

NaCl 对可口革囊星虫体壁肌原纤维蛋白理化和凝胶性质的影响

方佳琪^{1,2}, 薛茜^{1,3}, 王芳^{1,2*}, 陈朝阳^{1,2}, 蔡荣杰⁴, 郭凤仙^{1,2}, 汤壁蔚^{1,2}, 黄慧^{1,2}

(¹福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室 福建泉州 362000

²泉州师范学院 海洋与食品学院 福建泉州 362000

³福建农林大学食品科学学院 福州 350002

⁴泉州五叔公食品有限责任公司 福建泉州 362700)

摘要 通过对可口革囊星虫体壁肌原纤维蛋白(PeMP)的总蛋白溶解性、不同种类蛋白溶解性、紫外吸收光谱、内源荧光光谱、Zeta 电位、傅里叶变换红外光谱(FTIR)、巯基含量、表面疏水性、变性温度和凝胶结构的分析,研究 NaCl 对 PeMP 的理化和凝胶性质的影响。结果表明:随着 NaCl 浓度的增加,PeMP 的溶解性增大,PeMP 中副肌球蛋白和肌球蛋白含量显著增加。PeMP 的紫外吸收光谱及其紫外吸收光谱的相应二阶导数光谱和 PeMP 的内源荧光光谱的最大吸收波长(λ_{max})均发生红移。PeMP 的 Zeta 电位增大。FTIR 分析表明 PeMP 的二级结构发生转变, β -折叠逐渐增加,而 α -螺旋逐渐降低。PeMP 的总巯基和非蛋白巯基含量降低,而分型巯基含量升高,表面疏水性增大。PeMP 的变性温度降低。PeMP 凝胶的蛋白分子间的排列更为紧密。研究结果为改良可口革囊星虫体壁凝胶性质,制备高品质“土笋冻”产品奠定基础。

关键词 可口革囊星虫; 肌原纤维蛋白; 理化性质; 凝胶性质; 氯化钠

文章编号 1009-7848(2023)12-0077-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2023.12.009

可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta* Chen et. Yeh) 属于星虫动物门革囊星虫纲、革囊星虫目、革囊星虫科、革囊星虫属^[1],是典型的高蛋白、低脂肪的海产品^[1],其干质量中的蛋白质含量可达 83.6%~86.5%^[2],被誉为“动物人参”“海洋冬虫夏草”^[1-2]。

可口革囊星虫的体壁被用作食材,经过煮制熬汁、冷却凝结形成冻品^[3]。该冻品被叫作“土笋冻”,是闽南地区特色的传统风味小吃,属蛋白质凝胶产品^[3]。

肌原纤维蛋白(myofibrillar protein,MP)在肉类的各种功能特性中起关键作用,尤其在肉制品凝胶过程中扮演着重要的角色^[4]。MP 占肌肉蛋白的 55%~60%^[5],由粗丝和细丝组成,副肌球蛋白(paramyosin,PM)和肌球蛋白(myosin,MS)等为软体动物粗丝蛋白的核心,肌动蛋白(actin,AC)和原肌球蛋白(tropomyosin,TM)等组成细丝蛋白^[6]。

MP 属于盐溶性蛋白,加入氯化钠(NaCl)能促

进蛋白溶解^[7]。NaCl 是食盐的主要成分,常被用作肉制品的调味剂,特别是在制备肉制品的凝胶工序中,NaCl 的加入促进了体系的膨胀,有利于蛋白凝胶的形成^[8]。

“土笋冻”蛋白凝胶中起主要作用的是可口革囊星虫体壁中的肌原纤维蛋白(PeMP)。本试验以 PeMP 为研究对象,探究 NaCl 对 PeMP 的理化和凝胶性质的影响。同时观察添加 NaCl 质量浓度对 PeMP 凝胶微观结构的影响,为改良可口革囊星虫体壁凝胶性质,制备高品质“土笋冻”产品提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

可口革囊星虫,购于晋江市安海镇,并经泉州师范学院动物学专家鉴定;食品级 ISP,购于河南万邦实业有限公司;生物级三羟甲基氨基甲烷、生物级十二烷基磺酸钠(SDS)、生物级过硫酸铵、生物级甘氨酸、分析纯氯化钠、分析纯乙二胺四乙酸二钠(EDTA- Na_2)、生物级牛血清蛋白(BSA)、生物级考马斯亮和 PageRuler 预染蛋白分子质量标准(10~170 ku),赛默飞世尔科技(中国)有限公司;巯基测定试剂盒,南京建成公司。

收稿日期: 2022-12-15

基金项目: 2021 年国家大学生创新创业训练计划项目
(202110399014)

第一作者: 方佳琪,女,本科生

通信作者: 王芳 E-mail: dwf320@163.com

1.2 仪器与设备

TU-1900 紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;UV-6100s 紫外-可见分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;VE-180 微型垂直电泳槽,上海天能科技有限公司;DYY8C 双稳定时电泳仪电源,北京六一仪器厂;GelDoc XR+全自动凝胶成像分析系统,伯乐生命医学产品(上海)有限公司;F-280 荧光分光光度计,天津港东科技发展股份有限公司;Nicolet iS20 傅里叶红外光谱仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;Nano ZSE 激光粒度仪,马尔文仪器有限公司;CLARIOstar 全功能全波长酶标仪,德国 BMG LABTECH 公司;DSC Q2000 差示扫描量热仪,美国 TA 仪器公司;T-Zero DSC 压片机,美国 TA 仪器公司;Nova NanoSEM 230 场发射扫描电子显微镜,捷克 FEI CZECH REPUBLIC S.R.O. 公司;K550X 离子溅射镀膜仪,英国 Quorum Technologies 公司;H2100R 冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 方法

1.3.1 PeMP 的提取 参考文献[9]。

1.3.2 PeMP 溶液的配制 参考文献[10]。

1.3.3 NaCl 对 PeMP 溶解度的影响 用双缩脲法测定 1.3.2 节中所得 PeMP 溶液中蛋白的含量。双

缩脲法测定蛋白含量参考周非白^[11]的方法,并进行一些改进。首先标准曲线的测定是将表 1 所示溶液分别加入至 6 支试管中,涡旋混合后,在室温(20~25 ℃)下放置 30 min 后,于 540 nm 处进行比色测定。使用 1 号试管作空白对照,绘制标准曲线,见图 1,横轴为蛋白质含量,纵轴为光吸收值,所作标准曲线方程为 $y=0.0445x+0.0091$, 相关系数 $R^2=0.9992$ 。接着样品的测定是取 1 mL 待测样品于试管中,加入 4 mL 双缩脲试剂,在相同条件处理后,在 540 nm 处进行比色测量,将样品吸光度值代入标准曲线公式,得出相应的蛋白含量。

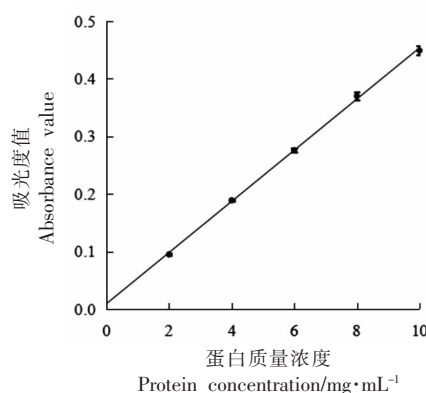


图 1 蛋白含量标准曲线

Fig.1 Standard curve of protein concentration

表 1 牛血清蛋白溶液与蒸馏水的混合比例

Table 1 Mixing ratio of bovine serum protein solution with distilled water

编号	1	2	3	4	5	6
蛋白质标准液/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
双缩脲试剂/mL	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

1.3.4 PeMP 的十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE) 参考文献[11]。

1.3.5 PeMP 的紫外吸收光谱和二阶导数光谱 参考文献[12]。

1.3.6 PeMP 的内源荧光光谱 首先将 1.3.2 节中所得不同 NaCl 浓度下的 PeMP 溶液用对应浓度的 NaCl 溶液稀释 100 倍;然后利用 F-280 荧光分光光度计进行光谱扫描。荧光分光光度计设置扫描模式为发射,数据模式为荧光强度,激发射线 295 nm,发射起始射线 300 nm,发射终止射线 400 nm,扫描速度 1 200 nm/min,激发狭缝 5 nm,

发射狭缝 5 nm,增益为 1,PMT 电压为 400 V,灵敏度为 0.5 s,重复次数为 5。

1.3.7 PeMP 的 Zeta 电位 首先按照仪器操作规程对马尔文激光粒度仪进行设置,设置完毕后取一定量 1.3.2 中所得不同 NaCl 浓度下 PeMP 溶液,放入样品池中开始测定样品的 Zeta 电位值。

1.3.8 PeMP 的傅里叶变换红外光谱(FTIR) 参考文献[13]。

1.3.9 PeMP 的总巯基和分型巯基 根据巯基测定试剂盒说明书所示方法,利用紫外分光光度计在 412 nm 波长下对 1.3.2 节中所得不同 NaCl 浓

度下 PeMP 溶液进行总巯基和分型巯基的测定。

1.3.10 PeMP 的表面疏水性 参考文献[14]和[15]。

1.3.11 PeMP 的变性温度 采用差示扫描量热法(DSC)按照 DSC Q2000 操作规程进行测定。首先分别吸取 1.3.2 节中所得不同 NaCl 浓度下的 PeMP 溶液 10 μL 于样品盘中,准确称量样品质量并记录;然后,利用 T-Zero DSC 压片机将样品盘压盖密封;在 DSC Q2000 的炉体中放入压好的样品盘和同类型的参比盘;设置放热方向向上,起始温度 20 $^{\circ}\text{C}$,升温速率 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,终止温度 100 $^{\circ}\text{C}$,准备就绪,点击 start,启动试验。

1.3.12 PeMP 凝胶的微观结构观察 采用扫描电子显微镜,参考文献[16]和[17]进行观察。凝胶中 NaCl 的浓度分别为 0.2,0.4,0.6,0.8 和 1.0 mol/L。

1.3.13 ISP 对 PeMP 凝胶微观结构的影响 在离心管中称取相同质量的 PeMP,并添加不同质量的 ISP,混合后加入适量的 1.0 mol/L NaCl 溶液将其溶解,使 ISP 的质量分数分别为 1%,2%,3%,4% 和 5%。将离心管放入 72 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中水浴 20 min 后取出,即可看出此蛋白混合物形成凝胶,待其冷却至室温,置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 30 min,再取出置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 3 h,最后进行真空冷冻干燥。扫描电镜下观察冻干后的蛋白凝胶,方法同 1.3.12 节,修改放大倍数为 200 倍。

1.3.14 数据处理 每个试验重复 3 次平行测定,利用 SPSS 17.0 进行数据处理,采用 Duncan(D) 检验数据平均值之间差异是否具有统计学意义 ($P < 0.05$) 并进行方差分析 (ANOVA),采用 WPS Office XLSX 进行作图。

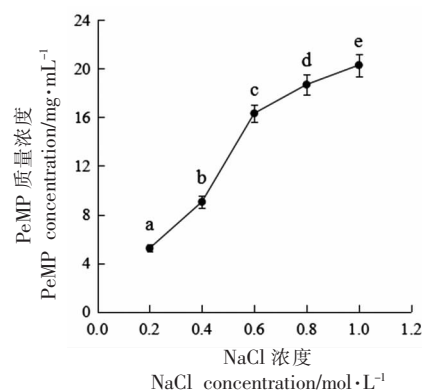
2 结果与分析

2.1 NaCl 浓度对 PeMP 溶解度的影响

不同浓度 NaCl 对 PeMP 溶解度的影响见图 2。由图 2 可知,在一定 NaCl 的浓度(0.2~1.0 mol/L)范围内,PeMP 的溶解度与 NaCl 的浓度成正比,增加 NaCl 的浓度,PeMP 的溶解度也显著增加,这也验证了 PeMP 是盐溶性蛋白质。

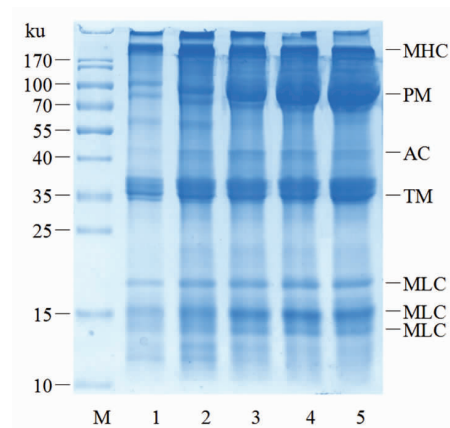
2.2 NaCl 浓度对 PeMP 中不同种类蛋白溶解性的影响

不同浓度 NaCl 对 PeMP 中不同种类蛋白溶解度的影响见图 3。如图 3 可知,当 NaCl 浓度从



注:同一组别中相同字母表示无统计学意义 ($P > 0.05$),反之则表示有统计学意义 ($P < 0.05$)。

图 2 不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 的溶解度
Fig.2 Solubility of PeMP at different concentrations of NaCl



注:M 为 PageRuler 预染蛋白分子质量标准 (10~170 ku);1~5 分别为 0.2,0.4,0.6,0.8 和 1.0 mmol/L NaCl 浓度下的 PeMP 溶液;MHC、PM、AC、TM 和 MLC 分别为肌球蛋白重链、副肌球蛋白、肌动蛋白、原肌球蛋白和肌球蛋白轻链。

图 3 不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 溶液 SDS-PAGE 分析图谱

Fig.3 SDS-PAGE analysis of PeMP solution under different concentrations of NaCl

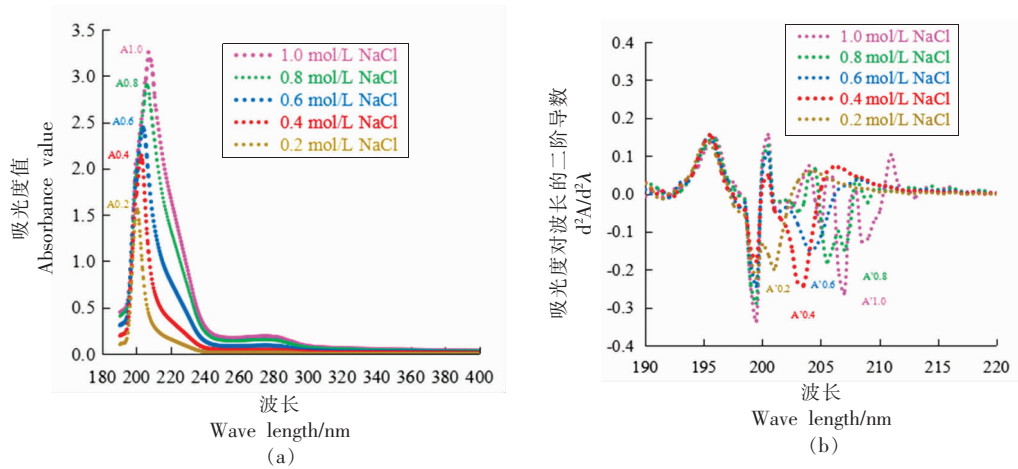
0.2 mol/L 增至 1.0 mol/L 的范围内,肌球蛋白重链 (myosin heavy chain, MHC) 的条带变化不明显,PM、AC、TM 及肌球蛋白轻链 (myosin light chain, MLC) 的条带均加深变宽,表明这 4 种蛋白质随 NaCl 浓度的变化溶解度均增大,其中 PM 的变化最显著,MLC 次之。

2.3 NaCl 浓度 NaCl 对 PeMP 紫外吸收光谱和二阶导数光谱的影响

不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 紫外吸收光谱

和二阶导数光谱的变化见图4。由图4可知,随着NaCl浓度的增大,肽键(200~220 nm)的紫外吸收峰 λ_{\max} 红移,且吸光度明显增大,说明PeMP二级

结构会受到NaCl的影响,肽键数量随NaCl浓度的增大而增加。



注:(b)图中A'0.2、A'0.4、A'0.6、A'0.8和A'1.0分别为(a)图中A0.2、A0.4、A0.6、A0.8和A1.0对应的二阶导数。

图4 不同浓度NaCl条件下PeMP溶液紫外吸收光谱(a)及其紫外吸收光谱的二阶导数光谱(b)

Fig.4 Ultraviolet absorption (a) and second order derivative (b) spectrum of PeMP solutions under different concentrations of NaCl

2.4 NaCl浓度对PeMP内源荧光光谱的影响

不同浓度NaCl条件下PeMP内源荧光光谱的变化见图5。由图5可知,PeMP的 λ_{\max} 分布在335~345 nm之间,随着NaCl浓度的增大,PeMP溶液对应的荧光光谱图形状变化不大,但 λ_{\max} 和荧光强度明显变大。色氨酸残基为内源荧光分析的主要研究对象, λ_{\max} 的波长发生变化,发生红移的现象,表明色氨酸残基可能转移到蛋白分子外

部^[14]。

2.5 NaCl浓度对PeMP Zeta电位的影响

不同浓度NaCl对PeMP的Zeta电位的影响见图6。由图6可知,随着NaCl浓度的逐渐增大,Zeta电位与NaCl浓度成正相关,表明离子强度能够改变蛋白质所带的电荷,进而影响PeMP的功能特性。

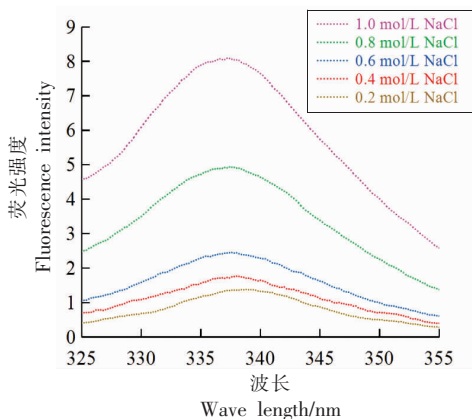
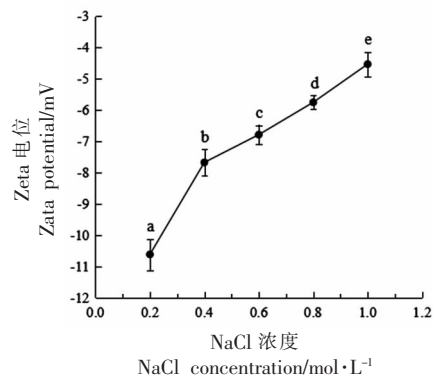


图5 不同浓度NaCl条件下PeMP溶液的荧光光谱图

Fig.5 Fluorescence spectrum of PeMP solutions under different concentrations of NaCl



注:同一组别中相同字母表示无统计学意义($P>0.05$),反之则表示有统计学意义($P<0.05$)。

图6 不同浓度NaCl对PeMP Zeta电位的影响

Fig.6 Effects of different NaCl concentrations on PeMP zeta potential

2.6 NaCl 浓度对 PeMP FTIR 的影响

不同浓度 NaCl 下 PeMP 的 FTIR 的变化见图 7 和图 8。由图 7 和图 8 可知,蛋白溶液中 β -折叠含量随 NaCl 浓度的增加而增加,且增加量显著, α -螺旋的含量却逐渐降低,无规则卷曲无明显变化。可能因为 PeMP 随 NaCl 的加入而溶解得越多,加大了蛋白分子之间的空间距离,肌球蛋白尾部的 α -螺旋链随分子链的延长部分解开,加强了稳定二级结构的作用力,使蛋白分子的 α -螺旋向 β -转角和 β -折叠转化,而 β -折叠是凝胶形成的基础。因此随着 NaCl 浓度的增加,蛋白凝胶更容易形成^[18-20]。

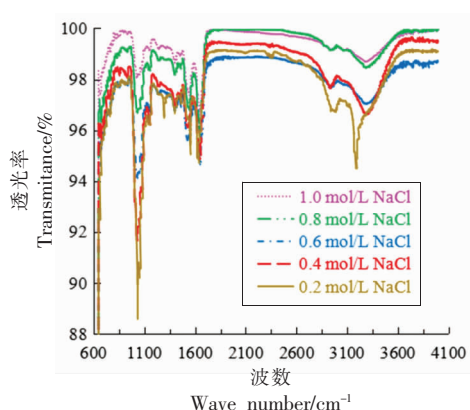
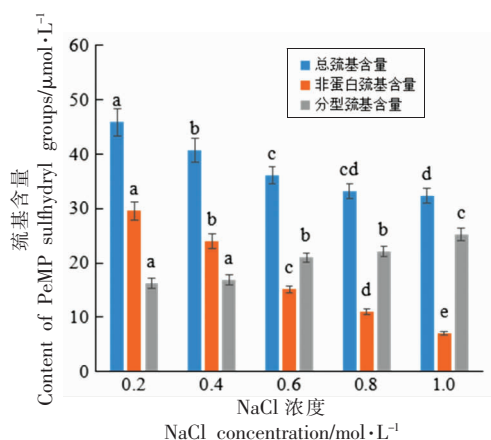


图 7 不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 溶液的 FTIR 图谱

Fig.7 FT-IR patterns of PeMP solutions under different concentrations of NaCl



注:同一组别中相同字母表示无统计学意义($P>0.05$),反之则表示有统计学意义($P<0.05$)。

图 9 不同浓度 NaCl 对 PeMP 巯基含量的影响

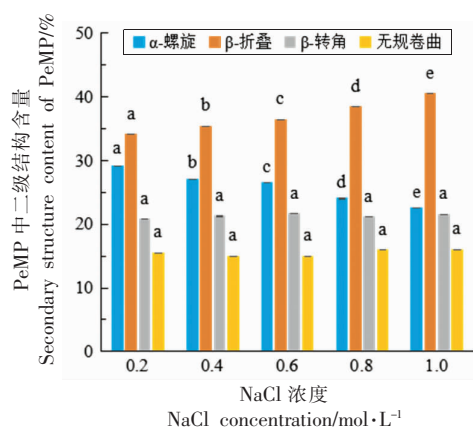
Fig.9 Effect of different NaCl concentrations on the content of PeMP sulfhydryl groups

2.7 NaCl 浓度对 PeMP 总巯基和分型巯基的影响

NaCl 浓度对 PeMP 总巯基和分型巯基的影响见图 9。由图 9 可知,总巯基和非蛋白巯基的含量在 NaCl 浓度为 0.2 mol/L 时最多,而分型巯基含量最少。总体来看,总巯基和非蛋白巯基含量与 NaCl 浓度成负相关,分型巯基与 NaCl 浓度成正相关,这可能由于高浓度的 NaCl 使蛋白质发生严重变性,网状结构被破坏,使巯基转化为二硫键,因而总巯基和非蛋白巯基含量降低,分型巯基含量升高。

2.8 NaCl 浓度对 PeMP 表面疏水性的影响

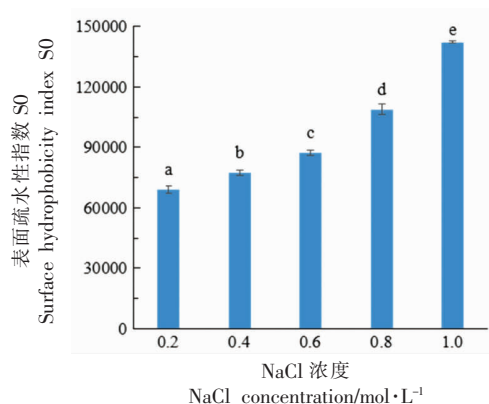
NaCl 浓度对 PeMP 表面疏水性的影响见图



注:同一组别中相同字母表示无统计学意义($P>0.05$),反之则表示有统计学意义($P<0.05$)。

图 8 不同浓度 NaCl 对 PeMP 二级结构的影响

Fig.8 Effect of NaCl on the secondary structure of PeMP



注:同一组别中相同字母表示无统计学意义($P>0.05$),反之则表示有统计学意义($P<0.05$)。

图 10 不同浓度 NaCl 对 PeMP 表面疏水性的影响

Fig.10 Effect of different NaCl concentrations on the surface hydrophobicity of PeMP

10。由图 10 可知,随着 NaCl 浓度的增大,表面疏水指数(SO)^[14-15]也随之增大,且低浓度的 NaCl 会使 SO 的增长较为缓慢,说明低浓度的 NaCl 对蛋白质变性程度影响较小。当 NaCl 浓度较高时,SO 增加较快,因此蛋白质变性程度与 NaCl 浓度有密切关系,当蛋白质的变性程度达到一定程度时,三维空间网络结构被破坏的程度较大,暴露出更多的表面疏水基团,由此表现出 SO 增加越快,表面疏水性增大^[14-15]。

2.9 NaCl 浓度对 PeMP 变性温度的影响

采用 DSC 检测不同浓度 NaCl 下 PeMP 变性温度的结果见图 11。由图 11 可知,当 NaCl 浓度为 0.2 mol/L 时,热流曲线是一条平滑的直线,没有出现明显的吸收峰;当 NaCl 浓度大于 0.2 mol/L 时,DSC 图谱中出现明显的吸收峰,且随着 NaCl 浓度的增加,PeMP 溶液的变性温度逐渐降低,造成蛋白质的热稳定性降低,且 NaCl 浓度越高 PeMP 的热稳定性越差;当 NaCl 浓度为 1.0 mol/L 时,蛋白质的热稳定性已经紊乱。这表明 NaCl 浓度可以影响 PeMP 的结构,进而会影响 PeMP 的理化性质和功能特性。

2.10 NaCl 浓度对 PeMP 凝胶微观结构的影响

利用扫描电子显微镜观察不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 凝胶的微观形貌,结果见图 12。由图 12 可知,不同浓度 NaCl 处理的 PeMP 在微观结构上存在显著差异。当 NaCl 质量分数为 0.2% 时,PeMP 分子分散存在,不能形成凝胶;随着 NaCl 浓度增加,PeMP 分子间相互作用,分子由分散存在向相互作用形成立体结构转变。随着 NaCl 浓度的增大,PeMP 分子间交联形成排列更为紧密的类似板状堆叠的网状空间结构。

3 讨论

本试验研究了不同浓度 NaCl 对 PeMP 理化性质的影响,发现在一定 NaCl 浓度范围内,蛋白的溶解度随浓度的增加而增大,验证了 PeMP 属于盐溶性蛋白,且从 SDS-PAGE 的电泳图谱试验结果来看,电泳图谱条带随 NaCl 浓度的增加而颜色加深,说明蛋白质含量增加,其中副肌球蛋白条带含量变化明显,这与李德阳等^[21]发现增大 NaCl 的浓度,导致 PeMP 溶解度增大的试验结果一致。

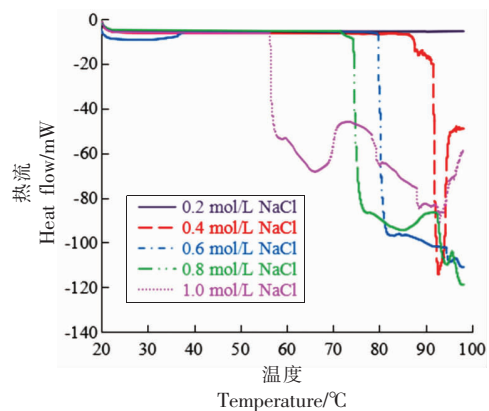
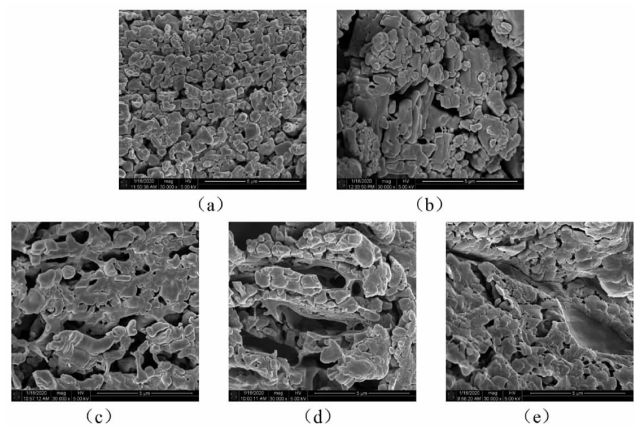


图 11 不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 溶液的 DSC 曲线
Fig.11 DSC curves of PeMP solutions under different concentrations of NaCl



注:a~e 分别表示 NaCl 浓度为 0.2,0.4,0.6,0.8 和 1.0 mol/L 时 PeMP 凝胶的微观结构。

图 12 不同浓度 NaCl 对 PeMP 凝胶微观结构的影响
Fig.12 Effects of different concentrations of NaCl on the morphology of PeMP gel

通常采用紫外吸收光谱和二阶导数光谱分析蛋白质分子构象的变化^[22]。本研究中发现肽键(200~220 nm)的紫外吸收峰 λ_{\max} 红移,说明 NaCl 浓度对蛋白分子构象有影响。此外,测定蛋白质分子构象也常用荧光光谱法^[24]。色氨酸残基的微环境与 λ_{\max} 之间存在密切关系。当 λ_{\max} 小于 330 nm 时,色氨酸残基发生转移,处于蛋白质分子内部的非极性环境中,当 λ_{\max} 大于 330 nm 时,色氨酸残基处于蛋白质分子外部的极性环境中^[24]。本试验中,当 NaCl 浓度增大时, λ_{\max} 增大,说明发生了红移现象,即所处的微环境发生了变化,色氨酸残基可能转移到蛋白分子外部,改变了蛋白的空间结构。

NaCl 浓度也会引起蛋白质表面所带电荷的变化,Zeta 电位的绝对值越高,体系越不容易被破坏,即溶解或分散可以抵抗聚集。Zeta 电位的绝对值越低,越倾向于凝结或凝聚,当吸引力超过了排斥力,分散体解体,发生凝结或凝聚。从本试验研究结果看,Zeta 电位测定值为负,说明不同浓度 NaCl 条件下 PeMP 溶液所带电荷为负电荷,NaCl 浓度的增加,导致电荷量逐渐减少,说明体系容易发生凝聚。

蛋白质的空间结构也受其二级结构的影响,二级结构与酰胺 I 带密切相关。在酰胺 I 带的光谱图中, β -折叠结构指峰值在 $1\ 600\sim 1\ 640\ \text{cm}^{-1}$ 波数范围内占面积的百分含量,无规则卷曲结构指峰值在 $1\ 640\sim 1\ 650\ \text{cm}^{-1}$ 波数范围内占面积的百分含量, α -螺旋结构指峰值在 $1\ 650\sim 1\ 660\ \text{cm}^{-1}$ 波数范围内占面积的百分含量, β -转角结构指峰值在 $1\ 660\sim 1\ 700\ \text{cm}^{-1}$ 波数范围所占面积的百分含量^[24-26]。本研究发现 β -折叠含量随 NaCl 浓度的增加而稍有增加, α -螺旋的含量却降低,无规则卷曲无明显变化, β -折叠有利于蛋白质的聚集,则容易形成凝胶^[23-25]。

巯基属于半胱氨酸的特征基团,具有很好的抗氧化活性,蛋白质二硫键的形成会导致总巯基含量的下降,所以可以根据总巯基含量的变化来判断蛋白质氧化程度^[26]。本试验结果发现增加 NaCl 浓度导致总巯基的含量减少,说明此时的蛋白已被氧化,与张自业^[16]发现钠盐有利于二硫键的形成的试验结果一致。

蛋白质的表面疏水性反映了蛋白质分子表面的物理和化学变化^[26],能够较好的反映蛋白质的变性程度^[11],因此 S_0 的变化可以反映蛋白质三维网络的稳定性。本试验发现增加 NaCl 浓度会使 S_0 增大,说明此时的蛋白结构发生了变化, S_0 在 NaCl 浓度较低时,增长缓慢,则表明此时的变性程度较小,而当浓度的增大, S_0 增加较快,则变性程度也增大。另外差示扫描量热法广泛应用于研究蛋白质的变性,在一定温度范围内,蛋白质由于温度升高,而发生不同程度的变化,蛋白质在变性过程中通常会产生吸热反应,在 DSC 光谱中会产生相应的吸收峰。吸收峰对应的温度是蛋白质的变性温度^[23,27]。蛋白质的构象变化可以通过温度变化来

预测^[27]。本试验结果也证实了 NaCl 浓度会影响蛋白质的变性温度,这与余晶梅等^[28]的研究结果一致。

上述测量方法间接反映了 NaCl 对 PeMP 理化性质的影响,而电镜扫描则更为直观的观察了蛋白凝胶的形貌变化。从扫描电镜观察结果也可以看出,NaCl 使蛋白分子由分散存在向互相作用形成立体结构转变,充分说明了 NaCl 的加入,有利于凝胶的形成。

4 结论

本试验表明,在可口革囊星虫体壁凝胶形成过程中,NaCl 的添加会使 PeMP 的溶解性增大,PeMP 中副肌球蛋白和肌球蛋白含量显著增加;PeMP 的紫外吸收光谱及其紫外吸收光谱的相应二阶导数光谱和 PeMP 的内源荧光光谱的 λ_{max} 发生红移;PeMP 的 Zeta 电位增大;PeMP 的 β -折叠逐渐增加;PeMP 的总巯基和非蛋白巯基含量降低,但分型巯基含量升高,表面疏水性增大;PeMP 的变性温度降低;PeMP 凝胶的蛋白分子间的排列更为紧密。总之,NaCl 的添加使 PeMP 理化性质和结构发生改变,从而促进凝胶的形成。研究结果将为改良可口革囊星虫体壁凝胶性质、制备高品质“土笋冻”产品奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 杜磊. 可口革囊星虫蛋白提取及酶法制备降血压肽的研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2013.
DU L. Study on the extraction and enzymatic preparation of hypotensive peptides from *Phascolosoma esculenta*[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2013.
- [2] 梁川, 刘小玲. 广西两种星虫营养及生物质量比较分析[J]. 轻工科技, 2016, 32(1): 8-10, 35.
LIANG C, LIU X L. Comparative analysis of nutrition and biological quality of two species of starhistle in Guangxi[J]. Light Industry Science and Technology, 2016, 32(1): 8-10, 35.
- [3] 薛茜, 汤璧蔚, 王芳, 等. 闽南特色小吃“土笋冻”凝胶形成的影响因素[J]. 泉州师范学院学报, 2020, 38(6): 23-27.
XUE X, TANG B W, WANG F, et al. Research

- on influencing factors for gel formation of minnan specialty snack 'sipunculid worm jelly'[J]. Journal of Quanzhou Normal University, 2020, 38(6): 23-27.
- [4] JO Y, KWON Y, MIN S, et al. Effect of NaCl concentration on the emulsifying properties of myofibrilla protein in the soybean oil and fish oil emulsion[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2015, 35(3): 315-321.
- [5] 李明清. 鲤鱼肌原纤维蛋白功能特性的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- LI M Q. Functional characterization of myofibrillar protein in carp (*Cyprinus carpio*)[D]. Harbin: North-east Agricultural University, 2010.
- [6] 张龙. 菲律宾蛤仔的蛋白分布特性[D]. 大连: 大连海洋大学, 2016.
- ZHANG L. Characterization of protein distribution in Philippine clams[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016.
- [7] 包海蓉, 汤嘉慧, 郭全友, 等. 亲水胶体对肌原纤维蛋白凝胶特性的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(22): 276-280.
- BAO H R, TANG J H, GUO Q Y, et al. Progress of hydrocolloids on the gel properties of myogenic fibrin[J]. Food and Fermentation Industry, 2019, 45(22): 276-280.
- [8] 李庆云. 氯化钾、海藻粉和柠檬酸钠部分替代氯化钠对鸡胸肉肌原纤维蛋白热诱导凝胶特性的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- LI Q Y. Effect of partial replacement of sodium chloride by potassium chloride, algal powder and sodium citrate on the thermally induced gelation properties of chicken breast meat myofibrillar protein [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.
- [9] 李学鹏, 周凯, 周明言, 等. 自由基氧化对大黄鱼肌原纤维蛋白交联和聚集的影响[J]. 中国食品学报, 2015, 15(4): 13-21.
- LI X P, ZHOU K, ZHOU M Y, et al. Effects of free radical oxidation on myofibrillar protein cross-linking and aggregation in rhubarb fish[J]. Chinese Journal of Food Science, 2015, 15(4): 13-21.
- [10] 张蕊. pH和盐对秘鲁鱿鱼肌原纤维蛋白溶解度和构象变化的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2016.
- ZHANG R. Study of pH and salt on the solubility and conformational changes of myogenic fibrin in Peruvian squid[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology and Industry, 2016.
- [11] 周非白. 氧化修饰对猪肉肌原纤维蛋白结构与功能特性的调控研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- ZHOU F B. Modulation of structural and functional properties of pork myofibrillar protein by oxidative modifications[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [12] 周茹, 倪渠峰, 林伟伟, 等. 肌原纤维蛋白溶解度对盐离子浓度的依赖性[J]. 中国食品学报, 2015, 15(3): 32-39.
- ZHOU R, NI Q F, LIN W W, et al. Dependence of myogenic fibrin solubility on salt ion concentration[J]. Chinese Journal of Food Science, 2015, 15(3): 32-39.
- [13] 李向红, 王发祥, 张付兰, 等. 冷藏过程中草鱼肌原纤维蛋白结构的变化[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(10): 177-181.
- LI X H, WANG F X, ZHANG F L, et al. Changes in myofibrin structure of grass carp during cold storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(10): 177-181.
- [14] 邱春江. 超高压对鲢鱼中关键酶与结构蛋白质构影响的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- QIU C J. Study on the effect of ultrahigh pressure on the structure of key enzymes and structural proteins in silver carp[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014.
- [15] 陈林, 吴克刚, 柴向华, 等. 微射流均质预处理提高大豆分离蛋白酶解效率及酶解产物乳化性能[J]. 农业工程学报, 2015, 31(5): 331-338.
- CHEN L, WU K G, CHAI X H, et al. Microjet homogenization pretreatment improves enzymatic efficiency and emulsification performance of soybean isolate protein[J]. Journal of Agricultural Engineering, 2015, 31(5): 331-338.
- [16] 张自业. 盐和超高压处理对肌原纤维蛋白凝胶特性与作用力的影响及调控机理研究[D]. 南京: 南京财经大学, 2016.
- ZHANG Z Y. Effects of salt and ultrahigh pressure treatment on properties and forces of myofibrin gel and its regulation mechanism[D]. Nanjing: Nanjing University of Finance and Economics, 2016.
- [17] 孔保华, 李明清, 夏秀芳. 不同盐对鲤鱼肌原纤维蛋白结构和凝胶特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(3): 50-55.
- KONG B H, LI M Q, XIA X F. Effects of different salts on myofibrin structure and gel properties of

- common carp[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(3): 50–55.
- [18] 李想. 肌原纤维蛋白聚集和构象变化对凝胶特性的影响研究[D]. 新乡: 河南科技学院, 2018.
LI X. Effect of myofibrin aggregation and conformation change on gel properties[D]. Xinxiang: Henan Institute of Science and Technology, 2018.
- [19] 刘海梅, 熊善柏, 谢笔钧, 等. 鲢鱼糜凝胶形成过程中化学作用力及蛋白质构象的变化[J]. 中国水产科学, 2008, 15(3): 469–474.
LIU H M, XIONG S B, XIE B J, et al. Changes of chemical forces and protein conformation during gel formation of silver carp surimi[J]. Chinese Journal of Fishery Sciences, 2008, 15(3): 469–474.
- [20] 曾淑薇, 李吉, 熊善柏, 等. 磷酸盐对草鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 48–51.
ZENG S W, LI J, XIONG S B, et al. Effect of phosphate on the structure of myogenic fibrillar proteins in grass carp[J]. Food Science, 2014, 35(23): 48–51.
- [21] 李德阳, 侯雅文, 黄颖, 等. NaCl对大菱鲆肌原纤维蛋白特性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 61–67.
LI D Y, HOU Y W, HUANG Y, et al. Effect of NaCl on myofibrillar protein properties of turbot[J]. Food Science, 2018, 39(16): 61–67.
- [22] LANGE R, BALNY C. UV-visible derivative spectroscopy under high pressure[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1595(1): 80–93.
- [23] 王兆明. 兔肉滚揉腌制工艺及品质特性变化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2016.
WANG Z M. Research on tumbling process and quality changes of rabbit meat [D]. Chongqing: Northwestern University, 2016.
- [24] DOGAN A, SIYAKUS G, SEVERCAN F. FTIR spectroscopic characterization of irradiated hazelnut (*Corylus avellana* L.) [J]. Food Chemistry, 2007, 100(3): 1106–1114.
- [25] 周黎, 张雅玮, 刘玮, 等. 低钠盐对皮蛋的钠钾含量、硬度及蛋白质二级结构的影响[J]. 食品工业科技, 2016, 37(12): 139–143.
ZHOU L, ZHANG Y W, LIU W, et al. Effects of low sodium salt on sodium and potassium content, hardness and protein secondary structure of skinned eggs [J]. Food Industry Science and Technology, 2016, 37(12): 139–143.
- [26] 刘慈坤. 臭氧介导的肌原纤维蛋白质氧化对草鱼鱼糜凝胶持水性的影响机制研究[D]. 锦州: 渤海大学, 2019.
LIU C K. Effects of ozone induced myofibrillar protein oxidation on the water-holding capacity in grass carp surimi gel[D]. Jinzhou: Bohai University, 2019.
- [27] KORZENIOWSKA M, CHEUNG I W, LICHAN E C, et al. Effects of fish protein hydrolysate and freeze-thaw treatment on physicochemical and gel properties of natural actomyosin from Pacific cod[J]. Food Chemistry, 2013, 138(2): 1967–1975.
- [28] 余晶梅, 林东强, 童红飞, 等. 荧光探针法研究牛血清白蛋白和免疫球蛋白的表面疏水特性[J]. 高校化学工程学报, 2014, 28(4): 771–776.
YU J M, LIN D Q, TONG H F, et al. Study of surface hydrophobic properties of bovine serum albumin and immunoglobulin by fluorescent probe[J]. Journal of Chemical Engineering in Higher Education, 2014, 28(4): 771–776.

Effects of NaCl on Physicochemical and Gel Properties of Myofibrillar Protein from the Body Wall of *Phascolosoma esculenta*

Fang Jiaqi^{1,2}, Xue Xi^{1,3}, Wang Fang^{1,2*}, Chen Chaoyang^{1,2}, Cai Rongjie⁴,
Guo Fengxian^{1,2}, Tang Biwei^{1,2}, Huang Hui^{1,2}

¹Fujian Province Key Laboratory for the Development of Bioactive Material from Marine Algae, Quanzhou 362000, Fujian

²College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, Fujian

³College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002

⁴Quanzhou Wushugong Food CoPeMPany Limited, Quanzhou 362700, Fujian)

Abstract In order to investigate the effects of NaCl on the physicochemical and gel properties of myofibrillar protein

(PeMP) from the body wall of *Phascolosoma esculenta* Chen et. Yeh, the determination and observation results of solubility of total PeMP, solubility of different types of proteins from PeMP, ultraviolet absorption spectrum, endogenous fluorescence spectrum, Zeta potential, Fourier transform infrared spectrum (FTIR), sulfhydryl group contents, surface hydrophobicity, denaturation temperature and gel structure were analyzed. The results showed that the solubility of PeMP increased, the contents of paramyosin and myosin increased significantly, with the increase of NaCl concentration. The maximum absorption wavelength (λ_{\max}) of the ultraviolet absorption spectrum of PeMP, of the corresponding second derivative spectrum of ultraviolet absorption spectrum of PeMP and of the endogenous fluorescence spectrum of PeMP was redshifted, respectively. The Zeta potential of PeMP increased. FTIR analysis showed that the secondary structure of PeMP changed, the β -sheet increased, while the α -helix decreased gradually. The contents of total and non-protein sulfhydryl groups decreased in PeMP, but the contents of typing sulfhydryl group increased, and the surface hydrophobicity of PeMP increased. The denaturation temperature of PeMP decreased. Protein molecules of PeMP gel were more tightly packed. These results will lay a foundation for the improvement of the gel of body wall from *P. esculenta* and the preparation of high-quality 'earth bamboo shoot jelly' products.

Keywords *Phascolosoma esculenta* Chen et. Yeh; myofibrillar protein (PeMP); physicochemical property; gel property; NaCl