

熏马肠成熟过程中产生物胺氧化酶菌对生物胺作用的研究

张惠超¹, 卢士玲¹, 马宇霞¹, 李想鹏¹, 蒋彩虹¹, 王少梅²

(1.石河子大学食品学院, 新疆石河子 832000) (2.北京源华美磷脂科技有限公司, 北京 101109)

摘要: 该研究以从新疆熏马肠中筛选出来的6株产生物胺氧化酶菌株(鼠李糖乳杆菌、枯草芽孢杆菌、腐生葡萄球菌、木糖葡萄球菌、戊糖片球菌、植物乳杆菌)作为发酵剂加入熏马肠中, 采用PCR-DGGE技术监测菌落动态变化, 高效液相色谱法检测熏马肠中生物胺(色胺、腐胺、苯乙胺、组胺、酪胺、尸胺、精胺、亚精胺)含量变化。结果表明, 在熏马肠成熟过程中发酵剂对生物胺有一定的抑制作用。其中以腐生葡萄球菌对色胺、腐生葡萄球菌对苯乙胺、木糖葡萄球菌对尸胺、鼠李糖乳杆菌对腐胺、腐生葡萄球菌对组胺和枯草芽孢杆菌对酪胺的抑制作用最为显著, 减少程度分别为45.49%、57.54%、40.75%、51.03%、49.28%、64.33%。本研究为熏马肠以及其他发酵肉制品的提高安全性奠定了基础。

关键词: 生物胺; 熏马肠; 高效液相色谱; 产生物胺氧化酶菌

文章编号: 1673-9078(2015)6-122-128

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.6.020

Effects of Biogenic Amine Oxidase Producing Strains During the Maturation of Smoked Horsemeat Sausages

ZHANG Hui-chao¹, LU Shi-ling¹, MA Yu-xia¹, LI Xiang-peng¹, JIANG Cai-hong¹, WANG Shao-mei²

(1.Food College, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

(2.Beijing Yuan Hua Mei Lecithin Sci-Tech Co.,Ltd, Beijing 101109, China)

Abstract: Six bacterial strains (namely *Lactobacillus rhamnosus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xylosus*, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactobacillus plantarum*) producing biogenic amine oxidase, screened from Xinjiang smoked horsemeat sausage, were added to smoked horsemeat sausages. The dynamic changes in bacterial colonies were determined by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE). The variation in the content of biogenic amines (tryptamine, putrescine, phenylethylamine, histamine, tyramine, cadaverine, spermine, and spermidine) was determined by HPLC. The content of biogenic amines was reduced by the starter cultures during sausage maturation. Inhibitory effects of *Staphylococcus saprophyticus* were most significant on tryptamine, while those of *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus xylosus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Staphylococcus saprophyticus*, and *Bacillus subtilis* were most prominent on phenylethylamine, cadaverine, putrescine, histamine, and tyramine, respectively. The rates of reduction were 45.49%, 57.54%, 40.75%, 51.03%, 49.28%, and 64.33%, respectively. These results provide a good theoretical basis for controlling the safety of fermented meat.

Key words: Biogenic amines, biogenic amine oxidase-producing strains, high-performance liquid chromatography, smoked horsemeat sausages

发酵肉制品即人为操作或在自然条件下通过微生物的作用, 能使肉制品保存期延长, 且能产生独特的色香味和质地, 还可以添加一些烟熏、干燥的操作,

收稿日期: 2014-08-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31360392); 国家自然科学基金资助项目(31160329); 新疆生产建设兵团博士基金(2013BB012)

作者简介: 张惠超(1993-), 男, 硕士在读, 研究方向: 畜产品加工与安全
通讯作者: 卢士玲(1976-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 畜产品加工与安全

在此加工过程当中, 因为有微生物的发酵作用, 低温脱水, 使肉制品的Aw降低, pH值有所下降, 更准确的讲, 应该称之为发酵类干燥肉制品^[1]。熏马肠是新疆哈萨克民族的传统食品, 近些年来因其风味独特, 深受消费者的喜爱, 本课题组的前期研究发现, 在被调查的58个样品中, 酪胺、尸胺和腐胺是新疆熏马肠中含量较高的生物胺, 67.84%的样品酪胺含量和45.78%的样品生物胺总量分别超过FDA规定标准(组胺≤50 mg/kg, 酪胺≤100 mg/kg, 生物胺总量≤1000

mg/kg)^[2]。生物胺普遍存在于发酵肉制品中。主要是通过微生物的氨基酸脱羧酶催化脱羧氨基酸形成的。生物胺的产生受产氨基酸脱羧酶菌和环境影响,可以通过选择合适发酵剂对生物胺进行控制^[3-6]。一般加入乳酸菌作为发酵剂是通过控制自然发酵菌群来减少生物胺的产生^[7]。然而中式发酵香肠 pH 较高,使用发酵剂通过降低 pH 控制生物胺不适用。因此,选用产酸慢、具有抑菌作用、不产生氨基酸脱羧酶、产生物胺氧化酶的微生物作为发酵剂具有重要意义^[8-9]。生物胺氧化酶可以降解生物胺产生醛、氨和过氧化氢^[10]。单胺氧化酶和二胺氧化酶对减少发酵肉制品生物胺含量起着重要作用^[11]。本实验利用前期筛选的六株生物胺氧化酶菌株作为发酵剂,在熏马肠成熟的过程中利用 HPLC 检测不同发酵剂对生物胺含量变化的影响,进而阐明发酵剂对传统中式熏马肠中生物胺累积的控制作用。为熏马肠以及其他发酵肉制品安全性的提高奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜马肉购自石河子农贸市场,其他辅料购于石河子天扬超市。

发酵剂为石河子大学食品学院畜产组筛选出的6株产生物胺氧化酶菌株,分别为:

鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*); 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*); 腐生葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*); 木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosum*); 戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*); 植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器

分析天平(EL204); 超净工作台, SW-cg-2F.100级; 超声波清洗器, KQ-250B 型; 冷冻离心机, 5417R; 数显恒温水浴锅, DK-8D; 立式自动电热压力蒸汽灭菌锅, LDZX-40 型; pH 计, DENVER INSTRUMENT, Model:UB-7; 恒温培养箱, DNP-9272 型; 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; 0.22 μm 有机滤膜; 以及其它微生物实验常用培养皿、试管、移液枪、量筒、三角瓶、涂布棒。

1.2.2 试剂

色胺、腐胺、苯乙胺、组胺、酪胺、尸胺、精胺、亚精胺(Sigma); 甲醇(色谱纯); 乙腈(色谱纯); 丹磺

酰氯(Sigma); 浓氨水; 高氯酸; 超纯水。

1.3 实验方法

1.3.1 试验设计

本研究在传统熏马肠的加工工艺的基础上,加入6株具有生物胺氧化酶活性的菌株,制作7种不同类型熏马肠(一组为空白组):

CK 组作为空白组;

A 组添加鼠李糖乳杆菌(*Lactobacillus rhamnosus*); B 组添加枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*); C 组添加腐生葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*); D 组添加木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosum*); E 组添加戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*); F 组添加植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

1.3.2 基本工艺流程

原料肉进行处理,将肥膘(20%)切丁进行漂洗(40 °C),瘦肉(80%)绞肉,混合腌制接种发酵剂;灌入肠衣发酵 2 d,(发酵条件:发酵 18±0.5 °C, RH 90~95%);成熟过程控制不同条件 3~4 d [14±0.5 °C, RH 80~85%], 5~7 d [12±0.5 °C, RH75~80%], 8~28 d [10±0.5 °C, RH70~75%]。

发酵剂接种量为 10⁷ CFU/g。

原料肉减菌处理的方法为:将肉表面涂抹酒精后,灼烧,并将表面部分去除(此过程在紫外照射下进行)。在熏马肠的发酵和成熟的过程中,分别对7组熏马肠 A、B、C、D、E、F、CK 于 0、2、7、14、21、28 d 取样并冷冻(-20 °C)保藏,待测^[12]。

1.3.3 生物胺标准溶液的配制与柱前衍生参照文献^[12]。

1.3.4 样品预处理

取 5 g 熏马肠样品,与 20 mL 0.4 mol/L 的高氯酸混匀,经匀浆机处理均匀,冷冻离心 10 min (10 °C, 2500 r/min),将沉淀部分重复上述操作。两次取得的上清液用高氯酸(0.4 mol/L)定容至 50 mL。进行柱前衍生时取用 1 mL 即可。

1.3.5 色谱条件

参照文献^[12]。

1.3.6 pH 值的测定

取熏马肠样品 10 g (去除脂肪),与 90 mL 无菌生理盐水混合于无菌均质袋中,经拍打式均质机拍打 2 min 后,取上清液用 pH 计测定其 pH 值,并做记录。

1.3.7 样品总 DNA 提取

参照文献^[13]。

1.3.8 总 DNA 的 PCR 扩增

对所分离菌株的 16S rDNA 的 V6-V8 区段进行

PCR 扩增^[7], 选用引物为:

上游引物为: GC-U968;

下游引物为: L1401;

PCR 反应为 25 μ L 体系: 1 μ L 模板 DNA, 上游引物和下游引物各 0.5 μ L, HS Mix(东盛)12.5 μ L, 超纯水 10.5 μ L。

1.3.9 DGGE 分析微生物动态变化

DGGE 采用 Biorad Dcode apparatus 电泳仪, 聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8% (丙烯酰胺: 甲叉双丙烯酰胺 37.5:1)。变性梯度从 40%~60%, 在 0.5xTAE 缓冲液中, 先在 200 V 电压下预跑 10 min, 然后在 85 V 恒压下电泳 16 h。将 DGGE 胶片在超纯水 (含 0.5 μ L/mL EB) 中摇床染色 15 min。再用超纯水脱色 10 min 后, 用凝胶成像系统拍照。条带相同的菌株可认为是同一菌株, 剔除重复。

1.3.10 割胶回收

DGGE 结果采用 Quantity one 分析并拍照后, 在紫外灯照射下用无菌刀片迅速割下所需条带, 放入对应编号的无菌离心管 (1.5 mL) 中, 加入 20 μ L TE 溶液, 4 $^{\circ}$ C 贮藏 24 h 后可送去测序。

1.3.11 DNA 测序与 NCBI 比对后申请登录号

取菌株 DNA 的 PCR 产物送至三博远志公司测序, 将测序结果与 NCBI 数据库中序列进行比对。

1.3.12 数据统计分析

试验数据通过 SPSS 软件统计分析, 采用 Origin 8.0 作图, 采用新复极差法分析, 以 $P < 0.05$ 为差异显著, 以 $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 pH 值测定结果分析

根据 1.3.6 试验方法对样品进行处理后, 测定 pH 值结果如图 1 所示。

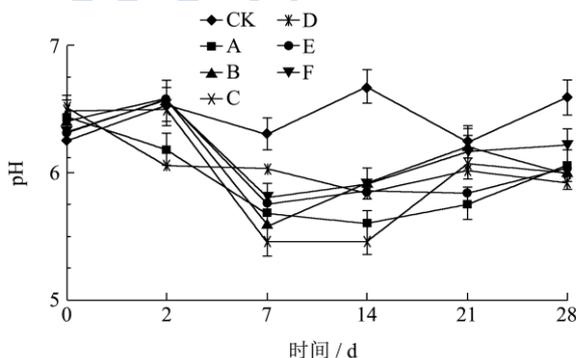


图 1 熏马肠成熟过程中 pH 值的变化

Fig.1 Changes of pH in smoked horsemeat sausages supplemented with different starter cultures during ripening

由图 1 可以发现, 空白组在整个过程中 pH 值的大小在 6.24~6.68 之间波动, 变化不大, 添加发酵剂组的 pH 值变化情况是: CK 组在 2~21 d pH 均高于其他各组, 在 14 d 达到最高, 这是由于发酵过程中长生物胺导致 PH 值升高, 其次, 可能是由于少量内源酶分解蛋白质导致 pH 值升高, 而在后期可能是由于乳酸菌产生乳酸导致 pH 值下降; A、D 两组 0~7 d 呈下降趋势, 可能是在此阶段乳酸菌和其他产酸菌产乳酸和有机酸, 7~12 d 之间, 变化波动不显著, 成熟末期, pH 值有微弱升高, 这可能是由于后期产生具有碱性的氨类物质, 乳酸菌生长产生的酸被部分中和所致^[14]; B、C、E、F 四组变化趋势基本相同, 在发酵初期, pH 值有上升趋势, 随后的 2~7 d 内开始显著下降, 之后的 7~21 d, 有微弱上升, 成熟后期, 其 pH 值有少许下降。总之, 在熏马肠成熟后, 添加发酵剂组中 pH 值均低于空白组, 这可能是由于这些发酵剂有一定的产酸能力, 这样也可以抑制杂菌的生长。

2.2 DGGE 图谱分析

对试验过程中各试验组取样 (0, 2, 7, 14, 21 和 28 d), 用细菌 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 并以上引: GC-U968 和下引: L1401 为引物, 对 16srDNA V6-V8 区基因序列进行 PCR 扩增, 经琼脂糖凝胶电泳检测后, 采用 PCR-DGGE 对菌落动态进行监测, 分析拍照后, 将条带割胶, 用不带 GC 夹的引物扩增后测序, 与 Genebank 数据库比对确定后申请登录号。

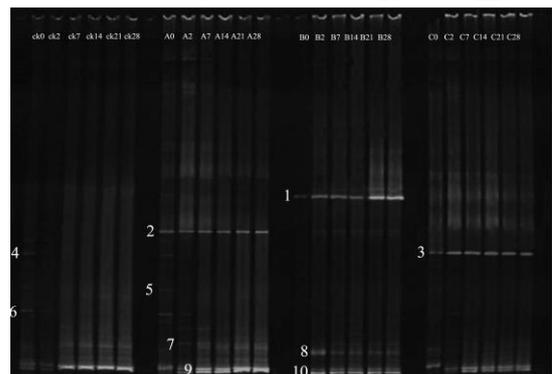


图 2 新疆熏马肠成熟过程中细菌 PCR-DGGE 图谱

Fig.2 DGGE fingerprinting of PCR products of Xinjiang smoked horsemeat sausage during ripening

注: ck0, ck2, ck7, ck14, ck28 分别表示为对照组在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; A0, A2, A7, A14, A28 分别表示 B 组(*Bacillus subtilis*)在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; B0, B2, B7, B14, B28 分别表示 A 组(*Lactobacillus rhamnosus*)在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; C0, C2, C7, C14, C28 分别表示为 C 组(*Staphylococcus saprophyticus*)在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; 图中条带分别用 d1, d2, d3, d4, d5, d6, d7,

d8, d9, d10 来表示。

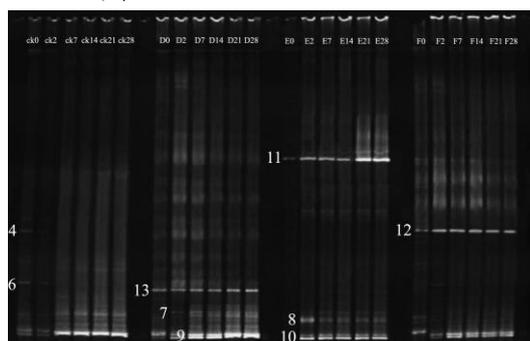


图3 新疆熏马肠成熟过程中细菌 PCR-DGGE 图谱

Fig.3 DGGE fingerprinting of PCR products of Xinjiang smoked horsemeat sausage during ripening

注: ck0, ck2, ck7, ck14, ck28 分别表示为对照组在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; D0, D2, D7, D14, D28 分别表示 F 组(*Lactobacillus plantarum*)在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; E0, E2, E7, E14, E28 分别表示 D 组(*Staphylococcus xylosus*)在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; F0, F2, F7, F14, F28 分别表示为 E 组(*Pediococcus pentosaceus*)在第 0, 2, 7, 14 和 28 d 的样品; 图中条带分别用 d1, d2, d3, d4, d5, d6, d7, d8, d9, d10 来表示。

表 1 熏马肠成熟过程中细菌 PCR-DGGE 图谱上条带序列分析

Table 1 Identity of the bands obtained from DGGE analysis of bacterial communities in smoked horsemeat sausage during ripening

条带	细菌	相似度 ID%	序列号
1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	99	KF958282
2	<i>Bacillus subtilis</i>	99	KF958285
3	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	100	KF958286
6	<i>Lactobacillus sakei</i> subsp.	98	KF958283
9	<i>Psychrobacter nivalis</i>	97	KF958284
10	<i>Staphylococcus carnosus</i> subsp.	99	KF958287
11	<i>Staphylococcus xylosus</i>	100	KF958288
12	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	100	KF958291
13	<i>Lactobacillus plantarum</i>	100	KF958290

从图 2 可以看出, 在熏马肠成熟过程中, 4、5、6、7、8、9、10 在发酵第 0 d 存在于每组样品中, 说明这几株菌可能为马肉原料中的内源菌, 随着发酵时间的延长, 添加的发酵剂越来越趋于优势化, 内源菌除 9、10 号菌外, 其余各菌逐渐消失, 1、2、3、11、12、13 号菌分别为所添加的发酵剂, 由于 4、5、7、8 号菌条带始终较弱, 未能检出。说明在发酵过程中, 发

酵剂趋于优势化, 对内源菌有较好的抑制作用, 且本实验采用的原料肉减菌处理方法可行。

2.3 熏马肠成熟期过程中各生物胺含量的变化

化

2.3.1 熏马肠成熟期间色胺含量的变化

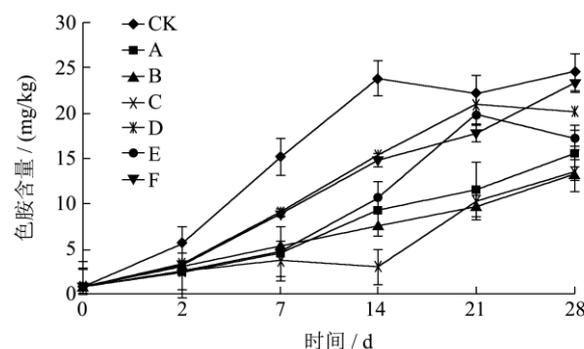


图 4 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中色胺含量变化

Fig.4 Changes in the tryptamine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

注: CK-空白, A-鼠李糖乳杆菌, B-枯草芽孢杆菌, C-腐生葡萄球菌, D-木糖葡萄球菌, E-戊糖片球菌, F-植物乳杆菌。

由图 4 可以看出, 在熏马肠成熟过程中, 随着成熟时间的延长色胺含量呈上升趋势, 其中 0、2、7 d 添加发酵剂组样品中色胺含量差异不显著 ($P>0.05$)。成熟后期, A、B、C、E 组中色胺含量显著低于空白组 ($P<0.01$), F 组与空白组差异不显著 ($P>0.05$)。在发酵结束时, 添加发酵剂组 A、B、C、E 组中色胺含量显著低于空白组 ($P<0.01$)。说明鼠李糖杆菌、枯草芽孢杆菌、腐生葡萄球菌, 戊糖片球菌对色胺均有较好的抑制作用。其中以腐生葡萄球菌最为显著, 色胺减少量为 45.49%。

2.3.2 熏马肠成熟期间苯乙胺含量的变化

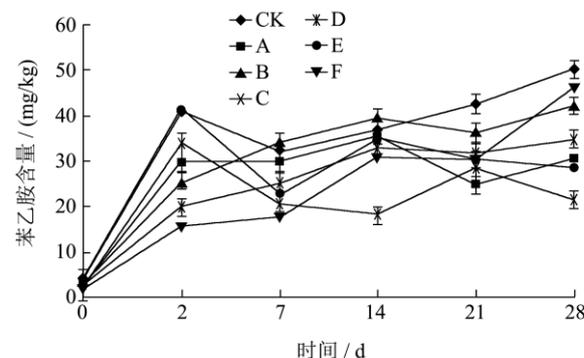


图 5 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中苯乙胺含量变化

Fig.5 Changes in the phenylethylamine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

由图 5 可以看出, 在熏马肠成熟过程中, 空白组

中苯乙胺含量在发酵初期呈上升趋势,成熟初期有微弱降低,成熟结束时,苯乙胺的含量最多;添加发酵剂组苯乙胺含量变化不一,发酵初期也呈上升趋势,在成熟初期除F组外都有下降趋势,在成熟结束时,A、C、D、E组中苯乙胺含量均显著低于空白组,效果极显著($P < 0.01$),其中以腐生葡萄球菌抑制效果最好,在发酵结束时,苯乙胺含量为21.355 mg/kg,减少量为57.54%。F组与CK组差异不显著($P > 0.05$),说明植物乳杆菌对苯乙胺没有显著抑制作用。

2.3.3 熏马肠成熟期间尸胺含量的变化

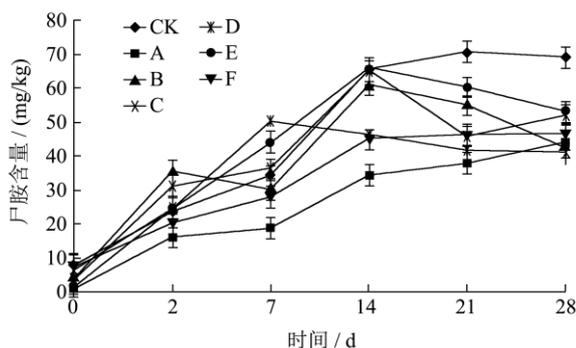


图6 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中尸胺含量变化

Fig.6 Changes in the cadaverine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

由图6可看出,空白组和A组在发酵和成熟过程中尸胺含量一直呈上升趋势,其余各组在成熟后期均有微弱降低,添加发酵剂组在0~2 d的发酵过程中,样品中尸胺含量差异不显著($P > 0.05$)。A组在整个过程中,尸胺含量始终较少,成熟结束时,添加发酵剂组尸胺含量均显著低于空白组($P < 0.05$),其中以木糖葡萄球菌效果最好,减少量为40.75%。

2.3.4 熏马肠成熟期间腐胺含量的变化

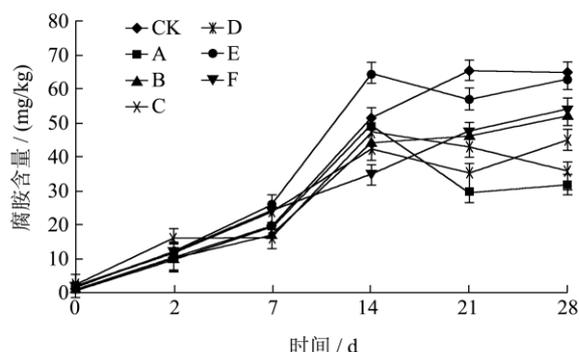


图7 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中腐胺含量变化

Fig.7 Changes in the putrescine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

与组胺相似有较强的生理毒性的腐胺是由精氨酸脱羧生成,也是肉制品腐败变质的特征产物。由图7可看出,0~7 d内,各组之间腐胺含量差异不显著

($P > 0.05$); 7~14 d内, E组中腐胺含量显著升高; 14~28 d中,除CK、A、F组中腐胺含量继续升高外,其余各组均有所降低。成熟末期, A组中腐胺含量最少,减少量为51.83%。

2.3.5 熏马肠成熟期间组胺含量的变化

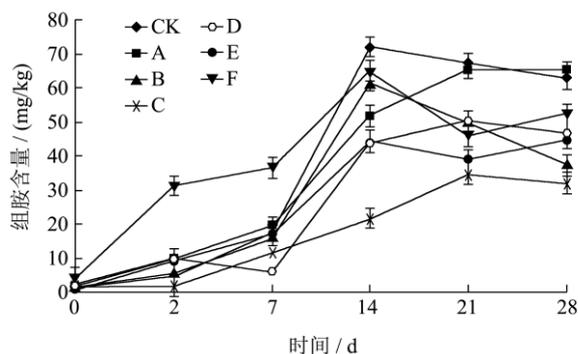


图8 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中组胺含量变化

Fig.8 Changes in the histamine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

由组氨酸脱羧形成的组胺是发酵熏马肠中最重要的生物胺成分,在发酵和成熟初期0~7 d内, F组中组胺含量显著高于其余6组; 7~14 d内,组胺含量均呈上升趋势,变化各不相同。在成熟末期, A组中组胺含量略高于空白组,其余5组均显著低于空白组($p < 0.01$),总之,除鼠李糖乳杆菌外,其余五株菌均有较好的氧化组胺能力,其中以腐生葡萄球菌最为显著,减少量为49.28%。

2.3.6 熏马肠成熟期间酪胺含量的变化

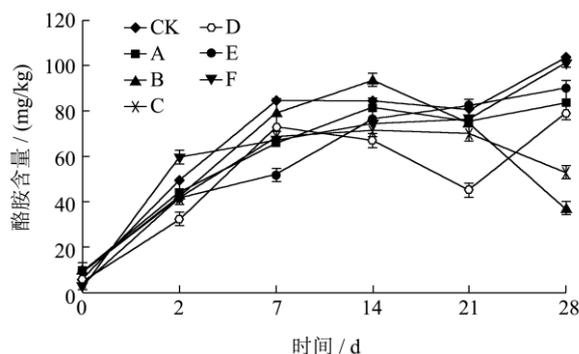


图9 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中酪胺含量变化

Fig.9 Changes in the tyramine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

酪胺是发酵熏马肠中含量最高的生物胺,在发酵熏马肠中的危害很大。由图9可看出,0~14 d内,实验组和空白组中酪胺含量均呈上升趋势,差异不显著($P > 0.05$),之后 B组中酪胺含量不断降低,直到发酵结束时, B组显著低于其他各组,减少量达到64.33%,其余各组之间差异不显著。

2.3.7 熏马肠成熟期间亚精胺和精胺含量的变

化

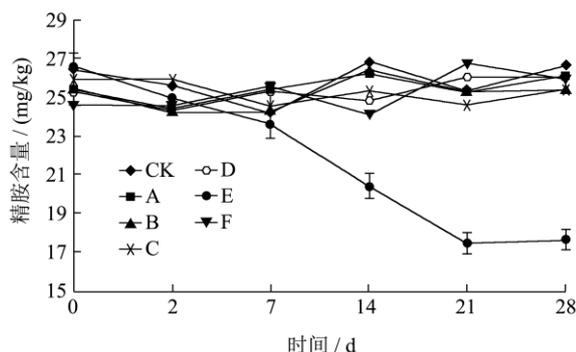


图 10 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中精胺含量变化

Fig.10 Changes in the spermine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

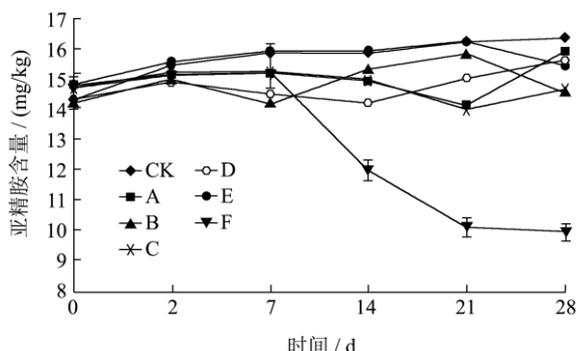


图 11 添加不同发酵剂熏马肠成熟过程中亚精胺含量变化

Fig.11 Changes in the spermidine content of sausages supplemented with different starter cultures during ripening

鲜肉中即存在精胺和亚精胺，所以在熏马肠发酵和成熟过程中也始终存在。且含量相对比较稳定，图 10 表明，在整个发酵与成熟过程中，E 组中精胺含量始终处于下降趋势，7~21 d 之间，下降趋势尤其明显，最终减少量达到 39.37%，其余各组在整个过程中，时高时低，变化不明显；从图 11 可以看出，在整个过程中只有 F 组中亚精胺含量在 7 d 之后急剧下降，减少量达到 33.87%，其余各组均略微低于空白组，差异不显著 ($P>0.05$)。

2.4 讨论

生物胺的产生需要满足三点要求：首先，必须有生物胺产生的前体物质，也就是各种游离的氨基酸，但也并不是所有的氨基酸都能引起生物胺的产生；其次，生物胺的产生需要氨基酸脱羧酶的作用，不同的氨基酸在相应的氨基酸脱羧酶作用下，可形成生物胺，这种酶的产生往往是由微生物的作用；最后，需要有这类微生物生长的适宜条件，以及酶活性表达的良好环境。所以对生物胺的控制要从这三点出发。除了以上几点外，生物胺氧化酶菌株对内源菌的抑制作用对

生物胺的量也有一定影响，从图 2，图 3 新疆熏马肠成熟过程中细菌 PCR-DGGE 图谱，可以看出部分内源菌受到抑制，主要是 A 组中 8 号菌，B 组中 5、6、7 号菌，C 组中 9 号菌，D 组中的 8 号菌，E 组中的 9 号菌，空白组中的 6 号菌受到抑制。当然产生生物胺的量还受温度，相对湿度的影响，温度对生物胺的影响主要是通过改变发酵香肠中微生物的种类及数量，蛋白水解酶和氨基酸脱羧酶的活性来达到的。比如图 4 中，空白组色胺含量在 0~14 d 一直呈上升趋势，之后下降趋于稳定，这不仅是由于内源菌 4 号和 6 号受到抑制，还可能是受 PH 影响的结果；图 7 中，A 组腐胺含量在 14 d 处于下降趋势，这是由于鼠李糖乳杆菌对内源菌产腐胺能力有较强的抑制作用，以及内源菌 8 号菌受到抑制，还可能是由于后期发酵条件的水分活度和温度较低，减少腐胺的生成量；在图 9 中，B 组酪胺含量在 14 d 后下降，这是由于内源菌 5 号，6 号，7 号受到抑制；而图 10，图 11 中，精胺和亚精胺含量在第 7 d 之后急剧下降，之后明显低于其它各组，这可能是由于精胺和亚精胺同属于多胺，生物胺氧化酶对多胺的专一性造成的，后期实验将对酶进行提取并进行验证。其次每种生物胺氧化酶菌株的产酶量也不相同，对生物胺含量也有一定影响。此外还可以将菌株进行复配，弥补单一菌株的缺陷，从而得到更理想的产品。

3 结论

3.1 对熏马肠成熟过程中菌落动态进行分析，其中 *Lactobacillus sakei* subsp.、*Psychrobacter nivalis*、*Staphylococcus carnosus* subsp 在发酵 0 d 时存在，为内源菌，随着发酵时间的延长，添加的发酵剂越来越趋于优势化，内源菌除 *Psychrobacter nivalis*、*Staphylococcus carnosus* subsp 菌外，其余菌逐渐消失，说明发酵剂有一定的抑菌作用。

3.2 在熏马肠成熟过程发酵剂对生物胺都有一定的抑制作用。其中以腐生葡萄球菌对色胺的、腐生葡萄球菌对苯乙胺、木糖葡萄球菌对尸胺、鼠李糖乳杆菌对腐胺、腐生葡萄球菌对组胺和枯草芽孢杆菌对酪胺的抑制作用最为显著，减少程度分别为 45.49%、57.54%、40.75%、51.03%、49.28%、64.33%。其中戊糖片球菌是唯一对精胺有作用的菌株，精胺减少量达到 39.37%，植物乳杆菌是唯一对亚精胺有氧化作用的菌株，亚精胺减少量达到 33.87%。

参考文献

[1] 张元生,许益民.微生物在肉类加工中的应用[M].北京:中国

- 农业出版社,2001
- ZHANG Sheng-yuan, XU Yi-min. Applications of microorganism to meat processing [M]. Beijing: ChinaAgriculture Press, 2001
- [2] 张海萍,李开雄,卢士玲,等.新疆熏马肠中生物胺含量的调查[J].食品与发酵工业,2012,38(11):152-156
- ZHANG Hai-ping, LI Kai-xiong, LU Shi-ling, et al. An investigation on biogenic amines contents in xinjiangsmoked horse intestines [J]. Food and Fermentation Industries, 2012, 38(11): 152-156
- [3] Latorre-Moratalla M L, veciana-Nogués T, Bober-Cid S, et al. Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries [J]. Food Chemistry, 2008, 107(2): 912-921
- [4] 谭李红,夏文水,张春晖.一种混合发酵剂对干发酵香肠中生物胺含量的影响[J].食品工业科技,2005,21(4):429-431
- TAN Li-hong, XIA Wen-shui, ZHANG Chun-Hui. The biogenic amines content changes with one mixed starter in dry fermented sausages [J]. Science and Technology of Food Industry, 2005, 21(4): 429-431
- [5] Kung H-F, Tsai Y-H, Wei C-I. Histamine and other biogenic amines and histamine-forming bacteria in miso products [J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 351-356
- [6] Bober-Cid S, Izquierdo-Pulido M, Vidal-Carou M C. Influence of hygienic quality of raw materials on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausages [J]. Journal of Food Production, 2000, 63(11): 1544-1550
- [7] Suzzi G, Gardini F. Biogenic amines in dry fermented sausages: a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 88(1): 41-54
- [8] Gardini F, Martuscelli M, Crudele M A, et al. Use of *Staphylococcus xylosum* as a starter culture in dried sausages: effect on the biogenic amine content [J]. Meat Science, 2002, 61(3): 275-283
- [9] Leuschner R G, Heidel M, Hammes W P. Histamine and tyramine degradation by food fermenting microorganisms [J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 39(1-2): 1-10
- [10] Cošson J D, Cerutti C, Travaglia F, et al. Production of biogenic amines in "Salamini italiani alla cacciatora PDO" [J]. Meat Science, 2004, 67(2): 343-349
- [11] Santos M H S. Biogenic amine: their importance in foods [J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 29(2-3): 213-231
- [12] 马宇霞,卢士玲,李开雄,等.发酵剂对熏马肠成熟过程中生物胺含量变化的影响[J].食品与发酵工业,2014,40(2):55-59
- MA Yu-xia, LU Shi-ling, LI Kai-xiong, et al. The biogenic amines content changes with different starter cultures during smoked horsemeat sausages ripening [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(2): 55-59
- [13] 李蕊婷,卢士玲,李开雄,马宇霞.5株发酵剂对熏马肠成熟过程中内源菌的影响[J].食品与发酵工业,2014,40(1):45-49
- LI Rui-ting, LU Shi-ling, LI Kai-xiong, MA Yu-xia. Effects of five starter culture on endogenous bacteria during ripening of smoked horsemeat sausage [J]. Food and Fermentation Industries, 2014, 40(1): 45-49
- [14] 王海燕.湖南腊肉源产葡萄球菌的筛选、鉴定及产香机理研究[D].北京:中国农业大学,2005
- WANG Hai-yan. Identification of *Staphylococcus spp.* isolated from hunan bacon and its mechanism of aroma-production [D]. Beijing: Chian Agricultural University, 2005