

肌球蛋白功能特性的研究进展

赵春青 彭增起 (河北农业大学食品科技学院, 保定 071001)

摘要 肌球蛋白的结构及功能特性与肉制品加工密切相关, 而对影响肌球蛋白功能特性因素的研究对肉制品加工更有指导意义。本文综述了肌球蛋白的浊度、溶解性及热诱导凝胶等功能特性, 并介绍了 pH、温度 (T)、三磷酸腺苷 (ATP)、焦磷酸盐 (PPi)、离子强度及肌肉的类型对肌球蛋白凝胶的影响。

关键词 肌球蛋白 热诱导凝胶 浊度 溶解性

1 肌球蛋白的结构

1.1 肌球蛋白分子结构

肌球蛋白是一个大分子, 160nm 长, 分子量约 470000 道尔顿。肌球蛋白是不对称分子, 由两个球状头部 (s_1) 连接一个长的卷曲的尾部组成。肌球蛋白分子的特性与特定的部位有关: ATP 使用位点及肌动蛋白结合点在分子头部; 溶解特性及纤维形成能力决定于分子尾部; Asghar et al (1985) 研究表明, s_1 形成凝胶的能力弱, 所以肌球蛋白的凝胶形成能力决定于分子尾部。

1.2 肌球蛋白亚纤维结构

肌球蛋白的亚纤维包括肌球蛋白重链 (MHC)、轻链 (LC)、重酶解肌球蛋白 (HMM)、轻酶解肌球蛋白 (LMM)、亚纤维 1 (s_1)、亚纤维 2 (s_2)、尾部 (rod)。通过 SDS—PAGE 电泳可知, MHC 分子量为 205KDa, 三条 LC 分子量分别为 16KDa、18KDa、22KDa, HMM 分子量为 140KDa, 两条 LMM 分子量分别为 66KDa、70KDa, s_1 分子量为 97KDa、 s_2 分子量为 60KDa, rod 分子量为 120KDa。

2 肌球蛋白的功能特性

肌球蛋白是最重要的功能性蛋白质, 尤其所形成的热诱导凝胶对肉制品的组织结构及保水、保油性有显著影响。当肌球蛋白在肌原纤维中形成粗丝时, 添加 NaCl 可使肌丝间产生斥力, 引起膨润, 从而提高肉的持水性。在适当的 NaCl 浓度下, 肌球蛋白溶解, 新的相互作用产生。热处理导致蛋白质变性凝集, 形成具有立体网络结构的凝胶, 凝胶的具体结构类型会明显影响肉制品的质构和感官品质。

2.1 肌球蛋白的溶解性

因为肌球蛋白在重组肉制品中束缚肉粒, 并且稳定脂肪及水, 所以肌球蛋白的溶解性对产品的质量有很大的影响。高脂肪肉糜中, 加入三聚磷酸钠 (STPP), 与对照作比较, $MgCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 使肌球蛋白溶解性分别增加 36%、20%。在低脂肪肉糜中, 有三聚磷酸盐情况下, $MgCl_2$ 、 $ZnCl_2$ 使肌球蛋白溶解性分别增加 37%、14%。然而, 不考虑肉中脂肪含量高低, 如果不添加三聚磷酸盐, $ZnCl_2$ 几乎不能提取肌球蛋白。CaCl₂ 不影响肌球蛋白溶解性。Nayak et al (1996) 研究报道, 不添加三聚磷酸盐, 7mM $MgCl_2$ 可以增加火鸡腿肉中肌球蛋白溶解性, 而 $ZnCl_2$ 则限制肌球蛋白溶解性。这是由于原料肉 pH 高于肌球蛋白的等电点, STPP 的添加使肌球蛋白带负电荷, 锌离子可结合肌球蛋白上的负电荷产生锌与肌球蛋白之间相互作用, 形成分子内盐桥, 使肌球蛋白发生形态变化。然而, 在不添加三聚磷酸盐时, 肌球蛋白溶解性降低。 $ZnCl_2$ 可使 pH 值降低, 这种效应使肌球蛋白的提取受限。在添加三聚磷酸盐时, $ZnCl_2$ 增加肌球蛋白的溶解性, 这表明盐桥的影响可以被三聚磷酸盐克服。离子强度也对肌球蛋白的溶解性有影响, Tonomoura et al (1962) 报道, 随离子强度增加, 肌球蛋白的形态结构发生快速的形态转变, 包括肌球蛋白的超螺旋结构转变为随意的卷曲。NaCl (2%及 4%) 可以引起肌球蛋白结构的快速转变, 从肌动球蛋白上分离下来, 且肌球蛋白分子展开, 和水分子产生更大的相互作用。

2.2 肌球蛋白溶液的浊度

浊度可粗略估计肌球蛋白受热前的凝集程度,

对研究肌球蛋白热诱导凝胶起一个辅助作用。通过对肌原纤维特异凝集或非特异凝集的研究认为，所谓浊度是指肌球蛋白在 4℃、pH4~8 及不受热情况下的凝集程度。在适当的 pH 及离子强度条件下，肌球蛋白以单体存在或形成足够小凝集，得到澄清的溶液（在 340nm 处光密度<0.1）。当 pH 或离子强度更低时，可以得到混浊溶液。一般地，pH 越低，净负电荷越少，得到肌球蛋白澄清溶液所需要的 NaCl 浓度越高。结果显示，混浊溶液可以在 0.25MKCl、pH5.5~6.0 条件下得到；在 0.6MKCl、pH5.5~6.0 条件下可得到澄清溶液。由此可知，pH 与离子强度组合对肉系统有明显的影响。

2.3 肌球蛋白热诱导凝胶形成机制

2.3.1 轻链受热释放

在 53℃时，肌球蛋白受热，轻链就会从肌球蛋白分子上解离下来。用超离心机方法把在 60℃下形成的肌球蛋白凝胶体积压缩为原来的 1/3，得到的上清液的聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱显示，未经加热的肌球蛋白有三条带与轻链 LC₁、LC₂、LC₃ 一致。而上清液的 SDS-PAGE 电泳图谱中含有 LC₁、LC₃ 仅有一小部分 LC₂，这说明凝胶的形成主要与 LC₁、LC₃ 有关而不是 LC₂。

2.3.2 头-头凝集

在 30~40℃时，肌球蛋白分子头部发生变化，这与凝集有关。首先是 ATPase 失去活性，ATPase 失活伴随头部缩短。加热使重链形态发生变化，同时，一些轻链从肌球蛋白分子上脱落，在 40℃时，热变性使 LC₁、LC₃ 选择性解离。轻链类型解离主要决定于离子条件，mgATP、mgADP 及三聚磷酸镁明显抑制 LC₁ 和 LC₃ 的解离。但二价阳离子可以稳定轻链 LC₂ 与肌球蛋白重链结合。轻链的解离促使肌球蛋白的凝集。当轻链 LC₂ 选择解离时，在肌球蛋白的颈部区域发生凝集。然而当轻链 LC₁、LC₃ 被选择性解离时，头部发生不同的聚集。Sharp 和 Offer (1992) 认为，头-头凝集的机理决定于哪个轻链的脱落。轻链脱落使重链表面暴露出疏水片断，从而发生头-头聚集。不同凝集方式表示为：当轻链 LC₂ 脱落时，仅在头的基部暴露出疏水片断，但是由于头部是弯曲的，所以单个肌球蛋白分子内的两个疏水片断不能结合在一起；而当 LC₁、LC₃ 轻链脱落时，多个部位暴露疏水片断，在疏水片断的位置允许发生分子内的凝集和分之间的头-头凝集。

2.3.3 尾-尾聚集

Samejima et al (1981) 表明：尾-尾凝集形成立体结构的网状凝胶。在 37℃时肌球蛋白分子的尾部大部分甚至全部是双链缠绕的 α-螺旋。当温度升高到 45~50℃时，这种结构逐渐地融合，并形成高度灵活的卷曲。疏水集团均匀地分布于肌球蛋白尾部的一级结构中，对于未受热的肌球蛋白来说，其分子尾部的这些疏水集团包埋于 α-双螺旋之间的界面内。发生融合时，这些疏水集团暴露出来，从而肌球蛋白尾部发生凝集，形成凝胶。

显微观察显示，头-头凝集在寡聚体形成过程中起关键作用。但寡聚体如何形成寡聚体复合物的机理尚不清楚。寡聚体由多个肌球蛋白分子组成，其头部聚集成球状的团块，尾部向三维空间辐射。关于寡聚体复合物的形成，一种可能是寡聚体的球状团块之间相互作用形成的；另一种可能是寡聚体间的几条尾部以线性平行方式连接成寡聚体复合物。

3 影响肌球蛋白热诱导凝胶的因素

3.1 肌肉类型影响肌球蛋白热诱导凝胶

肌肉可以分为红肉和白肉，红肉和白肉不仅化学特性不同而且化学组成也不同。鸡腿肉、鸡胸肉分别代表红肉及白肉。通过对仔鸡红、白肉肌球蛋白热诱导凝胶特性的研究发现，红、白肉肌球蛋白的物理化学特性有明显的不同。由于肉的类型不同，其凝胶的强度和蛋白质的含量各异。在偏酸性环境中 (pH5.2~6.0) 胸肉肌球蛋白的凝胶强度大于腿肉肌球蛋白的凝胶强度；在 pH5.2~6.0 时，胸肉肌球蛋白溶液的粘度增加，而腿肉肌球蛋白溶液的粘度下降；当 pH5.7 时，胸肉肌球蛋白形成肌丝长，腿肉肌球蛋白形成的肌丝短；当 pH5.4 时，胸肉肌球蛋白形成的肌丝更长，但腿肉肌球蛋白形成较短的丝。综上所述，鸡胸肉、腿肉热诱导凝胶强度与它们的形态学特性紧密相关。除肌球蛋白分子异构体形成肌丝的方式不同外，还有其它因素影响凝胶的强度。Choe et al (1991) 研究了鸡胸肉、鸡腿肉混合物中肌球蛋白对蛋白质热诱导凝胶能力影响，结果表明，凝胶形成能力的大小顺序：胸肉肌球蛋白的头-头互作+胸肉肌球蛋白的头-尾互作>腿肉肌球蛋白的尾-尾互作>胸肉肌球蛋白的尾-尾互作>腿肉肌球蛋白的头-头互作+腿肉肌球蛋白的头-尾互作。

3.2 温度和离子强度对肌球蛋白热诱导凝胶的影响

凝胶流变性研究表明，离子强度对肌球蛋白

热诱导凝胶的影响是显著的。Sino et al (1990) 根据鲤鱼肌球蛋白热诱导凝胶弹性模量的大小将离子强度分为三组。I组离子强度为0.09M及0.18M, 在50~60℃时, 其弹性模量(G')为 $3.5 \times 10^3 \text{Pa} \sim 5.5 \times 10^3 \text{Pa}$; II组离子强度为0.35M、0.52M及0.77M, 在50~60℃时, 其弹性模量(G')为 $5.0 \times 10^3 \text{Pa} \sim 6.0 \times 10^3 \text{Pa}$; III组离子强度为1.46M及2.56M, 在60~70℃, 其弹性模量(G')为 $9.0 \times 10^3 \text{Pa} \sim 10.0 \times 10^3 \text{Pa}$ 。在低离子强度组(I组), 肌球蛋白聚集并形成不溶性的粗肌丝。在II组和III组, 肌球蛋白分子以单体形式分散在溶液中, 有些轻链从重链上解离下来。

当温度为30℃时, I组和II组没有形成凝胶; III组肌球蛋白分子开始相互作用, 有凝胶形成。这是由于离子强度的增加提高了肌球蛋白分子表面的疏水性, 从而在低温下形成凝胶。

当温度为30℃~45℃, I组仍未形成凝胶。II组和III组肌球蛋白发生尾-尾凝集, 形成凝胶, 弹性模量急剧增加。

当温度大于45℃时, I组中发生粗肌丝间头-头凝集, 形成凝胶, 弹性模量增加。也可能由于加热, 释放一些肌球蛋白分子, 从而发生头-头或尾-尾凝集。在II组及III组, 由于离子强度高, 肌球蛋白分子间的互作更容易进行, 弹性模量继续增加。

3.3 ATP及PPi对肌球蛋白热诱导凝胶的影响

由于ATP及PPi能解离肌球蛋白肌丝, 因此它们影响热诱导凝胶的形成。增加ATP, 肌球蛋白的浊度降低, 即ATP能抵消肌丝内或肌丝间的相互作用, 而且, ATP轻微地破坏了低离子强度下肌球蛋白形成凝胶的能力。有研究表明ATP对凝胶的形成有负面影响。

温度为23℃时, PPi对肌球蛋白分子有轻微的影响, 在温度54℃~58℃, PPi对肌球蛋白分子有明显的影 响, 提高了肌球蛋白形成凝胶的能力。

3.4 pH对肌球蛋白热诱导凝胶的影响

pH=5.7时, 肌球蛋白尾部形成的肌丝短, 而且透射电镜(TEM)观察表明, 与鸡腿肉相比, 胸肉肌球蛋白尾部形成的肌丝较多, 且肌丝更长、更分散。pH5.4时, 肌球蛋白尾部形成肌丝比pH5.7时形成的肌丝更长。腿肉和胸肉肌球蛋白尾部形成凝胶的最佳pH分别为5.4及5.5, 在此pH下形成凝胶的强度分别为 3300dyn/cm^2 及 2500dyn/cm^2 。但是, 胸肉和腿肉肌球蛋白 S_1 在任何pH下形成凝胶能力都较弱。

当pH5.4、0.6MKCl时, 腿肉肌球蛋白尾部形成网络结构细致的凝胶, 胸肉肌球蛋白尾部形成的凝胶结构粗糙, 容易脱水。所以肌球蛋白尾部的凝胶化方式不同于完整肌球蛋白。

在pH5.5~6.0时, 离子强度不同, 牛半膜肌的肌球蛋白形成两种结构完全不同的凝胶。在低离子强度下(0.25MKCl)形成细线条的凝胶; 在高离子强度下(0.6MKCl)形成凝胶结构粗糙, 且低离子强度下形成的凝胶比高离子强度下形成的凝胶具有更高的刚度。

在pH5.5、0.25MKCl条件下形成凝胶的结构中, 肌丝平行排列, 形成“软梯”, 软梯纵横交错。平行肌丝间的相互作用对凝胶的刚度有影响。另一种肌球蛋白的凝胶的典型特征是纤维相互作用, 形成“Y”形。Y连接和平行肌丝使凝胶的立体结构非常疏松。

在pH4.0、0.6MKCl条件下, 肌丝间相互作用形成的凝胶结构细致均匀。扫描电镜观察表明, 与在pH5.5~6.0、0.25MKCl条件下形成的凝胶相比, 在pH4.0、0.6MKCl条件下形成的凝胶结构更紧密。

关于多聚磷酸盐、离子强度、pH等对肌球蛋白热诱导凝胶结构和流变性的影响, 存在着不同的结论, 仍需进一步研究。

Research Development on functional characteristics of myosin

Zhao chunqing

ABSTRACT There is a close relationship between the structure of myosin and meat products. Furthermore, The study on factors that affect functional properties of myosin can direct meat processing. The functional characteristics such as turbidity, solubility and heat-induced gelation of myosin are summarized. The effects of pH, temperature, ATP, PPi, ionic strength and the type of muscle onto myosin gelation are also described.

KEY WORD myosin; heat-induced gelation; turbidity; solubility