

# 三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)冻藏过程中肌肉蛋白质生化特性的变化

黄琳, 张莉, 武丹露

(中国海洋大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

**摘要:** 以三疣梭子蟹肌肉基本营养成分、蛋白质组成、肌原纤维蛋白含量、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性、总巯基含量、二硫键含量以及肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 分析作为指标, 研究了三疣梭子蟹在不同冻藏温度下肌肉蛋白质生化特征的变化。结果表明, 三疣梭子蟹是典型的高蛋白食品; 随着冻藏时间的延长, 水溶性蛋白含量先增加后减少, 盐溶性蛋白和不溶性蛋白含量逐渐减少, 碱溶性蛋白含量逐渐增加; 肌原纤维蛋白含量、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性、总巯基含量随着冻藏时间的延长, 均呈现下降趋势, 而二硫键含量则呈上升趋势, 且-20℃和-40℃两组之间差异显著( $P < 0.05$ )。SDS-PAGE 分析结果表明, 组成肌原纤维蛋白的各种蛋白质均有不同程度降解, 且-20℃比-40℃组降解更明显。因此, -40℃冻藏对梭子蟹肌肉蛋白质生化特性的影响较小。

**关键词:** 三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*); 肌肉; 蛋白质; 生化特性

中图分类号: TS254.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2017)06-0041-07

DOI: 10.11759/hyhx20151224003

三疣梭子蟹, 学名 *Portunus trituberculatus*, 属于甲壳纲(Crustacea)十足目(Decapoda)梭子蟹科(Portunidae)梭子蟹属, 广泛分布于我国山东、浙江、广西、广东、福建以及日本、朝鲜及马来西亚群岛等海域<sup>[1]</sup>; 在中国山东、江苏、浙江等省的养殖规模很大<sup>[2]</sup>。三疣梭子蟹肉质细嫩、营养丰富、水分含量高, 与其他鱼、虾、贝等水产品一样极易腐败变质, 而其上市量高度集中, 鲜销受到一定限制。冻藏因其成本低、保存时间长成为较好的保鲜方法<sup>[3]</sup>。但冻藏条件下蛋白质极易变性, 导致梭子蟹品质劣变, 这是造成冻藏蟹产品并不普遍的重要原因之一。

目前, 国内外对水产品冻藏过程中品质的变化进行了大量的研究, 如冻藏中海湾扇贝(*Argopecten irradians*)闭壳肌蛋白性质和组织结构的变化<sup>[3]</sup>、微冻与冻藏对乌鳢(*Ophiocephalus argus* Cantor)品质的影响<sup>[4]</sup>、基围虾(*Metapenaeus ensis*)冻藏过程中品质变化<sup>[5]</sup>、软壳和硬壳锯缘青蟹(*Scylla serrata*)肌肉特性在冻藏中的变化<sup>[6]</sup>等。对梭子蟹的研究集中在遗传特性<sup>[7]</sup>、繁殖发育<sup>[1]</sup>、病理毒理<sup>[8]</sup>、低温保存<sup>[9]</sup>等方面, 而低温保存方面的研究更侧重于鲜度品质, 针对梭子蟹肌肉蛋白质冷冻变性的报道并不多。本研究通过对不同温度下冻藏的梭子蟹肌肉蛋白质生化指标的测定, 探讨了冻藏中梭子蟹肌肉蛋白质的降

解规律。以期为梭子蟹冷冻产品的贮藏和保鲜提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

鲜活三疣梭子蟹购于青岛市团岛海鲜市场, 平均质量 120 g 左右。

电泳标准蛋白样液(宝生物工程有限公司); 牛血清蛋白、四甲基乙二胺(TEMED)、过硫酸铵(AP)、十二烷基磺酸钠(SDS)(上海索莱宝生物科技有限公司); 氯化钾、考马斯亮蓝 G250、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氢氧化钠、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、甘氨酸等(国药集团化学试剂有限公司); 乙醚、顺丁烯二酸、硫酸亚铁、三氯乙酸、钼酸铵、氯化钙以及盐酸等均为国产分析纯。

KJELTECTM 8400 全自动凯氏定氮仪(丹麦 FOSS 有限公司); IKA 高速分散机(德国 IKA 公司);

收稿日期: 2016-10-07; 修回日期: 2016-12-19

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2015CM010)

[Foundation: Province Natural Science Foundation of Shandong, NO.ZR2015CM010]

作者简介: 黄琳(1991-), 女, 山东青岛人, 硕士研究生, 主要从事水产食品化学研究, 电话: 18765907071, E-mail: huanglin0126@163.com; 张莉, 通信作者, E-mail: qdzhangli@ouc.edu.cn

UV-2102C 型紫外可见分光光度计(尤尼柯(上海)仪器有限公司); Sorvall ST 16R 台式冷冻高速离心机(美国 THERMO SCIENTIFIC 公司); DYY-6D 型电脑三恒多用电泳仪(北京市六一仪器厂)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 样品处理

新鲜的三疣梭子蟹冰水致死,用蒸馏水冲洗干净,用滤纸吸干表面水分,用热封袋热封包装后分别贮存于(-20±0.5)℃和(-40±0.5)℃的冰箱中,每隔 15 d 进行一次蛋白质生化特性的测定。

### 1.2.2 三疣梭子蟹肌肉基本营养成分的测定

水分含量的测定方法参照:GB 5009.3—2010《食品中水分的测定》中直接干燥法;

粗蛋白含量的测定方法参照:GB 5009.5—2010《食品中蛋白质的测定》凯氏定氮法;

粗脂肪含量的测定方法参照:GB/T 14772—2008《食品中粗脂肪的测定》索式提取法;

灰分的测定方法参照:GB 5009.4—2010《食品中灰分的测定》。

### 1.2.3 各组分蛋白质含量的测定

肌肉各组分蛋白质的提取参照 Visessanguan W 等<sup>[10]</sup>介绍的方法进行,并稍作修改。

精确称取蟹肉样品 2 g,加入 10 倍体积于 4℃ 预冷的磷酸缓冲液(15.6 mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.5 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.5),于 10 000 r/min 均质 1 min,将均质液于 4℃、8 000 r/min 离心 20 min,取沉淀重复上述操作,将两次上清液合并即为水溶性蛋白。于上述所得沉淀中加入 10 倍体积于 4℃ 预冷的磷酸缓冲液(0.45 mol/L KCl, 15.6 mmol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 3.5 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.5),于 10 000 r/min 均质 1 min,间隔 20 s。将均质液于 4℃、10 000 r/min 离心 30 min,取沉淀重复上述操作,将两次上清液合并即为盐溶性蛋白。所得沉淀加入 10 倍体积的 0.1 mol/L NaOH,室温搅拌 4 h,于 8 000 r/min 离心 20 min,所得上清液即为碱溶性蛋白,沉淀为不溶性蛋白。

各种蛋白含量用半微量凯氏定氮法进行测定。

### 1.2.4 肌原纤维蛋白的提取

肌原纤维蛋白的提取参照 Huang<sup>[11]</sup>的方法,并稍作修改。

取新鲜和阶段性冻藏的梭子蟹肌肉,精确称量 5 g,加入 10 倍体积于 4℃ 预冷的 Tris-maleate 缓冲液(50 mmol/L KCl, 20 mmol/L Tris-maleate, pH 7.0),将均质液于 4℃、8 000r/min 离心 20 min,弃去上清

液,取沉淀重复上述操作两次,以洗去肌肉中的肌浆蛋白。在洗涤后的沉淀中加入 6 倍体积于 4℃ 预冷的 Tris-maleate 缓冲液(0.6 mol/L KCl, 20 mmol/L Tris-maleate, pH 7.0),充分均质,在 4℃ 条件下提取 60min,提取液于 4℃、10000 r/min 离心 30 min,得到的上清液即为肌原纤维蛋白溶液,加入 10 倍体积预冷的去离子水稀释使蛋白沉淀下来,4℃、10 000 r/min 离心 30 min,所得沉淀即为肌原纤维蛋白。

### 1.2.5 肌原纤维蛋白含量的测定

肌原纤维蛋白溶液用 0.6 mol/L KCl 溶液稀释 100 倍,取 1mL 加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液,在 595 nm 下测定其吸光度,对照标准曲线得到肌原纤维蛋白的浓度,计算出含量。

### 1.2.6 肌原纤维蛋白生化特性的测定

Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性的测定、总巯基含量的测定参考 Benjakul 等<sup>[6]</sup>的方法;二硫键含量的测定参考 Thannhauser 等<sup>[12]</sup>的方法。

### 1.2.7 肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳

用 0.6 mol/L KCl 将肌原纤维蛋白溶液稀释到约 1.0g/L。参考 Chomnawang 等<sup>[13]</sup>的方法并稍作修改。按照 1:1 的比例在稀释的肌原纤维蛋白溶液中加入样品缓冲液,沸水浴 5min 后上样。采用 5%的浓缩胶和 12%的分离胶,用考马斯亮蓝染色液进行染色。

## 1.3 数据处理

数据处理采用软件 Excel 2007 和 SPSS 22,所有指标结果均取 3 次平行试验的平均值,并进行了差异性分析( $P<0.05$ );曲线绘制软件采用 OriginPro 8.5。

## 2 结果与分析

### 2.1 三疣梭子蟹肌肉基本营养成分

新鲜的三疣梭子蟹肌肉的主要营养成分如表 1 所示。可以看出,三疣梭子蟹肌肉中蛋白质含量非常丰富,折合干重高达 83.97%,粗脂肪的含量很低,折合干重仅为 5.96%,属高蛋白低脂肪食品。

表 1 三疣梭子蟹主要营养成分分析

水分含量(%)	粗蛋白(%)	粗脂肪(%)	灰分(%)
79.54±0.26	17.18±0.38	1.22±0.07	1.03±0.05

### 2.2 肌肉各组分蛋白质含量的变化

三疣梭子蟹肌肉蛋白质可根据溶解性分为 4 种。由图 1 可见,对于新鲜的三疣梭子蟹,盐溶性蛋白占

总蛋白的 52.15%，是最主要的蛋白质，其次，分别是水溶性蛋白、碱溶性蛋白和不溶性蛋白。随着冻藏时间的延长，盐溶性蛋白和不溶性蛋白含量逐渐下降，是由于冻藏过程中两者发生不同程度的变性或降解。碱溶性蛋白含量有所上升，可能是水溶性和盐溶性蛋白变性聚集或降解所致。而水溶性蛋白在冻藏的 0~30 d 含量有所上升，可能是由于盐溶性蛋白降解引起的，之后也呈现下降趋势是因为其自身也发生降解。该结果与李姣等<sup>[14]</sup>研究中国对虾在 0℃ 和 4℃

冷藏条件下蛋白组成的变化趋势相似，但水溶性蛋白和盐溶性蛋白含量均比中国对虾低，这是因为中国对虾比三疣梭子蟹总蛋白含量高，而水分含量低。-20℃ 冻藏的梭子蟹样品各组分蛋白质含量下降或上升的幅度较-40℃ 更大一些，这说明-20℃ 比-40℃ 冻藏的样品蛋白质变性程度大。冻藏过程中产生的冰晶是影响蛋白质变性的主要因素之一，刘艺杰等<sup>[15]</sup>研究表明冻藏温度越低，冰晶颗粒越小，蛋白质变性程度越低，同本研究中蛋白质变性规律相符合。

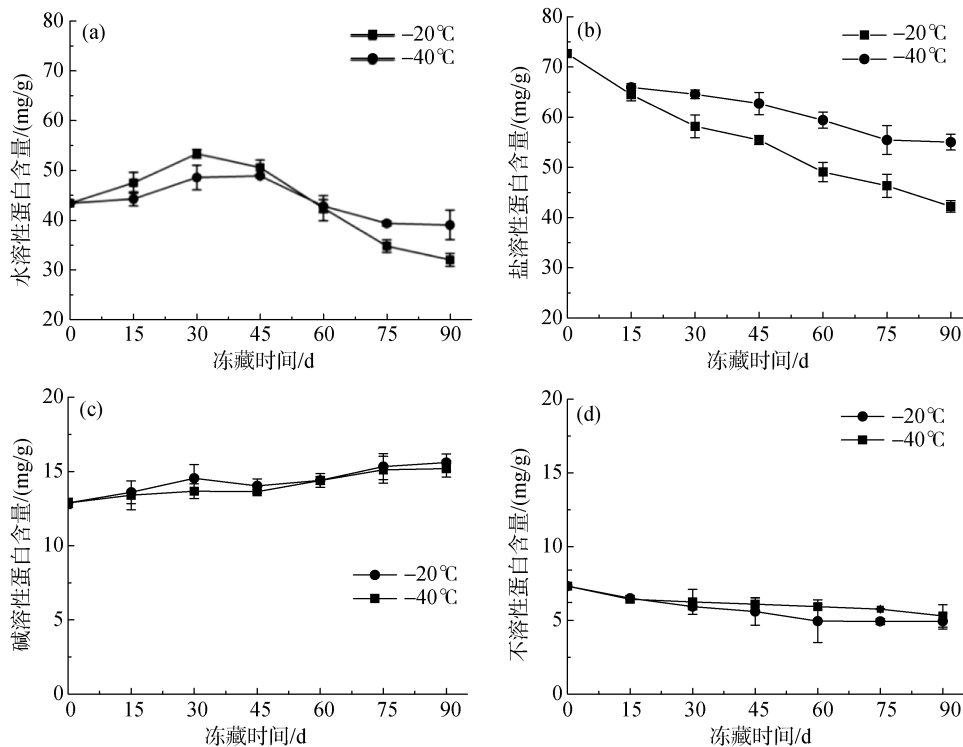


图 1 冻藏过程中三疣梭子蟹肌肉各组分蛋白质含量的变化

Fig. 1 Changes in various muscle protein components in swimming crab during frozen storage

### 2.3 肌原纤维蛋白含量的变化

由图 2 可知，冻藏前期 45 d，随着冻藏时间的延长，不同温度冻藏的样品肌原纤维蛋白含量的变化差异较大 ( $P < 0.05$ )。-20℃ 冻藏的三疣梭子蟹中肌原纤维蛋白含量显著下降，而-40℃ 冻藏的样品则无显著变化。45d 之后两种温度冻藏的样品肌原纤维蛋白含量均有所下降，但下降幅度较小。-20℃ 冻藏的样品肌原纤维蛋白含量降至新鲜样品的 47.9%，-40℃ 冻藏的样品下降至 81.1%。冻藏过程中蛋白质变性导致形成不溶性大分子蛋白凝集体是肌原纤维蛋白含量下降的重要因素<sup>[16]</sup>。目前，解释其变性机理的学说主要有三种：结合水分离学说、细胞液浓缩学说以及

水化作用学说<sup>[17]</sup>。研究表明，冻藏低于冰结晶点时，冻藏温度越低，蛋白质变性越慢，冻藏时间越长，肌肉蛋白质的盐溶性越差<sup>[18]</sup>。冻藏中氢键、二硫键以及盐键的形成会导致蛋白质的溶解性下降，而下降程度则与水产品的种类有关，如大西洋鳕鱼鱼糜在 -20℃ 冻藏 14 d 和 42 d 后肌原纤维蛋白的含量分别下降了 23% 和 47.5%<sup>[19]</sup>。

### 2.4 肌原纤维蛋白中 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性的变化

肌原纤维蛋白是含有多种蛋白质的复杂蛋白质体系，其中最主要的为肌球蛋白和肌动蛋白。肌球蛋白头部具有 ATPase 活性，而  $Ca^{2+}$  能够激活其活性，因

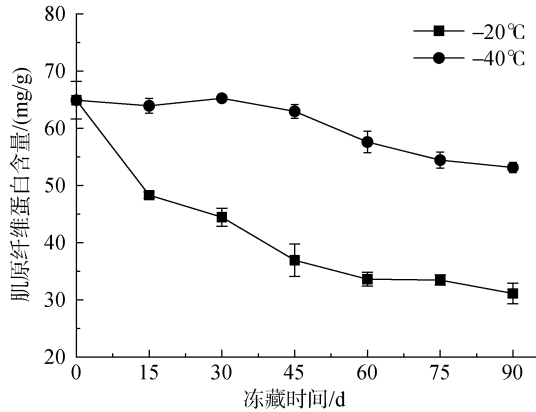


图2 冻藏过程中三疣梭子蟹肌原纤维蛋白含量的变化  
Fig. 2 Changes in myofibrillar protein content in swimming crab during frozen storage

此  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性可以反映肌球蛋白的完整性<sup>[20]</sup>。如图3所示,在整个90 d的冷冻存储期间,不同温度冻藏的样品  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均下降( $P < 0.05$ )。在最初30 d冻藏期间,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性降低显著,之后仍呈下降趋势,但趋势减缓。-20°C与-40°C冻藏的样品之间差异明显( $P < 0.05$ )。冻藏90 d时, -20°C冻藏的样品  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性降低47.8%, -40°C冻藏的样品  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性降低28.3%。Benjakul等<sup>[8]</sup>研究表明,锯缘青蟹硬壳蟹在-20°C冻藏过程中肌肉中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性显著降低,与本研究结果相一致。曾名勇等<sup>[21]</sup>研究得出,鳙鱼肌肉蛋白质中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性在-20°C冻藏至第60天时几乎降低为0,这可能是由于不同类型肌肉  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性受蛋白变性的影响程度不同。在延长冻藏时间情况下,活性的下降表明肌球蛋白发生变性,尤其是球状头部部位。ATPase 活性降低可能与肌球蛋白球状头部巯基的氧化有关<sup>[22]</sup>。

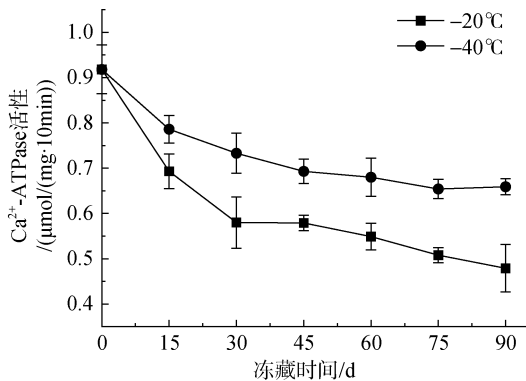


图3 冻藏过程中三疣梭子蟹肌原纤维蛋白中  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的变化  
Fig. 3 Changes in  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activities of myofibrillar protein in swimming crab during frozen storage

## 2.5 肌原纤维蛋白中总巯基含量的变化

由图4可以得出,随着贮藏时间的延长,不同冻藏温度下的总巯基含量均显著下降( $P < 0.05$ )。在-20°C冻藏条件下,最初15 d巯基含量急剧下降27.6%,15 d之后,巯基含量的下降趋势减缓。-40°C冻藏的样品中巯基含量则下降较缓慢,30~45 d下降较快,45 d后有轻微降低。与-40°C冻藏三疣梭子蟹相比, -20°C冻藏的三疣梭子蟹肌肉的巯基含量下降程度更大,冻藏时间越长,下降程度越大。冻藏过程中的活性巯基量普遍降低<sup>[22]</sup>。巯基含量的降低可能是由于巯基氧化形成二硫键,或者由于氢键和疏水键的形成,掩盖了肌动球蛋白分子上的活性巯基的结构<sup>[23]</sup>。Benjakul等<sup>[6]</sup>研究了软壳蟹-20°C下贮藏12周,第一周总巯基含量显著下降,2~12周只有轻微下降。Ramirez等<sup>[24]</sup>报道了罗非鱼在-20°C下贮藏15 d,其总巯基含量持续下降,下降了初始值的33%,比梭子蟹总巯基含量下降幅度更大,这可能是由于肌原纤维蛋白巯基氧化易感性的差异。

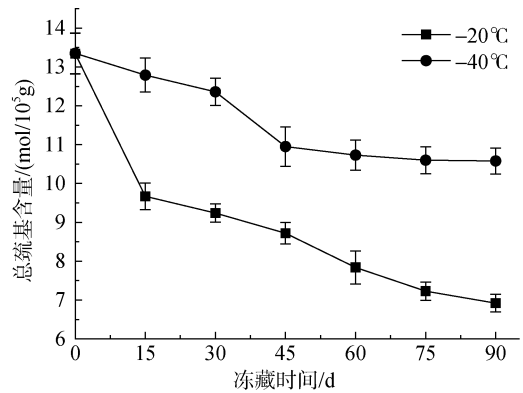


图4 冻藏过程中三疣梭子蟹肌原纤维蛋白中总巯基含量的变化

Fig. 4 Changes in sulfhydryl group content of myofibrillar protein in swimming crab during frozen storage.

## 2.6 肌原纤维蛋白中二硫键含量的变化

由图5可知,在-20°C和-40°C冻藏条件下,三疣梭子蟹肌原纤维蛋白中的二硫键随着冻藏时间的延长逐渐增加( $P < 0.05$ ),不同冻藏温度下的样品间差异明显。在0~15 d的冻藏过程中,不同温度下的样品二硫键含量均明显增加。然而,在冻藏45 d后, -40°C冻藏的样品中二硫键含量无明显增加, -20°C冻藏的样品中二硫键含量仍持续上升,但上升趋势较0~15 d有所减缓。综合分析图4与图5,可以看出二硫键增加与巯基减少是一致的,这表明在冻藏过程中,巯

基会氧化产生二硫键。Benjakul 等<sup>[25]</sup>的研究表明, 在-18℃环境下冻藏 24 周内, 随着石首鱼(白花鱼)、狗母鱼、马鲛鲷以及大眼鲷的肌肉中形成二硫键时, 巯基含量会减少。Ramirez<sup>[24]</sup>等的研究也表明, 在冻藏条件下, 尼罗罗非鱼肌球蛋白的巯基含量也会减少, 同期有二硫键的形成。

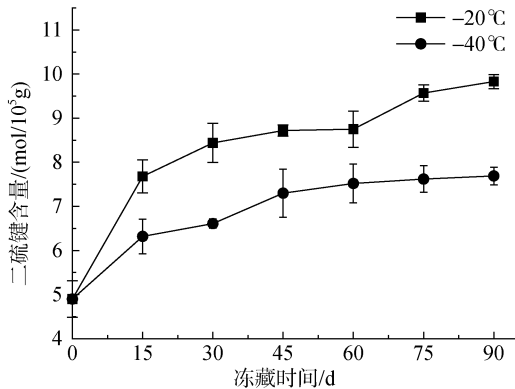


图 5 冻藏过程中三疣梭子蟹肌原纤维蛋白中二硫键含量的变化  
Fig. 5 Changes in disulfide bond content of myofibrillar protein in swimming crab during frozen storage.

### 2.7 肌原纤维蛋白 SDS-PAGE 电泳

由图 6 可知, 三疣梭子蟹的肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 图谱中可以清晰地分辨出 10 条左右蛋白条带, 主要包括肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MHC)、肌动蛋白(actin)、原肌球蛋白(actomyosin)和肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)等, 其中最主要的是肌球蛋白重链和肌动蛋白条带。随着贮藏时间的延长, 主要的蛋白质条带信号均有减弱, 说明肌原纤维蛋白中各种蛋白质均出现不同程度的降解, 且-20℃组比-40℃组降解更明显。值得注意的是约 27 kDa 的位置有一条带信号随着冻藏时间的延长略有加强, 推测为大分子蛋白质降解所得。此外, 冻藏会引起肌原纤维蛋白空间结构的改变和蛋白分子间的交联、聚合, 在电泳图谱上也呈现为蛋白条带信号的减弱<sup>[26]</sup>。

## 3 结论

通过对不同温度下冻藏的三疣梭子蟹肌肉蛋白质生化特性的研究, 可以看出, 不同温度冻藏对梭子蟹肌肉蛋白质的影响很大。梭子蟹肌肉蛋白质根据溶解性分类的四种蛋白质中, 水溶性蛋白含量先增加后减少, 盐溶性和不溶性蛋白含量逐渐减少,

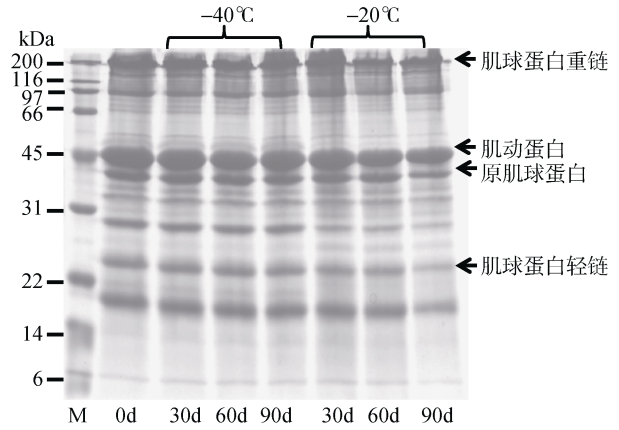


图 6 冻藏过程中三疣梭子蟹肌原纤维蛋白的 SDS-PAGE 图谱  
Fig. 6 SDS-PAGE of myofibrillar protein of swimming crab during frozen storage.

碱溶性蛋白含量则有所增加。肌原纤维蛋白含量总体呈下降趋势, 且-20℃和-40℃两组之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性冻藏前期显著下降 ( $P < 0.05$ ), 30 d 后下降趋势减缓。总巯基含量冻藏时间延长逐渐减少, 同期二硫键含量增加, 且-20℃比-40℃组变化幅度大。由此可见, 冻藏温度对三疣梭子蟹肌肉蛋白质影响显著, 温度越低, 保藏效果越好, 保藏时间也越长。

#### 参考文献:

- [1] 王春琳, 吴丹华, 崔朝霞, 等. 三疣梭子蟹选育群 F2S 表型性状对体质量影响的效果分析[J]. 海洋科学, 2013, 37(7): 100-108.  
Wang Chunlin, Wu Danhua, Cui Zhaoxia, et al. The effects of morphometric traits on body weight in F2 Population of Swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. Marine Sciences, 2013, 37(7): 100-108.
- [2] 高焕, 张本厚, 陈百尧, 等. 逆境环境因素对三疣梭子蟹幼蟹致死效应分析[J]. 海洋科学, 2010, 34(2): 57-61.  
Gao Huan, Zhang Benhou, Chen Baiyao, et al. Analysis on lethal effect of adversity on the *Portunus trituberculatus*[J]. Marine Sciences, 2010, 34(2): 57-61.
- [3] 崔瑞颖, 焦学芹, 崔波, 等. 冻藏对海湾扇贝闭壳肌蛋白质变性及其组织结构的影响[J]. 食品工业科技, 2013, 34(22): 298-301.  
Cui Ruiying, Jiao Xueqin, Cui Bo, et al. Effects of frozen storage on protein denaturation and structure of *Argopecten irradians* muscle[J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(22): 298-301.
- [4] 阙婷婷, 郑家闻, 陈士国, 等. 微冻保鲜与冻藏保鲜对乌鳢品质的影响[J]. 中国食品学报, 2015(6): 136-

147.  
Que Tingting Zheng Jiawen Chen Shiguo, et al. Effect of super-chilling and frozen on the meat quality of Snakehead[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015(6): 136-147.
- [5] 赵小余, 肖珊, 张铎, 等. 基围虾冻藏过程中的品质变化[J]. 大连工业大学学报, 2015, 2: 88-96.  
Zhao Xiaoyu, Xiao Shan, Zhang Duo, et al. The quality changes during *Metapenaeus ensis* freezing storage[J]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2015, 2: 88-96.
- [6] Benjakul S, Sutthipan N. Muscle changes in hard and soft shell crabs during frozen storage[J]. LWT-food science and Technology, 2009, 42(3): 723-729.
- [7] 迟大利, 高焕, 沈颂东, 等. 两种体色三疣梭子蟹线粒体 DNA 部分片段序列的比较分析[J]. 海洋科学, 2010, 34(11): 27-34.  
Chi Dali, GaoHuan, Shen Songdong, et al. Comparison analysis between purple and tea-green individuals of *Portunus trituberculatus* using mitochondrial partial genes[J]. Marine Sciences, 2010, 2010, 34(11): 27-34.
- [8] 陈萍, 李吉涛, 李健, 等. 溶藻弧菌对三疣梭子蟹抗氧化酶系统的影响[J]. 海洋科学, 2009, 33(5): 59-63.  
Chen Ping, Li Jitao, Lijian, et al. Effect on Antioxidant Enzyme System of *Portunus trituberculatus* Infected by *Vibrio alginolyticus*[J]. Marine Sciences, 2009, 33(5): 59-63.
- [9] 杨金生, 夏松养, 方益, 等. 梭子蟹 TPA 质构分析及不同冻藏温度下对其品质的影响[J]. 食品科技, 2011, 36(3): 129-131, 135.  
Yang Jinsheng, Xia Songyang, Fang Yi, et al. Application of TPA in *Portunus pelagicus* and different freeze storage temperature on its quality[J]. Food Science and Technology, 2011, 36(3): 129-131, 135.
- [10] Visessanguan W, Benjakul S, Riebroy S, et al. Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nhamcharacteristics[J]. Meat Science, 2004, 66: 579-588.
- [11] Huang J, Zeng S, Xiong S, et al. Steady, dynamic, and creep-recovery rheological properties of myofibrillar protein from grass carp muscle[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 48-56.
- [12] Thannhauser T W, Konishi Y, Scheraga H A. Analysis for disulfide bonds in peptides and proteins[J]. Methods in enzymology, 1987, 143: 115-119.
- [13] Chomnawang C, Nantachai K, Yongsawatdigul J, et al. Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4 C and its gel properties[J]. Food Chemistry, 2007, 103(2): 420-427.
- [14] 李姣, 李学鹏, 励建荣, 等. 冷藏条件下中国对虾肌肉蛋白质的生化特性[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 16-21.  
Li Jiao, Li Xuepen, Li Jianrong, et al. Biochemical Properties of Muscle Protein from *Fenneropenaeus chinensis* during Chilled Storage[J]. Food Science, 2011, 32(5): 16-21.
- [15] 刘艺杰, 薛长湖, 李兆杰. 鳙鱼鱼糜在冻藏过程中理化性质变化的研究[J]. 食品工业科技, 2006, 27(6): 70-72.  
Liu Yijie, Xue Changhu, Li Zhaojie. Study on Change in Physico-chemical Properties of *Aristichthys nobilis* surimi during frozen-storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2006, 27(6): 70-72.
- [16] 任丽娜. 白鲢鱼肉肌原纤维蛋白冷冻变性的研究[D]. 江南大学, 2014.  
Ren Lina. Study on Frozen Denaturation of Miofibrillar Protein of Silver Carp Muscle[D]. Jiangnan University, 2014.
- [17] 丁一, 黄莉, 夏秀芳, 等. 冻藏对肌原纤维蛋白结构特性与功能特性的影响[J]. 包装与食品机械, 2013, 31(4): 55-59.  
Ding Yi, Huang Li, Xia Xiufang, et al. Effect of Frozen Storage on the Structure and Function of Myofibrillar Protein[J]. Packaging and Food Machinery, 2013, 31(4): 55-59.
- [18] 郭园园, 孔保华. 冷冻贮藏引起的鱼肉蛋白质变性及其物理化学特性的变化[J]. 食品科学, 2011, 32(7): 335-340.  
Guo Yuanyuan, Kong Baohua. Advances in the Research of Denaturation and Change in Physico-chemical Properties of Fish Proteins during Frozen Storage[J]. Food Science, 2011, 32(7): 335-340.
- [19] Sych J, Lacroix C, Carrier M. Determination of optimal level of lactitol for surimi[J]. Journal of Food Science, 1991, 56(2): 285-290.
- [20] 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.
- [21] 曾名勇, 黄海, 李八方. 鳙肌肉蛋白质生化特性在冻藏过程中的变化[J]. 水产学报, 2004, 27(5): 480-485.  
Zeng Mingyong, Huang Hai, Li Bafang. Changes of biochemical properties of *Aristichthys nobilis* muscle protein during frozen-storage[J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 27(5): 480-485.
- [22] Jiang S, Hwang D, Chen C. Effect of storage temperatures on the formation of disulfides and denaturation of milkfish actomyosin (*Chanos chanos*)[J]. Journal of Food Science, 1988, 53(5): 1333-1335.
- [23] Benjakul S, Bauer F. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, 80(8): 1143-1150.

- [24] Ramiares J A, Martian-Polo M O, Bandman E. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state[J]. *Journal of Food Science*, 2000, 65(4): 556-560.
- [25] Benjakul S, Visessanguan W, Thongkaew C, et al. Comparative study on physicochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during frozen storage[J]. *Food Research International*, 2003, 36(8): 787-795.
- [26] 郭园园, 孔保华, 夏秀芳, 等. 冷冻-解冻循环对鲤鱼肉物理化学特性的影响[J]. *食品科学*, 2011, 32(13): 125-130.
- GuoYuanyuan, Kong Baohua, Xia Xiufang, et al. Effect of Number of Freeze-thaw Cycles on Physico-chemical Characteristics of Carp Muscle[J]. *Food Science*, 2011, 32(13): 125-130.

## Changes in the biochemical properties of muscle protein of swimming crab (*Portunus trituberculatus*) during frozen storage

HUANG Lin, ZHANG Li, WU Dan-lu

(Ocean University of China, College of Food Science and Engineering, Qingdao 266003, China)

**Received:** October 7, 2016

**Key words:** swimming crab (*Portunus trituberculatus*); muscle; protein; biochemical properties

**Abstract:** This study analyzed the changes in the biochemical characteristics of muscle protein during frozen storage at  $-20^{\circ}\text{C}$  or  $-40^{\circ}\text{C}$  based on nutrient composition, protein composition, myofibrillar protein content,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity, sulfhydryl group content, disulfide bond content, and SDS-PAGE analysis of myofibrillar protein of swimming crab. Results showed that the muscle of the swimming crab was a typical food with a high protein content. With extension of the duration of frozen storage, the water-soluble protein content increased and then decreased, the salt-soluble protein and -insoluble protein contents decreased, and the content of alkaline-soluble protein increased gradually. Myofibrillar protein content,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity, and sulfhydryl group content decreased with prolongation of the duration of frozen storage, whereas the disulfide bond content showed an increasing trend, with a significant difference between the two groups at  $-20^{\circ}\text{C}$  and  $-40^{\circ}\text{C}$  ( $p < 0.05$ ). The SDS-PAGE results showed that all types of proteins of myofibrillar protein were degraded to different degrees, and the degradation was more apparent at  $-20^{\circ}\text{C}$  than at  $-40^{\circ}\text{C}$ . Therefore, frozen storage at  $-40^{\circ}\text{C}$  has minimal effect on the biochemical characteristics of muscle protein.

(本文编辑: 康亦兼)