

林 婷, 杨胜平, 谢 晶, 等. 虾黑变形成机制及其抑制方法研究进展[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(6): 1605-1611.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.06.034

虾黑变形成机制及其抑制方法研究进展

林 婷¹, 杨胜平^{1,2}, 谢 晶^{1,2}, 钱韻芳^{1,2}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306)

摘要: 虾等甲壳类水产品在贮运过程中容易发生黑变, 影响了其感官特性和经济价值。虾等甲壳类水产品的黑变现象通常与其体内多酚氧化酶(*PPO*)的作用有关, 在*PPO*催化下, 虾体内的酪氨酸被氧化为醌, 进而发生聚合沉积。本文对国内外虾黑变的形成机制及抑制虾黑变方法的相关研究进展进行了综述, 以期对虾贮藏保鲜技术的研发与改进提供参考。

关键词: 虾; 多酚氧化酶; 黑变; 抑制方法

中图分类号: TS254.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2020)06-1605-07

Research progress on mechanisms of melanosis development and anti-melanosis methods in shrimps

LIN Ting¹, YANG Sheng-ping^{1,2}, XIE Jing^{1,2}, QIAN Yun-fang^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquatic Product Processing and Preservation, Shanghai 201306, China)

Abstract: The crustacean aquatic products such as shrimps are prone to blackening during storage and transportation, which affects their sensory characteristics and economic value. The melanosis of crustacean aquatic products such as shrimps is usually related to the functions of polyphenol oxidase (*PPO*) in their bodies. Under the catalysis of *PPO*, tyrosine in shrimp is oxidized into quinone and then polymerized and deposited. This article summarized the domestic and overseas research progress on the formation mechanism of shrimps blackening and the anti-melanosis methods, in order to provide reference for the development and improvement of storage and preservation technology of shrimps.

Key words: shrimp; polyphenol oxidase; blackening; inhibition methods

全球甲壳类水产品产业一直具有很高的市场价值。甲壳类水产品中富含的虾青素具有抗氧化、抑制炎症及调节免疫活性等多种生物功能。由于虾自身存在大量水分、蛋白质及游离氨基酸等, 为加快自溶、酶促褐变、脂质氧化等反应及微生物繁殖提供

了有利条件^[1]。甲壳类动物在处理加工、储藏运输及销售过程中产生的黑变现象, 对其感官特性和消费者的可接受性造成了不利影响, 是甲壳类动物货架期缩短的主要因素, 大大降低了甲壳类动物的品质和市场价值。因此, 如何抑制黑变是甲壳类水产品虾捕捞后贮藏和后续加工工业在发展中的关键点^[2]。随着消费者对生活质量要求的提高, 人们对食品安全的要求更加严格, 开发天然安全的虾类抑黑变保鲜剂遇到瓶颈的主要原因是目前关于对虾类黑变的发生机制尚不清晰。本文对近年来有关虾类黑变发生机制和多酚氧化酶(*PPO*)特性的研究结果进行综述, 以期对抑制虾类黑变及促进虾类

收稿日期: 2020-04-04

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(31501551); 博士科研启动基金项目(A2-2006-00-200360); 上海海洋大学专项基金项目(A2-2020-200578)

作者简介: 林 婷(1996-), 女, 山东济南人, 硕士研究生, 研究方向为食品科学与工程。(E-mail)lt199610@126.com

通讯作者: 钱韻芳, (E-mail)yfqian@shou.edu.cn

贮藏保鲜技术的发展提供参考。

1 虾黑变的产生过程

在贮藏过程中,虾体表会出现黑斑,即“黑变现象”,该过程起始于虾的头胸部和腹部外骨骼,而后持续扩散到虾的尾部区域,黑变主要出现在虾关节处表层部分与腹部游泳肢连接的体节表层区域^[3-4]。该黑变的出现与一种称为“黑色素”的复杂物质沉积有关。黑色素是生物体内普遍存在的一种重要色素,是酚或吲哚化合物通过氧化聚合产生的带负电荷、相对分子质量较高的疏水性大分子物质,具有对紫外线照射和高温稳定、易被氧化剂漂白的特性,不溶于水、甲醇、乙醇等^[5]。常见的黑色素可分为两大类:呈深棕色或黑色、不含硫的真黑色素,呈黄色

或微红棕色、含硫的脱黑色素^[5]。在生物体中,黑色素能够促进无脊椎动物的角质层硬化、血块形成,并能维持肠道稳态^[6],从而影响无脊椎动物的非特异性免疫。

目前,国内外研究者已经基本了解虾黑变发生的生物化学过程,与其相关的酶促褐变反应主要是在有氧条件下由多酚氧化酶催化生物体中的酪氨酸氧化成 *L*-3,4-二羟基苯丙氨酸(*L*-DOPA),而后 *L*-DOPA 转变成醌类物质^[7],并进一步氧化成深棕色的黑色素或者参与蛋白质官能团的聚合反应,形成交联聚合物,最终呈现为深色的黑色素^[8],详见图 1^[5]。该反应是在酶促褐变和自发的非酶促反应共同作用下进行的,其中参与酶促反应的多酚氧化酶是形成黑色素的限速酶^[8]。

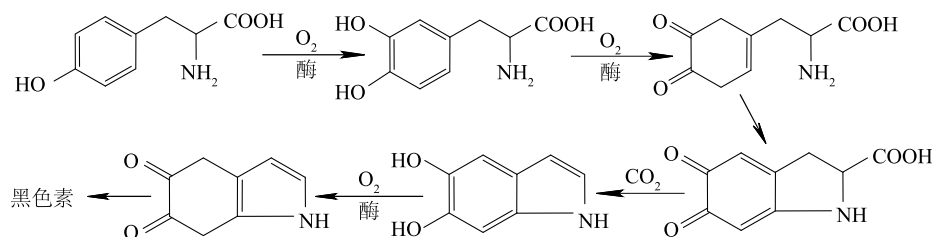


图 1 形成黑色素的生物化学反应过程

Fig.1 Biochemical reaction pathways in the formation of melanin

2 多酚氧化酶

多酚氧化酶是一种广泛分布于自然界的含铜氧化还原酶,大部分分布在虾血液、头胸部和关节处等。多酚氧化酶是海洋无脊椎动物免疫应答系统的重要组成部分,参与免疫防御和伤口愈合,并能促进外骨骼硬化^[9],在虾非特异性免疫系统中具有相当重要的作用,是其抵御外来病原感染的首要防线。

2.1 多酚氧化酶的分类

多酚氧化酶又称酚氧化酶,其活性中心由 2 个铜离子组成并呈现为正四棱锥状,通过与氧分子和底物相连的方式产生生物化学反应^[10]。广义上的 *PPO* 常根据催化底物的不同分成以下 3 类:单酚氧化酶[酪氨酸酶(Tyrosinase),国际酶学委员会编号:EC.1.14.18.1]、双酚氧化酶[儿茶酚氧化酶(Catechol oxidase),国际酶学委员会编号:EC.1.10.3.2]和漆酶(Laccase,国际酶学委员会编号:EC.1.10.3.1)。通常意义上的多酚氧化酶兼具单酚酶和双酚酶活性^[11],而漆酶具有 3 个铜氧化酶结构域,可以

催化邻二酚类底物和对二酚类底物,但不能催化单酚类底物^[12]。

2.2 多酚氧化酶的酶原激活系统

在新鲜的活虾体内,多酚氧化酶的活性中心为 Cu^+ 与 Cu^{2+} ,二者在平衡状态下表现为没有活性的酚氧化酶原(*proPPO*)形式,可以避免酪氨酸和酪氨酸残基的氧化^[10]。酶原大多分布于血细胞与大颗粒细胞中^[13],与模式识别蛋白(PRP)、丝氨酸蛋白酶(*SP*)等一同构成复杂的级联反应系统。目前,该级联反应系统的激活机制尚不明确^[14],推测是多酚氧化酶原激活系统(*proPPO-AS*)在血淋巴的小颗粒细胞(SGC)、颗粒细胞(GC)中合成、储存和释放。一些外源多糖,如肽聚糖、脂多糖等微生物细胞壁的成分可以与分子识别蛋白结合^[4],通过一系列级联反应将无活性的 *proPPO* 转化为有活性的 *PPO*,详见图 2^[13]。有研究发现,在虾死后的贮藏过程中,多酚氧化酶活性的变化可能与丝氨酸蛋白酶的迁移相关^[15]。另有研究发现,某些微生物可能会激活对虾死后的酚氧化酶原^[16],但具体机制尚不明确。

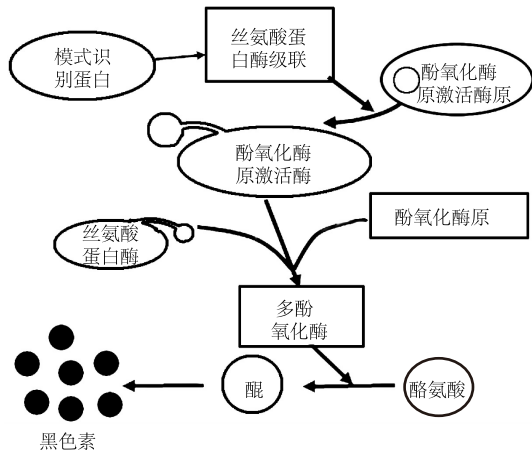


图2 多酚氧化酶的酶原激活系统

Fig.2 Activation system of zymogen of polyphenol oxidase

2.3 血蓝蛋白的多酚氧化酶活性

在甲壳类动物中,多酚氧化酶不是唯一表现出酚氧化酶活性的蛋白质,血蓝蛋白(Hemocyanin, Hc)也具有一定的活性^[17]。血蓝蛋白作为含铜呼吸蛋白,主要存在于部分软体动物和节肢动物的血淋巴、血浆中,主要参与氧转运过程,兼具多功能免疫效应^[18]。近年来的研究发现,Hc与PPO同属于3型铜蛋白,具有相似的活性位点^[18],并且二者在物理化学性质、氨基酸序列、蛋白质空间结构等方面非常相似^[19](图3),因此推测Hc也具有酚氧化酶活性^[17]。此外,有研究发现,血蓝蛋白通过蛋白质分解、空间构象改变而暴露酶活性位点,产生PPO活性^[20]。

3 虾黑变的抑制方法

3.1 化学方法

3.1.1 多酚氧化酶抑制剂的抑制类型 多酚氧化酶抑制剂主要来源于天然植物及化学合成。根据其抑制机制分为可逆抑制与不可逆抑制,其中可逆抑制又可以细分为竞争性抑制、非竞争性抑制、混合型抑制和缓慢结合型抑制,具体见表1^[21]。

3.1.2 化学合成抑制剂 二氧化硫类似物是一种方便有效、成本低廉的抑制剂,但是其残留的SO₂对人体的呼吸和消化系统具有一定危害。联合国粮食及农业组织和世界卫生组织都严格规定,虾肉中SO₂残留量不得超过0.1 mg/g^[22]。由于二氧化硫类似物的使用受到了限制,近年来研究者致力于寻找更加可靠的防黑变剂。目前研究的二氧化硫类似物的替代品主要有单酚基化合物、巯基化合物等。

表1 多酚氧化酶抑制剂的4种抑制机制^[21]

Table 1 Four inhibitory mechanisms of polyphenol oxidase inhibitors

类型	主要机制
竞争性	底物类似物通过与酶的活性中心双核 Cu ²⁺ 结合来抑制酶活性
非竞争性	抑制剂通过与酶活性中心以外的氨基酸残基结合形成 Schiff 碱或通过清除过氧自由基 (ROO·) 来抑制酶活性
混合型	抑制剂对酶活性中心双核 Cu ²⁺ 间的内源桥基产生影响
缓慢结合型	抑制剂与酶快速形成复合物, 此后经历一个缓慢、可逆的异构化过程

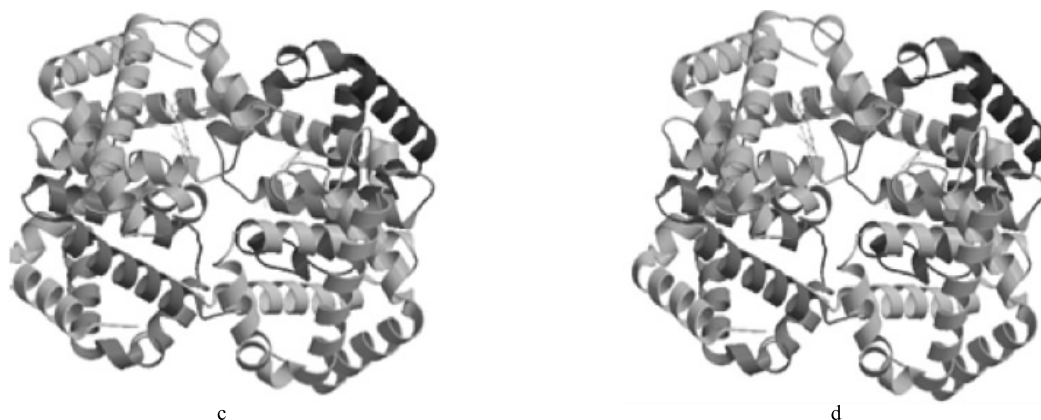
4-己基间苯二酚(4-hexylresorcinol, 4-HR)属于竞争性抑制剂,可与多酚氧化酶双铜活性中心结合而生成一种高稳定性的络合物,该产物通过消耗PPO来减少酶与底物的接触,在较大程度上抑制黑变^[22]。目前,4-己基间苯二酚类抑制剂在中国的使用较普遍,根据GB 2760-2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》^[23]的规定,4-己基间苯二酚类抑制剂在虾中的最大用量为1 mg/kg。有学者认为,4-HR虽然兼具抑菌和抑黑变能力,但在低浓度下的抑菌能力不强,主要表现为抑制黑变作用^[24]。

抗坏血酸(L-ascorbic acid, AsA)通过与PPO活力中心络合,直接抑制PPO活性及还原中间产物醌类产生^[22],属于竞争性抑制剂,但是抗坏血酸对黑变现象的抑制效果有限,并且抗坏血酸自身的氧化也会产生黄褐色的色素,从而影响虾的色泽。曲酸(Kojic acid, KA)可作为一种竞争性抑黑变剂。研究发现,曲酸可与PPO结合并改变酶蛋白的空间结构,从而降低酶活性^[25]。在高浓度下,曲酸表现出更高的PPO抑制能力^[3],但同时也表现出一定的细胞毒性,能杀死游离活细胞^[26]。

在其他化学防黑变剂中,熊果苷对中华管鞭虾的黑变也具有竞争性抑制作用^[22],但是其抑制效应弱于O-羟基苯甲醛、m-羟基苯甲醛^[27]。刘蒙娜等^[28]通过筛选发现,L-胱氨酸、还原性谷胱甘肽和N-乙酰-L-半胱氨酸具有较好的抑制黑变效果,此外有研究发现,氯化钠也具有极好的抑制效果^[29]。

3.1.3 天然抑制剂 近年来,随着人们对食品安全问题关注度的提升,生物来源的天然抑制剂逐渐受到人们青睐。动植物提取液中存在的天然多酚氧化

a	1	LLALVAAAAA	WPNFGFQSDA	GGESDAQKQH	DVNFLHKKIY	GNIRYSDLKA	KADSFDPAQR
	61	FGSYSDGGEA	VQKLVREVVD	GKLLQQRHWF	SLFNPRQRHE	ALMLFDVSIH	CKDWNTFVSN
	121	AAYFRQKMNE	GEFVYALYVA	VIHSPLTEHV	VLPPLYEVTP	HLFTNSEVIE	SAYRAKQTQK
	181	PGKFESSFTG	TKKNPEQRVA	YFGEDIGMNT	HHVTWHMEFP	FWWDDKYSHH	LDRKGGNFFW
	241	VHHQLTVRFD	AERLSNYLDP	VEELSWDKPI	VQGFAPHTTY	KYGGQFSPSR	DNVDFDDMDG
	301	VARIRDLLII	ESRIRDAIAH	GYIVDKVGNH	IDIMNERGID	VLGDVIESSL	YSPNVQYYGA
	361	LHNTAHIVLG	RQSDPHGKYA	LPPGVLEHFE	TATRDPSFFR	LHKYMDNIFK	EHKDSLPPYT
	421	VEELTFAGVS	VDSVAIEGEL	ETYFEDFEYN	LINAVDDTEQ	IADVDISTYV	PRLNHKEFKI
	481	KVDVSNKGE	EVSRYHIFAW	PHLDNNGIKF	TFDEGRWNAI	ELDKFWVKLP	GGTHHIERKC
	541	SESAVTVPDV	PSFATLFECT	KEALGGADSG	LKDFESATGI	PNRFLIPKGN	EQGLEFDLVV
	601	AVTDGAADAA	VDGLHENTEF	NHYGSHGVYP	DKRPHGYPLD	RKVPDERVFE	DLPNFGHIHL
	661	KVFNHGEHIH	H				
b	1	MANDQQRLLY	LFELPQEPIQ	TPRGGSVQF	KLENDTPPS	VATRVGLSPS	VSVPPPERKD
	61	VALQDLGTAT	SIPMGSAFSF	FLASHRRAAR	DLCNVFMKTN	GAEDLMQVAA	RVHGKVNETH
	121	FIYAISFVIL	RKKELHSVRL	PTMVEVFPSR	FVPQRALSRA	QLQVNRMDPN	QSEAVIIEHG
	181	PEFSGSPVKP	EHRVSYWRED	YGINVHHWHW	HLIYPPGMGV	DRDRKGELFY	YMHQQIARY
	241	DMERLSLGLP	RVQKLDNWRV	PIEDGYFPKL	TVNNSGRAWG	SRQDNTLPKD	FRRTEIGDPV
	301	DITDLEIWRA	RLLGAIHQGY	MVDRNGDKVP	LRDDVTSGKR	GIDILADALE	ADADHSVNFP
	361	YYGDLHNIGH	DILAFSHDPD	NAHKEEMGVV	GDLGTSLRDP	VFFRLHKLVD	DLFQEYKLTQ
	421	PPYKEEELFL	PGVRIERAGV	VRDDEADVLL	TGWNTREFEA	SRGIDFNGRP	VILRLTHLDH
	481	KPFDYHIQIN	NDLREPKEVT	VRIYLAPKFN	GREQEMNFME	QRILWCELDK	FTVHLKPGKN
	541	HVVRSSKESS	ITNLEELTFK	DLENSGPGNS	SEQSAFNFCG	CGWPQHMLLP	RGRPEGMAFQ
	601	LFFMLTDYAQ	DKVTQPAARG	CANGVSFCGI	QDAKYPDTRP	MGFPFDRRPP	PTLLDQPVNT
	661	AADYARLENA	FIHEISIKFL	AERLNRD			



a: 血蓝蛋白氨基酸序列; b: 多酚氧化酶氨基酸序列, 来源于美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>); c: 血蓝蛋白空间结构拟合; d: 多酚氧化酶空间结构拟合 (SWISS-MODEL)。G: 甘氨酸; A: 丙氨酸; V: 缬氨酸; L: 亮氨酸; I: 异亮氨酸; F: 苯丙氨酸; W: 色氨酸; Y: 酪氨酸; D: 天冬氨酸; N: 天冬酰胺; E: 谷氨酸; K: 赖氨酸; Q: 谷氨酰胺; M: 甲硫氨酸; S: 丝氨酸; T: 苏氨酸; C: 半胱氨酸; P: 脯氨酸; H: 组氨酸; R: 精氨酸。

图3 南美白对虾血蓝蛋白和多酚氧化酶的氨基酸序列和拟合空间结构比较

Fig.3 Comparison of amino acid sequences and fitting space structures between hemocyanin and polyphenol oxidase in *Penaeus vannamei*

酶抑制剂, 具有抗氧化、抗菌活性, 如云树叶提取物、菲律宾蛤仔水提液、腰果叶提取物等, 均可以作为天

然抑制剂来有效地控制虾黑变, 延长其货架期。部分天然防黑变保鲜剂的用量与作用机制见表2。

表 2 部分天然防黑变保鲜剂的用量与作用机制

Table 2 Dosages and action mechanisms of some natural anti-melanosis preservatives

防黑变保鲜剂	用量(%,质量体积比)	作用机制	参考文献
蘑菇提取物水溶液	1.000	减少酚氧化酶原(proPPO)的表达量、抗氧化	[30]
云树叶提取物(CLE)水溶液	1.000	铜螯合活性	[31]
表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)水溶液	0.500 或 0.750	混合型抑制	[32]
腰果叶提取物水溶液	1.000	抗氧化、抗微生物活性	[33]
金雀异黄素水溶液	0.100	抑菌、螯合金属离子	[34]
鱼腥草提取物水溶液	0.025	抗氧化	[35]
褐藻多酚水溶液	5.000	抗氧化、抗菌	[36]

茶叶中存在多种生物活性成分,具有一定的抗氧化活性,可在一定程度上抑制微生物生长,如槲皮素、茶多酚、儿茶素(C)、表儿茶素(EC)等。其中,2%茶多酚具有良好的抑菌性和PPO抑制性^[37]。EGCG在几种儿茶素中具有最高的PPO抑制活性^[32],常辅以超声波使用^[38]。槲皮素作为竞争性抑黑变剂,其具有的儿茶酚结构与酶活性位点螯合,使酶构象发生变化^[39],能够部分代替4-HR防黑变^[40]。此外,同样具有儿茶酚基团的黄酮类化合物木犀草素也具有一定的抑黑变效果^[41]。

壳聚糖是一种近年来在食品保鲜行业中具有较高使用价值的高分子聚合物。一般认为,当壳聚糖含量 $\geq 2\%$ 时,能够起到较好的抑黑变效果^[42]。但也有研究发现,在较低含量下,壳聚糖同样能够起到一定效果^[37],这可能与壳聚糖的结构、来源与环境因素等有关。有研究发现,壳聚糖与亚硫酸盐制剂的组分之间存在协同作用^[43],壳聚糖具备较好的成膜性,与其他抑制剂(如香芹酚、石榴皮提取物、绿茶提取物等)联用时,能够更好地抑制PPO活性。

3.2 物理方法

目前,物理方法已经在国内外食品保鲜行业中得到了广泛应用,主要通过降低氧气浓度、低温储藏运输结合臭氧、紫外抑菌抑黑变等方式延长食品的货架期。在低温条件下,虾体内的酶活性降低,微生物生长缓慢,能够有效地延缓虾品质的下降速度。真空包装结合低温常用于市售虾仁的贮藏,通过低温无氧条件降低酶活性,进而抑制虾体内的酶促褐变反应速度^[4]。此外,真空包装也常与壳聚糖涂膜及臭氧杀菌等方法共同使用。高密度二氧化碳(Dense phase carbon dioxide, DPCD)是一种具有较

好杀菌效果的非热杀菌技术,目前常应用于食品杀菌、钝酶等过程,能最大限度地保留食品的原有品质。研究发现,DPCD能有效延长凡纳滨对虾的冷藏货架期^[44]。此外,超临界CO₂处理可以更好地维持其感官特性^[45]。另外,超高压处理(Ultra-high pressure, UHP)可在一定条件下抑制虾的褐变,有研究发现,UHP处理能够钝化酶活性,降低褐变程度^[46],若要使虾中的PPO完全失活,则应结合其他技术。

3.3 其他方法

酸性电解水是一种环保的新型杀菌保鲜剂,由于其具有良好的抑菌性,目前作为一种混合性抑菌剂已经被用于海产品保鲜方面。Sun等^[47]研究发现,酸性电解水能够显著延缓南美白对虾外观黑变,从而保持其储藏过程pH值的稳定性,具有良好的杀菌效果和抑制黑变效果。

4 展望

近年来,国内关于虾黑变过程及防黑变保鲜技术的研究已经取得长足进展,然而目前对黑变机制的认识仍然不足。一方面,PPO作为活体虾等甲壳类动物免疫系统中的关键一环,在其死后贮藏过程中如何受微生物影响而被激活的机制尚待进一步研究。近年来,随着生物信息学方法的发展,借助多组学技术,相关研究有望实现突破。另一方面,新型保鲜剂种类繁多,但是筛选有效的新型保鲜剂耗时耗力,而借助分子动力学模拟软件可为保鲜剂抑制效果、抑制类型的研究提供帮助。此外,将多种保鲜剂和保鲜方法联合使用,通过优化组合,更好地利用其协同效应或将成为研究热点。未来随着多酚氧化酶

作用机制研究的进一步深入,将促进虾防黑变保鲜及其相关产业的发展。

参考文献:

- [1] MANHEEM K, BENJAKUL S, KIJROONGROJANA K, et al. The effect of heating conditions on polyphenol oxidase, proteases and melanosis in pre-cooked Pacific white shrimp during refrigerated storage[J]. Food Chemistry, 2012, 131(4): 1370-1375.
- [2] NIRMAL N P, BENJAKUL S. Biochemical properties of polyphenoloxidase from the cephalothorax of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. International Aquatic Research, 2012, 4(1): 6.
- [3] SAE-LEAW T, BENJAKUL S. Distribution and characteristics of polyphenoloxidase from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(5): 1078-1086.
- [4] 黄万有, 吉宏武, 刘书成, 等. 凡纳滨对虾 PPO 的组织分布和活性与其贮藏过程中黑变的关系[J]. 现代食品科技, 2014, 30(2): 89-94.
- [5] 刘相莹, 王利平, 熊和丽, 等. 动物黑色素资源研究进展[J]. 现代畜牧兽医, 2017(1): 28-32.
- [6] STACZEK S, GRYGORCZUK K, ZDYBICKA-BARABAS A, et al. Different faces of phenoloxidase in animals[J]. Postepy Biochemii, 2017, 63(4): 315-325.
- [7] BARTOLO I, BIRK E. Some factors affecting Norway lobster (*Nephrops norvegicus*) cuticle polyphenol oxidase activity and blackspot development[J]. International Journal of Food Science and Technology, 1998, 33: 329-336.
- [8] NIRMAL N P, BENJAKUL S. Use of tea extracts for inhibition of polyphenoloxidase and retardation of quality loss of Pacific white shrimp during iced storage[J]. LWT - Food Science and Technology, 2011, 44(4): 924-932.
- [9] VIJI P, MADHUSUDANA RAO B, JESMI DEBBARMA, et al. Control of melanosis and spoilage during chilled storage of pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) using sulphite alternatives[J]. Indian Journal of Fisheries, 2018, 65(3): 135-139.
- [10] MASUDA T, KAWAUCHI T, YATA Y, et al. Two types of phenoloxidases contribute to hemolymph PO activity in spiny Lobster [J]. Food Chemistry, 2018, 260: 166-173.
- [11] TARANTO F, PASQUALONE A, MANGINI G, et al. Polyphenol oxidases in crops: biochemical, physiological and genetic aspects [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(377): 1-16.
- [12] 蒋经伟, 董颖, 周遵春. 海洋无脊椎动物漆酶型酚氧化酶研究概况[J]. 中国农业科技导报, 2015, 17(3): 167-174.
- [13] AMPARYUP P, CHAROENSAPSRI W, TASSANAKAJON A. Polyphenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2013, 34(4): 990-1001.
- [14] CASADEVALL A. Melanin triggers antifungal defences [J]. Nature, 2018, 555(7696): 319-320.
- [15] 徐德峰, 李丹, 王彦波, 等. 南美白对虾冷藏过程中丝氨酸蛋白酶介导黑变的结构基础与酶学机制[J]. 中国食品学报, 2019, 19(9): 230-236.
- [16] QIAN Y F, XIE J, YANG S P, et al. In vivo study of spoilage bacteria on polyphenoloxidase activity and melanosis of modified atmosphere packaged Pacific white shrimp [J]. Food Chemistry, 2014, 155: 126-131.
- [17] BRIS C L, CUDENNEC B, DHULSTER P, et al. Melanosis in *Penaeus monodon*: involvement of the laccase-like activity of hemocyanin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(3): 663-670.
- [18] RAMASAMY S M, DENIS M, SIVAKUMAR S, et al. Phenoloxidase activity in humoral plasma, hemocyanin and hemocyanin separated proteins of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 102: 977-985.
- [19] COATES C J, TALBOT J. Hemocyanin-derived phenoloxidase reaction products display anti-infective properties [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2018, 86: 47-51.
- [20] YAO T, ZHAO M M, HE J, et al. Gene expression and phenoloxidase activities of hemocyanin isoforms in response to pathogen infections in abalone *Haliotis diversicolor* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 538-551.
- [21] 李航, 赵国华, 阚建全, 等. 天然产物对酪氨酸酶的抑制及抑制机理的研究进展[J]. 日用化学工业, 2003, 33(6): 383-386.
- [22] 周宇芳, 胡建坤, 郝云彬, 等. 4-HR 与抗坏血酸对中华管鞭虾多酚氧化酶的抑制动力学模拟分析[J]. 食品科学, 2019, 40(4): 69-74.
- [23] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760-2014 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [24] QIAN Y F, YANG S P, XIE J. Antibacterial activity of 4-hexylresorcinol against three spoilage bacteria in culture and its effect on the quality of Pacific white shrimp [J]. Food Science, 2017, 38(21): 21-29.
- [25] 吕艳芳, 张艳平, 蔡路昀, 等. 曲酸对南美白对虾酚氧化酶活性和结构的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(18): 22-28.
- [26] 陈永红, 黄夏宁, 邹志飞, 等. 曲酸遗传毒性的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(3): 228-232.
- [27] 黄璜, 刘晓丹, 陈清西. 苯甲酰胺化合物抑制蘑菇酪氨酸酶活力的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2003, 42(1): 97-101.
- [28] 刘蒙娜, 刘媛, 马敏怡, 等. 3种巯基化合物对冷藏条件下凡纳滨对虾的防黑变和保鲜效果[J]. 广东农业科学, 2018(1): 94-101.
- [29] FOSSATI A A N, BERGMANN G P, RIBEIRO L A O, et al. Effects of different additives on colorimetry and melanosis prevention of Atlantic seabob shrimp (*Xyphopenaeus kroyeri*) stored under refrigeration [J]. International Journal of Fisheries and Aqua-

- culture, 2016, 8(8): 74-80.
- [30] LLANTO M G, ENCARNACION A B. Application of edible oyster mushroom, *pleurotus ostreatus* extract to control postharvest melanosis in shrimp, *Penaeus vannamei* [J]. The Philippine Journal of Science, 2018, 147(2): 231-238.
- [31] SHIEKH K A, BENJAKUL S, SAE-LEAW T. Effect of Chamuang (*Garcinia cowa* Roxb.) leaf extract on inhibition of melanosis and quality changes of Pacific white shrimp during refrigerated storage [J]. Food Chemistry, 2019, 270: 554-561.
- [32] SAE LEAW T, BENJAKUL S, SIMPSON B K. Effect of catechin and its derivatives on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis of Pacific white shrimp [J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(5): 1098-1107.
- [33] SAE LEAW T, BENJAKUL S. Prevention of quality loss and melanosis of Pacific white shrimp by cashew leaf extracts [J]. Food Control, 2019, 95: 257-266.
- [34] ZAKIPOUR RAHIMABADI E, ZARRIN K, ZAREI M, et al. Effects of genistein on melanosis and microbial quality of *Litopenaeus vannamei* during ice storage [J]. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 2016, 15: 436-445.
- [35] PHAN D T A, VO N K T, TRAN H M, et al. Melanosis and quality changes of Pacific white shrimps (*Litopenaeus vannamei*) treated with *Houttuynia cordata* extract during cold storage [J]. Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering, 2019, 61(3): 40-44.
- [36] SHARIFIAN S, SHABANPOUR B, TAHERI A, et al. Effect of phlorotannins on melanosis and quality changes of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage [J]. Food Chemistry, 2019, 298: 124980.
- [37] 潘承慧, 姚智颖, 朱雯雯, 等. 保鲜剂对冰鲜南美白对虾品质变化的影响研究 [J]. 食品工业, 2018(4): 12-16.
- [38] SAE-LEAW T, BENJAKUL S, VONGKAMJAN K. Retardation of melanosis and quality loss of pre-cooked Pacific white shrimp using epigallocatechin gallate with the aid of ultrasound [J]. Food Control, 2018, 84: 75-82.
- [39] FAN M, ZHANG G, HU X, et al. Quercetin as a tyrosinase inhibitor: inhibitory activity, conformational change and mechanism [J]. Food Research International, 2017, 100: 226-233.
- [40] QIAN Y F, XIE J, YANG S P, et al. Inhibitory effect of a quercetin-based soaking formulation and modified atmospheric packaging (MAP) on muscle degradation of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 63(2): 1339-1346.
- [41] 崔虹云, 侯丽然, 杨 铭, 等. 木犀草素-钙的制备及体外抗氧化活性研究 [J]. 微量元素与健康研究, 2016, 33(2): 31-33.
- [42] MARTÍNEZ ALVAREZ O, ELVIRA LÓPEZ CABALLERO M, MONTERO P, et al. The effect of different melanosis-inhibiting blends on the quality of frozen deep-water rose shrimp (*Parapenaeus longirostris*) [J]. Food Control, 2020, 109: 106889.
- [43] LÓPEZ-CABALLERO M E, MARTÍNEZ-ÁLVAREZ O, GÓMEZ-GUILLÉN M C, et al. Several melanosis-inhibiting formulas to enhance the quality of deepwater pink shrimp (*Parapenaeus longirostris*) [J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2019, 51: 91-99.
- [44] 谢 晶, 程 颖, 杨胜平, 等. 高体积分数 CO₂ 气调包装对冷藏凡纳滨对虾品质的影响 [J]. 食品科学, 2016, 37(18): 197-201.
- [45] KEVIN D A, BOWLING J J, PENG J N, et al. Reducing oyster-associated bacteria levels using supercritical fluid CO₂ as an agent of warm pasteurization [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 138(1/2): 63-70.
- [46] 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): 120-126.
- [47] SUN J, WANG M, LIU H, et al. Acidic electrolysed water delays browning by destroying conformation of polyphenoloxidase [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(1): 147-153.

(责任编辑: 徐 艳)