超高压协同冷冻辅助脱壳对南美白对虾肌原纤维蛋白理化性质的影响

崔燕，宣晓婷，林旭东，尚海涛，康孟利，姚凌俏，凌建刚

（宁波市农业科学研究院农产品加工研究所，宁波市农产品保鲜工程重点实验室，浙江宁波 315040）

摘要：为研究超高压协同冷冻（FT-HHP）对虾仁品质的影响，采用不同超高压（200~400 MPa，1~5 min）协同冷冻处理南美白对虾，通过感官评定、肌原纤维蛋白含量、羰基含量、总巯基含量等分析，探究 FT-HHP 在辅助脱壳的同时对虾仁肌肉蛋白生化特性的影响。结果表明，FT-HHP 有助于南美白对虾脱壳，300 MPa、1 min 协同处理后脱壳效果较单一冷冻辅助脱壳显著提高 24.31%。200 MPa（1~3 min）、300 MPa（1 min）协同处理组肌原纤维蛋白含量及羰基、总巯基含量较新鲜对照组无显著变化；而压力≥300 MPa、保压时间≥3 min 时，肌原纤维蛋白氧化现象显著增加，虾仁呈现熟化外观。随着压力及保压时间的上升，Ca^{2+}-ATPase 活性下降，肌原纤维蛋白表面疏水性上升。综合脱壳效果及蛋白理化特性指标，300 MPa、1 min 协同冷冻处理可有效提高脱壳效果，并保持虾仁的良好品质。研究结果为超高压协同冷冻辅助南美白对虾脱壳技术的应用提供了理论依据。

关键词：超高压协同冷冻；脱壳；南美白对虾；肌原纤维蛋白；理化性质

文章篇号：1673-9078(2019)02-32-39 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.2.005

Effect of High Hydrostatic Pressure Combined with Freezing Treatment on Shucking and Physicochemical Properties of Myofibrillar Protein of *Penaeus vannamei*

CUI Yan, XUAN Xiao-ting, LIN Xu-dong, SHANG Hai-tao, KANG Meng-li, YAO Ling-qiao, LING Jian-gang

(Institute of Agricultural Products Processing, Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Preservation Engineering of Agricultural Products, Ningbo 315040, China)

Abstract: In order to determine the effect of high hydrostatic pressure combined with freezing treatment (FT-HHP) on shucking and physicochemical properties of myofibrillar protein of *Penaeus vannamei*, fresh shrimps were frozen and subjected to high hydrostatic pressure processing (200, 300 and 400 MPa at ambient temperature for 1, 3 and 5 min). And the changes in sensory score of shucking efficiency, myofibrillar protein content, carbonyl content, total sulfhydryl content, surface hydrophobicity and Ca^{2+}-ATPase activity of myofibrillar protein were evaluated. The results showed that FT-HHP is an effective method for *Penaeus vannamei* shucking. With combined treatment of 300 MPa (1 min) and freezing, the sensory score of shucking efficiency increased by 24.31% as compared to that in freezing samples. Compared with the fresh group, the myofibrillar protein contents, carbonyl contents and total sulfhydryl contents of myofibrillar protein had no significant differences with the treatment of FT-HHP at 200 MPa (1~3 min) and 300 MPa (1 min).However, after treatment with FT-HHP at pressure ≥300 MPa, holding time ≥3 min, the levels of myofibrillar protein oxidation significantly enhanced, and the shrimps showed cooked appearance. As the pressure and holding time increased, the levels of Ca^{2+}-ATPase activity tended to decrease, while the surface hydrophobicity of myofibrillar protein tended to increase. Taking into account both the shucking efficiency and effect of FT-HHP on the physicochemical properties of myofibrillar protein in *Penaeus vannamei*, the combined treatment of 300 MPa (1 min) and freezing, which can significantly improve shucking efficiency and maintain the good quality of shrimp, was suitable to treat *Penaeus vannamei*. These results can provide a theoretical basis for the industrial application of FT-HHP in the shucking of *Penaeus vannamei*.

收稿日期：2018-09-20

基金项目：“十三五”国家重点研发计划项目（2016YFD0400304）；宁波市农业重大项目（2016C11016；2017C110006；2015C110002）

作者简介：崔燕（1987-），女，博士，助理研究员，研究方向：农产品保鲜与非热加工

通讯作者：凌建刚（1973-），男，研究员，研究方向：农产品保鲜与加工

Key words: High hydrostatic pressure combined with freezing treatment (FT-HHP); shucking; *Penaeus vannamei*; myofibrillar protein; physicochemical properties

南美白对虾（*Penaeus vannamei*），学名凡纳滨对虾，是世界主要养殖虾类，产量占养殖甲壳类的 50%以上，全球市值约 180 亿美元[1]。其肉质鲜甜，具高蛋白、低脂等营养特征[2]，深受消费者喜爱。但其收成后耐活力较差，且易腐不耐贮藏，因此冻虾仁为其主要流通形式。目前，虾仁加工普遍采用人工脱壳，不仅效率低且会对虾仁品质造成破坏。因此，实现高效脱壳并保证品质的机械化生产是当前对虾脱壳的一个重要方向。

超高压技术（high hydrostatic pressure，HHP）是当前备受关注的新型非热加工技术，具作用均一、瞬时、最少添加等优势，在改变大分子物质的同时对风味物质、维生素等小分子物质无显著影响，可有效保持食品的原汁原味和营养成分[3−5]。近年来，随着超高压水产品杀菌技术的发展，超高压脱壳技术应势而生。贾莹等[6]发现，超高压有助于虾姑脱壳，与传统手工脱壳相比，350~400 MPa、8 min 处理后脱壳时间缩短 55%，得肉率提高 26.28%，虾仁鲜嫩饱满。丁国徽[7]在南美白对虾脱壳研究中发现，与未处理组相比，200 MPa、3 min 处理能有效提高脱壳效率，得肉率提高 9.53%，且可有效提高虾仁完整率和品质。杨徽等[8]和易俊洁等[9]研究比较了南美白对虾超高压脱壳和冷冻辅助脱壳效率，发现超高压处理虽有助于提高脱壳效率，但效果有限，与冷冻辅助脱壳相比无明显优势，脱壳效果低于或与冷冻辅助脱壳相当，且较高压力下虾仁熟化现象严重。因此，为保持虾仁品质并进一步提高虾类脱壳效果，超高压+技术成为了虾类脱壳的研究趋势。汪兰等[10]联合超高压及热烫辅助脱壳发现，超高压与热烫联合处理对小龙虾脱壳具有协同增效作用，300 MPa、1 min 协同热烫处理后脱壳效率较热烫提高 47.37%。但目前利用超高压协同冷冻处理（high hydrostatic pressure combined with freezing treatment，FT-HHP）对南美白对虾脱壳及其肌原纤维蛋白生化特性影响的研究鲜有报道。

本文基于虾类原料保存主要形态-冷冻，以南美白对虾为研究对象，结合超高压与冷冻预处理各自优势，在感官评价基础上，以肌原纤维蛋白含量、羰基含量、总巯基含量、表面疏水性及 Ca^{2+}-ATPase 活性等为指标，分析超高压协同冷冻辅助脱壳对南美白对虾肌原纤维蛋白理化特性的影响，为超高压协同冷冻辅助脱壳技术在南美白对虾中的应用提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

海水养殖鲜活南美白对虾，购于宁波市路林水产交易市场，置于海盐水、供氧条件下快速运往实验室；Ca^{2+}-ATP 酶试剂盒，购于南京建成生物工程研究所；其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

CQC2L-600 型全液相超高压设备，北京速原中天有限公司；速冻库，天津金九环机电制冷设备有限公司；ZLE-B300 型均质机，上海众时机械公司；PB-10 型 pH 计，德国 Sartorius 公司；H1850R 型台式高速冷冻离心机，湖南湘仪离心机仪器有限公司；5415D 型小型高速离心机，德国 Eppendorf 公司；MS105DU 电子分析天平，Mettler Toledo 仪器有限公司；ST-756P 型紫外/可见光分光光度仪，上海光谱仪器有限公司；TSE240V 超低温冰箱，美国赛默飞世尔科技公司。

1.3 样品处理

选取大小均一、颜色相近的鲜活南美白对虾，流水洗净，控水后取一部分作为新鲜对照组（Fresh 组），不作任何辅助脱壳处理直接进行人工脱壳和指标测定。其余部分迅速置于速冻库进行冷冻处理，待虾体完全冻结、装袋（每袋 10 只虾）后转移至-18 ℃冷柜冻藏备用。将冷冻虾随机分成 10 组，分别为对照组-冷冻处理组（Control 组，静水解冻后脱壳）和实验组-超高压协同冷冻处理组。实验组选取处理压力 200（FT+200 MPa 组）、300（FT+300 MPa 组）、400 MPa（FT+400 MPa 组），保压时间 1、3、5 min，所有处理均在室温条件下进行，传压介质为水，升压速率约 3 MPa/s，卸压时间<3 s。处理完成后，在常温下对各处理组的南美白对虾进行手工脱壳，每组设 3 个平行。

1.4 脱壳效果评价

通过感官评分对脱壳效果进行评价[11]。由 6 名经过培训的感官评定人员对各组南美白对虾进行手工脱壳，按照表 1 标准，从壳肉剥离度、虾仁完整性和熟化程度 3 方面进行感官评分，3 项分值相加即为脱壳效果评分，取 6 人评价结果平均值。

表 1 脱壳效果评分标准

Table 1 Standards for the evaluation of shucking performance

指标	描述（分值）		
壳肉剥离度	壳肉分离，极易剥离（4）	壳肉部分相连，易剥离（3~2）	壳肉相连，较难剥离（1）
虾仁完整性	虾仁完整，尾部无断裂（3）	虾仁完整，尾部稍有断裂（2~1）	虾仁不完整，尾部断裂（0）
虾仁熟化程度	肌肉条纹清晰，无熟化现象（3）	肌肉透明度降低，出现微熟现象（2~1）	肌肉泛白，熟化明显（0）

1.5 肌原纤维蛋白溶液的制备

肌原纤维蛋白溶液的制备参考 Xiong 等[12,13]报道方法。称取 4 g 虾仁，加入 40 mL 预冷 Tris-maleate 缓冲溶液（50 mmol/L KCl-20 mmol/L Tris-maleate，pH 7.0），充分匀浆后 10000 r/min 离心 10 min，沉淀中加入 4 倍体积预冷的 Tris-maleate 缓冲溶液（0.6 mol/L KCl-20 mmol/L Tris-maleate，pH 7.0），匀浆后提取 1 h，10000 r/min 离心 10 min，上清液即为肌原纤维蛋白溶液。提取过程均在 4 ℃下进行，双缩脲法测定蛋白含量。

1.6 肌原纤维蛋白总巯基（total sulfhydryl，T-SH）含量的测定

T-SH 含量的测定参考文献[14,15]采用 Ellman 试剂法进行，并作相应修改。吸取 0.25 mL 肌原纤维蛋白溶液于试管中，加入 2.5 mL 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液（含 8 mol/L 尿素，pH 8.0），混匀后加入 50 μL 0.01 mol/L 的 5,5’-二硫代双（2-硝基苯甲酸）溶液，40 ℃水浴反应 15 min，测定 412 nm 处吸光度值。使用摩尔消光系数 13600 /(mol.cm)计算 T-SH 含量，结果表示为 μmol/mg prot。

1.7 肌原纤维蛋白羰基含量的测定

采用 2,4-二硝基苯肼（DNPH）比色法，进行肌原纤维蛋白羰基含量的测定[16,17]。取 1 mL 蛋白浓度在 1~2 mg/mL 的肌原纤维蛋白溶液，加入 1 mL 10 mmol/L DNPH（溶解于 2 mol/L HCl 溶液中），同时设置一组空白对照组，即在 1 mL 肌原纤维蛋白溶液中加入不含 DNPH 的 2 mol/L HCl 溶液，在振荡条件下室温避光反应 1 h 后，用 10%（*W/V*）的三氯乙酸（最终浓度）对样品进行沉淀。10000 r/min，4 ℃，离心 5 min 后弃上清，沉淀用 1:1（*V/V*）的无水乙醇-乙酸乙酯混合溶液反复清洗 3 次以除去未反应的 DNPH。随后，加入 3 mL 6 mol/L 盐酸胍溶液，置于 37 ℃水浴 15 min 溶解沉淀，离心后分别取上清测定对照管和测定管在 370 nm 处吸光度值。羰基含量计算使用摩尔消光系数 22000/(mol.cm)，用 nmol/mg prot 表示。

1.8 肌原纤维蛋白表面疏水性的测定

参考 Chelh 等[11,18]方法，利用溴酚蓝与蛋白表面疏水氨基酸残基结合的特性，进行肌原纤维蛋白表面疏水性的测定。吸取 1 mL 肌原纤维蛋白溶液，加入 200 μL 1 mg/mL 溴酚蓝溶液，室温下振荡反应 10 min，10000 r/min 离心 15 min 后取上清液稀释 10 倍后测定 595 nm 处吸光度值，结果以每毫克蛋白所结合的溴酚蓝量表示（μg/mg prot）。

1.9 Ca^{2+}-ATPase 活性的测定

Ca^{2+}-ATPase 活性的测定按试剂盒操作说明进行，以每小时每毫克蛋白中 ATP 酶分解 ATP 所释放的无机磷的量表示（μmol Pi/mg prot/h）。

1.10 数据分析

各组数据以平均值±标准差表示，应用 SPSS 18.0 软件以 one-way ANOVA 法及 Duncan 检验对实验数据进行组间比较和差异显著性分析。以 $p<0.05$ 为存在显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 超高压协同冷冻处理对脱壳效果的影响

不同辅助脱壳处理后南美白对虾的脱壳效果评分如图 1 所示。结果发现，未处理南美白对虾即新鲜对照组的脱壳效果评分为 4.00 分，其壳肉相连，较难剥离，剥壳过程中虾仁极易断裂造成虾体不完整。超高压协同冷冻处理有助于南美白对虾的脱壳，脱壳效果评分均显著高于新鲜对照组（$p<0.05$）；随着压力的升高，脱壳效果呈现先上升后下降的趋势，在≤300 MPa、保压时间≤1 min 处理条件下脱壳效果评分均显著高于冷冻组（$p<0.05$），其中 300 MPa、1 min 协同冷冻处理后南美白对虾的脱壳效果改善最为明显，评分较传统手工脱壳及冷冻辅助脱壳分别显著提高 70.00%和 24.31%（$p<0.05$）。400 MPa 处理后，虽脱壳较易、虾仁完整性好，但虾仁熟化现象严重，影响最终评分，故利用超高压协同辅助脱壳，压力不能过高。本实验室前期研究发现[19]，在 200~400 MPa（1、

3、5 min）高压协同冷冻处理条件下，对虾的脱壳时间（10.23~12.23 s/只）均短于冷冻组（12.80 s/只），脱壳速率较陈少华等[20]利用单一超高压处理（优化条件：200 MPa、3 min，16 s/只）有较大提高；对比易俊洁等[9]利用单一超高压辅助南美白对虾脱壳研究数据发现，相同压力下（200 MPa，1、3、5 min；300 MPa，1、5 min），超高压协同冷冻处理的脱壳时间（13.13~12.60 s/只；11.55~11.72 s/只）均小于单一超高压脱壳时间（11.13~11.83 s/只；11.07~10.80 s/只），表明超高压与冷冻对南美白对虾脱壳具协同增效作用。此外，超高压协同冷冻处理的得肉率（51.11%~53.74%）亦均高于冷冻组（49.94%）[19]。

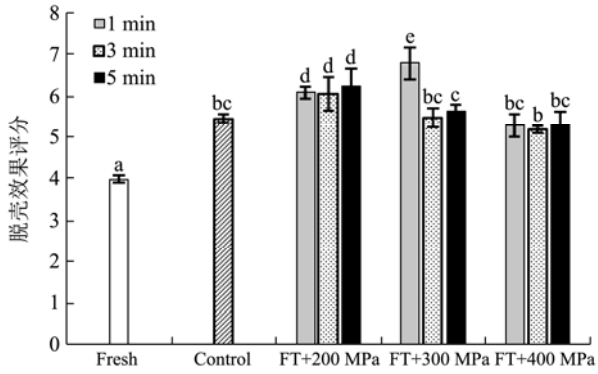


图 1 超高压协同冷冻处理对南美白对虾脱壳效果的影响

Fig.1 Effect of FT-HHP on the shucking of *Penaeus vannamei*

注：Fresh：新鲜对照组；Control：冷冻处理组；FT+200 MPa：200 MPa 超高压协同冷冻处理组；FT+300 MPa：300 MPa 超高压协同冷冻处理组；FT+400 MPa：400 MPa 超高压协同冷冻处理组。不同字母表示差异显著(p<0.05)，下图同。

2.2 超高压协同冷冻辅助脱壳对虾仁肌原纤维蛋白含量的影响

肌原纤维蛋白是肌肉组织的主要结构蛋白，约占蛋白质总量的 40%~60%，与肌肉的持水性、嫩度等密切相关。如图 2 所示，与新鲜对照组相比，冷冻辅助脱壳对虾仁肌原纤维蛋白含量无显著影响（p>0.05），这与 Tironi 等[21]在海鲈鱼冷冻/解冻研究中的结果相类似，推测可能与速冻（-80 ℃）、冻藏时间短（<24 h）等相关。在 200~300 MPa 协同冷冻处理后，肌原纤维蛋白含量与新鲜对虾相比无显著变化（p>0.05），但在 400 MPa 压力条件下，肌原纤维蛋白含量急剧下降，仅为新鲜值的 34.57%~62.97%（p<0.05），推测当压力达到 400 MPa 时，会显著影响虾仁肌肉品质，该临界点稍高于王芝妍等[11]在中华管鞭虾得到压力临界点 300 MPa，这可能与样品种类不同有关。另外，本实验中样品先经过冷冻处理，在高压处理过程中样品不断吸收热量发生解冻，使传压介质（水）温度下降，从而降低增压引起升温导致的蛋白变性，这亦可能是本实验中肌原纤维蛋白含量变化压力临界点较高的原因之一。Cruz-Romero 等[22]认为在高压条件下肌原纤维蛋白分子的三级结构遭到破坏，从而导致蛋白变性影响其溶解性。Sun 等[23]认为高压会增强肌原纤维蛋白分子间的相互作用，导致蛋白聚集或凝胶化，降低其溶解性。另有研究报道，高压可通过激活蛋白酶使肌原纤维蛋白发生降解，从而引起其含量的下降[24,25]。

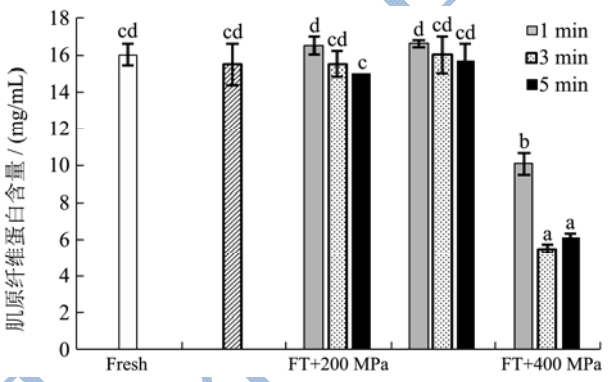


图 2 超高压协同冷冻辅助脱壳对南美白对虾肌原纤维蛋白含量的影响

Fig.2 Effect of FT-HHP on the myofibrillar protein content of *Penaeus vannamei*

2.3 超高压协同冷冻辅助脱壳对虾仁肌原纤维蛋白氧化的影响

水产品如虾肉中富含蛋白质，极易被自由基攻击发生氧化而变质，其中羰基的形成是蛋白质被自由基氧化修饰的一个重要标记，其含量是衡量蛋白质氧化程度的重要指标[26,27]。Oliveira 等[5]指出高压将加速水产品中蛋白质的氧化。在高压过程中，肌原纤维蛋白将发生变性、聚集等变化，并伴随着氧化而引发一系列氧化修饰，尤其是羰基化合物的形成[5,28]。本实验中，我们也证实了这一现象。如图 3a 所示，超高压协同处理会导致羰基含量的上升，200 MPa、300 MPa（1 min）和 400 MPa（1 min）协同冷冻处理与单一冷冻处理无显著性差异（p>0.05），但在 300 MPa（3、5 min）、400 MPa（3、5 min）协同冷冻处理条件下上升明显（p<0.05），羰基含量分别为单一冷冻处理组的 1.36~1.51 倍和 1.68~1.72 倍，蛋白氧化严重。高压下羰基含量的增加可能是由于压力作用下，自由基生成，随着压力的上升，自由基不断释放，蛋白氧化反应激发，氧化速率加快，羰基含量明显上升，这将引发肌原纤维蛋白构象变化，从而导致聚集，形成异味并降低其功能及营养价值[5,29,30]。对比各处理组羰基与肌原

纤维蛋白含量变化趋势，300 MPa（3、5 min）协同冷冻处理虽引起了羰基含量的显著上升，但并未造成肌原纤维蛋白含量的显著降低，推测这可能是由于羰基形成比肌原纤维蛋白盐溶性的下降更为迅速、敏感，具体原因尚待进一步研究。

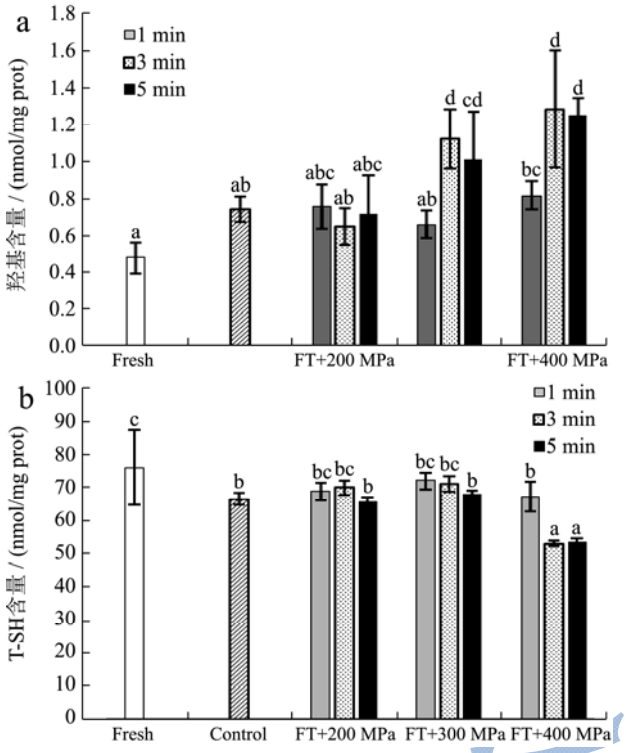


图 3 超高压协同冷冻辅助脱壳对南美白对虾肌原纤维蛋白（a）羰基和（b）T-SH 含量的影响

Fig.3 Effect of FT-HHP on the (a) carbonyl and (b) total sulfhydryl contents of myofibrillar protein in *Penaeus vannamei*

巯基含量是衡量蛋白氧化的另一重要指标。如图 3b 所示，蛋白结构中最活跃的官能团-巯基在冷冻和高压辅助脱壳处理过程中极易被氧化，造成 T-SH 含量的下降。未经处理的新鲜虾仁肌原纤维蛋白 T-SH 含量为 76.07 nmol/mg prot，冷冻辅助脱壳处理后，T-SH 含量下降至 66.47 nmol/mg prot（p<0.05），较新鲜值下降了 12.62%，蛋白氧化显著。与羰基含量变化趋势相反，高压导致 T-SH 含量下降，200、300 MPa 协同处理组与冷冻组相比无显著差异（p>0.05），但在 400 MPa（3、5 min）协同处理后 T-SH 含量急剧下降（p<0.05），这与肌原纤维蛋白含量的变化临界点相似。与本实验结果相似，Zhou 等[31]也发现高压能使鲷鱼和罗非鱼肌肉蛋白中 T-SH 含量下降。巯基含量的下降可能是由于高压作用下巯基之间的距离缩短，从而导致二硫键的形成[31,32]。值得注意的是，在 200~300 MPa，1~3 min 协同处理条件下，肌原纤维蛋白 T-SH 含量虽较新鲜样品有所下降，但无显著性差异（p>0.05）。

综合羰基和 T-SH 含量这两个蛋白氧化指标来看，在压力≤300 MPa、保压时间≤1 min 协同处理条件下，肌原纤维蛋白氧化程度较新鲜对照组变化不大，这与前面肌原纤维蛋白含量无显著下降的结果相一致。因此，为避免高压辅助脱壳对虾仁新鲜品质造成较大影响，压力不宜≥300 MPa 且保压时间不宜≥3 min。

2.4 超高压协同冷冻辅助脱壳对虾仁肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

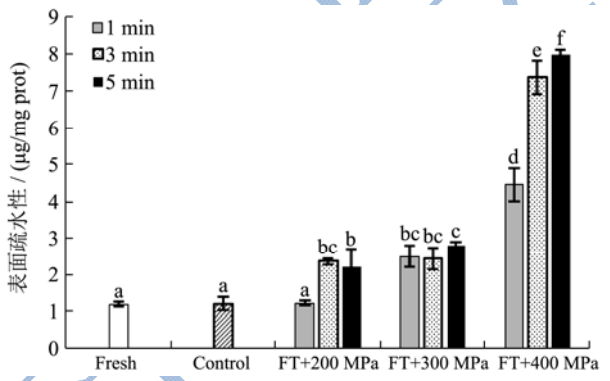


图 4 超高压协同冷冻辅助脱壳对南美白对虾肌原纤维蛋白表面疏水性的影响

Fig.4 Effect of FT-HHP on the surface hydrophobicity of myofibrillar protein in *Penaeus vannamei*

不同辅助脱壳处理后南美白对虾肌原纤维蛋白表面疏水性结果如图 4 所示。与肌原纤维蛋白含量变化趋势有所不同（图 2），在 200~300 MPa 协同处理后，表面疏水性呈上升趋势，除 200 MPa、1 min 外，较新鲜对照组均显著升高（p<0.05），但肌原纤维蛋白含量与新鲜值并无显著差异（p>0.05）。王芝妍等[11]在研究超高压辅助脱壳对中华管鞭虾肌原纤维蛋白理化性质的影响时，也发现了 100~200 MPa 超高压处理后肌原纤维蛋白表面疏水性显著上升的同时，肌原纤维蛋白含量较新鲜值并未发生显著下降的现象，具体原因尚不清楚。从各超高压协同冷冻处理组表面疏水性的变化趋势看，在 200~300 MPa 处理条件下肌原纤维蛋白表面疏水性缓慢上升，而当压力达到 400 MPa 后表面疏水性急剧上升，较冷冻组显著增加了 269.55%~561.25%（p<0.05）。Chapleau 等[33]指出高压下蛋白质表面疏水性升高，可能是由于压力诱发蛋白质结构发生修饰，从而导致新的疏水位点出现而引起。Ko 等[34]表明疏水相互作用的增强，源于压力介导的氨基酸残基在蛋白质表面的暴露。蛋白-荧光探针结果显示，高压引起的表面疏水性上升可能与压力作用下蛋白质变性，分子解折叠，使肽链伸展，分子内部疏水性氨基

酸残基暴露有关[35]。

2.5 超高压协同冷冻辅助脱壳对 Ca^{2+}-ATPase 活性的影响

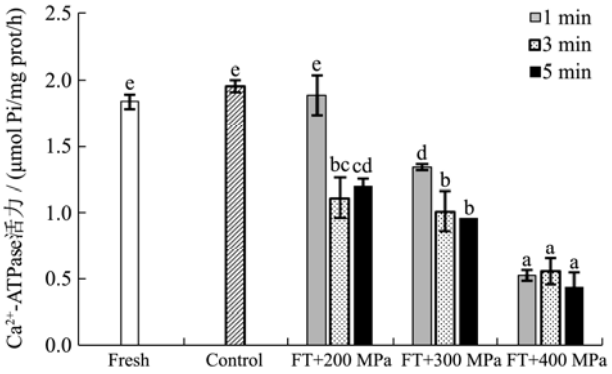


图 5 超高压协同冷冻辅助脱壳对南美白对虾 Ca^{2+}-ATPase 活性的影响

Fig.5 Effect of FT-HHP on Ca^{2+}-ATPase activity of *Penaeus vannamei*

Ca^{2+}-ATPase 活性是肌球蛋白分子结构完整性的重要指标，与原肌球蛋白活性密切相关，其活性的下降预示着原肌球蛋白 Ca^{2+}-ATPase 调节能力下降，这将导致蛋白构象变化，因此 Ca^{2+}-ATPase 活性的变化能较好地反映肌原纤维蛋白的变性程度[36]。不同辅助脱壳处理后南美白对虾 Ca^{2+}-ATPase 活性变化情况如图 5 所示。与文献报道一致[37,38]，对比 Ca^{2+}-ATPase 活性和肌原纤维蛋白含量（图 2）数据可以发现，Ca^{2+}-ATPase 活性与肌原纤维蛋白含量之间无必然的相关性，Ca^{2+}-ATPase 活性的显著降低并不一定会伴随着肌原纤维蛋白含量的明显下降。与对照组相比，经过超高压处理后，除 200 MPa、1 min 外，其他处理组的 Ca^{2+}-ATPase 活性均显著下降（p<0.05），下降程度随着压力的上升而急剧增加，可见南美白对虾中 Ca^{2+}-ATPase 对压力比较敏感。Cheng 等[39]研究发现，在高压条件下明虾的 Ca^{2+}-ATPase 活性急剧下降，在 100 MPa 条件下活性仅保留了 42%。Zhou 等[31]发现，当压力超过 200 MPa 时，金线鱼肌肉中的 Ca^{2+}-ATPase 活性全部丧失；而罗非鱼中的 Ca^{2+}-ATPase 活性在 100、150 和 200 MPa 处理后分别保留了 43%，35%和 21%[34]。在本实验中，经过 200、300、400 MPa 协同处理后，Ca^{2+}-ATPase 活性分别保留了 57.06%~96.46%、49.34%~68.59%和 22.45%~28.61%。Ca^{2+}-ATPase 活性的下降可能源于压力作用下肌球蛋白构象的改变和破坏，致使酶活中心崩塌，并与巯基，尤其是的肌球蛋白头部巯基的氧化密切相关[40,41]。巯基含量的下降（图 3b）正好可以解释 Ca^{2+}-ATPase 活性的下降。另外，有研究认为压力作用下 Ca^{2+}-ATPase 活性的下降是由于肌球蛋白亚段-1 解折叠，疏水基团暴露等导致构象发生了改变，同时伴随着蛋白分子的聚集[31,39,42]。

3 结论

超高压协同冷冻处理有助于南美白对虾的脱壳，在 300 MPa、1 min 协同处理条件下脱壳效果评分达到最高值，较传统手工脱壳及冷冻辅助脱壳分别显著提高了 70.00%和 24.31%。在 200~300 MPa 协同处理条件下，虾仁中肌原纤维蛋白含量未发生明显变化；200 MPa（1~3 min）、300 MPa（1 min）协同处理后肌原纤维蛋白羰基及 T-SH 含量与新鲜组无显著差异，蛋白氧化不明显；而在压力≥300 MPa、保压时间≥3 min 处理后，肌原纤维蛋白氧化程度显著上升。在高压作用下，肌原纤维蛋白构象被改变，表面疏水性上升，Ca^{2+}-ATPase 逐渐失活。结合本实验结果发现，当压力≥300 MPa、保压时间≥3 min 时，会导致南美白对虾感官、蛋白生化特性等理化指标出现不同程度的劣变，虾仁呈现熟化外观，影响消费者的接受度。为避免肌原纤维蛋白生化特性改变导致虾仁肌肉品质的劣变，结合超高压协同冷冻处理后南美白对虾的脱壳效果及肌原纤维蛋白理化指标，建议 300 MPa、1 min 协同冷冻处理辅助脱壳比较适宜。

参考文献

[1] GAinza O, Ramirez C, Ramos A S, et al. Intestinal microbiota of white shrimp *Penaeus vannamei* under intensive cultivation conditions in ecuador [J]. Microbial Ecology, 2018, 75(3): 562-568

[2] 黄万有.超高压加工凡纳滨对虾的技术研究[D].湛江:广东海洋大学,2014
HUANG Wan-you. Processing technology of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by ultra high pressure [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2014

[3] 崔燕,林旭东,康孟利,等.超高压技术在水产品贮藏与加工中的应用研究进展[J].食品科学,2016,37(21):291-299
CUI Yan, LIN Xu-dong, KANG Meng-li, et al. Advances in application of ultra high pressure for preservation and processingof aquatic products [J]. Food Science, 2016, 37(21): 291-299

[4] Truong B Q, Buckow R, Stathopoulos C E, et al. Advances in high-pressure processing of fish muscles [J]. Food Engineering Reviews, 2015, 7(2): 109-129

[5] Oliveira F A D, Neto O C, Santos L M R D, et al. Effect of

high pressure on fish meat quality-A review [J]. Trends in Food Science and Technology, 2017, 66: 1-19

[6] 贾莹,胡志和,王秀玲,等.超高压对虾蛄脱壳及加工性能的影响[J].食品科学,2015,23:47-52
JIA Ying, HU Zhi-he, WANG Xiu-ling, et al. Effect of ultra-high pressure treatment on shucking and processing properties of *Squilla* [J]. Food Science, 2015, 23: 47-52

[7] 丁国微.高静压加工南美白对虾的技术和工艺研究[D].北京:中国农业大学,2012
DING Guo-wei. The research on technology and parameters of high hydrostatic pressure processing white shrimps [D]. Beijing: China Agricultural University, 2012

[8] 杨徽.基于超高压技术的虾脱壳工艺与品质检测研究[D].杭州:浙江大学,2011
YANG Hui. High pressure shelling of shrimp and quality detection [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011

[9] 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 Jun-jie, DING Guo-wei, HU Xiao-song, 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

[10] 汪兰,何建军,贾喜午,等.超高压处理对小龙虾脱壳及虾仁性质影响的研究[J].食品工业科技,2016,37(14):138-141
WANG Lan, HE Jian-jun, JIA Xi-wu, et al. Effect of ultra-high pressure treatment on shucking and meat properties of red swamp crayfish [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(14): 138-141

[11] 王芝妍,杨文鸽,周果,等.超高压辅助中华管鞭虾脱壳及对其肌肉品质的影响[J].食品科学,2017,38(7):43-48
WANG Zhi-yan, YANG Wen-ge, ZHOU Guo, et al. Shelling of *Solenocera melantho* using ultra high pressure and its effect on the quality of muscle [J]. Food Science, 2017, 38(7): 43-48

[12] Xiong G Q, Cheng W, Ye L X, et al. Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Food Chemistry, 2009, 116(2): 413-418

[13] 林娴萍,揭珍,束玉珍,等.鲐鱼肉酶解物添加量对带鱼鱼糜蛋白抗冻效果的影响[J].核农学报,2015,29(5):940-945
LIN Xian-ping, JI Zhen, SHU Yu-zhen, et al. Cryoprotective effects of mackerel hydrolysate addition on the *hairtail surimi* during frozen storage [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(5): 940-945

[14] Choi Y J, Park J W. Acid-aided protein recovery from enzyme-rich pacific whiting [J]. Journal of Food Science, 2002, 67(8): 2962-2967

[15] Ellman G L. Tissue sulfhydryl groups [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1959, 82(1): 70-77

[16] Oliver C N, Ahn B W, Moerman E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins [J]. Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(12): 5488-5491

[17] 朱文慧,宦海珍,步营,等.不同解冻方式对秘鲁鱿鱼肌肉保水性和蛋白质氧化程度的影响[J].食品科学,2017,38(11):6-11
ZHU Wen-hui, HUAN Hai-zhen, BU Ying, et al. Effect of different thawing methods on water holding capacity and protein oxidation in *Dosidicus gigas* [J]. Food Science, 2017, 38(11): 6-11

[18] Chelh I, Gatellier P, Sante-lhoutellier V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination [J]. Meat Science, 2006, 74(4): 681-683

[19] 崔燕,林旭东,康孟利,等.超高压协同冷冻脱壳对南美白对虾品质的影响[J].现代食品科技,2018,34(10):171-178
CUI Yan, LIN Xu-dong, KANG Meng-li, et al. Effect of high hydrostatic pressure combined with freezing on theshucking and quality of *Penaeus vannamei* [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(10): 171-178

[20] 陈少华,胡志和,吴子健,等.超高压技术对南美白对虾脱壳及加工性能的影响[J].食品科学,2014,35(22):11-16
CHEN Shao-hua, HU Zhi-he, WU Zi-jian, et al. Effect of ultra-high pressure treatment on shucking of *Penaeusvannamei boone* and its processing properties [J]. Food Science, 2014, 35(22): 11-16

[21] Tironi V, Lebail A, De Ilamballerie M. Effects of pressure-shift freezing and pressure-assisted thawing on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality [J]. Journal of Food Science, 2007, 72(7): C381-C387

[22] 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 and Emerging Technologies, 2004, 5(2): 161-169

[23] 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): R17-23

[24] 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 and Technology, 1998, 9(5): 197-203

[25] 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

[26] Zhang B, Fang C D, Hao G J, et al. Effect of kappa-carrageenan oligosaccharides on myofibrillar protein oxidation in peeled shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during long-term frozen storage [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 254-261

[27] Jia G L, Nirasawa S, Ji X H, et al. Physicochemical changes in myofibrillar proteins extracted from pork tenderloin thawed by a high-voltage electrostatic field [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 910-916

[28] Arnaud C, De lamballerie M, Pottier L. Effect of high pressure processing on the preservation of frozen and re-thawed sliced cod (*Gadus morhua*) and salmon (*Salmo salar*) fillets [J]. High Pressure Research, 2018, 38(1): 62-79

[29] Bolumar T, Andersen M L, Orlien V. Mechanisms of radical formation in beef and chicken meat during high pressure processing evaluated by electron spin resonance detection and the addition of antioxidants [J]. Food Chemistry, 2014, 150: 422-428

[30] Guyon C, Meynier A, De lamballerie M. Protein and lipid oxidation in meat: A review with emphasis on high-pressure treatments [J]. Trends in Food Science and Technology, 2016, 50: 131-143

[31] Zhou A M, Lin L Y, Liang Y, et al. Physicochemical properties of natural actomyosin from threadfin bream (*Nemipterus* spp.) induced by high hydrostatic pressure [J]. Food Chemistry, 2014, 156: 402-407

[32] Cheftel J C. Effects of high hydrostatic pressure on food constituents: An overview. In: High pressure and biotechnology [M]. Montrouge, France: John Libbey Eurotext Ltd., 1995

[33] Chapleau N, Mangavel C, Compoint J P, et al. Effect of high-pressure processing on myofibrillar protein structure [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2004, 84(1): 66-74

[34] Ko W C, Jao C L, Hsu K C. Effect of hydrostatic pressure on molecular conformation of tilapia (*Orechromis niloticus*) myosin [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(4): 1192-1195

[35] Alvarez P A, Ramaswamy H S, Ismail A A. High pressure gelation of soy proteins: Effect of concentration, pH and additives [J]. Journal of Food Engineering, 2008, 88(3): 331-340

[36] Benjakul S, Visessanguan W, Thongkaew C, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage [J]. Food Research International, 2003, 36(8): 787-795

[37] 廖彩虎,芮汉明,张立彦,等.超高压解冻对不同方式冻结的鸡肉品质的影响[J].农业工程学报,2010,26(2):331-337
LIAO Cai-hu, RUI Hanming, ZHANG Li-yan, et al. Effects of ultra-high pressure thawing on San Huang chicken quality by different frozen mothods [J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(2): 331-337

[38] 周果,杨文鸽,崔燕,等.超高压处理对三疣梭子蟹感官及其肌原纤维蛋白生化特性的影响[J].食品科学,2017,38(23): 269-274
ZHOU Guo, YANG Wen-ge, CUI Yan, et al. Effect of ultra-high pressure on sensory and biochemical properties ofmyofibrillar protein from *Portunus trituberculatus* [J]. Food Science, 2017, 38(23): 269-274

[39] Cheng L N, Sun D W, Zhu Z W, et al. Effects of high pressure freezing (HPF) on denaturation of natural actomyosin extracted from prawn (*Metapenaeus ensis*) [J]. Food Chemistry, 2017, 229:252-259

[40] Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Cryoprotective effect of gelatin hydrolysate from blacktip shark skin on surimi subjected to different freeze-thaw cycles [J]. LWT-Food Science and Technology, 2012, 47(2): 437-442

[41] Wang T T, Li Z X, Mi N S, et al. Effects of brown algal phlorotannins and ascorbic acid on the physiochemical properties of minced fish (*Pagrosomus major*) during freeze-thaw cycles [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2017, 52(3): 706-713

[42] Yamamoto K, Hayashi S, Yasui T. Hydrostatic pressure-induced aggregation of myosin molecules in 0.5 M KCl at pH 6.0 [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1993, 57(3): 383-389