

冷藏乳制作的牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺含量的变化

Changes of biogenic amine concentrations in hard cheese made from refrigerated yak's milk during ripening

宋雪梅^{1,2} 邱 婷^{1,2} 刘钰莹¹ 张 炎^{1,2} 张卫兵^{1,2}

SONG Xue-mei^{1,2} QIU Ting^{1,2} LIU Yu-ying¹ ZYANG Yan^{1,2} ZHANG Wei-bing^{1,2}

(1. 甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省功能乳品工程实验室, 甘肃 兰州 730070)

(1. College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2. Functional Dairy Product Engineering Laboratory of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730070, China)

摘要:目的:揭示冷藏原料乳制作的干酪成熟过程中生物胺含量变化规律,评价其质量安全性。方法:以冷藏 24, 48, 72 h 牦牛乳制作的硬质干酪为研究对象,利用高效液相色谱法对干酪成熟过程中生物胺含量进行测定。结果:在 0~6 个月成熟过程中,不同冷藏牦牛乳制作的硬质干酪中生物胺含量呈升高趋势。牦牛乳冷藏时间从 24 h 延长到 72 h 时,其干酪中总生物胺、2-苯乙胺、尸胺、酪胺和腐胺含量也依次增大。成熟 4 个月后,冷藏 72 h 牦牛乳制作的硬质干酪中各生物胺含量明显高于其余两组干酪。成熟 6 个月时,冷藏 72 h 原料乳制作的牦牛乳硬质干酪中生物胺总量和酪胺含量分别为 (212.94 ± 8.03) , (81.04 ± 3.92) mg/kg。结论:随着原料乳冷藏时间和干酪成熟时间的延长,干酪中生物胺含量增多,但是原料乳冷藏时间低于 72 h 时,其干酪中生物胺含量低于学者建议含量。

关键词:牦牛乳;冷藏;硬质干酪;生物胺

Abstract: Objective: The research aimed to reveal the changes of biogenic amines in cheese made from different refrigerated milk during ripening and evaluate its quality safety. **Methods:** The hard cheese made from yak milk refrigerated for 24, 48 and 72 hours was taken as the research object, and the biogenic amines in cheese during ripening were determined by high performance liquid chromatography. **Results:** During the ripening period from 0 to 6 months, the content of biogenic amine in hard cheese made from different refrigerated yak milk showed an increasing trend.

基金项目:国家地区自然科学基金项目(编号:31860449)

作者简介:宋雪梅,女,甘肃农业大学助理研究员,博士。

通信作者:张卫兵(1974—),男,甘肃农业大学教授,硕士研究生导师,博士。E-mail:zhangwb@gsau.edu.cn

收稿日期:2022-09-02 **改回日期:**2023-01-24

When the cold storage time of yak milk was extended from 24 h to 72 h, total biogenic amines, 2-phenylethylamine, cadaverine, tyramine and putrescine in cheese also increased in turn. The biogenic amines in the cheese made from raw milk refrigerated for 72 hours after ripening for 4 months were significantly higher than those in the other two groups of cheese. The contents of total biogenic amines and tyramine yak milk hard cheese matured for 6 months were (212.94 ± 8.03) mg/kg and (81.04 ± 3.92) mg/kg respectively. **Conclusion:** With the prolongation of the cold storage time of raw milk and the ripening time of cheese, the biogenic amine content in cheese increased. However, when the cold storage time of raw milk was less than 72 h, the biogenic amine content in its cheese was lower than the content recommended by scholars.

Keywords: yak milk; cold storage; hard cheese; biogenic amine

生物胺是一种有机含氮小分子化合物,存在于干酪、发酵蔬菜、鱼制品等各种食品中。食品中生物胺主要包括色胺、酪胺、组胺、2-苯乙胺、尸胺、腐胺等。酪胺、组胺具有较强毒性,一些胺如腐胺,在亚硝酸盐存在情况下,能够转化为致癌物亚硝胺^[1]。正常情况下,人体能够通过二胺氧化酶、单胺氧化酶等代谢外源性生物胺,但摄入含有高浓度生物胺的食物且机体缺乏生物胺氧化酶或者存在其抑制剂时,可能会对机体胃肠道、神经、血管等产生不良影响,如偏头痛、头疼、呕吐、泛红、血压升高等^[2]。发酵乳制品,特别是蛋白质含量较高的干酪,存在生物胺含量较高等现象。因此,干酪中生物胺的积累程度影响了其质量安全性。

干酪中生物胺形成的影响因素除游离氨基酸、适宜环境外,还与具有脱羧或者氨基化活性的微生物息息相

关^[3]。干酪中微生物包含残留的耐热菌、发酵剂以及加工过程中所带入的微生物。这些微生物在干酪成熟过程中生长繁殖,产生各种酶如蛋白酶、肽酶等。在这些酶的作用下,干酪中的蛋白质逐渐被降解成多肽、氨基酸等。游离氨基酸在具有氨基酸脱羧酶活性的微生物存在时,可转化形成生物胺^[4]。原料乳中某些乳酸菌如肠球菌、链球菌属、明串珠菌属、乳球菌属和一些革兰氏阴性菌如假单胞菌属、大肠杆菌、蜂窝哈夫尼亚菌、摩根氏菌属、沙雷氏菌属等具有产胺能力^[5]。生鲜水牛乳制作的软质 Domiat 干酪中生物胺含量和微生物菌落数较高^[6]。冷藏 48 h 的未杀菌山羊乳制作的干酪中生物胺含量和微生物数量也高于新鲜山羊乳制作的干酪^[7]。因此,原料乳中微生物种类和数量对干酪中生物胺具有重要影响。

Mankai 等^[8]发现原料乳冷藏时间从 24 h 延长到 96 h 时,其微生物数量呈增加趋势,且嗜冷菌较为明显。苟萌等^[9]发现冷藏过程中,原料乳中优势菌群由不动杆菌属转化为乳球菌属。Bouchair 等^[10]发现冷藏生鲜牛乳中主要微生物为不动杆菌属、金黄杆菌属、乳杆菌属、气单胞菌属和肠球菌。在工业化制作干酪时,虽然大多数原料乳经巴氏杀菌处理,但是干酪中生物胺含量与原料乳中微生物以及耐热性非发酵剂乳酸菌仍有一定关系^[11]。

牦牛乳含有较高蛋白质、脂肪、氨基酸,以及多种矿物质和维生素,其干物质含量达 16.66%~17.09%^[12]。此外,牦牛主要生活在青藏高原地区,养殖场较为分散,因此,牦牛乳收集和运输等环节的恰当贮藏就显得更加重要。研究^[13]发现,冷藏 72,24 h 的牦牛乳中微生物菌落结构和理化性质具有差异。目前,牦牛乳被制作成酥油、干酪等制品。牦牛酥油在冷藏时,随着冷藏时间的延长,*n*-3 和 *n*-6 脂肪酸均显著降低^[14]。不同冷藏时间牦牛乳制作的硬质干酪理化性质差异也明显^[15]。因此,研究拟以冷藏 24,48,72 h 牦牛乳制成的硬质干酪为研究对象,测定牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺含量,揭示不同冷藏时间原料乳制作的干酪成熟过程生物胺含量变化规律,为评价原料乳质量和提升干酪品质提供依据。

1 材料与仪器

1.1 试验材料与主要试剂

新鲜牦牛乳:采自甘南藏族自治州卓尼县木耳乡;
凝乳酶、发酵剂(*m*_{嗜温发酵剂}:*m*_{嗜热发酵剂}为 1:1):北京多爱特生物科技有限公司;
葡萄糖、蛋白胨:招远拓普生物工程有限公司;
琼脂、MRS 培养基:青岛海博生物公司;
1,7-二氨基庚烷、丹磺酰氯、*L*-脯氨酸、生物胺标品:美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 试验仪器

干酪槽:自制;

真空包装机:DZ-450A 型,浙江立腾机械制造有限公司;
灭菌锅:SXQ-DSX-280A 型,上海申安医疗器械厂;
厌氧培养箱:YQX-II 型,甘易仪器设备有限公司;
电热恒温培养箱:HG303-4 型,上海仪天科学仪器有限公司;

高效液相色谱仪:1260 Infinity II 型,安捷伦科技有限公司;

氮吹仪:WD-12 型,上海乔跃电子科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 原料乳预处理 将新鲜牦牛乳分成 3 份,于 4 ℃ 分别贮藏 24,48,72 h,冷藏结束后,部分原料乳用于微生物测定,大部分原料乳制作成硬质干酪。

1.3.2 牦牛乳硬质干酪制作与取样 参照刘兴龙等^[16]的方法制作牦牛乳硬质干酪。原料乳经巴氏杀菌(63 ℃,30 min)后,冷却至 35 ℃。加入已活化发酵剂(0.006 25 g/L),搅拌均匀后,35 ℃ 发酵约 60 min。当 pH 达到 6.2 时,边缓慢搅拌,边加入氯化钙(0.3 g/L),10 min 后,加入凝乳酶(1 g/1.5 L)。当 pH 达到 5.6 时,将乳凝块切割成约 1 cm³ 小方块,排乳清。加入 2% 食盐堆酿约 2 h 后,加压成型。真空包装后,4 ℃ 成熟 0~6 个月。以 1 个月为间隔时间,将不同成熟阶段的干酪于 -80 ℃ 贮藏备用。

1.3.3 牦牛乳和干酪中微生物指标测定

- (1) 细菌总数:参照 GB 4789.2—2016。
- (2) 乳酸菌数:参照 GB 4789.35—2016。
- (3) 嗜冷菌数:参照 NY/T 1331—2007。

1.3.4 生物胺含量测定

(1) 样品预处理以及衍生:参照 Innocente 等^[17]的方法稍做修改。称取适量干酪,充分研磨后放入 50 mL 离心管中,分别添加 20 mL HCl 和 100 μL 1,7-二氨基庚烷内标工作液,均浆后,4 ℃、12 000 r/min 离心 20 min,收集上清液,重复提取残余物,并用盐酸定容至 50 mL。

加入 1 mL 上清液或标准样品、0.5 mL 饱和 NaHCO₃ 和 1 mL 丹磺酰氯于密封试管中,涡旋震荡 60 s,40 ℃ 反应 1 h。添加 200 μL 100 mg/mL 的 *L*-脯氨酸,涡旋 1 min。再加入 1 mL 乙醚,4 ℃、3 000 r/min 离心,吸取上层溶液,用氮吹仪吹干,用乙腈溶解残留物。经膜过滤后,进行高效液相测定。

(2) 色谱条件:参照 Moret 等^[18]的方法稍加改进。色谱柱为 Symmetry C₁₈ (5 μm, 250 mm×4.6 mm),柱温 30 ℃;流速 1 mL/min;进样量 10 μL;流动相 A 液为水, B 液为乙腈;紫外检测波长 254 nm;梯度洗脱条件:0 min, 65% B;1 min, 65% B;10 min, 80% B;14 min, 80% B;21 min, 100% B;30 min, 100% B。

1.3.5 数据统计分析 试验指标重复测定 3 次,结果均

以平均值±标准差表示。采用 SPSS 22.0 软件进行方差和显著性分析,利用 Origin 2019 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 牦牛乳中微生物菌落总数

由表 1 可知,牦牛乳在 24~72 h 冷藏过程中,细菌菌落总数、乳酸菌和嗜冷菌数均呈增加趋势,与王媛媛^[19]的研究结果一致。冷藏 24,48 h 牦牛乳中乳酸菌差异不显著,冷藏 72 h 后,牦牛乳中乳酸菌总数增加了 8.9%,显著高于冷藏 24,48 h 乳中菌落数($P<0.05$)。牦牛乳中嗜冷菌随冷藏时间的延长呈显著增加趋势($P<0.05$)。Paludetti 等^[20]发现,原料乳在 96 h 冷藏期间,其细菌总数、嗜冷菌总数、蛋白质和脂肪分解细菌等呈增加趋势,特别是冷藏 48 h 后,增加趋势明显。Mankai 等^[8]发现,生鲜乳 4℃贮藏 72 h 后,需氧嗜冷菌达 7.3 lg(CFU/mL)。Yamazi 等^[21]发现冷藏 48 h 山羊乳中嗜温菌、大肠菌群、大肠杆菌以及嗜冷菌明显高于冷藏 24 h 的原料乳。原料乳中各微生物菌落数与牲畜种类、牛乳收集、牲畜健康、牧场卫生等有关。绵羊乳中嗜温菌、嗜冷菌分别为 $10^2\sim 10^6$, $10^2\sim 10^4$ CFU/mL^[22-23]。由于牦牛自然放牧,手工挤乳、农户自己管理等原因,原料乳中菌落总数偏高,从而导致冷藏牦牛乳中各微生物菌落数也较高。

表 1 牦牛乳冷藏过程中微生物菌落数变化[†]

Table 1 Changes in microbial populations in raw yak milk kept under refrigeration lg(CFU/mL)

冷藏时间/h	菌落总数	乳酸菌	嗜冷菌
24	7.81±0.01 ^c	6.92±0.08 ^b	5.87±0.06 ^c
48	7.92±0.06 ^{ab}	6.98±0.10 ^b	6.06±0.04 ^b
72	7.95±0.06 ^a	7.54±0.07 ^a	6.37±0.04 ^a

† 小写字母不同表示冷藏组间差异显著($P<0.05$)。

2.2 牦牛乳硬质干酪成熟过程中微生物菌落总数

由表 2、表 3 可知,在 0~2 个月成熟过程中,冷藏 24,48,72 h 牦牛乳制作的干酪中细菌和乳酸菌数均呈先降低后升高趋势;在 2~6 个月成熟过程中,干酪中细菌和乳酸菌数呈下降趋势,成熟 6 个月时,3 组硬质干酪中细菌、乳酸菌数比未成熟干酪分别减少 4.22%,1.81%,2.35% 和 3.74%,2.36%,1.82%。成熟初期,干酪中发酵剂分解原料乳中残存乳糖,快速生长,成熟 2 个月后,干酪理化性质逐渐发生改变,导致成熟后期细菌开始自溶,甚至死亡。

在 1~6 个月成熟过程中,冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中细菌、乳酸菌数最高,其次是冷藏 48 h 的,冷藏 24 h 牦牛乳制作的干酪中细菌、乳酸菌数最低。成熟 3 个月时,3 组硬质干酪中细菌、乳酸菌数差异显著($P<0.05$)。Mankai 等^[8]也发现原料乳从 24 h 冷藏到 96 h 时,所制作

表 2 牦牛乳硬质干酪成熟过程中微生物菌落数变化[†]

Table 2 Changes in total bacterial counts in yak milk hard cheese during ripening lg(CFU/g)

成熟时间/月	原料乳冷藏时间		
	24 h	48 h	72 h
0	9.47±0.01 ^{Aa}	9.37±0.02 ^{Ba}	9.40±0.01 ^{Bb}
1	9.32±0.02 ^{Bb}	9.29±0.03 ^{Bb}	9.38±0.02 ^{ABc}
2	9.37±0.03 ^{Bb}	9.40±0.04 ^{ABa}	9.45±0.02 ^{Aa}
3	9.23±0.03 ^{Cc}	9.31±0.01 ^{Bb}	9.40±0.02 ^{Ab}
4	9.16±0.02 ^{Cd}	9.29±0.01 ^{Bb}	9.35±0.01 ^{Ac}
5	9.13±0.03 ^{Cd}	9.20±0.03 ^{Bc}	9.28±0.02 ^{Ad}
6	9.07±0.04 ^{Ce}	9.15±0.03 ^{Bc}	9.23±0.02 ^{Ae}

† 大写字母不同表示冷藏期间差异显著($P<0.05$);小写字母表示成熟期差异显著($P<0.05$)。

表 3 牦牛乳硬质干酪成熟过程中乳酸菌数变化[†]

Table 3 Changes in total counts of lactic acid bacteria in yak milk hard cheese during ripening lg(CFU/g)

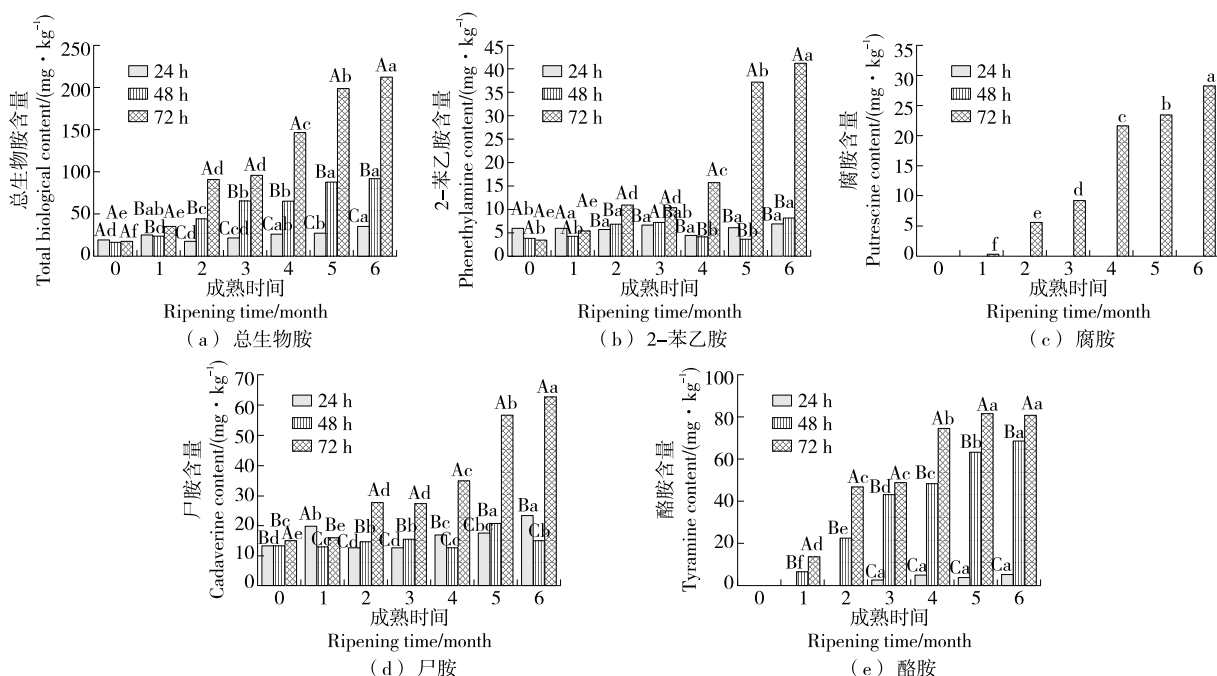
成熟时间/月	原料乳冷藏时间		
	24 h	48 h	72 h
0	9.37±0.02 ^{Aa}	9.31±0.02 ^{Ba}	9.32±0.03 ^{ABb}
1	9.22±0.02 ^{Bc}	9.23±0.02 ^{Bbc}	9.30±0.02 ^{ABc}
2	9.27±0.03 ^{Bb}	9.34±0.01 ^{Aa}	9.37±0.02 ^{Aa}
3	9.13±0.02 ^{Cd}	9.25±0.02 ^{Bb}	9.32±0.02 ^{Ab}
4	9.06±0.02 ^{Ce}	9.20±0.03 ^{Bc}	9.27±0.01 ^{Ac}
5	9.03±0.02 ^{Ce}	9.12±0.02 ^{Bd}	9.20±0.02 ^{Ad}
6	9.02±0.01 ^{Ce}	9.09±0.02 ^{Bd}	9.15±0.02 ^{Ae}

† 大写字母不同表示冷藏期间差异显著($P<0.05$);小写字母表示成熟期差异显著($P<0.05$)。

的 Gouda 干酪中菌落总数、乳酸菌数呈增加趋势。由于不同冷藏时间原料乳制作干酪时,加入的发酵剂数量相同,因此,不同冷藏牦牛乳制作的干酪中微生物菌落数差异与其原料乳中各微生物数及其干酪理化性质不同等有关。此外,由于冷藏 24,48,72 h 牦牛乳制成的硬质干酪中乳酸菌占细菌中绝大多数,因此,两者在干酪成熟过程中的变化趋势相似。

2.3 牦牛乳硬质干酪在成熟过程中生物胺含量变化

由图 1 可知,3 组新鲜牦牛乳硬质干酪中总生物胺、2-苯乙胺含量差异不显著,未检出腐胺和酪胺。冷藏 24,48 h 牦牛乳制作的新鲜干酪中尸胺含量差异不显著,但冷藏 72 h 牦牛乳制作的新鲜干酪中尸胺含量显著高于冷藏 24,48 h 的($P<0.05$)。冷藏 24,48 h 牦牛乳制作的干酪中主要生物胺为 2-苯乙胺、尸胺和酪胺,而冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中主要生物胺为 2-苯乙胺、尸胺、腐胺和酪胺。随着成熟时间的延长,不同冷藏牦牛乳制作的干



大写字母不同表示冷藏期间差异显著 ($P < 0.05$); 小写字母表示成熟期差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺含量变化

Figure 1 Changes in total biogenic amine contents of yak milk hard cheese

酪中各生物胺含量呈增加趋势,但是 3 组干酪中生物胺含量变化趋势存在差异。

成熟 1 个月时,3 组干酪中总生物胺含量差异较小。成熟 2~6 个月时,3 组干酪中总生物胺含量均呈较快增加趋势,冷藏 48,72 h 牦牛乳制作的干酪中生物胺含量增加明显,且冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中总生物胺含量显著高于冷藏 24,48 h 的 ($P < 0.05$)。成熟 6 个月时,3 组干酪中总生物胺含量分别是新鲜干酪的 1.85,5.33,11.54 倍。在 0~6 个月成熟过程中,冷藏 24,48 h 牦牛乳制作的干酪中 2-苯乙胺含量差异较小,未检测到腐胺。在 0~3 个月成熟过程中,冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中 2-苯乙胺、腐胺含量增加缓慢,当成熟 4~6 个月时呈较快增加趋势,且 2-苯乙胺含量显著高于冷藏 24,48 h 的 ($P < 0.05$)。成熟 2~6 个月时,冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中尸胺含量显著高于其余两组干酪 ($P < 0.05$),且成熟 4 个月时,冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪和其余两组干酪中尸胺含量相差较大。成熟 1~6 个月时,冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中酪胺含量显著高于冷藏 24,48 h 的 ($P < 0.05$);冷藏 24 h 牦牛乳制作的干酪中酪胺含量最低 ($P < 0.05$)。冷藏 48,72 h 牦牛乳制作且成熟期大于 4 个月干酪中酪胺含量显著高于成熟期前 3 个月的 ($P < 0.05$)。综上,原料乳冷藏以及干酪成熟时间越长,其硬质干酪中生物胺积累越多。Novella-Rodriguez 等^[7]发现与新鲜原料乳制作的干酪相比,4 °C 贮藏 48 h 原料乳制作

的干酪中生物胺含量最高。

干酪中生物胺积累不仅与蛋白水解酶和脱羧酶活性、发酵剂、理化性质、成熟时间、贮藏温度等因素有关,还与产胺微生物紧密相连^[24-25]。冷藏 72 h 牦牛乳中嗜冷菌较高,而嗜冷菌能够产生耐热性蛋白酶^[26]。Cempirková 等^[27]发现源自嗜冷菌的蛋白酶,增加了乳制品中游离氨基酸含量。冷藏 72 h 原料乳制作的牦牛乳硬质干酪中游离氨基酸含量较高^[15]。冷藏时间较长原料乳制作的干酪中游离氨基酸含量较高,这为生物胺形成提供了物质基础。原料乳中存在某些不产孢子的耐热菌链球菌和肠球菌^[28-30]。肠球菌既能在低温下生长,又能承受住巴氏杀菌。同时,肠球菌与苯乙胺、腐胺以及酪胺形成有关^[31-32]。宋国顺等^[33]从牦牛乳硬质干酪中筛选出一株产胺菌为 *Enterococcus durans*。食品中主要产胺菌株也是乳酸菌、肠细菌、葡萄球菌和其他微生物^[34]。嗜冷菌金黄色杆菌属的某些种也具有产生物胺的能力^[35],而冷藏 72 h 牦牛乳中乳酸菌数和金黄色杆菌属丰度较高^[13]。因此,冷藏 72 h 牦牛乳制作的干酪中生物胺含量最高。

酪胺是毒性较强的生物胺之一,冷藏 72 h 原料乳制作且成熟 6 个月牦牛乳硬质干酪中酪胺含量为 (81.04 ± 3.92) mg/kg,生物胺总量为 (212.94 ± 8.03) mg/kg。影响人体健康的酪胺含量为 100~800 mg/kg^[36],Spanjer 等^[37]建议干酪中组胺、酪胺、腐胺、尸胺的总含量不应超过 900 mg/kg。因此,牦牛乳冷藏 72 h 时,所制作的干酪

中生物胺含量仍在合理范围内。一些胺类如组胺、色胺和酪胺能够产生异味和腐败味,影响乳制品品质^[38]。Nout等^[39]认为生物胺含量在100~200 mg/kg的食品可被消费者接受,因此,对于生产优质牦牛乳硬质干酪而言,原料乳冷藏时间延长所导致的相应干酪制品中生物胺总量增加不容忽视。

3 结论

试验表明,在0~6个月成熟过程中,冷藏牦牛乳制作的硬质干酪中生物胺含量呈升高趋势。牦牛乳冷藏时间从24 h延长到72 h时,其干酪中总生物胺、2-苯乙胺、尸胺、酪胺和腐胺含量也依次增大,成熟4个月后,冷藏72 h牦牛乳制作的干酪中各生物胺含量明显高于其余两组干酪,成熟6个月时,其牦牛乳硬质干酪中酪胺和生物胺含量分别为 (81.04 ± 3.92) 、 (212.94 ± 8.03) mg/kg。随着原料乳冷藏时间和干酪成熟时间的延长,其干酪中生物胺含量增多,但是原料乳冷藏时间低于72 h时,其干酪中生物胺含量仍低于学者建议含量。然而,在优质牦牛乳硬质干酪制作时,为了减少生物胺积累,应依据原料乳中微生物种类和承载量,合理确定原料乳冷藏时间,控制原料乳质量。后续还需进一步分类、细化研究冷藏过程中原料乳和干酪中微生物种类以及相关酶解特性,深入了解干酪中生物胺形成的微生物机制。

参考文献

- [1] NALAZEK-RUDNICKA K, KUBICA P, WASIK A K. Discrepancies in determination of biogenic amines in beer samples by reversed phase and hydrophilic interaction liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry [J]. *Microchemical Journal*, 2020, 159: 1-9.
- [2] FEDDEM V, MAZZUCO H, FONSECA F N, et al. A review on biogenic amines in food and feed: Toxicological aspects, impact on health and control measures[J]. *Animal Production Science*, 2019, 59(4): 608-618.
- [3] INNOCENTE N, D'AGOSTIN P. Formation of biogenic amines in a typical semihard Italian cheese[J]. *Journal of Food Protection*, 2002, 65(9): 1 498-1 501.
- [4] HALÁSZ A, BARÁTH Á, SIMON-SARKADIB L, et al. Biogenic amines and their production by microorganisms in food[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 1994, 5(2): 42-49.
- [5] LINARES D M, MARTIN M, LADERO V, et al. Biogenic amines in dairy products[J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 2011, 51(7): 691-703.
- [6] ELSANHOTY R M, MAHROUS H, GHANAIFY G A. Chemical, microbial counts and evaluation of biogenic amines during the ripening of egyptian soft domiati cheese made from raw and pasteurized buffaloes milk [J]. *International Journal of Dairy*

- Science*, 2009, 4(2): 80-90.
- [7] NOVELLA-RODRIGUEZ S, VECIANA-NOGUE'S M T, ROIG-SAGUE'S A X, et al. Comparison of biogenic amine profile in cheeses manufactured from fresh and stored (4 °C, 48 hours) raw Goat's milk[J]. *Journal of Food Protection*, 2004, 67(1): 110-116.
- [8] MANKAI M, BOULARES M, BENMOUSSA O, et al. The effect of refrigerated storage of raw milk on the physicochemical and microbiological quality of Tunisian semihard Gouda-type cheese during ripening[J]. *International Journal of Dairy Technology*, 2012, 65(2): 250-259.
- [9] 苟萌, 胡婕, 张彤彤, 等. Illumina MiSeq 高通量测序技术研究原料乳冷藏过程中微生物群落演替规律[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(7): 313-319.
- GOU M, HU J, ZHANG T T, et al. The succession of microbial community in raw milk during cold storage by Illumina MiSeq high-throughput sequencing[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(7): 313-319.
- [10] BOUCHAIR K B, ABEDS S E, VANNINI L, et al. The phylogeny of psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw cow milk collected in an arid area of algeria [J]. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, 2021, 76(3): 90-95.
- [11] POVEDA J M, MOLINA G M, GÓMEZ-ALONSO S. Variability of biogenicamine and free amino acid concentrations in regionally producedgoat milk cheeses[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2016, 51: 85-92.
- [12] 代安娜, 杨具田, 丁波, 等. 牦牛乳组分及功能特性研究进展[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(6): 3 443-3 453.
- DAI A N, YANG J T, DING B, et al. Research progress on components and functional characteristics of yak milk[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(6): 3 443-3 453.
- [13] 宋雪梅, 马安娜, 刘炫妍, 等. 不同冷藏时间牦牛乳中细菌群落结构和理化性质比较[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(7): 1-8.
- SONG X M, MA A N, LIU X Y, et al. Comparison of bacterial communities and physicochemical properties in yak milk with different cold storage durations [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(7): 1-8.
- [14] 杨静, 梁琪, 宋雪梅, 等. 牦牛酥油贮藏期间脂肪酸和健康评估指数变化[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(4): 39-46, 55.
- YANG J, LIANG Q, SONG X M, et al. Changes of fatty acids and health assessment index of yak ghee during storage[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(4): 39-46, 55.
- [15] 邱婷, 张忠明, 张卫兵, 等. 原料乳冷藏时间对牦牛乳硬质干酪理化指标的影响[J]. *食品发酵与工业*, 2022, 46(2): 146-151.
- QIU T, ZHANG Z M, ZHANG W B, et al. Effects of cold storage time of raw milk on physical and chemical indexes of yak milk hard cheese[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 46(2): 146-151.
- [16] 刘兴龙, 甘伯中, 李帆, 等. 白牦牛乳硬质干酪加工工艺技术研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(14): 94-98.

- LIU X L, GAN B Z, LI F, et al. Processing technology of hard cheese from milk of white yak[J]. Food Science, 2009, 30(14): 94-98.
- [17] INNOCENTE N, BIASUTTI M, PADOVESE M, et al. Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and directderivatization of acid extract[J]. Food Chemistry, 2007, 101(3): 1 285-1 289.
- [18] MORET S, CONTE L S. High-Performance liquid chromatographic evaluation of biogenic amines in foods. An analysis of different methods of sample preparation in relation to food characteristic[J]. Journal of Chromatography A, 1996, 729(1/2): 363-369.
- [19] 王媛媛. 冷藏原料乳品质变化过程中微生物与乳代谢物关系探究[D]. 银川: 宁夏大学, 2021: 13-14.
WANG Y Y. Research on the relationship between microorganisms and milk metabolites during the quality change of refrigerated raw milk[D]. Yinchuan: Ningxia University, 2021: 13-14.
- [20] PALUDETTI L F, JORDAN K N, KELLY A L, et al. Evaluating the effect of storage conditions on milk microbiological quality and composition [J]. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 2018, 57(1): 52-62.
- [21] YAMAZI A K, MOREIRA T S, CAVICCHIOLI V Q, et al. Long cold storage influences the microbiological quality of raw goat milk[J]. Small Ruminant Research, 2013, 113(1): 205-210.
- [22] QUIGLEY L, O'SULLIVAN O, STANTON C, et al. The complex microbiota of raw milk[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(5): 664-698.
- [23] TILOCCA B, COSTANZO N, MORITTU V M, et al. Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production[J]. Journal of Proteomics, 2020, 210: 103534.
- [24] BUNKOVA L, BUNKA F, MANTLOVA G, et al. The effect of ripening and storage conditions on the distribution of tyramine, putrescine and cadaverine in Edam-cheese[J]. Food Microbiology, 2010, 27(7): 880-888.
- [25] LAGIOIA F, RIZZOTTI L, ROSSI F, et al. Identification of a tyrosine decarboxylase gene (tdcA) in Streptococcus thermophilus 1TT45 and analysis of its expression and tyramine production in milk[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2011, 77(3): 1 140-1 144.
- [26] SANTANA DE E H W, LUIZ L L, SILVA PASQUIM DA P, et al. Psychrotrophic microorganisms in raw milk and the cheese quality [J]. Research, Society and Development, 2020, 9(9): 1-22.
- [27] CEMPÍRKOVÁ R, MIKULOVÁ M, TRÁVNÍČEK J. Counts of psychrotrophic lipolytic bacteria in cow's raw milk samples from the aspect of technological quality [J]. Journal of Agrobiology, 2009, 26(2): 113-121.
- [28] BUEHNER K P, ANAND S, DKIRA G D, et al. Prevalence of thermophilic bacteria and spores on 10 Midwest dairy farms[J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(11): 6 777-6 784.
- [29] JUNIOR J C R, BELOTI V, MASSI F P, et al. Thermophilic psychrotrophic proteolytic microbiota from refrigerated raw milk [J]. Semina: Ciências Agrárias, 2017, 38(1): 267-272.
- [30] DELGADO S, RACHID T, FERNÁNDEZ E, et al. Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing[J]. Food Microbiology, 2013, 36(1): 103-111.
- [31] GALGANO F, SUZZI G, FAVATI F, et al. Biogenic amines during ripening in 'Semicotto Caprino' cheese: Role of enterococci[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2001, 36(2): 153-160.
- [32] LI J, REN F, GU H, et al. Safety evaluation in vitro of Enterococcus durans from Tibetan traditional fermented yak milk [J]. The Journal of Microbiology, 2011, 49(5): 721-728.
- [33] 宋国顺, 张炎, 袁润泽, 等. 不同 NaCl 添加量对牦牛乳硬质干酪成熟过程中生物胺产生的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(22): 34-42.
SONG G S, ZHANG Y, YUAN R Z, et al. The effect of different NaCl additions on the production of biogenic amines of yak milk hard cheese during the maturation[J]. Food Science, 2022, 43(22): 34-42.
- [34] LASRIVAS DE B, MARCOBAL A, CARRASCOSA A, et al. PCR detection of food borne bacteria producing the biogenic amines histamine, tyramine, putrescine and cadaverine[J]. Journal of Food Protection, 2006, 69(10): 2 509-2 514.
- [35] MIELMANN A, HUGO C J, JOOSTE P J. the potential of *clostridium* species to produce biogenic amines[J]. Journal of Food Safety, 2011, 31(1): 75-80.
- [36] TEN BRINK B, DAMINK C, JOOSTEN H, et al. Occurrence and formation of biologically active amines in foods[J]. International Journal of Food Microbiology, 1990, 11(1): 73-84.
- [37] SPANJER M C, VAN ROODE B A S W. Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese and sauerkraut[J]. De Ware Chemicus, 1991, 21: 139-167.
- [38] CHANDER H, BATISH V K, BABU S, et al. Factors affecting amine production by a selected strain of *Lactobacillus bulgaricus* [J]. Journal of Food Science, 1989, 54(4): 940-942.
- [39] NOUT M J R. Fermented foods and food safety[J]. Food Research International, 1994, 27(3): 291-298.