{x} \pm s$
兰州市城关区	10	0.23 ~ 1.21	0.67 ± 0.38
兰州市七里河区	8	0.36 ~ 1.04	0.61 ± 0.26
兰州市安宁区	9	0.35 ~ 1.52	0.81 ± 0.40
兰州市西固区	5	0.67 ~ 1.33	0.89 ± 0.26
兰州市红古区	5	0.28 ~ 0.98	0.55 ± 0.26
定西市	7	0.14 ~ 0.47	0.33 ± 0.13
天水市	10	0.31 ~ 1.15	0.65 ± 0.20
平凉市	8	0.47 ~ 1.16	0.58 ± 0.29
合计	62	0.14 ~ 1.52	0.64 ± 0.63

注:各地区样品中亚硝酸盐含量比较采用单因素方差分析,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )

## 2.7 含菜和不含菜浆水中亚硝酸盐的分析比较

采集样品时,有些菜市场、餐馆售出的浆水是带菜的,有些是不带菜的,所以将采集的 62 份样品分类做了比较,结果见表 3。

表 3 不同类型市售浆水中亚硝酸盐含量 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Nitrite content of different types of Jiangshui purchased from market

采样点	样品数/份		亚硝酸盐含量/(mg/kg)	
	含菜	不含菜	含菜	不含菜
兰州市城关区	4	6	0.89 ± 0.35	0.39 ± 0.16
兰州市七里河区	5	3	0.70 ± 0.26	0.46 ± 0.11
兰州市安宁区	5	4	0.74 ± 0.31	0.88 ± 0.50
兰州市西固区	5	0	0.89 ± 0.26	ND
兰州市红古区	5	0	0.55 ± 0.26	ND
定西市	2	5	0.40 ± 0.01	0.30 ± 0.14
天水市	10	0	0.65 ± 0.20	ND
平凉市	3	5	0.83 ± 0.30	0.43 ± 0.08
合计	39	23	0.72 ± 0.29	0.49 ± 0.30

注:ND 表示未检出;含菜和不含菜浆水亚硝酸盐含量比较采用独立样本 *t* 检验,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),含菜浆水亚硝酸盐含量高于不含菜浆水

## 2.8 市售浆水中亚硝酸盐含量和 pH 值随时间的变化结果

为了进一步了解浆水中亚硝酸盐含量,分别于市售浆水开始制作 0、6、14、24 h 采样,连续测定市售浆水从开始制作到出售过程中亚硝酸盐含量和 pH 值,表 4 结果显示,匀浆(菜:汤汁比约为 1:10)亚硝酸盐含量大部分高于汤汁;6 h 后 pH 迅速下降至 3.50 左右,亚硝酸盐含量也下降,14 h 后亚硝酸盐含量均在 1.5 mg/kg 以下。通常,浆水至少发酵 14 h 后出售,因此,市售浆水中亚硝酸盐含量均在食用安全范围内<sup>[5]</sup>。

表 4 不同时间浆水中亚硝酸盐含量和 pH 值 ( $n = 5$ )

Table 4 Nitrite content of Jiangshui purchased from market in different times and its pH value

指标		发酵时间/h			
		0	6	14	24
pH 值		3.55	3.50	3.34	3.34
亚硝酸盐含量/(mg/kg)	汤	1.12	0.70	0.64	0.63
	匀浆	1.12	0.87	0.78	0.73
pH 值		3.58	3.43	3.36	3.36
亚硝酸盐含量/(mg/kg)	汤	1.35	1.42	0.60	0.61
	匀浆	1.63	1.27	1.32	0.94
pH 值		4.32	3.51	3.35	3.34
亚硝酸盐含量/(mg/kg)	汤	0.65	0.60	0.59	0.58
	匀浆	1.14	0.95	0.83	0.80
pH 值		3.64	3.43	3.36	3.30
亚硝酸盐含量/(mg/kg)	汤	0.73	0.58	0.56	0.56
	匀浆	1.13	0.71	0.67	0.65
pH 值		3.71	3.46	3.43	3.41
亚硝酸盐含量/(mg/kg)	汤	0.57	0.65	0.58	0.57
	匀浆	0.73	0.80	0.72	0.67

### 3 讨论

#### 3.1 前处理方法的改进

甘肃省市售浆水中蛋白质主要来源于面粉和菜,经测定浆水中蛋白质含量均低于0.08%,说明浆水中蛋白质含量很低。改进的浆水样品前处理方法是GB 5009.33—2010方法中沉淀蛋白质的步骤省略,其测定浆水中亚硝酸盐含量的回收率在85.3%~87.03%之间,而采用GB 5009.33—2010方法测定浆水中亚硝酸盐含量的回收率为64.83%,回收率试验结果显示,GB 5009.33—2010方法的回收率低于改进的方法,沉淀蛋白质步骤使亚硝酸盐析出减少,测定结果偏低。因此,本研究中测定浆水中亚硝酸盐含量时不再沉淀蛋白质。

#### 3.2 市售浆水亚硝酸盐含量

GB 2762—2012《食品中污染物限量》<sup>[5]</sup>中规定蔬菜及其制品、腌渍发酵蔬菜中亚硝酸盐最大量为20 mg/kg。由测定结果可知,在甘肃省经常食用浆水的地区,市售浆水中亚硝酸盐平均含量为0.64 mg/kg,最高结果是兰州市西固区为0.89 mg/kg,均低于国家标准;各地区市售浆水亚硝酸盐含量有所不同,可能原因为浆水制作差异、环境土壤不一致等。根据表2中结果,62份样品中亚硝酸盐含量均低于2 mg/kg,总体亚硝酸盐含量平均值的95%置信区间为(0.52, 1.28) mg/kg,可为国家制定浆水中亚硝酸盐含量的限量提供参考。

#### 3.3 含菜浆水亚硝酸盐含量较高

含菜浆水亚硝酸盐含量高于不含菜的浆水。产生亚硝酸盐的主要来源为蔬菜中的硝酸盐被微生物中的硝酸还原酶还原为亚硝酸盐<sup>[6]</sup>,如果蔬菜中硝酸盐含量低,亚硝酸盐含量也相对低。而发酵汤汁即面汤主要为产生亚硝酸盐还原酶的乳酸菌等细菌提供糖类能量物质,其亚硝酸盐主要来源于蔬菜产生的亚硝酸盐渗出到汤汁中。因此,匀浆亚硝酸盐含量高于汤汁。

#### 3.4 发酵至出售过程中亚硝酸盐的含量和pH值的变化

本研究连续测定市售浆水从开始制做到出售过程中的亚硝酸盐含量和pH值。样品无“亚硝峰”出现或峰值较低,初始pH值均在4.32以下,且pH值随着发酵时间逐渐下降,发酵14 h后汤汁pH值

均下降至3.50以下。何玲<sup>[7]</sup>、纪淑娟等<sup>[6]</sup>的研究指出,低pH值能够降低发酵蔬菜中亚硝酸盐的含量;李增利<sup>[8]</sup>、郭晓红等<sup>[9]</sup>指出,调节浆水起始pH值,浆水中亚硝酸盐含量不同,低pH值可以减少亚硝酸盐含量。因为随着发酵时间的延长,乳酸菌占优势菌群,pH逐渐降低,亚硝酸盐还原酶作用增强<sup>[6,10]</sup>(pH值4.0是亚硝酸盐还原酶的最适pH值),因此亚硝酸盐含量也逐渐降低,而在发酵后期pH<4.0时,亚硝酸盐下降并稳定的主要原因为酸降解( $\text{HNO}_2 \rightarrow \text{HNO}_3 + \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$ )<sup>[8,11-12]</sup>。当然也不排除因为发酵温度高导致发酵过程快<sup>[7,10,13]</sup>,而取样间隔时间不够短,亚硝峰没有测出(6 h后测定亚硝峰已经下降),但14 h后亚硝酸盐含量已下降至食用安全范围内。

### 参考文献

- [1] 赵甲元,贾冬英,姚开,等. 发酵蔬菜中亚硝酸盐的消减方法[J]. 中国调味品,2009,34(12):36-39.
- [2] 何玲,罗佳,郭宁,等. 浆水芹菜发酵过程中硝酸还原酶活性和亚硝酸盐含量的变化[J]. 西北农林科技大学学报,2007,35(9):192-196.
- [3] 张轶,王玉丽,陈晓前,等. 传统发酵食品—浆水中微生物的分离与初步鉴定[J]. 食品科学,2007,28(1):219-222.
- [4] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.33—2010 食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [5] 中华人民共和国卫生部. GB 2762—2012 食品中污染物限量[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [6] 纪淑娟,孟宪军. 大白菜发酵过程中亚硝酸盐消长规律的研究[J]. 食品与发酵工业,2001,27(2):42-46.
- [7] 何玲. 浆水芹菜营养成分与亚硝酸盐变化规律及加工机理研究[D]. 陕西:西北农林科技大学,2007.
- [8] 李增利. 发酵方式及起始pH值对泡菜亚硝酸盐及硝酸盐含量的影响[J]. 食品研究与开发,2008,29(4):132-135.
- [9] 郭晓红,杨洁彬,张建军. 甘蓝乳酸发酵过程中亚硝峰消长机制及抑制途径的研究[J]. 食品与发酵工业,1989,(2):26-34.
- [10] 何淑玲,李博,籍保平. 泡菜发酵过程中硝酸盐还原酶活性的研究[J]. 食品科技,2005(1):94-97.
- [11] 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.
- [12] 黄丽慧,张雁,陈于晓,等. 发酵蔬菜中亚硝酸盐消长规律及调控技术的研究进展[J]. 食品科学,2013,34(5):303-307.
- [13] 张庆芳,迟乃玉,郑艳,等. 关于蔬菜腌渍发酵亚硝酸盐问题的探讨[J]. 微生物学杂志,2003,23(4):41-44.