秋刀鱼中组胺菌的分离及其理化性质研究

江 凯[1]，王韦华[2]，陈 伟[3]，王利斌[2]，汤海清[1]，罗海波[*4]，郁志芳[2]
（1. 浙江医药高等专科学校 食品学院，浙江 宁波 315100；2. 南京农业大学 食品科技学院，江苏 南京 210095；3. 浙江万里学院 生物与环境学院 浙江省水产品加工技术研究联合重点实验，浙江 宁波 315100；4. 南京师范大学 食品与制药工程学院，江苏 南京 210043）

摘要：采用不同选择性培养基对秋刀鱼组织中的产组胺菌进行筛选分离，通过理化性质分析对筛选出的菌株进行初步鉴定，同时研究了温度和 pH 值对不同菌株组胺产生能力的影响。结果显示，分离获得 5 株产组胺菌，分别命名为菌株 1、菌株 2、菌株 3、菌株 4、菌株 5，经鉴定依次属于哈夫尼菌属（*Hafnia*）、志贺氏菌属（*Shigella*）、变形菌属（*Proteus Hauser*）、沙雷铁氏菌属（*Serratia*）和假单胞菌属（*Pseudomonas*）。5 株菌在 4~36 ℃温度下及 pH 值 4.5~8.5 范围内均能产生组胺，最适温度分别为 20、36、36、20 和 25 ℃，最适 pH 值分别为 8.5、7.5、6.5、6.5、7.5，在适宜培养条件下组胺产生能力均可超过 20 mg/mL。4 ℃低温和 pH 值 4.5 条件下 5 株菌组胺产生能力均显著（$p<0.05$）降低，但仍能保持较高的水平。以上结果为秋刀鱼组胺菌的控制提供了理论依据。

关键词：秋刀鱼；组胺菌；分离；理化性质
中图分类号：Q 936　**文章编号**：1673-1689(2019)08-0032-07　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.08.005

Isolation of Histamine-Forming Bacteria and Their Physicochemical Properties Analysis of Pacific Saury (*Cololabis saira*)

JIANG Kai[1]，*WANG Weihua*[2]，*CHEN Wei*[3]，*WANG Libin*[2]，*TANG Haiqing*[1]，*LUO Haibo*[*4]，*YU Zhifang*[2]
（1. Department of Food Science, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China; 2. College of Food Science & Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province, College of Biological & Environmental Science, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China; 4. School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210043, China）

Abstract: This study was conducted to isolate and identify histamine-forming bacteria (HFB) in Pacific saury (*Cololabis saira*) with the aid of different selective mediums as well as the physicochemical properties analysis. Meanwhile, the impact of different temperature and pH value on the histamine-forming capacity of the isolated bacteria were also investigated. The results showed that five HFB were isolated and identified from Pacific saury, which were named as strain 1, strain 2, strain 3, strain 4 and strain 5. They were likely belong to *Hafnia*, *Shigella*, *Proteus Hauser*, *Serratia*

收稿日期：2017-08-22
基金项目：国家自然科学基金项目(31501519)；宁波市科技富民计划项目(2015C10015)；宁波市农业重大项目(2017C110009)。
* **通信作者**：罗海波(1979—)，男，博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事水产品加工及贮藏研究。E-mail：luohaibo_1216@126.com
引用本文：江凯，王韦华，陈伟，等. 秋刀鱼中组胺菌的分离及其理化性质研究[J]. 食品与生物技术学报，2019，38(08)：32-38.

and *Pseudomonas*, respectively. All the HFB could produce histamine in the range of 4—36 ℃ and the pH 4.5—8.5. The optimum temperature for strain 1, strain 2, strain 3, strain 4 and strain 5 to produce histamine were 20, 36, 36, 20 and 25 ℃, respectively, while the optimum pH value were 8.5, 7.5, 6.5, 6.5 and 7.5, respectively. Under the optimum conditions, the histamine-forming capacity of all the HFB was over 20 mg/mL. Although low temperature (4 ℃) and acidic environment significantly decreased the histamine-forming capacity of the HFB, the histamine concentration could maintain a relatively high level. These results provide a theoretical basis for controlling the level of HFB in Pacific saury.

Keywords: Pacific saury, histamine-forming bacteria, isolation, physicochemical properties

秋刀鱼(*Cololabis saira*),俗称竹刀鱼,广泛分布于西北太平洋公海及其沿岸海域,是一种重要的远洋经济鱼类[1]。秋刀鱼含有丰富的蛋白质、不饱和脂肪酸、矿物质和维生素等,味道鲜美,营养丰富,而且具有一定的抑制高血压、心肌梗塞和动脉硬化等作用,深受广大消费者喜爱[2]。然而,秋刀鱼从捕捞到直接销售或加工至少需要 2 个月,在贮藏销售过程中经常会因微生物的活动产生大量生物胺尤其是组胺,而人体摄入 8~40 mg 组胺即可引起轻微中毒,严重的可致休克甚至死亡[3-4]。研究表明,青皮红肉鱼类(如鲭鱼、鲐鱼、金枪鱼、秋刀鱼、沙丁鱼、鲣鱼等)中组胺产生与组胺菌生长代谢直接相关,水产品在没有受到组胺菌污染的情况下即使腐败也不会产生组胺,抑制组胺菌的生长代谢有利于降低青皮红肉鱼类的组胺含量,因此对水产品中组胺菌的分离鉴定及其理化性质的研究成为科研人员的重要课题。目前,研究人员已从鲣鱼[5-6]、金枪鱼[7]、鲅鱼[8]、鲭鱼[9]和发酵鱼[10]等水产品中分离出了几十种组胺菌,但不同的产品及不同的贮藏条件其优势组胺菌有较大差异。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 秋刀鱼原料购自宁波南联冷冻食品有限公司,取 7 条冻藏(−18 ℃)保存的秋刀鱼用无菌袋装好,于 4 ℃放置 5 d 备用。

1.1.2 试剂 磷酸组胺、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、正戊醇、对硝基苯胺、亚硝酸钠、盐酸二甲基对苯二胺、α-萘酚、无水乙醇、高氯酸、氢氧化钠、盐酸、硼酸、酚酞、甲基红、次甲基蓝等均为分析纯;蛋白胨、酵母浸膏、琼脂、平板计数琼脂(PCA)、胰蛋白胨大豆琼脂(TSA),杭州百思生物技术有限公司;结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂(VRBGA)、硫代硫酸钠柠檬酸盐胆盐蔗糖(TCBS)、假单胞菌琼脂基础(CN 基础),杭州微生物试剂有限公司;假单胞菌 CFC 选择培养基、大肠杆菌生化鉴定管(HBIG13)、肠杆菌科细菌生化鉴定条(HBIG08)及相关试剂盒,青岛海博生物技术有限公司。

1.1.3 仪器 THZ-98A 恒温调速多用振荡器,金坛市维诚实验器材厂;G6 全自动菌落计数器,SHINESO 迅数;SW-CJ-1F 洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;智能恒温恒湿箱,宁波海曙赛福实验仪器厂;HH-4 数显恒温水浴锅,上海维诚仪器有限公司;BSA224S-CW 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;UV2200 型紫外可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;自动旋涡混合器,天津药典标准仪器厂;DHG-9247A 电热恒温干燥箱,上海贺德实验设备有限公司;SCIENTZ-09 无菌均质器,宁波新芝生物科技股份有限公司;MLS-3780 高压蒸汽灭菌器,三洋电机株式会社;AllegraTM64R 台式高速冷冻离心机,德国贝克曼公司。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基配制 组胺选择性培养基:酵母膏 5 g、胰蛋白胨 5 g、L-组氨酸 20 g、氯化钠 5 g、琼脂 15 g、甲酚红(0.5 g/100 mL) 20 mL,蒸馏水定容至 1 000 mL,调 pH 值至 6.5。组氨酸肉汤液体培养基:酵母膏 3 g、蛋白胨 10 g、L-组氨酸 5 g、葡萄糖 10 g,50%海水定容至 1 000 mL,调 pH 值至 6.5。半海水培养基:酵母膏 2.5 g、牛肉膏 2.5 g、蛋白胨 5 g、葡萄糖1 g、琼脂20 g,50%海水定容至 1 000 mL,调 pH 值至7.0。半海水流动培养基将琼脂改为 3 g,其余不变。以上培养基 121 ℃蒸汽灭菌 15~20 min,冷却备用[3,9]。

1.2.2 菌株分离纯化 无菌操作下称取 25 g 秋刀鱼中段(含内脏)样品绞碎后放入无菌袋,加入 225 mL 0.9%无菌生理盐水,于均质器中拍打 3 min,按照 10 倍稀释法稀释为 10^{-2}、10^{-3}、10^{-4}、10^{-5}、10^{-6} 备用。分别吸取不同稀释度菌液 0.1 mL 于平板计数琼脂(PCA)培养基、半海水培养基、假单胞菌 CFC 选择性培养基、结晶紫中性红胆盐葡萄糖琼脂(VRBGA)培养基、硫代硫酸盐柠檬酸盐胆盐蔗糖(TCBS)琼脂培养基和假单胞菌琼脂(CN)基础培养基,置 36±1 ℃培养 48~72 h。根据菌落边缘、颜色、大小、凹凸等特性,挑取不同菌落接种于胰胨大豆琼脂(TSA)斜面,36±1 ℃培养 48 h。将 TSA 斜面菌种接种于组胺选择性培养基,36±1 ℃培养 48 h,周围显红色的菌落为组胺菌。

1.2.3 组胺定性检测 参照陶志华等[3]的方法稍作修改。将单菌落接种于组氨酸肉汤液体培养基,36±1 ℃培养 24~48 h,取 1 mL 培养液加入 5 mL 80%乙醇,12 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移到新的试管中,加入 0.5~1 mL 0.5%甲酚红溶液,振荡后与空白对照(黄褐色)进行比较,阳性组呈橙红色。

1.2.4 组胺定量检测 参照 GB/T 5009.45—2003 水产品卫生标准的分析方法测定样品中组胺含量[10]。

1.2.5 理化性质分析 1) 革兰氏染色:参照文献[11]所述革兰氏染色法操作。

2)运动性检测:用接种针取少量菌种接种于半流动海水培养基实验管内,36±1 ℃培养 48 h 后观察。实验管内培养基全部呈浑浊状态为具有运动性,只在接种处生长的菌种为非运动性[12-13]。

3)HBIG13 和 HBIG08 实验:挑取单菌落于无菌生理盐水中振荡均匀,每孔加入 100 μL 菌悬液,其中固体和半固体生化管采用穿刺接种,按照鉴定管/条说明书进行操作。赖氨酸、鸟氨酸和氨基酸对照用灭菌的石蜡覆盖液面。接种后盖上盖子,36±1 ℃培养 48 h,根据颜色变化判定阳性和阴性[12-13]。

4)氧化酶实验:取白色洁净滤纸沾取菌落,加盐酸二甲基对苯二胺溶液一滴,阳性者呈现粉红色,并逐渐加深;再加 α-萘酚溶液一滴,阳性 30 s 内呈现鲜蓝色,阴性 2 min 内不变色[12-13]。

5)过氧化氢酶实验:用接种环取培养 48 h 的斜面菌种一小环涂抹于无菌载玻片上,滴 1 滴 3% H_2O_2 溶液,如有气泡产生则为阳性,无气泡产生则为阴性[12-13]。

6)糖分解实验:在组氨酸肉汤培养液实验管内放入发酵管,121 ℃蒸汽灭菌 20 min,冷却至 40 ℃左右,用接种针取少量菌种接种于实验管内,36±1 ℃培养 48 h 后观察。发酵管内有气体为阳性,否则为阴性[12-13]。

1.2.6 不同温度对分离菌株组胺产生能力的影响 吸取分离纯化后的菌株培养液 20 μL 接种到 5 mL 组胺酸肉汤培养液中(pH 值 6.5),分别于 4±1、20±1、25±1、30±1 和 36±1 ℃静置培养 24 h,吸取 0.5 mL 均一的组胺酸肉汤培养液,加入 1.5 mL 80%乙醇,8 000~10 000 r/min 离心 10 min,上清液按照 GB/T 5009.45 所述方法测定组胺浓度。

1.2.7 不同 pH 值对分离菌株组胺产生能力的影响 吸取分离纯化后的菌株培养液 20 μL 分别接种到 5 mL 不同 pH(4.5、5.5、6.5、7.5、8.5)的组胺酸肉汤培养液中,于 36±1 ℃静置培养 72 h,每 24 h 取样测定组胺浓度。

1.3 数据处理

实验每个处理均重复 3 次,分别求其平均值和标准差,并用统计软件 SPSS19.0 进行显著性(LSD;$p<0.05$)分析,用 Excel 软件作图。

2 结果与分析

2.1 微生物分离

预实验研究结果表明,新鲜秋刀鱼菌落总数在 $(1.6\sim2.2)\times10^2$ cfu/g 之间,组胺菌数量较少,采用 100、10^{-1}、10^{-2} 稀释度菌悬液均未分离获得组胺菌,而秋刀鱼在 0~4 ℃低温下贮藏期间菌落总数迅速上升,贮藏 5 d 已超过 1.0×10^6 cfu/g。因此,为获得较好的分离效果,实验将秋刀鱼于 4 ℃放置 5 d 后进行组胺菌分离。秋刀鱼菌悬液通过 PCA 培养基、半海水培养基、CFC 选择性培养基、VRBGA 培养基和 TCBS 琼脂培养基初筛,获得菌落特征不同的菌株 10 株,挑取单菌落接种到 TSA 斜面纯化后,将其接种到组胺选择性培养基,发现有 5 株菌呈组胺阳性反应,分别编号为菌株 1~5 并进行理化特性分析。

2.2 菌株理化特性

表 1 显示,菌株 1~5 均为革兰氏阴性菌,菌株 1、2 为非运动性,菌株 3、4、5 具有运动性,5 株菌均不产硫化氢,不能利用肌醇、山梨醇和核糖醇。根据表 1 理化特性分析结果参照《常见细菌系统鉴定手册》[12]和《伯杰细菌鉴定手册》[13],初步确定 5 株菌分

别为哈夫尼菌属(*Hafnia*)、志贺氏菌属(*Shigella*)、变形菌属(*Proteus Hauser*)、沙雷铁氏菌属(*Serratia*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)。

表 1 菌株鉴定结果

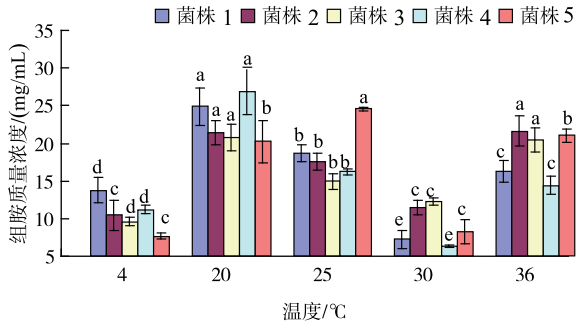
Table 1 Identification results of 5 isolated strains

特征		菌株编号				
		1	2	3	4	5
革兰氏染色		G⁻	G⁻	G⁻	G⁻	G⁻
半固体琼脂 (运动性实验)		−	−	+	+	+
鸟氨酸脱羧酶		+	−	−	+	+
赖氨酸脱羧酶		+	−	−	+	+
西蒙式枸橼酸盐		+	−	+	+	+
硫化氢		−	−	−	−	−
尿素酶		−	−	−	+	+
蛋白胨水(色氨酸肉汤)		−	−	−	−	−
甲基红实验		+	+	−	−	+
乙二酰(VP)实验		+	−	+	+	−
苯丙氨酸		−	−	+	−	−
甘露醇		+	−	+	+	−
肌醇		−	−	−	−	−
山梨醇		−	−	−	−	−
蜜二糖		−	−	+	+	−
核糖醇		−	−	−	−	−
棉子糖		−	−	+	+	−
氧化酶		−	−	−	−	+
过氧化氢酶		+	+	+	+	+
糖分解实验		+	−	+	−	−
微生物分类	科	肠杆菌科	肠杆菌科	肠杆菌科	肠杆菌科	假单胞菌科
	属	哈夫尼菌属	志贺氏菌属	变形菌属	沙雷铁氏菌属	假单胞菌属

注:+ 反应呈阳性或可以利用;− 反应呈阴性或不能利用。

2.3 不同培养温度对分离菌株组胺产生能力的影响

图 1 显示,分离出的 5 株菌均有较强的组胺产生能力,培养 24 h 组胺质量浓度在 6.27~26.77 mg/mL 之间。温度对菌株 1~5 组胺产生能力均有显著(p<0.05)影响,20、25 和 36 ℃温度下各菌株组胺产生能力较高,其最适温度分别为 20、36、36、20 和 25 ℃,培养 24 h 后组胺质量浓度分别为 24.87、23.12、21.47、26.77 和 24.52 mg/mL,表明此 5 株菌均为嗜温菌且组胺产生能力较强。图 1 还显示,尽管 4 ℃低温下各菌株组胺产生能力受到显著(p<0.05)抑制,但经 24 h 培养后组胺质量浓度仍达到较高水平(7.62~13.67 mg/mL),这可能与秋刀鱼在 4 ℃低温贮藏条件下组胺含量仍快速上升有关。需要特别指出的是,30 ℃温度下各菌株组胺产生能力均显著(p<0.05)降低,其中菌株 1 和菌株 4 组胺质量浓度甚至低于 4 ℃,表明 30 ℃不适合此 5 株菌产生组胺。



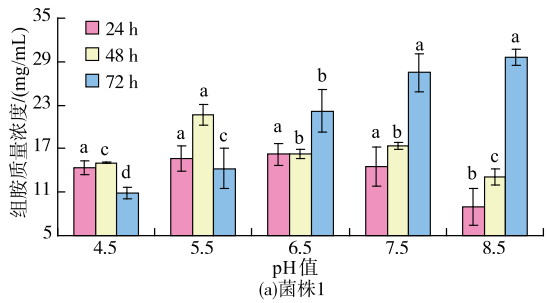
注:同一菌株不同培养温度下凡不含相同字母表示差异显著(p<0.05),图 2 同。

图 1 不同培养温度对分离菌株组胺产生能力的影响

Fig. 1 Effects of different incubation temperatures on the histamine producing capacity of 5 isolated bacteria

2.4 不同 pH 值和培养时间对分离菌株组胺产生能力的影响

图 2 显示,菌株 1~5 在 pH 值 4.5~8.5 范围内均能代谢产生组胺,pH 值和培养时间对菌株 1~5 组胺产生能力有显著(p<0.05)影响,各菌株分别在 pH 值为 8.5、7.5、6.5、6.5 和 7.5 的条件下培养 72 h 后表现出最大组胺质量浓度,pH 值 4.5~5.5 对各菌株组胺产生能力有显著(p<0.05)抑制作用,表明该 5 株菌适宜在 pH 值 6.5~8.5 条件下生长产生组胺。需要特别指出的是,尽管菌株 1~5 在大多数 pH 值条件下,组胺产生量随培养时间的延长逐渐增加,但在少数pH 值下有下降现象,如菌株 1 在 pH 值 4.5 和 5.5、菌株 2 和菌株 3 在 pH 值 6.5、菌株 4 在 pH 值 4.5、菌株 5 在 pH 值 4.5 和 7.5,是取样误差还是实验错误,具体原因值得进一步研究。



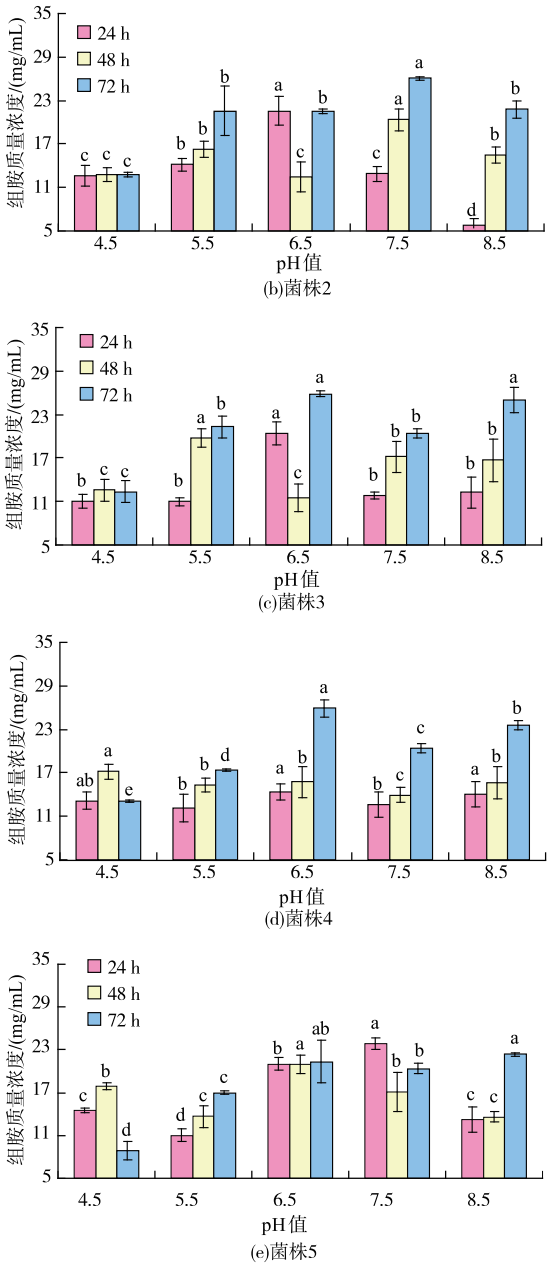


图 2　不同 pH 值和培养时间对分离菌株组胺产生能力的影响

Fig. 2　Effects of different pH value and incubation time on the histamine producing capacity of 5 isolated bacteria

3 讨　论

研究发现一些细菌体内具有较强活性的脱羧酶,可催化青皮红肉鱼类中的组氨酸脱羧而产生组胺，当鱼鲜度下降甚至腐败后就会产生大量组胺,食用过量的组胺便有中毒的危险,因此大量的研究也主要集中在组胺菌分离鉴定及其理化特性等方面[14]。表 2 总结了近年来科研人员在不同水产品中分离鉴定出的组胺菌,其中肠杆菌属(*Enterobacteria* spp.)、假单胞菌属（*Pseudomonas* spp.)、摩根菌属(*Morganella* spp.)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter* spp.)、肺炎杆菌属（*Kielbasas* spp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、弧菌属（*Vibrio* spp.）和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)是水产品中发现较多的组胺菌属,在适宜环境条件下这些菌的组胺产生能力大多能达到 1 mg/mL 以上,表明这些菌是导致青皮红肉鱼类组胺中毒的主要细菌,在贮藏及生产加工过程中应进行重点控制。此外,变形杆菌(*Proteus vulgaris*)、雷氏普罗威斯登菌(*Providencia rettgeri*)、嗜盐链球菌(*Tereagenococcus halophilus*)和解鸟氨酸拉乌尔菌(*Raoultella ornithinolytica*)在少数水产品中也有发现,且具有较强的组胺产生能力。本实验从不新鲜的秋刀鱼中不仅分离到假单胞菌属(*Pseudomonas*)和变形菌属(*Proteus Hauser*),而且还分离获得 3 株新的组胺菌，分别为哈夫尼菌属(*Hafnia*)、志贺氏菌属（*Shigella*）和沙雷铁氏菌属(*Serratia*),在适宜培养条件下 5 株菌的组胺产生能力均高达 20 mg/mL 以上，这可能是秋刀鱼容易腐败变质的重要原因。

温度和 pH 值是影响组胺菌产生组胺的重要因素,不同组胺菌适宜的温度不同,同时受环境中氢离子浓度的影响。从表 2 可知,大部分组胺菌的适宜温度和 pH 值分别在 20~36 ℃和 6.5~7.5 范围之间,属于中温菌,且适宜在中性偏碱性环境中生长产生组胺。研究表明,低温和 pH 值 5.5 以下酸性环境能抑制水产品中组胺菌的活动从而减少组胺的产生。童玲等[6]研究发现,在 0 和 4 ℃环境下,扁舵鲣中肠杆菌科（*Enterobacteriaceae*)、假单胞菌属(*Pseudomonas* spp.)和弧菌属(*Vibrio* spp.)等组胺菌生长繁殖受到抑制，其中弧菌属在 5 d 贮藏期间几乎停止生长。本实验研究获得的 5 株菌适宜温度分别为 20、36、36、20 和 25 ℃,适宜 pH 值分别为 8.5、7.5、6.5、6.5 和 7.5，与前人研究结果基本一致。然而,尽管 4 ℃低温显著(p<0.05)抑制了 5 株菌组胺产生能力,但经 24 h 培养后仍能产生较高质量浓度的组胺,这与弧菌属(*Vibrio* spp.)在低温下的反应不同。

根据目前已分离鉴定组胺菌的理化特性分析结果,不同组胺菌适宜的生长温度、pH 值及组胺产

表 2 不同菌株组胺产生能力

Table 2 Bistamine producing capacity of different bacteria

菌株种类		组胺质量浓度/(mg/mL)	培养温度/℃	培养时间/h	培养液 pH 值	参考文献
哈夫尼菌属(*Hafnia*)		29.57	36	72	8.5	本实验
志贺氏菌属(*Bacillus*)		26.07	36	48	7.5	本实验
变形菌属(*Proteus Hauser*)		21.47	36	24	6.5	本实验
沙雷铁氏菌属(*Salmonella thaliana*)		26.77	20	24	6.5	本实验
假单胞菌属(*Pseudomonas*)		24.52	25	24	6.5	本实验
		2.20	30	24	5.0	陶志华等[3]
芽孢杆菌属(*Bacillus*)	J2	9.86	25	36	5.0	杨健等[5]
	J4	12.47	30	36	7.0	
肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)		2.14	30	24	7.2	童玲等[6]
变形杆菌(*Proteus vulgaris*)		1.90	30	24	7.2	
荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)		1.17	30	24	7.2	
产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)		1.12	30	24	7.2	
恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)		0.72	30	24	7.2	
雷氏普罗威斯登菌(*Providencia rettgeri*)		0.32	30	24	7.2	
溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)		0.37	30	24	7.2	
阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)		0.17	25	24	7.2	
大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*)		1.44×10^{-3}	35	24	7.2	赵中辉等[8]
荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)		1.25×10^{-3}	35	72	7.2	
侵肺巴斯德菌(*Pasteurella pneumotropica*)		1.40×10^{-3}	35	24	7.2	
泡囊短波单胞菌(*Brevundimonas vesicularis*)		1.08×10^{-3}	35	24	7.2	
居泉沙雷菌(*Serratia fonticola*)		7.88×10^{-3}	35	48	7.2	
杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)		1.45×10^{-3}	35	72	7.2	
蒙氏假单胞菌(*Pseudomonas monteilii*)		0.21	36	24	6.5	周卫枫等[9]
弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)		0.82	36	24	6.5	
球形芽孢杆菌(*Bacillus sphaericus*)		0.13	36	24	6.5	
溶酪大球菌(*Macrococcus caseolyticus*)		0.23	36	24	6.5	
松鼠葡萄球菌(*Staphylococcus sciuri*)		0.22	36	24	6.5	
摩根菌属(*Morganella morganii*)		2.60	25	24	6.5	陶志华等[15]
气单孢菌属(*Aneromonas*)		2.00	20	24	6.5	
嗜盐链球菌(*Tereagenococcus halophilus*)		2.00	30	48	7.5	Satomi 等[16]
产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)		0.56	35	24	7.0	Hwang 等[17]
解鸟氨酸拉乌尔菌(*Raoultella ornithinolytica*)		0.36	35	24	7.0	
松鼠葡萄球菌(*Staphylococcus sciuri*)		90.1×10^{-3}	35	24	7.0	
弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)		87.0×10^{-3}	35	24	7.0	
柠檬酸杆菌属(*Citrobacter amalonaticus*)		17.3×10^{-3}	35	24	7.0	
柠檬酸杆菌属(*Citrobacter spp.*)		0.56	35	24	7.0	Hsu 等[18]
产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)		0.56	35	24	7.0	
木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*)		51.4×10^{-3}	35	24	7.0	
阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)		20.8×10^{-3}	35	24	7.0	
弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)		13.4×10^{-3}	35	24	7.0	
苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)		14.6×10^{-3}	35	24	7.0	
松鼠葡萄球菌(*Staphylococcus sciuri*)		6.00×10^{-3}	35	24	7.0	
肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)		5.50×10^{-3}	35	24	7.0	
凝固芽胞杆菌(*Bacillus coagulans*)		13.7×10^{-3}	35	24	7.0	Tsai 等[19]
巨大芽胞杆菌(*Bacillus megaterium*)		8.10×10^{-3}	35	24	7.0	

注:– 本实验测定结果。

生能力大小均不相同,即使不同产品中分离得到的相同菌株其组胺产生能力也存在较大差异,尤其在冻藏(<–18 ℃)温度下和腌渍过程中这些组胺菌的特性还知之甚少。在今后的研究中,通过分析不同组胺菌在–18 ℃或更低冻藏温度条件下或低温腌渍等过程中的生长及其理化特性,发现优势组胺菌群并提出针对性的控制措施,对维持青皮红肉鱼类鲜度确保食用安全具有重要的意义。

4 结 语

本研究分离获得 5 株菌能产生组胺并初步鉴定为哈夫尼菌属(*Hafnia*)、志贺氏菌属(*Shigella*)、变形菌属(*Proteus Hauser*)、沙雷铁氏菌属(*Serratia*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)。5 株菌在适宜的培养条件下均有较强的组胺产生能力,适宜培养温度范围为 20~36 ℃,4 ℃下仍能产生大量组胺;在 pH 值 4.5~8.5 范围内均能生长,适宜 pH 值范围为 6.5~8.5。以上结果为秋刀鱼组胺菌控制提供了理论依据。

参考文献:

[1] ANISHCHENKO O V,SUSHCHIK N N,MAKHUTOVA O N,et al. Benefit-risk ratio of canned pacific saury (*Cololabis saira*) intake:Essential fatty acids vs. heavy metals[J]. **Food & Chemical Toxicology**,2016,101:8-14.

[2] LUO Haibo,CHEN Wei,WANG Jinfu,et al. Current advances in nutrition,exploitation and utilization of Pacific Saury *Cololabis saira*[J]. **Fisheries Science**,2016,35(2):179-184. (in Chinese)

[3] TAO Zhihua,ZUO Tengshi. Isolation and identification of histamine bacteria from Saury fish [J]. **Modern Agricultural Science and Technology**,2012(16):287-288. (in Chinese)

[4] LI Weiwei,WU Zufang,ZHOU Xiujin,et al. Study on Application of HACCP system on histamine and microorganism control of canned skipjack tuna product for export[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2013,32(1):75-81. (in Chinese)

[5] YANG Jian,WU Zufang,ZHOU Xiujin,et al. Study on isolation and biological characteristics of histamine-forming bacteria in frozen storage of raw *Skipjack tuna* [J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2012,12(8):25-31. (in Chinese)

[6] 童铃,戴志远. 不同贮藏温度下扁舵鲣组胺及产组胺菌的研究[D]. 杭州:浙江工商大学,2015.

[7] TAO Zhihua,ZUO Tengshi. Isolation of histamine forming bacteria from Tuna fish and the analysis of the physiological and biochemical characteristics[J]. **Biotechnology**,2009,19(1):41-43. (in Chinese)

[8] ZHAO Zhonghui,LIN Hong,LI Zhenxing. Isolation and identification of histamine-forming bacteria from spanish *Mackerel meat* [J]. **Food Science**,2011,32(7):194-197. (in Chinese)

[9] ZHOU Weifeng,TANG Haiqing,HE Linjuan,et al. Screening and identification of histamine-producing bacteria from Chub mackerel meat[J]. **Food Science**,2012,33(13):225-229. (in Chinese)

[10] SATOMI M,FURUSHITA M,OIKAWA H,et al. Analysis of a 30 kbp plasmid encoding histidine decarboxylase gene in Tetragenococcus halophilus isolated from fish sauce [J]. **International Journal of Food Microbiology**,2008,126 (1/2):202-209.

[11] LAN Weiqing,XIE Jing,SHI Jianbing,et al. Bacterial species changes in pampus argenteus during chilled storage [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2013,32(11):1141-1148. (in Chinese)

[12] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.

[13] BUCHANAN R E,GIBBONS N E. 中科院微生物研究所译.伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京:科学出版社,1984.

[14] OU Changrong,GUAN Juan,TANG Haiqing,et al. Screening,identification and fermentation conditions of histamine degrading bacteria from Mackerel [J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2014,14 (8):158-164. (in Chinese)

[15] TAO Zhihua,ZHANG Hongmei,ZUO Tengshi. Isolation of histamine forming bacteria from Mackerel fish and analysis of the physiological and biochemical characteristics [J]. **Modern Agricultural Science and Technology**,2009 (19):331-332. (in Chinese)

[16] SATOMI M,FURUSHITA M,OIKAWA H,et al. Analysis of a 30 kbp plasmid encoding histidine decarboxylase gene in Tetragenococcus halophilus isolated from fish sauce [J]. **International Journal of Food Microbiology**,2008,126 (1/2):202-209.

[17] HWANG C,KUNG H,LIN C,et al. Bacteriological quality and histamine-forming bacteria associated with fish meats and environments in HACCP and non-HACCP fish processing factories[J]. **Food Control**,2011,22(10):1657-1662.

[18] HSU H H,CHUANG T,LIN H,et al. Histamine content andhistamine-forming bacteria in dried milkfish (*Chanos chanos*) products[J]. **Food Chemistry**,2009,114(3):933-938.

[19] TSAI Y H,LIN C Y,CHIEN L T,et al. Histamine contents of fermented fish products in Taiwan and isolation of histamine-forming bacteria[J]. **Food Chemistry**,2006,98(1):64-70.