

超高压处理对凡纳滨对虾虾仁蛋白质和微观结构的影响

刘书成*, 邓倩琳, 黄万有, 吉宏武,
高 静, 毛伟杰, 郝记明

(广东海洋大学食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室,
广东省海洋食品工程技术研发中心, 水产品深加工广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524088)

摘要: 为丰富超高压技术在虾类保鲜与加工中的应用基础理论并实现工业化生产, 实验以未处理的凡纳滨对虾虾仁为对照, 用超高压(100、300、500 MPa)分别处理虾仁5、10、20、30 min, 分析蛋白质含量、组成和热稳定性的变化, 观察虾仁肌肉组织的微观结构。结果显示, 100 MPa处理使虾仁的肌浆蛋白含量增加, 300和500 MPa处理使肌浆蛋白含量显著下降。超高压处理使肌原纤维蛋白含量显著下降, 使虾仁蛋白质发生了变性、肌球蛋白和肌动蛋白的热稳定性降低; 随着压强的升高和处理时间的延长, 虾仁肌原纤维排列变得紧实致密, 肌节严重收缩, 肌纤维之间空隙变模糊而呈现出絮状结构。研究表明, 超高压处理能使对虾蛋白质变性而产生凝胶化, 从而有利于人体的消化和吸收, 说明超高压可以用于加工即食虾类产品。

关键词: 凡纳滨对虾; 超高压; 蛋白质; 热稳定性; 微观结构

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)又称南美白对虾, 肉嫩味美, 具有较高的营养价值, 深受国内外消费者的喜爱。目前, 凡纳滨对虾的食用加工方法主要是利用热处理, 即蒸煮或者油炸。热处理的目的, 一方面是杀菌和钝酶而保证食用安全; 另一方面使蛋白质变性而容易被人体消化和吸收。但是热处理容易造成对虾肌肉组织的严重破坏, 使营养和风味等成分损失严重。

超高压(high hydrostatics pressure, HHP)是一种非常有前景的非热食品加工技术, 它既能实现对食品的有效杀菌^[1]、钝酶^[2], 保证食品安全, 又能最大限度地保留营养和色、香、味, 同时还能改善食品质构和功能特性。HHP备受国内外研究者和商家重视的重要原因之一, 就是它能较好地维持食品安全与质量之间的平衡。目前, HHP已在果蔬加工^[3]、乳制品加工^[4]、肉制品加工^[5]和水产品加工^[6]等方面有着广泛的研究和应用。

近年来, HHP在虾类的保鲜与加工领域的研究报道也越来越多, 例如HHP可以实现对凡纳滨对虾的杀菌^[1]和钝酶^[2], 而对其品质的影响相对较小^[7]; 还可以用于虾的脱壳^[8]、消除过敏源^[9]、提取副产物中的虾青素^[10]等, 这为虾类的加工与利用提供了新的途径^[11]。即食食品是近年来虾类产品开发的热点之一。本研究以凡纳滨对虾虾仁为对象, 研究HHP处理过程中虾仁蛋白质和肌肉组织微观结构的变化规律, 为利用HHP加工开发即食虾类产品提供参考, 同时为HHP在虾类保鲜和加工中的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

凡纳滨对虾, 体质量为50~60尾/kg, 购于湛江霞山东风水产批发市场, 保活运至实验室, 用自来水洗净, 加冰猝死, 去头去壳后6尾一

收稿日期: 2017-01-05 修回日期: 2017-04-04

资助项目: 广东省科技计划项目(2015A020209158); 国家自然科学基金(31371801); 现代农业产业技术体系专项(CARS-47)

通信作者: 刘书成, E-mail: Lsc771017@163.com

组,真空包装后用于HHP处理。福林酚—蛋白定量试剂盒(北京鼎国昌万盛生物技术有限责任公司);牛血清蛋白标准(碧云天生物技术研究);其他化学试剂均为分析纯。

1.2 实验仪器与设备

HHPL2-600/0.6型HHP设备,天津华泰森森有限公司;组织匀浆机,荷兰飞利浦公司;DHG-9240A型电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;DZ400/2D真空包装机,瑞利包装机械有限公司;AUY220型分析天平,日本岛津仪器有限公司;DYCZ-24DN双垂直迷你电泳仪,北京六一仪器厂;Gel doc XR+凝胶成像系统,美国伯乐BIO-RAD公司;204F1差示扫描量热仪(Differential Scanning Calorimeter, DSC),德国NETZSCH公司;LEICAEMUC7超薄切片机,德国徕卡公司;JSZ6型体视显微镜,南京江南永新光学有限公司;JEM-1400型透射电镜,日本电子株式会社JEOL。

1.3 HHP处理

将真空包装好的虾仁置于HHP处理釜(25℃)中,依据前期HHP对虾仁杀菌和钝酶的条件^[2,7],设定在100、300、500 MPa下分别处理5、10、20、30 min,然后测定虾仁的蛋白质组成、含量、热稳定性、微观结构等。以未真空包装的未处理虾仁作为对照组。

1.4 蛋白质组成和含量测定

肌浆蛋白及肌原纤维蛋白提取参考Niamnuy等^[12]的方法。取虾肉20 g,加入10倍体积预冷的缓冲液A(15.6 mmol/L Na₂HPO₄, 3.5 mmol/L KH₂PO₄, pH 7.5)均质,4℃下10 000 r/min离心30 min,再在沉淀中加入10倍体积缓冲液A,重复上述操作2次,将3次离心后的上清液合并,即为肌浆蛋白提取液;再往所得沉淀中加入10倍体积预冷缓冲液B(0.45 mol/L KCl, 15.6 mmol/L Na₂HPO₄, 3.5 mmol/L KH₂PO₄, pH 7.5)均质,4℃下10 000 r/min离心30 min,沉淀中再加入缓冲液B,重复2次,将3次离心后的上清液合并,作为肌原纤维蛋白提取液。蛋白质含量用福林酚法测定:取1 mL样品溶液,加入5 mL试剂甲(A1: 20 g无水碳酸钠、4 g氢氧化钠溶解于1 L水中;A2: 0.2 g硫酸铜溶于20 mL水中;A3: 0.4 g酒石酸钾钠溶于20 mL水中;测定时将A1:A2:A3

按100:1:1的体积比混合即为试剂甲),混匀,于25℃放置10 min。再加入0.5 mL试剂乙(福林酚试剂),立即摇匀,于25℃反应30 min,测定吸光值,以牛血清蛋白为标准品,制作标准曲线 $[y=0.0014x+0.0076, R^2=0.9980; x$ 为蛋白质浓度(mg/L), y 为吸光度],利用标准曲线计算出蛋白质含量。

1.5 SDS-PAGE凝胶电泳

用10%分离胶和5%浓缩胶,蛋白样品在浓缩胶时电压为70 V,电泳30 min,待溴酚蓝完全进入分离胶之后将电压调至110 V,直到溴酚蓝跑至分离胶底部,完成电泳。电泳后的凝胶用考马斯亮蓝染色1 h,经脱色后用凝胶成像系统对电泳图谱成像并分析。

1.6 差示扫描量热分析

称取虾肉样品13 mg左右,置于铝质样品盘中,然后用配套铝盖密封,记录虾肉样品的精确质量,以空白铝质样品盘作为对照,以5℃/min的加热速率从10℃升至120℃,记录并计算吸热曲线上蛋白变性的起始温度、峰值温度和终止温度。N₂(99.99%)流速为20 mL/min。

1.7 微观结构

光学显微观察 将凡纳滨对虾腹部第2节切下,用10%的甲醛固定,用梯度乙醇脱水和甲苯进行透明,浸泡于56~60℃石蜡中包埋。用切片机将包埋好的蜡块切出厚度为5 μm的切片,将切片置于温水表面,使皱褶自然舒展,然后将切片贴在洁净载玻片上,用苏木精—伊红染色,烘干,置于光学显微镜下观察肌纤维和肌原纤维的组织结构并拍照。

透射电镜扫描 将凡纳滨对虾腹部第2节切成较小的薄片,用2.5%(V/V)戊二醛固定,用0.1 mol/L磷酸缓冲液漂洗数次,再用1%(W/W)四氧化锇固定1 h;梯度乙醇脱水和环氧树脂包埋,并用超薄切片机切出50 nm的超薄切片,用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色,然后用透射电镜扫描观察肌纤维和肌原纤维的组织结构并成像。

1.8 数据处理

每个实验重复3次,数据用“平均值±标准差”表示;方差分析和Tukey HSD多重比较采用JMP10.0软件处理。

2 结果

2.1 虾仁蛋白质组成和含量的变化

用100 MPa压强处理时,虾仁的肌浆蛋白含量显著增加($P<0.05$);用300和500 MPa压强处理时,虾仁的肌浆蛋白含量显著降低($P<0.05$),且压强越高下降越明显($P<0.05$)(图1)。在97.2 ku附近,100 MPa处理虾仁的肌浆蛋白条带与对照组(未处理)相似;而在44.3~66.4 ku,100 MPa的处理组出现了新的蛋白条带,并随着处理时间的延长,条带色泽变深。在相同处理时间,随着压强增加,肌浆蛋白在97.2 ku附近的蛋白条带逐渐由粗变细,色泽由深变浅;44.3 ku附近的蛋白条带在100和300 MPa下无明显变化,而在500 MPa时明显变细(图2)。HHP处理组虾仁的肌浆蛋白在20.1和66.4 ku附近的条带却未发生明显变化,说明这些蛋白质并未发生变性,可能由于不同分子量的蛋白质对压强的耐受性不同。

相同压强下,随着处理时间延长,虾仁肌原纤维蛋白含量显著降低($P<0.05$);当处理时间相同时,随着处理压强增加,肌原纤维蛋白含量也显著降低($P<0.05$)(图3)。与对照组相比,100 MPa处理5、10、20、30 min的肌球蛋白重链(200 ku)条带无明显变化;300 MPa处理5 min的肌

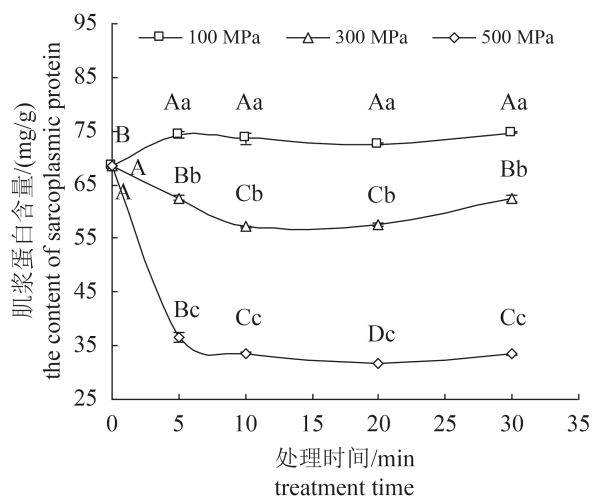


图1 虾仁肌浆蛋白含量的变化

相同处理压强下不同大写字母表示有显著性差异($P<0.05$),相同处理时间下不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$),下同

Fig. 1 Changes of the content of sarcoplasmic protein in *L. vannamei*

Different capital letters indicate significant difference under the same pressure ($P<0.05$), different lower case letters indicate significant difference under the same time ($P<0.05$), the same below

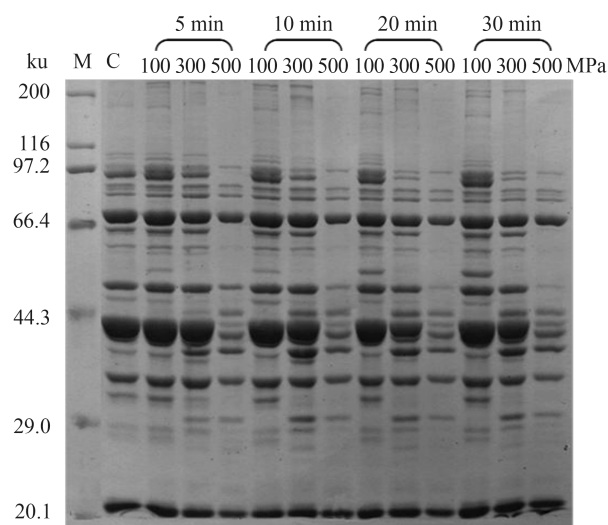


图2 虾仁肌浆蛋白SDS-PAGE电泳图谱的变化

M.蛋白标准品, C.对照组, 下同

Fig. 2 Changes of SDS-PAGE electrophoresis patterns of sarcoplasmic protein in *L. vannamei*

M. protein marker, C. control, the same below

球蛋白重链条带亦无明显变化,而300 MPa处理10、20、30 min的肌球蛋白重链条带变细;500 MPa处理5、10、20、30 min的肌球蛋白重链条带变细、色泽变浅(图4)。因此,随着压强的增加和处理时间的延长,肌球蛋白重链条带由粗变细,色泽由深变浅。肌动蛋白(45 ku)在电泳图谱上也有类似的变化。

2.2 虾仁蛋白质热稳定性变化

差示扫描量热仪测定时记录的热谱图为DSC

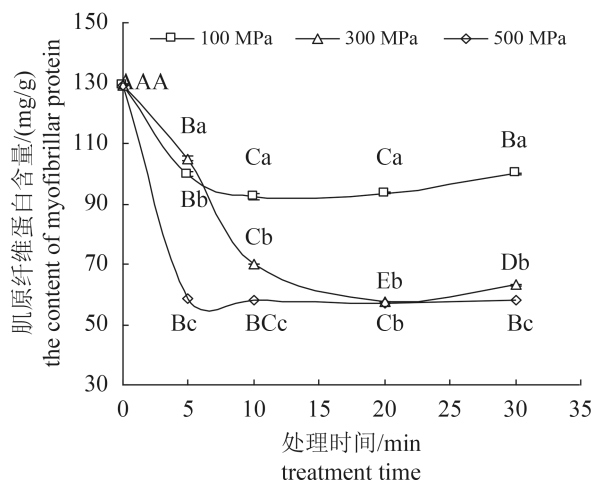


图3 虾仁肌原纤维蛋白含量的变化

Fig. 3 Changes of the content of myofibrillar protein in *L. vannamei*

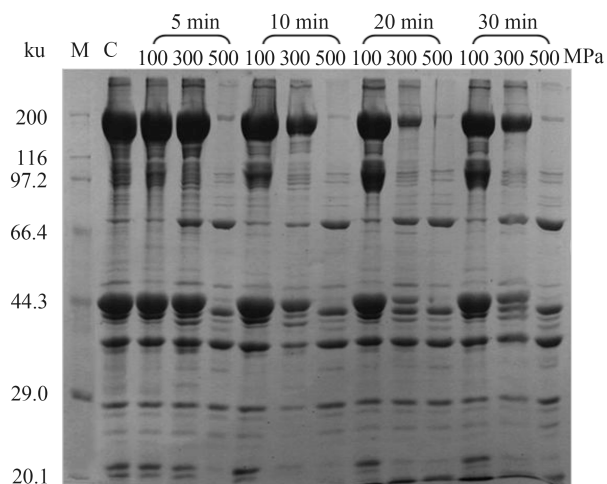


图4 虾仁肌原纤维蛋白SDS-PAGE电泳图谱的变化

Fig. 4 Changes of SDS-PAGE electrophoresis patterns of myofibrillar protein in *L. vannamei*

曲线, 纵坐标为试样与参比物的功率差, 称为热流率(mW/mg), 横坐标为温度(°C)。在DSC曲线中, 凸起的峰表示吸热(热焓增加), 凹陷的峰表示放热(热焓减少)。对照组的DSC图谱有4个吸

热峰: 峰I为肌球蛋白变性峰(47.70 °C), 峰II为肌浆蛋白和结缔组织蛋白复合峰(52.1 °C), 峰III为肌动蛋白变性峰(65.70 °C), 峰IV为胶原蛋白变性峰(76.90 °C)。随处理压强的增加, 虾仁蛋白质的DSC图谱上的峰发生了明显的变化。峰I逐渐消失, 但由于肌球蛋白没有完全变性而出现了新的热稳定性较低的肌球蛋白峰; 峰II逐渐趋于平缓; 峰III也逐渐趋于平缓; 而峰IV几乎不受影响。

随着处理时间的延长, 虾仁的DSC图谱形状变化不明显, 说明处理时间对虾仁蛋白质的热稳定性影响较小。随着处理压强的增加, DSC图谱曲线下移; 在500 MPa时, 随着时间的延长, DSC图谱曲线也发生下移。DSC曲线下移主要与蛋白质变性有关, 因为高压使蛋白质发生了变性, 降低了其热稳定性, 吸收热量减少, 从而导致DSC曲线下移(图5)。

2.3 虾仁肌肉组织显微结构变化

从横切面可以看出, 新鲜虾仁的肌纤维较

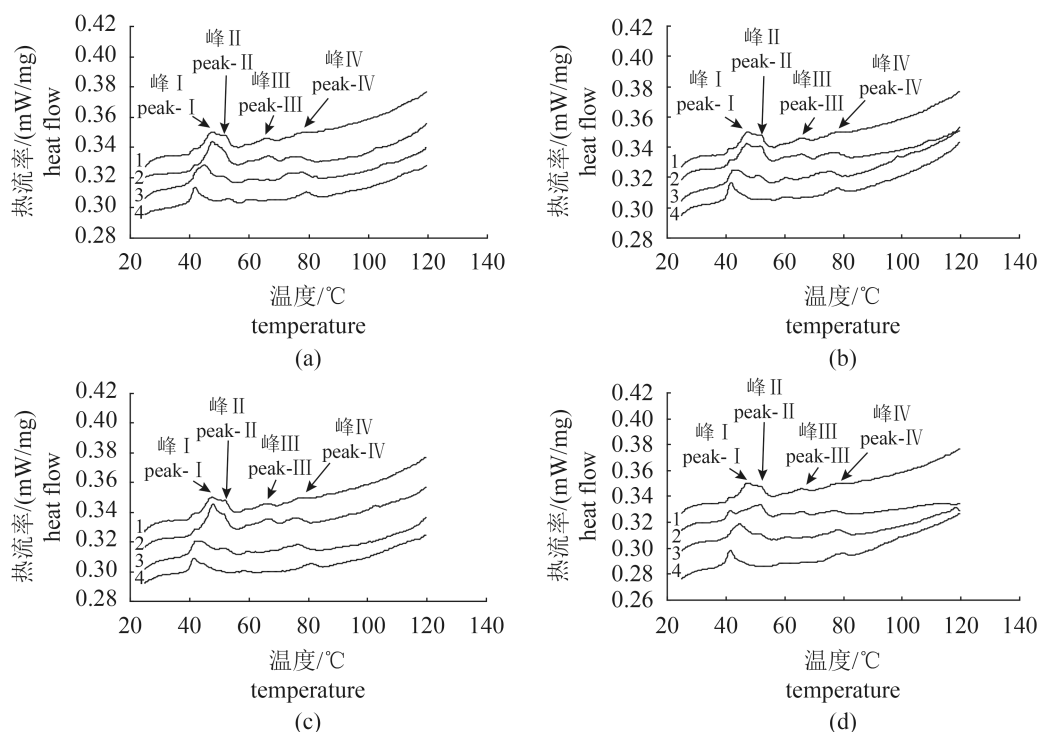


图5 虾仁蛋白质热稳定性的变化

(a) 5 min处理组, (b) 10 min处理组, (c) 20 min处理组, (d) 30 min处理组; 1. 对照组, 2. 100 MPa处理, 3. 300 MPa处理, 4. 500 MPa处理

Fig. 5 Changes of protein thermal stability of *L. vannamei*

(a) 5 min treatment, (b) 10 min treatment, (c) 20 min treatment, (d) 30 min treatment; 1. control, 2. 100 MPa treatment, 3. 300 MPa treatment, 4. 500 MPa treatment

疏松,肌束内肌纤维之间有一定的空隙,且能明显分辨出肌纤维所存在的轮廓,肌束之间亦有一定的空隙(图版 I)。与对照组的肌肉组织相比,当处理时间为5 min时,100 MPa处理的虾仁肌纤维有被挤压的趋势,但排列有序;300和500 MPa处理时肌纤维被强烈挤压,部分肌束之间相互聚集,空隙越来越小,肌束膜被压强破坏,肌纤维的轮廓块变大;当处理时间为20 min时,100、300和500 MPa处理的肌纤维被严重挤压,部分肌束之间紧密聚集,肌纤维之间的空隙更小,已分辨不出肌纤维原有的轮廓。当压强为100和300 MPa时,随着处理时间延长,虾仁横向肌肉组织的显微结构变化明显;而当压强为500 MPa时,随着处理时间延长,虾仁横向肌肉组织的显微结构变化较小(图版 I)。

从纵切面可以看出,新鲜虾仁对照组肌肉肌束内肌纤维较疏松,肌纤维之间保持着一定的空隙(图版 I)。与对照组的肌肉组织相比,当处理时间为5 min时,100 MPa处理的肌纤维有被挤压的趋势,但受压强的影响较小,300和500 MPa处理的肌纤维明显聚集,之间的空隙因受到压强作用而明显变小,500 MPa处理的更为明显;当处理时间为20 min时,100 MPa处理的肌纤维明显被挤压断裂,300和500 MPa处理的肌纤维之间受到挤压作用而变得更加紧实致密,肌纤维之间的空隙变小,甚至分辨不出空隙。处理压强为100和300 MPa时,随着处理时间的延长,虾仁纵向肌肉组织的显微结构变化明显,而当处理压强为500 MPa时,随着处理时间延长,虾仁纵向肌肉组织的显微结构变化不明显。

2.4 虾仁肌肉组织超微结构变化

从横切面可以看出,对照组肌原纤维的肌丝呈有序排列,肌纤维之间有较大空隙(图版 II)。与对照组的肌肉组织相比,当处理时间为5 min时,100 MPa处理的虾仁肌纤维和肌原纤维的排列稍有变化,但不明显;300 MPa处理可能破坏了肌原纤维的细丝,使粗丝互相聚集,粗、细丝排列出现错位和不规则,肌纤维之间的空隙变大;500 MPa处理使肌原纤维中粗、细丝完全被破坏,肌纤维表面呈絮状结构,肌纤维之间的空隙变模糊。与鲜虾仁的肌肉组织相比,当处理时间为20 min时,100 MPa处理的虾仁肌纤维排列紧密,但仍保持着基本的肌肉组织结构;300和500 MPa处理使虾仁肌原纤维基本被破坏,

肌纤维被挤压,肌纤维之间的空隙变模糊,500 MPa时已分辨不出,肌纤维表面呈絮状结构。在相同压强下,处理时间越长,肌肉组织结构被破坏的越严重。

从纵切面可以看出,对照组纵向肌肉的肌原纤维呈平行有序排列,肌原纤维的明带(肌动蛋白细丝)和暗带(肌球蛋白粗丝)清晰可见(图版 II)。与鲜虾仁的肌肉组织结构相比,当处理时间为5 min时,100 MPa处理使虾仁肌纤维之间的空隙变大,肌原纤维组织结构变得紧实致密,明暗条纹变淡,肌节发生收缩;300 MPa处理使肌纤维之间的空隙变大,肌原纤维发生断裂或崩溃,基本还能保持有序排列,但肌节收缩严重;500 MPa处理使肌纤维之间空隙和明暗条纹均消失,肌纤维表面呈絮状结构,说明肌原纤维在压强作用下发生了严重挤压而变性,压强越大,变性程度越高。与鲜虾仁的肌肉组织结构相比,当处理时间为20 min时,100 MPa处理即可使肌原纤维的明暗带消失,肌纤维结构变得紧实致密;300和500 MPa处理使肌纤维之间的空隙变模糊,肌原纤维丧失原有的结构特征,肌纤维表面呈现絮状结构。

3 讨论

3.1 HHP对虾仁蛋白质的影响

用100 MPa处理虾仁5 min,肌浆蛋白含量增加了8.4%,其原因可能是肌浆蛋白中含有蛋白酶类,HHP处理时可能激活蛋白酶类,降解部分盐溶性或者不溶性蛋白质,从而使水溶性蛋白(肌浆蛋白)含量稍有增加。Angsupanich等^[13]在室温下用200 MPa处理大西洋鳕(*Gadus morhua*)肉20 min,发现肉中的蛋白水解酶活性有所增加;Hernández-Andrés等^[14]用300 MPa/7 °C条件处理鲑鱼(*Todaropsis eblanae*)20 min,发现蛋白酶(半胱氨酸蛋白酶和酸性丝氨酸蛋白酶)的活性有所增加。用300和500 MPa处理虾仁10 min,肌浆蛋白含量分别下降了16.7%和50.9%,主要是因为压强增加会造成蛋白质变性沉淀或使其溶解度降低。Goutefongea等^[15]在20 °C用600 MPa处理猪肉和牛肉30 min,其肌浆蛋白含量分别降低了15%和10%。

与对照组相比,100 MPa处理的虾仁肌浆蛋白在44.3~66.4 ku出现了新的条带,并随着处理时间的延长,条带色泽变深,这可能是由于蛋

白酶被激活后, 降解部分盐溶性或者不溶性蛋白质产生了小分子蛋白, 或者压强诱导了一些小分子蛋白质发生聚集所致^[16]。在相同处理时间下, 随着压强增加, 肌浆蛋白的一些条带逐渐由粗变细, 色泽由深变浅, 这是因为蛋白质在压强作用下发生了变性, 溶解度下降^[17-18]。HHP也能使牛肉和猪肉的肌浆蛋白电泳条带色泽变浅^[17-18]。

用100 MPa处理10 min、300 MPa处理10 min和500 MPa处理5 min, 肌原纤维蛋白含量分别下降了28.39%、45.72%和54.45%。HHP处理造成肌原纤维蛋白含量下降, 是因为高压破坏了肌原纤维蛋白的高级结构, 导致其变性, 降低其盐溶性, 转化为不溶性蛋白^[19]; 高压还能引起肌原纤维蛋白分子间相互作用, 形成二硫键使蛋白质聚集形成凝胶, 降低了肌原纤维蛋白的盐溶性^[20]; HHP激活部分蛋白酶类, 使部分肌原纤维蛋白发生了降解^[21-22]。

凡纳滨对虾肌原纤维蛋白主要由肌球蛋白重链、肌球蛋白轻链、肌动蛋白和少量的其他蛋白质等构成。肌球蛋白重链分子量为200 ku左右, 肌动蛋白分子量为45 ku左右。随压强的升高和时间的延长, 肌球蛋白和肌动蛋白的条带由粗变细, 色泽由深变浅, 主要是因为肌球蛋白和肌动蛋白在HHP作用下均发生了不同程度的变性, 或者蛋白质分子之间的相互作用增强而发生聚集, 使其溶解度降低^[20]。

HHP主要通过影响蛋白质的分子体积、非共价键等, 引起蛋白质分子结构和理化特性的变化^[23]。首先, HHP能使蛋白质的体积缩小^[24]; 第二, HHP能促进蛋白质分子内的离子键发生断裂^[25]; 第三, HHP能促进水分子电离, 一方面影响蛋白质分子表面的水化层, 另一方面降低水的pH值, 改变蛋白质分子的带电荷程度, 从而影响其稳定性^[26]; 第四, HHP还能使水分子进入蛋白质内部, 尤其是蛋白质分子的疏水核心区域, 影响该区域氨基酸残基之间的相互作用, 从而引起蛋白质结构和功能的改变^[27-29]; 第五, HHP还可以增强蛋白质分子内部的氢键^[30], 但过高的压强也会降低氢键的稳定性^[31]; 第六, 在较低的压强(50 MPa)下可能增强蛋白质分子亚基间的疏水相互作用^[32], 但较高的压强(>200 MPa)会降低其疏水作用^[29]。正是由于HHP从多个方面对蛋白质结构产生了较大的影响, 从而表现出不

同处理条件下的虾仁蛋白质DSC图谱的差异。

3.2 HHP对虾仁微观结构的影响

凡纳滨对虾虾仁肌肉属横纹肌, 每根肌纤维由大量的肌原纤维有序排列而成, 每条肌原纤维均含有规则交替的明暗带, 而相邻各肌原纤维的明带和暗带分别在一个平面上, 使肌纤维显现出明暗相间的横纹。HHP可使动物肌肉肌纤维变得致密紧实, 如HHP对真蛸(*Octopus vulgaris*)^[33-34]、红鲍(*Haliotis rufescens*)^[35]、斑节对虾(*Penaeus monodon*)^[36]等肌肉组织结构的影响。一方面高压引起肌肉蛋白质变性, 蛋白质分子之间的非共价键被打断, 在蛋白质分子内部和分子之间形成了新的化学键, 蛋白质分子之间的相互作用力增强, 使得虾肉中的肌纤维发生聚集^[37]; 另一方面, 高于300 MPa的压强可导致肌肉收缩系统中的肌纤维因挤压而全部被打断, 破坏肌原纤维中的所有条纹结构和与收缩系统有关的部位, 使肌外膜、肌内膜和肌束膜结缔组织结构发生变化^[38]。随着压强的升高和处理时间的延长, HHP能使虾仁肌原纤维的排列变得紧实致密, 甚至丧失原有的结构特征, 肌节严重收缩, 肌纤维之间空隙变模糊而呈现出絮状结构。虾仁肌肉组织结构的变化, 主要是因为压强使虾肉的肌外膜和肌束膜发生了变形, 并影响了肌纤维之间和肌原纤维之间的空间状态^[39]。Ueno等^[38]发现随着压强升高, 肌肉的肌外膜和肌束膜发生明显的变化。Hurtado等^[34]报道当压强高于200 MPa时, 肌肉肌纤维的空间结构会发生明显的变化, 并保持紧实致密状态, 这是由于在肌纤维周围的结缔组织层发生变化并加重了肌纤维被挤压的程度。

本研究表明, 100 MPa处理时虾仁的肌原纤维被压缩, 肌节收缩, 组织结构变得紧实致密; 300 MPa处理时虾仁的肌原纤维会发生断裂, 肌节收缩加重; 500 MPa处理时虾仁肌原纤维发生严重挤压而丧失原有结构特征, 肌纤维之间空隙变模糊而呈现出絮状结构。研究表明, 超高压加工处理虾仁有利于人体的消化和吸收, 说明超高压可以用于加工即食对虾产品。

参考文献:

- [1] 谢乐生, 杨瑞金, 朱振乐. 熟制对虾仁超高压杀菌主要参数探讨[J]. 水产学报, 2007, 31(4): 525-531.

- Xie L S, Yang R J, Zhu Z L. Sterilization of pre-cooked peeled shrimp using high pressure[J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(4): 525-531(in Chinese).
- [2] Huang W Y, Ji H W, Liu S C, *et al.* Inactivation effects and kinetics of polyphenol oxidase from *Litopenaeus vannamei* by ultra-high pressure and heat[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2014, 26: 108-115.
- [3] 李萌萌, 吕长鑫, 冯叙桥. 超高压技术在果蔬汁加工中的应用现状与发展前景[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(2): 567-576.
- Li M M, Lü C X, Feng X Q. Status quo and trend of fruit and vegetable juice processing by application of ultra high pressure[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2014, 5(2): 567-576(in Chinese).
- [4] 孙颜君, 孙颜杰. 超高压技术在乳制品加工中应用的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(2): 26-31.
- Sun Y J, Sun Y J. Recent advances in the use of high pressure technology in dairy processing[J]. Dairy Industry of China, 2016, 44(2): 26-31(in Chinese).
- [5] 奚秀秀, 徐宝才, 许世闯, 等. 超高压对肉制品的杀菌效果及杀菌机制的研究进展[J]. 肉类研究, 2016, 30(8): 39-43.
- Xi X X, Xu B C, Xu S C, *et al.* Effects of ultra-high pressure processing on survival of microorganisms in meat products and microbial inactivation mechanisms: a review[J]. Meat Research, 2016, 30(8): 39-43(in Chinese).
- [6] 赵宏强, 蓝蔚青, 张皖君, 等. 超高压技术在水产品杀菌保鲜中的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(22): 369-373.
- Zhao H Q, Lan W Q, Zhang W J, *et al.* Research progress on the application of ultra high pressure for the preservation and sterilization of aquatic products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(22): 369-373(in Chinese).
- [7] 黄万有, 刘书成, 吉宏武, 等. 超高压处理条件下的虾仁品质化动力学[J]. 食品工业科技, 2013, 34(22): 100-105, 115.
- Huang W Y, Liu S C, Ji H W, *et al.* Kinetics of quality change of peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by utral-high pressure[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(22): 100-105, 115(in Chinese).
- [8] 易俊洁, 丁国微, 胡小松, 等. 南美白对虾脱壳工艺比较及其对虾仁品质的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(17): 287-292.
- Yi J J, Ding G W, Hu X S, *et al.* Comparison of shucking techniques for white shrimp and its effect on quality of peeled shrimp[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(17): 287-292(in Chinese).
- [9] 谢丹丹, 胡志和, 薛璐, 等. 超高压结合酶法消减南美白对虾蛋白过敏原研究[J]. 食品科学, 2012, 33(8): 109-114.
- Xie D D, Hu Z H, Xue L, *et al.* Elimination of allergens from *Litopenaeus vannamei* by ultra high pressure treatment combined with enzymolysis[J]. Food Science, 2012, 33(8): 109-114(in Chinese).
- [10] 王菁. 超高压辅助提取虾壳中虾青素的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- Wang J. Studies on the extraction of astaxanthin from shrimp shell assisted by high pressure processing[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013 (in Chinese).
- [11] 刘书成, 郭明慧, 黄万有, 等. 超高压技术在虾类保鲜与加工中的应用[J]. 食品工业科技, 2015, 36(9): 376-383, 390.
- Liu S C, Guo M H, Huang W Y, *et al.* Application of ultra high pressure in preservation and processing of shrimp[J]. Science and Technology of Food industry, 2015, 36(9): 376-383, 390(in Chinese).
- [12] Niamnuy C, Devahastin S, Soponronnarit S. Changes in protein compositions and their effects on physical changes of shrimp during boiling in salt solution[J]. Food Chemistry, 2008, 108(1): 165-175.
- [13] Angsupanich K, Ledward D A. High pressure treatment effects on cod (*Gadus morhua*) muscle[J]. Food Chemistry, 1998, 63(1): 39-50.
- [14] Hernández-Andrés A, Gómez-Guillén C, Montero P, *et al.* Partial characterization of protease activity in squid (*Todaropsis eblanae*) mantle: modification by high-pressure treatment[J]. Journal of Food Science, 2005, 70(4): C239-C245.
- [15] Goutefongea R, Rampon V, Nicolas N, *et al.* Meat color changes under high pressure treatment[C]//Proceedings of the 41st Annual International Congress of Meat Science and Technology II. San Antonio, USA: National Livestock and Meat Board, 1995: 384-385.
- [16] Ohshima T, Ushio H, Koizumi C. High-pressure processing of fish and fish products[J]. Trends in Food Science & Technology, 1993, 4(11): 370-375.
- [17] Marcos B, Kerry J P, Mullen A M. High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and

- quality indicators[J]. Meat Science, 2010, 85(1): 115-120.
- [18] Kim I J, Lee E J, Lee N H, *et al.* Effects of hydrostatic pressure treatment on the physicochemical, morphological, and textural properties of bovine *Semitendinosus* muscle[J]. Food Science and Biotechnology, 2007, 16(1): 49-54.
- [19] Cruz-Romero M, Smiddy M, Hill C, *et al.* Effects of high pressure treatment on physicochemical characteristics of fresh oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2004, 5(2): 161-169.
- [20] Jantakoson T, Kijroongrojana K, Benjakul S. Effect of high pressure and heat treatments on black tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabricius) muscle protein[J]. International Aquatic Research, 2012, 4(1): 19.
- [21] Hendrickx M, Ludikhuyze L, Van den Broeck I, *et al.* Effects of high pressure on enzymes related to food quality[J]. Trends in Food Science & Technology, 1998, 9(5): 197-203.
- [22] Eisenmenger M J, Reyes-De-Corcuera J I. High pressure enhancement of enzymes: a review[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2009, 45(5): 331-347.
- [23] 李仁杰, 廖小军, 胡小松, 等. 超高压对蛋白质的影响[J]. 高压物理学报, 2014, 28(4): 498-506.
- Li R J, Liao X J, Hu X S, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure on proteins[J]. Chinese Journal of High Pressure Physics, 2014, 28(4): 498-506(in Chinese).
- [24] 卜平宇, 夏泉. 普通化学[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 253.
- Bo P Y, Xia Q. Common Chemistry[M]. Beijing: Science Press, 2009: 253 (in Chinese).
- [25] Abe F, Kato C, Horikoshi K. Pressure-regulated metabolism in microorganisms[J]. Trends in Microbiology, 1999, 7(11): 447-453.
- [26] Hayert M, Perrier-Cornet J M, Gervais P. A simple method for measuring the pH of acid solutions under high pressure[J]. The Journal of Physical Chemistry A, 1999, 103(12): 1785-1789.
- [27] Day R, García A E. Water penetration in the low and high pressure native states of ubiquitin[J]. Proteins, 2008, 70(4): 1175-1184.
- [28] Imai T, Sugita Y. Dynamic correlation between pressure-induced protein structural transition and water penetration[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2010, 114(6): 2281-2286.
- [29] Grigera J R, McCarthy A N. The behavior of the hydrophobic effect under pressure and protein denaturation[J]. Biophysical Journal, 2010, 98(8): 1626-1631.
- [30] Tilly V L, Sire O, Alpert B, *et al.* An infrared study of ^2H -bond variation in myoglobin revealed by high pressure[J]. European Journal of Biochemistry, 1992, 205(3): 1061-1065.
- [31] Kangur L, Timpmann K, Freiberg A. Stability of integral membrane proteins under high hydrostatic pressure: the LH2 and LH3 antenna pigment-protein complexes from *Photosynthetic Bacteria*[J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2008, 112(26): 7948-1955.
- [32] Hei D J, Clark D S. Pressure stabilization of proteins from extreme thermophiles[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(3): 932-939.
- [33] Hurtado J, Montero P, Borderías J. Behavior of octopus muscle (*Octopus vulgaris*) under a process of pressure-time-temperature combinations[J]. Food Science and Technology International, 2001, 7(3): 259-267.
- [34] Hurtado J L, Montero P, Borderías J, *et al.* High-pressure/temperature treatment effect on the characteristics of octopus (*Octopus vulgaris*) arm muscle[J]. European Food Research and Technology, 2001, 213(1): 22-29.
- [35] Briones-Labarca V, Perez-Won M, Zamarcá M, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure on microstructure, texture, colour and biochemical changes of red abalone (*Haliotis rufecens*) during cold storage time[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2012, 13: 42-50.
- [36] Kaur B P, Kaushik N, Rao P S, *et al.* Chilled storage of high pressure processed black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)[J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2015, 24(3): 283-299.
- [37] Sun X D, Holley R A. High hydrostatic pressure effects on the texture of meat and meat products[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(1): 17-23.
- [38] Ueno Y, Ikeuchi Y, Suzuki A. Effects of high pressure treatments on intramuscular connective tissue[J]. Meat Science, 1999, 52(2): 143-150.
- [39] Elgasim E A, Kennick W H. Effect of high hydrostatic pressure on meat microstructure[J]. Food Microstructure, 1982, 1(1): 75-82.

Effects of high hydrostatic pressure on protein and microstructure of *Litopenaeus vannamei*

LIU Shucheng^{*}, DENG Qianlin, HUANG Wanyou, JI Hongwu,
GAO Jing, MAO Weijie, HAO Jiming

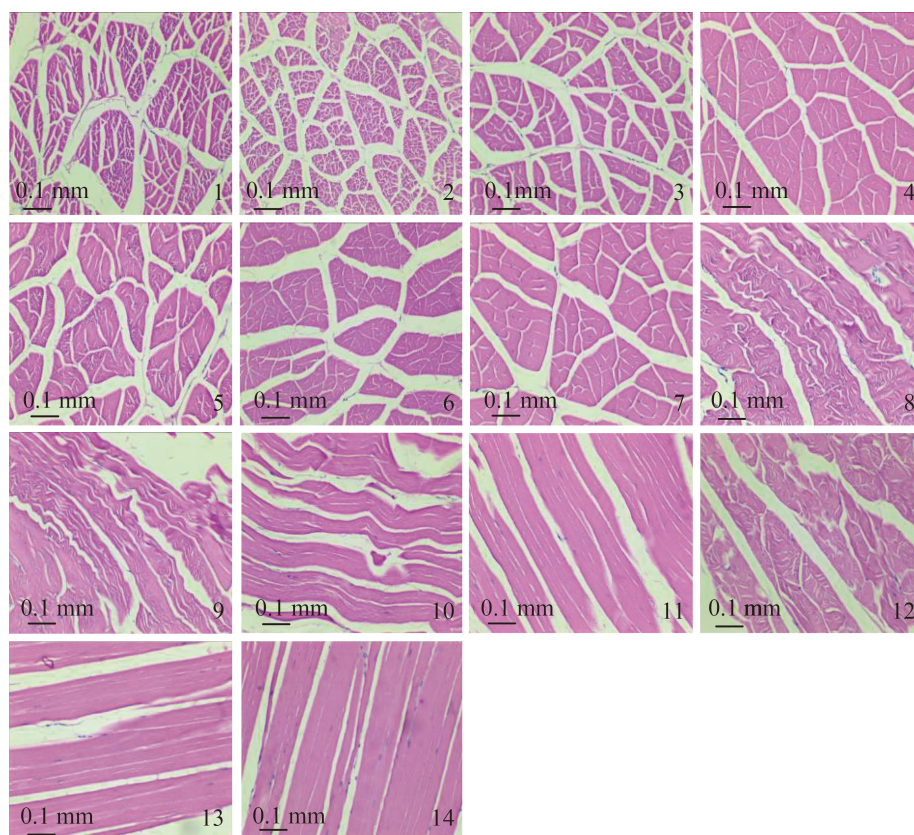
(Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety,
Guangdong Provincial Seafood Engineering Technology Research Center,
Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Products of Guangdong Higher Education Institution,
College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: High hydrostatic pressure (HHP) is a promising non-thermal food processing technology, which not only can inactivate microorganism and enzyme to ensure food safety, but also can maximize the retention of nutrients and color, aroma, taste and improve food texture and functional properties. HHP can maintain the balance of food safety and quality better. At present, HHP has been widely studied and applied in meat processing, seafood processing, fruit and vegetable processing, dairy processing, and so on. In recent years, HHP has been reported in the shrimp preservation and processing. For example, HHP can inactivate microorganism and polyphenol oxidase from *Litopenaeus vannamei*, but HHP has a little effect on qualities. HHP can also be used to shuck, eliminate allergens, and extract astaxanthin from by-products in the shrimp processing. These provide a new method for shrimp processing and utilization. In order to enrich the basis theory of HHP in shrimp preservation and processing and to realize industrial production, regarding untreated peeled shrimps as a control, the peeled shrimp were treated by HHP at 100, 300, 500 MPa for 5, 10, 20 and 30 min, respectively. The content, composition and thermostability of protein were analyzed. The microstructure of shrimp muscle tissues was observed by optical microscope and transmission electron microscope. The results showed that the content of sarcoplasmic protein slightly increased at 100 MPa, and decreased significantly at 300 and 500 MPa, and the content of myofibrillar protein significantly decreased. HHP treatment resulted in denaturation of peeled shrimp protein and decreased the thermostability of myosin and actin. With the increase of pressure and treatment time, HHP makes the arrangement of peeled shrimp myofibril tight and compact, and even the structure of myofibril collapse, sarcomere severe contraction, the gap among muscle fibers fuzzy and showing a flocculent structure. Therefore, high hydrostatic pressure can cause shrimp protein denaturation and gelation, which is conducive to digestion and absorption of the human body. The results show that high hydrostatic pressure can be used for processing instant shrimp products.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; high hydrostatic pressure; protein; thermostability; microstructure

Corresponding author: LIU Shucheng. E-mail: Lsc771017@163.com

Funding projects: Earmarked Fund for Science and Technology Planning Project of Guangdong (2015A020209158); National Natural Science Foundation of China (31371801); Modern Agro-industry Technology Research System (CARS-47)

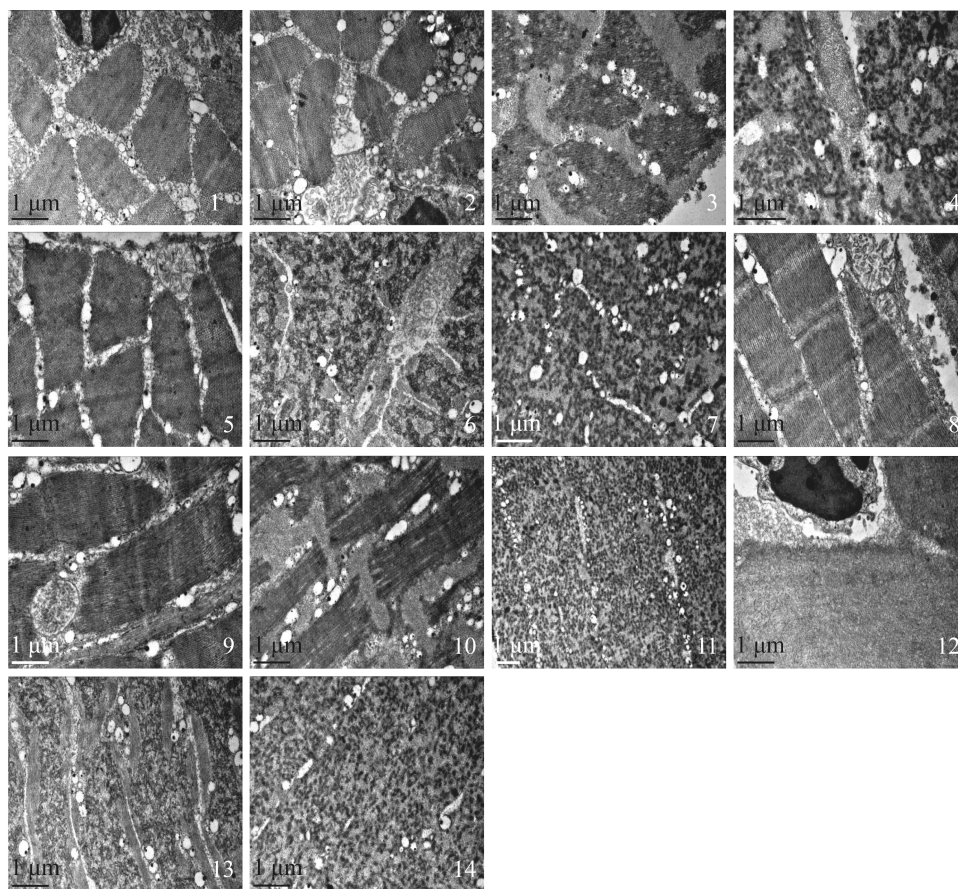


图版 I 虾仁横向和纵向肌肉组织显微结构(×10)

1、2、3、4、5、6、7分别为对照组、100 MPa/5 min、300 MPa/5 min、500 MPa/5 min、100 MPa/20 min、300 MPa/20 min、500 MPa/20 min的虾仁横向肌肉组织；8、9、10、11、12、13、14分别为对照组、100 MPa/5 min、300 MPa/5 min、500 MPa/5 min、100 MPa/20 min、300 MPa/20 min、500 MPa/20 min的虾仁纵向肌肉组织，下同

Plate I Microscopy structure of *L. vannamei* transverse and longitudinal muscle tissue (×10)

1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 were transverse muscle tissues of control, 100 MPa/5 min, 300 MPa/5 min, 500 MPa/5 min, 100 MPa/20 min, 300 MPa/20 min and 500 MPa/20 min, respectively; 8, 9, 10, 11, 12, 13 and 14 were longitudinal muscle tissues of control, 100 MPa/5 min, 300 MPa/5 min, 500 MPa/5 min, 100 MPa/20 min, 300 MPa/20 min and 500 MPa/20 min, respectively, the same below



图版 II 虾仁横向和纵向肌肉组织超微结构($\times 300\ 000$)

Plate II Electron microscopy ultrastructure of *L. vannamei* transverse and longitudinal muscle tissue treated by HHP ($\times 300\ 000$)