

养殖和海捕对虾加热后蛋白特性变化的比较研究

林 洪 姜凤英 Khalid Jamil 薛长湖 李兆杰 陈修白 楼伟凤
(青岛海洋大学水产学院, 266003)

摘 要 从生物化学和物理学两个方面比较了养殖对虾和海捕对虾肌动球蛋白的特性, 研究了加热对蛋白的影响。结果表明: 加热后两种对虾蛋白质的溶解度和 Ca^{2+} -ATPase 活性随温度的升高而下降, Mg^{2+} -ATPase 活性的变化与 Ca^{2+} -ATPase 的稍有不同。总巯基数从 40℃ 开始略有下降, 未结合巯基数先升后降。疏水性随温度升高而增大。ATP 感度在常温时几乎没有变化, 而 35℃ 后有明显下降。所有指标的比较均说明, 对虾肌动球蛋白对热反应强烈的温度始于 30~ 40℃, 且养殖对虾的热稳定性更差。

关键词 养殖对虾, 海捕对虾, 肌动球蛋白, 热稳定性

养殖对虾和海捕对虾(以下称养殖虾和海捕虾)由于受环境和饵料等因素的影响, 造成了其食品属性的诸多不同, 如组织质地、风味等。虾体受热后, 其化学组成的性质变化较大, 尤其是影响组织质地和风味的主要蛋白质成分, 发生了不可逆转的变性与分解。

有机体死后肌原纤维中的肌动蛋白和肌球蛋白结合成肌动球蛋白。虾类肌动球蛋白(Actomyosin, 简写 AM) 占总蛋白的 60% ~ 70%, 它一直是研究的主要对象。柴田[1983]研究了南极磷虾 AM 的热稳定性, 发现寒带地区虾对热极不稳定。Jiang 等[1991]研究了淡水草虾 AM 对热的耐受性。林 洪等[1996]曾对中国海捕对虾加热后 ATPase 的变化作了研究, 还比较了养殖虾和海捕虾活体内 ATPase 活性的不同。薛长湖等[1993]作了养殖对虾和海捕对虾加热后失水率的比较。目前国内外对养殖虾和海捕虾热稳定性的系统比较研究还未见报道。本文旨在研究各项检测指标之间的相关性及其受温度影响的变化, 给鉴别养殖虾与海捕虾提供生化与物理学方面的理论依据, 并用于指导对虾的保鲜, 加工工艺的改进等。

1 材料与方 法

1.1 材 料

中国对虾(*Penaeus chinensis*): 海捕对虾于 10 月份捕于黄海青岛近岸。养殖对虾同期捕于青岛崂山沙子口对虾养殖场。所用化学试剂均为分析纯。

1.2 方 法

肌动球蛋白的制备: 各取 6 尾对虾活体, 去头去壳去肠腺等杂质, 取肉剪碎混合, 准确称量, 作三个平行。按岗田等[1985]方法提取。

肌动球蛋白的热处理 按 Jiang 等[1991]方法,将肌动球蛋白样品液分装于若干个离心管中,置于不同温度的恒温水浴中,温度分别为 20、25、30、35、40、45、50、55、60℃,恒温 5 分钟,取出试管,立即置于冰水中冷却后。于 $10\ 000 \times g$ 下离心 5 分钟,上清液测蛋白浓度。

蛋白质溶解度、 Ca^{2+} -ATPase(钙离子三磷酸腺苷酶)活性的测定、巯基数(-SH)、ATP 感度的测定按万建荣等[1993 年编译本]方法。

Mg^{2+} -ATPase(镁离子三磷酸腺苷酶)活性的测定按柴田[1983]方法。

疏水性的测定按 Kato 和 Nakai[1980]方法。

2 结果与讨论

2.1 加热对 AM 溶解度的影响

养殖虾和海捕虾加热变性后 AM 溶解度的变化见图 1。在 35℃ 以下海捕虾和养殖虾蛋白质溶解度略有减少,变化趋势大致相同。温度继续升高,溶解度很快下降。至 60℃ 时海捕虾和养殖虾溶解度分别只有最初的 30% 和 21%。这与鳕 AM 热变性后溶解度的变化一致[Chan 和 Gill 1994]。从图上曲线还可看出养殖虾的下降较快,50℃ 时只有最初的 24%。这说明养殖虾 AM 分子结构的耐热性较差。其原因是温度升高使蛋白质分子间发生交联,分子空间构象改变,形成了不溶性复合物[Chan 和 Gill 1994]。

2.2 加热对 Ca^{2+} -ATPase 活性的影响

Ca^{2+} -ATPase 是衡量蛋白质稳定性最常用的指标之一[林洪等 1996]。通常情况下, Ca^{2+} 能激活 ATPase 活性。图 2 中随温度升高,活性下降,在 20~40℃ 之间较平缓,养殖虾始终低于海捕虾,且于 50℃ 时完全失活,低于海捕虾 5℃,说明对热稳定性比海捕虾小。ATPase 失活温度与草虾,头足类,鱼类都有所不同[Jiang 等 1991, 新井 1973, Kariy 和 Ochiai 1986]。

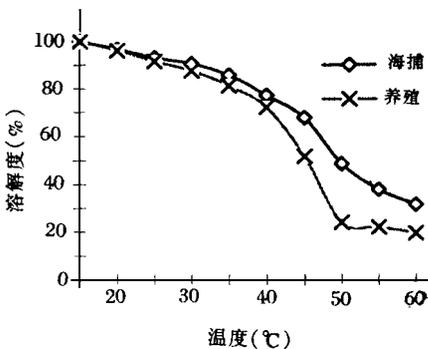


图 1 AM 热处理后溶解度的变化

Fig. 1 Solubility changes of AM after heated

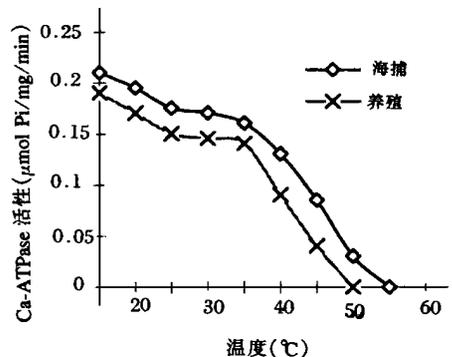


图 2 AM 热处理后 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化

Fig. 2 Ca^{2+} -ATPase activity changes of AM after heated

2.3 加热对 Mg^{2+} -ATPase 活性的影响

Mg^{2+} -ATPase 活性也是衡量蛋白质稳定性的指标之一[柴田 1983], Mg^{2+} 在低浓度时也能激活 ATPase 活性,但能力比 Ca^{2+} 弱,其曲线基本类似于 Ca^{2+} (图 3),只是养殖虾的完全失

活温度 50°C , 比海捕虾活性低 5°C , 结果与林 洪等[1996]的相似。 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 在失活前略有上升, Taguchi 等[1989]在沙丁鱼褐色肉中也观察到有类似现象, 究其原因是在此温度下 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 被激活。

2.4 加热对 SH 基团的影响

蛋白质结构的稳定性和酶的活性等大多与 SH 基团有关, 未结合 SH 位于分子表面, 易与检测试剂反应而被定量, 当分子受热变性后, 分子内部的 SH 也暴露到表层位置, 与试剂反应被定量。故可用其作为衡量变性程度的一个指标。通常情况下是用变性剂(8M 尿素)测量总 SH 基团作参照[万建荣等 1993 年编译本]。图 4 中列出的两种虾的总 SH 在 $20\sim 40^{\circ}\text{C}$ 基本是一个常数, 但温度升高时, 少量 SH 氧化为 S-S, 造成总 SH 略有下降。养殖虾的未结合 SH 在 $20\sim 40^{\circ}\text{C}$ 之间升高极快, 大量疏水性基团包括 SH 转移至分子表面, 随后受到氧化, 变成 S-S, 而海捕虾的未结合 SH 变化较缓慢, 说明其蛋白质性质较稳定。伊藤等[1979]发现总 SH 和溶解度两者之间有一定的相关性, 图 1 和图 4 也证明了这一点。海捕虾的未结合 SH 和总 SH 均低于养殖虾, 这尚需进一步探讨。

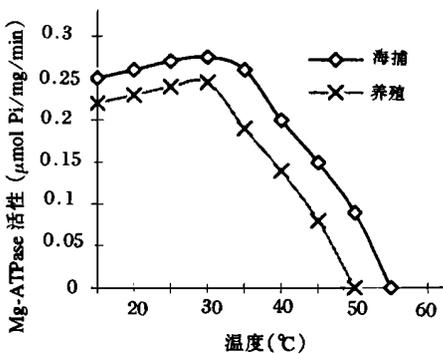


图 3 AM 热处理后 Mg-ATPase 活性的变化

Fig. 3 Mg-ATPase activity changes of AM after heated

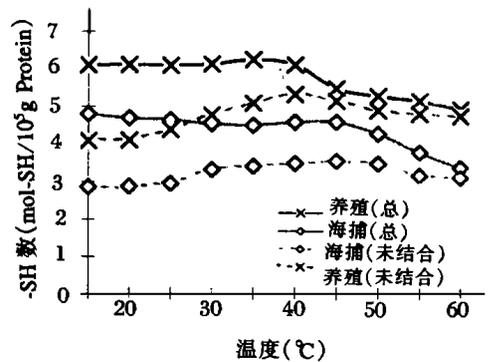


图 4 热处理后巯基数量的变化

Fig. 4 -SH group changes of AM after heated

2.5 加热对 AM 表面疏水性的影响

AM 受热后, 空间构象发生变化, 疏水性基团转移到分子表面, 造成蛋白的亲水性下降, 在极性溶液中溶解度的减小。图 5 中疏水性随温度升高而增大, 海捕虾较平缓, 养殖虾从 40°C 开始变化较大, 60°C 时超出海捕虾 32%。这一现象与溶解度曲线(图 1)呈负相关性。疏水性大, 造成持水力下降, 使虾肉弹性变小。薛长湖等[1993]的实验证实养殖对虾煮熟后, 失水率比海捕虾多 6%。

2.6 加热对 ATP 感度的影响

ATP 感度是 Weber 和 Portzehl[1952]提出的有关蛋白质粘度的一个物理特性指标。在 AM 中加入 ATP, AM 就解离成肌球蛋白和肌动蛋白, 分子量减小, 粘度下降。加热后, 疏水性增大, 溶解度减小, AM 由长链舒展状态变成了蜷曲状态, ATPase 的活性也下降, 使 AM 与 ATP 的反应减弱, 分子间的内摩擦减小, 表现在宏观上的感度降低。在图 6 中, $30\sim 40^{\circ}\text{C}$ 之间

ATP 感度急剧下降, 是分子内部变化开始剧烈的阶段。养殖虾的感度始终低于海捕虾, 于 55℃ 完全失去感度, 比海捕虾低 5℃。为养殖虾的口感逊于海捕虾的原因之一。

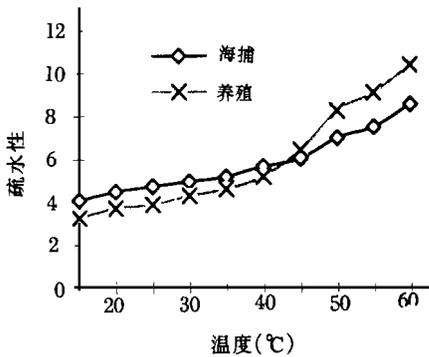


图 5 AM 热处理后疏水性的变化

Fig. 5 Hydrophobicity changes of AM after heated

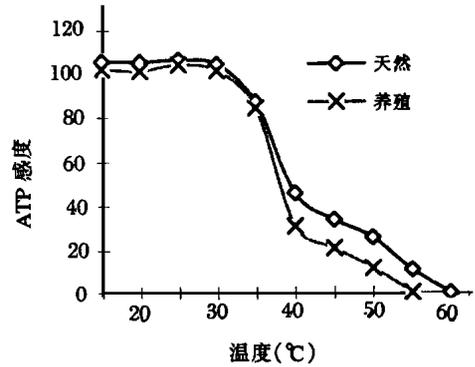


图 6 AM 热处理后 ATP 感度的变化

Fig. 6 ATP sensitivity changes of AM after heated

3 结论

各项指标之间均具有较高的相关性, 与前人的研究结果相吻合[林 洪等 1996, Jiang 等 1991, 柴 田 1983]。AM 溶解度、ATPase 活性、疏水性、ATP 感度突变温度区间都开始于 35 ~ 40℃, 只有巯基从 20℃起就开始变化, 正是因为巯基的量变引起其它指标的质变。

养殖虾 AM 的各项稳定性指标均逊于海捕虾, 仅疏水性在 50℃ 以下例外。

由于对虾对温度的敏感极限在 35℃, 故在加工, 贮藏时应注意控制温度, 因为 20℃以上蛋白质就已经开始变性。

Khalid Jamil 为巴基斯坦来华留学的博士生。

参 考 文 献

- 万建荣, 洪玉菁, 奚印慈等编译. 1993. 水产食品化学分析手册. 上海: 上海科学技术出版社. 154~ 176.
- 林 洪, 王长峰, 李兆杰等. 1996. 中国对虾肌球蛋白变性后 ATPase 活性的研究. 青岛海洋大学学报, 26(4): 475~ 480.
- 薛长湖, 曹 杨, 陈修白等. 1993. 养殖对虾与海捕对虾鉴别方法初探. 青岛海洋大学学报, 23(1): 101~ 106.
- 伊藤庆明, 吉中礼二, 池田静德. 1979. 〇 N 加热による SH 基の挙動. 日本水产学会志, 45(8): 1019~ 1022.
- 岗田 猛, 太田冬雄, 猪上德雄ら. 1985. 〇 B の冷冻变性におよぼす KCl 浓度 および冻结贮藏温度の影響. 日本水产学会志, 51(11): 1887~ 1892.
- 柴田宣和. 1983. 南极 〇 筋肉たんぱく質の利用に関する食品生化学的研究. 东海水研报, 111: 63~ 139.
- 新井健一, 川村久美子, 林千惠子ら. 1973. 各种鱼类筋肉 〇 ATPase の温度安定性について. 日本水产学会志, 39(10): 1077~ 1085.
- Chan J K, Gill T A, 1994. Thermal aggregation of mixed fish myosin. J Agric Food Chem, 42(12): 2649~ 2655.
- Jiang S T H, Wang B S, Moody M W. 1991. Thermostability and freeze denaturation of grass prawn muscle proteins. J Agric Food Chem, 39(11): 1998~ 2001.

- Kariya Y, Ochiai Y, Hashimoto K. 1986. Protein components and ultrastructure of the arm and mantle muscles of octopus. *Bull Japan Sci Soc Fish*, 52(1): 131~ 138.
- Kato A, Nakai S. 1980. Hydrophobicity determined by fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochimica et Biophysica*, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 624: 13~ 20.
- Taguchi T, Lo J R, Tanaka M, 1989. Thermal activation of actomyosin Mg^{2+} -ATPase from ordinary and dark muscles of tuna and sardine. *J Food Sci*, 54(6): 1521~ 1529.
- Weber H H, Portzehl H. 1952. Muscle contraction and fibrous muscle protein in "Advances in Protein Chemistry". Acad Press Inc, 7: 161~ 252.

COMPARATIVE STUDIES ON CHANGES OF ACTOMYOSIN IN CULTURED AND WILD PRAWNS BY THERMAL TREATMENT

LIN Hong, JIANG Feng-Ying, KHALID Jamil,
XUE Chang-Hu, LI Zhao-Jie, CHEN Xi-Bai, LOU Wei-Feng
(*Fisheries College, Ocean University of Qingdao, 266003*)

ABSTRACT The changes of actomyosin (AM) in cultured and wild prawns by thermal treatment were studied biochemically and physically. The experimental results showed that the solubility and Ca^{2+} -ATPase activities of AM decreased with the increase of temperature, in which the cultured prawn's decreased more rapidly than those of the wild's. There was a small difference in activity between Mg^{2+} -ATPase and Ca^{2+} -ATPase. The ATPase of cultured prawn was entirely deactivated at $50^{\circ}C$, while the wild at $55^{\circ}C$. The number of unmasked-SH groups gradually increased from $20^{\circ}C$ to $40^{\circ}C$, then decreased. The hydrophobicities of AM increased significantly with the elevation of temperature above $40^{\circ}C$. No change of ATP sensitivities at normal temperature, but decreased rapidly from $35^{\circ}C$. All the mentioned indices in AM were greatly affected in the temperature ranging from $30^{\circ}C$ to $40^{\circ}C$, however, AM of cultured prawn was less stable than the wild one.

KEYWORDS Cultured prawn, Wild prawn, Actomyosin, Thermal stability