不同热处理方式下虾肉品质和蛋白质结构变化的差异

于小番，袁亚明，叶宇，夏超，田颖，许慧卿
（扬州大学旅游烹饪学院，江苏扬州 225127）

摘要：为探讨三种常用热处理方式、加热程度对虾肉的品质影响以及蛋白质结构的变化的差异性影响，本试验以刀额新对虾为试验原料，采用蒸制、烤制和微波三种热处理方式，以测定原料第一节肌肉中心温度达到 60 ℃、70 ℃、80 ℃和过热状态为加热程度，比较其水分含量、水分活度、质构特性、蛋白质二级结构和三级结构变化、蛋白质断裂情况及氧化情况的差异。结果表明，蒸制对虾肉水分、弹性及蛋白质结构的保留效果最好，其中蒸制弹性在 80 ℃时最高，为 4.31；蒸制对蛋白质的破坏程度最低且在加热过程中蛋白质产生了新的交联。烤制的虾肉硬度最佳，游离巯基由 13.62 nmol/mg pro 降至 1.01 nmol/mg pro、总巯基由 35.61 nmol/mg pro 降至 3.77 nmol/mg pro，其过热处理时蛋白质氧化程度最大。微波处理虾肉的水分含量由 75.62%降至 12.78%，水分活度由 0.98 降至 0.40，其对蛋白质结构的破坏最大。三种热处理中，蒸制处理对蛋白质结构的影响最小，烤制的影响主要集中于蛋白质的氧化，微波加热对蛋白质结构的破坏最为严重。本试验结果为进一步研究不同热处理方式下蛋白质结构与蛋白质消化性、过敏源性的关系提供理论基础。

关键词：热处理；虾肉；品质；蛋白质结构

文章篇号：1673-9078(2021)05-160-168 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.5.1009

Effect of Cooking Shrimp at Different Temperatures Using Different Methods on Meat Quality and Protein Structure

YU Xiao-fan, YUAN Ya-ming, YE Yu, XIA Chao, TIAN Ying, XU Hui-qing
(College of food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

Abstract: The effects of three common heating methods and of different temperatures on meat quality and protein structures in shrimp meat were compared. *Metapenaeus ensis* was steamed, grilled, and microwave-heated until the core temperature in the muscles of the first segment reached 60 ℃, 70 ℃, 80℃ and until the shrimp was overcooked. Water content, water activity, texture properties, variations in secondary and tertiary protein structures, and protein fragmentation and oxidation were assessed under each condition, and then compared. Steaming was found to best preserve water content, firmness, and protein structure in shrimp meat. The meat is firmest when it is cooked at 80 ℃ with a firmness of 4.31. Steaming also minimizes protein modification, but allows new crosslinks to form between proteins. Grilling shrimp meat gives optimal firmness. Grilling decreases sulfhydryl radical content from 13.62 nmol/mg pro to 1.01 nmol/mg pro, while total sulfhydryl content drops from 35.61 nmol/mg pro to 3.77 nmol/mg pro. Grilling also results in the greatest protein oxidation. Water content in microwave-heated shrimp meat is reduced from 75.62% to 12.78%, and water activity decreases from 0.98 to 0.40. Microwave-heated shrimp meat experiences the most significant protein structure modification. Among the three heating methods, steaming affects protein structure the least. Grilling mainly increases protein oxidation, while microwave heating alters protein structure the most severely. The results of this study provide a theoretical basis for further research into relationships between protein structure and digestibility and allergenicity, and the influences of different heating methods on protein structure.

引文格式：

于小番,袁亚明,叶宇,等.不同热处理方式下虾肉品质和蛋白质结构变化的差异[J].现代食品科技,2021,37(5):160-168

YU Xiao-fan, YUAN Ya-ming, YE Yu, et al. Effect of cooking shrimp at different temperatures using different methods on meat quality and protein structure [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(5): 160-168

收稿日期：2020-11-02

基金项目：国家自然科学基金项目（81472963）

作者简介：于小番（1996-），女，硕士研究生，研究方向：营养与食品卫生学；通讯作者：许慧卿（1972-），女，博士，教授，研究方向：微生物

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Key words: heating; shrimp meat; quality; protein structure

刀额新对虾(*Metapenaeusensis*)，俗称基围虾、沙虾、泥虾，在我国主要分布于福建、台湾、广东和广西沿海，因其味道鲜美，壳薄体肥，营养丰富，深受广大消费者喜爱，是我国常见的食用虾种[1]。

蛋白质是动物性食物中最主要的生物大分子物质之一。刀额新对虾蛋白质含量高达 18.2%，包含 8 种人体必须氨基酸、组氨酸和精氨酸，以及丰富的呈味氨基酸。作为人体最需要的营养素，蛋白质受热后理化性质的变化规律倍受关注。然而，目前对于虾肉蛋白质热处理后研究，主要集中在风味[2]，质地[3]和肉质[4]的变化，以及某一种蛋白质热处理后其变应原性[5]和消化特性[6]的改变，而对于虾肉在不同热处理方式下蛋白质高级结构的变化鲜有研究。

蒸制、烤制及微波加热是三种最常见的热处理方式。三种热处理方式的传热介质存在较大差异：蒸制以气态水蒸气为介质，并将热量逐渐从表面传递到内部[7]；烤制以空气为介质，将热量首先传递到材料的表面，然后再传递到材料的内部[8]；微波加热利用电磁波，定向排列和激发极性分子以产生热量，从而使得材料内部和外部受热均匀[9]。由于传热介质的差异性，不同热处理方式下，虾肉中大分子物质会产生不同的物理化学变化，从而对虾肉的风味以及营养价值产生不同程度的影响。因此，本试验拟以刀额新对虾为研究对象，用蒸制、烤制和微波加热三种不同的热处理方式，研究在复杂条件下虾肉蛋白质结构的变化，分析不同热处理方式下虾肉蛋白质的结构差异，为研究不同热处理方式下虾肉的消化吸收特性和对人体健康的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 材料

刀额新对虾，购自扬州市邗江区汊河街道菜市场。

1.1.2 试剂

marker 蛋白，25~180 ku，上海生工生物工程股份有限公司；总蛋白定量试剂盒（BCA 微板法），南京建成生物工程研究所；*β*-巯基乙醇、TEMED，电泳级，上海麦克林生化科技有限公司；其他试剂，分析纯，国药化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

物性测定仪 TMS-pro，美国 FTC 公司；DXRxi 型显微拉曼成像光谱仪，美国赛默飞世尔公司；RF-5301PC 型荧光分光光度计，日本岛津公司；酶标仪，美国赛默飞世尔公司；SF/HD-6 型水分活度测定仪，河南精迈仪器仪表有限公司；小型垂直电泳槽，美国 Bio-Rad 公司；DYY-11 型电泳仪，北京市六一仪器厂；JK804/808 型手持多路温度测试仪，青岛金科仪器仪表有限公司。

1.3 样品制备

市场购买的活虾（19±1.2 g）冰水浴 10 min 猝死后去虾壳、剔虾线，取得虾肉用刀从背部劈开、腹部相连，用竹签串起置于冰上备用。烤制温度为 220 ℃；微波输出功率为 500 W；蒸制模式下，水沸腾后放入样品隔水加热。当虾肉第一腹节肌肉中心温度达到 60 ℃、70 ℃、80 ℃时取样，并于 12 h 内进行检测。同时，本试验设过热处理，处理方式为三种加热方式维持最高中心温度一定时间。

1.4 试验方法

1.4.1 水分含量与水分活度

水分含量的测定参考 GB 5009.3-2016 直接干燥法。水分活度的测定是将各组样品剪成细碎、均一的状态，分别于水分活度仪测定专用平皿中铺平后放入水分活度测定仪，测定 10 min 后读取数值。

1.4.2 质构

取虾肉第一腹节肌肉，参照魏跃胜等[10]的方法，应用质构仪 TPA 模式测定各组样品弹性、硬度、咀嚼性和内聚性。测定参数：测前速度为 2 mm/s，测试速度为 5 mm/s，测后速度为 5 mm/s，压缩距离为 10 mm，作用力为 100 g，探头型号为 p100。

1.4.3 蛋白质二级结构

参考高瑞昌等[11]的方法，分别取各组 0.4 g 的样品放置载玻片上使用 DXRxi 型显微拉曼成像光谱仪进行扫描。试验参数：532 nm 氩离子激光器，功率为 300 mW，扫描范围 400~2000 cm^{-1}，分辨率 4.0 cm^{-1}，最终光谱平均为 64 次扫描。每个样品的数据收集不到 2 min。

图谱处理：以苯丙氨酸的单基取代苯基环在 1003 cm^{-1} 伸缩振动强度作为内标进行归一化（其强度不随二级结构的变化而改变）。结合 OMNIC、Orign 8.5、Peakfit v4.12 进行分峰拟合。对应二级结构相应位置计算子峰面积，求出其相对百分含量。

1.4.4 蛋白质三级结构

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

分别取各组样品 1 g，加入 10 mL 缓冲溶液（50 mM PBS，10 mM EDTA，0.6 mM KCl，pH 7.0），用均质机 10000 r/min 均质 1 min（每 30 s 暂停 1 次，暂停时间为 30 s），均质液于 4 ℃环境下 8000 r/min 离心 15 min，取上清液于激发波长 270 nm，发射波长 290~450 nm 条件下，绘制荧光光谱图。

1.4.5 蛋白质分解程度

取 1.4.4 中的上清液，加缓冲溶液调节蛋白浓度至 2 mg/mL。参考汪家政《蛋白质手册》[12]进行操作，12%分离胶浓度，5%堆积胶浓度，上样量为 10 μL。

1.4.6 巯基含量

1.4.6.1 游离巯基含量

参考 Xia 等[13]的试验方法，略作修改。分别取 1 g 各组样品，加入 10 mL 缓冲液（0.086 M Tris，0.09 M 甘氨酸，4 mM EDTA，pH 8.0）以 10000 r/min 进行均质（每 30 s 暂停 1 次，暂停时间为 30 s），于 10000 r/min 离心 15 min 取上清液。取 2 mL 上清液，加入 40 μL 的 Ellman 试剂（10 mm DTNB），室温下避光震荡 1 h，记录 412 nm 处的吸光度，蛋白质浓度用 BCA 微板法试剂盒测定，根据公式（1）计算-SH 浓度。

1.4.6.2 总巯基含量

取 1.4.6.1 中测定蛋白质浓度后的上清液 1 mL，加入 2 mL 缓冲液（0.086 M Tris、0.09 M 甘氨酸、4 mM EDTA、8 mM 尿素、pH 8.0），以 10000 r/min 进行均质，10000 r/min 离心 15 min 取上清液。取 2 mL 上清液，加入 40 μL 的 Ellman 试剂（10 mM DTNB），室温下避光震荡 1 h，记录 412 nm 处的吸光度，根据公式（1）计算-SH 含量：

$$C_0 = (A \times D) \div (\varepsilon \times C) \quad (1)$$

注：C_0：-SH 浓度，nmol/mg pro；A：412 nm 下吸光值；ε：分子吸光系数，13600 $M^{-1}cm^{-1}$；C：蛋白质浓度，mg/mL。

1.4.7 数据分析

每组试验重复 3 次，试验结果均以均值±标准差表示。采用 SPSS 19.0 对测定结果进行统计学差异性分析，差异显著水平 p 为 0.05。采用 Orign 8.5 进行绘图。

2 结果与讨论

2.1 不同热处理方式及程度下虾肉水分与水分活度的差异

不同热处理方式下不同加热程度的虾肉水分含量和水分活度的变化如图 1 所示。水分和水分活度是影响蛋白质稳定性和虾肉品质的重要因素[14]。图 1a 和 b 显示，在中心温度为 70 ℃时，蒸制水分含量为 71.20%、微波处理水分含量为 68.01%，烤制处理水分含量为 67.59%；蒸制处理下水分活度为 0.98，微波与烤制处理方下水分活度均为 0.97，各处理组间水分含量和水分活度相近。当中心温度超过 70 ℃时，随着温度的增加，三种热处理方式下的虾肉水分含量和水分活度均呈下降趋势，烤制和微波处理组水分含量和水分活度均低于同一温度下的蒸制处理样品；当温度超过 80 ℃时，微波过热处理的水分含量低至 12.78%，水分活度低至 0.40，而蒸制的水分含量和水分活度随温度的增加下降不明显，这与董志俭等[15]的研究结果相近。

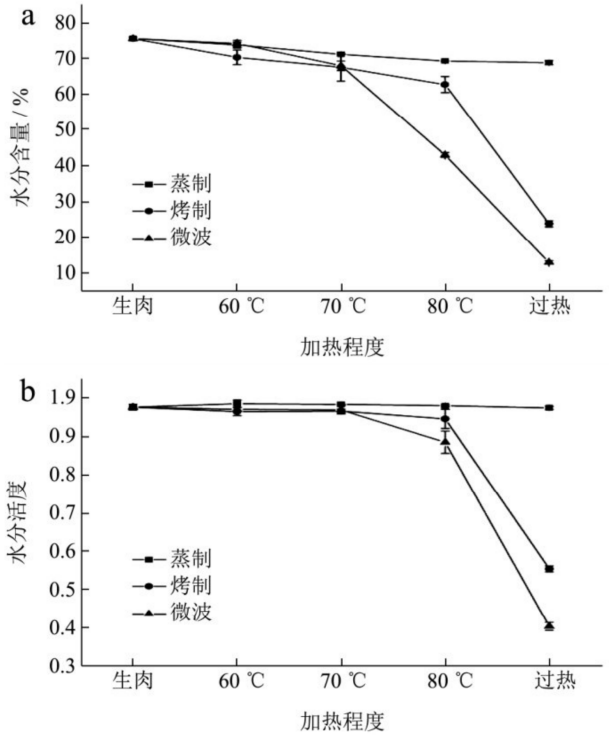

图 1 不同热处理方式及程度下虾肉水分（a）及水分活度（b）的变化差异

Fig.1 Changes of water (a) and water activity (b) of prawn meat under different heat treatment methods and degrees

热处理过程中，水分流失程度与蛋白质的变性程度相关，因而水分含量和水分活度对于虾肉的品质有着十分重要的影响。研究表明[16]，加热超过 52 ℃时，结缔组织网络收缩，内部水首先排入束间空间。此时，样品表面由于受热，导致蛋白质变性剧烈，形成一层致密结构，抑制了内部水分的逸散，而进一步加热会使得内部水由于高压而逸出[17]。本试验中当烤制和微波中心温度超过 70 ℃时，水分及水分活度均发生明显变化。而蒸制过程可能由于外部水蒸汽含量接近饱和，所以样品水分散失并不明显。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 热处理方式及程度对虾肉质构的影响

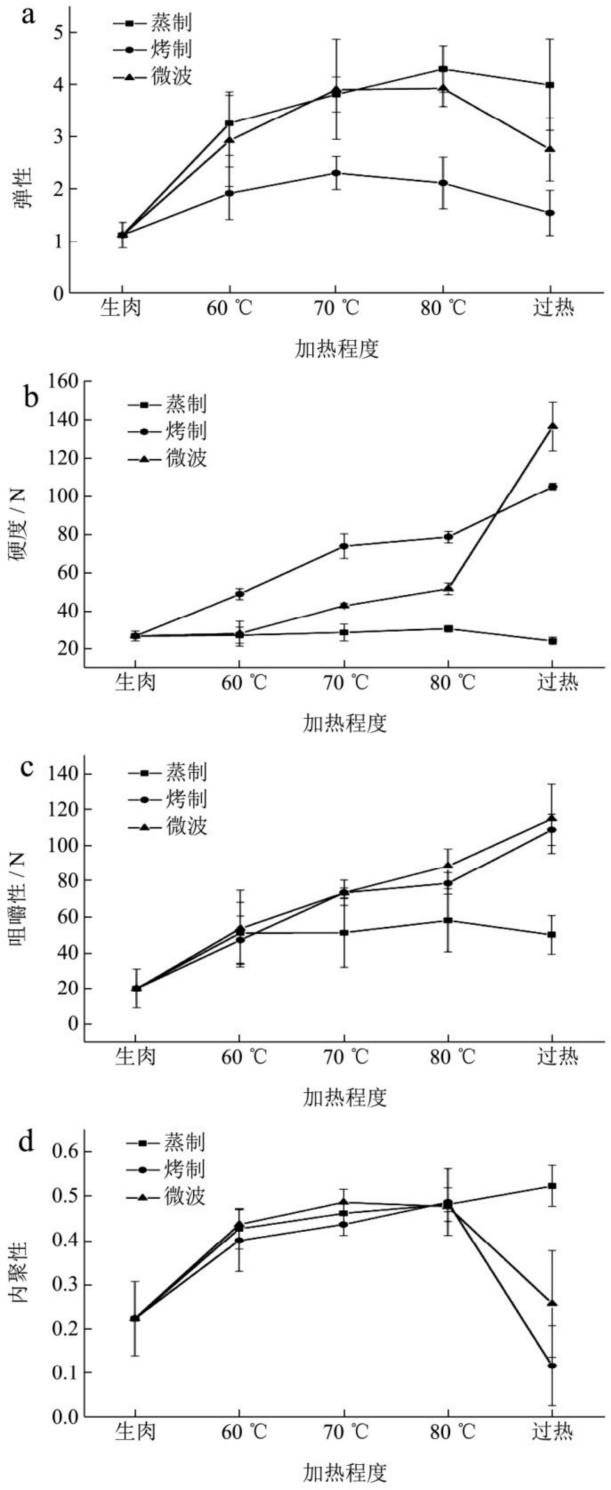

图 2 不同热处理方式及程度下虾肉弹性（a）、硬度（b）、咀嚼性（c）及内聚性（d）的变化差异

Fig.2 Effects of different heat treatment methods and degrees on elasticity (a), hardness (b), chewability (c) and cohesion (d) of prawn meat

质构是评价肉类品质的重要指标。在热处理过程中质构的变化主要用来直观表征肉制品的组织状态、感官品质和物理结构等[18]。不同热处理方式及程度对虾肉质构的影响如图 2 所示。

由图 2a 可知，随着温度的升高，不同处理虾肉的弹性均出现先升后降的变化趋势，但微波与烤制的虾肉在 70 ℃时弹性最大，分别为 3.91 和 2.31；当加热温度超过 70 ℃时，蒸制样品弹性明显高于微波样品；蒸制样品在 80 ℃时弹性最大，为 4.31，而烤制样品在各个温度下弹性均最差。在同一处理温度时，不同处理样品间的弹性差异也较大。弹性的变化趋势与高瑞昌等[19]的研究一致。

图 2b 可以看出，烤制和微波处理的虾肉硬度随温度的升高而呈上升趋势，而蒸制处理过程对虾肉硬度的变化不明显。当处理温度达到 80 ℃前，烤制的虾肉硬度高于微波；而达到过热状态时，微波处理的虾肉硬度超过烤制处理，达到 136.53 N。图 2c 表明，随着温度的升高，烤制和微波处理的虾肉咀嚼性呈上升趋势，蒸制处理的出现波动性变化。在热处理中心温度低于 70 ℃时，烤制的咀嚼性最高，而超过 70 ℃时，微波处理的虾肉咀嚼性升高速度快于烤制，到过热时达到 114.98 N。图 2d 中烤制和微波处理的内聚性随温度的升高均出现先升后降的变化趋势，烤制内聚性在 80 ℃时达到最高 0.49，微波内聚性在 70 ℃时达到最高为 0.49。而蒸制呈现持续性上升的趋势。

从热处理方式及程度对虾肉品质的 TPA 分析可以看出，蒸制过热处理组的弹性、硬度和咀嚼性低于蒸制其他处理组，这可能与蒸制的传热介质的特殊性相关，水蒸气为介质加热会使样品受热更为均匀，组织间的间隙增加，导致弹性、硬度及咀嚼性的降低。烤制和微波处理中硬度和咀嚼性的变化则与水分含量及水分活度的变化呈负相关。Benito 等[20]指出硬度变化可能与蛋白质变性程度有关，Rahman 等[21]指出咀嚼性与硬度呈极显著正相关,本试验中样品的硬度与咀嚼性变化趋势与这些研究中的结论类似。

表 1 不同热处理方式及程度下虾肉不同质构指标间的相关性

Table 1 Correlation between different structural parameters of shrimp meat under different heat treatment methods and degrees

项目	弹性	硬度/N	咀嚼性/N	内聚性
弹性	1			
硬度	-0.39*	1		
咀嚼性	0.05	0.69**	1	
内聚性	0.65**	-0.58**	-0.34*	1

注：*表示不同热处理方式及程度下虾肉不同质构指标间具有相关性（$p<0.05$）；**表示不同热处理方式及程度下虾肉不同质构指标间具有显著相关性（$p<0.01$）。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

将不同热处理方式及程度下虾肉的质构指标进行相关性分析，由表 1 可知，在虾肉的热处理加工期间，弹性与硬度呈负相关，与内聚性呈显著正相关；硬度与咀嚼性呈显著正相关，与内聚性呈显著负相关；咀嚼性与内聚性呈负相关。由相关性分析可知，硬度与咀嚼性变化趋势基本一致。

2.3 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白质二级结构的变化差异

水的拉曼散射特性较弱，因此产生的干扰较小，这使拉曼光谱相较于圆二色光谱更适用于复杂条件下蛋白质结构的研究[22]。酰胺Ⅰ和酰胺Ⅲ带具有很强的拉曼效应，酰胺Ⅰ条带可以提供更明确的蛋白质二级结构信息。因此，本试验以酰胺Ⅰ带为对象，分析蛋白质二级结构中各组分的相对含量，结构分峰信息参考 Yang 等[23]的试验。

由表 2 可知，随着温度的上升，烤制和微波处理的 α-螺旋的相对含量均出现先升后降的趋势，而蒸制处理的 α-螺旋则呈下降趋势，过热处理时的 α-螺旋相对含量最低，为 34.86%；各处理组 β-折叠的相对含量均存在先降后升再降的变化趋势；β-转角和无规则卷曲的变化趋势基本保持互补。微波过热处理组的无规则卷曲相对含量最高，达 33.05%。从热处理中心温度看，当温度为 70 ℃、80 ℃及过热时，微波处理组 α-螺旋、β-折叠的相对含量高于蒸制和烤制；当温度达到 80 ℃及过热时，烤制处理组的 β-转角相对含量高于蒸制和微波处理组。α-螺旋与 β-折叠相对含量的变化趋势与 Gao 等[24]的研究结果类似，但由于结构划分的差异性，本试验中 α-螺旋与 β-折叠相对含量的数据结果偏高。

三种热处理方式相比，微波对于蛋白质的破坏效果最大。蒸制过热处理组的 α-螺旋相对含量虽然低于烤制和微波，但是其 β-折叠的相对含量显著（$p<0.05$）高于烤制和微波，且 β-转角的相对含量低于烤制和微波。Li 等[25]认为，α-螺旋相对含量的增加表明蛋白质二级结构变得更为有序。Ana Maria 等人[26]认为 β-折叠含量的增加可增强蛋白质的热稳定性。由此可以推断，过热处理组中，蒸制处理下蛋白质结构的热稳定性高于烤制和微波。烤制和微波处理下蛋白质二级结构的变化，可能归因于氢键的破坏、静电相互作用和二硫键的结合[27]，进而分子解折叠并降低了热处理过程中的蛋白质稳定性。

此外，表 2 数据表明，加热使 α-螺旋变性形成 β-折叠或无规则卷曲，并在 β-折叠和无规则卷曲之间建立相对含量的相互转换。蛋白质二级结构中无规则卷曲相对含量的增加，可能与等电点和由蛋白质降解或酶水解引起的疏水性变化有关。研究表明，强疏水相互作用对稳定结构可能具有积极影响[28]。此外，Przybycien 等[29]认为，β-折叠在聚集体和网状结构中形成的水合强度比 α-螺旋结构弱，即 β-折叠与水分含量存在关联性。而微波和烤制中心温度达到 80 ℃及过热处理时，水分含量和水分活度含量降低与 β-折叠的这种结构特性相关不同的热处理方式及加热程度下，物料的体积收缩、水分流失和质地变化均会导致蛋白质的构象和功能特性发生变化，关于蛋白质功能特性、消化特性的具体变化还需进一步研究。

表 2 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白二级结构的变化差异

Table 2 Changes of secondary structure of prawn meat protein under different heat treatment methods and degrees

项目	α-螺旋	β-折叠	β-转角	无规则卷曲
蒸制 60 ℃	49.69±5.08^{b}	33.77±3.79^{bc}	2.46±0.79^{ab}	14.09±1.12^{c}
蒸制 70 ℃	49.11±2.11^{b}	33.53±2.89^{bc}	4.08±2.80^{ab}	13.28±0.87^{c}
蒸制 80 ℃	35.11±0.13^{d}	37.12±4.40^{ab}	2.13±0.82^{ab}	25.64±3.71^{b}
蒸制过热	34.86±2.99^{d}	35.44±1.28^{b}	2.55±0.38^{ab}	27.14±2.09^{b}
烤制 60 ℃	45.46±7.48^{bc}	36.08±4.84^{ab}	3.03±1.40^{ab}	15.43±1.23^{c}
烤制 70 ℃	46.12±0.30^{bc}	35.99±0.07^{b}	3.82±0.01^{ab}	14.06±0.25^{c}
烤制 80 ℃	40.69±3.52^{cd}	38.92±3.95^{a}	4.36±1.10^{a}	16.03±0.66^{c}
烤制过热	37.87±2.00^{d}	29.49±1.36^{c}	3.65±0.80^{ab}	28.99±2.55^{ab}
微波 60 ℃	47.12±3.03^{bc}	35.30±2.63^{b}	4.16±0.35^{ab}	13.42±0.76^{c}
微波 70 ℃	50.71±2.17^{b}	28.21±0.75^{cd}	4.16±1.20^{a}	16.92±2.40^{c}
微波 80 ℃	40.54±1.28^{cd}	33.01±0.79^{bc}	1.30±0.45^{ab}	25.16±1.16^{b}
微波过热	36.71±0.38^{d}	29.11±0.07^{cd}	1.13±0.06^{b}	33.05±0.38^{a}
生肉	59.83±0.59^{a}	23.77±1.86^{d}	2.45±0.94^{ab}	13.95±0.46^{c}

注：同一列的不同上标字母表示差异显著（$p<0.05$）。

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.4 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）的差异

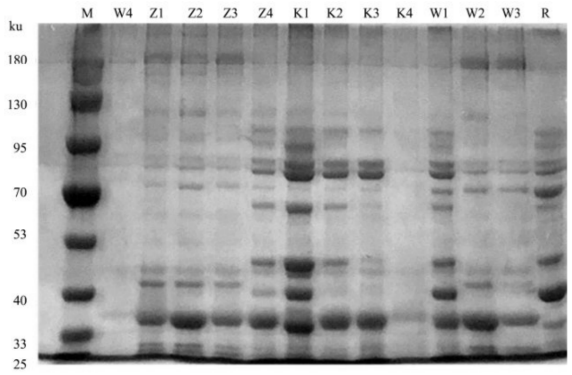

图 3 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白 SDS-PAGE 的变化差异

Fig.3 Influence of SDS-PAGE of shrimp meat protein in different heat treatment methods and degrees

注：M：marker 蛋白；Z：蒸制，K：烤制，W：微波；1：中心温度 60 ℃，2：中心温度 70 ℃，3：中心温度 80 ℃，4：过热。

不同热处理方式及程度对虾肉蛋白 SDS-PAGE 的影响如图 3 所示。由图 3 可以看出，生虾肉的蛋白条带基本在 25 ku~130 ku 之间，这与喻海琼等[30]研究的结果一致。随着温度的升高，三种热处理方式会造成长链蛋白产生不同程度的断裂，短链蛋白相对含量进一步增加。试验结果表明，微波对虾肉蛋白的降解是速度最快、最彻底的。烤制对蛋白的降解比微波小，蒸制对蛋白质结构的影响相对温和。热处理方法造成蛋白质降解的差异与传热介质相关，区别于蒸制和烤制加热过程中由外向内的传热模式，微波是加热过程中使极性分子摩擦产热[31]，且微波的加热速率最快，因而结构崩坏最为严重。

热处理可能会导致蛋白质的聚集或裂解。由于受热，长链蛋白断裂成短链和小肽。在电泳过程中，小肽长度超出了凝胶的检测范围，因而图中蛋白质条带减少。尽管蒸制过热组样品的二级结构相对于烤制或微波处理化更大，但 SDS-PAGE 结果表明其蛋白质降解相对温和。该结果可能归因于蒸煮过程中建立了新的蛋白质交联。

2.5 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白质三级结构的变化差异

色氨酸，酪氨酸和苯丙氨酸是具有荧光特性的特征氨基酸，在内源性荧光光谱中用于表征蛋白质的结构变化。不同热处理方式及程度对虾肉蛋白三级结构的影响如图 4 所示。图 4 表明，三种热处理方式随温度的升高，内源性荧光光谱中最大吸收波长（λ_{max}）的位置发生不同程度的红移。引起红移的微环境变化主要与蛋白质氧化和交联有关。出现 λ_{max} 红移表示色氨酸暴露于极性环境，侧面说明蛋白质的三级结构已变得疏松[32]。研究表明，加热会导致一定程度的蛋白质聚集，形成有序的三维网络结构凝胶[5]，其结构中可能包含大量液体。

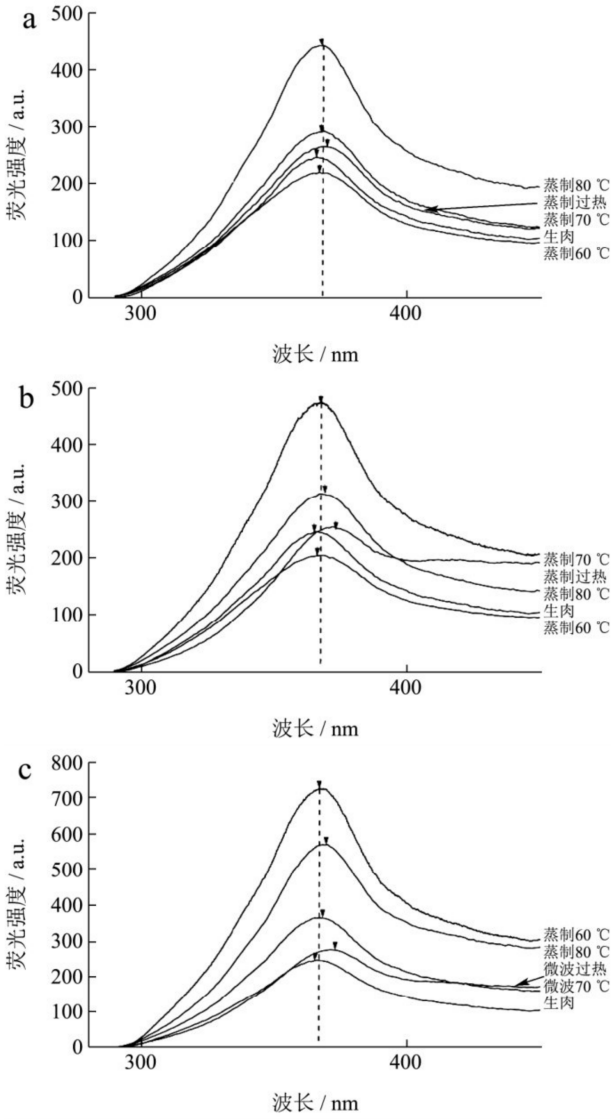

图 4 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白三级结构的变化差异

Fig.4 Changes of the tertiary structure of prawn meat protein under different heat treatment methods and degrees

注：a：蒸制；b：烤制；c：微波。下图同。

从二级结构无规则卷曲相对含量的增加、SDS-PAGE 中的长链蛋白的裂解以及内源性荧光光谱 λ_{max} 红移等现象中，可以看出烤制和微波过热处理造成蛋白质结构的剧烈变化。蛋白质网状结构被破坏，内部水分逸散，从而导致水分含量和水分活度明显降低。蒸制较低的加热速率会促进蒸汽加热过程中蛋白

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

质与蛋白质的相互作用，并导致蛋白质分子形成更广泛、完整的三维凝胶结构，从而提高凝胶强度并减少由水分散失造成的蛋白质损失[33]。因而蒸制对蛋白质的结构保留具有积极作用。

2.6 热处理方式及程度对虾肉蛋白质巯基含量的影响

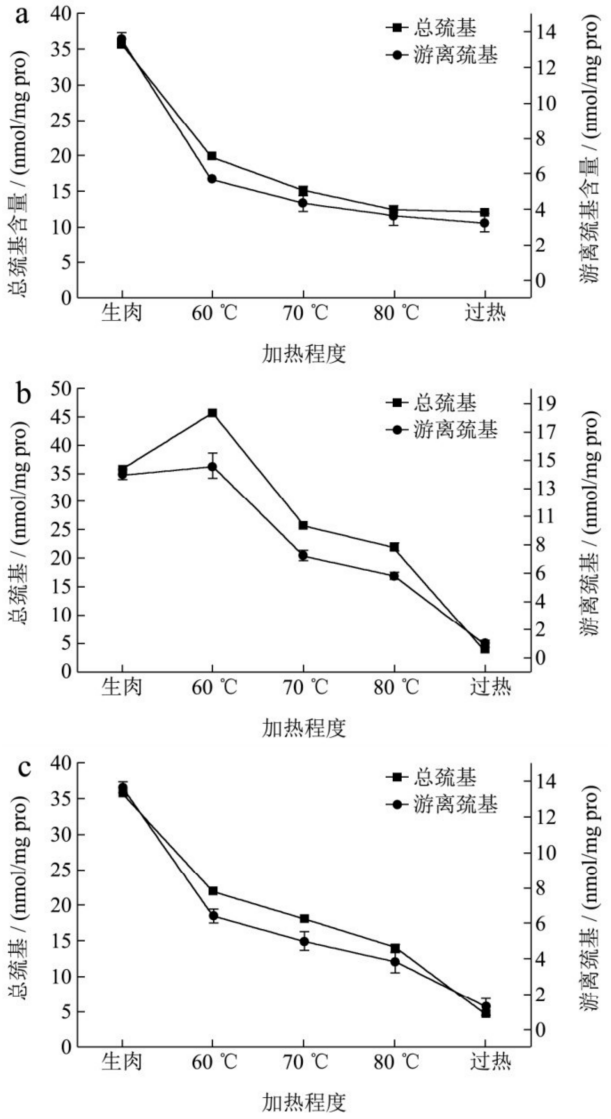

图 5 不同热处理方式及程度下虾肉蛋白巯基含量的变化差异

Fig.5 Changes of protein sulfhydryl content of prawn meat under different heat treatment methods and degrees

巯基含量是衡量蛋白质结构变化及热处理过程中氧化程度的重要指标，其变化与蛋白质结构的稳定性及蛋白质的氧化程度密切相关。

不同热处理方式及程度对虾肉蛋白巯基含量的影响如图 5 所示。由图 5 可以看出，总巯基和游离巯基含量基本随温度的增加而降低，其中烤制过热处理的总巯基含量和游离巯基含量最低，分别为 3.77 nmol/mg pro 和 1.01 nmol/mg pro。过热程度下，蒸制处理总巯基含量为 12.10 nmol/mg pro，游离巯基含量为 3.26 nmol/mg pro；微波处理总巯基和游离巯基分别为 4.69 nmol/mg pro 和 1.25 nmol/mg pro。总巯基和游离巯基变化趋势与 Xia[13]等的研究一致。试验结果表明，相对于蒸制而言，烤制和微波处理后蛋白质结构的变化更为明显，蛋白质的氧化程度更高，且烤制的氧化程度最剧烈。烤制处理在温度为 60 ℃时，总巯基和游离巯基含量均出现先升后降的趋势，这可能与烤制特殊的传热方式相关。烤制以空气为传热介质，热处理温度较高（220 ℃），加热后，虾肉的表面由于快速失水而形成致密的结构。而最初保持虾表面蛋白质结构稳定的二硫键在高温热处理过程中，很可能被破坏并进一步形成巯基[34]，因而在温度达到 60 ℃时，总巯基和游离巯基含量均存在上升的现象。

结合内源荧光光谱和 SDS-PAGE 结果，表明巯基含量的变化可能是蛋白质分子断裂和蛋白质氧化反应综合产生的结果。除了产生二硫键和非二硫键外，这些过程还可以通过氧化产生亚磺酸，亚磺酸和磺酸等化合物[35]。巯基的氧化还可以生成亚硫酰氯类的产物，或导致蛋白质分解成小分子硫化物[36]。严重的蛋白质氧化导致蛋白质断裂、交联和聚集。蛋白质的氧化还会对蛋白质的消化利用产生进一步的影响[37]，这值得进一步探究。

3 结论

本实验采用蒸制、烤制、微波三种热处理方式及四种加热程度（中心温度 60 ℃、70 ℃、80 ℃、过热）对虾肉样品进行处理。结果表明，随着温度的升高，蛋白质的结构首先出现延展，然后由于凝胶化而形成相对稳定的结构。过度加热会破坏蛋白质凝胶结构，导致大量水分散失，并且前期由于加热形成的稳定结构也会被破坏。此外，蒸制水分变化情况不显著，最低为对蛋白质结构的保留最好，且在加热过程中发生新的交联；烤制的水分散失及结构变化情况次于微波，但是其由于传热介质的差异性，蛋白质的氧化情况最为剧烈，当加热至过度时，游离巯基相对含量由 13.62 nmol/mg pro 降至 1.01 nmol/mg pro，总巯基相对含量由 35.61 nmol/mg pro 降至 3.77 nmol/mg pro；微波的水分散失最为剧烈，水分含量降至 12.78%，水分活度为三种加热方式下的最低值 0.40，二级及三级结构表现出的结构崩坏最为严重，蛋白质的氧化情况次于烤制。蒸制、烤制和微波加热条件下，虾肉蛋白质均发生不同程度的解链、断裂、交联，蒸制对蛋白质的影响相对温和，烤制的氧化最严重的，微波加热下

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

结构破坏最严重。这一结果为探究热处理过程中蛋白质结构变化与消化性、过敏原性之间的关系提供理论依据。

参考文献

[1] 韩诗蕾,但姝.还原型谷胱甘肽复配保鲜剂对刀额新对虾品质的影响[J].现代食品科技,2016,8:246-251
HAN Shi-lei, DAN Shu. Effect of reduced glutathione-composite preservatives on the quality of *Metapenaeus ensis* [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 8: 246-251

[2] Christensen Line, Gunvig Annemarie, Torngren Mari Ann, et al. Sensory characteristics of meat cooked for prolonged times at low temperature [J]. Meat Science, 2012, 90(2): 485-489

[3] XUE Si-wen, YU Xiao-bo, YANG Hui-juan, et al. Contribution of high-pressure-induced protein modifications to the microenvironment and functional properties of rabbit meat sausages [J]. Journal of Food Science, 2017, 82(6): 1357-1368

[4] Taous Saraoui, Josiane Cornet, Emilie Guillouet, et al. Improving simultaneously the quality and safety of cooked and peeled shrimp using a cocktail of bioprotective lactic acid bacteria [J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 69-77

[5] Ahmed Ishfaq，Lv Liangtao，Lin Hong, et al. Effect of tyrosinase-aided crosslinking on the IgE binding potential and conformational structure of shrimp (*Metapenaeus ensis*) tropomyosin [J]. Food Chemistry, 2018, 248(8): 287-295

[6] LIU Guang-ming，HUANG Yuan-yuan，CAI Qiu-feng, et al. Comparative study of *in vitro* digestibility of major allergen, tropomyosin and other proteins between grass prawn (*Penaeus monodon*) and Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(1): 163-170

[7] 杨铭铎,孟宁,崔莹莹.烹饪中蒸汽传热工艺-蒸制技法及其研究进展[J].食品工业,2019,40(11):299-303
YANG Ming-duo, MENG Ning, CUI Ying-ying. The technology of steam heat transfer in cooking and its research progress [J]. The Food Industry, 2019, 40(11): 299-303

[8] 李宏燕,何建国,马莹,等.自然对流红外辐射复合加热在羊肉烤制过程中的传热解析[J].食品科学,2017,38(21):61-66
LI Hong-yan, HE Jian-guo, MA Ying, et al. Heating transfer analysis during mutton roasting by natural convection combined with infrared radiation [J]. Food Science, 2017, 38(21): 61-66

[9] CAO Hong-wei, FAN Da-ming, JIAO Xi-dong, et al. Heating surimi products using microwave combined with steam methods: study on energy saving and quality [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2018, 47: 231-240

[10] 魏跃胜,张晖,戴涛,等.水分与鱼丸制品质构特性相关性研究[J].食品科技,2019,44(7):173-178
WEI Yue-sheng, ZHANG Hui, DAI Tao, et al. The correlation between water content and texture characteristics of fish ball [J]. Food Science and Technology, 2019, 44(7): 173-178

[11] 高瑞昌,盖静,孙璐,等.基于拉曼光谱特征谱带表征冷藏凡纳滨对虾肌动球蛋白的构象[J].中国食品学报,2016,16(2):218-223
GAO Rui-chang, GE Jing, SUN Lu, et al. Representation of the actomyosin structure in white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during the frozen storage by raman spectroscopy [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(2): 218-223

[12] 汪家政.蛋白质技术手册[M].北京:科学出版社,2002:77- 92
WANG Jia-zheng. Protein Technology Manual [M]. Beijing: Science Press, 2002: 77-92

[13] XIA Xiu-fang， KONG Bao-hua， LIU Qian, et al. Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles [J]. Meat Science, 2009, 83(2), 239-245

[14] Roosyrjö H. Mapping the different states of food components using state diagrams [J]. Modern Biopolymer Science, 2009, 261-276

[15] 董志俭,王庆军,黄静雅,等.南美白对虾蒸制过程中水分状态及质构的变化[J].中国食品学报,2015,15(2):231- 236
DONG Zhi-jian, WANG Qing-jun, HUANG Jing-ya, et al. Change of moisture status and texture for shrimp (*Penaeus vannamei*) during steaming [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(2): 231-236

[16] Bouhrara Mustapha, Clerjon Sylvie, Damez Jean-Louis, et al. Dynamic MRI and thermal simulation to interpret deformation and water transfer in meat during heating [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(4): 1229-1235

[17] Bea Kovacsne Oroszvari, Ingegerd Sjoeholm, Eva Tornberg. The mechanisms controlling heat and mass transfer on frying of beefburgers. I. the influence of the composition and comminution of meat raw material [J]. Journal of Food

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Engineering, 2005, 67(4): 499-506

[18] 夏超,于小番,崔丹丹,等.不同烹饪方式对黄颡鱼肉品质特性的影响[J].中国调味品,2020,45(7):96-100,107
XIA Chao, YU Xiao-fan, CUI Dan-dan, et al. Effects of different cooking methods on the quality characteristics of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. China Condiment, 2020, 45(7): 96-100, 107

[19] 高瑞昌,李雯雯,孙璐,等.凡纳滨对虾肌肉蛋白质的热变性及其对品质的影响[J].中国食品学报,2014,14(7):73- 78
GAO Rui-chang, LI Wen-wen, SUN Lu, et al. Effect of the thermal denaturation of *Litopenaeus vannamei* muscle protein on the quality characteristics during heating processing [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(7): 73-78

[20] Benito M J, Rodriguez M, Acosta R, et al. Effect of the fungal extracellular protease EPg222 on texture of whole pieces of pork loin [J]. Meat Science, 2003, 65(2): 877-884

[21] Rahman M S, Al-Farsi S A. Instrumental texture profile analysis (TPA) of date flesh as a function of moisture content [J]. Journal of Food Engineering, 2005, 66(4): 505-511

[22] Li-chan, E C Y. The applications of raman spectroscopy in food science [J]. Trends in Food Science and Technology, 1996, 7(11): 361-370

[23] YANG Hui-juan, ZHANG Wan-gang, LI Teng, et al. Effect of protein structure on water and fat distribution during meat gelling [J]. Food Chemistry, 2016, 204: 239-245

[24] GAO Rui-chang, FENG Xue-ping, LI Wen-wen, et al. Changes in properties of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) protein during thermal denaturation [J]. Food Science & Biotechnology, 2016, 25(1): 21-26

[25] LI Man, ZHU Ke-xue, PENG Jing, et al. Delineating the protein changes in Asian noodles induced by vacuum mixing [J]. Food Chemistry, 2014, 143(2): 9-16

[26] Ana Maria Herrero, Pedro Carmona, Ines López-López, et al. Raman spectroscopic evaluation of meat batter structural changes induced by thermal treatment and salt addition [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(16): 7119-7124

[27] Wang Qian，He Li-li，Labuza Theodore P, et al. Structural characterisation of partially glycosylated whey protein as influenced by pH and heat using surface-enhanced raman spectroscopy [J]. Food Chemistry, 2013, 139(1-4): 313-319

[28] Matrin Alain Mune Mune, Dalbir Singh Sogi, Samuel Rene Minka. Response surface methodology for investigating structure-function relationship of grain legume proteins [J]. 2018, 42(2): e13524.1-e13524.8

[29] Przybycien T M, Bailey J E. Secondary structure perturbations in salt-induced protein precipitates [J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 1991, 1076(1): 103-111

[30] 喻海琼,刘志刚,张帆,等.刀额新对虾变应原的分离、鉴定与纯化[J].中国公共卫生,2006,22(10):1199-1201
YU Hai-qiong, LIU Zhi-gang, ZHANG Fan, et al. Isolation, identification and purification of *Metapenaeus ensis* allergens [J]. Chinese Journal of Public Health, 2006, 22(10): 1199-1201

[31] CAO Hong-wei, FAN Da-ming, JIAO Xi-dong, et al. Heating surimi products using microwave combined with steam methods: study on energy saving and quality [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2018, 47: 231-240

[32] Florentina-mihaela Ursache, Iuliana Aprodu, Oana-viorela Nistor, et al. Probing the heat-induced structural changes in bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy and molecular modeling [J]. International Journal of Dairy Technology, 2017, 70(3): 424-431

[33] Camou J P, Sebrankek J G, Olson D G. Effect of heating rate and protein concentration on gel strength and water loss of muscle protein gels [J]. Journal of Food Science, 1989, 54(4): 850-854

[34] Naomi Ishiwatari, Mika Fukuoka, Nobour Sakai. Effect of protein denaturation degree on texture and water state of cooked meat [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(3): 361-369

[35] Rysman Tine, Van Hecke Thomas, Van Poucke Christof, et al. Protein oxidation and proteolysis during storage and *in vitro* digestion of pork and beef patties [J]. Food Chemistry, 2016, 209: 177-184

[36] Berardoa, De Maere H, Stavoropoulou D A, et al. Effect of sodium ascorbate and sodium nitrite on protein and lipid oxidation in dry fermented sausages [J]. Meat Science, 2016, 121: 359-364

[37] Kelvin J A Davies. Degradation of oxidized proteins by the 20S proteasome [J]. Biochimie, 2001, 83(3-4): 301-310

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net