

超高压处理对凡纳滨对虾冷藏期间 ATP 降解途径及其关联产物蓄积的影响

邱伟强^{1,2,3}, 杨雨微¹, 谢晶^{1,2,3*}, 陈舜胜^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学, 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306;

3. 上海海洋大学, 食品科学与工程国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 近年超高压技术在虾类的加工与保鲜方面的研究较多, 但有关超高压处理对虾类冷藏期间 ATP 的降解及其关联产物的蓄积影响却少有报道。为研究超高压处理对冷藏期间凡纳滨对虾中 ATP 关联产物变化的影响, 以不同超高压条件 (0、100、200、400 MPa) 对凡纳滨对虾处理后 (4±1)°C 贮藏。结果显示, 鲜活凡纳滨对虾体内 ATP 关联产物以 ATP 和 ADP 为主, 其含量分别为 8.10 和 2.11 μmol/g, 分别占总 ATP 关联产物含量的 73.51% 和 19.14%; 100 和 200 MPa 超高压处理后, 虾肉中 ATP 和 ADP 含量迅速下降, AMP 含量显著升高; 400 MPa 超高压处理后, ATP 和 ADP 含量较高, 在贮藏 1 d 后都迅速下降。在贮藏期间, 各处理组 AMP、IMP 和 HxR 含量都呈先上升后下降趋势, Hx 和 AdR 含量基本都呈线性上升趋势, 均未检测到 Ad; 其中 400 MPa 超高压处理组 ATP 关联产物降解最慢。超高压处理不会改变凡纳滨对虾 ATP 的降解途径, 但会影响 ATP 关联产物的降解速率。本研究为利用超高压技术辅助虾类保鲜, 最大限度地保持虾类风味和品质提供一定的理论指导。

关键词: 凡纳滨对虾; 超高压处理; ATP 关联产物; 蓄积

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是世界上养殖规模最大的虾类之一, 其产量在所有虾产品中占 70% 以上, 其营养丰富且肉质鲜美, 备受消费者的青睐^[1-2]。超高压处理 (ultra-high pressure treatment, UHP) 又称液态高静压处理, 是以液体作为压力传达介质, 采用 100~1 000 MPa 压力处理食物, 进而实现对食品的有效杀菌、钝酶, 减少热敏感性食物成分的损失, 能最大限度地保持食品原有的颜色、风味与营养, 是一种备受关注的非热食品加工技术^[3-4]。超高压技

术可改善虾类品质, 延长货架期。杨巨鹏等^[5]发现超高压处理在一定条件下有利于抑制凡纳滨对虾的褐变。刘书成等^[6]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。应用超高压技术可以提取虾体内的某些物质, 提高水产品加工副产物利用率。王菁^[7]利用超高压提取了虾加工副产物中的虾青素。超高压辅助协同处理可提升脱壳效果, 同时保持虾肉的良好品质。崔燕等^[8]使用超高压协同冷冻处理凡纳滨对虾脱壳, 可显著

收稿日期: 2021-04-28 修回日期: 2021-05-25

资助项目: 国家重点研发项目 (2019YFD0901602); 上海市科学技术委员会工程技术研究中心能力提升项目 (19DZ2284000); 上海海洋大学 2021 年度大创市级项目 (S202110264052)

第一作者: 邱伟强 (照片), 从事水产品加工与保鲜研究, E-mail: wqiu@shou.edu.cn

通信作者: 谢晶, E-mail: jxie@shou.edu.cn



提高虾仁的完整率与持水率。超高压技术可运用于生食水产品的杀菌消毒, 采用超高压协同保压时间及保压温度处理新鲜的凡纳滨对虾, 可有效实现鲜食的安全性^[9]。超高压技术也会对虾类品质造成不良影响, Jantakoson 等^[10]使用超高压处理斑节对虾 (*Penaeus monodon*), 虾肌球蛋白巯基氧化形成二硫键, 虾肉品质受到影响。超高压处理目前集中在对虾类的品质改良、物质提取、脱壳和杀菌保鲜等方面, 而超高压处理对虾类 ATP 降解途径及其关联产物的蓄积影响鲜有报道。

ATP 关联产物包括三磷酸腺苷 (ATP)、二磷酸腺苷 (ADP)、腺苷酸 (AMP)、肌苷酸 (IMP)、次黄嘌呤核苷 (HxR)、次黄嘌呤 (Hx)、腺苷 (AdR)、腺嘌呤 (Ad)、鸟苷酸 (GMP)、黄嘌呤 (Xt) 等, 它们与虾肉风味和新鲜度紧密相关。有研究表明虾类死后 ATP 同时存在 ATP→ADP→AMP→IMP→HxR→Hx→Xt (主要途径, 占 99% 以上) 和 ATP→ADP→AMP→AdR→HxR→Hx→Xt (次要途径, 占 1% 以下) 两条降解途径^[11]。ATP 关联产物也是虾类特殊风味的重要来源, IMP 和 AMP 是对虾类鲜味贡献最大的核苷酸^[12]; AMP 有抑制苦味的作用, HxR 和 Hx 是具有苦味的物质, Hx 与一些氨基酸及肽类共同作用也会产生苦味^[13-14]。已有研究发现, 超高压处理会影响熟虾仁核苷酸的降解及其风味^[15]。随着超高压压力和保压时间的增加, 超高压的钝酶效果也逐渐增大^[16-17]。

目前超高压处理对虾类 ATP 降解途径的影响尚未明确, 其对于虾类贮藏期间 ATP 关联产物的影响也有待进一步研究。为此, 本研究将凡纳滨对虾进行不同条件超高压处理后 (4±1)°C 贮藏, 研究冷藏期间 ATP 的降解及其关联产物的蓄积情况, 以期利用超高压技术辅助虾类保鲜, 最大限度地保持虾类风味和品质提供一定的理论指导。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与材料

实验用鲜活凡纳滨对虾购于上海市芦潮港水产市场, 充氧并迅速运回实验室后, 选取鲜活、完整、规格一致的对虾, 冰浴猝死后, 用吸水纸吸去表面水分, 真空包装后进行超高压处理, 再放入 (4±1)°C 冰箱中贮藏 9 d。每隔

24 h 取虾试样测定 ATP 关联产物。

Waters e2695 高效液相色谱系统 (配套 Waters 2996 二极管阵列检测器 PDA), 美国 Waters 公司; Milli-Q 超纯水装置, 美国 MILLIPORE 公司; Kjeltac 2300 全自动凯氏定氮仪, 瑞典 FOSS 公司; 分析天平 (METTLER TOLEDO AB104-N), 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司; AF-10 制冰机, 美国 SCOTSMAN 公司; DZ-400-2D 真空包装机, 温州市鹿城区黄龙华能机械厂; HPP.L2-600/2 超高压处理设备, 天津市华泰森森生物工程技术有限公司。

1.2 实验试剂

化学试剂: 磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、高氯酸 (PCA)、氢氧化钾、磷酸, 均为优级纯; 高氯酸等试剂均为分析纯; 甲醇为 HPLC 级, 均购于国药集团化学试剂有限公司。

标准试剂: ATP、ADP、AMP、IMP、HxR、Hx、AdR、Ad 等标准品均购于 Sigma 公司。

1.3 色谱条件

色谱条件主要参考 Qiu 等^[18], 色谱柱: 岛津 ODS-3 C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)。流动相: A 为物质的量浓度 20 mmol/L 磷酸二氢钾和 20 mmol/L 磷酸氢二钾 (体积分数为 1:1) 溶液, 用磷酸调 pH 至 5.8; B 为纯甲醇溶液。柱温: 30°C。进样量: 10 μL。检测波长: 254 nm。流速: 1.0 mL/min。梯度洗脱程序: 0~6 min, 缓冲液为 100% 流动相 A; 6~15 min, 流动相 B 线性增加至 8%; 15~20 min, 流动相 B 线性增加至 35%, 保持 2 min; 22~24 min, 将流动相 A 线性调到 100% 初始梯度状态, 色谱柱平衡 6 min 后进下一个样品。

1.4 ATP 测定样品前处理

ATP 关联产物的提取主要参考 Yokoyama 等^[19], 并略作修改。取鲜活凡纳滨对虾虾肉样品 5.0 g, 绞碎后加入预冷的 10 mL 体积分数 10% 的高氯酸 (PCA) 溶液并充分匀浆, 在 5 000 r/min 下冷冻离心 10 min, 收集上清液, 得到的沉淀物再次加入预冷的体积分数 5% PCA 溶液浸提、离心, 重复操作 1 次, 合并上清液。用 KOH 溶液中和并调 pH 值为 5.8。中和时, 先加入物质的量浓度为 10 mol/L 的 KOH 溶液, 待接近至所需的 pH 值时, 改用物质的量浓度为 1 mol/L 的 KOH 溶液调节。用已中和的体积分数 1% PCA

溶液 (pH=5.8), 定容到 50 mL 容量瓶中, 过滤除去结晶, 再通过 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 过滤时, 先将滤头前几滴液体排去后再装入进样瓶中, 剩余样品于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 测定时, 先将样品溶解后再上机分析。

1.5 超高压处理

将鲜活虾装入 PE/PA 复合真空包装袋 (17 cm \times 20 cm)。抽气速率 20 m³/h, 抽气时间 10 s, 电热封口时间 1.5 s 后。将真空包装好的虾置于超高压腔中 (高压介质为水), 在设定压力 (分别为 100、200 和 400 MPa) 下进行超高压处理, 保压时间为 10 min。每 100 MPa 的升压时间约为 7 s, 卸压处理在 10 s 内完成, 内腔温度维持在 10 $^{\circ}\text{C}$ 左右; 以未经过超高压处理的虾肉样品为对照。

1.6 数据分析

采用 SPSS 20.0 (SPSS Version 15.0, USA) 软件进行相关性分析, 表述形式为平均值 \pm SD, 差异性分析采用单因素方差分析方法 ($P<0.05$)。

2 结果

2.1 ATP 及其关联物标准品的 HPLC 测定

通过实验发现, 选取“色谱条件”中的参数进行测定, ATP 及其关联物在本色谱条件下 30 min 内得到有效分离, 且重现性好 (图 1)。

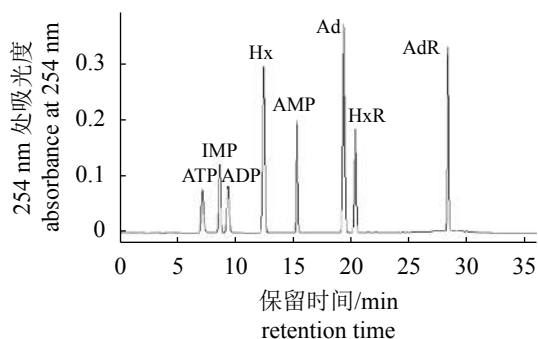


图 1 ATP 关联物标准品 HPLC 色谱图

Fig. 1 Chromatogram of ATP-related compounds standards

2.2 方法性能指标

线性范围与检测限 将含有 8 种核苷酸关联物的标准混合溶液用超纯水进行适当稀释, 使其物质的量浓度分别为 5、10、20、50、100、500 $\mu\text{mol/L}$, 按“色谱条件”中的参数进行液相色

谱测定, 每个浓度分别进样 3 次, 根据保留时间定性, 以所测色谱的峰面积或峰高与其相应的核苷酸浓度绘制标准工作曲线, 校准曲线使用线性相关系数 (R^2) 进行评价。根据信噪比, 当所测物质色谱峰的峰高为噪音 3 倍时 ($s/n=3$), 确定最低检测限 (LOD), 当色谱峰的峰高为噪音 10 倍时 ($s/n=10$), 确定为定量限 (LOQ)。

实验发现, 经回归分析, 8 种核苷酸关联物在 1~750 $\mu\text{g/mL}$ 范围内有良好的线性关系, 其线性相关系数 (R^2) 均大于 0.999 3 (表 1)。最低检测限为 0.02~0.08 $\mu\text{mol/L}$, 定量限为 0.08~0.32 $\mu\text{mol/L}$, 表明仪器灵敏度达到要求。

表 1 线性相关系数、检测限和定量限

Tab. 1 Correlation coefficients, limit of detection and limit of quantitation

化合物 compound	回归方程 regression equations	线性相关 系数(R^2) correlation coefficient	检测限/ ($\mu\text{mol/L}$) LOD	定量限/ ($\mu\text{mol/L}$) LOQ
ATP	$y = 13\ 969x + 4\ 345$	0.999 4	0.08	0.32
IMP	$y = 10\ 834x + 6\ 537$	0.999 6	0.06	0.20
ADP	$y = 14\ 129x + 6\ 989$	0.999 9	0.08	0.28
Hx	$y = 30\ 770x + 5\ 205$	0.999 9	0.03	0.10
AMP	$y = 17\ 905x + 3\ 929$	0.999 9	0.05	0.15
Ad	$y = 54\ 018x + 10\ 257$	0.999 8	0.04	0.12
HxR	$y = 14\ 567x + 4\ 558$	0.999 9	0.06	0.20
AdR	$y = 31\ 386x + 8\ 168$	0.999 9	0.02	0.08

精密度 选择日内和日间的变化作为精密度评价试验, 取适量标准品加入到 5.0 g 虾肉样品中, 分别加入适当浓度的混合标准溶液, 按“ATP 测定样品前处理”中所述步骤进行样品处理, 对同一样品溶液在 1 d 之内进行 5 次重复试验来分析日内变化; 对同一样品溶液每天测 1 次, 连续测定 5 d, 分析日间的变化。由表 2 可知, 日内浓度变化的 RSD 为 1.2%~3.4%, 日间浓度变化的 RSD 为 1.5%~5.6%, 表明方法有良好的灵敏度。

回收率 本实验采用 PCA 提取虾肉中 ATP 关联物, 再进行后续的研究。取适量标准品加入到 5.0 g 样品中, 分别加入高中低 3 种浓度的混合标准溶液, 按“ATP 测定样品前处理”中所述步骤进行样品处理, 每组 3 个平行, 用外

表 2 日内和日间精密度试验

化合物 compound	日内 intra-day		日间 inter-day	
	浓度/ ($\mu\text{mol/L}$)	相对标准 偏差/% RSD	浓度/ ($\mu\text{mol/L}$)	相对标准 偏差/% RSD
	concentration	RSD	concentration	RSD
ATP	155.7 \pm 1.5	2.1	153.4 \pm 2.5	2.5
IMP	452.7 \pm 2.4	2.3	448.3 \pm 5.3	1.5
ADP	201.7 \pm 3.1	1.8	199.5 \pm 4.2	3.1
Hx	198.1 \pm 3.6	1.2	196.3 \pm 6.1	5.4
AMP	223.9 \pm 4.7	2.8	224.4 \pm 4.8	4.5
Ad	100.3 \pm 3.3	2.5	102.5 \pm 2.0	5.4
HxR	278.2 \pm 2.8	1.3	276.6 \pm 4.9	3.6
AdR	139.2 \pm 2.4	1.6	137.8 \pm 5.4	4.3

标法计算其实际含量和加标平均回收率, 回收率的计算方法:

回收率 (%)=(实际测得量-样品原有量)/添加量 \times 100%

加标后, 8种核苷酸关联物分析检测的平均回收率分别为72.5%~110.0%, RSD分别为4.2%~8.7% (表3), 表明该方法结果稳定可靠。ATP、ADP、AMP、IMP、HxR和AdR的回收率都在82.7%~110.0%, 而Ad、Hx和Xt的回收率都低于83.0%。回收率较低可能是在样品用酸提取处理时, 这些物质与蛋白质相结合, 并一起被离心, 或是在用KOH溶液中和提取液时和所产生的高氯酸钾一起沉淀了^[20]。

2.3 超高压处理对鲜活凡纳滨对虾肌肉 ATP 关联产物降解的影响

ATP及其关联产物是虾肉核苷酸化合物的重要组成部分, 其降解或生成率随着贮藏时间而变化, 是一个相对复杂的动态过程^[21]。实验发现, 鲜活凡纳滨对虾肌肉中的核苷酸成分主要是ATP和ADP, 其中ATP含量为8.10 $\mu\text{mol/g}$, ADP含量为2.11 $\mu\text{mol/g}$; 此外还检测到少量的AMP, 含量为0.82 $\mu\text{mol/g}$; IMP、AdR、HxR和Hx等核苷酸都未检出 (图2), 表明虾的活力较好。100 MPa处理后, 虾肉中ATP、ADP和AMP含量分别为0.50、1.87和9.25 $\mu\text{mol/g}$; IMP、AdR、HxR和Hx等核苷酸都未检出。200 MPa处理后, 虾肉中ATP、ADP含量分别为0.50和1.85 $\mu\text{mol/g}$,

表 3 回收率试验

化合物 compound	加标量/ ($\mu\text{g/g}$) standard	实际测出量/ ($\mu\text{g/g}$) found	平均 回收率/% mean recovery	相对标准 偏差/% RSD
ATP	25.0	21.3 \pm 2.0	85.2	5.7
	100.0	93.4 \pm 0.9	93.4	8.6
	400.0	359.5 \pm 2.5	89.9	5.4
IMP	25.0	27.5 \pm 0.5	110.0	8.5
	100.0	94.9 \pm 2.5	94.9	6.3
	400.0	416.2 \pm 1.3	104.1	5.9
ADP	25.0	25.5 \pm 1.7	102.0	5.3
	100.0	86.2 \pm 2.2	86.2	7.5
	400.0	340.8 \pm 1.8	85.2	8.0
Hx	25.0	27.0 \pm 1.8	83.0	7.2
	100.0	88.6 \pm 2.9	82.6	6.4
	400.0	376.8 \pm 1.4	79.2	5.4
AMP	25.0	24.7 \pm 1.2	98.8	5.3
	100.0	85.1 \pm 1.9	85.1	7.5
	400.0	356.8 \pm 0.6	89.2	8.0
Ad	25.0	23.37 \pm 0.7	81.5	6.0
	100.0	89.2 \pm 1.2	79.2	7.2
	400.0	362.4 \pm 2.5	80.6	6.4
HxR	25.0	24.5 \pm 0.9	98.0	5.4
	100.0	82.2 \pm 0.5	82.2	5.7
	400.0	380.1 \pm 0.7	95.1	8.7
AdR	25.0	23.17 \pm 1.5	82.7	5.4
	100.0	94.6 \pm 1.5	94.6	8.0
	400.0	360.4 \pm 1.5	90.1	7.1

AMP含量为9.23 $\mu\text{mol/g}$; IMP、AdR、HxR和Hx等核苷酸也都未检出。结果显示, 100和200 MPa超高压处理后, 虾肉中ATP和ADP含量较对照组显著降低 ($P<0.05$), 相应AMP含量显著升高 ($P<0.05$), 虾类贮藏期间ATP经ADP降解为AMP, 使得AMP有一定的蓄积^[11]。

400 MPa处理组ATP含量显著高于对照组 ($P<0.05$), 含量为10.72 $\mu\text{mol/g}$; 此外还检测到少量的ADP, 含量为0.40 $\mu\text{mol/g}$; AMP、IMP、AdR、HxR和Hx等核苷酸未检出, 表明虾肉中ATP基

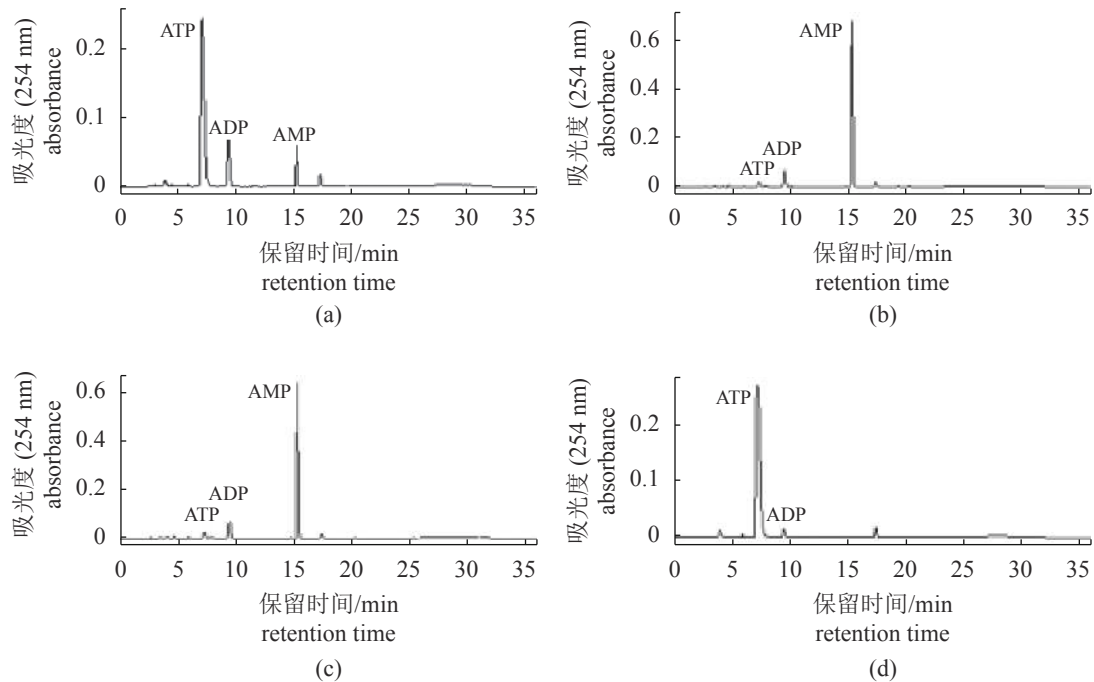


图 2 不同压力对凡纳滨对虾 ATP 关联产物的影响

(a) 对照组, (b) 100 MPa 处理组, (c) 200 MPa 处理组, (d) 400 MPa 处理组

Fig. 2 Effects of various ultra-high pressure (UHP) treatments on ATP related compounds of *L. vannamei*

(a) control group, (b) 100 MPa treatment group, (c) 200 MPa treatment group, (d) 400 MPa treatment group

本没有降解, 可能是 400 MPa 可以抑制 ATP 降解酶 (ATPase) 活性, 300 MPa 以上的压力会显著降低鳙 (*Aristichthys nobilis*) 肌肉的 Ca^{2+} -ATPase 活性^[16]。

2.4 超高压处理后凡纳滨对虾 (4±1) °C 贮藏期间 ATP 关联产物的变化

(4±1) °C 贮藏期间, 对照组与 100、200 MPa 处理组的变化趋势较为相似, 贮藏 1 d 后, 虾肉中 ADP 含量迅速下降, 之后都保持平稳状态。400 MPa 处理组中, ADP 贮藏 1 d 后上升到最高含量 (0.78 μmol/g), 之后开始下降, 400 MPa 处理组的 ADP 先上升, 可能由于超高压处理降低了酶活性, 使得 ATP 分解为 ADP 的时间延长 (图 3-b)。后期迅速下降可能由于 400 MPa 处理组对肌肉细胞破坏程度最大, ADP 酶能更迅速进入整个细胞组织降解 ADP。贮藏 2 d 后, 各组 ADP 的浓度均处于 1.00 μmol/g, 说明 ADP 的生成和降解十分迅速。

(4±1) °C 贮藏期间, 100 和 200 MPa 处理组 AMP 含量变化趋势相似, 均呈下降趋势, 在贮藏第 2 天降解速率最快, 第 3 天之后开始缓慢下降 (图 3-c); 而对照组和 400 MPa 处理组 AMP 含量先升高后下降, 贮藏 1 d 后含量达到最高, AMP

含量分别为 9.2 和 7.3 μmol/g, 此后 AMP 含量持续下降。

(4±1) °C 贮藏期间, 所有组的 IMP 含量都呈先上升后下降的趋势, 对照组含量的上升和下降速率都较快, 对照组在第 3 天时, IMP 含量达到最高, 为 4.99 μmol/g, 此后开始迅速下降 (图 3-d)。超高压处理组在贮藏 5 d 时 IMP 含量达到最高, 为 5.24 μmol/g; IMP 含量下降速率都比对照组慢, 其中 400 MPa 处理组下降最慢。

HxR 是以 IMP 为底物, 经 5'-核苷酸酶作用产生^[22]。在 (4±1) °C 贮藏期间, 各处理组 HxR 含量均呈先上升后下降的趋势。100 和 200 MPa 处理组 HxR 含量在贮藏期前 6 天相差不显著 ($P>0.05$), 在第 6 天达到最大值, 分别为 2.13 和 1.98 μmol/g, 随后含量开始减少 (图 3-e); 在贮藏期的第 9 天, HxR 含量达到最低, 分别为 1.12 和 1.74 μmol/g, 相比最高含量分别降低了 47% 和 12%。400 MPa 处理组在前 8 天的贮藏期内, HxR 呈上升趋势, 含量为 2.27 μmol/g, 随后 1 d 含量迅速下降至 1.87 μmol/g, 1 d 内减少了 17.6%。

在第 1 天时, 0、100、200 和 400 MPa 处理组的 AdR 含量分别为 0.030、0.048、0.032 和 0.027

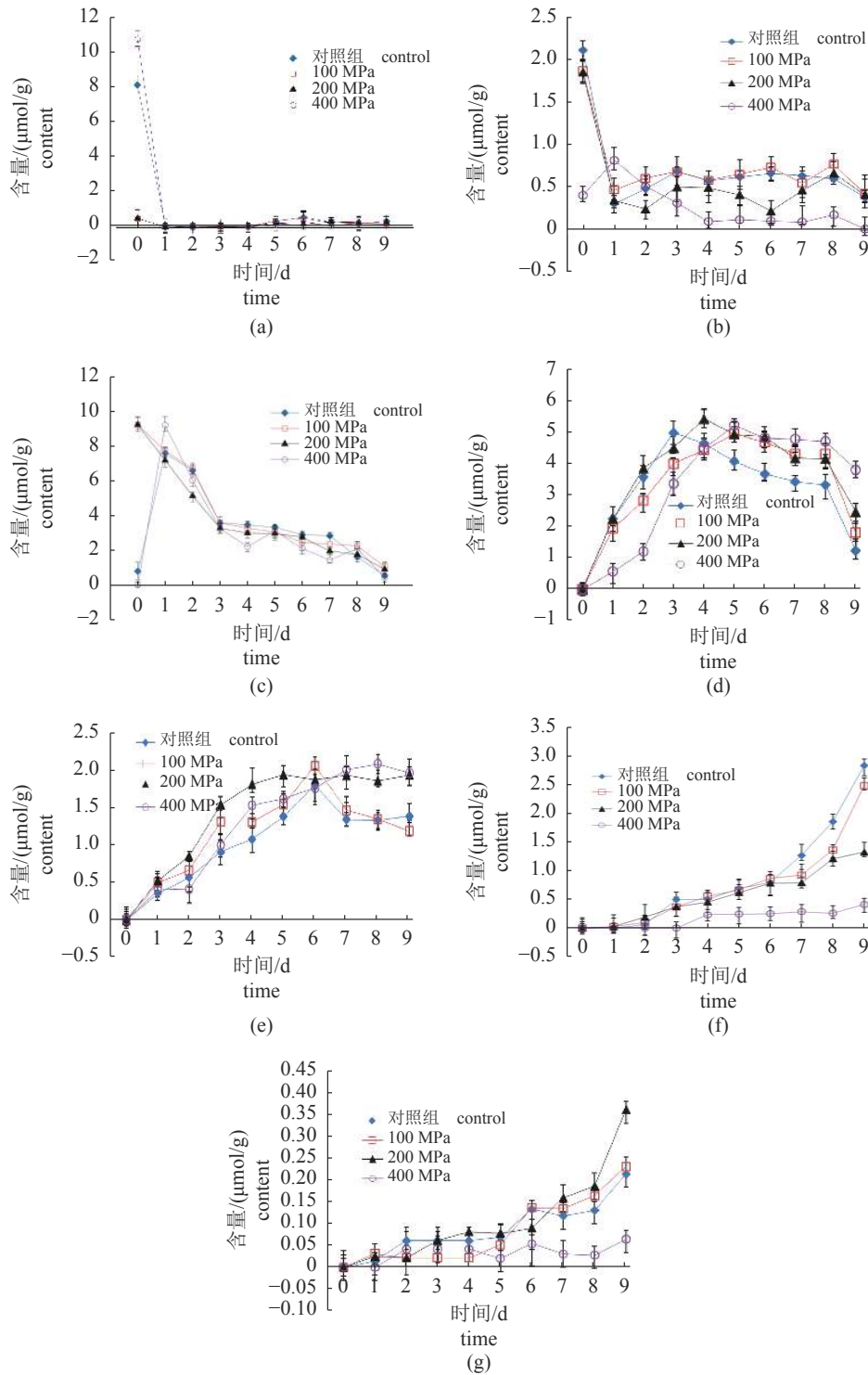


图 3 不同超高压处理组在 (4±1) °C 贮藏期间 ATP 关联产物含量的变化

(a) ATP, (b) ADP, (c) AMP, (d) IMP, (e) HxR, (f) Hx, (g) AdR

Fig. 3 Changes of ATP-related compounds levels during chilled storage at (4±1) °C under different ultra-high pressure (UHP) treatments

(a) ATP, (b) ADP, (c) AMP, (d) IMP, (e) HxR, (f) Hx, (g) AdR

μmol/g, ATP 降解为 ADP, 生成 AMP 的速率非常快, 在贮藏 1 d 时就有少量的 AdR 出现。虽然

贮藏期间 AdR 含量随着时间延长而增加, 但各处理组 AdR 的含量一直于较低水平, 贮藏 9 d 后,

200 MPa 处理组的 AdR 含量最高, 为 0.38 $\mu\text{mol/g}$, 而 400 MPa 处理组的 AdR 含量最低, 为 0.06 $\mu\text{mol/g}$, 对照组和 100 MPa 处理组含量相似, 无显著性差异 ($P>0.05$), 可说明处理压力的大小与 AdR 含量高低并不成正比 (图 3-g)。

随着贮藏时期的延长, Hx 含量呈线性上升, 且含量的高低与所受超高压压力大小成反比 (图 3-f)。各处理组在前 2 天, Hx 的含量较少, 在第 2 天含量为 0.2 $\mu\text{mol/g}$; 但在第 5 天时, 各处理组的 Hx 含量呈不同速率上升。在贮藏期的第 9 天, 对照组的 Hx 含量为 1.14 $\mu\text{mol/g}$, 而 400 MPa 处理组的 Hx 含量仅为 0.38 $\mu\text{mol/g}$, 说明 400 MPa 处理组可以显著抑制 Hx 的生成。

3 讨论

不同的超高压条件 (100、200 和 400 MPa) 对凡纳滨对虾贮藏期间 ATP 关联产物的降解有不同的影响, 超高压处理 100 和 200 MPa 可促进凡纳滨对虾贮藏期间 ATP 和 ADP 的降解, 400 MPa 处理组 ATP 及其相关产物降解的速率显著低于其他组, 400 MPa 处理组能显著抑制 ATP 的降解, 使得 ATP 蓄积。ATP 和 ADP 贮藏 1 d 后都迅速下降, AMP、IMP 和 HxR 在贮藏期间都呈先上升后下降的趋势, Hx 和 AdR 基本都呈线性上升趋势, 未检出 Ad。

ATP 和 ADP 是虾类重要的能量物质, 其含量高说明虾的活力较好, 且 ATP 关联产物分析方法恰当。AMP 呈下降趋势, 这是由于 AMP 被 AMP 脱氨酶分解成 IMP。这与邱伟强等^[11]的实验结果相似, 斑节对虾和罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的肌肉中 AMP 含量都很低; 超高压处理下 IMP 的下降速率降低, 其中 400 MPa 处理组下降最慢, 这可能是由于 400 MPa 对 AMP 脱氨酶活性和对微生物的破坏作用最强, 从而抑制了 AMP 以及 IMP 的降解。IMP 是重要的呈味核苷酸, 因此超高压处理可以有效地保持贮藏期间虾肉的风味。吴依蒙等^[23]发现牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 贮藏 1 d 后 IMP 含量迅速升高, 此后 10 d 左右时间内维持在较高的水平并处于积蓄状态, 10 d 后 IMP 开始急剧降解 ($P<0.05$), 这与本研究结论相似, IMP 作为水产品中重要的鲜味物质, 在冷藏过程中有积累的过程, 即经过适当时间贮藏的虾肉比活虾更加鲜美。HxR

含量变化规律与邱伟强等^[11]研究发现冷藏期间斑节对虾和罗氏沼虾虾肉的 HxR 的含量变化相似, 都呈先上升后下降的趋势。HxR 含量上升可能是因为 IMP 在 5'-核苷酸酶的作用下发生脱磷酸反应, 而其含量下降则是由于虾在贮藏后期微生物大量繁殖产生的代谢产物以及内源酶共同作用加速 HxR 降解所致, 同时一些低温菌在冷藏条件下十分活跃, 造成了后期 HxR 快速下降。Hx 被认为是导致水产品产生异味的物质, 它随着贮藏时间的延长而上升, 导致虾体腐败味的产生, Hx 含量的增加可能是由于虾体内微生物繁殖将肌苷分解, 是自溶腐败和微生物腐败的开始^[24-25], 戚晓玉等^[26]认为 Hx 的水平可以作为日本沼虾 (*M. nipponense*) 腐败的化学指标, 而本研究发现超高压 400 MPa 处理可以显著抑制 Hx 的生成。

凡纳滨对虾 AMP 降解可能存在两种途径, 一是在 AMP 脱氨酶催化下降解产生 IMP, 二是在 5'-核苷酸酶催化下生成 AdR^[27]。在贮藏过程中, 凡纳滨对虾体内存在少量 AdR, 可以初步确定凡纳滨对虾在贮藏期内 ATP 同时存在 ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow IMP \rightarrow HxR \rightarrow Hx 和 ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow AdR \rightarrow HxR \rightarrow Hx 两条降解途径, 这与已发现虾类降解途径相同。研究表明, 超高压处理不会影响 ATP 的降解途径, 但会影响 ATP 关联产物的降解速率。

参考文献 (References):

- [1] Chen K, Li E C, Xu C, *et al.* Growth and metabolomic responses of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) to different dietary fatty acid sources and salinity levels[J]. *Aquaculture*, 2019, 499: 329-340.
- [2] 农业部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴-2017[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 17-45. Fisheries Administration, Ministry of Agriculture. China Fishery Statistical Yearbook-2017[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2017: 17-45 (in Chinese).
- [3] Liang Z H, Li X P, Ru H L, *et al.* Effect of ultra-high pressure treatment on the quality of persimmon pulp[J]. *Asian Agricultural Research*, 2018, 10(7): 75-80.
- [4] 骆方杰. 超高压技术在水产品保鲜加工中的应用分析[J]. *食品安全导刊*, 2020(9): 154. Luo F J. Application analysis of ultra-high pressure technology in aquatic product preservation and processing[J].

- China Food Safety Magazine, 2020(9): 154(in Chinese).
- [5] 杨巨鹏, 洪梦蓉, 雷叶斯, 等. 超高压处理对南美白对虾褐变的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(3): 676-682.
- Yang J P, Hong M R, Lei Y S, *et al.* Effects of ultrahigh pressure treatment on browning of *Penaeus vannamei*[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2019, 10(3): 676-682(in Chinese).
- [6] 刘书成, 邓倩琳, 黄万有, 等. 超高压处理对凡纳滨对虾虾仁蛋白质和微观结构的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(6): 877-887.
- Liu S C, Deng Q L, Huang W Y, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure on protein and microstructure of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(6): 877-887(in Chinese).
- [7] 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).
- [8] 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 Y, Lin X D, Kang M L, *et al.* Effect of high hydrostatic pressure combined with freezing on the shucking and quality of *Penaeus vannamei*[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(10): 171-178(in Chinese).
- [9] 李沛生, 黄雅婷, 阮征. 非热杀菌技术在生食水产品中的应用研究进展[J/OL]. 水产学报: 1-15[2021-03-25]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20200703.1029.004.html>. DOI: 10.11964/jfc.20190911979.
- Li B S, Huang Y T, Ruan Z. Application of non-thermal sterilization technologies in raw ready-to-eat aquatic products[J/OL]. *Journal of Fisheries of China*: 1-15[2021-03-25]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20200703.1029.004.html>. DOI: 10.11964/jfc.20190911979. (in Chinese).
- [10] 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.
- [11] 邱伟强, 谢晶, 陈舜胜, 等. 虾类冷藏期间ATP关联产物含量的变化及其降解途径的研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(10): 103-108, 181.
- Qiu W Q, Xie J, Chen S S, *et al.* Changes of ATP-related compounds contents and its degradation pathways in shrimps during chilled storage[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(10): 103-108, 181(in Chinese).
- [12] 贡三月, 邱伟强, 蒋晨毓, 等. 凡纳滨对虾虾肉和虾头中风味物质的比较[J]. 水产学报, 2017, 41(6): 907-918.
- Yun S Y, Qiu W Q, Jiang C Y, *et al.* Comparison of flavor compounds in meat and head of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(6): 907-918(in Chinese).
- [13] 陈实, 施文正, 汪之和. 青鱼背肉、腹肉和尾肉不同风味成分的比较[J]. 渔业现代化, 2021, 48(1): 57-66.
- Chen S, Shi W Z, Wang Z H. Comparison of flavor of dorsal meat, belly meat and tail meat of *Mylopharyngodon piceus*[J]. *Fishery Modernization*, 2021, 48(1): 57-66(in Chinese).
- [14] Lawal A T, Adeloju S B. Mediated xanthine oxidase potentiometric biosensors for hypoxanthine based on ferrocene carboxylic acid modified electrode[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(4): 2982-2987.
- [15] 杨阳, 施文正, 汪之和, 等. 超高压对南美白对虾熟制虾仁风味的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(18): 87-92, 98.
- Yang Y, Shi W Z, Wang Z H, *et al.* Effect of ultra-high pressure on the flavor of cooked white shrimp meat[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(18): 87-92, 98(in Chinese).
- [16] 雒莎莎, 童彦, 朱瑞, 等. 超高压处理对鳙品质的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(12): 1897-1903.
- Luo S S, Tong Y, Zhu R, *et al.* Impact of high pressure processing on the quality of *Aristichthys nobilis* muscle[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(12): 1897-1903(in Chinese).
- [17] 李秀霞, 盛云婷, 王桃桃, 等. 超高压处理对南美白对虾多酚氧化酶活性和品质的影响[J]. 食品工业, 2019, 40(2): 110-114.
- Li X X, Sheng Y T, Wang T T, *et al.* Effect of ultrahigh pressure treatment on polyphenol oxidase activity and quality of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Food Industry*, 2019, 40(2): 110-114(in Chinese).

- [18] Qiu W Q, Chen S S, Xie J, *et al.* Analysis of 10 nucleotides and related compounds in *Litopenaeus vannamei* during chilled storage by HPLC-DAD[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 67: 187-193.
- [19] Yokoyama Y, Sakaguchi M, Kawai F, *et al.* Changes in concentration of ATP-related compounds in various tissues of oyster during ice storage[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1992, 58(11): 2125-2136.
- [20] Huertas-Pérez J F, Heger M, Dekker H, *et al.* Simple, rapid, and sensitive liquid chromatography-fluorescence method for the quantification of tranexamic acid in blood[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1157(1-2): 142-150.
- [21] 孙鲁浩, 毛伟杰, 吉宏武, 等. 贮藏时间和加热温度对凡纳滨对虾虾仁ATP关联化合物及品质的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2020, 40(1): 78-86.
Sun L H, Mao W J, Ji H W, *et al.* Effects of storage period and heating time on ATP-related compounds and quality changes in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2020, 40(1): 78-86(in Chinese).
- [22] 薛鹏. 鲟鱼贮藏过程鲜度变化及肌苷酸降解影响因素的研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2019.
Xue P. Freshness change and factor affecting IMP degradation during sturgeon storage[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2019 (in Chinese).
- [23] 吴依蒙, 陈舜胜, 今野久仁彦. 牙鲆在保藏过程中影响ATP关联化合物降解的因素[J]. *水产学报*, 2016, 40(7): 1114-1122.
Wu Y M, Chen S S, Konno K. Factors affecting change of ATP related compounds' decomposition in stored bastard halibut[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(7): 1114-1122(in Chinese).
- [24] Zhang R J, Qiu W Q, Zhang M S, *et al.* Effects of different heating methods on the contents of nucleotides and related compounds in minced Pacific white shrimp and Antarctic krill[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 87: 142-150.
- [25] Li D P, Qin N, Zhang L T, *et al.* Degradation of adenosine triphosphate, water loss and textural changes in frozen common carp (*Cyprinus carpio*) fillets during storage at different temperatures[J]. *International Journal of Refrigeration*, 2019, 98: 294-301.
- [26] 戚晓玉, 李燕, 周培根. 日本沼虾冰藏期间ATP降解产物变化及鲜度评价[J]. *水产学报*, 2001, 25(5): 482-484.
Qi X Y, Li Y, Zhou P G. Changes in content of ATP related compounds in the muscle of *Macrobrachium nipponense* during ice storage and evaluation of the freshness[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 25(5): 482-484(in Chinese).
- [27] 王晓燕, 潘晓炆, 焦阳, 等. 通电加热过程中凡纳滨对虾肉糜的游离氨基酸和核苷酸含量变化研究[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(20): 71-75, 87.
Wang X Y, Pan X Y, Jiao Y, *et al.* Changes of free amino acid and nucleotide in minced shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during ohmic heating[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(20): 71-75, 87(in Chinese).

Effects of ultra-high pressure treatment on ATP degradation pathway and accumulation of related compounds in *Litopenaeus vannamei* during chilled storage

QIU Weiqiang^{1,2,3}, YANG Yuwei¹, XIE Jing^{1,2,3*}, CHEN Shunsheng^{1,2,3}

(1. College of Food Sciences and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Aquatic Products Processing and Storage Engineering Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Experimental Teaching Demonstration Center for Food Science and Engineering, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In recent years, there have been many studies on the processing and preservation of shrimp by Ultra-High Pressure (UHP) technology, but few study reports on the degradation of ATP and the accumulation of its related products during UHP chilled storage. In order to explore the influence of ultra-high pressure treatment on the changes of ATP related compounds in *Litopenaeus vannamei* during chilled storage, different pressure conditions (0, 100, 200, 400 MPa) were used to store *L. vannamei* at (4±1)°C after treatment. The results showed that the main compounds were ATP and ADP, and the contents were 8.10 μmol/g and 2.11 μmol/g respectively, accounting for 73.51% and 19.14% of the total ATP-related compounds in *L. vannamei*. After being treated at 100 and 200 MPa, the contents of ATP and ADP in shrimp meat decreased rapidly, while the content of AMP increased significantly. The contents of ATP and ADP were higher after 400 MPa treatment, then decreased rapidly after 1 day storage. During storage, AMP, IMP and HxR of all treatment groups showed a trend of first increase and then decrease, while Hx and AdR basically showed a linear trend of increase, also Ad was not detected in all treatment groups. The degradation of ATP-related compounds in the 400 MPa treatment group was the slowest. The study indicated that ultra-high pressure(UHP) treatment had no effect on the ATP degradation pathway in *L. vannamei*, but it affected the degradation rate of ATP-related compounds. This study provides some theoretical basis for keeping shrimp fresh by using ultra-high pressure technology and ensuring shrimp favor and quality to the maximum extent.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; ultra-high pressure treatment; ATP-related compounds; accumulation

Corresponding author: XIE Jing. E-mail: jxie@shou.edu.cn

Funding projects: China National Key R & D Program (2019YFD0901602); Shanghai Municipal Science and Technology Project to Enhance the Capabilities of the Platform (19DZ2284000); Shanghai Ocean University's 2021 Grand Innovation Project(S202110264052)