



· 综述 ·

鱼贝类肌肉品质变化与能量代谢关联

殷中专^{1,2}, 田元勇^{1*}, 徐晔焯^{1,2}, 袁春红³, 刘俊荣^{1,2}

(1. 大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁 大连 116023;

2. 大连海洋大学, 辽宁省水产品加工及综合利用重点开放实验室, 辽宁 大连 116023;

3. 岩手大学农业学部, 日本 岩手 0208550)

摘要: 水产养殖是满足人们对蛋白质需求的重要途径, 减少鱼贝类捕后因鲜度下降导致的资源浪费是水产品加工领域的重要研究课题之一。横纹肌作为鱼贝类肌肉中主要的食用部位, 其品质变化与肌肉能量代谢状况密不可分。本文详细综述了 ATP 在线粒体、肌质网和肌原纤维蛋白间的产生、转运和消耗的过程。回顾了基于横纹肌能量代谢过程所提出的一系列鱼贝类肌肉鲜度评价指标, 包括 ATP 及其关联化合物相关的 K 值、 $K_{\max}$ 值、AEC 值, 以及肌原纤维蛋白和肌质网的 ATPase 活性、线粒体结构和呼吸活性等。进一步根据消费现状综述了各鲜度指标在鱼类鲜品和贝类活品中的适用性, 提出加强鱼贝类捕后初期(品质易逝期)控制的必要性和紧迫性。在众多指标中, 线粒体活性可作为易逝期品质控制的有效指标, 可有效开展易逝期的品质评价, 减少因捕后处置不当造成的品质损失和资源浪费。

关键词: 鱼类; 贝类; 肌肉; 能量代谢; 横纹肌; ATP 及其关联化合物; 线粒体

中图分类号: TS 254.4

文献标志码: A

随着人们生活水平的提高, 饮食结构也不断发生变化, 对动物蛋白的消费呈现快速增长趋势。根据中国统计局统计, 2019 年我国畜肉的产量 7 758.78 万 t, 其中猪牛羊肉产量占比达 69.7%。但猪、牛等大规模养殖也带来了一系列问题。如今, 国内庞大的养殖业仍然是以家庭养殖为主, 这种传统养殖模式存在着饲料转化率低、缺乏疾病预防措施等缺陷^[1]。在牲畜饲养过程中, 会产生大量的废气, 每年全球要屠宰 3.05 亿头牛, 而养牛对气候变化的影响力与全球交通运输行业相当^[1]。由于养殖禽畜类与人同为陆生脊椎动物, 部分病原体可以在人畜之间交替传播, 2010 年人畜共患疾病有 250 多种, 公共卫生重要疾病有

100 多种, 严重危害人类健康, 这其中就包括疯牛病、猪瘟以及禽流感等高致死疾病, 以及口蹄疫、致病性大肠杆菌等疾病^[2]。

为减少污染, 避免人畜共患病的暴发, 人们开始探索更多获取蛋白的途径。植物蛋白是一个重要的发展方向, 但是也存在蛋白利用率低等劣势。加之昆虫蛋白等新兴资源还未形成规模, 水产品成为当下满足动物蛋白需求的一个重要发展方向。2019 年我国水产品产量为 6 480 万 t, 其中鱼类、贝类(下文简称“鱼贝类”)各占 41.7% 和 22.5%^[3]。水产品含有人体所必须的氨基酸及大量不饱和脂肪酸^[4-5], 利用率高, 被认为是一种优质蛋白源。然而, 根据 FAO 的数据显示, 天然水产

收稿日期: 2021-03-30 修回日期: 2021-08-17

资助项目: 国家重点研发计划(2018YFD0901001); 国家自然科学基金(31671790)

第一作者: 殷中专, 从事食品科学研究, E-mail: 18018922392@163.com

通信作者: 田元勇(照片), 从事食品科学研究, E-mail: tianyuanrong@foxmail.com



品的捕捞在 20 世纪 90 年代已经达到饱和^[6], 发展可持续的水产品养殖已经成为满足未来动物蛋白需求的重要途径。养殖水产品的蛋白转化率极高, 例如, 养殖大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 的饲料转化率 (FCR) 达到了 1.02 : 1^[7], 对环境造成的压力更小。但水产品也具有品种多样、易腐败、贮藏困难等缺点。因此, 深入研究鱼贝类的鲜度变化机理, 开发鱼贝类鲜度保持技术, 减少捕后贮存过程中保存不当所导致的资源浪费成为水产品领域最重要的课题之一。

本研究系统回顾了横纹肌中 ATP 合成、转运和消耗过程中的线粒体、肌质网和肌原纤维的功能。综述鱼贝类肌肉鲜度评价过程中建立的鲜度评价指标, 并对各指标在鱼贝类捕后各阶段的适用性进行分析, 以期减少水产蛋白资源浪费, 提高鱼贝类品质技术开发提供理论支撑。

1 肌肉的品质与能量代谢模式

1.1 肌肉品质

畜产品的肌肉中含有丰富的结缔组织, 所以在宰杀后, 肉类的质地偏硬, 口感不佳, 需要经过嫩化后才能达到最佳食用状态^[8]。嫩化过程是利用肌肉内源酶或外源酶水解肌纤维蛋白, 使肌肉硬度下降^[9]。大量研究报道嫩化过程受到死前应激、宰杀方式、死后贮藏方式的影响^[8]。而水产品肌肉与畜肉存在较大的差异, 水产品肌纤维较细、肌肉质地细腻, 贮藏过程极易发生腐败, 并在短时间内容易产生令人不愉悦的气味。因此鱼贝类肌肉品质会快速下降, 所以相对于畜类其最佳品质呈现时间转瞬即逝。鱼贝类肌肉品质变化同样与死前、死后的能量代谢有关, 而鱼贝类捕后胁迫对肌肉品质的影响尚未引起足够重视。因此, 科学解读捕后应激引发水产动物高强度运动后内在代谢机制, 分析鱼贝类肌肉僵直与 ATP 消耗之间的关联, 有利于建立可控的鱼贝类肌肉货架期质量管理机制。

1.2 横纹肌肌肉的能量代谢模式

肌肉品质与肌纤维的结构和代谢特性密切相关。肌原纤维分为粗丝与细丝, 而肌肉的收缩过程就是基于细丝滑入粗丝中而产生的, 该过程消耗的 ATP 需要将葡萄糖等有机物在线粒体中进行转化。Varikmaa 等^[10]对横纹肌的能量代谢过程进

行了系统性研究 (图 1), 首先, 葡萄糖会经过细胞膜上的 GLUT4 载体蛋白进入细胞内, 在细胞质中进入糖酵解, 产生丙酮酸与 NADH, 其中 NADH 会通过苹果酸-天冬氨酸穿梭进入线粒体基质, 而丙酮酸会经过脱羧后进入线粒体基质合成乙酰-CoA。脂肪酸会在一系列脂膜蛋白 (FATP1) 作用下酯化为乙酰-CoA。乙酰-CoA 进入线粒体基质中, 作为三羧酸循环的底物, 产生 NADH 和 FADH₂^[11]。而后, NADH 和 FADH₂ 会进入电子传递链, 复合物 I 和 II 分别将 NADH 和 FADH₂ 中的 H 拆解为 H⁺ 和电子, 并将 H⁺ 泵入膜间腔, 造成线粒体膜内外的质子浓度差, 电子在复合物之间传递。复合物 IV 将膜间腔内的质子与电子传递链内的电子转移至基质并催化 H⁺、电子与氧气生成水, 该过程产生的能量用于 F₀F₁-ATP 酶催化 ATP 的合成^[12-14]。ATP 的转运需要在肌酸激酶作用下将高能磷酸转移到线粒体外的肌酸上, 形成磷酸肌酸 (无脊椎动物为磷酸精氨酸)^[15-16]。磷酸肌酸在细胞质中进行运输, 在肌纤维中经肌酸激酶催化, 将磷酸肌酸上的高能磷酸转移到 ADP 上, 合成 ATP, 最终完成 ATP 的转移。

肌肉收缩受 Ca²⁺调控。当神经细胞传递收缩信号后, 肌质网打开 Ca²⁺通道, 使肌质网内部的 Ca²⁺流出, 激活肌原纤维粗丝上的 ATPase, 形成 Ca²⁺-ATPase。同时, Ca²⁺与肌钙蛋白结合使原肌球蛋白发生变化, 暴露出肌动蛋白与横桥结合的位点, 接着横桥和肌动蛋白相结合, ATP 在 Ca²⁺-ATPase 催化下, 将能量释放, 使肌原纤维粗丝与细丝之间相互滑动, 完成整个肌肉细胞的收缩过程^[10, 17-18]。在整个肌肉收缩过程中, 肌质网与线粒体并不作为独立单元进行工作, 因为肌质网中的 Ca²⁺可以促进线粒体内的氧化磷酸化进程, 加速 ATP 的生成; 线粒体则会通过产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 与活性氮 (reactive nitrogen species, RNS) 来控制肌质网 Ca²⁺的重吸收^[19]。肌肉中线粒体会与肌质网的钙离子释放单元连接, 形成一种 Ca²⁺/ATP/ROS/RNS 的细胞器间微域通信, 这种结构能促进线粒体与肌质网之间的信息交流, 是肌肉实现快速收缩的重要一环^[20]。

2 基于能量代谢鲜度评价指标的研究进展

多年来, 各国学者对水产品特别是鱼贝类的鲜度机制做了系统深入的基础研究, 指导渔货物保鲜取得显著效果。综合大量研究可见, 鱼贝类

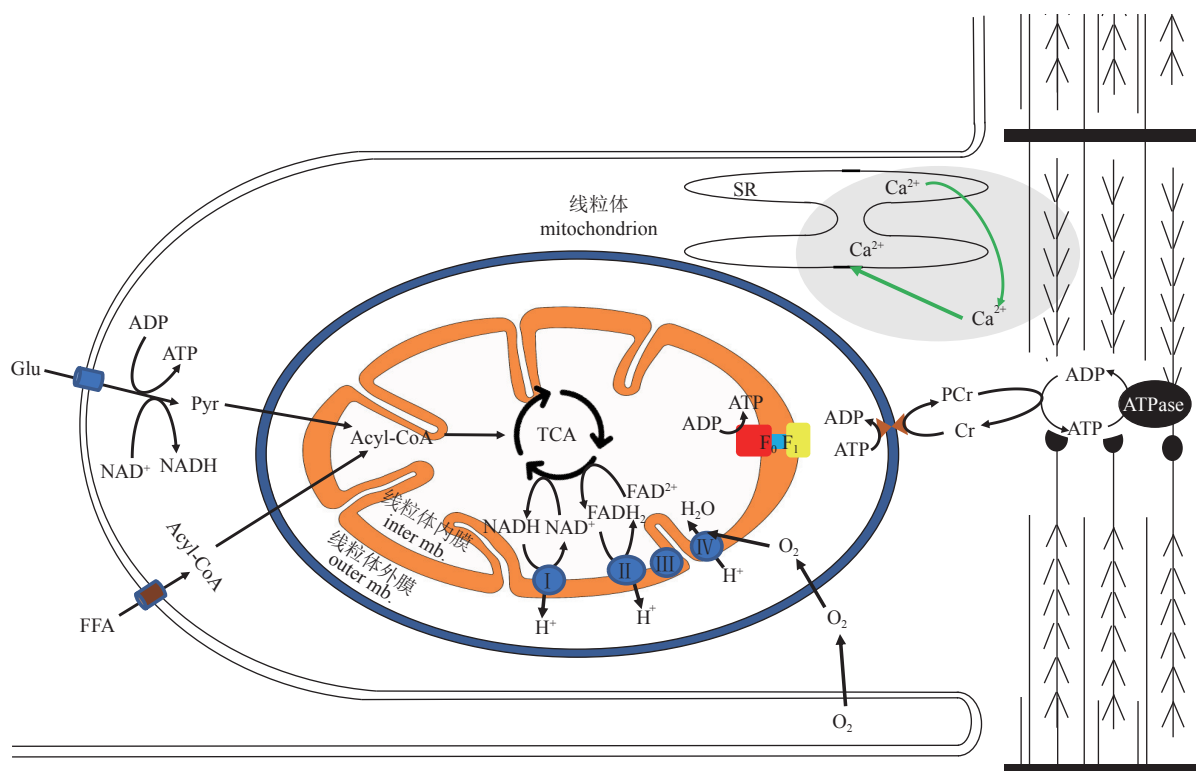


图1 横纹肌线粒体能量代谢模式(参考 Varikmaa 等^[10] 的研究并进行修改)

Glu.葡萄糖; FFA.脂肪酸; ATP.三磷酸腺苷; ADP.二磷酸腺苷; Pyr.丙酮酸; NADH.还原型烟酰胺二核苷酸; FADH₂.黄素腺嘌呤二核苷酸; Acyl-CoA.乙酰-CoA; F₀-F₁.F₀-F₁ATP 合酶; PCr.磷酸肌酸。图中阴影部分为 Ca²⁺释放单元

Fig. 1 Energy metabolism pattern of striated muscle mitochondria (refer to the research of Varikmaa, *et al*^[10])

Glu. glucose; FFA. free fatty acid; ATP. adenosine triphosphate; ADP. adenosine diphosphate; Pyr. pyruvic acid; NADH. nicotinamide adenine dinucleotide; FADH₂. flavine adenine dinucleotide; F₀-F₁. F₀-F₁ATP synthase; PCr. phosphocreatine. The shaded area shows the calcium release unit

鲜度评价基本围绕 ATP 关联化合物、肌原纤维蛋白、肌质网和线粒体展开。肌肉能量代谢与肌肉品质的内在关联一直是鱼贝类鲜度变化的重要研究领域。

2.1 ATP 及其关联化合物

ATP 及其关联化合物相关的鲜度评价指标是被广泛接受且研究较为全面的鱼贝类肌肉评价指标。ATP 关联化合物的变化与肌肉鲜度关系如图2所示,在鱼贝类受到外界胁迫时,肌细胞的糖酵解以及氧化磷酸化并不能满足肌细胞的消耗,而磷酸原作为细胞的能量储备,可将高能磷酸键转移至 ADP,快速补充细胞的 ATP,以维持肌细胞中的能量消耗^[21]。Grieshaber 等^[22]认为,磷酸原可以作为有氧代谢与无氧代谢的分界点,细胞无氧代谢产生的 ATP 远低于有氧代谢,所以细胞无氧代谢时,为了维持细胞内 ATP 的正常消耗,大量磷酸原将转化为 ATP。当细胞恢复有氧呼吸后,磷酸原才会得到补充。

当胁迫持续或胁迫剧烈,磷酸原消耗殆尽,ATP 继续水解产生 ADP 甚至 AMP,测定高能磷酸化合物含量便可以推测鱼贝类当前的生理状态。Atkinson^[23]提出腺苷酸能荷的概念,仅计算 ATP、ADP 与 AMP 间的比例关系,即 AEC 值 (%) = $[1/2(2ATP+ADP)/(ATP+ADP+AMP)] \times 100\%$,通过这种方法,对鱼贝类的活力进行评价^[24-26]。

鱼死后,由于肌细胞内的能量平衡被打破,ATP 会进一步降解:三磷酸腺苷 (ATP)→二磷酸腺苷 (ADP)→单磷酸腺苷 (AMP)→肌苷酸 (IMP)→次黄嘌呤核苷 (HxR)→次黄嘌呤 (Hx)^[27]。Saito 等^[28]将 HxR 和 Hx 的含量与 ATP 及其关联化合物总量的比值定义为 K 值, $K \text{ 值} (\%) = [(HxR+Hx)/(ATP+ADP+AMP+IMP+HxR+Hx)] \times 100\%$,K 值越小,鱼贝类新鲜度越高。K 值低于 20% 可用作生食,40% 以下可作为正常的烹饪原料,当 K 值上升到 60% 以上时,鱼体已严重腐败,不再推荐食用^[29-30]。但是 K 值的变化与 ATP 降解过程的分解酶活性有关,通过 K 值对新鲜度进行划分时需要具有品种

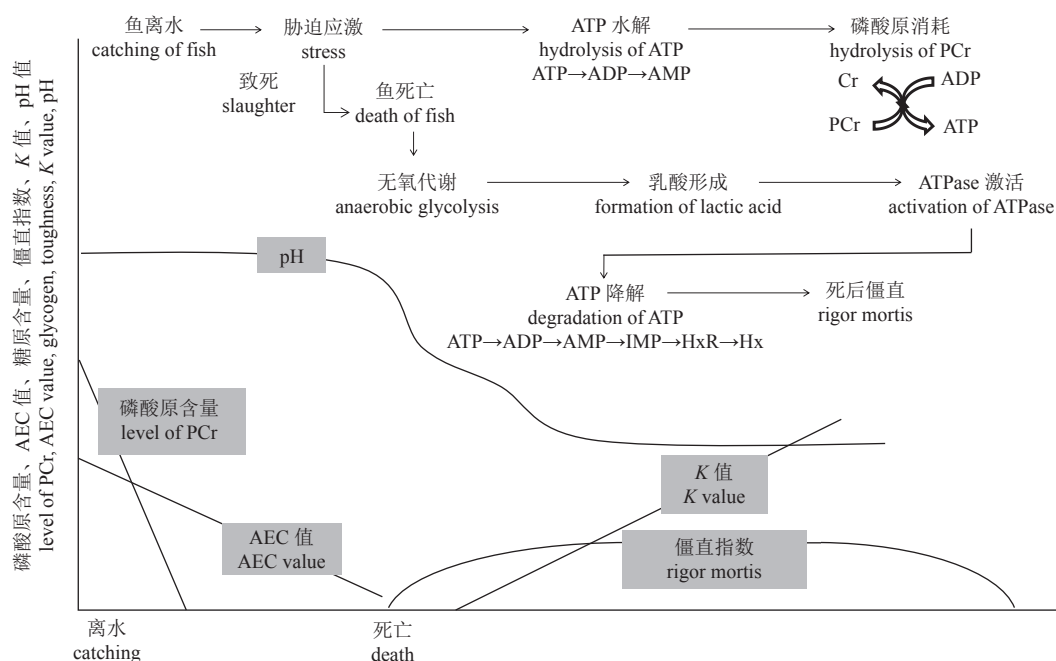


图2 鱼在捕后的变化(参考 Hamada-Sato^[26] 等的研究并进行修改)

Fig. 2 Changes of harvested fish (refer to the research of Hamada-Sato, *et al*^[26])

针对性^[30]。此外,贝类在AMP的后续代谢途径可能因鱼类而不同: $ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP \rightarrow AdR \rightarrow HxR \rightarrow Hx$ ^[31], 降解路径的不同最终导致鱼贝类死后积累的化合物不同, 鱼类主要积累IMP, 而贝类积累大量AMP, 同时有报道根据在贝类代谢中检测到IMP与AdR, 所以推测贝类的AMP降解途径有2种^[32-34]。早期K值的使用具有一定的局限性, Karube等^[32]后续对K值进行了一定的修改, 对贝类可采用 K_{max} 值(%) = $[(IMP + HxR + Hx) / (ATP + ADP + AMP + IMP + HxR + Hx)] \times 100\%$ 。ATP降解是鱼贝类捕后肌肉中发生的重要生化反应之一, ATP降解程度不仅可以作为鱼贝类鲜活程度的重要指标, 而且也会影响鱼贝类风味。但是不同物种之间初始ATP含量的差异性以及代谢途径的差异性, 导致ATP相关指标的评价同样具有局限性。

2.2 肌纤维与肌质网的ATPase活性

鱼贝类致死初期, 细胞仍然维持着生命活动, 肌肉中 Ca^{2+} 浓度低, 肌纤维中的ATPase活性也较低, 肌肉处于松弛状态^[35-36]。随着贮藏时间的延长, 肌细胞开始发生凋亡, 细胞器开始自溶, 肌质网中的 Ca^{2+} 释放。 Ca^{2+} 浓度上升激活肌纤维中的ATPase活性, 使肌肉中ATP不断被分解, 造成肌肉收缩(死后僵直)现象。随着死亡时间的延长, 肌纤维中的ATPase开始发生变性, 酶活性开始下降。因此, 肌纤维中的ATPase活性可作为鱼

贝类肌肉贮藏过程中的品质指标, 用以指示鱼贝类肌肉在贮藏过程中蛋白的变化情况^[37-39]。

肌质网通过释放或吸收 Ca^{2+} 来控制肌原纤维ATPase的活性, 而肌质网 Ca^{2+} 释放是死后出现僵直现象的重要原因。在鱼贝类贮藏过程中, 细胞凋亡会引发肌质网的结构遭到破坏, 肌质网将失去对 Ca^{2+} 的运输功能。较高的贮藏温度会影响肌质网磷脂膜的流动性, 进而影响 Ca^{2+} 吸收^[40-41], 此时肌质网将无法调节细胞质中的 Ca^{2+} 浓度, 造成肌纤维中的 Ca^{2+} -ATPase活性的上升, ATP水解加速, 肌肉僵直的进一步加剧, 肌肉品质下降^[38]。对肌质网中的 Ca^{2+} -ATPase活性检测同样可以用于指示鱼贝类的肌肉品质变化^[41]。

ATPase酶活性不仅可以指示肌原纤维蛋白的变化情况, 还可以指示肌质网的破损情况。但是ATPase酶活性变化往往发生在贮藏的中后期^[37-39], 并不能对鱼贝类活品以及贮藏早期的变化进行准确地评价。

2.3 线粒体活性

线粒体是肌细胞中的“能量工厂”, 其活性评价也用于鱼贝类肌肉品质指标^[42-45]。线粒体作为有膜细胞器, 功能完整性必须建立在结构完整性之上。当肌细胞受到外界胁迫时, 线粒体作为细胞的主要细胞器, 会发生一系列的形态变化, 例如嵴断裂、内膜破裂及蛋白质聚集等(图3)。

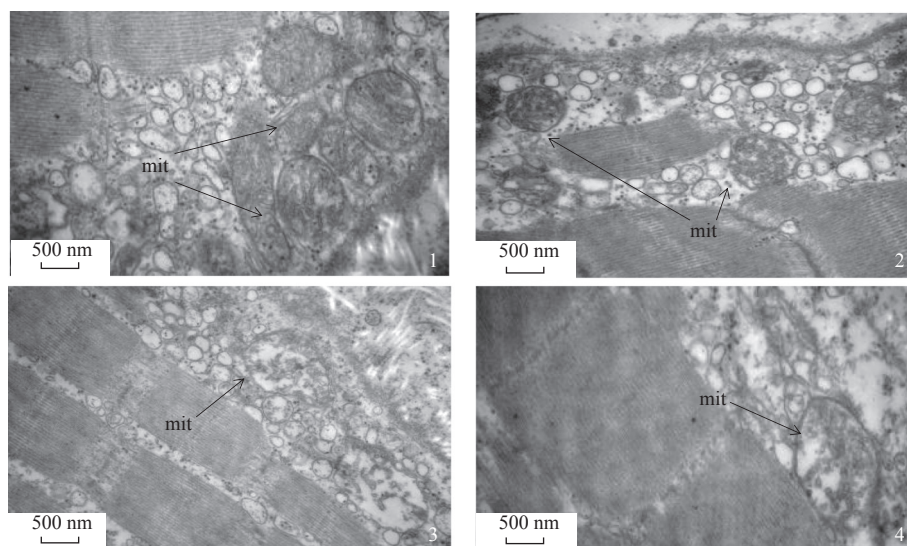


图 3 红鳍东方鲀死后 0~3 d 肌肉组织纵切面电镜图^[44]

1. 0 d; 2. 1 d; 3. 2 d; 4. 3 d; mit. 线粒体

Fig. 3 Longitudinal sections of muscle tissue of *Takifugu rubripes* stored in ice at 0, 1, 2 and 3 post-mortem days^[44]

1. 0 d; 2. 1 d; 3. 2 d; 4. 3 d; mit. mitochondrion

Ayala 等^[43]发现, 线粒体的功能性变化要比结构变化更早。当生物受到外界胁迫时, 线粒体作为第一批受到影响的细胞器, 呼吸活性会发生剧烈变化。线粒体在足够的 ADP 以及底物的条件下, 能达到最大的呼吸强度, 当线粒体功能受到影响时, 最大呼吸会明显下降^[46]。呼吸活性可以通过膜电位以及耗氧量进行检测。测定膜电位可以采用特殊脂溶性物质, Smiley 等^[47]利用 JC-1 的荧光特性对线粒体的膜电位进行检测, JC-1 在线粒体内会形成聚合态 (红色), 而在线粒体外为游离态 (绿色), 线粒体膜电位强度以 JC-1 的红绿两种荧光强度的比值体现^[47-48]。除了采用 JC-1 等荧光物质, Labajova 等^[49]通过 TPP⁺会在线粒体内外形成电势差的特性, 测定扇贝的线粒体膜电位。在鱼贝类肌肉中, 线粒体作为有氧呼吸过程中合成 ATP 的“能量工厂”, 其活性可灵敏地反映鱼贝类肌肉品质。线粒体内膜存在大量的膜结合酶, 这些酶的功能需要膜的支撑, 例如内膜中的细胞色素 c 氧化酶需要心磷脂结合才能表现出正常活性^[50], 通过测定线粒体膜结合酶的活性可以判断线粒体膜的完整性, 进而评价鱼贝类肌肉的品质。

3 能量代谢在鱼贝类鲜度评价中的应用

鱼贝类捕后胁迫会影响肌肉的能量代谢进程, 进而影响食用品质。建立捕后沿流通链的全程质

量控制至关重要。鱼贝类种类繁多, 不同品种在养殖方式、采捕方式和运输方式等方面也千差万别。因此需要建立具有品种针对性的品质管理体系。根据国内鱼贝类消费特点, 选取鱼类鲜品和贝类活品为例, 沿流通链的品质变化历程进行阶段性分析, 并对各阶段的鲜度评价指标的适用性进行了探讨。

3.1 能量代谢在冷鲜鱼类鲜度评价中的应用

目前鱼类鲜品的捕后流通过程包括离水-速杀、排血、加工切片、清洗、分装-覆冰以及冷鲜储运等环节 (图 4)。根据其变化历程大致可分为致死期、僵直期以及软化腐败期。

在致死期, 宰杀方式以及宰杀环节的操作会影响后续肌肉品质。Daskalova^[51]认为死前应激对肌肉品质的影响更多的是由急性应激引起。如捕后窒息会让鱼发生高强度挣扎, 大量消耗 ATP, 并积累乳酸等无氧代谢产物, 加速肌肉僵直过程, 进而加速了品质劣化^[52-53]。捕后致死期是鱼肉的品质易逝期, 窒息死亡大菱鲆肌肉中 ATP 会全部降解, 糖原含量也处于较低水平 (约为 3.06 mg/g); 而断髓速杀 (破坏脊椎, 避免死后挣扎) 死亡的鱼, 肌肉 ATP 与肌糖原含量分别为 2.95 $\mu\text{mol/g}$ 与 5.28 mg/g。有研究发现市售的大菱鲆本身的 ATP 含量较低 (约 1.70 $\mu\text{mol/g}$), 暂养 7 d 后, ATP 会上升至 3.58 $\mu\text{mol/g}$ ^[54], 这可能是由于运输拥挤对鱼类品质造

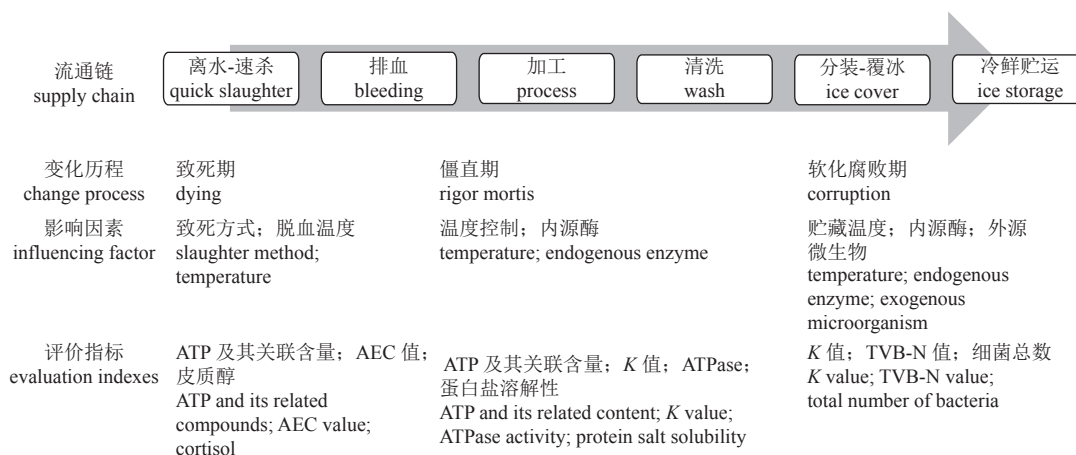


图4 鱼类鲜品的捕后流通链、品质变化历程及评价

Fig. 4 Changes of supply chain and quality of freshly harvested fish

成了影响, 糖原含量下降, 血液中皮质醇和乳酸含量上升^[55], 但运输过程的拥挤胁迫仅是低度或中度胁迫, 可以通过后期的暂养过程恢复^[56]。

在僵直期, 肌肉无法通过有氧呼吸来产生足量的 ATP, 此时的 ATP 主要来源于无氧糖酵解。肌肉中 ATP 含量会逐渐下降, 直到消失^[54-55]。如大西洋鲑 (*Salmo salar*) 在冰藏 24 h 后 ATP 含量会从 12.7 $\mu\text{mol/g}$ 下降至 0.21 $\mu\text{mol/g}$, 而 IMP 会在冰藏 48 h 达到最高 (20.09 $\mu\text{mol/g}$)^[57]。贮藏过程对线粒体活性也会造成影响, Cléach 等^[42] 在对金头鲷 (*Sparus aurata*) 鱼片的研究中发现, 在冰温贮藏 4 d 的过程中, 线粒体的 state 3 (加入足量 ADP) 耗氧量从 39.95 $\text{nmol O}_2/(\text{min}\cdot\text{mg})$ 降低到 24.23 $\text{nmol O}_2/(\text{min}\cdot\text{mg})$, 冰藏 4 d 时, state 3 呼吸 [24.22 $\text{nmol O}_2/(\text{min}\cdot\text{mg})$] 与基础呼吸 [17.54 $\text{nmol O}_2/(\text{min}\cdot\text{mg})$] 差别不大, 说明线粒体已经失去部分活性。Godiksen 等^[37] 对大西洋鳕 (*Gadus morhua*) 贮藏过程中的 Ca^{2+} -ATPase 活性进行了研究, 发现冰藏 12 h 后的鳕肌肉中 Ca^{2+} -ATPase 活性上升了 2.5 倍。在北太平洋无须鳕 (*Merluccius productus*) 8 d 的冰藏过程中, 并没有发现 Ca^{2+} -ATPase 活性的上升, 而 Mg^{2+} -ATPase 在贮藏前 4 d 出现了明显上升, 随后开始下降^[58]。在软化腐败期, 肌肉蛋白质在内源酶和外源微生物的作用下发生降解, Hx 等代谢物大量积累, 导致鱼体呈现腐败气味。如大西洋鲑冰藏 48 h 后开始有明显的 Hx 积累^[57]。Parlapani 等^[59] 对海鲷鱼 (*Sparus aurata*) 鱼片冰藏过程中微生物研究发现, 在贮藏早期, 微生物总数为 3.9 (lg cfu)/g 左右, 而在货架期终点 (14 d) 时, 微生物总数达到了 7.5~8.5 (lg cfu)/g, 其中以假单胞菌为主

要腐败菌。鱼片的 T-VBN 从最开始的 16.64 mg N/100 g 上升到 24.54 mg N/100 g, 检测到醇、酮等 41 种挥发性物质^[59]。

3.2 能量代谢在贝类鲜度评价中的应用

由于水产品具有多样性的特点, 贝类的品质评价和鱼类存在较大差异。在我国贝类主要以活品形式消费, 贝类捕后活品流通大致包括离水-挑选、渔船暂养、船舶运输、码头转运、工厂净化、分选、运输等环节 (图 5), 根据运输过程的不同, 可分为海上运输以及陆上运输。而在整个运输过程中, 贝类要面临干露、机械撞击和环境氨氮化合物积累等胁迫, 这些胁迫均会导致贝类死亡率上升^[47, 60-61], 机械冲击甚至会直接导致贝类闭壳肌发生断裂。Woll 等^[60] 发现从 150 cm 高度落下的扇贝在第 5 天死亡率达到了 90%, 从 50 cm 落下的扇贝在第 1 天出现了 7% 的死亡率。叠放这种运输方式会导致底部扇贝无法进行有效的呼吸, Woll 等^[60] 对不同堆高下的扇贝死亡率进行了统计, 发现 50 cm 的堆高会导致扇贝死亡率明显上升, 死亡率达到了 54.8%。而胁迫过程会对贝类磷酸精氨酸含量、ATP 含量、章鱼碱含量等能量代谢指标造成明显影响^[47, 62-64]。

从扇贝离水到码头的过程称为品质易逝期^[61-64], 通过模拟虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 易逝期过程, 发现在品质易逝期内, 缺氧和撞击均会造成扇贝缩边, 缺氧 48 h 会导致 ATP 由 5.52 $\mu\text{mol/g}$ 下降至 4.84 $\mu\text{mol/g}$ 。虾夷扇贝在品质易逝期经历缺氧后复水 3 d, ATP 含量恢复至 5.21 $\mu\text{mol/g}$, AEC 值也会从 0.91 恢复至 0.96, 而在品质易逝期经历撞击-缺氧双重胁迫, 复水并不能有效恢复肌肉品

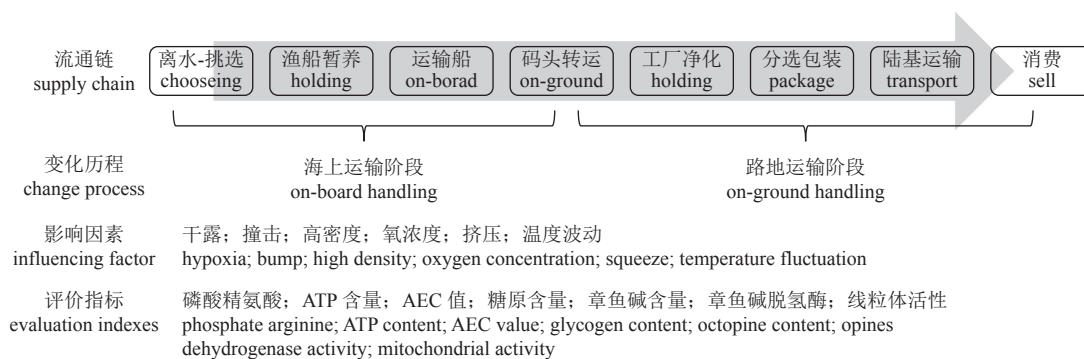


图5 贝类捕后流通链示意图

Fig. 5 Changes of supply chain and quality of living harvested shellfish

质^[61]。品质易逝期中的胁迫对贝类肌肉品质造成的影响不仅具有即时效应,也具有延时效应。Ivanina 等^[46]发现,短期的缺氧对扇贝造成的影响并不会影响扇贝的 ATP 以及相关化合物的含量以及糖原等储能物质的含量,但是死亡率上升 28%。进一步研究发现,线粒体呼吸活性能清晰地反映短期缺氧对扇贝造成的胁迫^[46],缺氧 18 h 后,线粒体呼吸活性下降 44%,之后复氧 1 h,线粒体呼吸活性进一步下降。线粒体活性测定可以评价早期胁迫对扇贝造成的影响,更灵敏地反映扇贝的活力变化。

在陆地运输过程中,空气暴露胁迫依然是影响活贝品质的重要因素。刘金洋等^[62]在对比干藏与湿藏 2 种不同空气暴露贮藏条件对虾夷扇贝的影响中发现,干藏是对扇贝捕后处置过程中最严重的胁迫因素,干藏 (0~4) °C 扇贝在第 4 天时 pH 下降至 6.3,而湿藏 (5±1) °C pH 维持在 7.0~7.2。且干藏的扇贝肌肉中 ATP 含量会在 2 d 内逐渐下降至 0,而 5-20 °C 湿藏温度对贮藏过程 ATP 含量并没有明显影响^[62]。干藏会导致扇贝呼吸模式改变,虾夷扇贝干藏 3 d 后,肌肉中糖原会从 16.38 mg/g 下降至 8.29 mg/g,Opines 脱氢酶 (扇贝肌肉中的无氧代谢相关酶) 活性在第 1 天就有明显上升,而有氧呼吸相关的柠檬酸合酶在第 1 天就处于较低水平^[62]。与扇贝等深海贝类不同,菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 是一种位于潮间带的贝类,要频繁经历缺氧复氧循环,干藏对其造成的影响与底栖贝类不同,干藏情况下,菲律宾蛤仔 ATP、磷酸精氨酸含量以及肌肉 pH 在第 1 天出现了上升,但是湿藏条件下,ATP 与磷酸精氨酸在贮藏开始就出现下降,pH 也在第 1 天下降^[64]。缺氧对菲律宾蛤仔线粒体的影响与扇贝等底栖贝类不同,缺氧对菲律宾蛤仔线粒体耗氧量并没有影

响^[46]。刘慧慧等^[63]的相关研究发现,菲律宾蛤仔复水 16 h 后,AEC 值和 pH 并没有明显变化,说明干露 24 h 后的复水过程对菲律宾蛤仔品质影响较小。

4 结论

鱼贝类在捕后阶段中,横纹肌的能量代谢与肌肉品质密切相关。值得关注的是,现有水产品鲜度品质评价指标体系是基于传统捕捞渔业模式而构建,业已无法满足如今人工养殖的渔业模式。既无法对离水可控的原料品质易逝期进行科学评价,也无法有效跟踪易逝期的延迟效应对后续储运过程中品质的影响。因此,亟需加强能量代谢相关的基础理论研究,以开发灵敏、快速品质评价指标。其中,线粒体活性具有较大潜力,以其为基础开发快速检测方法,最终达到控制鱼贝类流通链源头的品质,减少因鲜度下降导致的资源浪费,实现鱼贝类肌肉品质保持和高值化。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Kaspers F W H, Fresco L O. Food transitions 2030: how to achieve the transitions to a sustainable, affordable, trustworthy and high-quality food system in the next decade or two that will fulfil the needs of a diverse and growing world population[M]. Wageningen: Wageningen University & Research, 2017.
- [2] 杨云,袁子勇,韩奇鹏. 浅谈人畜共患疾病及其防控措施[J]. 饲料博览, 2020(3): 47-50.
Yang Y, Yuan Z Y, Han Q P. Discuss on zoonotic diseases and prevention and control measures[J]. Feed Review, 2020(3): 47-50 (in Chinese).

- [3] 中华人民共和国统计局. 中国统计年鉴 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2020.
National Bureau of Statistics. China statistical yearbook[M]. Beijing: China Statistics Press, 2020 (in Chinese).
- [4] 林利民, 陈武. 5种海水养殖鱼类肌肉脂肪酸组成分析及营养评价[J]. 福建农业学报, 2005, 20(S1): 67-69.
Lin L M, Chen W. Fatty acid composition and nutrition evaluation in muscle of five cultured marine fish[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2005, 20(S1): 67-69 (in Chinese).
- [5] Sobczak M, Panicz R, Eljasik P, *et al.* Quality improvement of common carp (*Cyprinus carpio* L.) meat fortified with N-3 PUFA[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, 139: 111261.
- [6] Nations F A A O. The state of world fisheries and aquaculture in 2018-achieving sustainable development goals[M]. Roman, 2018.
- [7] Huang Z H, Ma A J, Wang X A, *et al.* The interaction of temperature, salinity and body weight on growth rate and feed conversion rate in turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Aquaculture*, 2014, 432: 237-242.
- [8] Toldrá F. Lawrie's meat science[M]. Wood Head Publishing, Cambridge: 2006.
- [9] Goll D E, Otsuka Y, Nagainis P A, *et al.* Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 1983, 7(3): 137-177.
- [10] Varikmaa M, Guzun R, Grichine A, *et al.* Matters of the heart in bioenergetics: mitochondrial fusion into continuous reticulum is not needed for maximal respiratory activity[J]. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2013, 45(4): 319-331.
- [11] Alam M T, Manjeri G R, Rodenburg R J, *et al.* Skeletal muscle mitochondria of *NDUFS4*^{-/-} mice display normal maximal pyruvate oxidation and ATP production[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2015, 1847(6-7): 526-533.
- [12] Chen W W, Freinkman E, Wang T, *et al.* Absolute quantification of matrix metabolites reveals the dynamics of mitochondrial metabolism[J]. *Cell*, 2016, 166(5): 1324-1337.e11.
- [13] Brand M D. The proton leak across the mitochondrial inner membrane[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1990, 1018(2-3): 128-133.
- [14] Kori Y, Sidoli S, Yuan Z F, *et al.* Proteome-wide acetylation dynamics in human cells[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 10296.
- [15] Grieshaber M K, Hardewig I, Kreutzer U, *et al.* Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates[J]. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 1994, 125: 43-147.
- [16] Williamson J R, Ford C, Illingworth J, *et al.* Coordination of citric acid cycle activity with electron transport flux[J]. *Circulation Research*, 1976, 38(5S): I39-I51.
- [17] Saks V A, Kaambre T, Sikk P, *et al.* Intracellular energetic units in red muscle cells[J]. *Biochemical Journal*, 2001, 356(2): 643-657.
- [18] Andrienko T, Kuznetsov A V, Kaambre T, *et al.* Metabolic consequences of functional complexes of mitochondria, myofibrils and sarcoplasmic reticulum in muscle cells[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206(Pt 12): 2059-2072.
- [19] Boncompagni S, Rossi A E, Micaroni M, *et al.* Mitochondria are linked to calcium stores in striated muscle by developmentally regulated tethering structures[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2009, 20(3): 1058-1067.
- [20] Dirksen R T. Sarcoplasmic reticulum-mitochondrial through-space coupling in skeletal muscle[J]. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 2009, 34(3): 389-395.
- [21] England W R, Baldwin J. Anaerobic energy metabolism in the tail musculature of the Australian yabby *Cherax destructor* (Crustacea, Decapoda, Parastacidae) regulation of anaerobic glycolysis[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Comparative Biochemistry*, 1985, 80(2): 327-335.
- [22] Grieshaber M. Breakdown and formation of high-energy phosphates and octopine in the adductor muscle of the scallop, *Chlamys opercularis* (L.), during escape swimming and recovery[J]. *Journal of Comparative Physiology*, 1978, 126(3): 269-276.
- [23] Atkinson D E. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. interaction with feedback modifiers[J]. *Biochemistry*, 1968, 7(11): 4030-4034.
- [24] 李亚恒, 闫丽新, 于笛, 等. 不同规格虾夷扇贝捕后耐干露特性比较[J]. 水产科学, 2019, 38(4): 443-450.
Li Y X, Yan L X, Yu D, *et al.* Comparison of air exposure stress resistances of post-harvested yesso scallop with different sizes[J]. *Fisheries Science*, 2019, 38(4): 443-450 (in Chinese).
- [25] Moal J, Le Coz J R, Samain J F, *et al.* Oyster adenylate

- energy charge: response to levels of food[J]. *Aquatic Living Resources*, 1991, 4(2): 133-138.
- [26] Hamada-Sato N, Usui K, Kobayashi T, *et al.* Quality assurance of raw fish based on HACCP concept[J]. *Food Control*, 2005, 16(4): 301-307.
- [27] Kuda T, Fujita M, Goto H, *et al.* Effects of retort conditions on ATP-related compounds in pouched fish muscle[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2008, 41(3): 469-473.
- [28] Saito T, Arai K I, Matsuyoshi M. A new method for estimating the freshness of fish[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1959, 24(9): 749-750.
- [29] Saito T, Arai K I, Yajima T. Studies on the organic phosphates in muscle of aquatic animals-VII: changes in purine nucleotides of red lateral muscle of fish[J]. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1959, 25(7-9): 573-575.
- [30] Satomi K, Seiichi K, Noboru K, *et al.* Rigor mortis of fish and shellfish and evaluation of freshness of their muscles as *K* value[J]. *Journal of the College of Marine Science & Technology Tokai University*, 2006, 4(5): 31-46.
- [31] Wei H M, Tian Y Y, Lin Y M, *et al.* Condition - dependent adenosine monophosphate decomposition pathways in striated adductor muscle from Japanese scallop (*Patinopekten yessoensis*)[J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(5): 1462-1469.
- [32] Karube I, Matsuoka H, Suzuki S, *et al.* Determination of fish freshness with an enzyme sensor system[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1984, 32(2): 314-319.
- [33] Kawashima K, Yamanaka H. Effects of chloramphenicol on post-mortem biochemical changes in scallop adductor muscle[J]. *Fisheries*, 1994, 60(4): 461-465.
- [34] Yokoyama Y, Sakaguchi M, Kawai F, *et al.* Chemical indices for assessing freshness of shellfish during storage[J]. *Fisheries Science*, 1994, 60(3): 329-333.
- [35] Rebello C A, Ludescher R D. Differential dynamic behavior of actin filaments containing tightly-bound Ca^{2+} or Mg^{2+} in the presence of myosin heads actively hydrolyzing ATP[J]. *Biochemistry*, 1999, 38(40): 13288-13295.
- [36] Watabe S, Ushio H, Iwamoto M, *et al.* Temperature-dependency of rigor-mortis of fish muscle: myofibrillar Mg^{2+} -ATPase activity and Ca^{2+} uptake by sarcoplasmic reticulum[J]. *Journal of Food Science*, 1989, 54(5): 1107-1110.
- [37] Godiksen H, Hyldig G, Jessen R. Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} - ATPase and cytochrome oxidase as indicators of frozen storage in cod (*Gadus morhua*)[J]. *Journal of Food Science*, 2003, 68(8): 2579-2585.
- [38] Satoh A, Kinoshita Y, Konno K, *et al.* Myosin denaturation in heated myofibrils of scallop adductor muscle[J]. *Fisheries Science*, 2013, 79(1): 149-155.
- [39] Hayashi K, Konno K. Stabilization of myosin by ionic compounds as affected by F-actin[J]. *Fisheries Science*, 2006, 72(6): 1306-1312.
- [40] Watabe S, Hwang G C, Ushio H, *et al.* Short thermal treatment effect on carp myofibril and sarcoplasmic reticulum: possible mechanisms in rigor mortis acceleration by "Arai" treatment[J]. *Journal of Food Science*, 1991, 56(3): 653-656.
- [41] Yuan C H, Takeda Y, Nishida W, *et al.* Suppressive effect of ATP on the denaturation of sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase from southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* and its Biochemical Properties[J]. *Fisheries Science*, 2016, 82(1): 147-153.
- [42] Cléach J, Pasdois P, Marchetti P, *et al.* Mitochondrial activity as an indicator of fish freshness[J]. *Food Chemistry*, 2019, 287: 38-45.
- [43] Ayala M D, Abdel I, Santaella M, *et al.* Muscle tissue structural changes and texture development in sea bream, *Sparus aurata* L., during post-mortem storage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2010, 43(3): 465-475.
- [44] 冷寒冰, 刘俊荣, 衣鸿莉, 等. 红鳍东方鲀易逝期锁鲜处置对冰藏品质的延迟效应[J]. *水产学报*, 2021, 45(6): 958-970.
- Leng H B, Liu J R, Yi H L, *et al.* Effects of freshness-locked performance during the quality determination period on the iced *Takifugu rubripes* freshness quality[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(6): 958-970 (in Chinese).
- [45] Haider F, Falfushynska H, Ivanina A V, *et al.* Effects of pH and bicarbonate on mitochondrial functions of marine bivalves[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2016, 198: 41-50.
- [46] Ivanina A V, Nesmelova I, Leamy L, *et al.* Intermittent hypoxia leads to functional reorganization of mitochondria and affects cellular bioenergetics in marine molluscs[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2016, 219(11): 1659-1674.
- [47] Smiley S T, Reers M, Mottola-Hartshorn C, *et al.* Intra-

- cellular heterogeneity in mitochondrial membrane potentials revealed by a J-aggregate-forming lipophilic cation JC-1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the National Academy of Sciences*, 1991, 88(9): 3671-3675.
- [48] Cossarizza A, Baccaranicontri M, Kalashnikova G, *et al.* A new method for the cytofluorometric analysis of mitochondrial membrane potential using the J-aggregate forming lipophilic cation 5, 5', 6, 6'-tetrachloro-1, 1', 3, 3'-tetraethylbenzimidazolcarbocyanine iodide (JC-1)[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1993, 197(1): 40-45.
- [49] Labajova A, Vojtiskova A, Krivakova P, *et al.* Evaluation of mitochondrial membrane potential using a computerized device with a tetraphenylphosphonium-selective electrode[J]. *Analytical Biochemistry*, 2006, 353(1): 37-42.
- [50] Paradies G, Ruggiero F M, Petrosillo G, *et al.* Enhanced cytochrome oxidase activity and modification of lipids in heart mitochondria from hyperthyroid rats[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1994, 1225(2): 165-170.
- [51] Daskalova A. Farmed fish welfare: stress, post-mortem muscle metabolism, and stress-related meat quality changes[J]. *International Aquatic Research*, 2019, 11(2): 113-124.
- [52] Ashley P J. Fish welfare: current issues in aquaculture[J]. *Applied Animal Behaviour Science*, 2007, 104(3-4): 199-235.
- [53] EFSA. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare on a request from European commission on the overall effects of farming systems on dairy cow welfare and disease[J]. *The EFSA Journal*, 2009, 1143: 1-38.
- [54] 衣鸿莉, 刘俊荣, 王选飞, 等. 养殖大菱鲆死前应激状态对肌肉代谢与品质的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(4): 570-576.
- Yi H L, Liu J R, Wang X F, *et al.* Effects of pre-slaughter stress on muscular metabolism and quality of farmed turbot *Scophthalmus maximus*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2020, 35(4): 570-576 (in Chinese).
- [55] 冷寒冰, 刘俊荣, 徐美禄, 等. 红鳍东方鲀死后僵直及生化变化特性[J]. 水产学报, 2020, 44(1): 156-165.
- Leng H B, Liu J R, Xu M L, *et al.* Postmortem biochemistry and Rigor development of pufferfish (*Takifugu rubripes*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(1): 156-165 (in Chinese).
- [56] Lerfall J, Roth B, Skare E F, *et al.* Pre-mortem stress and the subsequent effect on flesh quality of pre-rigor filleted Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during ice storage[J]. *Food Chemistry*, 2015, 175: 157-165.
- [57] Gaarder M Ø, Bahuaud D, Veiseth-Kent E, *et al.* Relevance of calpain and calpastatin activity for texture in super-chilled and ice-stored Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fillets[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(1): 9-17.
- [58] Benjakul S, Seymour T A, Morrissey M T, *et al.* Physicochemical changes in Pacific whiting muscle proteins during iced storage[J]. *Journal of Food Science*, 1997, 62(4): 729-733.
- [59] Parlapani F F, Mallouchos A, Haroutounian S A, *et al.* Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 189: 153-163.
- [60] Woll A K, Bakke S. Stress and mortality in the supply chain of live scallops *Pecten maximus* L., from scuba diver to market[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(2): 594-607.
- [61] 李亚烜, 刘俊荣, 刘洋, 等. 易逝期胁迫强度对虾夷扇贝活力可恢复性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(5): 733-740.
- Li Y X, Liu J R, Liu Y, *et al.* Re-immersion physiologic recovery of yesso scallop following different stress treatments in the quality determined period[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2020, 35(5): 733-740 (in Chinese).
- [62] 刘金洋, 刘俊荣, 田元勇, 等. 捕后处置对活品底播虾夷扇贝生化代谢的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(1): 81-87.
- Liu J Y, Liu J R, Tian Y Y, *et al.* Effects of post-harvest handling on biochemical metabolism of bottom cultured live scallop (*Patinopecten yessoensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(1): 81-87 (in Chinese).
- [63] 刘慧慧, 周晏琳, 张晴, 等. 菲律宾蛤仔捕后干露处置对其复水湿藏稳定性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(2): 244-250.
- Liu H H, Zhou Y L, Zhang Q, *et al.* Effect of air exposure on biochemical metabolism of harvested Manila clam *Ruditapes philippinarum* during live wet storage[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2018, 33(2): 244-250 (in Chinese).

- [64] 刘慧慧, 刘俊荣, 田元勇, 等. 菲律宾蛤仔的干湿藏保活特性初探[J]. 水产科学, 2017, 36(3): 267-273. clam *Ruditapes philippinarum* between air exposed storage and wet storage[J]. Fisheries Science, 2017, 36(3): 267-273 (in Chinese).
- Liu H H, Liu J R, Tian Y Y, *et al.* Comparison of manila

Relationship between muscle quality changes and energy metabolism in fish and shellfish

YIN Zhongzhuan^{1,2}, TIAN Yuanyong^{1*}, XU Tanye^{1,2}, YUAN Chunhong³, LIU Junrong^{1,2}

(1. College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

2. Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Utilization of Liaoning Province, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

3. Iwate University, Faculty of Agriculture, Department of Food Production and Environmental Management, Morioka 0208550, Japan)

Abstract: Aquaculture is an important way to meet people's demand for protein in the future. Reducing the decline in the quality of post-harvested fish and shellfish is an important topic in the field of aquatic product processing. Striated muscle is the main edible part in the muscle of fish and shellfish, and its energy metabolism state affects muscle quality. This article reviews the energy metabolism of striated muscles, including the production, transport and consumption of ATP. A series of muscle freshness evaluation indexes proposed based on the energy metabolism process of striated muscle were reviewed, including K value, $K_{\max}$ value and AEC value of ATP and its related compounds, as well as the ATPase activity, mitochondrial structure and respiratory activity of myogenic fibronectin and sarcoplasmic reticulum. The applicability of each freshness index in iced fish and live shellfish was further summarized according to the consumption status, and the necessity and urgency of strengthening the control of fish and shellfish in the early of post-harvest stage (quality determination period) were put forward. Among many indicators, mitochondrial activity can be used as an effective indicator for quality control in the quality determination period, facilitate effective carry out quality evaluation in the perishable period, and reduce quality loss and resource consumption caused by improper post-harvested disposal. And provide a theoretical support for promoting that sustainable development of the aquatic product industry.

Key words: fish; shellfish; muscle; energy metabolism; striated muscle; ATP and its related compounds; mitochondrion

Corresponding author: TIAN Yuanyong. E-mail: tianyuanyong@foxmail.com

Funding projects: National Key Research and Development Program of China (2018YFD0901001); National Natural Science Foundation of China (31671790)