doi:10.12301/j.issn.2095-6002.2021.01.010 文章编号:2095-6002(2021)01-0088-08
引用格式:郝淑月,任清.北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌产生细菌素及降黄酒生物胺功效研究[J].食品科学技术学报,2021,39(1):88-95.
HAO Shuyue, REN Qing. Study on bacteriocin production of *Pediococcus pentosaceus* induced by *Pontibacter beigongshangensis* and reduction the biogenic amines content in Huangjiu[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(1):88-95.

# 北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌产生细菌素及降黄酒生物胺功效研究

郝淑月, 任 清*
(北京工商大学 轻工科学技术学院, 北京 100048)

**摘 要:** 利用功能微生物控制杂菌污染,是黄酒生产中控制生物胺含量的有效途径。从黄酒麦曲中分离筛选出新菌种[北工商海洋杆菌(*Pontibacter beigongshangensis*)]和新菌株[戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)M25]。北工商海洋杆菌能够诱导戊糖片球菌产生细菌素,对黄酒中产生物胺的腐生葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*)、阪崎肠杆菌(*Cronobacter sakazakii*)、乳酪短杆菌(*Brevibacterium casei*)、芽孢杆菌(*Bacillus*)和阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)均具有抑制作用。北工商海洋杆菌和戊糖片球菌自身不产生物胺。添加北工商海洋杆菌和戊糖片球菌,制备强化功能曲,利用强化功能曲酿造黄酒,可使黄酒中的生物胺含量降低29.8%,而对黄酒的风味物质影响不明显。因此,未来北工商海洋杆菌和戊糖片球菌可以作为降生物胺功能菌株应用在黄酒酿造中。

**关键词:** 黄酒; 生物胺; 北工商海洋杆菌; 戊糖片球菌; 细菌素
**中图分类号:** TS261.1 **文献标志码:** A

生物胺(biogenic amines,BA)是一类低分子质量的含氮碱性有机化合物的总称,普遍存在于发酵食品中[1-2],主要由发酵过程中产生的氨基酸经脱羧酶催化生成,包括以腐胺、尸胺、精胺和亚精胺为主的脂肪族生物胺,以酪胺和苯乙胺为主的芳香族生物胺,以组胺和色胺为主的杂环类生物胺等。少量生物胺为生物体内的正常活性成分,但若人体过量摄入外源生物胺,会发生中毒反应,严重时还会危及生命[3-6]。据报道,摄入8~40 mg组胺会导致轻微中毒,摄入40 mg以上组胺引发中度中毒症状,酪胺在人体内含量超过100 mg时,会引发偏头痛[7-8]。

黄酒是我国特有的具有悠久历史的发酵酒,其独特的发酵工艺极易产生生物胺[9-10],一方面,黄酒酿造常用的原料为小麦、糯米、黍米和小米等谷物,蛋白质含量高,发酵过程中产生大量的游离氨基酸;另一方面,传统黄酒生产采用开放式的半固态发酵,极易污染杂菌,这些杂菌往往是产生物胺菌,能够分泌氨基酸脱羧酶,将游离氨基酸脱羧转化为生物胺。黄酒的生物胺平均质量浓度高达115 mg/L[11],远高于啤酒和葡萄酒中的生物胺平均质量浓度(啤酒中平均质量浓度为19.3 mg/L,葡萄酒中平均质量浓度为8.92 mg/L)[12]。因此,降低生物胺含量已经成为黄酒生产中质量控制的重要目标。

针对黄酒生物胺合成途径,生产上通常采用改进生产工艺来控制生物胺,例如采用乳酸菌的生物酸化浸米技术、调整贮藏温度和控制游离氨基酸含

---

收稿日期: 2020-12-03
基金项目: 河北省现代农业产业技术体系杂粮杂豆产后加工及综合利用项目(HBCT2018070206)。
第一作者: 郝淑月,女,硕士研究生,研究方向为生物工程。
*通信作者: 任 清,男,副教授,博士,主要从事酿酒微生物和分子生物学方面的研究。

量等技术[13-15]，虽然一定程度上降低了生物胺含量,但是,仍然不能满足黄酒质量安全的需求。随着黄酒发酵微生态系统研究的深入,发现发酵过程中的杂菌是生物胺主要产生菌,因此,筛选能够产生细菌素抑制杂菌的功能菌株,是黄酒生产中控制生物胺含量的有效途径。

本团队从黄酒酒曲中发现一株新菌种,命名为北工商海洋杆菌(*Pontibacter beigongshangensis*)[16]，对其生物学特性研究发现,该菌与戊糖片球菌共培养,可以诱导产生抑菌物质,本研究拟对此分析鉴定并对其降生物胺功效进行研究,以期为降低黄酒中生物胺含量提供理论依据和有价值的微生物菌种。

## 1　材料与方法

### 1.1　实验材料

黄酒麦曲 2 种,一种北宗黄酒有限公司提供,另一种由实验室自制;小麦和黍米,由张家口市农业科学院提供;糖化酶(100 000 U/g),江苏瑞阳生物科技有限公司;北工商海洋杆菌(CGMCC 1.17104)和戊糖片球菌 M25,均从北宗黄酒麦曲中分离,保存于本研究团队实验室;腐生葡萄球菌、阪崎肠杆菌、乳酪短杆菌、芽孢杆菌和阴沟肠杆菌,均为本研究团队从黄酒发酵过程中分离出来的杂菌;芽孢杆菌、大肠杆菌、植物乳杆菌和酵母由本研究团队实验室收藏;LB 培养基和 MRS 培养基均按照参考文献[17]的配方和方法配制。

生物胺检测显色培养基(g/L)：胰蛋白胨 5、酵母膏 5、牛肉膏 5、NaCl 2.5、葡萄糖 0.5、Tween 80 1 mL、$MgSO_4$ 0.2、$MnSO_4$ 0.05、$FeSO_4$ 0.04、柠檬酸铵 2、$K_2HPO_4$ 2、$CaCO_3$ 0.1、磷酸吡多醛 0.05、溴甲酚紫 0.06 、放线菌酮 0.05,分别添加赖氨酸 5.0(检测尸胺)、鸟氨酸盐酸盐 5.0(检测腐胺)、L-组氨酸盐酸盐 2.0(检测组胺)、色氨酸 2.0(检测色胺)、酪氨酸 1.0(检测酪胺)、苯丙氨酸 2.0(检测苯乙胺),调 pH 值至 5.3,121 ℃高压蒸汽灭菌 15 min。

固体脱羧酶培养基(g/L):琼脂粉 18.0,其他成分同生物胺检测显色培养基,pH = 5.3,121 ℃高压蒸汽灭菌 15 min。

### 1.2　实验方法

#### 1.2.1　牛津杯抑菌实验

采用牛津杯法分析菌株抑菌效果,指示菌株为腐生葡萄球菌、阪崎肠杆菌、乳酪短杆菌、芽孢杆菌和阴沟肠杆菌,芽孢杆菌、大肠杆菌、植物乳杆菌和酵母为待测菌株。

(1)分别将北工商海洋杆菌和戊糖片球菌 M25 单独接种于 10 mL MRS 液体培养基中,37 ℃下培养 24 h,制备单培养菌液。

(2)分别将芽孢杆菌、大肠杆菌、植物乳杆菌和酵母与戊糖片球菌共同接种于 10 mL MRS 液体培养基中,37 ℃下培养 24 h,制备共培养菌液。

(3)在灭菌的培养皿中注入约 25 mL LB 培养基,均匀铺满培养皿底部,待 LB 培养基凝固后,分别加入 5 种 100 μL 指示菌悬液,均匀涂布于培养皿上,在表面等间距放置灭菌的牛津杯。接着将 100 μL菌株共培养或单培养发酵液注入牛津杯内,4 ℃下扩散 3 ~ 5 h,然后将培养皿置于 37 ℃ 培养 24 ~36 h,观测抑菌效果。

#### 1.2.2　北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌生成细菌素的验证方法

1.2.2.1　排除有机酸的干扰

发酵上清液对指示菌的抑制作用可能是细菌素引起的,也可能是有机酸作用的结果,为排除酸的干扰,将北工商海洋杆菌与戊糖片球菌 M25 在 MRS 培养基中 37 ℃ 下共培养 24 h,10 000 r/min 离心 15 min,取上清液用 2.5 mol/L 的 NaOH 溶液中和至 pH 值达 6.5 ~7.0,通过牛津杯双层平板法进行抑菌试验,向牛津杯中分别加入北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养发酵上清液中和前以及中和后的液体 100 μL,并在水平条件下将平板放于 4 ℃冰箱中扩散 4 h,置于 37 ℃下培养 24 h,分别检测两者的抑菌活性,比较中和酸前后抑菌效果,每次处理 3 次重复。

1.2.2.2　过氧化氢作用的检测与排除

将过氧化氢酶溶解于 50 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH =7.0)中配成母液,加入经酸排除的北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养上清液中,使过氧化氢酶的最终浓度达到 5 mg/mL,37 ℃水浴 2 h 后取出,检测过氧化氢酶处理后上清液的抑菌效果,每次处理 3 次重复。

1.2.2.3　蛋白酶敏感实验

将蛋白酶 K、胰蛋白酶胃、蛋白酶 、酸性蛋白酶、中性蛋白酶分别溶解在 50 mmol/L 的磷酸缓冲液(pH =7.6)中配成母液,加入共培养菌株发酵上清液中,使其终浓度为 1 mg/mL,调节 pH 值至各酶的最适作用范围,37 ℃水浴2 h 后取出。再将 pH 值调回至 6.5 ~7.0,并用缓冲液稀释相同倍数的发酵

上清液作为对照,检测各种蛋白酶对发酵上清液抑菌活性的影响。

**1.2.3** 北工商海洋杆菌液浓度对戊糖片球菌抑菌效果的评价

将北工商海洋杆菌接种于 MRS 培养基中分别培养 4、8、12、24 h 和 36 h,10 000 r/min 离心 15 min,得不同浓度的上清液,加入戊糖片球菌 M25 培养液中培养,利用牛津杯抑菌实验进行抑菌效果评价。

**1.2.4** 脱羧酶培养基显色反应

分别取活化后的北工商海洋杆菌和戊糖片球菌 0.2 mL 于固体脱羧酶培养基上进行涂布,37 ℃恒温培养箱中培养 4 d, 观察颜色变化,黄色为阴性,红色或紫色为阳性。

**1.2.5** 黄酒麦曲的制备

1.2.5.1 普通黄酒麦曲的制备

将小麦粉碎(单粒碎为 4 ~6 瓣),加入质量分数 20% ~30% 的水,搅拌均匀,踏曲、堆曲,控制温度在 45 ~50 ℃,自然发酵 30 d 即可。

1.2.5.2 原生强化功能曲的制备

北工商海洋杆菌扩培:称取 1 kg 黍米,浸泡 24 h,按照 1 kg 黍米加 3 kg 水的比例煮熟原料,加黍米质量分数 0.15% 的糖化酶在 60 ℃条件下糖化 30 min,接种北工商海洋杆菌,37 ℃培养 48 h,并进行多次搅拌。

戊糖片球菌 M25 扩培:称取 1 kg 黍米,浸泡 24 h,按照 1 kg 黍米加 3 kg 水的比例煮熟原料,加黍米质量分数为 0.15% 的糖化酶在 60 ℃条件下糖化 30 min,接种戊糖片球菌 M25,37 ℃培养 48 h,并进行多次搅拌。

原生强化功能曲的制备:将小麦粉碎(单粒碎为 4 ~6 瓣),加入小麦质量分数 20% ~30% 水,同时,加入北工商海洋杆菌和戊糖片球菌 M25 两种体积分数为 1% 的菌株扩培液,搅拌均匀,踏曲,堆曲,控制温度在 45 ~50 ℃,自然发酵 30 d 即可。

**1.2.6** 黄酒的酿造

1)浸米蒸煮:将 1 kg 黍米洗净并浸泡 24 h,按照 1 kg 黍米加 3 kg 水的比例煮熟黍米(约 1 h),使黍米变软无生芯。

2)糖化:将黍米质量分数为 0.15% 的糖化酶在 60 ℃条件下活化 5 min,当蒸煮后的黍米饭温度下降至 60 ℃时加入活化的糖化酶,糖化 30 min。

3)发酵:加入黍米质量分数 16% 的酒曲和 0.15% 的酵母拌匀,装入黄酒发酵罐中 30 ℃下前发酵 5 ~8 d,然后在 13 ~17 ℃条件下后发酵(22 ~25 d)至1 个月。

4)榨酒澄清:采用真空抽滤的方法过滤灭菌,静置 2 ~3 d,弃底层混浊,得成品黄酒。

5)灭菌:85 ℃下高温灭菌 30 min。

**1.2.7** 生物胺含量的测定

按照 **1.2.5** 节酿造黄酒,采用 HPLC 的方法依据国家标准(GB 5009.208—2016《食品中生物胺含量的测定》)检测生物胺含量[18],比较普通麦曲酿造黄酒和原生强化功能曲酿造黄酒的生物胺含量差异,重复 3 次,进行差异显著性分析。

**1.2.8** 黄酒挥发性风味物质的检测

黄酒挥发性风味物质的检测方法、色谱条件与参考文献[17]相同,比较普通麦曲酿造黄酒和原生强化功能曲酿造黄酒的挥发性风味物质的差异,重复 3 次,进行差异显著性分析。

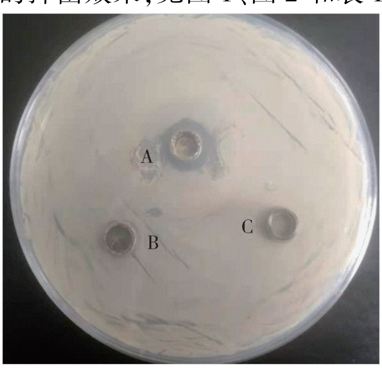
**1.2.9** 黄酒氨基酸态氮、非糖固形物、总糖、酒精度和酸度的检测

采用国家标准(GB/T 13662—2018《黄酒》)分析检测黄酒氨基酸态氮、非糖固形物、总糖、酒精度和酸度[19],比较普通麦曲酿造黄酒和原生强化功能曲酿造黄酒的氨基酸态氮、非糖固形物、总糖、酒精度和酸度,重复 3 次,进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养的抑菌功效

采用牛津杯法分析北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养的抑菌效果,见图 1、图 2 和表 1。北工商




A 为北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养菌株;B 为北工商海洋杆菌菌株;C 为戊糖片球菌菌株。

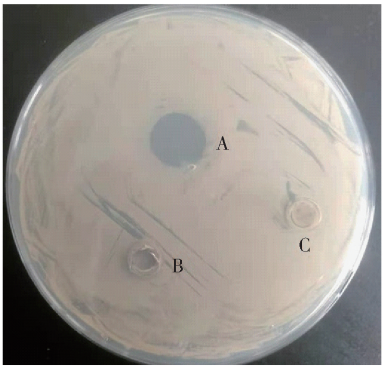
图 1 北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养抑菌效果

Fig. 1 Antibacterial effect of *Pontibacter beigongshangensis* and *Pediococcus pentosus* in coculture

海洋杆菌和戊糖片球菌共培养及其无菌发酵液均有抑菌活性，而这两种菌分别培养，其菌液和无菌发酵液均没有抑菌活性。戊糖片球菌分别与芽孢杆菌、大肠杆菌、植物乳杆菌、和酵母共培养，同样没有抑菌活性，说明只有北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养才具有抑菌活性，产生的抑菌物质对腐生葡萄球菌、阪崎肠杆菌、乳酪短杆菌、芽孢杆菌和阴沟肠杆菌均具有抑制效果。

## 2.2　北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌生成细菌素的验证分析

北工商海洋杆菌和戊糖片球菌分别单菌发酵，北工商海洋杆无菌发酵液添加到戊糖片球菌发酵液中培养，发酵产物具有抑菌活性；反之，戊糖片球菌无菌发酵液添加到北工商海洋杆菌发酵液中培养，发酵产物没有抑菌活性（见表 2）。由此可知，抑菌




A 为北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养上清液；B 为北工商海洋杆菌上清液；C 为戊糖片球菌上清液。

图 2　北工商海洋杆菌和戊糖片球菌共培养发酵上清液的抑菌效果

Fig. 2　Antibacterial effect on supernatant of *Pontibacter beigongshangensis* and *Pediococcus pentosus* in coculture

表 1　戊糖片球菌共培养发酵抑菌实验

Tab. 1　Antibacterial experiment of *Pediococcus pentosus* coculture

| 实验条件 | 腐生葡萄球菌 | 阪崎肠杆菌 | 乳酪短杆菌 | 芽孢杆菌 | 阴沟肠杆菌 |
|---|---|---|---|---|---|
| 戊糖片球菌与北工商海洋杆菌共培养 | + | + | + | + | + |
| 戊糖片球菌与芽孢杆菌共培养 | – | – | – | – | – |
| 戊糖片球菌与大肠杆菌共培养 | – | – | – | – | – |
| 戊糖片球菌与植物乳杆菌共培养 | – | – | – | – | – |
| 戊糖片球菌与酵母共培养 | – | – | – | – | – |

“+”表示反应阳性，“–”表示反应阴性。

表 2　细菌素的验证分析实验

Tab. 2　Verification and analysis experiment of bacteriocin

| 实验条件 | 腐生葡萄球菌 | 阪崎肠杆菌 | 乳酪短杆菌 | 芽孢杆菌 | 阴沟肠杆菌 |
|---|---|---|---|---|---|
| 戊糖片球菌发酵（加北工商海洋杆无菌发酵液） | + | + | + | + | + |
| 北工商海洋杆菌发酵（加戊糖片球菌无菌发酵液） | – | – | – | – | – |
| 排除有机酸实验 | + | + | + | + | + |
| 排除过氧化氢实验 | + | + | + | + | + |
| 蛋白酶 K 降解实验 | – | – | – | – | – |
| 胰蛋白酶降解实验 | – | – | – | – | – |
| 胃蛋白酶降解实验 | + | – | + | – | – |
| 酸性蛋白酶降解实验 | + | – | + | – | + |
| 中性蛋白酶降解实验 | – | – | – | + | + |

“+”表示反应阳性，“–”表示反应阴性。

物质是在北工商海洋杆菌的诱导下由戊糖片球菌发酵产生的。

排除有机酸和过氧化氢实验结果表明,抑菌特性不是因为发酵过程中产生的有机酸和过氧化氢引起的,而是因为北工商海洋杆菌的诱导下由戊糖片球菌产生了抑菌物质,经蛋白酶 K 和胰蛋白酶降解后,失去了抑菌活性,说明该物质为蛋白质或多肽,为细菌素类物质,该细菌素具有比较广谱的抑菌活性,而且对蛋白酶 K 和胰蛋白酶敏感,但是,对胃蛋白酶、酸性蛋白酶和中性蛋白酶的酶敏感性较弱。

## 2.3 北工商海洋杆菌培养液浓度对戊糖片球菌抑菌效果的影响

北工商海洋杆菌培养液浓度对戊糖片球菌抑菌效果的影响见表 3,北工商海洋杆菌发酵培养前期,培养液浓度低,加入戊糖片球菌培养中,戊糖片球菌没有抑菌活性,随着北工商海洋杆菌培养时间的延长,直到 24 h 或 36 h 后,培养液浓度提高,可以刺激或诱导戊糖片球菌具有了抑菌活性。这说明北工商海洋杆菌培养液高浓度产生了某些物质,这些物质是诱导剂,诱导戊糖片球菌合成了细菌素。

表 3 北工商海洋杆菌培养液浓度对抑菌效果的影响

Tab. 3 Effect of concentration of *Pontibacter beigongshangensis* on antibacteria

| 培养时间/h | 腐生葡萄球菌 | 阪崎肠杆菌 | 乳酪短杆菌 | 芽孢杆菌 | 阴沟肠杆菌 |
|---|---|---|---|---|---|
| 4 | – | – | – | – | – |
| 8 | – | – | – | – | – |
| 12 | – | – | – | – | – |
| 24 | + | + | + | – | + |
| 36 | + | + | + | + | + |

“+”表示反应阳性,“–”表示反应阴性。

## 2.4 北工商海洋杆菌和戊糖片球菌产生物胺特性分析

脱羧酶培养基显色反应实验中,培养初期,细菌繁殖,利用葡萄糖产酸使培养液 pH 值下降,溴甲酚紫指示剂变黄色,继续培养,若细菌产氨基酸脱羧酶,则氨基酸在脱羧酶的作用下发生脱羧反应生成胺和二氧化碳,pH 值上升呈碱性,使含指示剂的培养基由黄色变为紫色,由此,可通过培养基颜色变化判断细菌是否产生物胺。

脱羧酶培养基显色反应结果见表 4,培养腐生葡萄球菌和阪崎肠杆菌,能够产腐胺、酪胺、尸胺、组胺和苯乙胺 5 种常见的生物胺;乳酪短杆菌产腐胺、酪胺、尸胺和组胺 4 种生物胺;芽孢杆菌产酪胺、尸胺、组胺和苯乙胺 4 种生物胺;阴沟肠杆菌产腐胺、酪胺、尸胺和苯乙胺 4 种生物胺。但是,北工商海洋杆菌和戊糖片球菌培养过程中没有检测到生物胺的产生,说明这两株菌自身不产生物胺。

表 4 生物胺显色反应实验

Tab. 4 Chromogenic reaction of biogenic amines

| 菌种 | 腐胺 | 酪胺 | 尸胺 | 组胺 | 苯乙胺 |
|---|---|---|---|---|---|
| 戊糖片球菌 | – | – | – | – | – |
| 北工商海洋杆菌 | – | – | – | – | – |
| 腐生葡萄球菌 | + | + | + | + | + |
| 阪崎肠杆菌 | + | + | + | + | + |
| 乳酪短杆菌 | + | + | + | + | – |
| 芽孢杆菌 | – | + | + | + | + |
| 阴沟肠杆菌 | + | + | + | – | + |

“+”表示反应阳性,“–”表示反应阴性。

## 2.5 强化功能曲对黄酒生物胺的影响

添加北工商海洋杆菌和戊糖片球菌,制备强化功能曲,利用强化功能曲酿造黄酒,应用 HPLC 检测黄酒中的生物胺含量,实验结果如图 3。强化功能曲酿造的黄酒与对照普通曲酿造的黄酒相比,各种生物胺含量均明显降低,生物胺总含量降低 29.8%。表明添加强化北工商海洋杆菌和戊糖片球菌可以显著降低黄酒中的生物胺的含量,提高黄酒

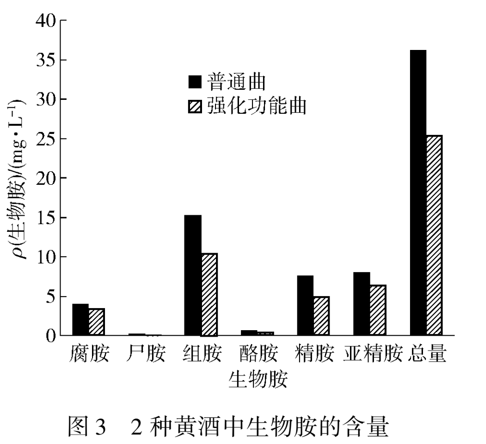



图 3 2 种黄酒中生物胺的含量

Fig. 3 Biogenic amines contenst in two kinds of Huangjiu

品质,可能是因为北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌产生细菌素,有效抑制了一些产生物胺杂菌的生长繁殖,而北工商海洋杆菌和戊糖片球菌本生不产生物胺,因此,应用强化功能曲酿造黄酒,可以显著降低黄酒中的生物胺含量。

### 2.6　强化功能曲对黄酒风味品质的影响

添加北工商海洋杆菌和戊糖片球菌,制备强化功能曲,利用强化功能曲酿造黄酒,应用 GC-MS 检测黄酒中的香味物质, 实验结果见表 5 和表 6,强化功能曲酿造的黄酒中检测出烷烃类、醇类、酯类、酮类、醛类、酸类、吡嗪类、酚类和其他风味物质共 105 种,普通曲酿造的黄酒中,共检测出风味物质 102 种,而且风味物质除了酯类物质显著增加外,其他种类的风味物质和风味物质的总含量均没有显著差异。表明黄酒发酵工程中,强化添加北工商海洋杆菌和戊糖片球菌对黄酒的风味品质基本没有影响。

表 5　2 种黄酒中香味物质的种类

Tab. 5　Types of aroma substances in two kinds of Huangjiu

种

| 化合物种类 | 香味物质的数量 | |
|---|---|---|
| | 普通曲酿造黄酒 | 强化功能曲酿造黄酒 |
| 烷烃类 | 26 | 23 |
| 醇类 | 30 | 32 |
| 酯类 | 25 | 26 |
| 酮类 | 3 | 4 |
| 醛类 | 5 | 3 |
| 酸类 | 2 | 3 |
| 吡嗪类 | 2 | 1 |
| 酚类 | 2 | 3 |
| 其他 | 7 | 8 |
| 总计 | 102 | 105 |

添加北工商海洋杆菌和戊糖片球菌,制备强化功能曲,利用强化功能曲酿造黄酒,分析检测黄酒中的总酸、总糖、非糖固形物、氨基酸态氮和酒精度,实验结果如表 7 所示,利用强化功能曲酿造的黄酒与对照黄酒相比,酒精度、总糖和非糖固形物没有明显变化,氨基酸态氮含量显著提高,酸度提高。分析原因,可能因为利用强化功能曲酿造黄酒,北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌合成细菌素,有效抑制了一些产生物胺杂菌的生长繁殖,氨基酸转化合成生物胺减少,氨基酸积累增多,因此,氨基酸态氮含量提高,总酸含量提高。

表 6　2 种黄酒中香味物质的含量

Tab. 6　Total contents of aroma substances in two kinds of Huangjiu　　mg/L

| 化合物种类 | $\rho$(香味物质) | |
|---|---|---|
| | 普通曲酿造黄酒 | 强化功能曲酿造黄酒 |
| 烷烃类 | $161.35 \pm 4.23^a$ | $153.67 \pm 7.04^a$ |
| 醇类 | $154.26 \pm 1.88^a$ | $148.18 \pm 2.37^a$ |
| 酯类 | $50.55 \pm 3.83^a$ | $62.78 \pm 2.81^b$ |
| 酮类 | $0.67 \pm 0.05^a$ | $0.71 \pm 0.03^a$ |
| 醛类 | $0.19 \pm 0.02^a$ | $0.11 \pm 0.01^a$ |
| 酸类 | $0.093 \pm 0.002^a$ | $0.159 \pm 0.033^a$ |
| 吡嗪类 | $0.041 \pm 0.001^a$ | $0.014 \pm 0.001^a$ |
| 酚类 | $8.29 \pm 0.29^a$ | $9.45 \pm 0.72^a$ |
| 其他 | $9.66 \pm 0.43^a$ | $3.03 \pm 0.53^a$ |
| 总计 | $385.11 \pm 0.26^a$ | $378.10 \pm 0.56^a$ |

同行相同小写字母表示无显著差异($P > 0.05$)。

表 7　2 种黄酒常规品质分析

Tab. 7　Common quality analysis in two kinds of Huangjiu

| 指标 | 普通曲酿造黄酒 | 强化功能曲酿造黄酒 |
|---|---|---|
| 总酸/($g \cdot L^{-1}$) | $5.80 \pm 0.82^a$ | $6.40 \pm 0.40^b$ |
| 总糖/($g \cdot L^{-1}$) | $64.18 \pm 4.91^a$ | $66.38 \pm 2.47^a$ |
| 非糖固形物/($g \cdot L^{-1}$) | $17.43 \pm 1.59^a$ | $17.88 \pm 1.72^a$ |
| 酒精度/% | $12.16 \pm 2.52^a$ | $13.06 \pm 0.37^a$ |
| 氨基酸态氮/($g \cdot L^{-1}$) | $0.23 \pm 0.03^a$ | $0.49 \pm 0.01^b$ |

同行不同小写字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

## 3　讨论与结论

黄酒生产上,针对黄酒生物胺的生物合成机制,通常从 3 个方面控制和降低生物胺的含量。首先,酿酒原料选择和处理上, 选择蛋白质含量低的原料或控制蛋白质的水解,可以影响游离氨基酸的含量水平,进而控制生物胺的生成量 但同时也会影响到黄酒的营养价值和风味品质;其次,通过发酵工艺控制生物胺,谢广发利用生物酸化浸米技术,降低了生物胺浓度[13]。但是,总体来说,改进工艺的方法费时费力,效率低,往往是针对特定企业的酒,不具有普适性;此外,筛选利用特定菌

种,筛选不产生物胺的菌株、有效分解生物胺的菌株或者能抑制含脱羧酶菌株生长的菌株。不影响产品质量的前提下,如果可以筛选得到既无氨基酸脱羧酶活性又可产生有效抑制剂的菌株,则理论上效果更佳。

北工商海洋杆菌是由本课题组发现的新菌种,用发现单位北京工商大学校名命名,该新菌种能够诱导戊糖片球菌产生抑菌物质,是种间诱导产生的一种细菌素,诱导效果与菌体密度有关,关于其诱导合成机制,需要进一步分析研究。

北工商海洋杆菌和戊糖片球菌自生发酵不产生物胺,添加北工商海洋杆菌和戊糖片球菌,制备强化功能曲,利用强化功能曲酿造黄酒,北工商海洋杆菌诱导戊糖片球菌产生的细菌素抑制了产生物胺杂菌,黄酒的生物胺含量显著降低,氨基酸态氮含量显著提高,香味物质和酒精度没有明显变化,提高和改善了黄酒品质,从酿酒微生物相互作用方面,探索了一条降低黄酒生产中生物胺含量的新途径,提供了优质的菌种资源,将会在黄酒酿造和品质改良中发挥重要的作用。

**参考文献:**


[1] 胡鹏,罗凯,陈光静,等. 食品中生物胺的研究进展[J]. 食品与发酵工业,2012,38(12):124-128.
HU P,LUO K,CHEN G J,et al. Research advance of biogenic amines in Food [J]. Food and Fermentation Industries,38(12):124-128.

[2] 曲映红. 发酵食品中生物胺的研究进展[J]. 食品工业,2012(3):115-119.
QU Y H. Research progress of biogenic amines in fermented foods[J]. Food Industry,2012(3):115-119.

[3] BROADLEY K J. The vascular effects of trace amines and amphetamines [J]. Pharmacology & Therapeutics,2010,125(3):363-375.

[4] SHALABY A R. Significance of biogenic amines to food safety and human health [J]. Food Research International,1996,29(7):675-690.

[5] 戴海斌. 组胺及其受体对 NMDA 受体介导的神经元毒性作用机制研究[D]. 杭州:浙江大学,2008:12-32.
DAI H B. Effects of histamine and its receptor on NMDA-induced in cultured cortical neurons [D]. Hangzhou: Zhejiang University,2008:12-32.

[6] BACH B,QUERE S L, VUCHOT P,et al. Validation of a method for the analysis of biogenic amines: histamine instability during wine sample storage[J]. Analytica Chimica Acta,2012,732:114-119.

[7] 朱丽丽. 组胺测定方法的研究[D]. 无锡:江南大学,2009.
ZHU L L. Studies on detections of histamine[D]. Wuxi: Jiangnan University,2009.

[8] 吴燕燕,陈玉峰. 腌制水产品中生物胺的形成及控制技术研究进展[J]. 食品工业科技,2014,35(14):396-400.
WU Y Y,CHEN Y F. Research progress in formation and control of the biogenic amine in salted aquatic product [J]. Science and Technology of Food Industry,2014,35(14):396-400.

[9] 张凤杰,薛洁,王异静,等. 黄酒中生物胺的形成及其影响因素[J]. 食品与发酵工业,2013,302(2):62-68.
ZHANG F J,XUE J,WANG Y J,et al. Study on biogenic amines formation and influencing factors in Chinese rice wine[J]. Food and Fermentation Industries,2013,302(2): 62-68.

[10] 任清,徐嘉良,刘俊含. 黄酒质量安全风险及其控制[J]. 食品科学技术学报,2016,34(3):12-19.
REN Q,XU J L,LIU J H. Safety risk and its control of yellow rice wine[J]. Journal of Food Science and Technology,2016,34(3):12-19.

[11] ZHONG J J, YEX Q, FANG Z X, et al. Determination of biogenic amines in semi-dry and semi-sweet Chinese rice wines from the Shaoxing region [J]. Food Control,2012, 28(1):151-156.

[12] 李志军. 食品中生物胺及其产生菌株检测方法研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2007.
LI Z J. Methods for determination of genetic amines in food and amine-producing bacteria and its application [D]. Qingdao: Ocean University of China,2007.

[13] 谢广发,曹钰,程斐,等. 应用生物酸化浸米技术生产黄酒[J]. 食品与生物技术学报,2014,33(2):217-223.
XIE G F,CAO Y,CHENG F,et al. Effects of biological acidification soaking technology on Chinese rice wine brewing[J]. Journal of Food Science and Biotechnology,2014,33(2):217-223.

[14] 栾同青. 黄酒酿造过程生物胺变化规律及其产生菌株研究[D]. 济南:齐鲁工业大学,2013.
LUAN T Q. The study of variation of biogenic amines and the producing strains during the rice wine formation

[D]. Jinan: Qilu University of Technology, 2013.

[15] GUO X, GUAN X, WANG Y, et al. Reduction of biogenic amines production by eliminating the PEP4 gene in saccharomyces cerevisiae during fermentation of Chinese rice wine[J]. Food Chemistry, 2015, 178: 208 - 211.

[16] XU J L, SUN L P, SUN Z B, et al. *Pontibacter Beigongshangensis* sp. nov., isolated from the mash of wine [J]. Current Microbiology. 2019, 76 (12): 1525 - 1530.

[17] 邢旋,任清. 黄酒麦曲中一株产细菌素菌株的鉴定及其降生物胺功效研究[J]. 食品科学技术学报, 2019, 37(2): 56 - 62.
XING X, REN Q. Identification of a bacteriocin producing strain from Huangjiuqu and study on its biogenic aminereduction efficiency[J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 37(2): 56 - 62.

[18] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 食品中生物胺含量的测定: GB/T 5009.208—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[19] 国家市场监督管理总局, 中国国家标准化管理委员会. 黄酒: GB/T 13662—2018 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.

# Study on Bacteriocin Production of *Pediococcus pentosaceus* Induced by *Pontibacter beigongshangensis* and Reduction the Biogenic Amines Content in Huangjiu

HAO Shuyue, REN Qing*
(*School of Light Industry*, *Beijing Technology and Business University*, *Beijing* 100048, *China*)

**Abstract**: Using functional microorganisms to control contamination is an effective way to control the biogenic amine content in Huangjiu production. *Pontibacter beigongshangensis* was a new microbial species isolated from Huangjiu koji, which could induce the production of bacteriocin by *Pediococcus pentosaceus*. Bacteriocins had inhibitory effects on *Staphylococcus saprophyticus*, *Cronobacter sakazakii*, *Brevibacterium casei*, *Bacillus*, and *Enterobacter cloacae*, which produce biogenic amines in Huangjiu. Meanwhile, *Pontibacter beigongshangensis* and *Pediococcus pentosaceus* do not produce biogenic amines. During Huangjiu fermentation, the natural enhanced Qu created by adding *Pontibacter beigongshangensis* and *Pediococcus pentosaceus*, could reduce the biogenic amines content by 29.8% in Huangjiu, but had little effect on the flavor quality of Huangjiu. Therefore, *Pontibacter beigongshangensis* and *Pediococcus pentosaceus* can be used as functional species for reducing biogenic amines in Huangjiu brewing.

**Keywords**: Huangjiu; biogenic amines; *Pontibacter beigongshangensis*; *Pediococcus pentosaceus*; bacteriocins

（责任编辑：李　宁）