

大蒜精油对屎肠球菌和粪肠球菌产苯乙胺和酪胺的影响

张雅晴, 卢士玲, 黄发添, 郑婷婷, 代娜娜, 李彬彬
(石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000)

摘要: 本试验采用双倍试管稀释法, 测定大蒜精油分别对高产苯乙胺和酪胺的 *E. faecium* 和 *E. faecalis* 的最低抑菌浓度(MIC)和最低杀菌浓度(MBC); 并利用高效液相色谱法测定不同浓度的大蒜精油对两株高产苯乙胺和酪胺菌株的影响, 从而明确大蒜精油对其产生物胺能力的抑制作用。结果表明: 大蒜精油对供试菌株都具有较强的抑菌活性, 大蒜精油对 *E. faecium* 的最大抑制率可达 48.20%, 对 *E. faecalis* 的最大抑制率为 52.41%, 且抑菌效果随大蒜精油浓度的增大而逐渐增强; 在大蒜精油的添加量为 1/2 MIC 时, 大蒜精油对 *E. faecium* 和 *E. faecalis* 的生长具有抑制作用; 当大蒜精油浓度为 0.025% 时, 能够显著 ($p < 0.05$) 降低供试菌株产苯乙胺和酪胺的含量, 苯乙胺含量与空白组相比降低了 26.61%, 酪胺的降低了 15.54%。说明大蒜精油对高产酪胺和苯乙胺的菌株具有显著 ($p < 0.05$) 抑制效果, 从而减少了酪胺和苯乙胺的生成。

关键字: 屎肠球菌; 粪肠球菌; 苯乙胺; 酪胺; 大蒜精油; 抑菌活性

文章编号: 1673-9078(2016)11-117-122

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.018

Effect of Garlic Essential Oil on the Production of Phenylethylamine and Tyramine by *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*

ZHANG Ya-qing, LU Shi-ling, HUANG Fa-tian, ZHENG Ting-ting, DAI Na-na, LI Bin-bin
(College of Food, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of garlic essential oil against two phenylethylamine-and tyramine-producing bacteria-*Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*-were measured *in vitro* using the double tube dilution method. The effects of a variety of concentrations of garlic essential oil on the two strains with high phenylethylamine-and tyramine-production were measured by high performance liquid chromatography (HPLC), to determine the inhibitory effect of garlic essential oil on biogenic amine production by the two strains. The results showed that garlic essential oil displayed strong antimicrobial activity against *E. faecalis* and *E. faecium*, and the corresponding maximum inhibitory rates (IRs) reached 52.41% and 48.20%, respectively. The antimicrobial effect increased as the concentration increased. When the amount of added garlic essential oil was 1/2 MIC, it showed an inhibitory effect on the growth of *E. faecalis* and *E. faecium*. At a concentration of 0.025%, the garlic essential oil could significantly reduce the production of phenylethylamine and tyramine by the test strains; the production of phenylethylamine and tyramine was reduced by 26.61% and 15.54%, respectively, from of the control. The result indicated that garlic essential oil exhibited a significant inhibitory effect on *E. faecalis* and *E. faecium*, thereby reducing the production of phenylethylamine and tyramine.

Key words: *Enterococcus faecalis*; *Enterococcus faecium*; phenylethylamine; tyramine; garlic essential oil; antimicrobial activity

生物胺 (BAs) 是一类含氮的低分子量化合物, 几乎可以在所有类型的食物中发现一定浓度的 BAs, 通常是由微生物中氨基酸脱羧酶将含蛋白质丰富的某

收稿日期: 2015-12-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31360392)

作者简介: 张雅晴 (1992-), 女, 研究生, 研究方向: 畜产品加工与质量安全

通讯作者: 卢士玲 (1976-), 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 畜产品加工与质量安全

些氨基酸脱羧后形成。适量的生物胺对人体的各种生理机能具有调节作用, 而高摄入量会导致人体中毒甚至有生命危险^[1]。酪胺是 BAs 的一种, 在人体内大量积累会引起毒性作用包括偏头痛和高血压, 严重时会导致脑溢血, 苯乙胺可以消除神经系统中的去甲肾上腺素, 增加血压^[2]。相当广泛的菌种如乳酸菌和革兰氏阴性细菌都具有形成 BAs 的能力。Ladero V 等^[3]研究发现, 无论是存在于临床、人体或是食品原料中的肠球菌都可以通过氨基酸脱羧基作用将酪氨酸转化为酪

胺。Inoğlu Zehra Nur^[4]从土耳其图卢姆奶酪中分离出的粪肠球菌和屎肠球菌证实它们具有毒力基因并且大多产生酪胺。尽管肠球菌在奶酪及其他发酵制品的成熟和风味形成中发挥一定的作用,但这些细菌也被医院公认为是引起血症、心内膜炎、泌尿道和其他感染的病原体。

目前许多研究表明,天然植物提取物对生物胺的形成具有较好的抑制效果。一些学者研究发现大蒜、洋葱、肉桂、百里香、牛至和黑胡椒等植物精油对产气荚膜杆菌和大多数细菌有抑制作用^[5]。Bozkurt 等^[6]认为绿茶提取物对香肠中生物胺有一定的抑制作用;也有大量研究证实大蒜产品如大蒜素和水溶性大蒜粉等对许多病原菌都有一定程度的抑制和杀灭作用,例如金黄色葡萄球菌、腐生葡萄球菌、大肠杆菌和伤寒杆菌等^[7]。本试验所采用的超临界 CO₂ 提取的精油抑菌能力较强,并且大蒜精油为植物天然提取物,无毒副作用,是生产安全无公害产品最佳添加剂。本研究旨在利用大蒜精油对熏马肠中高产酪胺和苯乙胺的菌株的作用效果进行研究,为将大蒜精油应用于熏马肠及其他发酵香肠提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

大蒜精油为 CO₂ 超临界萃取植物精油(由仲景大厨股份有限公司馈赠);MRS 培养基;吐温-20(天津福晨化学试剂厂);苯丙氨酸、酪氨酸(北京博奥拓达科技有限公司)。

HPLC 试剂:丹磺酰氯(Sigma, 色谱纯);甲醇、乙腈(色谱纯);生物胺标准品:苯乙胺、酪胺(Sigma, 色谱纯)。

菌种来源:屎肠球菌及粪肠球菌均由本实验室从熏马肠中分离提取得到。

1.1.2 仪器与设备

恒温培养箱,DNP-9272 型;GE Ultrospec 5300 pro 紫外/可见光分光光度计;高效液相色谱仪,Agilent Technologies 1200 series,日本岛津;色谱柱,Ecilpse XDB-C18 4.6 mm×250 mm, 5 μm。

1.1.3 菌种来源

屎肠球菌(*Enterococcus faecium*)和粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)登录号分别为 KT923202 和 KT923193 均为本实验室从熏马肠中分离保存。

1.2 试验方法

1.2.1 菌悬液制备

将在-20 °C条件下斜面保藏的菌体挑去取一环,划线于斜面试管 MRS 固体培养基中,在 37 °C下培养 24 h。挑取活化好的菌株于 MRS 液体培养基中,将菌悬液稀释为浓度 10⁴~10⁵ CFU/mL,备用。

1.2.2 大蒜精油抑菌能力的测定

采用稀释平板计数法,以未被抑制的活菌细菌总数为指标,不仅能直观地体现抑菌剂的作用效果,而且能观察到被抑制后的微生物生长情况。根据大蒜精油的使用浓度分别准确加入到已冷却至 50 °C左右的培养基中,充分震荡直到混匀,用上述溶大蒜精油的培养基倾注平板,待平板充分凝固后,加入 100 μL 上述活化好的菌悬液稀释到合适的梯度进行涂布,在 37 °C下培养 24 h,待菌落总数不再显著增加时进行菌落计数。每个处理取两个重复,另设对照组,结果取平均值。计算菌落数和抑菌率。

抑菌率(%)=(CK 菌落数-处理组菌落数)/CK 菌落数×100%

1.2.3 大蒜精油最低抑菌浓度(MICs)和最低杀菌浓度(MBCs)的测定

最小抑菌浓度(Minimal Inhibitory Concentration, MIC)是指能抑制细菌生长的抑菌剂的最低浓度,是定量分析植物精油抑菌效果的重要指标之一。采用双倍试管稀释法测定 MICs 和 MBCs^[8]:准备 14 支无菌试管,均加入 5 mL 的 MRS 液体培养基,用移液枪向 1 号试管中加入 10%的用 1%吐温 20 稀释过的大蒜精油 5 mL,涡旋混匀后,吸取 5 mL 移至 2 号试管中依次类推,最后从 12 号管中吸取 5 mL 丢弃,然后每管中分别加入 100 μL 浓度上述制备的菌液,第 13 管为不含精油只含等量菌液的对照管,第 14 管为不加精油不含菌液的阴性对照管,以上操作每次均更换枪头。充分混合均匀,在恒温培养箱中 37 °C培养 24 h,观察结果颜色最接近空白对照的为 MICs。从无菌生长的各试管中分别吸取 100 μL 均匀涂布于平板培养基上,37 °C恒温培养 24 h。含精油最少且平板上无菌生长的试管中的精油浓度为该精油对试验菌株的 MBCs。

1.2.4 大蒜精油对供试菌生长的抑制作用

利用 1/2MIC 浓度研究大蒜精油对供试菌生长过程的抑制作用,在每支试管中移入 4.5 mL MRS 液体培养基,然后各加入 500 μL 浓度为 1/2MIC 的大蒜精油,混匀后接入供试菌液;另外准备相同数量的试管,移入的培养基为含浓度为 0.005%的磷酸吡哆醛、0.05%的酪氨酸和苯丙氨酸,其他添加物和添加量相同(此批菌液只用于测定 pH 值)。分别培养 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20 和 24 h 取出标有相应

时间的试管,立即放冰箱中贮存,待所有时间按均取出后,一同采用比浊法测定各个试管中菌液的光密度值并用 pH 计测定 pH 值。如培养液的细胞密度较大,需用 MRS 液体培养基适当稀释后再定,使其光密度值在 0.1~0.8 之内(测定 OD 值前,为了细胞分布均匀,需将待测定的培养液振荡)。

1.2.5 HPLC 对苯乙胺和酪胺的抑制能力测定

1.2.5.1 样品的制备

准备 6 支无菌试管,每管中分别加入 4.5 mL 富集 0.05% 的两种氨基酸(苯丙氨酸、酪氨酸)和 0.005% 磷酸吡哆醛的 MRS 液体培养基,每管中分别加入 500 μ L 浓度为 2%、1%、0.5%、0.25%、0.125% 的精油稀释液,第六管不加精油,再加入 100 μ L 的菌液,混匀后 37 $^{\circ}$ C 培养 72 h,取菌液 5 mL、12000 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL 加入 0.4 mol/L 的高氯酸 1 mL,混匀制备成菌液样品处理液备用。

1.2.5.2 样品的衍生化

取上述菌液样品处理液 1 mL 于 5 mL 容量瓶中,加入 200 μ L、2 mol/L NaOH 使之呈碱性,再加入 300 μ L 饱和的 NaHCO₃ 溶液进行缓冲,然后再加入 2 mL 的丹磺酰氯溶液(Dns-Cl, 10 mg/mL 溶于丙酮中),在 40 $^{\circ}$ C 下处于黑暗中反应 45 min 后,加入 100 μ L 的 NH₄OH 终止反应,去除未反应的残留的 Dns-Cl 溶液。加入乙腈使终体积为 5 mL。衍生处理后用 0.22 μ m 滤膜过滤,置于样品瓶中,上机检测。

1.2.5.3 色谱条件

Agilent C18 柱(XDB-C18, 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相 A 为水,流动相 B 为乙腈;流速为 0.8 mL/min;进样量为 20 μ L;柱温:30 $^{\circ}$ C;检测波长:254 nm。梯度洗脱程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution method

洗脱时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.0	35.0	65.0
5.0	25.0	75.0
20.0	0.0	100.0
24.0	0.0	100.0
25.0	35.0	65.0
30.0	35.0	65.0

1.2.6 数据分析

全部试验数据采用 Microsoft Excel 2013 统计抑制率,Origin 8.0 绘图,dps 2005 进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 大蒜精油抑菌能力的测定

植物精油是从芳香植物中提取出来的,具有抗氧化性和天然抑菌活性的次级代谢产物。不同浓度的大蒜精油对两种供试菌株的均有不同程度的抑制效果(图 1),这与目前有关的报道结论基本一致^[9-10],但是由于所选对象菌种类不同,因此无法进行抑菌效果好坏的直接比较。大蒜精油随浓度的增大对供试菌株的抑制效果显著($p < 0.05$)增强,0.50% 的精油对 *E. faecalis* 的抑制作用最为明显,抑菌率高达 52.41%,对 *E. faecium* 的抑制率达到 48.20%,其他浓度的精油对 *E. faecium* 和 *E. faecalis* 均表现为明显($p < 0.05$)抑制效果。植物精油的抑菌原理是由于它们的疏水性导致精油分散于细菌的细胞壁、线粒体的脂肪中,使其渗透性增强,以致内容物外泄达到抑菌效果^[11]。说明大蒜精油渗透能力强,其在细菌细胞中分散效果较好,使其能和细菌充分接触而达到良好的抑菌效果。

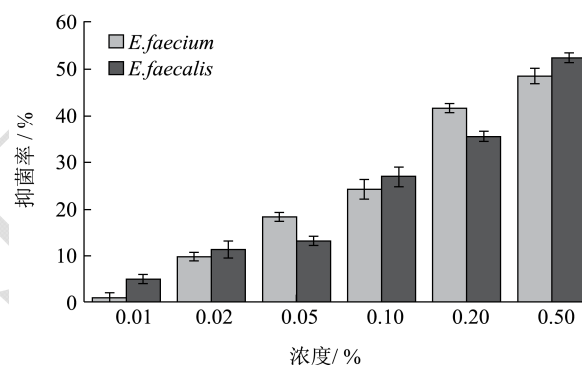


图 1 大蒜精油对供试菌的抑菌率 (IR)

Fig.1 Inhibitory ratios (IR) of garlic essential oil on the tested microorganisms

2.2 大蒜精油对供试菌 MICs 和 MBCs 的测定

从表 2 中可以看出,供试菌种在不同浓度的精油作用下,生长情况差异明显,试验所得到的 MIC 值也与滤纸片法初筛精油抑菌活性时的结果基本一致。大蒜精油对 *E. faecium* 和 *E. faecalis* 具有都有较强的抑制效果,MIC 分别为 0.031% 和 0.025%,MBC 分别为 0.063% 和 0.031%。大蒜精油对不同菌株的 MBC 通常等于或者略高于其 MIC,且 *E. faecium* 对大蒜精油的敏感度高于 *E. faecalis*。

在先前的报道中,大蒜精油已经被证实对细菌和真菌的活性有很强的抑制作用。本试验中,大蒜精油在利用稀释平板计数法初筛抑菌效果时具有很强的抑菌活性(抑菌率较高),并且在 MIC 值的测定试验中对供试菌株检测出较低浓度的 MIC 值(0.025% 和 0.031%)。Cavallito^[12]最早证实大蒜素对革兰氏阳性菌和阴性菌都具有杀灭作用,其最低杀菌质量浓度为 20 μ g/mL。这一数值与本研究结果相差数倍,可能由于

大蒜精油中存在不同种类的基因型,因此它们所含有的活性成分含量也会不同,这或许是不同报道中抑菌活性存在差异的主要原因。Chorianopoulos 等人^[13]研究发现革兰氏阳性细菌如金黄色葡萄球菌、单核细胞增多性李斯特氏菌、蜡样芽胞杆菌比革兰氏阴性细菌

如大肠杆菌和沙门氏菌更容易受到精油的抑制作用。*E. faecium* 和 *E. faecalis* 同属革兰氏阳性细菌,人们普遍认为,从力学角度上看精油应该对抗革兰氏阳性细菌更有效,可能是由于细胞膜与精油中的疏水性成分直接产生交互作用的结果^[14]。

表 2 大蒜精油对供试菌的 MICs 和 MBCs (%)

Table 2 MICs and MBCs (%) of garlic essential oil against the tested microorganisms

菌种	大蒜精油浓度/%								MIC	MBC
	0.50	0.25	0.13	0.063	0.031	0.025	0.016	0.0078		
<i>E. faecium</i>	-	-	-	-	-	+	++	+++	0.031	0.063
<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	++	++	0.025	0.063

注: -表示无菌生长; +表示少量菌生长; ++表示大量菌生长。

2.3 大蒜精油对供试菌株生长抑制作用的测定

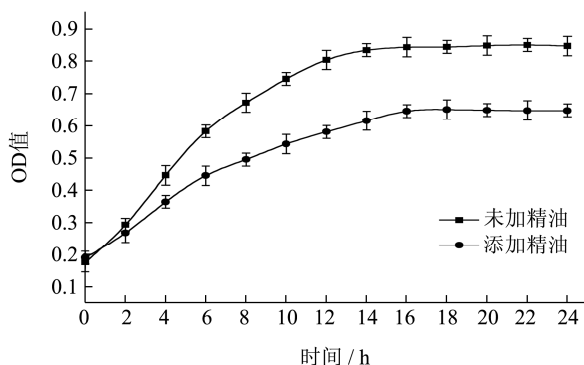


图 2 大蒜精油对 *E. faecalis* 生长的抑制作用

Fig.2 Inhibitory effect of garlic essential oil on the growth of *E. faecalis*

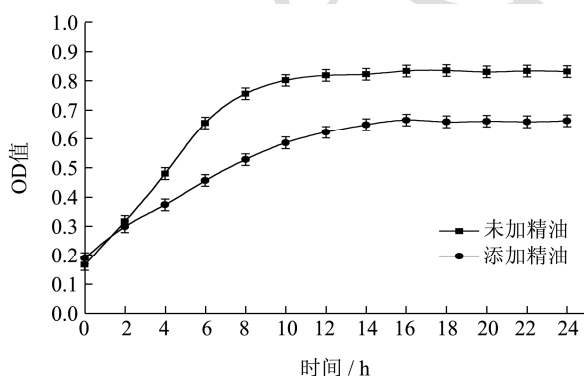


图 3 大蒜精油对 *E. faecium* 生长的抑制作用

Fig.3 Inhibitory effect of garlic essential oil on the growth of *E. faecium*

如图 2 和图 3 所示,加入大蒜精油的菌悬液的初始吸光度值稍高于未加大蒜精油的菌悬液,这是由于大蒜精油本身为明亮透明琥珀色的液体。培养初期,

在大蒜精油的作用下,供试菌的菌数被控制在一个恒定的范围内,而且在很长一段时间内,菌数增长的幅度不大。但空白组生长过程随时间的变化经历了延滞期、对数生长期、稳定期及死亡期等 4 个时期,说明大蒜精油可明显抑制供试菌的生长,减少菌体数量,且大蒜精油并没有改变供试菌的生长趋势,只是大大弱化了其对数生长期与其它时期的界限而已。通过测定微生物生长情况,初步确定抗菌物质大蒜精油对供试菌的作用方式和抑制效果。

2.4 大蒜精油对供试菌株生长过程中 pH 的影响

由图 4 和图 5 可知,在不含氨基酸底物的 MRS 培养液中接种的供试菌株(A、B 组) pH 值变化情况,不添加大蒜精油的培养液中供试菌(B 组)进入对数生长期后 12 h 达到高峰,菌数达到最大值,导致 pH 值迅速下降。12 h 以后进入稳定期,菌数增长缓慢,pH 值也随之缓慢下降,最终 pH 值在 4.20 左右。图中 A、B 曲线变化差别较大,添加大蒜精油培养液的 pH 值趋于稳定后要高于未添加的 B 组,说明大蒜精油对供试菌的生长具有一定的抑制作用。在 24 h 连续培养过程中,在含氨基酸底物的 MRS 培养液中接种的供试菌株(C、D 组) pH 值均呈现前 8 h 内先下降 8 h 后再逐步上升的趋势;这是由于在本研究体系中的 pH 值主要受供试菌产生的生物胺影响,随着供试菌菌数的不断增加,苯乙胺和酪胺的含量也在不断累积,而生物胺是一类碱性物质,会中和供试菌生长过程中所产的酸。从图 5 中可看出在含氨基酸底物的 MRS 培养液的 D 组,供试菌株在 8 h 后的 pH 值上升速率最快,供试菌株在生长至 20 h 时都达到甚至超过初始 pH 值,由此可以得出,两株菌都具有较强的产生物胺能力,在菌株生长过程中由于酪胺和苯乙胺的大量产生

导致了 pH 的快速上升。而在含氨基酸底物的 MRS 基础上添加大蒜精油的 C 组, pH 值也具有上升趋势, 但与 D 组相比差异性非常显著, 说明大蒜精油虽然抑制了供试菌株的生长, 但并未将供试菌株杀死。对比图 4 和图 5 可发现, 大蒜精油对 *E. faecium* 的生长抑制程度较强, 从而减弱了其产生酪胺和苯乙胺的能力。

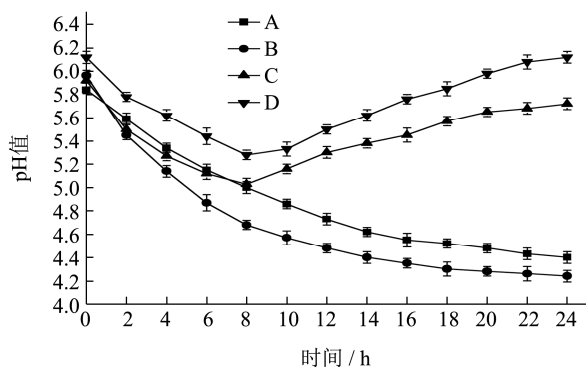


图 4 大蒜精油对 *E. faecalis* 生长过程中 pH 的变化

Fig.4 pH change during growth of *E. faecalis* when treated with garlic essential oil

注: A, 在含有大蒜精油的 MRS 培养基中接种 *E. faecalis* 菌悬液; B, 在 MRS 培养基中接种 *E. faecalis* 菌悬液; C, 在含有氨基酸底物和大蒜精油的 MRS 培养基中接种 *E. faecalis* 菌悬液; D, 在含有氨基酸底物的 MRS 培养基中接种 *E. faecalis* 菌悬液。

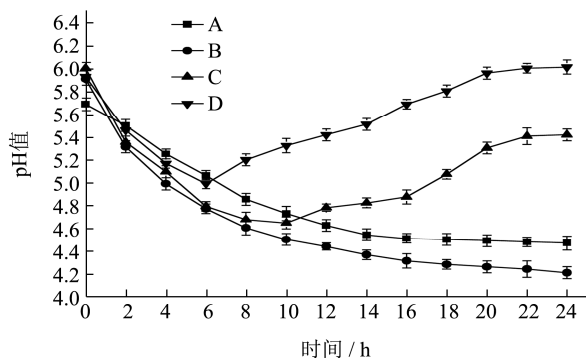


图 5 大蒜精油对 *E. faecium* 生长过程中 pH 的变化

Fig.5 pH change during growth of *E. faecium* when treated with garlic essential oil

注: A, 在含有大蒜精油的 MRS 培养基中接种 *E. faecium* 菌悬液; B, 在 MRS 培养基中接种 *E. faecium* 菌悬液; C, 在含有氨基酸底物和大蒜精油的 MRS 培养基中接种 *E. faecium* 菌悬液; D, 在含有氨基酸底物的 MRS 培养基中接种 *E. faecium* 菌悬液。

2.5 HPLC 测定大蒜精油对供试菌株作用后生物胺含量

2.5.1 生物胺标准曲线

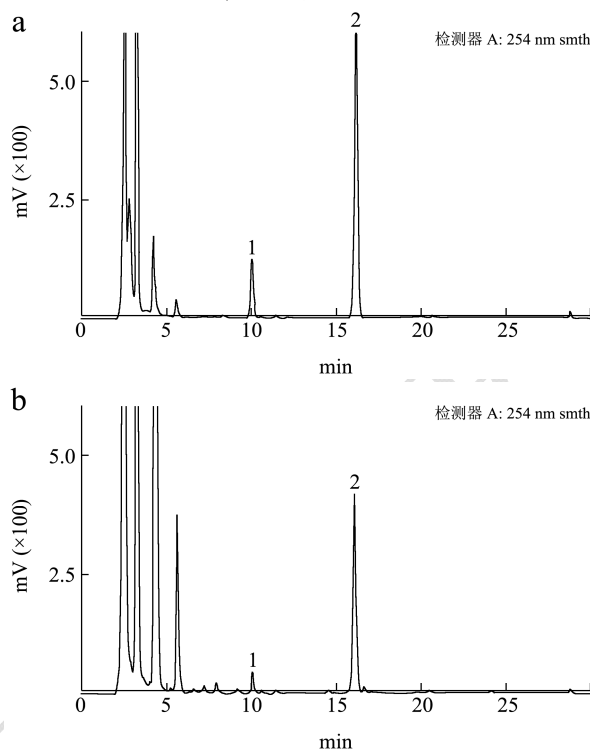


图 6 生物胺样品图谱

Fig.6 HPLC chromatographic profiles of biogenic amines

注: a, 生物胺样品图谱; b, 添加精油样品图谱; 1-苯乙胺 (FHE)、2-酪胺 (TYR)

2.5.2 大蒜精油浓度对苯乙胺和酪胺抑制结果

近年来, 多种精油被报道能防治肉制品中的腐败细菌, 然而目前的研究多集中在致病性微生物, 关于大蒜精油对产生物胺菌株的抑菌报道非常鲜见, 仍需进一步试验来验证。由图 7 和图 8 可以看出, 空白组中 *E. faecium* 是酪胺的主要产生菌, 而 *E. faecalis* 是苯乙胺的产生菌。卢士玲^[15]在研究环境因素对屎肠球菌产苯乙胺和酪胺的影响中也表明, 屎肠球菌在生长代谢过程中主要产酪胺和苯乙胺, 产酪胺的量远远高于产苯乙胺。而添加不同浓度的大蒜精油对减少供试菌中的苯乙胺和酪胺的含量具有显著性效果 ($p < 0.05$)。当大蒜精油的添加量为 0.20% 时, *E. faecalis* 中苯乙胺的最低生成量为 72.37 $\mu\text{g/mL}$, 相对于空白组降低了 53.35%; *E. faecium* 中苯乙胺的最低生成量为 62.80 $\mu\text{g/mL}$, 相对于空白组降低了 50.00%。*E. faecalis* 中酪胺的最低生成量为 144.20 $\mu\text{g/mL}$, 相对于空白组降低了 43.00%; *E. faecium* 中酪胺的最低生成量为 152.76 $\mu\text{g/mL}$, 相对于空白组降低了 46.30%。当大蒜精油添加量为最低抑菌浓度时, 能够使 *E. faecalis* 和 *E. faecium* 产酪胺含量分别减少 15.54%、13.75%, 苯乙胺含量分别减少 21.75% 和 26.61%。与 Jae-Hyung Mah 等^[16]研究结果相近, 他们将大蒜提取物加入产胺培养

液中与空白组相比,能够使腐胺、尸胺、组胺、酪胺和苯乙胺含量分别减少 11.20%、18.40%、11.70%、20.90%和 18.40%。说明大蒜精油对生物胺产生的确具有一定的抑制效果,可能是由于大蒜精油中的有效活性物质大蒜素的抑菌作用扰乱位于微生物细胞膜上的脱羧酶活性,抑制微生物苯丙氨酸脱羧酶的分泌,延缓了苯乙胺和酪胺的生成。

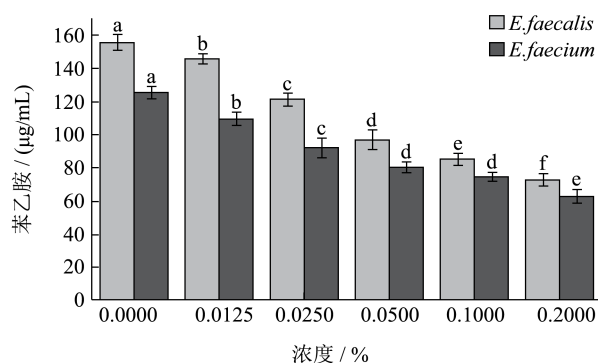


图7 处理后菌株产苯乙胺含量

Fig.7 Production of phenethylamine by treated strains

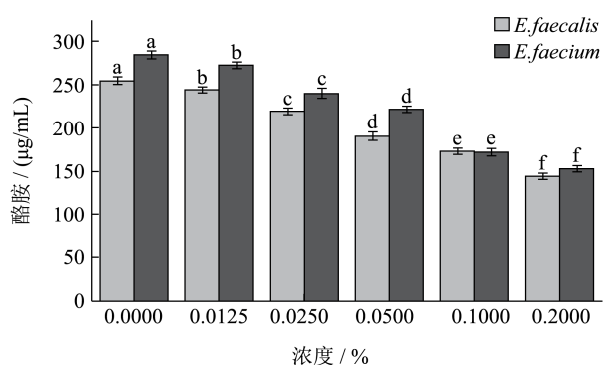


图8 处理后菌株产酪胺含量

Fig.8 Production of tyramine by treated strains

注: 方差分析采用 Duncan 法, 小写字母表示 <0.05 水平。

3 结论

3.1 大蒜精油对两株供试菌具有抑制作用,随着大蒜精油浓度增大,抑制率也随之增大。大蒜精油对 *E. faecalis* 的 MIC 仅为 0.025%,对 *E. faecium* 的 MIC 为 0.031%,说明大蒜精油对产胺菌株具有较强的抑制效果,并且大蒜精油中抑菌主要的活性成分含量较高。

3.2 在添加 1/2MIC 浓度的大蒜精油后会造成功试菌生长过程失调,没有明显的对数期;大蒜精油同时能够影响供试菌生长过程中 pH 值的变化,抑制了供试菌氨基酸脱羧酶的活性,从而减弱了其产生苯乙胺和酪胺的能力。

3.3 大蒜精油有显著降低苯乙胺和酪胺的潜质,在大蒜精油的添加量为 0.025%时,苯乙胺的含量平均减少了 24.18%,酪胺的含量平均减少了 14.65%,对供试

菌苯乙胺的产生抑制效果显著($p<0.05$)。说明添加大蒜精油抑制产生物胺菌株的增长的同时还可能在某种程度上抑制了生物胺的生物合成。

参考文献

- [1] 刘景,任婧,孙克杰.食品中生物胺的安全性研究进展[J].食品科学,2013,5:322-326
LIU Jing, REN Jing, SUN Ke-jie. Safety of biogenic amines in foods [J]. Food Science, 2013, 5: 322-326
- [2] EFSA. Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods [J]. EFSA Journal, 2011, 9(10): 2393-2486
- [3] Ladero V, Fernandez M, Calles-Enriquez M, et al. Is the production of the biogenic amines tyramine and putrescine a species-level trait in *enterococci*? [J]. Food Microbiol., 2012, 30(1): 132-138
- [4] Inoğlu Zehra Nur, Tuncer Yasin. Safety assessment of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains isolated from Turkish Tulum cheese [J]. Journal of Food Safety, 2013, 33(3): 369-377
- [5] Billings J, Sherman P W. Antimicrobial functions of spices: why some like it hot [J]. The Quarterly Review of Biology, 1998, 73: 3-49
- [6] Bozkurt H. Utilization of natural antioxidants: Green tea extract and Thymbra spicata oil in Turkish dry-fermented sausage [J]. Meat Science, 2006, 73(3): 442-450
- [7] Sunaina Shetty, Biju Thomas, Veena Shetty, et al. An *in vitro* evaluation of the efficacy of garlic extract as an antimicrobial agent on periodontal pathogens: A microbiological study [J]. AYU(An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda), 2014, 34(4): 445-451
- [8] Mytle N, Anderson G L, Doyle, et al. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters [J]. Food Control, 2006, 17: 102-107
- [9] 吴楠,祖元刚,王微.大蒜精油抗菌活性研究[J].食品科学, 2008,3:103-105
WU Nan, ZU Yuan-gang, WANG Wei. Antimicrobial activities of garlic essential oil [J]. Food Science, 2008, 3: 103-105
- [10] Guo J J, Kuo C M, Chuang Y C, et al. The effects of garlic-supplemented diets on antibacterial activity against *Streptococcus iniae* and on growth in orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* [J]. Aquaculture, 2012, 364(3): 33-38
- [11] Christine F, Carson, Mee B J, et al. Mechanism of action of

- melaleuca alternifolia (tea tree) oil on staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002, 46(6): 1914-1920
- [12] Cavallito C J, Bailey J H. Alliicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. I. isolation, physical properties and antibacterial action [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1944, 66: 1950-1951
- [13] Chorianopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis, et al. Essential oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52: 8261-8267
- [14] Sokovi C M, Glamo Clija J, Marin, et al. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model [J]. *Molecules*, 2010, 15: 7532-7546
- [15] 卢士玲,李开雄,徐幸莲,等.环境因素对屎肠球菌产苯乙胺和酪胺的影响[J].*食品与发酵工业*,2012,10:57-62
LU Shi-ling, LI Kai-xiong, XU Xing-lian, et al. The effects of environmental factors on Phenylethylamine and Tyramine -production by *Enterococcus faecium* [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2012, 10: 57-62
- [16] Mah J H, Kim Y J, Hwang H J. Inhibitory effects of garlic and other spices on biogenic amine production in Myeolchi-jeot, Korean salted and fermented anchovy product [J]. *Food Control*, 2009, 20(5): 449-454