

虾夷扇贝闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白的特性分析

吴 忠, 刘俊荣*, 田元勇

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁 大连 116023)

摘要: 为探索捕捞后活品虾夷扇贝品质变化与其肌肉蛋白质生理特性变化间的关联, 本研究以虾夷扇贝 2 个可食部肌肉为研究对象, 以肌原纤维蛋白 ATPase 活性为指标 (Ca^{2+} -ATPase, Mg^{2+} -ATPase), 对扇贝肌原纤维蛋白 (Mf) 的稳定性进行了系统探索。首先, 分别提取闭壳肌肌原纤维 (A-Mf) 和外套膜肌原纤维 (M-Mf); 然后, 考察了不同因素 (离子强度 I、pH、温度) 对 Mf 的 ATPase 活性的影响规律; 对 A-Mf 及 M-Mf 的稳定性进行了探索; 进一步比较了闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白 ATPase 的失活特性。研究表明: (1) 虾夷扇贝闭壳肌与外套膜的 Mf 的理化性质相似, A-Mf 与 M-Mf 的 pI 均在 5.0 附近, 粘度分析发现 A-Mf 热稳定性高于 M-Mf。 (2) ATPase 活性变化规律的结果发现, 与脊椎动物中的鱼类一样, 作为无脊椎动物的扇贝, 与 Mg^{2+} -ATPase 相比, Ca^{2+} -ATPase 更能准确地反映 Mf 的稳定性。 (3) 闭壳肌和外套膜二者的 Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 呈现出共同特性, 在 pH 为中性时活性最高; A-Mf 与 M-Mf 的差异性则表现为前者的 Ca^{2+} -ATPase 在较低离子强度 ($I=0.2$) 下活性最高, 后者则在较高离子强度 ($I=0.5$) 下活性最高; 离子强度对 A-Mf 的热稳定性影响不明显, 而 M-Mf 的热稳定性明显受到离子强度的影响, 其在较低离子强度下表现出更好的稳定性。 (4) Ca^{2+} -ATPase 失活速率的研究发现, 无论是闭壳肌还是外套膜, 其稳定性与离子强度 I 和温度均呈现显著正相关 ($R^2=0.8181, 0.8436$ 和 $R^2=0.9887, 0.9557$); 二者在 pH 7.0 左右的稳定性最好, 偏离中性会促使 Ca^{2+} -ATPase 失活, 与碱性条件相比, 酸性对蛋白质稳定性的破坏更加明显。

关键词: 虾夷扇贝; 闭壳肌; 外套膜; 肌原纤维蛋白; Ca^{2+} -ATPase

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

作为动物源性食品的主要肌肉组分^[1-2], 以肌球蛋白和肌动蛋白为主的肌原纤维蛋白既参与生理代谢, 同时, 其本身特性的改变又直接影响食品品质。相关规律在水产脊椎动物, 即各种经济鱼类中的研究已十分广泛, 不同品种鱼类的肌肉蛋白特性与鱼品质量之间的关联得到深入探索^[3]。相对而言, 对经济水产无脊椎动物的研究比较少。

与鱼类相比, 贝类的肌肉组织除了横纹肌 (主要分布在闭壳肌) 以外, 还包含平滑肌 (主要分布在外套膜^[4]), 且含有副肌球蛋白成分。

Nishita 等^[5]对栉孔扇贝 (*Chlamys nipponensis*) 的研究发现, 其横纹肌肌原纤维蛋白中肌球蛋白含量大于 50%, 副肌球蛋白含量约 5%, 而平滑肌中肌球蛋白和副肌球蛋白均约占 30%; 巴塔哥尼亚扇贝 (*Zygochlamys patagonica*) 的平滑肌中副肌球蛋白的含量同样远远高于横纹肌^[6]。肌球蛋白头部拥有与 ATP 结合的酶活位点, 其 ATPase 活性是肌球蛋白的一个重要特性, 也是肌球蛋白变性的主要指标。Satoh 等^[7]针对虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 的研究表明, 肌球蛋白 ATPase 活性, 特别是经过胰蛋白酶切除肌球蛋白

收稿日期: 2015-04-17 修回日期: 2015-06-18

资助项目: 国家自然科学基金 (31271980)

通信作者: 刘俊荣, E-mail: ljunrong@dlou.edu.cn

杆部(rod)之后的 ATPase 活性,并不受副肌球蛋白的影响。

虾夷扇贝是经济价值较高的海水养殖品种之一。闭壳肌蛋白的性质及其变化决定其质地品质,直接影响到扇贝的商品价值。采捕后,在不同胁迫条件下,因生理代谢导致活品扇贝的食用品质发生改变^[8]。扇贝食用品质与其肌肉蛋白组分特性密切相关,肌球蛋白为主的肌原纤维蛋白是扇贝肌肉组织中的主体蛋白质;采捕后流通或加工过程中,胁迫或加工处置会导致肌肉蛋白发生一定程度的变性,根据肌球蛋白 ATPase 活性的变化规律,探索采捕后虾夷扇贝食用品质的变化规律。本研究以肌原纤维蛋白 ATPase 活性为指标,探索虾夷扇贝闭壳肌和外套膜 2 个可食部肌肉蛋白的稳定性,为进一步探索扇贝可食部蛋白质性质变化与品质之间的关联提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验原料、试剂、仪器

原料及处理:活品虾夷扇贝采购于大连长兴水产品交易市场,运抵实验室后低温下取闭壳肌中的横纹肌和外套膜,用冰水清洗后沥水,切碎后备用。

主要仪器:均质机 XHF-D,宁波新芝;磁力搅拌器;雪花制冰机,IMS 中国雪科;恒温水浴锅 SDC-6,宁波新芝;pH 计,德国 sartorius PB-10;721 型分光光度计,上海光谱仪器有限公司;高速冷冻离心机,德国 HERMLE;乌氏粘度计 DV-II+,美国 BROOKFIELD;

主要试剂:分析纯高氯酸(PCA)、盐酸、氯化钾、Tris、硫酸钼酸铵、氢氧化钠、米吐尔(Elon)和 ATPNa₂。

1.2 肌原纤维蛋白的提取及分析

肌原纤维蛋白(myofibril, Mf)的提取采用 Kato 等^[9]的方法。将鲜外套膜和闭壳肌中的横纹肌采用 0.1 mol/L KCl, 20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5 缓冲液捣碎洗脱 3 次,取沉淀加入适量 0.1 mol/L KCl, 20 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5 缓冲液混匀,2 层棉纱布过滤,滤液即为 Mf 悬浊液。整个提取过程在冰浴中操作,分别得到闭壳肌肌原纤维蛋白(A-Mf)和外套膜肌原纤维蛋白(M-Mf)。

溶解度:取适量 Mf,去离子水透析脱除盐分后加入冷去离子水混匀,分别取 5 mL 于离心管

中,采用 1 M HCl/NaOH 调 pH 至 2.0、3.0、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 和 11.0,误差为 ± 0.03 ,冰浴中搅拌 30 min,而后 8 000 g 离心 5 min,采用双缩脲法测定上清液蛋白质含量。

粘度:取适量 Mf 溶液($I = 0.5$, 8 ~ 10 mg/mL),在 20 ~ 50 °C 范围内以 2 °C/min 升温速度水浴并测定粘度变化。

1.3 肌原纤维蛋白稳定性分析

A: ATPase 活性的测定 结合 Watabe 等^[10]和 Yokomoto 等^[11]的方法并做适当调整。在试管中加入 ATP 反应液[1 mL 40 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 mL 0.1 mol/L CaCl₂/MgCl₂, 0.3 mL KCl(浓度可调), 0.1 mL 40 mmol/L ATP],加入浓度 1 ~ 1.5 mg/mL 肌原纤维蛋白 0.5 mL($I = 0.1$ 或 0.5), 25 °C 水浴反应(时间可调),之后加入 1 mL 15% PCA 冰浴停止反应,静置 10 min,取上清液 1 mL 加入 1 mL 硫酸钼酸铵和 1 mL Elon 反应 45 min, 640 nm 测定吸光值。

离子强度对 ATPase 活性的影响 $I = 0.125 \sim 0.5$: 在试管中加入 ATP 反应液,其中包含 0.3 mL 0.5、1.2、1.9、2.5 mol/L KCl 和 0.5 mL Mf 溶液($I = 0.5$), 25 °C 水浴分别反应 0、2、5、8、10、15 和 20 min,之后操作同 A。

离子强度计算公式: $I = \frac{1}{2} \sum C_i \times Z_i^2$ 。式中 C_i 表示第 i 种离子的浓度; Z_i 表示该离子的电荷数; \sum 是对溶液中所有离子的加和。

温度对 ATPase 活性的影响 $I = 0.125$: 在试管中加入 ATP 反应液(0.3 mL 0.5 mol/L KCl)和 0.5 mL Mf 溶液($I = 0.1$),于 15、20、25、30、35、40 和 45 °C 水浴反应 10 min,之后操作同 A。

$I = 0.5$: 方法同上,ATP 反应液中包含 0.3 mL 2.5 M KCl, Mf 溶液的 I 值为 0.5。

pH 对 ATPase 活性的影响 $I = 0.5$: 取离心管加入蛋白溶液[4 mL 去离子水、0.4 mL 0.1 mol/L CaCl₂ 或 MgCl₂、1.2 mL 2.5 mol/L KCl、2 mL Mf 溶液($I = 0.1$)],调节 pH (pH 误差 ± 0.03)。之后分别取 1.9 mL 溶液于试管中,加入 0.1 mL 40 mmol/L ATP, 25 °C 水浴反应 0、2、5、8、10、15 和 20 min,之后操作同 A。

1.4 Ca²⁺-ATPase 失活特性分析

将 Mf 溶液($I = 0.5$)在 20、25、30、35、40 和 45 °C 水浴放置 0、2、5、10、15、20、30、40、60、80 和

100 min 后取 0.5 mL 加入 ATP 反应液中反应 10 min, 之后操作同 A。

不同离子强度下 Ca^{2+} -ATPase 失活特性: 取 Mf 溶液 ($I=0.1$) 于样品管中, 调 KCl 浓度至离子强度为 0.125、0.3、0.5、0.7、1.0 和 1.5。于 25 °C 水浴 0、10、20、30、40、50 和 60 min, 取 0.5 mL 加入 ATP 反应液中反应 10 min, 之后操作同 A。

1.5 统计分析

应用 Excel 2007 软件进行数据分析。

相对溶解度 (%) = (某条件下的溶解度/最高溶解度) × 100% ;

失活速率常数 $K_D = 1/t(\ln C_0 - \ln C_t)$, C_0 和 C_t 分别表示保温前和保温 (t) 时间后的 Ca^{2+} -ATPase 活性^[11]。

2 结果与讨论

2.1 肌原纤维蛋白的溶解性及粘度

扇贝 A-Mf 和 M-Mf 等电点均在 5.0 左右, 偏离等电点后溶解度迅速升高, 且最大溶解度均出现在极端条件 (pH 11, pH 2) (图 1)。

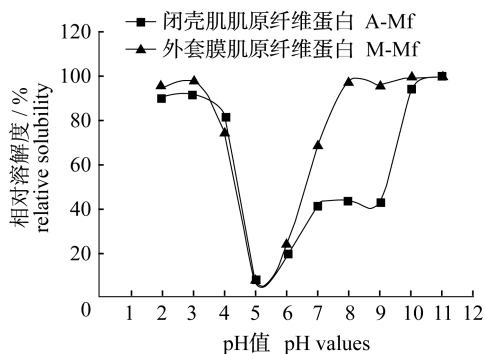


图 1 pH 对闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白溶解性的影响
Fig. 1 Influences of pH on solubilities of A-Mf and M-Mf

肌原纤维蛋白溶液粘度随温度的变化规律反映出其热稳定性。扇贝 A-Mf 和 M-Mf 的初始变性温度出现在 30 ~ 35 °C, 期间 Mf 粘度下降 (图 2), 随后经瞬间絮凝变性后趋于消失。与脊椎动物鱼类肌肉 Mf 的性质相比^[12], 无脊椎动物具有相似的 Mf 热稳定性。

此外, A-Mf 热稳定性略高于 M-Mf。前者的初始变性温度和彻底变性温度均高于后者, A-Mf 和 M-Mf 的初始变性温度在 33 和 30 °C 左右, 彻底变性温度在 38 和 36 °C 左右 (图 2)。

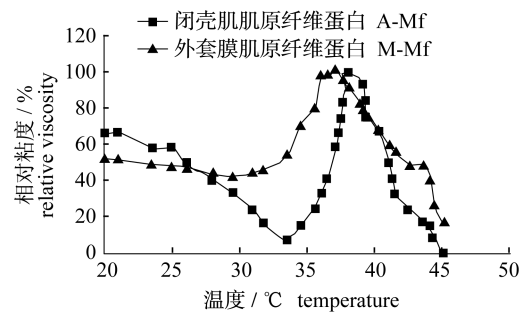


图 2 温度对闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白粘度的影响
Fig. 2 Influences of temperature on the viscosity of A-Mf and M-Mf

2.2 Ca^{2+} -ATPase 与 Mg^{2+} -ATPase 的活性比较

离子强度的影响 从曲线斜率可以看到 A-Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 活性发生变化, Mg^{2+} -ATPase 活性低且平稳 (图 3-a, 3-b); M-Mf 的 ATPase 观测到相同结果 (图 4-a, 4-b)。因此, 与脊椎动物中的鱼类一样, 评价扇贝 Mf 稳定性, Ca^{2+} -ATPase 活性比 Mg^{2+} -ATPase 具有明显的优势。

虾夷扇贝 A-Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 最大活性出现在中等离子强度 ($I=0.2 \sim 0.3$) 范围内 (图 3-a)。这与其他相关品种的研究结论相吻合, 如栉孔扇贝闭壳肌肌球蛋白^[13]、白姑鱼 (*Pennahia argentata*) 与狭鳕 (*Theragra chalcogramma*) 肌球蛋白^[14]、鲤 (*Cyprinus carpio*) 肌原纤维蛋白^[15]、克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 肌球蛋白^[16] 以及鲤鱼肌球蛋白^[17]。Hayashi 等^[18] 研究表明高离子强度 (K^+) 对鲤肌原纤维蛋白 ATPase 活性有 2 种抑制方式: 高离子强度抑制 S-1 片段 (胰蛋白酶切后肌球蛋白头部) 活性和降低 F-actin 的保护作用。

M-Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 活性远低于 A-Mf (图 3-a, 4-a)。此外, M-Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 最高活性出现在 $I=0.5$ (图 4-a), 这与鸡肫肌球蛋白^[13] 相似, 值得关注的是, 鸡肫同样含有较多的平滑肌。

综上所述, 扇贝 A-Mf 与 M-Mf 存在一定差异。分析其原因, 应该是由二者的肌肉类型及蛋白质组分的差异所导致。与闭壳肌相比, 外套膜属平滑肌, 而且平滑肌中肌球蛋白含量远低于闭壳肌, 同时富含副肌球蛋白^[5], 这些均构成外套膜与闭壳肌截然不同的 Mf 特性。

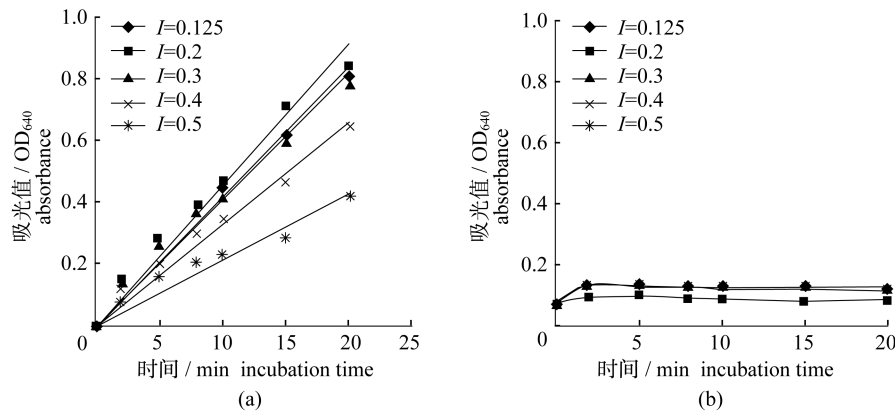


图 3 不同离子强度对闭壳肌肌原纤维蛋白 ATPase 活性影响 (25 °C, pH 7.5)

(a) 闭壳肌肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性; (b) 闭壳肌肌原纤维蛋白 Mg^{2+} -ATPase 活性

Fig. 3 Influences of different ionic strength on ATPase activity of A - Mf

(a) Ca^{2+} -ATPase activity of A - Mf; (b) Mg^{2+} -ATPase activity of A - Mf

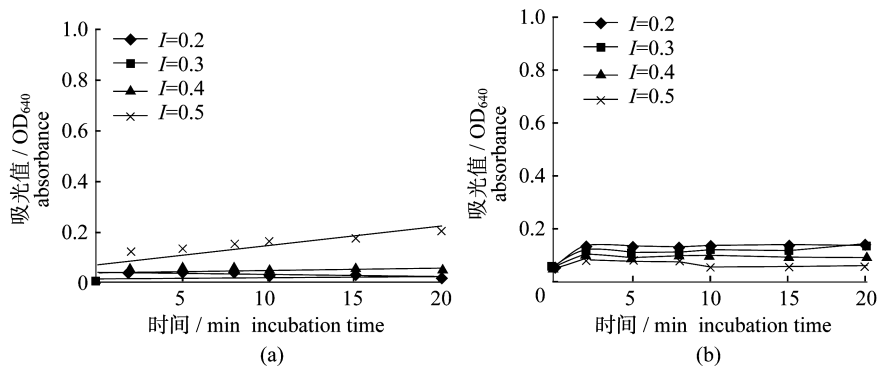


图 4 不同离子强度对外套膜肌原纤维蛋白 ATPase 活性影响 (25 °C, pH 7.5)

(a) 外套膜肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性; (b) 外套膜肌原纤维蛋白 Mg^{2+} -ATPase 活性

Fig. 4 Influences of different ionic strength on ATPase activity of M - Mf

(a) Ca^{2+} -ATPase activity of M - Mf; (b) Mg^{2+} -ATPase activity of M - Mf

pH 的影响 通过斜率比较不同 pH 下 Ca^{2+} -ATPase 失活率的大小,在 pH 7 时,酶失活速率最低(图 5-a,6-a),说明 Ca^{2+} -ATPase 在中性条件下最稳定,根据 Yokomoto 等^[11]对栉孔扇贝的研究,其闭壳肌肌球蛋白也表现出相似性质。

热稳定性 A - Mf 和 M - Mf 的 ATPase 活性随温度的变化趋势相似(图 7),温度较低时酶活性受到抑制,酶处于可逆变性状态,当温度高于临界温度时酶发生不可逆变性而不断失活。

在较低离子强度下,与 A - Mf 相比,M - Mf 的 ATPase 临界失活温度出现滞后,分别为 30 和 35 °C;另一方面,在较高离子强度下,A - Mf 的 ATPase 临界失活温度仍然为 30 °C,而此时 M -

Mf 发生了改变(25 °C)(图 7)。再次反映了 2 种肌肉肌原纤维蛋白性质的差异,同样地,根据 Paredi 等^[6]的研究报道,I = 0.5 时巴塔哥尼亚扇贝平滑肌热稳定性显著低于 I = 0.05 和 0.25 时的热稳定性。

虾夷扇贝可食部位 Mf 的热稳定性与其生存环境息息相关。低温环境中的鱼类、贝类和甲壳类 Mf 热稳定性较温暖环境中的低^[19-22]。A - Mf 和 M - Mf 的 ATPase 在 20 ~ 30 °C 保持活性,这高于南极磷虾 (*Euphausia superba*) (5 ~ 25 °C),低于狭鳕 (15 ~ 35 °C),与线尾鳕 (*Nematonurus pectoralis*) (10 ~ 30 °C) 相似^[23]。

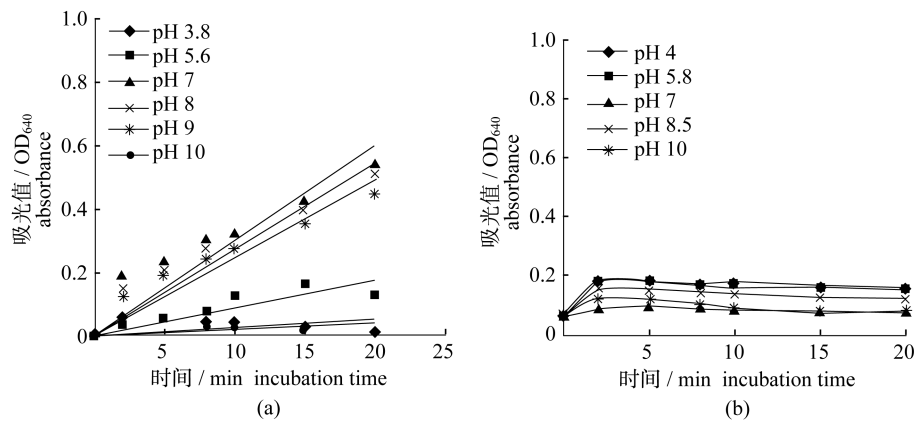


图5 pH对闭壳肌肌原纤维蛋白ATPase的活性影响(25℃, I = 0.5)

(a) 闭壳肌肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性; (b) 闭壳肌肌原纤维蛋白 Mg^{2+} -ATPase 活性

Fig. 5 Influences of pH on ATPase activity of A - Mf

(a) Ca^{2+} -ATPase activity of A - Mf; (b) Mg^{2+} -ATPase activity of A - Mf

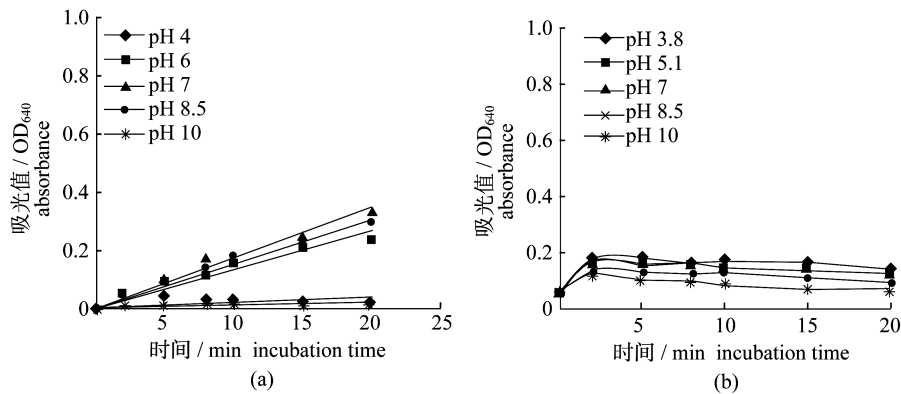


图6 pH对外套膜肌原纤维蛋白ATPase活性的影响(25℃, I = 0.5)

(a) 外套膜肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 活性; (b) 外套膜肌原纤维蛋白 Mg^{2+} -ATPase 活性

Fig. 6 Influences of pH on ATPase activity of M - Mf

(a) Ca^{2+} -ATPase activity of M - Mf; (b) Mg^{2+} -ATPase activity of M - Mf

2.3 Ca^{2+} -ATPase 失活速率

不同离子强度对失活速率的影响 离子强度对失活速率均有很鲜明的影响(图8),即在较低离子强度下 Ca^{2+} -ATPase 的失活速率缓慢;随着离子强度的升高失活速率加快,此时失活速率常数的对数与离子强度呈正相关关系(图9)。这与 Takahashi 等^[24]对鲤和狭鳕的研究结果吻合。Takahashi 等^[25]的研究表明,随着离子强度升高,蛋白质的溶解度升高,导致肌球蛋白和肌动蛋白的结合度不断降低,肌动蛋白对肌球蛋白的

保护作用逐渐丧失,酶失活速率不断升高,当离子强度在 1.5~2 时完全丧失,此时测得的酶活就是游离的肌球蛋白的酶活。

不同温度对失活速率的影响 温度对 A - Mf 和 M - Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 活性有相似影响(图10),随着温度的升高失活速率加快,此时失活速率常数的对数与离子强度呈正相关关系(图11)。在温度高于 30℃ 时, A - Mf 和 M - Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 迅速失活。A - Mf 的 Ca^{2+} -ATPase 在 40℃ 时失活速率分别为 35 和 30℃ 的

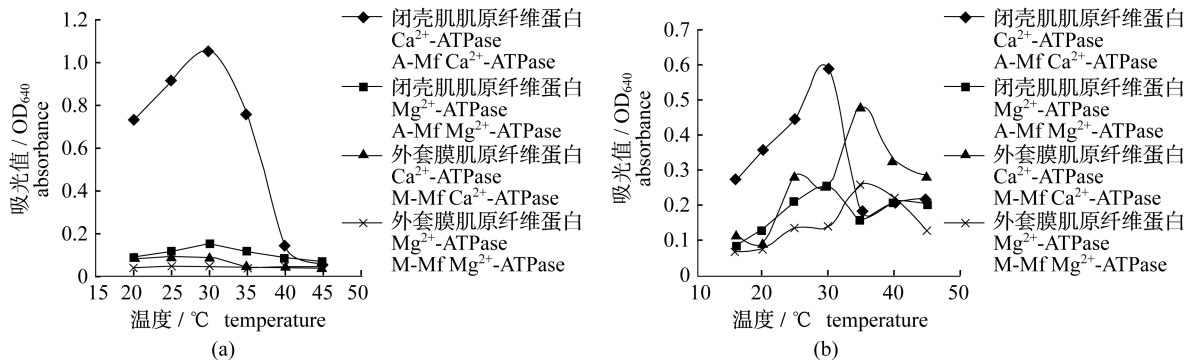


图 7 闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白 ATPase 热稳定性

(a) ATPase 活性 (I=0.5, pH 7.5); (b) ATPase 活性 (I=0.125, pH 7.5)

Fig. 7 The influence of temperature on Ca²⁺-ATPase activity of A-Mf and M-Mf

(a) Ca²⁺-ATPase activity (I=0.5, pH 7.5); (b) Ca²⁺-ATPase activity (I=0.125, pH 7.5)

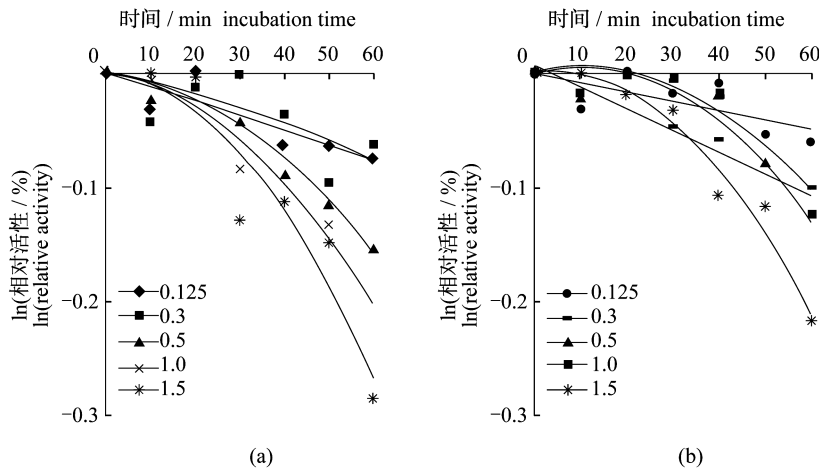


图 8 不同离子强度下闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 的失活特性 (25 °C, pH 7.5)

(a) 闭壳肌肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 失活特性; (b) 外套膜肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 失活特性

Fig. 8 Denaturation modes of A-Mf and M-Mf Ca²⁺-ATPase as affected by ionic strength

(a) denaturation modes of A-Mf Ca²⁺-ATPase; (b) denaturation modes of M-Mf Ca²⁺-ATPase.

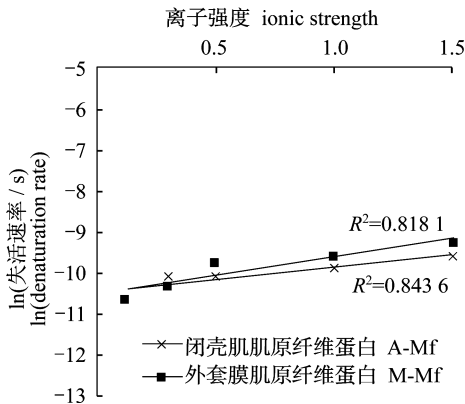


图 9 离子强度对闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白 Ca²⁺-ATPase 的失活速率的影响

Fig. 9 Ionic strength dependent denaturation rates of A-Mf and M-Mf Ca²⁺-ATPase

6 和 60 倍。M-Mf 的 Ca²⁺-ATPase 在 40 °C 时失活速率分别是 35 和 30 °C 的 10 和 40 倍。

这里仅仅考察了离子强度为 0.5 时的温度影响。事实上, Wakameda 等^[26]的研究发现, 温度对 Ca²⁺-ATPase 活性的影响不是孤立的, 同时还受离子强度的干扰, 白姑鱼和鲤肌原纤维蛋白 ATPase 热失活特性随着离子强度 (包括 Na⁺ 和 K⁺ 强度) 的增加而加快, 分析是肌动蛋白的保护作用减弱导致。

A-Mf 的 Ca²⁺-ATPase 失活速率低于 M-Mf (图 11), 这再次表明前者的热稳定性高于后者。

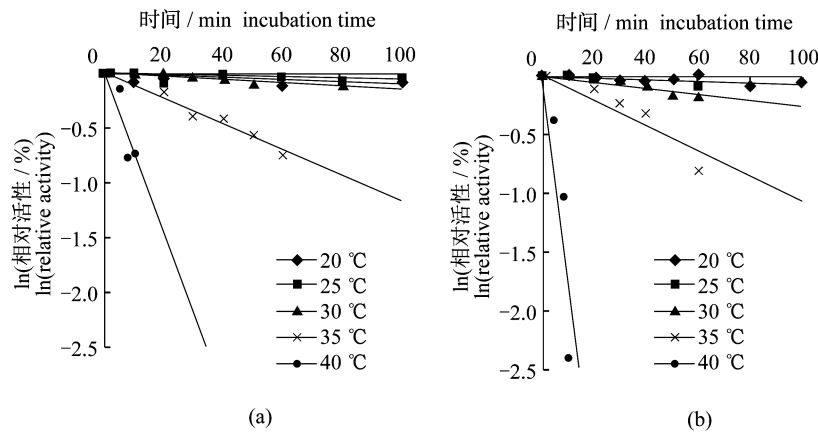


图 10 闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 在不同温度下的失活特性 ($I=0.5, \text{pH} 7.5$)

(a) 闭壳肌肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 失活特性; (b) 外套膜肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 失活特性

Fig. 10 Inactivation of A - Mf and M - Mf Ca^{2+} -ATPase activities during heat - treatment

(a) inactivation of A - Mf Ca^{2+} -ATPase; (b) inactivation of M - Mf Ca^{2+} -ATPase

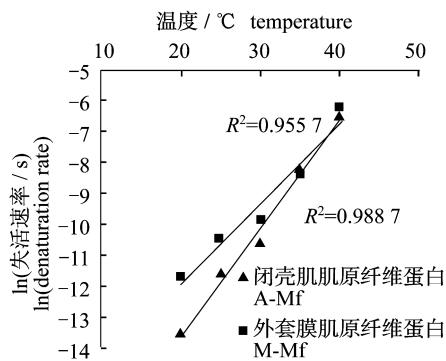


图 11 闭壳肌和外套膜肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 热失活速率

Fig. 11 Thermal dependent denaturation rates of A - Mf and M - Mf

闭壳肌和外套膜的肌原纤维蛋白 Ca^{2+} -ATPase 在 20 °C 的失活速率常数分别为 0.858×10^{-5} 和 $2.93 \times 10^{-5}/\text{s}$, 在 25 °C 的失活速率常数分别为 0.133×10^{-5} 和 $0.957 \times 10^{-5}/\text{s}$ 。对于鱼类, 如狭鳕肌原纤维蛋白的 Ca^{2+} -ATPase 在 20 和 25 °C 的失活速率常数分别为 1.4×10^{-5} 和 $8.3 \times 10^{-5}/\text{s}$, 线尾鳕肌原纤维蛋白的 Ca^{2+} -ATPase 在 20 和 25 °C 的失活速率常数分别为 5.1×10^{-5} 和 $23 \times 10^{-5}/\text{s}$; 甲壳类, 如南极磷虾肌原纤维蛋白在 20 和 25 °C 的失活速率常数分别为 48×10^{-5} 和 $150 \times 10^{-5}/\text{s}$ [23]; 头足类, 如太平洋褶柔鱼 (*Todarodes pacificus*) 外套膜肌原纤维蛋白在 40 °C 的失活速率常数高于 A - Mf 和 M - Mf

的失活速率常数 [27]。与本研究结果相比, Nishita [28] 研究发现虾夷扇贝闭壳肌肌球蛋白的 Ca^{2+} -ATPase 在 30 和 35 °C 下的失活速率常数分别为 220×10^{-5} 和 $(610 \sim 1280) \times 10^{-5}/\text{s}$, 明显高于本研究中外套膜的 22.8×10^{-5} 、 $201.4 \times 10^{-5}/\text{s}$ 和闭壳肌的 24.8×10^{-5} 、 $151.8 \times 10^{-5}/\text{s}$ 。以上研究说明虾夷扇贝闭壳肌和外套膜的稳定性皆高于冷水性的鳕鱼、南极磷虾和虾夷扇贝, 低于太平洋褶柔鱼外套膜。分析原因有 2 个, 一是生长环境的差异, 二是肌原纤维蛋白的 Ca^{2+} -ATPase 活性受肌动蛋白保护。生长环境的差异所导致的 Ca^{2+} -ATPase 活性的不同在鱼类的研究中有同样现象, Yan 等 [20] 研究表明草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 生长的环境温度越低, 肌球蛋白的热失活速率越高。

3 结论

本研究从肌原纤维蛋白稳定性出发, 考察了其 ATPase 活性的变化规律, 并对这 2 种肌肉组织蛋白的差异进行了比较。肌原纤维蛋白是动物源性食品肌肉的重要蛋白组分, 通过对虾夷扇贝肌肉组织蛋白质的研究, 发现其肌原纤维蛋白与其他动物源性食品相似, 有共同的规律性。依据这些规律, 一方面, 可以科学控制原料采捕后的品质, 另一方面, 对于扇贝深加工同样具有指导意义。值得指出的是, 副肌球蛋白在软体动物的肌肉蛋白组分中, 具有特异性分布, 本研究没有针对

副肌球蛋白进行系统探索。副肌球蛋白性质及变化对于扇贝可食部位品质的影响,值得深入探讨。

总之,探索虾夷扇贝肌原纤维的特性对于指导采捕后贝类的品质管理具有实际的科学探索价值。在蛋白质特性的基础上,再结合其他生化代谢特征,有利于全面了解虾夷扇贝的品质变化规律。

参考文献:

- [1] Saito T, Iso N, Mizuno H, *et al.* Effect of thermal treatment on extraction of proteins from meats (fishes, shellfishes, ram and beef) [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1983, 46 (10): 1569 - 1597.
- [2] Hashimoto K, Watabe S, Kono M, *et al.* Muscle protein composition of sardine and mackerel [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1979, 45 (1): 1435 - 1411.
- [3] Cuo X F, Zhou S Y. Applied chemistry of Fisheries [M]. Beijing: Agriculture Press of China, 1994: 64 - 68. [郭晓风, 周胜祥. 水产利用化学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 64 - 68.]
- [4] Araki T, Hasegawa Y. Isolation and characteristics of intrinsic myosin in mantle pallial cell layer of scallop [J]. Fisheries Science, 2000, 66 (4): 743 - 747.
- [5] Nishita K, Ojima T, Watanabe S. Myosin from striated adductor muscle of *Chlamys nipponensis akazara* [J]. Journal of Biochemistry, 1979, 86 (3): 663 - 673.
- [6] Paredi M E, Tomas M C, Crupkin M. Thermal denaturation of myofibrillar proteins of striated and smooth adductor muscles of scallop (*Zygochlamys patagonica*). A differential scanning calorimetric study [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2002, 50 (4): 830 - 834.
- [7] Satoh A, Kinoshita Y, Konno K. Myosin denaturation in heated myofibrils of scallop adductor muscle [J]. Fisheries science, 2013, 79 (1): 149 - 155.
- [8] Yang T T, Liu J R, Yu W W, *et al.* Flavor attributes of scallop *Patinopecten yessoensis* along the live supply chain [J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39 (1): 191 - 200. [杨婷婷, 刘俊荣, 俞微微, 等. 活品流通过程中虾夷扇贝风味品质的变化. 水产学报, 2015, 39 (1): 191 - 200.]
- [9] Kato S, Konno K. Isolation of carp myosin rod and its structural stability [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1993, 59 (3): 539 - 544.
- [10] Watabe S, Hashimoto K. Studies on adductor muscle proteins of the scallop - II physico - chemical and enzymatic properties of myosin [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1976, 42 (10): 1161 - 1167.
- [11] Yokomoto K, Nishita K. Heat denaturation of akazara striated myosin [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1987, 53 (3): 451 - 456.
- [12] Fu X J, Xu S Y, Wang Z, *et al.* Effect of extreme pH treatment on heat-induced denaturation, aggregation, and gelling properties of myofibril from silver carp [J]. Food Science, 2008, 29 (06): 100 - 103. [付湘晋, 许时婴, 王璋, 等. 酸碱处理对鲢鱼肌原纤维蛋白热变性、聚集、胶凝性质的影响. 食品科学, 2008, 29 (06): 100 - 103.]
- [13] Mori K, Ojima T, Nishita K. Comparative studies on ATPase activity and filament assembly of akazara and vertebrate myosins [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1989, 55 (10): 1851 - 1856.
- [14] Satoh Y, Nakaya M, Ochiai Y, *et al.* Characterization of fast skeletal myosin from white croaker in comparison with that from walleye pollack [J]. Fisheries Science, 2006, 72 (3): 646 - 655.
- [15] Koseki S, Nomura K, Konno K. Development of myofibrillar ATPase assay system on pH stat [J]. Fisheries Science, 2005, 71 (2): 380 - 387.
- [16] Junki K O, Horiuchi S, Yamaguchi M. Myosin from abdominal flexor muscle in a crayfish, *Procambarus clarki* Girard [J]. Journal of Biochemistry, 1979, 85 (2): 541 - 548.
- [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] Hayashi K, Konno K. Stabilization of myosin by ionic compounds as affected by F-actin [J]. Fisheries Science, 2006, 72 (6): 1306 - 1312.
- [19] Johnston I A, Walesby N J. Molecular mechanisms of temperature adaptation in fish myofibrillar adenosine triphosphatases [J]. Journal of Comparative Physiology, 1977, 119 (2): 195 - 206.
- [20] Yan T, Kobayashi M, Fukushima H, *et al.* Changes in enzymatic and structural properties of grass carp fast skeletal myosin induced by the laboratory - conditioned thermal acclimation and seasonal acclimatization [J]. Fisheries Science, 2005, 71 (1): 195 - 204.
- [21] Tsuchimoto M, Tanaka N, Misima T, *et al.* The

- influence of habitat water temperature on the relative thermostability of myofibrillar Ca^{2+} - ATPase in fishes collected in the waters from tropical to frigid zones [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1988, 54 (5) : 787 - 793.
- [22] Shimada R E, Ushio H I, Yamanaka H I. Effects of temperature on myofibrillar ATPase activities of two lobster species [J]. *Fisheries Science*, 2000, 66 (2) : 379 - 383.
- [23] Hashimoto A, Arai K. Thermo-stability of myofibrillar Ca^{2+} - ATPase of Antarctic krill [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1979, 45 (11) : 1453 - 1460.
- [24] Takahashi M, Yamamoto T, Kato S, *et al.* Comparative study on thermal denaturation modes of myosin in walleye Pollack and carp myofibrils as affected by salt concentration [J]. *Fisheries Science*, 2005, 71 (3) : 662 - 671.
- [25] Takahashi M, Yamamoto T, Kato S, *et al.* Species - specific thermal denaturation pattern of fish myosin when heated as myofibrils as studied by myosin subfragment - I and rod denaturation rates [J]. *Fisheries Science*, 2005, 71 (2) : 405 - 413.
- [26] Wakameda A, Nozawa S, Arai K. Effect of neutral salts on thermal denaturation of myofibrillar Ca^{2+} - ATPase of fish (white croaker, *Argyrosomus argentatus*; carp, *Cyprinus carpio*, for preparing fish jelly products) [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1983, 49 : 237 - 243.
- [27] Ohno T, Kinoshita Y, Konno K. Stabilizing effect of Ca^{2+} on myosin and myofibrils of squid mantle muscle as affected by heating conditions [J]. *Fisheries Science*, 2011, 77 (3) : 425 - 430.
- [28] Nishita K. Preparation and properties of myosin from striated adductor muscle of scallop [J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1977, 43 (3) : 335 - 341.

Characteristics of the adductor and mantle myofibrils from *Patinopecten yessoensis*

WU Zhong, LIU Junrong*, TIAN Yuanyong

(College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: To explore the correlation between the mechanism changes in texture quality of post-harvested commercial bivalve molluscs and the physiological properties changes of muscle protein, a trial study of scallop (*Patinopecten yessoensis*) edible muscles was carried out focusing on myofibrillar (Mf) protein, and ATPase activities were taken as indicators to explore the stability of myofibrillar protein extracted from adductor (A - Mf) and mantle (M - Mf). Comparisons and analysis between the extracted Mfs from adductor muscle and mantle were made, including the solubility, viscosity, the influences of I, pH and temperature on the ATPase stability of Mfs, and their ATPase inactivation characteristics. The results showed that: (1) A - Mf and M - Mf presented similarity in solubility and both pI appeared around 5. Viscosity analysis showed that the thermal stability of A - Mf was higher than that of M - Mf. (2) Compared with Mg^{2+} -ATPase, Ca^{2+} -ATPase can more accurately indicate the stability of A - Mf and M - Mf which was the same as vertebrate fishes. (3) The Ca^{2+} -ATPase activities of adductor and mantle Mfs had the common characteristics, for example, the highest activity was in the neutral pH; the difference between A - Mf and M - Mf was that the highest Ca^{2+} -ATPase activity of the former was at low ionic strength ($I=0.2$) whereas the latter was at high ionic strength ($I=0.5$); the influence of ionic strength on the A - Mf was not obvious whereas M - Mf was affected by the ionic strength obviously which showed the better stability at low ionic strength. (4) The inactivation characteristics of Ca^{2+} -ATPase showed that both the adductor and mantle Mfs had a significant correlation ($R^2=0.8181, 0.8436$ and $R^2=0.9887, 0.9557$) with the ionic strength and temperature, the best stability of A - Mf and M - Mf were in the range of pH 7.0, and acid conditions damaged Ca^{2+} -ATPase activity more obviously than alkaline conditions.

Key words: *Patinopecten yessoensis*; adductor; mantle; myofibrillar protein; Ca^{2+} -ATPase

Corresponding author: LIU Junrong. E-mail: ljunrong@dlou.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31271980)