

# 高密度 CO<sub>2</sub> 处理虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度与凝胶强度

刘书成, 郭明慧, 邓倩琳, 刘媛, 刘蒙娜, 吉宏武, 毛伟杰, 高静

(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,  
广东普通高校水产品深加工重点实验室, 湛江 524088)

**摘要:** 为了探讨高密度 CO<sub>2</sub> (dense phase carbon dioxide, DPCD) 诱导蛋白质形成凝胶的机制, 以凡纳滨对虾肌球蛋白为研究对象, 研究了 DPCD 处理压强、温度和时间对虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度和对虾肉糜凝胶强度的影响。研究表明: DPCD 处理压强和温度对虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界浓度有显著影响, 处理时间对肌球蛋白溶液形成凝胶的临界浓度无显著影响, 但增加处理时间, 可以形成更加紧实的凝胶。在 40 °C 和 5~30 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 14 mg/mL, 在 50 °C 和 5、10 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 12 mg/mL, 在 50 °C 和 15~30 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 11 mg/mL, 在 60 °C 和 5~30 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 10 mg/mL。DPCD 处理压强和温度对虾肉糜的凝胶强度也具有显著影响 ( $P<0.05$ ), 且随着压强增加和温度升高, 虾肉糜凝胶强度呈增加趋势 ( $P<0.05$ ); 在 50 °C 和 25 MPa 下处理虾肉糜 20 min, 形成的凝胶强度较好, 达到了 (14.28±0.57) N·mm。DPCD 处理温度越高, 虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度就越低, 而虾肉糜形成凝胶的强度越高; DPCD 处理压强越高, 虽然对虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度影响较小, 但能使虾肌球蛋白和虾肉糜形成凝胶的强度增加。从分析中还可以推断, DPCD 低压 (5~10 MPa) 诱导虾肉糜形成凝胶主要是热效应的作用, DPCD 较高压强 (>10 MPa) 诱导虾肉糜形成凝胶是热和 CO<sub>2</sub> 分子效应的共同作用。研究结果为进一步阐明 DPCD 诱导蛋白质形成凝胶的机制提供了基础数据。

**关键词:** 压强; 蛋白; 凝胶化; 高密度 CO<sub>2</sub>; 临界浓度; 肌球蛋白

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2017.07.039

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2017)-07-0295-07

刘书成, 郭明慧, 邓倩琳, 刘媛, 刘蒙娜, 吉宏武, 毛伟杰, 高静. 高密度 CO<sub>2</sub> 处理虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度与凝胶强度[J]. 农业工程学报, 2017, 33(7): 295—301. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2017.07.039 <http://www.tcsae.org>  
Liu Shucheng, Guo Minghui, Deng Qianlin, Liu Yuan, Liu Mengna, Ji Hongwu, Mao Weijie, Gao Jing. Least gelation concentration and gel strength of myosin from *Litopenaeus vannamei* induced by dense phase carbon dioxide[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2017, 33(7): 295—301. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2017.07.039 <http://www.tcsae.org>

## 0 引言

肌球蛋白是动物肌肉组织中含有最高的蛋白质, 它具有较强的凝胶形成能力。肌球蛋白形成凝胶的能力与很多因素密切相关, 如蛋白质质量浓度、离子强度、pH 值、肌肉类型和品质、处理方式、食品添加剂等<sup>[1-3]</sup>。其中, 蛋白质质量浓度是影响肌球蛋白形成凝胶的一个非常重要的因素。一般来说, 蛋白质质量浓度越高, 其形成凝胶的能力越大, 其质构特性也越好。当蛋白质质量浓度较低时, 即使采用高强度的处理条件, 蛋白质也可能不会形成凝胶; 但随着蛋白质质量浓度的增加, 分子间的距离变小, 蛋白质分子内部和蛋白质分子间的相互作用增强, 形成凝胶的能力就大大增强, 其凝胶强度也大大增加<sup>[1-6]</sup>。已有研究表明: 在热诱导肌球蛋白形成凝

胶过程中, 蛋白质质量浓度对其凝胶强度和保水性的影响是线性的, 其原因可能是高浓度肌球蛋白形成的纤维会相互交织成一个紧密的立体网状结构<sup>[7]</sup>。

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 是中国对虾养殖产量最高的品种, 因肉质鲜美和营养丰富而深受消费者的喜爱, 除了鲜食之外, 主要用于冷冻加工, 产品形式单一。近年来, 对虾即食调理食品受到消费者和研究者的关注, 而虾肉丸和虾肉肠是虾类高附加值即食调理的重要产品之一。目前, 虾肉丸和虾肉肠的生产已具有机械化的连续生产线, 但是虾肉蛋白形成凝胶的技术仍然是采用传统的热诱导, 而热处理会损失较多的其色、香、味、功能性及营养等成分。高密度 CO<sub>2</sub> (dense phase carbon dioxide, DPCD) 技术是一种非常有前景的非热食品加工技术, 最初应用于食品的杀菌和钝酶, 但在研究中发现一定强度的 DPCD 处理也能使食品的蛋白质发生变性<sup>[8-11]</sup>, 甚至使蛋白质形成凝胶<sup>[12-16]</sup>。本课题组前期研究表明: DPCD 能够诱导凡纳滨对虾肉糜形成凝胶, 而且制备凝胶的感官特性、营养特性、微观结构和质构特性等都显著优于热诱导的<sup>[16]</sup>。为了阐明 DPCD 诱导虾肉糜形成凝胶的机制, 本研究以凡纳滨对虾肌球蛋白为对象,

收稿日期: 2016-07-12 修订日期: 2017-04-09

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

作者简介: 刘书成, 男, 博士, 教授, 研究方向为水产品非热加工技术基础理论与应用。湛江 广东海洋大学食品科技学院, 524088。

Email: Lsc771017@163.com

探讨 DPCD 处理压强、温度和处理时间对肌球蛋白形成凝胶的临界浓度和虾肉糜凝胶强度的影响,为利用 DPCD 开发优质的肉类凝胶制品奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*), 规格 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。用自来水清洗后, 选取完整、大小均一个体, 去头、去壳、去肠腺, 待用。胶原蛋白肠衣 (直径 20 mm), 购于河北保定天泰肠衣食品有限公司。

### 1.2 试剂与仪器

试剂: Lowry 法蛋白质含量测定试剂盒购于上海荔达生物科技有限公司; 5-三磷酸腺苷二钠盐 (adenosine triphosphate, ATP)、二硫代苏糖醇 (DL-dithiothreitol, DTT)、牛血清蛋白标准购于广州市齐云生物技术有限公司; 碘盐, 市售; 其他化学试剂均为分析纯。CO<sub>2</sub> 气体纯度为 99.9%, 购于湛江氧气厂。

仪器与设备: HA221-50-10-C 型超临界装置 (南通华安超临界萃取有限公司), UX2200H 电子天平 (日本岛津仪器有限公司), HH-8 数显恒温水浴箱 (常州澳华仪器有限公司), PHS-25 数显 pH 计 (上海精密科学仪器有限公司雷磁仪器厂), CR22G II 型高速冷冻离心机 (日本日立公司), UV-2550 型紫外可见分光光度计 (岛津仪器 (苏州) 有限公司), AUY220 型分析天平 (日本岛津仪器有限公司), TMS-Pro 型物性分析质构仪 (美国 FTC 公司) 等。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 肌球蛋白的提取

肌球蛋白的提取参考文献[17]。采用改良 Lowery 法<sup>[18]</sup>测定蛋白质浓度。

#### 1.3.2 高密度 CO<sub>2</sub> 处理

间歇式 DPCD 处理流程参考文献[19]。

#### 1.3.3 形成凝胶临界浓度的测定

形成凝胶临界浓度的测定参考文献[20-21], 并稍有改动。将提取的肌球蛋白溶液用缓冲溶液稀释成不同浓度梯度 (1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 mg/mL), 分别取 10 mL 置于平底小杯中, 利用 DPCD 处理一定时间, 取出后放置至室温, 随后将小杯倒置, 观察杯内肌球蛋白溶液的流动情况。具有固定的形态且不随小杯的倾斜而流动, 则认为在该浓度下可形成凝胶。据此判断虾肌球蛋白在不同 DPCD 处理条件下形成凝胶的临界浓度 ( $C_0$ )。设常压 CO<sub>2</sub> 处理和水浴热处理作为对照组。

DPCD 处理组: 首先, 考察压强和温度对肌球蛋白形成凝胶临界浓度的影响。依据前期研究结果<sup>[8]</sup>, 设定温度水平为 30、40、50、60 °C, 压强水平为 5、10、15、20、25、30 MPa, 处理时间为 30 min。其次, 考察压强和时间对肌球蛋白形成凝胶临界浓度的影响。依据上一试验结果, 确定处理温度为 50 °C, 肌球蛋白浓度为 14 mg/mL, 压强水平为 5、15、25 MPa, 处理时间水平为 5、10、20、

30 min。采用双因素等重复试验设计。

常压 CO<sub>2</sub> 处理组: 将样品放置在 DPCD 处理釜中, 密封, 打开进出处理釜的阀门, 维持 1 min, 将处理釜中的空气排出后, 关闭进出处理釜的阀门, 使处理釜压强维持在 0.1 MPa。温度水平为 30、40、50、60 °C, 处理时间 30 min。

水浴热处理组: 将样品放置到恒温水浴中进行处理, 温度水平为 30、40、50、60 °C, 处理时间 30 min。

#### 1.3.4 虾肉糜凝胶的制备

虾肉糜凝胶制备流程参考文献[16]。试验设常压 CO<sub>2</sub> 处理和水浴热处理作为对照组。DPCD 凝胶化: 依据前面的试验结果, 设定温度水平为 40、50、60 °C, 压强水平为 5、10、15、25 MPa, 处理时间 20 min, 采用双因素等重复试验设计。常压 CO<sub>2</sub> 凝胶化: 保持处理釜在 0.1 MPa, 温度分别为 40、50、60 °C, 处理时间 20 min。热诱导凝胶化: 水浴温度水平为 40、50、60 °C, 处理时间 20 min。

#### 1.3.5 凝胶强度的测定

凝胶强度测定参考文献[16]。

#### 1.3.6 数据处理

每个试验测定 3 次, 数据用平均值±标准差表示。用 JMP10.0 软件进行方差分析 (ANOVA) 和 Tukey's HSD 法多重比较以及作图。

## 2 结果与分析

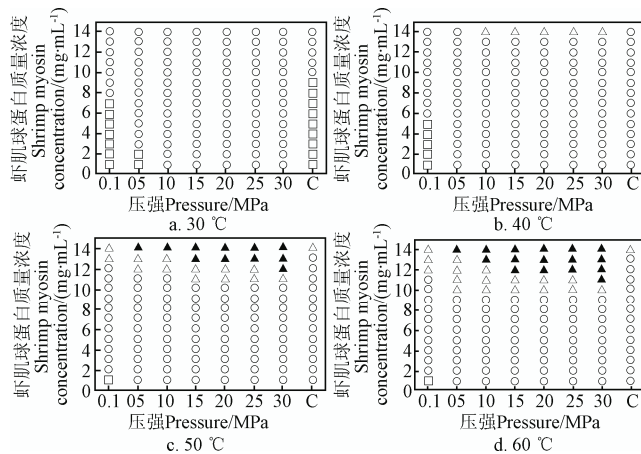
### 2.1 压强和温度对虾肌球蛋白形成凝胶临界浓度的影响

从图 1 可以看出, 对于水浴热处理组, 30 和 40 °C 都不能使虾肌球蛋白形成凝胶; 而 50 和 60 °C 均能使 14 mg/mL 的虾肌球蛋白溶液形成凝胶。热诱导肌球蛋白形成凝胶分两步: 第一步是由于原生态蛋白质受热发生变性而使肽链展开; 第二步是展开的蛋白质因聚合作用而形成较大分子的凝胶体<sup>[22]</sup>。凡纳滨对虾肌球蛋白的变性温度为 42.8 °C<sup>[23]</sup>。当处理温度低于 42.8 °C 时, 肌球蛋白未发生变性而不能形成凝胶; 当处理温度高于 42.8 °C 时, 肌球蛋白发生热变性展开, 再聚合后形成有序三维网状结构的凝胶。黄鸿兵等<sup>[24]</sup>在低于 40 °C 下处理兔骨骼肌肌球蛋白, 蛋白质变性凝聚程度也较低, 而当温度高于 40 °C 时, 蛋白质逐渐变性而聚集, 并且随着温度的升高聚合程度增加。

对于常压 CO<sub>2</sub> 处理组, 30 和 40 °C 也不能使虾肌球蛋白形成凝胶; 而 50 °C 可使 13 mg/mL 的肌球蛋白溶液形成凝胶, 60 °C 可使 12 mg/mL 肌球蛋白溶液形成凝胶, 并且该临界浓度低于水浴热处理的。这说明常压 CO<sub>2</sub> 处理不仅有热效应, 而且还可能存在 CO<sub>2</sub> 与蛋白质的相互作用。常压 CO<sub>2</sub> 与蛋白质相互作用主要是酸碱相互作用, 因为蛋白质中含有碱性氨基酸 (精氨酸、赖氨酸、组氨酸), 而 CO<sub>2</sub> 溶于水形成碳酸<sup>[25]</sup>。

对于 DPCD 处理组, 30 °C 不能使虾肌球蛋白形成凝胶。这是因为 30 °C 低于凡纳滨对虾肌球蛋白的变性温度 42.8 °C, 热效应较弱; 虽然在 30 °C 下压强从 5 上升到 30 MPa, CO<sub>2</sub> 在水中的溶解度从 24.65 增加到 35.72 dm<sup>3</sup>/kg<sup>[26]</sup>, 但是由于 CO<sub>2</sub> 溶于水后形成 H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 酸

性较弱, 仅靠 CO<sub>2</sub> 作用难以使蛋白质发生较大程度的变性。40 °C DPCD 处理能使 14 mg/mL 虾肌球蛋白溶液形成凝胶, 而 40 °C 水浴热处理不能使虾肌球蛋白形成凝胶。这是因为在接近于虾肌球蛋白变性温度 42.8 °C 附近时, 压强下 CO<sub>2</sub> 的分子效应在其变性聚集过程中起了作用。在 50 °C 时, 5 和 10 MPa 的压强能使 12 mg/mL 虾肌球蛋白溶液形成凝胶, 15~30 MPa 的压强能使 11 mg/mL 虾肌球蛋白溶液形成凝胶。随着处理压强增加, 虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度下降。这是因为压强增加, CO<sub>2</sub> 在水中的溶解度增加, 增强了 CO<sub>2</sub> 与肌球蛋白的相互作用。在 60 °C 时, 5~30 MPa 的压强均能使 10 mg/mL 虾肌球蛋白溶液形成凝胶。在相同处理压强下, 从 40 升高到 60 °C, 虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度从 14 mg/mL 降低到 10 mg/mL。这是因为温度升高, 热效应使肌球蛋白变性加剧而有利于发生聚集形成凝胶体。



注: □表示溶液, ○表示溶胶, △表示凝胶, ▲表示紧实凝胶, C表示水浴热处理, 0.1 MPa表示常压 CO<sub>2</sub> 处理。下同。

Note: □ represents solution, ○ represents viscous, △ represents gel, ▲ represents firm gel, C represents heat treatment in water bath, 0.1 MPa represents atmospheric CO<sub>2</sub> treatment. Same as below.

图1 高密度 CO<sub>2</sub> (DPCD) 处理温度和压强对肌球蛋白形成凝胶临界浓度的影响

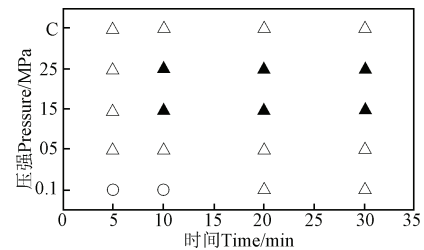
Fig.1 Effect of temperature and pressure of dense phase carbon dioxide (DPCD) on least gelation concentration of myosin

以上分析可知, DPCD 在诱导虾肌球蛋白形成凝胶的过程中既存在温度效应也存在 CO<sub>2</sub> 的分子效应, 其中温度对虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度的影响较大, 压强的影响较小; 温度和压强之间存在一定的协同作用。DPCD 要诱导虾肌球蛋白形成凝胶, 其处理温度必须大于 40 °C, 处理压强大于 5 MPa 即可。陈亚励<sup>[27]</sup>用动态流变学研究凡纳滨对虾肌球蛋白的凝胶形成能力, 发现 DPCD 处理压强为 5 MPa 时可使肌球蛋白形成弹性较好的凝胶。李玉娜等<sup>[13]</sup>也发现在常温下 5 MPa 的 DPCD 处理即可使全蛋液形成凝胶。Floren 等<sup>[14]</sup>发现 6 MPa 和 40 °C 的 DPCD 处理即可使蚕丝蛋白形成特性较好的凝胶。Rao 等用 10 MPa 和 50 或 60 °C 的 DPCD 处理 15min 制备了羊肉肠凝胶<sup>[15]</sup>。这与本研究的结果基本一致。

## 2.2 压强和时间对虾肌球蛋白形成凝胶临界浓度的影响

从图 2 可以看出, 当虾肌球蛋白质量浓度为 14 mg/mL

和处理温度为 50 °C 时, 水浴热处理 5 min 即可形成凝胶。常压 CO<sub>2</sub> 处理需要 20 min 以上才可以形成凝胶。这是由于在短时间内常压 CO<sub>2</sub> 溶于水形成的弱酸具有缓冲作用, 对蛋白质具有保护作用, 使蛋白质变性聚集需要更多的处理时间。利用 DPCD 处理 5 min 即可形成凝胶, 并随处理压强增加和时间的延长, 形成的凝胶质构更加紧实(见图 3)。李玉娜等<sup>[13]</sup>在常温下用 DPCD 处理全蛋液, 随着压强升高和处理时间延长, 全蛋液凝胶强度呈增加趋势, 在 15 MPa 处理 25 min 时, 全蛋液的凝胶强度最大。Thiering 等<sup>[28]</sup>用 CO<sub>2</sub> 处理大豆蛋白, 处理 20 min 时蛋白质形成了较小的聚集体, 当处理时间从 20 增加到 60 min 时, 蛋白质颗粒直径急剧增大, 蛋白质形成较大的聚集体。这是因为随着 DPCD 处理时间的延长, CO<sub>2</sub> 与蛋白质的相互作用充分, 蛋白质变性和聚集加剧, 更容易形成致密的三维网状结构。



注: 温度为 50 °C, 肌球蛋白质量浓度为 14 mg·mL<sup>-1</sup>。

Note: Temperature was 50 °C, myosin content was 14 mg·mL<sup>-1</sup>.

图2 DPCD 处理压强和时间对肌球蛋白形成凝胶临界浓度的影响

Fig.2 Effects of pressure and time of DPCD on least gelation concentration of myosin

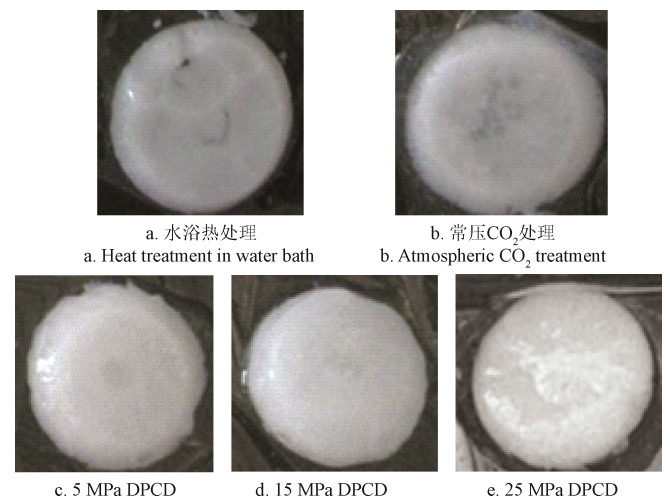


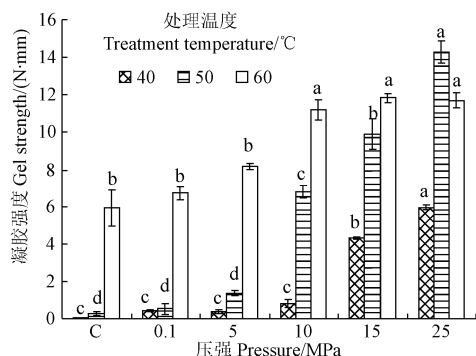
图3 在 50 °C 处理 20 min 时肌球蛋白形成凝胶的形态  
Fig.3 Gel formation of myosin treated at 50 °C for 20 min

## 2.3 DPCD 处理对虾肉糜凝胶强度的影响

从图 4 可以看出, 对于水浴热处理和常压 CO<sub>2</sub> 处理, 温度对虾肉糜凝胶强度均有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 60 °C 时凝胶强度最大; 相同处理温度下, 水浴热处理和常压 CO<sub>2</sub> 处理的虾肉糜凝胶强度之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 这说明 2 组处理均为热诱导形成的凝胶, 常压 CO<sub>2</sub> 是不



能诱导虾肉糜形成凝胶的。这与图 1 中常压  $\text{CO}_2$  在 50 和 60  $^{\circ}\text{C}$  分别能诱导 13 和 12  $\text{mg/mL}$  虾肌球蛋白溶液形成凝胶存在矛盾之处, 主要是因为图 1 的试验对象为肌球蛋白溶液, 常压  $\text{CO}_2$  可以溶于水溶液中与肌球蛋白相互作用, 而图 4 的试验对象为虾肉糜, 常压  $\text{CO}_2$  仅能与表面的蛋白质相互作用, 难以渗透进入虾肉糜与内部的蛋白质相互作用。



注: 相同温度的柱形图上标注不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ); C 表示水浴热处理, 0.1 MPa 表示常压  $\text{CO}_2$  处理。  
Note: Different lowercase letter indicates significant differences ( $P < 0.05$ ) in the same temperature column; C represents heat treatment in water bath, 0.1 MPa represents atmospheric  $\text{CO}_2$  treatment.

图 4 DPCD 对虾肉糜凝胶强度的影响

Fig.4 Effect of DPCD on gel strength of shrimp surimi

对于 DPCD 处理, 在相同处理温度下, 随着 DPCD 处理压强增加, 虾肉糜的凝胶强度呈增加的趋势 ( $P < 0.05$ ); 50  $^{\circ}\text{C}$  和 25 MPa 处理的虾肉糜凝胶强度最大, 达到了  $(14.28 \pm 0.57) \text{ N} \cdot \text{mm}$ 。其原因有 2 个方面: 1) 随着压强升高,  $\text{CO}_2$  在水中的溶解度是增加的<sup>[26]</sup>。虾肉糜含有 80% 左右的水分, 压强升高会使更多的  $\text{CO}_2$  溶解于虾肉糜中, 单位质量的虾肉糜在高压强下能够接触到更多的  $\text{CO}_2$  分子, 增强  $\text{CO}_2$  与虾肉蛋白的相互作用; 2) 高压强下  $\text{CO}_2$  的扩散速度增加, 能快速渗入到虾肉糜中。这两方面的共同作用使较高压强  $\text{CO}_2$  诱导虾肉糜形成凝胶的强度更大。

当 DPCD 处理压强为 5~15 MPa 时, 虾肉糜凝胶强度均随温度升高而显著增加 ( $P < 0.05$ )。从理论上分析, 在固定压强下, 随着温度升高,  $\text{CO}_2$  在水中的溶解度是下降的; 在固定的温度变化范围内, 随着压强升高,  $\text{CO}_2$  在水中溶解度的减量是显著减小的<sup>[26]</sup>。因此, 温度升高引起的  $\text{CO}_2$  在水中溶解度的下降不足以减弱  $\text{CO}_2$  与肌球蛋白的相互作用, 造成凝胶强度的下降, 相反温度升高产生的热效应具有增强凝胶强度的作用。当处理压强为 25 MPa 时, 从 40 升高到 50  $^{\circ}\text{C}$ , 虾肉糜凝胶强度是显著增加的 ( $P < 0.05$ ), 而从 50 升高到 60  $^{\circ}\text{C}$ , 虾肉糜凝胶强度反而下降 ( $P < 0.05$ )。25 MPa 下从 40  $^{\circ}\text{C}$  升高到 60  $^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  在水中溶解度的变化较小。因此, 从 40 到 50  $^{\circ}\text{C}$  虾肉糜凝胶强度显著增加主要是热效应引起的, 而从 50 到 60  $^{\circ}\text{C}$  虾肉糜凝胶强度下降可能是因为虾肉糜中存在一种碱性蛋白酶(最适温度为 60  $^{\circ}\text{C}$ ) 降解了虾肉糜凝胶, 出现凝胶劣化现象<sup>[29]</sup>。虽然 DPCD

具有钝酶作用, 但是 DPCD 对该碱性蛋白酶的影响还有待进一步研究。

不同处理诱导虾肉糜形成的凝胶外观见图 5。从图 5 可以看出, 在 40  $^{\circ}\text{C}$  处理 20 min, 水浴热处理和常压  $\text{CO}_2$  处理的虾肉糜凝胶成型较差, 而 DPCD 处理的虾肉糜凝胶成型较好; 在 50 和 60  $^{\circ}\text{C}$  处理 20 min, 所有处理的虾肉糜凝胶成型均较好, 但是 DPCD 处理的色泽比水浴热处理和常压  $\text{CO}_2$  处理的更加鲜亮, 这与本课题组前期的研究结果一致<sup>[30]</sup>。

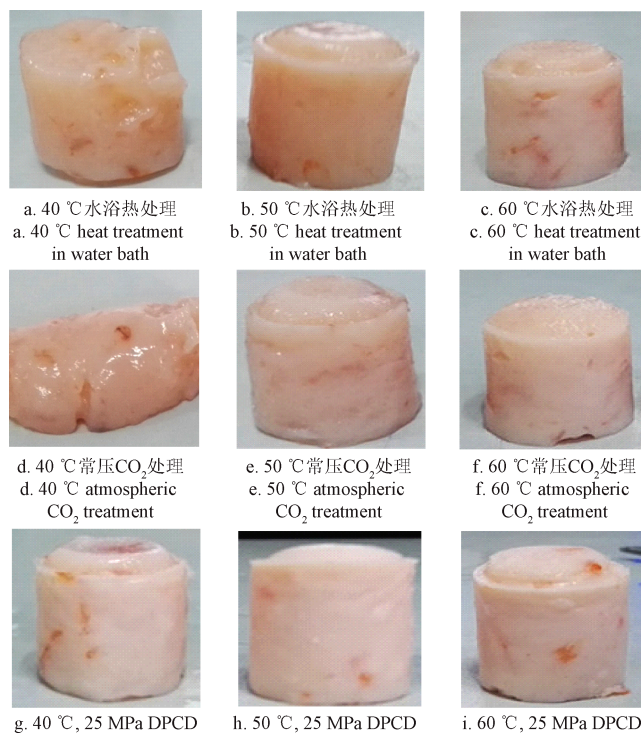


图 5 在 40、50、60  $^{\circ}\text{C}$  下处理 20 min 虾肉糜形成凝胶的形态

Fig.5 Gel formation of shrimp surimi treated for 20 min at 40, 50, 60  $^{\circ}\text{C}$

由以上分析可以推断, DPCD 低压(5~10 MPa)诱导虾肉糜形成凝胶可能主要是热效应的作用, 而  $\text{CO}_2$  的诱导作用较弱; DPCD 较高压强(>10 MPa)诱导虾肉糜形成凝胶可能是由热效应和  $\text{CO}_2$  的分子效应共同作用。

## 2.4 DPCD 处理虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度与虾肉糜凝胶强度的关系

从表 1 可以看出, 在相同 DPCD 处理压强下, 温度越高, 虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度就越低, 而虾肉糜形成凝胶的强度越高; 在 40 和 60  $^{\circ}\text{C}$  下, 随着 DPCD 处理压强的升高, 虽然虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度无变化, 但是虾肉糜的凝胶强度呈增加趋势, 这也与 2.1 中的结果相一致, 即随处理压强升高, 虾肌球蛋白会形成更加紧实的凝胶; 在 50  $^{\circ}\text{C}$  下, DPCD 处理压强从 10 升高到 15 MPa, 虾肌球蛋白形成凝胶的临界质量浓度从 12 降到 11  $\text{mg/mL}$ , 这可能是因为 50  $^{\circ}\text{C}$  与虾肌球蛋白的变性温度(42.8  $^{\circ}\text{C}$ )<sup>[23]</sup>比较接近, 此时压强在 DPCD 诱导虾肌球蛋白形成凝胶的过程中起了关键作用。

表 1 DPCD 处理条件下虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度与虾肉糜凝胶强度的关系

Table 1    Relation of least gelation concentration of shrimp myosin and shrimp surimi gel strength under DPCD treatment conditions						
压力 Pressure/MPa	40 ℃		50 ℃		60 ℃	
	虾肉糜凝胶强度 Shrimp surimi gel strength/(N·mm)	临界浓度 Least concentration/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	虾肉糜凝胶强度 Shrimp surimi gel strength/(N·mm)	临界浓度 Least concentration/ (mg·mL <sup>-1</sup> )	虾肉糜凝胶强度 Shrimp surimi gel strength/(N·mm)	临界浓度 Least concentration/ (mg·mL <sup>-1</sup> )
5	0.39±0.10	14	1.37±0.12	12	8.17±0.16	10
10	0.82±0.21	14	6.80±0.34	12	11.19±0.53	10
15	4.30±0.06	14	9.91±0.82	11	11.83±0.24	10
25	5.94±0.14	14	14.28±0.57	11	11.71±0.42	10

3 结 论

以凡纳滨对虾肌球蛋白为研究对象，探讨了 DPCD 处理压强、温度和时间对虾肌球蛋白形成凝胶临界浓度和虾肉糜凝胶强度的影响，结论如下：

1) 高密度 CO<sub>2</sub> (dense phase carbon dioxide, DPCD) 处理压强和温度对虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界浓度都有显著影响，处理时间对虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界浓度无影响，但增加处理时间，可以形成更加紧实的凝胶。对于 DPCD 处理，在 40 ℃和压强大于 5 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界浓度为 14 mg/mL，在 50 ℃和 5、10 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 12 mg/mL，在 50 ℃和 15~30 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 11 mg/mL，在 60 ℃和 5~30 MPa 时虾肌球蛋白溶液形成凝胶的临界质量浓度为 10 mg/mL。

2) DPCD 处理压强和温度对虾肉糜的凝胶强度具有显著的影响 ( $P<0.05$ )，且随着压强增加和温度升高，虾肉糜凝胶强度呈增加趋势 ( $P<0.05$ )；在 50 ℃和 25 MPa 下处理虾肉糜 20 min，形成的凝胶强度较好，达到了 (14.28±0.57)N·mm；DPCD 诱导的虾肉糜凝胶外观优于热诱导的。

3) DPCD 处理温度越高，虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度就越低，而虾肉糜形成凝胶的强度越高；DPCD 处理压强越高，对虾肌球蛋白形成凝胶的临界浓度影响较小，但能使虾肌球蛋白和虾肉糜形成凝胶的强度增加。

研究结果为进一步阐明 DPCD 诱导蛋白质形成凝胶的机制提供了基础数据。

[参 考 文 献]

[1] 徐幸莲, 周光宏, 黄鸿兵, 等. 蛋白质浓度、pH 值、离子强度对兔骨骼肌肌球蛋白热凝胶特性的影响[J]. 江苏农业学报, 2004, 20(3): 159—163.  
Xu Xinglian, Zhou Guanghong, Huang Hongbing, et al. Effects of protein concentration, pH value and ionic strength on heat-induced gel properties of myosin from rabbit skeletal muscle[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Science, 2004, 20(3): 159—163. (in Chinese with English abstract)

[2] 刘海梅. 鲢鱼糜凝胶及形成机理的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.  
Liu Haimei. Studies on Silver Carp Surimi Gel and Gel

Forming Mechanism[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007. (in Chinese with English abstract)

[3] 韩敏义. 兔骨骼肌肌球蛋白浊度、溶解度及热诱导凝胶强度研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2003.  
Han Minyi. Study on Turbidity, Solubility and Heat Induced Gelation Strength of Rabbit Skeletal Muscle[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2003. (in Chinese with English abstract)

[4] 白云, 钟国良, 周光宏, 等. 蛋白浓度对兔腰大肌肌球蛋白热凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 83—86.  
Bai Yun, Zhong Guoliang, Zhou Guanghong, et al. Effect of protein concentration on heat-induced gel properties of myosin from rabbit psoas major muscles[J]. Food Science, 2009, 30(21): 83—86. (in Chinese with English abstract)

[5] Famelart M H, Chapron L, Piot M, et al. High pressure-induced gel formation of milk and whey concentrates[J]. Journal of Food Engineering, 1998, 36(2): 149—164.

[6] Camp J V, Huyghebaert A. High pressure-induced gel formation of a whey protein and haemoglobin protein concentrate[J]. LWT-Food Science and Technology, 1995, 28(1): 111—117.

[7] Ishioroshi M, Samejima K, Yasui T. Heat-induced gelation of myosin filaments at a low salt concentration[J]. Agricultural & Biological Chemistry, 2014, 47(12): 2809—2816.

[8] 闫文杰, 崔建云, 戴瑞彤, 等. 高密度二氧化碳处理对冷却猪肉品质及理化性质的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(7): 346—350.  
Yan Wenjie, Cui Jianyun, Dai Ruitong, et al. Effects of dense phase carbon dioxide on quality and physical-chemical properties of chilled pork[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(7): 346—350. (in Chinese with English abstract)

[9] Xu D, Yuan F, Jiang J, et al. Structural and conformational modification of whey proteins induced by supercritical carbon dioxide[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(1): 32—37.

- [10] Yan W, Xu B, Jia F, et al. The Effect of high-pressure carbon dioxide on the skeletal muscle myoglobin[J/OL]. Food and Bioprocess Technology, 2016, doi:10.1007/s11947-016-1747-5.
- [11] Zhao F, Zhou L, Wang Y, et al. Role of peach proteins in juice precipitation induced by high pressure CO<sub>2</sub>[J]. Food Chemistry, 2016, 209(1): 81—89.
- [12] 曲亚琳, 张德权, 饶伟丽, 等. 高密度 CO<sub>2</sub> 对羊肉糜凝胶特性的影响[J]. 核农学报, 2010, 24(6): 1226—1231.  
Qu Yalin, Zhang Dequan, Rao Weili, et al. Influence of dense phase CO<sub>2</sub> on gel properties of minced mutton[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2010, 24(6): 1226—1231. (in Chinese with English abstract)
- [13] 李玉娜, 迟玉杰, 孙强. 高密度 CO<sub>2</sub> 对全蛋液功能性质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(8): 88—92.  
Li Yuna, Chi Yujie, Sun Qiang. Effects of dense carbon dioxide on functional properties of liquid whole eggs[J]. Food and Fermentation Industries, 2012, 38(8): 88—92. (in Chinese with English abstract)
- [14] Floren M L, Spilimbergo S, Motta A, et al. Carbon dioxide induced silk protein gelation for biomedical applications[J]. Biomacromolecules, 2012, 13(7): 2060—2072.
- [15] Rao W, Li X, Wang Z, et al. Dense phase carbon dioxide combined with mild heating induced myosin denaturation, texture improvement and gel properties of sausage[J/OL]. Journal of Food Process Engineering. 2016, doi: 10.1111/jfpe.12404.
- [16] 屈小娟, 刘书成, 吉宏武, 等. 高密度 CO<sub>2</sub> 诱导制备虾糜凝胶的特性[J]. 农业工程学报, 2012, 28(20): 282—287.  
Qu Xiaojuan, Liu Shucheng, Ji Hongwu, et al. Gel properties of shrimp surimi induced by dense phase carbon dioxide[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(20): 282—287. (in Chinese with English abstract)
- [17] Hwang G C, Watabe S, Hashimoto K. Changes in carp myosin ATPase induced by temperature acclimation[J]. Journal of Comparative Physiology B, 1990, 160(3): 233—239.
- [18] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, 193(1): 265—275.
- [19] 张良, 刘书成, 章超桦, 等. 神经网络优化牡蛎的高密度 CO<sub>2</sub> 杀菌工艺[J]. 农业工程学报, 2011, 27(12): 369—373.  
Zhang Liang, Liu Shucheng, Zhang Chaohua, et al. Optimization of oyster-associated bacteria inactivation by dense phase carbon dioxide based on artificial neural network[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(12): 369—373. (in Chinese with English abstract)
- [20] Coffmann C W, García V V. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour[J]. Journal of Food Technology, 1977, 12: 473—484.
- [21] Peyrano F, Speroni F, Avanza M V. Physicochemical and functional properties of cowpea protein isolates treated with temperature or high hydrostatic pressure[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2016, 33(1): 38—46.
- [22] Ferry J D. Protein gels[J]. Advances in Protein Chemistry, 1948, 4: 1—78.
- [23] 蓝尉冰. 凡纳滨对虾肌肉蛋白组成及其肉糜特性研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012.  
Lan Weibing. Study on the Muscle Protein Composition of *Litopenaeus vannamei* and Its Meat Surimi Properties[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012. (in Chinese with English abstract)
- [24] 黄鸿兵, 徐幸莲, 周光宏. 兔骨骼肌肌球蛋白分子形成凝胶过程的负染观察[J]. 食品科学, 2004, 25(7): 47—51.  
Huang Hongbin, Xu Xinglian, Zhou Guanghong. Observation of gel formation from rabbit striated muscle myosin molecules[J]. Food Science, 2004, 25(7): 47—51. (in Chinese with English abstract)
- [25] Cundari T R, Wilson A K, Drummond M L, et al. CO<sub>2</sub>-formatics: How do proteins bind carbon dioxide[J]. Journal of Chemical Information & Modeling, 2009, 49(9): 2111—2115.
- [26] IUPAC-NIST Solubility Data Series[EB/OL]. <http://srdata.nist.gov/solubility/index.aspx>.
- [27] 陈亚励. 高密度 CO<sub>2</sub> 对凡纳滨对虾肌球蛋白物理特性的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015.  
Chen Yali. Effects of Dense Phase Carbon Dioxide on the Physical Properties of Myosin From *Litopenaeus vannamei*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2015. (in Chinese with English abstract)
- [28] Thiering R, Hofland G, Foster N, et al. Carbon dioxide induced soybean protein precipitation: protein fractionation, particle aggregation, and continuous operation[J]. Biotechnology Progress, 2001, 17(3): 513—521.
- [29] Eakpetch P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Autolysis of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) meat: Characterization and the effects of protein additives[J]. Journal of Food Science, 2008, 73(2): 95—103.
- [30] 屈小娟. 高密度 CO<sub>2</sub> 对凡纳滨对虾肌肉品质和蛋白质特性的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013.  
Qu Xiaojuan. Effects of Dense Phase Carbon Dioxide on Muscle Quantities and Protein Characteristics of *Litopenaeus vannamei*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013. (in Chinese with English abstract)

## Least gelation concentration and gel strength of myosin from *Litopenaeus vannamei* induced by dense phase carbon dioxide

Liu Shucheng, Guo Minghui, Deng Qianlin, Liu Yuan, Liu Mengna, Ji Hongwu, Mao Weijie, Gao Jing

(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, 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, Zhanjiang 524088, China)

**Abstract:** Dense phase carbon dioxide (DPCD), also known as high pressure carbon dioxide (HPCD), is a promising non-thermal food processing technology. DPCD was originally applied to inactivate microorganisms and enzymes in food. However, many researchers found that DPCD could induce some proteins associated with microorganism metabolism inactivation and the change of the secondary structure of enzyme protein when the food was treated by DPCD. Meanwhile, they also found that DPCD could induce some food protein inactivation. DPCD could not only improve the functional properties of protein but also induce protein to form gel. Our previous study results showed that DPCD could induce shrimp surimi to form gel and the microstructure and texture of gel were better than those induced by heat. Myosin is the key protein of forming gel for animal meat. Protein concentration is an important factor affecting myosin to form gel. Generally, the higher the protein concentration, the greater the ability of forming gel, and the better the texture of gel was. In order to clarify the mechanism of shrimp surimi forming gel induced by DPCD, we used myosin from *Litopenaeus vannamei* as the subject and researched the effects of DPCD treatment pressure, temperature and time on the least gelation concentration of myosin forming gel and gel strength of shrimp surimi. Firstly, myosin was extracted using the method of reference and the myosin solution with the concentration of 1-14 mg/mL was treated by DPCD, and the least gelation concentration of myosin forming gel was determined. Secondly, shrimp surimi gel was prepared by DPCD and the gel strength was determined using a TMS-PRO texture instrument. The study results were showed as follows: Treatment pressure and temperature of DPCD had a significant effect on the least gelation concentration of myosin forming gel. Though treatment time of DPCD had no significant effect on the least gelation concentration, myosin could form the firm gel by extending treatment time. The least gelation concentration of myosin forming gel was 14 mg/mL at 40 °C under the pressure of 5-30 MPa, 12 mg/mL at 50 °C under 5-10 MPa, 11 mg/mL at 50 °C under 15-30 MPa, and 10 mg/mL at 60 °C under 5-30 MPa. Treatment pressure and temperature of DPCD had a significant effect on gel strength of shrimp surimi ( $P<0.05$ ), and gel strength of shrimp surimi increased with the treatment pressure and temperature increasing ( $P<0.05$ ). The gel strength of shrimp surimi induced by DPCD was  $(14.28\pm0.57)$  N·mm at 50 °C under 25 MPa for 20 min. The higher the temperature of DPCD treatment, the lower the least gelation concentration of myosin was, and the higher the shrimp surimi gel strength was. The pressure of DPCD treatment had a little effect on the least gelation concentration of myosin, but the higher pressure could increase the gel strength of myosin and shrimp surimi. When DPCD induced the shrimp surimi to form gel at the lower pressure of 5-10 MPa, the heating effect was main and the molecular effect of carbon dioxide was weak. However, when DPCD induced the shrimp surimi to form gel at the higher pressure of above 10 MPa, the heating effect and the molecular effect of carbon dioxide were cooperative. The results will provide the basic data for clarifying the mechanism of forming gel induced by DPCD.

**Keywords:** pressure; proteins; gelation; dense phase carbon dioxide; least gelation concentration; myosin