

甘氨酸降低复合菌快速发酵虾酱中的组胺含量

于靖¹, 杨锡洪^{1,2}, 谢静雯¹, 卢宽¹, 解万翠^{1,2,3,4}

(1. 青岛科技大学海洋科学与生物工程学院, 山东青岛 266042) (2. 山东省生物化学工程重点实验室, 山东青岛 266042) (3. 青岛智科检验检测有限公司, 山东青岛 266002) (4. 青岛信和源生物科技有限公司, 山东青岛 266002)

摘要: 降低组胺及提高风味是快速发酵虾酱产业化面临的瓶颈问题。为探讨甘氨酸对快速发酵虾酱中组胺生成的抑制作用及风味品质影响, 本研究以新鲜虾头为原料, 添加 *Pichia gilliermondii*、*Aspergillus niger* 及 *Lactobacillus planticola* (1:3:5) 的复合菌相发酵剂, 检测添加甘氨酸后组胺含量变化, 追踪对发酵过程中理化性质及安全指标影响, 感官评定及电子鼻分析虾酱品质及风味。结果表明, 甘氨酸的添加对组胺生成有良好的抑制作用, 向虾酱中添加 2%、4% 和 6% 的甘氨酸分别使组胺含量降低了 29.53%、31.16% 和 34.98%。随甘氨酸添加量的增加, 虾酱中 AA-N 含量增加, pH 降低, 菌落总数维持在 3.77~4.15 lg(cfu/g) 之间, 产品安全性良好。甘氨酸添加量为 4% 时, 含硫化合物及芳香化合物传感器响应值增大, 增强了虾酱的特征性风味, 提高营养及感官风味水平。定量添加的甘氨酸, 既提高了产品的风味品质, 又在一定程度上降低了组胺含量, 保障产品安全性。

关键词: 甘氨酸; 快速发酵; 组胺; 虾酱; 电子鼻

文章篇号: 1673-9078(2021)03-115-123

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0707

Glycine Reduces the Histamine Content in the Fast-fermented Shrimp Paste by Compound Bacteria

YU Jing¹, YANG Xi-hong^{1,2}, XIE Jing-wen¹, LU Kuan¹, XIE Wan-cui^{1,2,3,4}

(1.College of Marine Science and Biological Engineering, Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266042, China)(2.Key Laboratory of Biochemical Engineering of Shandong Province, Qingdao 266042, China)

(3.Qingdao Zhike Inspection and Testing Co. Ltd., Qingdao 266002, China)

(4.Qingdao Xinheyuan Biotechnology Co. Ltd., Qingdao 266002, China)

Abstract: Reducing histamine and improving flavor are the bottleneck problems in the industrialization of fast-fermented shrimp paste. In order to explore the inhibitory effect of glycine on the production of histamine in the fast-fermented shrimp paste and the effect on the flavor quality of the shrimp paste, this study used fresh shrimp heads as raw materials, with *Pichia gilliermondii*, *Aspergillus niger* and *Lactobacillus planticola* (1:3:5) as a compound fermentation agent. The changes in histamine content after the addition of glycine were examined, with the effects on the physicochemical properties and safety indicators during fermentation being tracked. The quality and flavor of shrimp paste were analyzed by sensory evaluation and electronic nose. The results showed that the addition of glycine had a significant inhibitory effect on histamine production. The addition of 2%, 4% or 6% of glycine to the shrimp paste reduced the histamine content by 29.53%, 31.16% and 34.98%, respectively. With an increase in the amount of glycine added, the content of AA-N in the shrimp paste increased. As the pH decreased, the total number of colonies was maintained in the range of 3.77~4.15 lg (cfu/g), while the product safety remained good. When the addition amount of glycine was 4%, the sensor response values of sulfur compounds and aromatic compounds increased, which enhanced the characteristic flavor of shrimp paste and improved the nutritional value and sensory flavor. The quantitative addition of glycine not only

引文格式:

于靖,杨锡洪,谢静雯,等.甘氨酸降低复合菌快速发酵虾酱中的组胺含量[J].现代食品科技,2021,37(3):115-123

YU Jing, YANG Xi-hong, XIE Jing-wen, et al. Glycine reduces the histamine content in the fast-fermented shrimp paste by compound bacteria [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 115-123

收稿日期: 2020-07-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31671825; 32072348); 山东省重点研发计划项目 (2017GHHY15127)

作者简介: 于靖 (1997-), 女, 在读硕士, 研究方向: 食品营养与安全

通讯作者: 解万翠 (1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品风味与安全

improves the flavor quality of the product, but also reduces the histamine content to a certain extent to ensure product safety.

Key words: glycine; rapid fermentation; histamine; shrimp paste; electronic nose

虾酱 (shrimp paste) 是中国沿海地区以及马来西亚、新加坡、泰国等东南亚国家常见的海鲜调味品^[1], 以毛虾、蛄子虾等小型虾类及虾产品加工下脚料为原料, 经虾体和细菌中蛋白酶对原料蛋白的水解, 释放出氨基酸和肽, 从而赋予产品特定的鲜美风味^[2]。因其营养丰富, 含蛋白质、维生素及DHA、EPA等具有调节血脂、免疫及补脑健脑功能的不饱和脂肪酸^[3], 深受消费者喜爱。然而虾酱作为一种天然发酵产品, 其发酵周期长, 微生物区系复杂多变, 发酵过程受多种因素影响, 品质不稳定, 可能存在一定的安全性问题^[3]。

生物胺 (Biogenic amine, BAs) 是一类低分子含氮有机化合物^[4], 广泛存在于蛋白含量丰富的发酵水产品中, 是致癌性亚硝胺的前体物质, 主要包括腐胺、酪胺、色胺、尸胺、组胺、苯乙胺、精胺和亚精胺等。其中组胺对人类健康影响最大^[5], 通过与细胞膜上的受体作用发挥毒性, 易造成低血压、头痛、呕吐和腹泻等不适症状, 甚至导致人体神经系统和心血管系统损伤^[6]。虾酱发酵过程中虾体原料经产蛋白酶菌作用被降解为氨基酸后, 在微生物代谢产生的氨基酸脱羧酶作用下发生脱羧反应, 因而产生相对大量的生物胺, 严重影响虾酱产品的食用安全性^[7], 给消费者带来健康风险。因此, 在保持虾酱传统风味的同时寻求有效的降组胺方法对于提高发酵食品安全性及产品质量具有一定的现实意义。

食品添加剂, 如盐、酸化剂和甜味剂等已被报道, 用以抑制或刺激生物胺的形成, 国内外学者在研究海鲜调味品快速发酵工艺优化时发现^[8,9], 外源氨基酸对海鲜发酵调味品的安全性及风味具有良好的促进作用, Jae-Hyung Mah^[10]等经研究腌制凤尾鱼发现, 甘氨酸是体外抑制微生物产胺活性最有效的食品添加剂, 添加5%甘氨酸能使发酵凤尾鱼中组胺含量降低86%, 并且甘氨酸对生物胺产生的抑制作用可能与其浓度成正比。

本课题组前期经定向分离、筛选发酵菌种, 在外加微生物法快速发酵虾酱的基础上, 添加不同含量甘氨酸, 研究其对快速发酵虾酱中组胺的抑制作用, 综合菌落总数判断虾酱产品安全性, 同时进行感官评价及电子鼻检测, 对挥发性盐基氮(TVB-N)和氨基酸态氮(AA-N)等理化指标进行分析, 探讨甘氨酸对快速发酵虾头酱组胺含量和风味品质影响。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

虾头: 新鲜凡纳滨对虾虾头 (*Litopenaeus vannamei*), 湛江国联水产开发股份有限公司; 发酵菌种: 季氏毕赤氏酵母 (*Pichia gilliermondii*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、植物乳杆菌 (*Lactobacillus planticola*), 实验室前期分离自广东传统虾酱; 磷酸组胺: 生物试剂 (≥ 98.0), 南京奥多福尼生物科技有限公司; 甘氨酸: 生物试剂, 天津市福晨化学试剂厂; 氢氧化钠: 优级纯, 天津广成化学试剂有限公司; 平板计数琼脂 (PCA) 培养基: 生物试剂, 西陇化工股份有限公司; 三氯乙酸: 分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

可见分光光度计 (V-5000), 上海元析仪器有限公司; 立式蒸汽灭菌器 (LDZX-30KBS), 上海申安医疗器械厂; pH计 (PHS-3C), 上海仪电科学仪器股份有限公司; 净化工作台 (SW-CJ-270), 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 恒温培养箱 (SPX-250B-Z), 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 电子鼻分析系统: 北京盈盛恒泰科技有限责任公司。

1.3 实验方法

1.3.1 虾酱快速发酵工艺

快速发酵工艺流程如图1所示, 新鲜虾头洗净沥水、减去胡须后称重, 巴氏灭菌法 (75 °C, 30 min) 低温灭菌, 虾头打浆后置于发酵罐 (500 g), 加入虾头重量 18% 的食盐, 接入复合发酵剂 (季氏毕赤氏酵母: 黑曲霉: 植物乳杆菌=1:3:5), 同时添加 2%、4% 和 6% 的甘氨酸, 在 37 °C 下恒温发酵 20 d, 每 48 h 搅拌样品并取样保存于 -20 °C 冰箱待测。

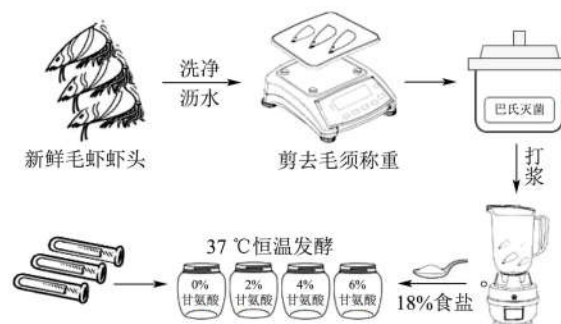


图1 虾头酱快速发酵流程

Fig.1 Rapid fermentation process for shrimp head sauce

表1 虾酱感官评分标准

Table 1 Standards for sensory evaluation of shrimp paste

评分	色泽	气味	滋味	质感
9~10	红色或紫红色, 表面鲜亮, 有光泽	浓郁的发酵虾酱气味	鲜味浓郁醇厚, 咸度适中, 无异味, 刺激食欲	质地均匀, 口感细腻, 稠度适中, 虾肉富含弹性
7~9	红色、褐色, 光泽较淡	发酵香味下降, 但无异味	鲜味较浓, 咸淡适中, 无异味, 刺激食欲	质地较均匀, 口感较细腻, 稠度适中, 虾肉稍带有弹性
6~7	红色、褐色, 光泽暗淡	发酵香味较淡, 且带有异味	鲜味较淡, 稍带异味	粘稠度较低, 口感较粗糙
<6	酱色发乌、发黑	无香味, 虾酱发臭	鲜味寡淡, 过淡或过咸, 腥味、有苦或其他异味	成分大小混杂, 过稠或过稀, 虾肉松散或坚硬

表2 电子鼻传感器性能描述

Table 2 Performance of six sensors for electronic nose

传感器名称	性能描述	气体	浓度/(mL·m ³)
W1C	对芳香族有机化合物敏感	甲苯	10
W5S	对氮氧化物反应灵敏	NO ₂	1
W3C	对胺类、芳香成分灵敏	苯	10
W6S	主要对氢化物有选择性	H ₂	100
W5C	主要检测短链烷烃芳香成分	丙烷	1
W1S	对甲基类灵敏	CH ₄	100
W1W	对无机硫化物灵敏	H ₂ S	1
W2S	对醇类、醛酮类灵敏	CO	100
W2W	对芳香成分、有机硫化物灵敏	H ₂ S	1
W3S	用于烷烃高浓度检测, 对甲烷敏感	CH ₄	10

1.3.2 理化指标检测及菌落总数测定

pH 测定: 参考 GB 5009.237-2016 以及 Techaratanakrai^[11]的方法: 将 10.0 g 样品用新煮沸冷却的超纯水定容至 100 mL, 静置 30 min, 6000 r/min 均质 2 min, 过滤后采用酸度计测定。TVB-N 含量检测: 参考《GB 5009.228-2016 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》进行检测; 氨基态氮含量: 参考《GB 5009.235-2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸态氮的测定》进行含量分析; 菌落总数: 根据《GB 4789.2-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行测定。

1.3.3 组胺含量测定

5.0 g 虾酱样品与 20 mL 10% 的三氯乙酸于具塞三角瓶中摇匀, 55 °C 超声 20 min, 间隔 5 min 震荡, 过滤后残渣用 10 mL 的蒸馏水冲洗 3 次, 合并滤液, 氢氧化钠溶液 (250 g/L) 调 pH 至 5.00±0.02, 定容至 100 mL。根据赵宇明的方法^[12]取样测定。(标准曲线: $y=0.01719x+0.01729$, $R^2=0.99934$)

1.3.4 感官评价

在感官评价过程中, 由于品尝结果受主观因素(如年龄、生活经历、文化背景、地理区域、感觉差异等)影响较大^[13], 结果缺乏足够的科学性。本文采用描述

性定量分析法 (quantitative descriptive analysis, QDA)^[14]对发酵成熟的虾酱进行感官评价。感官评定小组由 9 名已进行感官培训后的成员组成, 评估过程在感评室中进行, 尽可能保持环境条件不变, 同时为各位成员提供矿泉水, 以消除不同样品之间的味觉干扰^[15]。每位成员对样品的风味特征(虾味、发酵味、咸味、鲜味、腥味、苦涩味、氨气味以及体态等方面)进行评分, 评分标准见表 1。评分包括 0~9 分, 总计 10 个分数, “0”表示没感受到该风味, “9”则表示此风味浓郁, 综合得分=滋味均分×0.4+香气均分×0.6。

1.3.5 电子鼻分析

使用电子鼻系统 (PEN3, Airsense Analytics GmbH, 德国) 检测不同甘氨酸含量虾酱中挥发性化合物。准确称量 2.0 g 样品于 10 mL 样品瓶中密封, 室温稳定 30 min, 收集延迟时间为 300 s, 数据采集时间 150 s, 进气速度 0.3 L/min, 平行测定 3 次。传感器阵列对应物质如表 2 所示, 由 W1C、W5S、W3C、W6S、W5C、W1S、W1W、W2S、W2W、W3S 10 个传感器组成。根据电子鼻的响应强度, 考察虾酱样品中挥发性物质变化, 仪器控制采用 Winmuster 软件。

1.4 数据统计与分析

本文感官评价的 QDA 图及其他数据通过 origin 9.0 分析, 显著性通过 SPSS 21.0 进行分析。

2 结果与分析

2.1 甘氨酸对发酵过程 TVB-N 含量的影响

TVB-N 是衡量水产调味品原料新鲜度和腐败变质程度的重要指标^[16]。在虾酱发酵过程中, TVB-N 含量与腐败微生物的活性呈正相关, 是虾肉腐败臭味的主要来源, 能够直接反映虾酱品质。图 2 为添加不同浓度甘氨酸对虾酱发酵过程中 TVB-N 含量影响。

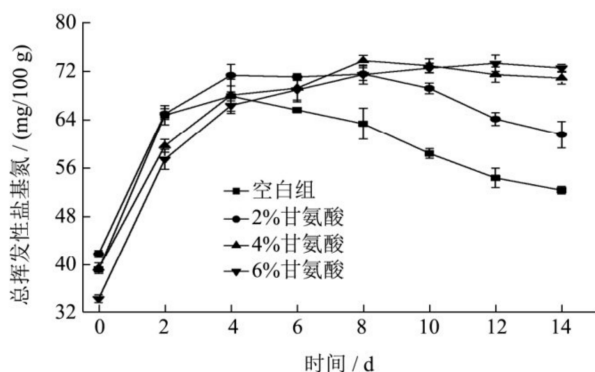


图 2 TVB-N 的含量曲线

Fig.2 Change curve of TVB-N content

由于微生物在初期大量繁殖并迅速进入对数生长期, 腐败微生物未被有效抑制, 虾头酱中的蛋白质在内源酶作用下被迅速分解为氨基酸, 经脱羧或脱氨反应生成挥发性的胺类及氨气等碱性含氮物质, 导致 0~2 d 中 TVB-N 含量急剧上升。2~4 d 上升速度减慢, 到 4 d 时, TVB-N 含量基本达到最高。由于微生物和酶受体系中高温高盐环境影响, 其活性降低, 且一部分 TVB-N 在发酵过程中挥发^[17], 导致 4~14 d 发酵中后期的含量呈平稳下降趋势。如图 2 所示, 甘氨酸的添加未改变 TVB-N 的总体变化趋势, 但促进了其在发酵中后期的生成, 与对照组相比, 添加了 2%、4% 和 6% 甘氨酸的样品在发酵成熟后 TVB-N 分别增加了 17.58%、33.34% 和 36.67%, 这种变化可能是由于外源甘氨酸经脱羧及脱氨反应产生了更多的挥发性胺类等碱性含氮物质^[18]。虽然外源甘氨酸的添加使 TVB-N 含量有所增加, 但其仍远远低于 SB/T 10525-2009 中 450 mg/100 g 的限量标准, 与吴小禾^[19]等检测成品黄骅虾酱所测得 TVB-N 最高值 401 mg/100 g 相比, 本实验产品具有一定的安全保障。

2.2 甘氨酸对虾头酱发酵过程 AA-N 含量的影响

响

氨基态氮 (AA-N) 是以氨基酸形式存在的氮元素的量, 是判定鱼露、酱油、虾酱等发酵产品发酵程度的首要特性指标^[20], 该指标越高, 说明虾酱中的氨基酸含量越高, 发酵效果越佳, 鲜味物质越丰富。图 3 为加入不同浓度甘氨酸后虾头酱中 AA-N 含量变化。

甘氨酸作为一种甜味氨基酸, 添加后使得虾酱中 AA-N 的含量大大增加。比较图 3 虾头酱中不同甘氨酸添加量的 AA-N 曲线走势可知, 在发酵初期各组虾酱 AA-N 含量增长迅速, 这种增长是由于原料虾头中的蛋白被内源酶和发酵剂产生的蛋白酶降解, 使其分解成了氨基酸以及小分子肽等生香成分^[21]。宋中辉等^[22]在优化香辣虾酱配方时也发现, 发酵初期氨基酸态氮增长较快, 是由于发酵环境有利于微生物参与发酵过程。随发酵时间的延长, 高温高盐环境下抑制了大部分微生物的活性, 引起酶分泌量和酶活力的降低, 并且虾头酱中可以被水解的肽键含量也随之减少^[23], 导致 AA-N 含量上升趋势减慢, 含量逐渐达到平稳。

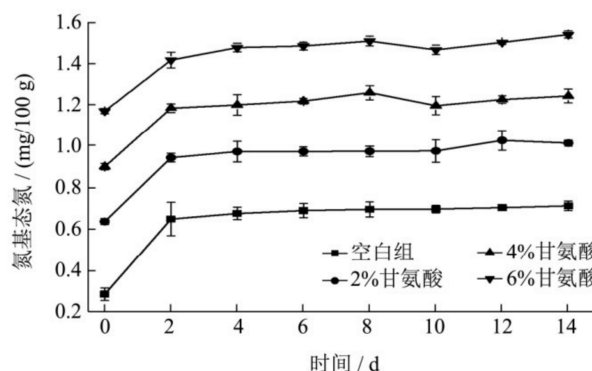


图 3 甘氨酸对虾头酱发酵过程 AA-N 含量的影响

Fig.3 Effect of glycine on AA-N content in fermented shrimp head sauce

2.3 甘氨酸对虾头酱发酵过程 pH 变化的影响

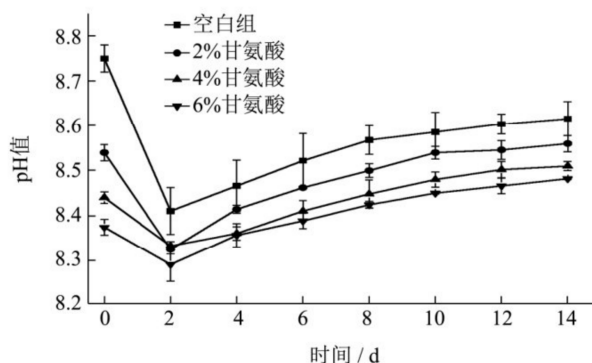


图 4 甘氨酸对虾头酱发酵过程 pH 的变化影响

Fig.4 Effect of glycine on the change of pH of fermented shrimp head sauce

pH 反映虾酱酸碱性以及新鲜度, 不仅影响发酵微生物的生长繁殖及发酵程度, 也影响其代谢活力和代

谢方向,是影响组胺产生的重要环境因素^[24], Baranowski 等^[25]发现, pH 的升高能大大降低产组胺微生物的活性及产酶能力,分离自金枪鱼体内的菌株在 pH=4 时将组氨酸转化为组胺的能力最强,而当 pH=6 时它的活力降低了 30%。向虾头酱中添加不同含量甘氨酸后,其发酵过程中 pH 值变化如图 4 所示。

陈丽平等^[26]以草鱼和鳗鱼内脏为原料进行鱼露发酵时发现,发酵前期发酵液中进行的生化反应最为剧烈,因而 pH 值变化最为明显。图 4 中 0~2 d 虾头酱 pH 在 8.20~8.80 之间急剧下降,在发酵第 2 d 降至最低点,其后又缓慢上升。发酵初期 pH 降低是由于在此阶段产酸微生物比较活跃,发酵剂通过糖酵解将原料中的碳水化合物快速分解为磷酸、乳酸等酸性代谢物质^[27]。随着发酵过程的进行,高温高盐环境导致微生物活性减弱,产酸速率下降,并且会有少量原料蛋白水解产生的氨基酸及含羰基端的多肽等物质转化成碱性的挥发性盐基氮,使得虾头酱 pH 在发酵过程中呈上升趋势。由于甘氨酸的等电点 pH 为 5.97,偏酸性,使得甘氨酸添加组虾酱 pH 值低于空白组,且随甘氨酸浓度的增加, pH 偏离空白值程度增大。由于在发酵体系中,呈味核苷酸的稳定性随 pH 值变化而变化, pH 值偏高会直接影响产品的质量和风味^[28],而甘氨酸添加组 pH 值整体低于空白组,故在一定程度上保障了产品风味品质。

2.4 添加甘氨酸对虾头酱发酵过程菌落总数的影响

菌落总数是发酵食品安全的重要监测指标,天然发酵虾酱其品质受外界环境条件影响,可能存在菌落总数超标等品质问题,而微生物菌群结构往往也对虾酱的色泽、质构、风味、安全等方面发挥关键作用^[29]。

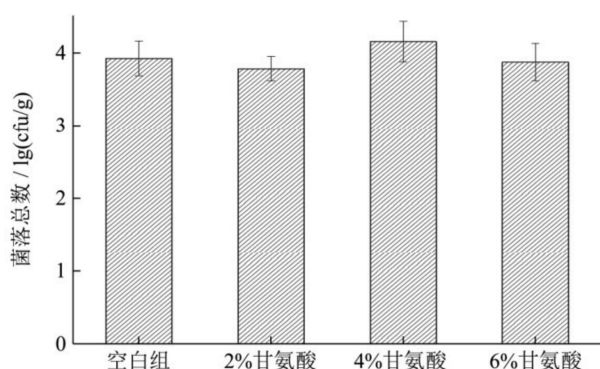


图 5 甘氨酸对虾头酱菌落总数的影响

Fig.5 Effect of glycine on the total number of colonies in shrimp head sauce

微生物是导致食品腐败变质的首要因素,且水产

品中微生物种类繁多、数量庞大,对微生物数量进行有效控制能够减缓产品的腐败变质^[30]。发酵过程中,具有氨基酸脱羧酶活性的微生物以及微生物适宜生长的环境能够极大地影响组胺的产生和积累。如图 5 所示,4 组样品菌落总数维持在 3.77~4.15 lg(cfu/g)之间,甘氨酸添加组与对照组在菌落总数方面没有显著差异 ($p>0.05$)。本批次产品发酵温度为 37 °C,盐含量高达 18%,发酵过程中抑制了大部分不利于发酵的微生物的繁殖代谢,各组虾头酱中菌落总数均低于李丽华等^[31]由新鲜脊尾白虾制作的虾酱中最低菌落总数 4.7 lg(cfu/g),确保了产品的食用安全性。

2.5 甘氨酸对发酵过程组胺含量影响

生物胺作为发酵食品中研究热点,主要包括酪胺、组胺、尸胺、腐胺四种,过量的生物胺会损害人体健康,其中组胺的毒性最大, Latorre-Moratalla 等^[32-34]许多学者将组胺作为监测发酵产品安全的重要因素。图 6 为添加不同含量甘氨酸的虾酱组胺变化趋势。

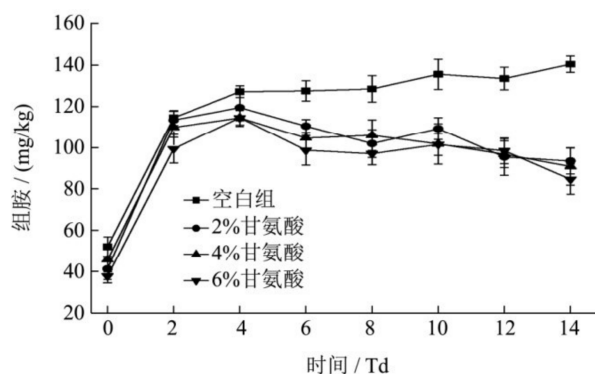


图 6 不同浓度甘氨酸对组胺的影响

Fig.6 Effect of glycine at different concentrations on histamine

4 组样品在发酵前 2 d,组胺含量陡增,这与发酵剂中具有产组胺能力的乳酸菌以及虾头原有的产组胺微生物有关,2~4 d 组胺含量增长趋势放缓,4 d 后对照组组胺含量缓慢增加至发酵结束,组胺含量增加了 1.05 倍,而甘氨酸添加组随着发酵时期的延长,组胺含量逐渐呈下降趋势,且在发酵 14 d 后,组胺降低水平与甘氨酸添加量成正比,添加 2%、4%、6%的甘氨酸分别能降低产品中 29.53%、31.16%、34.98%的组胺。Jae-Hyung Mah^[10]等采用外加甘氨酸法降低腌制凤尾鱼中生物胺含量时发现,与对照组相比,5%甘氨酸处理能使腐胺、尸胺、组胺、酪胺和亚精胺的含量降低 26.7%、47.0%、86.0%、98.8%和 94.4%,而 10%甘氨酸组的生物胺含量分别降低了 32.6%、78.4%、93.2%、100.0%和 100.0%。可见,甘氨酸是一种能够明显降低生物胺含量的食品添加剂,并且其对生物胺的抑制作用与浓度成正比增加。

外源生物胺的产生主要通过游离氨基酸的脱羧作用和酮醛类物质的转胺作用两条途径(图7),而在发酵水产品中,生物胺则主要是通过微生物脱羧酶催化氨基酸的脱羧作用产生的。因而在虾酱发酵过程中,游离氨基酸、具有氨基酸脱羧酶活性的微生物以及微生物适宜生长的环境是影响组胺产生和积累的重要因素。

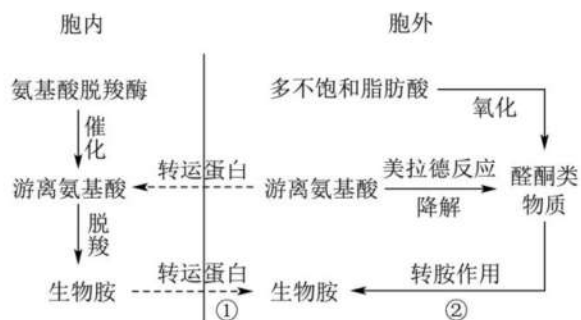


图7 生物胺产生途径

Fig.7 Pathway of biogenic amine production

谢超等^[35]认为水产品中游离氨基酸的种类和数量都会影响组胺脱羧酶的活力,进而影响组胺产生。Sato^[36]等人认为食品中组胺含量的高低不仅依赖于组胺形成菌,还与组胺分解菌有关。而 Jae-Hyung Mah^[37]等研究发现,外源甘氨酸能够在细胞壁合成过程中通过甘氨酸和丙氨酸之间的竞争提供抗菌作用。由此推测,向虾头酱中定量添加甘氨酸,能通过抑制微生物中组氨酸脱羧酶的活性从而抑制组胺生成,并且外源甘氨酸可能与原料中其他游离氨基酸发生竞争从而抑制产组胺菌的生长,进而降低产品中组胺含量。

2.6 甘氨酸发酵虾酱感官分析

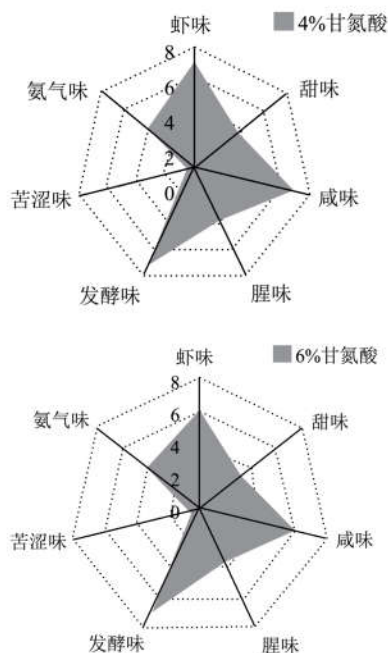
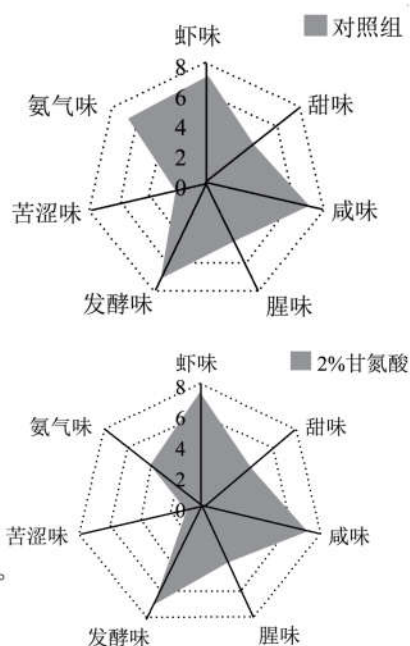
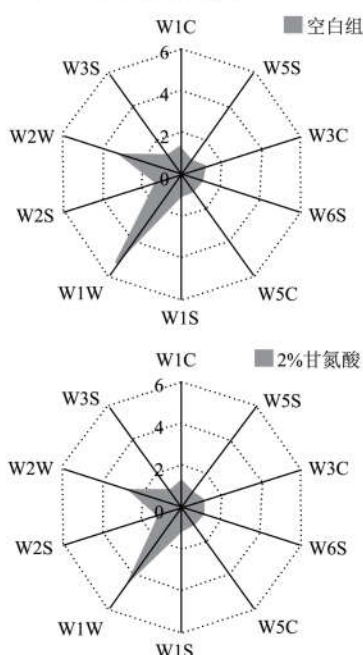


图8 添加甘氨酸对风味影响 QAD 图

Fig.8 Effect of glycine on flavor of shrimp head sauce

通过图8四种添加不同浓度甘氨酸的QDA对比图可知,对比傅润泽等^[38]研究的水产品新鲜度综合评价方法发现,对于快速发酵法制得的虾头酱,在甘氨酸添加量<6%时,能够大大减少氨味的产生,但对于其它感官指标,包括色泽、气味、滋味及体态方面并无显著($p>0.05$)影响。甘氨酸添加量为6%时,感官评价总分为16.28,与对照组相比降低了20.27%,发酵虾头酱产品色泽变淡,质地由细腻变得较为粗糙,样品出现分层现象,且过量添加的甘氨酸,也会使得整体产品的甜味和虾味有所下降。



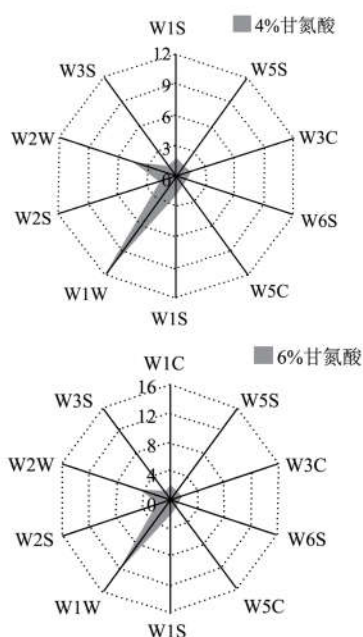


图9 接种不同含量甘氨酸发酵虾酱电子鼻检测结果

Fig.9 Test results of electronic nose inoculated with different content of glycine fermented shrimp paste

对接种不同含量甘氨酸发酵虾酱最终成品进行电子鼻检测,发现甘氨酸的添加能够明显影响虾酱产品风味变化。虽然各组虾酱的响应值雷达图轮廓相似,但W1W、W2W传感器的响应值差异较明显,说明接种甘氨酸能影响虾酱中含硫类化合物和芳香族化合物的产生。由图9可知,含硫类化合物与芳香族化合物作为虾酱特征风味成分^[39],在甘氨酸添加量为4%和6%时明显增加,而2%甘氨酸添加量发酵虾酱产品与对照组相比无明显风味差异。

综合感官评价结果,甘氨酸添加量为4%时对产品风味品质影响最佳,能够在保持产品良好色泽与质地的同时提升含硫类化合物与芳香族化合物等能够赋予虾酱良好风味物质的含量。

3 结论

本文以外加微生物法快速发酵虾酱工艺为基础,讨论了甘氨酸添加量为2%、4%、6%时对组胺生成的抑制作用以及对产品风味品质的影响。结果表明,向发酵虾头酱中添加甘氨酸,能抑制组胺脱羧酶活性,从而明显抑制组胺生成,在提高产品安全性的同时优化产品风味。外源甘氨酸的添加虽使TVB-N含量上升,但整体上未降低虾酱产品品质,并且一定程度保证了产品质量及安全性。其中甘氨酸添加量为4%时效果最优,既能有效抑制组胺的生成又能维持增强产品特征风味。可见,外加甘氨酸法作为一种化学控制手段,在缩短虾酱产品发酵周期的同时能够保证产品

风味,并且显著降低组胺含量,为产业化发展的安全可行性提供了保障。

参考文献

- [1] WANG Dong-hao, YANG Yu-peng, WANG Zhen, et al. High levels of branched chain fatty acids in natto and other Asian fermented foods [J]. Food Chemistry, 2019, 286
- [2] Choon Yoong Cheok, Babak Sobhi, Noranizan Mohd Adzahan, et al. Physicochemical properties and volatile profile of chili shrimp paste as affected by irradiation and heat [J]. Food Chemistry, 2017, 216
- [3] 解万翠,尹超,宋琳,等.添加复合菌株快速发酵虾头制酱工艺优化[J].农业工程学报,2018,9:306-312
XIE Wan-cui, YIN Chao, SONG Lin, et al. Optimization of the process of adding compound strains for rapid fermentation of shrimp head sauce [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2018, 9: 306-312
- [4] Iñaki Diez-Ozaeta, Félix Amárita, María Lavilla, et al. Ecology of indigenous lactic acid bacteria from Rioja Alavesa red wines, focusing on biogenic amine production ability [J]. LWT, 2019, 116
- [5] 姚慧,邵娟娟,刘爽,等.虾酱生物脱腥工艺的研究[J].食品科技,2017,12:158-162
YAO Hui, SHAO Juan-juan, LIU Shuang, et al. Research on biological deodorization process of shrimp paste [J]. Food Science and Technology, 2017, 12: 158-162
- [6] 陈媛媛,马凯华,李璐,等.外源抑制物对风干肠风干过程中理化性质及安全品质的影响[J].肉类研究,2020,34(6):14-20
CHEN Yuan-yuan, MA Kai-hua, LI Lu, et al. The effect of exogenous inhibitors on the physical and chemical properties and safety quality of air-dried intestines during air-drying [J]. Meat Research, 2020, 34(6): 14-20
- [7] Igor Dias, Marta Laranjo, Maria Eduarda Potes, et al. Autochthonous starter cultures are able to reduce biogenic amines in a traditional portuguese smoked fermented sausage [J]. Microorganisms, 2020, 8(5)
- [8] 黄紫燕,晁岱秀,朱志伟,等.鱼露快速发酵工艺的研究[J].现代食品科技,2010,26(11):1207-1211
HUANG Zi-yan, CHAO Dai-xiu, ZHU Zhi-wei, et al. Study on the rapid fermentation technology of fish sauce [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(11): 1207-1211
- [9] Sang Xue, Li Kexin, Zhu Yaolei, et al. The impact of microbial diversity on biogenic amines formation in

- grasshopper sub shrimp paste during the fermentation [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11
- [10] Jaehyung M, Hanjoon H. Effects of food additives on biogenic amine formation in myeolchi-jeot, a salted and fermented anchovy (*Engraulis japonicus*) [J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(1): 168-173
- [11] Bodin Techaratanakrai, Emiko Okazaki, Kazufumi Osako. Effect of organic salts on setting gels and their corresponding acids on kamaboko gels prepared from squid *Todarodes pacificus* mantle muscle [J]. *Food Science and Technology*, 2012, 10(78): 707-715
- [12] 赵宇明.分光光度法快速测定水产品中组胺的含量[J].食品研究与开发,2014,8:94-96
ZHAO Yu-ming. Rapid spectrophotometric determination of histamine in aquatic products [J]. *Food Research and Development*, 2014, 8: 94-96
- [13] LIU Yang, DING Xiao, ZHENG Li-xue, et al. Herbal drink formulation optimization of *Trollius chinensis* Bunge by sensory fuzzy comprehensive evaluation [J]. *Acta scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 2020, 19(2)
- [14] Papageorgiou M, Lambropoulou D, Morrison C, et al. Literature update of analytical methods for biogenic amines determination in food and beverages [J]. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 98
- [15] Cheok C Y, Sobhi B, Adzahan N M, et al. Physicochemical properties and volatile profile of chili shrimp paste as affected by irradiation and heat [J]. *Food Chemistry*, 2017, 216: 10-18
- [16] 陈莎莎,陈中祥,杨桂玲,等.水产调味品中挥发性盐基氮的测定[J].中国调味品,2011,36(9):91-93
CHEN Sha-sha, CHEN Zhong-xiang, YANG Gui-ling, et al. Determination of volatile basic nitrogen in aquatic seasonings [J]. *Chinese Seasonings*, 2011, 36(9): 91-93
- [17] Wauters J, Verplanken K, Verduyck V, et al. Sensory evaluation of boar meat products by trained experts [J]. *Food Chemistry*, 2017, 237: 516
- [18] 莫星忱,杨锡洪,解万翠,等.葡萄糖对快速发酵虾头酱中组胺抑制的作用[J].现代食品科技 2017,33(5):181,213-218
MO Xing-you, YANG Xi-hong, XIE Wan-cui, et al. The inhibitory effect of glucose on histamine in fast-fermented shrimp paste [J]. *Modern Food Science and Technology* 2017, 33(5): 181, 213-218
- [19] 吴小禾,耿晓杰,张建旭,等.黄骅虾酱的微生物学和理化性质研究[J].食品研究与开发,2019,40(12):75-81
WU Xiao-he, GENG Xiao-jie, ZHANG Jian-xu, et al. Research on microbiology and physicochemical properties of Huanghua shrimp paste [J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(12): 75-81
- [20] Apiniharn Phewpan, Preecha Phuwaprisirisan, Hajime Takahashi, et al. Microbial diversity during processing of Thai traditional fermented shrimp paste, determined by next generation sequencing [J]. *LWT*, 2020, 122
- [21] Mohanty B P, Mahanty A, Ganguly S, et al. Nutritional composition of food fishes and their importance in providing food and nutritional security [J]. *Food Chemistry*, 2017
- [22] 宋中辉,刘鑫峰.香辣虾酱配方优化及其发酵品质变化研究[J].中国调味品,2019,44(6):81-83,91
SONG Zhong-hui, LIU Xin-feng. Optimization of spicy shrimp paste formula and its fermentation quality changes [J]. *China Seasoning*, 2019, 44(6): 81-83, 91
- [23] 曾茂茂,李伶俐,何志勇,等.甘氨酸对美拉德反应体系及产生肉香风味物质的影响[J].食品科学,2012,33(7):32-36
ZENG Mao-mao, LI Ling-li, HE Zhi-yong, et al. The effect of glycine on the Maillard reaction system and the production of meaty flavors [J]. *Food Science*, 2012, 33(7): 32-36
- [24] Wanaporn Tapingkae, Somboon Tanasupawat, Kirk L Parkin, et al. Degradation of histamine by extremely halophilic archaea isolated from high-salt-fermented fishery products [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2010, 46(2): 92-99
- [25] Baranowski J D, Brust P A, Frank H A, et al. Growth of *Klebsiella pneumoniae* uh-2 and properties of its histidine decarboxylase system in resting cells [J]. *Food Biochem*, 1985, 4: 349-360
- [26] 陈丽丽,袁美兰,张树峰,等.草鱼和鳗鱼内脏发酵鱼露的理化成分比较[J].中国调味品,2020,45(2):16-18,22
CHEN Li-li, YUAN Mei-lan, ZHANG Shu-feng, et al. Comparison of physicochemical components of fermented fish sauce from grass carp and eel giblets [J]. *Chinese Condiments*, 2020, 45(2): 16-18, 22
- [27] 王香君,段杉,江毅,等.添加葡萄糖和控制pH值对鱼露中微生物、蛋白酶活力及其品质的影响[J].中国调味品,2016,2: 54-59
WANG Xiang-jun, DUAN Shan, JINAG Yi, et al. Effects of adding glucose and controlling pH on the activity and quality of microorganisms and proteases in fish sauce [J]. *China Seasoning*, 2016, 2: 54-59
- [28] Pongsetkul Jaksuma, Benjakul Soottawat, Vongkamjan Kitiya, et al. Microbiological and chemical changes of shrimp *Acetes vulgaris* during Kapi production [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54(11): 3473-3482
- [29] LV Xin-ran, LI Ying, CUI Tian-qi, et al. Bacterial community

- succession and volatile compound changes during fermentation of shrimp paste from Chinese Jinzhou region [J]. LWT, 2020, 122: 108998
- [30] Patrícia Branco, António Candeias, Ana Teresa Caldeira, et al. An important step forward for the future development of an easy and fast procedure for identifying the most dangerous wine spoilage yeast, *Dekkera bruxellensis*, in wine environment [J]. Microbial Biotechnology, 2019, 12(6): 1237-1248
- [31] 李丽华,赵玲,曹荣,等.原料虾新鲜度对虾酱品质的影响[J],保鲜与加工,2014,5:31-35
LI Li-hua, ZHAO Ling, CAO Rong, et al. The effect of raw shrimp freshness on the quality of shrimp paste [J]. Fresh-keeping and Processing, 2014, 5: 31-35
- [32] Latorre-Moratalla M L, Bover-Cid S, Talon R, et al. Strategies to reduce biogenic amine accumulation in traditional sausage manufacturing [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(1): 20-25
- [33] Ramos P, Liberal S, Latorre M. La imagen corporal en relación con los TCA en adolescentes vascos de 12 a 18 años [J]. Revista De Psicodidáctica, 2003, 16: 65-74
- [34] Hugas M, Garriga M, Aymerich M T. Functionality of enterococci in meat products [J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 88(2-3): 223
- [35] 谢超,王阳光,邓尚贵.水产品中组胺产生机制及影响因素研究概述[J].肉类研究,2009,4:74-78
XIE chao, WANG Yang-guang, DENG Shang-gui. Overview of research on histamine production mechanism and influencing factors in aquatic products [J]. Meat Research, 2009, 4: 74-78
- [36] Sato T. Changes in numbers of histamine-metabolic bacteria and histamine content during storage of common mackerel [J]. Fisheries Science, 2011, 60(3): 299-302
- [37] Jaehyung M, Hanjoon H. Effects of food additives on biogenic amine formation in Myeolchi-jeot, a salted and fermented anchovy (*Engraulis japonicus*) [J]. Food Chemistry, 2009, 114(1): 168-173
- [38] 傅润泽,王锡昌,沈建,等.定量描述分析与 GC-MS 关联鉴别不同保活流通时间的虾夷扇贝[J].中国食品学报,2016,6: 203-211
FU Run-ze, WANG Xi-chang, SHEN Jian, et al. Quantitative descriptive analysis and GC-MS correlation to identify scallops with different keeping live time [J]. Chinese Journal of Food Science, 2016, 6: 203-211
- [39] 尹超.虾酱发酵过程中菌相变化规律及对风味形成的影响[D].青岛:青岛科技大学,2019
YIN Chao. The law of bacterial phase change during the fermentation of shrimp paste and its influence on flavor formation [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2019
-
- (上接第 22 页)
- [25] 来丽娜,刘芳,韦茵,等.山茱萸不同有效部位抗肝损伤作用的比较及急性毒性试验研究[J].长治医学院学报,2014,28(5): 328-332
LAI Li-na, LIU Fang, WEI Hui, et al. Experimental study of active fractions from fructus corni on acute toxicity and acute hepatic injury in mice [J]. Journal of Changzhi Medical College, 2014, 28(5): 328-332
- [26] WANG Min-jiang, ZHAO Rong-hua, WANG Wan-gen, et al. Lipid regulation effects of *Polygoni multiflori* Radix, its processed products and its major substances on steatosis human liver cell line L02 [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 139(1): 287-293
- [27] 路然,洪天配.脂质代谢紊乱导致非酒精性脂肪性肝病的发病机制[J].临床肝胆病杂志,2015,31(7):1050-1054
LU Ran, HONG Tian-pei. Roles of abnormal lipid metabolism in pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease [J]. Journal of Clinical Hepatology, 2015, 31(7): 1050-1054
- [28] 刘洪,许惠琴,时艳.山茱萸环烯醚萜总苷对2型糖尿病心脏病变大鼠胰岛素抵抗及血脂含量的影响[J].中药药理与临床,2007,23(3):36-39
LIU Hong, XU Hui-qin, SHI Yan. Protecting effect of total iridoid glycoside in fructus corni *officinalis* on IR and blood lipid level of rats with type 2 diabetic cardiopathy [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2007, 23(3): 36-39
- [29] Peter Celec, Július Hodossy, Viera Celecová, et al. Salivary thiobarbituric acid reacting substances and malondialdehyde - their relationship to reported smoking and to parodontal status described by the papillary bleeding index [J]. Disease Markers, 2005, 21(3): 133-137
- [30] Hopps Eugenia, Noto Davide, Caimi Gregorio, et al. A novel component of the metabolic syndrome: the oxidative stress [J]. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, 2009, 20(1): 72-77