

Supplementary Materials

# Effects of Ultra-High Pressure on Endogenous Enzyme Activities, Protein Properties, and Quality Characteristics of Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) during Iced Storage

Chen Zhu <sup>†</sup>, Dexin Jiao <sup>†</sup>, Ying Sun, Lihang Chen, Siyu Meng <sup>1,2</sup>, Xiaona Yu, Mingzhu Zheng, Meihong Liu, Jingsheng Liu and Huimin Liu\*

**Table S1.** The parameters of ultra-high pressure.

Pressure (MPa)	Come-up Time (s)	Holding Time (s)	Decompression Time (s)	Min Pressure During Holding (MPa)	Max Pressure During Holding (MPa)
100	13	300	1	101	107
200	20	300	1	197	203
300	29	300	2	294	299
400	34	300	3	390	402
500	39	300	3	491	505

**Table S2.** The corresponding substrates, reaction buffers and stopping solution of cathepsin B, H and L.

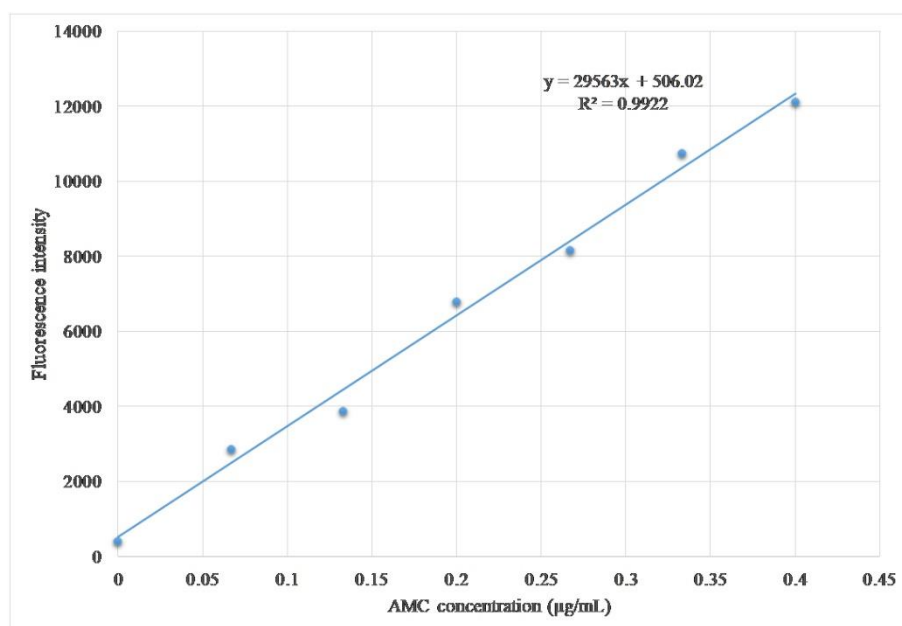
<b>Endogenous enzyme</b>	<b>Cathepsin B</b>	<b>Cathepsin H</b>	<b>Cathepsin L</b>
corresponding substrates	Z-Arg-Arg-AMC	L-Arg-AMC	Z-Phe-Arg-AMC
reaction buffers	150 mM Bis-tris	150 mM Bis-tris	150 mM Bis-tris
	30 mM EDTA	30 mM EDTA	30 mM EDTA
	6 mmol/L DTT	6 mmol/L DTT	6 mmol/L DTT
stopping solution	PH 6.0	PH 6.8	PH 5.5
	1% SDS	1% SDS	1% SDS
	50 mM bis-Tris	50 mM bis-Tris	50 mM bis-Tris
	pH 7.0	pH 7.0	pH 7.0

**Table S3.** Effects of UHP treatment on textural properties of shrimp during iced storage.

	Pressure treatment	Storage time (days)					
		0	3	6	9	12	15
Hardness (N)	Control	244.29±20.28 <sup>Ce</sup>	439.32±3.98 <sup>Da</sup>	411.38±7.44 <sup>Dab</sup>	384.35±5.59 <sup>Db</sup>	334.26±4.3 <sup>Dc</sup>	275.85±6.71 <sup>Dd</sup>
	100 MPa	272.41±10.09 <sup>Ce</sup>	512.42±1.04 <sup>Ca</sup>	486.91±12.45 <sup>Ca</sup>	431.08±16.32 <sup>Cb</sup>	332.89±7.57 <sup>Dc</sup>	301.22±8.69 <sup>Dd</sup>
	200 MPa	301.02±21.17 <sup>Be</sup>	544.41±3.28 <sup>Ba</sup>	493.5±2.59 <sup>Cb</sup>	457.38±11.95 <sup>Cc</sup>	363.61±6.7 <sup>Cd</sup>	335.1±6.53 <sup>Cd</sup>
	300 MPa	314.08±12.74 <sup>Be</sup>	561.33±1.85 <sup>Ba</sup>	531.84±8.66 <sup>Bb</sup>	492.16±9.21 <sup>Bc</sup>	418.83±9.33 <sup>Bd</sup>	402.9±2.06 <sup>Bd</sup>
	400 MPa	317.98±9.36 <sup>Be</sup>	540.88±30.44 <sup>BCa</sup>	500.81±6.29 <sup>Cb</sup>	434.3±11.03 <sup>Cc</sup>	378.67±8.85 <sup>Cd</sup>	334.87±8.42 <sup>Ce</sup>
	500 MPa	482.56±17.29 <sup>Af</sup>	738.01±18.71 <sup>Aa</sup>	706.97±7.53 <sup>Ab</sup>	627.77±8.37 <sup>Ac</sup>	576.2±17.43 <sup>Ad</sup>	527.47±19.63 <sup>Ae</sup>
Springiness	Control	0.5±0.02 <sup>ABa</sup>	0.47±0.06 <sup>Ba</sup>	0.43±0.07 <sup>Bb</sup>	0.57±0.01 <sup>Aa</sup>	0.48±0.11 <sup>Aa</sup>	0.45±0.07 <sup>Ba</sup>
	100 MPa	0.47±0.04 <sup>ABa</sup>	0.53±0.09 <sup>Ba</sup>	0.51±0.06 <sup>ABa</sup>	0.56±0.02 <sup>Aa</sup>	0.46±0.02 <sup>Aa</sup>	0.45±0.08 <sup>Ba</sup>
	200 MPa	0.44±0.01 <sup>Ba</sup>	0.49±0.05 <sup>Ba</sup>	0.56±0.05 <sup>Aa</sup>	0.51±0.05 <sup>Aa</sup>	0.56±0.06 <sup>Aa</sup>	0.5±0.03 <sup>ABa</sup>
	300 MPa	0.59±0.01 <sup>Aa</sup>	0.53±0.03 <sup>Ba</sup>	0.55±0.03 <sup>ABa</sup>	0.56±0.06 <sup>Aa</sup>	0.57±0.05 <sup>Aa</sup>	0.48±0.01 <sup>ABa</sup>
	400 MPa	0.52±0.05 <sup>ABa</sup>	0.53±0.03 <sup>Ba</sup>	0.61±0.05 <sup>Aa</sup>	0.55±0.06 <sup>Aa</sup>	0.54±0.05 <sup>Aa</sup>	0.56±0.05 <sup>ABa</sup>
	500 MPa	0.57±0.04 <sup>ABcd</sup>	0.7±0.08 <sup>Aa</sup>	0.54±0.04 <sup>ABd</sup>	0.59±0.03 <sup>Aabcd</sup>	0.55±0.03 <sup>Ac</sup>	0.59±0.04 <sup>Aabcd</sup>
Gumminess	Control	106.23±37.7 <sup>Bc</sup>	191.11±7.72 <sup>Ba</sup>	174.34±18 <sup>Cab</sup>	141.51±36.99 <sup>Dabc</sup>	137.34±14.59 <sup>Babc</sup>	119.02±12.31 <sup>Dbc</sup>
	100 MPa	103.03±33 <sup>Bd</sup>	234.34±28.49 <sup>Ba</sup>	210.91±13.14 <sup>BCab</sup>	166.63±19.77 <sup>CDbc</sup>	155.6±24.65 <sup>Bbcd</sup>	133.88±5.16 <sup>CDcd</sup>
	200 MPa	109.01±26.7 <sup>Be</sup>	255.57±12.97 <sup>Ba</sup>	206.75±5.66 <sup>BCab</sup>	195.55±37.81 <sup>BCDbc</sup>	133.68±15.2 <sup>Bde</sup>	139.71±14.34 <sup>CDede</sup>
	300 MPa	149.44±31.64 <sup>Bc</sup>	248.96±41.66 <sup>Ba</sup>	236.55±35.79 <sup>Ba</sup>	232.5±26.7 <sup>Bab</sup>	180.18±4.28 <sup>Bbc</sup>	199.72±12.5 <sup>Babc</sup>
	400 MPa	149.12±7.43 <sup>Bd</sup>	265.5±19.45 <sup>Ba</sup>	264.8±19.04 <sup>Ba</sup>	208.45±22.9 <sup>BCbc</sup>	186.29±9.88 <sup>Bbcd</sup>	166.53±18.42 <sup>BCDcd</sup>
	500 MPa	216.85±8.62 <sup>Ad</sup>	446.49±24.71 <sup>Aa</sup>	409.58±18.73 <sup>Aa</sup>	341.91±25.5 <sup>Ab</sup>	270.16±43.44 <sup>Ac</sup>	270.81±17.7 <sup>Ac</sup>
Chewiness	Control	46.99±8.95 <sup>Bc</sup>	90.25±9.4 <sup>Ca</sup>	74.89±9.1 <sup>Dabc</sup>	75.43±8.02 <sup>Cabc</sup>	66.96±20.78 <sup>Cabc</sup>	53.61±3.9 <sup>Dbc</sup>
	100 MPa	49.24±16.85 <sup>Bd</sup>	114.41±9.69 <sup>BCa</sup>	107.6±10.65 <sup>CDa</sup>	92.95±14.87 <sup>BCab</sup>	71.03±13.4 <sup>BCbcd</sup>	59.89±13.4 <sup>CDcd</sup>
	200 MPa	48.24±12.81 <sup>Bd</sup>	123.58±6.29 <sup>Ba</sup>	114.74±10.76 <sup>Ca</sup>	100.87±26.86 <sup>BCabc</sup>	74.4±1.68 <sup>BCbcd</sup>	69.89±7.74 <sup>BCDcd</sup>
	300 MPa	76.87±4.51 <sup>Bc</sup>	131.87±18.66 <sup>Ba</sup>	129.44±18.73 <sup>Ca</sup>	124.04±18.01 <sup>Bab</sup>	101.87±10.73 <sup>Babc</sup>	95.38±5.17 <sup>Bbc</sup>
	400 MPa	77±6.52 <sup>Be</sup>	141.02±11.52 <sup>Bab</sup>	162.39±15.44 <sup>Ba</sup>	113.59±1.28 <sup>Bbcd</sup>	99.92±9.16 <sup>BCde</sup>	93.54±9.32 <sup>Bde</sup>
	500 MPa	122.45±5.59 <sup>Ae</sup>	237.13±18.78 <sup>Aa</sup>	221.84±11.52 <sup>Ab</sup>	200.04±11.98 <sup>Ab</sup>	149.68±31.52 <sup>Ad</sup>	160.2±19.95 <sup>Ac</sup>
Shear force (N)	Control	10.45±1.18 <sup>Ea</sup>	10.45±1.18 <sup>Ea</sup>	11.25±1.13 <sup>Da</sup>	10.45±1.18 <sup>Ea</sup>	9.79±0.84 <sup>Dc</sup>	9.57±1.34 <sup>Ea</sup>
	100 MPa	13.16±1.22 <sup>Da</sup>	13.16±1.22 <sup>Da</sup>	12.95±0.22 <sup>CDa</sup>	13.16±1.22 <sup>Da</sup>	11.19±0.38 <sup>Dc</sup>	13.16±1.22 <sup>Da</sup>
	200 MPa	14.51±0.19 <sup>CDa</sup>	14.51±0.19 <sup>CDa</sup>	13.45±0.18 <sup>Ca</sup>	14.51±0.19 <sup>CDa</sup>	13.41±0.53 <sup>Cd</sup>	14.48±0.15 <sup>CDa</sup>
	300 MPa	15.84±0.83 <sup>BCa</sup>	15.51±0.47 <sup>BCa</sup>	14.59±0.41 <sup>BCa</sup>	15.51±0.47 <sup>B<sup>C</sup>a</sup>	14.91±0.23 <sup>Bd</sup>	15.2±0.61 <sup>BCa</sup>
	400 MPa	17.81±0.94 <sup>Ba</sup>	17.11±0.6 <sup>Ba</sup>	15.81±0.32 <sup>Bb</sup>	17.11±0.6 <sup>Ba</sup>	16.27±1.73 <sup>Cd</sup>	16.84±0.17 <sup>Aba</sup>
	500 MPa	20.34±1.09 <sup>ABcd</sup>	22.23±0.72 <sup>Aab</sup>	20.48±0.61 <sup>Abc</sup>	23.66±1.25 <sup>Aa</sup>	19.04±0.26 <sup>Ad</sup>	18.36±0.51 <sup>Ad</sup>
Adhesiveness	Control	-13.92±3.11 <sup>ABab</sup>	-11.72±1.07 <sup>Aa</sup>	-11.15±2.86 <sup>ABa</sup>	-19.66±2.11 <sup>BCb</sup>	-19.16±1.95 <sup>Bb</sup>	-13.81±3.21 <sup>ABab</sup>
	100 MPa	-12.76±2.9 <sup>ABa</sup>	-13.25±2.69 <sup>ABa</sup>	-9.82±2.44 <sup>Aa</sup>	-21.4±0.17 <sup>Cb</sup>	-12.04±3.84 <sup>Aa</sup>	-13.58±2.92 <sup>ABa</sup>
	200 MPa	-10.87±0.67 <sup>Aa</sup>	-8.98±0.97 <sup>Aa</sup>	-13.91±2.98 <sup>ABa</sup>	-14.44±3.08 <sup>ABa</sup>	-12.98±2.72 <sup>ABa</sup>	-15.44±3.94 <sup>ABa</sup>
	300 MPa	-14.85±3.09 <sup>ABa</sup>	-9.49±4.76 <sup>Aa</sup>	-11.94±2.36 <sup>A<sup>B</sup>a</sup>	-9.82±4.38 <sup>Aa</sup>	-14.71±4.14 <sup>ABa</sup>	-13.14±0.77 <sup>Aa</sup>
	400 MPa	-18.09±4.18 <sup>Bb</sup>	-10.84±2.04 <sup>Aa</sup>	-16.82±0.95 <sup>Bab</sup>	-12.03±4.63 <sup>Aab</sup>	-15.39±1.62 <sup>ABab</sup>	-15.22±0.75 <sup>ABab</sup>
	500 MPa	-8.2±1.62 <sup>Aa</sup>	-19.15±3.03 <sup>Bc</sup>	-7.54±1.93 <sup>Aa</sup>	-10.36±3.32 <sup>Aab</sup>	-15.61±1.21 <sup>ABbc</sup>	-19.92±2.8 <sup>Bc</sup>
Cohesiveness	Control	0.4±0.07 <sup>ABa</sup>	0.44±0.02 <sup>Aa</sup>	0.42±0.04 <sup>Ba</sup>	0.37±0.09 <sup>Ca</sup>	0.41±0.04 <sup>ABa</sup>	0.43±0.04 <sup>Aa</sup>
	100 MPa	0.48±0.05 <sup>Aa</sup>	0.49±0.01 <sup>Aa</sup>	0.43±0.02 <sup>Ba</sup>	0.39±0.03 <sup>Ca</sup>	0.47±0.08 <sup>ABa</sup>	0.45±0.03 <sup>Aa</sup>
	200 MPa	0.36±0.07 <sup>Ba</sup>	0.47±0.02 <sup>Aa</sup>	0.42±0.01 <sup>Ba</sup>	0.43±0.08 <sup>BCa</sup>	0.37±0.05 <sup>Ba</sup>	0.42±0.05 <sup>Aa</sup>
	300 MPa	0.45±0.06 <sup>ABa</sup>	0.44±0.08 <sup>Aa</sup>	0.44±0.06 <sup>Ba</sup>	0.54±0.06 <sup>ABa</sup>	0.43±0.02 <sup>ABa</sup>	0.5±0.03 <sup>Aa</sup>
	400 MPa	0.47±0.01 <sup>ABa</sup>	0.49±0.02 <sup>Aa</sup>	0.53±0.03 <sup>ABa</sup>	0.48±0.06 <sup>ABCa</sup>	0.49±0.04 <sup>Aa</sup>	0.5±0.04 <sup>Aa</sup>
	500 MPa	0.45±0.03 <sup>ABb</sup>	0.51±0.04 <sup>Aab</sup>	0.58±0.02 <sup>Aa</sup>	0.54±0.04 <sup>Aab</sup>	0.47±0.08 <sup>ABab</sup>	0.51±0.01 <sup>Aab</sup>
Resilience	Control	0.18±0.02 <sup>Cb</sup>	0.25±0.02 <sup>Ba</sup>	0.25±0.03 <sup>Ba</sup>	0.24±0.02 <sup>BCab</sup>	0.22±0.01 <sup>Bab</sup>	0.23±0.03 <sup>Bab</sup>
	100 MPa	0.21±0.02 <sup>BCb</sup>	0.26±0.03 <sup>Bab</sup>	0.27±0.03 <sup>Ba</sup>	0.22±0.01 <sup>Cab</sup>	0.25±0.04 <sup>ABab</sup>	0.24±0.01 <sup>ABab</sup>
	200 MPa	0.23±0.02 <sup>BCb</sup>	0.3±0.01 <sup>ABa</sup>	0.26±0.01 <sup>Bab</sup>	0.28±0.04 <sup>ABCab</sup>	0.24±0.01 <sup>ABab</sup>	0.24±0.03 <sup>ABab</sup>

300 MPa	$0.21 \pm 0.01^{BCb}$	$0.29 \pm 0.05^{ABa}$	$0.28 \pm 0.04^{ABa}$	$0.3 \pm 0.01^{Aa}$	$0.26 \pm 0.01^{ABab}$	$0.28 \pm 0.02^{ABa}$
400 MPa	$0.25 \pm 0.02^{ABb}$	$0.3 \pm 0.01^{ABa}$	$0.29 \pm 0.02^{ABab}$	$0.29 \pm 0.02^{ABab}$	$0.27 \pm 0.02^{ABab}$	$0.25 \pm 0.05^{ABab}$
500 MPa	$0.29 \pm 0.02^{Aab}$	$0.34 \pm 0.04^{Ab}$	$0.33 \pm 0.02^{Aab}$	$0.32 \pm 0.03^{Aab}$	$0.28 \pm 0.01^{Ab}$	$0.29 \pm 0.01^{Aab}$

Values are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD) (n = 3). Different capital letters in the same column indicate significantly different ( $p < 0.05$ ). Different small letters in the same row indicate significantly different ( $p < 0.05$ ).



**Figure S1.** The standard curve of AMC.