

即食海参体壁失稳的影响因素及其 稳定化方法研究进展

刘征东, 张永勤*

(青岛科技大学化工学院, 青岛 266042)

摘 要: 即食海参是一种比干海参营养流失少且食用方便的海参加工产品, 但是该类产品在常温贮藏、甚至低温冷藏条件下往往会出现变软、变粘、甚至融化等失稳现象。本文综述了其导致因素, 如内源自溶酶、附着微生物、温度、含水量、紫外线照射等; 归纳了低温贮藏技术、真空包装技术、超高压技术、分段式高温杀菌技术、生物交联技术等解决方法; 提出了海参体壁存在的内源、外源热抗性酶类是海参体壁失稳的关键因素, 而在保证海参体壁外形缩小不严重的前提下, 采取适当措施灭活该类热抗性酶则是解决海参体壁稳定化的关键。

关键词: 即食海参; 稳定化; 酶; 进展

Advances in the unstable influences and the stabilization methods of instant sea cucumber body wall

LIU Zheng-Dong, ZHANG Yong-Qin*

(College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China)

ABSTRACT: Instant sea cucumber was more convenient for consumption and retained more nutrients than dried sea cucumber. However, it tended to get soft, sticky, melting in many cases at atmospheric temperature of storage, even if in cold storage. This article reviewed the related factors as endogenous autolytic enzyme, attached microbial, temperature, water content, ultraviolet irradiation, etc., and the solutions including low temperature storage, vacuum packaging, ultrahigh-pressure technique, multi-stage-temperature sterilization and biological crosslinking techniques. It was suggested that endogenous or exogenous heat-resistant enzymes were the key factors for the unstablization, and that inactivation for these enzymes with appropriate methods under the premise of less shrinkage of the body wall was the key point for the stabilization.

KEY WORDS: instant sea cucumber; stabilization; enzyme; research progress

1 引言

海参属于棘皮动物门海参纲^[1], 目前世界范围内供捕

捞或养殖的海参品种已达66种, 2008年世界干海参产量已达2万吨以上, 有70多个国家投入到海参产业中^[2], 海参产量增势迅猛。海参营养价值丰富, 含量较高的活性成分

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2013CM027)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province(ZR2013CM027)

*通讯作者: 张永勤, 教授, 主要研究方向为酶工程、食品质量控制与检测。E-mail: zyx0205@qust.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Yong-Qin, Professor, Qingdao University of Science and Technology, No.53, Zhengzhou Road, Shibei District, Qingdao 266042, China. E-mail: zyx0205@qust.edu.cn

主要有多糖^[3-6]、皂苷^[7-9]、脑苷脂^[10-11]和胶原蛋白及其寡肽^[12-14]等,此外,还富含维生素以及钙、镁、铁、锌等矿物质元素^[15]。

目前市售的海参产品主要有盐干海参、盐渍海参、淡干海参、冻干海参、即食海参、海参口服液及海参胶囊等。即食海参是以鲜活海参为原料经高温或高压热处理加工而成的即食产品,其生产工艺免去了干制海参所需的多次水洗、煮沸等工序,水溶性营养及生物活性成分损失小,食用方便,比普通热加工海参弹力大、硬度小、柔韧性好^[16],因此,即食海参是保持海参营养价值和感官品质最好的加工产品之一,深受消费者青睐。然而,该类产品在常温、甚至低温贮藏期间会出现变软、变粘、甚至融化等品质劣化现象,从而严重影响了即食海参的市场占有率。其一般加工流程如图1所示。

针对上述现象,本文综述了体壁失稳的影响因素和解决方法,旨在为即食海参的稳定化加工及贮藏提供理论和实验依据。

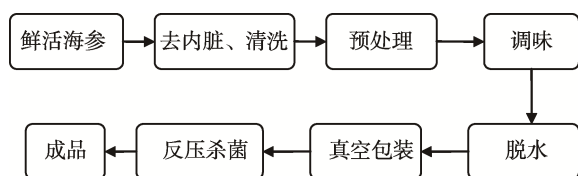


图1 即食海参加工流程

Fig. 1 Process flow diagram of instant sea cucumber

2 体壁失稳的影响因素

根据海参的生长环境和加工方式特点,可将其影响因素分为内部因素和外部因素。

2.1 内部因素

海参在一定条件下会发生水解自溶现象,导致其自溶的酶统称为海参自溶酶。由于即食海参是直接利用鲜活海参加工而成的,海参体壁中的一些内源性自溶酶因高温处理或杀菌强度不够而造成其活性未除尽或活性未完全丧失都会影响即食海参的贮藏稳定性。

目前从海参体壁中发现的酶类主要有蛋白酶、多糖水解酶等。

2.1.1 海参体壁蛋白酶

海参体壁中存在多种蛋白酶,其最适温度一般都在60℃以下,在90℃以上保温30 min后其酶活力一般都损失殆尽。如,朱蓓薇等^[17]得到一种酸性蛋白酶(68.5 kDa),其最适pH约为7.0;还得到一种类组织蛋白酶L(63 kDa)^[18],可以断裂N-苄氧羰基-苯丙氨酸-精氨酸肽链,反应最适pH和最适温度分别为5.0、50℃。赵露露等^[19]提取出一种组织蛋白酶B(Cathepsin B)属于溶酶体半胱氨酸蛋白水解酶,

该酶最适反应温度为40℃,最适pH为5.5。海参体壁还存在一种类半胱氨酸蛋白酶(35.5 kDa)^[20],该酶的最适pH和温度为7.0和50℃,60℃条件下保存60 min残存酶活力约为27%。此外,Wu等^[21]在海参体壁中发现了一种新的分子量为45 kDa的可水解海参胶原蛋白的金属酶,最适pH 8~9,最适温度为(40~45)℃。在脊椎动物和非脊椎动物中广泛存在的基质金属蛋白酶和生物体的自溶相关,是降解细胞外基质的重要酶类,几乎能降解所有基质蛋白成分^[22],Wu^[21]的实验结果表明该类酶可以水解海参体壁胶原蛋白,另外该类酶与海参自溶有关^[23]。然而,上述在海参体壁中所发现的各种蛋白酶的热稳定性均较差,经即食海参的常规杀菌工艺一般均可使其失去活性,因此,该类酶与即食海参体壁稳定性之间的关系尚待进一步探讨。

2.1.2 海参体壁多糖水解酶

海参体壁中也存在多糖水解酶,张杰^[24]从海参体壁中分离纯化出一种最适温度和pH分别为80℃和5.0的淀粉酶,并且在90℃条件下保温30 min后仍具有38%以上的活力,具有较高热稳定性。即食海参是经过高温蒸煮、杀菌等工序制成,如果高温处理不当,很有可能造成热稳定性酶的残留。因此,热稳定性酶的存在与即食海参贮藏稳定性较低存在潜在的相关性。

2.2 外部因素

影响即食海参稳定性的外部因素主要有微生物作用、温度、水分含量、紫外线照射等。

2.2.1 微生物作用

在高温蒸煮袋中发生“融化”的即食海参,有的会散发出腐臭气味,产生的原因很多,但不能忽视其体内附着的各种微生物。仿刺参体壁存在假单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)、希瓦氏菌属(*Shewanella*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、弧菌属(*Vibrio*)、枯草芽孢杆菌属(*Bacillus subtilis*)、变形菌属(*Proteobacterium*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、腐生葡萄球菌 *Staphylococcus saprophyticus*等细菌^[25]、真菌,比如 *Aspergillus teureus*^[26]。然而,上述菌种是否与即食海参的贮藏稳定性相关,尚未见相关报道。

此外,微生物外源性酶对一些糖类、蛋白质类具有降解作用。从刺参体壁表面分离得到的 *Vibrio*(弧菌属)、*Pseudomonas*(假单胞菌属)、*Arthrobacter*(节杆菌属)、*Corynebacterium*(棒杆菌属)、*Acinetobacter*(不动杆菌属)、*Micrococcus*(微球菌属)、*Neisseria*(奈瑟氏球菌属)、*Flavobacterium*(黄杆菌属)、*Xanthomonas*(黄单胞菌属)等分离细菌具有分解褐藻酸钠、几丁质、琼脂、淀粉、明胶、酪蛋白的活性^[27]。向怡卉^[28]从刺参不同部位分离得的 *Kocuria rosea stackebrandt*、棒状杆菌(*Corynebacterium sp.*)和有毒威克斯菌(*Weeksella virose Holmes*)经胞外酶活性实验表明对蛋白具有一定分解能力。常耀光^[29]从海水中分离

出一种能够产生岩藻聚糖硫酸酯酶的黄杆菌属细菌CZ1127,对岩藻聚糖硫酸酯的降解率达到81.5%,并且该酶对白乳参、黑海参、仿刺参等多种海参的岩藻聚糖硫酸酯亦有降解作用,其与即食海参稳定性的相关性有待进一步研究。

2.2.2 温度

在常温条件下海参自溶且伴随着TCA可溶性寡肽、还原糖溶出量增多等生化变化^[30]。冷冻条件下的即食海参一般不会很快发生腐败变质,这主要是因为低温条件下,海参自溶酶的活性被抑制,所附着微生物的活动在低温下也不能进行正常的生理代谢活动。

2.2.3 水分含量

在加工包装好的海参中,水的存在可能会改变海参体壁组织状态。马桂兰^[31]对海参组织劣化机制进行了研究,发现新鲜海参中存在分子量较大的蛋白酶(分子量约为120.0 kDa和38.0 kDa),熟制海参中未发现该酶活性,虽然熟制海参在短时间内可以保持致密结构,但是长时间浸在水中的海参,水分会渗入到海参组织间隙中,水的涨发作用使得组织间隙变大,可溶性成分随水从缝隙流出,导致海参组织劣化。

2.2.4 紫外线照射

在紫外线照射的条件下,鲜活海参细胞的自我吞噬作用显著,且存在酸性磷酸酶、组织蛋白酶B、组织蛋白酶L的活性^[32]。因此,在储运、加工过程中需采取措施避免因紫外线照射而造成海参体壁组织劣化。

3 解决方法

海参是一种含水量极其丰富的无脊椎棘皮动物,其含水量高达95%,而高温会使即食海参产品极度脱水缩小,从而极大地影响其产品的销售价值。因此,在保证即食海参产品品质的前提下,保持即食海参体积最大化始终是该产品市场化的关键所在。综合以上影响即食海参稳定性的因素,结合目前的研究和应用状况,在不影响即食海参食用安全的前提下,解决方法可归结如下:

3.1 低温贮藏技术

低温下,海参自身的酶活力大大降低、甚至完全被抑制;残存在表面和内部的微生物不能进行正常的新陈代谢活动,从而切断海参体壁劣化途径。目前即食海参主要是冷冻保藏。

3.2 真空包装技术

真空度在一定程度上也会影响加工即食海参的营养成分和组织形态的保持,主要原因是在真空状态下可抑制微生物生长;另外还可以防止不饱和脂肪酸氧化变质。

3.3 超高压技术

超高压能破坏氢键等弱结合键,使非共价键断裂,在

200 MPa以上的压力条件下由离子键和疏水键维持的蛋白质的三级结构发生剧烈变化,会产生蛋白质的压力凝固及酶的失活,从而破坏细胞膜,使菌体内成分产生泄漏,且导致细胞形态发生改变,以此达到杀菌目的^[33]。此外,在水产品加工过程中,利用超高压技术有利于蛋白质分子间的交联,使蛋白质分子之间的空间结构发生改变,交联形成空间网状结构,导致蛋白质发生聚集、变性、凝胶化等^[34-35],从而使海参体壁内源酶失去活性,实现海参体壁组织结构的稳定化。因此,超高压技术在不添加任何添加剂的情况下,能使即食海参等水产品保持其形态和营养成分^[36]。该技术可以有效地保障海参等水产品的食用安全性,符合绿色经济的发展需求,同时也迎合了广大消费者的消费心理,然而其产品的口感及风味仍有较大的改进空间,进入方便食品市场尚需加大产品化进程。

3.4 分段式升温灭菌技术

由于海参体壁属热的不良导体,长时间过高温度会使体表蛋白质迅速收缩脱水而不利于热量传递,从而导致体壁中心较难达到设定温度,致使高温自溶酶的部分残留。而分段式升温灭菌工艺即可避免上述问题^[37],即在1.3~1.5个大气压下,先于(101~115)℃杀菌10~30 min,再调整到(115~125)℃继续杀菌3~15 min,便可得到常温保存的即食海参,这不同于一般的即食海参高温杀菌条件^[38]:(110~130)℃杀菌8~12 min,但分段式灭菌工艺优化尚需大量理论和实验数据支撑。

3.5 生物交联技术

为提高即食海参胶原蛋白的稳定性,可采用高温联合生物交联法,以转谷酰胺酶固化海参体壁^[39]。此方法可以有效地将胶原蛋白分子交联在一起,使结构框架更稳定,提高即食海参体壁的硬度和弹性,减少海参体壁的水解。

4 展望

即食海参具有加工过程营养流失少、外观好、食用方便等其他海参加工产品所无法企及的优点,深受消费者青睐。其失稳机制、以及加工和贮藏稳定化研究一直是食品业界研究的热点。从目前研究进展来看,从海参中寻找与即食海参失稳相关的热抗性酶类,并针对其酶学性质及酶解机制寻找相应的稳定化技术,可能成为解决即食海参的失稳问题重要方法之一。另外,海参加工过程中有关微生物的清除工艺有待进一步研究。随着灭菌技术、短时高温超高压技术、生物交联技术的改进和发展,即食海参的产品品质将会得到大幅度提升,以满足突飞猛进的消费市场。

参考文献

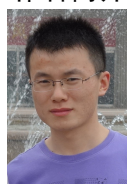
- [1] 廖玉麟. 我国的海参[J]. 生物学通报, 2001, 35(9): 1-3.

- Liao YL. Chinese Sea cucumber[J]. Bull Bio, 2001, 359): 1–3.
- [2] Purcell SW, Mercier A, Conand C, *et al.* Sea cucumber fisheries: global analysis of 0stocks, management measures and drivers of overfishing[J]. Fish Fisheries, 2013, 14: 34–59.
- [3] Chen SG, Xue CH, Yin LA, *et al.* Comparison of structures and anticoagulant activities of fucosylated chondroitin sulfates from different sea cucumbers[J]. Carbohydr Polym, 2011, 83: 688–696.
- [4] Yutaka K, Barbara M, Kyoko I, *et al.* Isolation and partial characterization of fucan sulfates from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus* and their ability to inhibit osteoclastogenesis[J]. Carbohydr Res, 2004, 339: 1339–1346.
- [5] Yu L, Xue CH, Chang YG, *et al.* Structure elucidation of fucoidan composed of a novel tetrafucose repeating unit from sea cucumber *Thelenota ananas*[J]. Food Chem, 2014, 146: 113–119.
- [6] Hu SW, Xia GH, Wang JF, *et al.* Fucoidan from sea cucumber protects against high-fat high-sucrose diet-induced hyperglycaemia and insulin resistance in mice[J]. J Funct Foods, 2014, 10: 1–11.
- [7] Caulier G, Dyck SV, Gerbaux P, *et al.* Review of saponin diversity in sea cucumbers belonging to the family Holothuriidae[J]. SPC Beche-de-mer Information Bulletin, 2011, 31: 48–54.
- [8] Dong P, Xue CH, Yu LE, *et al.* Determination of triterpene glycosides in Sea Cucumber *Stichopus japonicus* and its related products by high-performance liquid chromatography[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(13): 4937–4942.
- [9] Dyck SV, Gerbaux P, Flammang P. Elucidation of molecular diversity and body distribution of saponins in the sea cucumber *Holothuria forskali* (Echinodermata) by mass spectrometry[J]. Com Biochem Phys B, 2009, 152: 124–134.
- [10] Xu J, Wang YM, Feng TY, *et al.* Isolation and anti-fatty liver activity of a novel cerebroside from the Sea Cucumber *Acaudina molpadioides*[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2011, 75(8): 1466–1471.
- [11] La MP, Shao JJ, Jiao J, *et al.* Three cerebroside from the sea cucumber *Cucumaria frondosa*[J]. Chin J Nat Med, 2012, 10(2): 105–109.
- [12] Hu XQ, Xu J, Xue Y, *et al.* Effects of bioactive components of sea cucumber on the serum, liver lipid profile and lipid absorption[J]. Biosci, Biotechnol, Biochem, 2012, 76(12): 2214–2218.
- [13] Zhao YH, Li BF, Liu ZY, *et al.* Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate[J]. Process Biochem, 2006, 42(12): 1586–1591.
- [14] Rowe ML, Achhala S, Elphick MR. Neuropeptides and polypeptide hormones in echinoderms: New insights from analysis of the transcriptome of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Gen Com Endocr, 2014, 197: 43–55.
- [15] Bordbar S, Anwar F, Saari N. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods--A Review[J]. Mar Drugs, 2011, 9: 1761–1805.
- [16] 汤志旭, 薛冬梅, 徐凤香, 等. 即食海参质构及流变学特征的研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(10): 57–60.
- Tang ZX, Xue DM, Xu FX, *et al.* Study on texture and rheological properties in instant sea cucumber[J]. Sci Technol Food Ind, 2007, 28(10): 57–60.
- [17] 朱蓓薇, 韩冰. 海参自溶酶的分离纯化及部分性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(4): 132–137.
- Zhu BW, Han B. Purification and partial properties research on autolytic enzyme in sea cucumber[J]. Food Ferment Ind, 2004, 30(4): 132–137.
- [18] Zhu BW, Zhao LL, Sun LM, *et al.* Purification and Characterization of a Cathepsin L-Like Enzyme from the Body Wall of the Sea Cucumber *Stichopus japonicus*[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2008, 72(6): 1430–1437.
- [19] 赵露露, 董秀萍, 于蕾, 等. 海参体壁组织蛋白酶B酶学性质的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 29(8): 5–9.
- Zhao LL, Dong XP, YU Lei, *et al.* Enzymatic properties of cathepsin B from body wall of sea cucumber[J]. Food Res Dev, 2009, 29(8): 5–9.
- [20] Qi H, Dong XP, Cong LN, *et al.* Purification and characterization of a cysteine-like protease from the body wall of the sea cucumber *Stichopus japonicus*[J]. Fish Physiol Biochem, 2007, (33): 181–188.
- [21] Wu HL, Hu YQ, Shen JD, *et al.* Identification of a novel gelatinolytic metalloproteinase (GMP) in the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus* and its involvement in collagen degradation[J]. Process Biochem, 2013, 48: 871–877.
- [22] 闫训友, 薛冲, 刘志敏, 等. 基质金属蛋白酶及其组织抑制剂研究进展[J]. 生物技术通讯, 2004, 15(3): 302–305.
- Yan XY, Xue C, Liu ZM, *et al.* Current advancement on matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases[J]. Lett Biotechnol, 2004, 15(3): 302–305.
- [23] Sun L M, Wang TT, Zhu BW, *et al.* Effect of Matrix Metalloproteinase on Autolysis of Sea Cucumber *Stichopus japonicus*[J]. Food Sci Biotechnol, 2013, 22(5): 1259–1261.
- [24] 张杰, 张永勤, 罗彩华, 等. 海参体壁中淀粉酶的分离纯化及性质研究[J]. 食品科学, 2014-6-18, 网络预发表.
- Zhang J, Zhang YQ, Luo CH, *et al.* Purification and characterization of amylase in the body wall of sea cucumber[J]. Food Sci, 2014-6-18, In press.
- [25] 成功, 裴赢莹, 张公亮, 等. 仿刺参微生物菌相分析[J]. 大连工业大学学报, 2012, 31(2): 91–93.
- Cheng G, Pei YY, Zhang GL. Analysis of bacterial flora on *Apostichopus Japonicus* surface[J]. J Dalian Polytechnic Univ, 2012, 31(2): 91–93.
- [26] 夏雪奎, 齐君, 刘昌衡, 等. 仿刺参共附生真菌 *Aspergillus terreus* 来源的聚酮类化合物的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(4): 10–14.
- Xia XK, Qi J, Liu CH, *et al.* Polyketones from *Aspergillus terreus* Associated with *Apostichopus Japonicus*[J]. Mod Food Sci Technol, 2014, 30(4): 10–14.
- [27] 孙奕, 陈驊. 刺参体内外微生物组成及其生理特性的研究[J]. 海洋与湖沼, 1989, 20(4): 300–307.
- Sun Y, Chen D. Study on microorganisms and physiological property inside and outside sea cucumber *Stichopus Japonicus*[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1989, 20(4): 300–307.
- [28] 向怡卉, 苏秀榕, 董明敏, 等. 海参细菌的分离鉴定和生长特性研究[J]. 中国食品学报, 2006, 6(1): 25–29.
- Xiang YH, Su XR, Dong MM, *et al.* Isolation and identification of bacteria in sea cucumber and their growth characteristics[J]. J Chin Food, 2006, (61): 25–29.
- [29] Chang Y, Xue C, Tang Q, *et al.* Isolation and characterization of a sea cucumber fucoidan utilizing marine bacterium[J]. Lett Appl Microbiol, 2010, 50: 301–307.
- [30] 郑杰. 海参自溶过程中生化变化及抗氧化活性寡肽的研究[D]. 镇江:

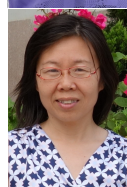
- 江苏大学, 2012.
- Zheng J. Biochemical changes and antioxidative oligopeptides in the autolysis of sea cucumber *stichopus japonicus*[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2012.
- [31] 马桂兰. 海参果冻的加工工艺及熟制海参劣化机制的初步探讨[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- Ma GL. Processing of sea cucumber jelly and Study of cooked sea cucumber deterioration mechanism[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012.
- [32] Zhu BW, Zheng J, Zhang ZS, *et al.* Autophagy Plays a Potential Role in the Process of Sea Cucumber Body Wall “Melting” Induced by UV Irradiation[J]. WuHan Univ J Nat sci, 2008, 132): 232–238.
- [33] Adapa S, Schmidt KA, Toledo R. Functional properties of skim milk processed with continuous high pressure throttling[J]. J Dairy Sci, 1997, 80(9): 1941–1948.
- [34] Hugas M, Garriga M, Monfort JM. New mild technologies in meat processing: high pressure as a model technology[J]. Meat Sci, 2002, 62: 359–371.
- [35] 罗晓玲. 马蛟鱼鱼糜超高压凝胶化工艺研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010.
- Luo XL. Study on the properties of Spanish mackerel Surimi Gels Induced by Ultra-high Pressure[J]. Wuxi: Jiangnan University, 2010.
- [36] 郝梦甄, 胡志和. 超高压技术在水产品加工中的应用[J]. 食品科学, 2012, 33(1): 298–304.
- Hao MZ, Hu ZH. Application of Uiltra High-pressure Technology in Aquatic Product Processing[J]. Food Sci, 2012, 33(1): 298–304.
- [37] 牟伟丽, 杨应进, 李宁, 等. 一种可常温保存的即食海参的制备方法[P]. 中国专利, ZL201010585005.7.
- Mou WL, Yang YJ, LiN, *et al.* A preparation method of instant sea cucumber stored at room temperature[P]. China Patent, ZL201010585005.7.
- [38] 赵学政, 江声海, 姜森, 等. 即食海参生产工艺[P]. 中国专利, ZL201010556381.3.
- Zhao XZ, Jiang SH, Jiang S, *et al.* The production process of instant sea cucumber[P]. China Patent, ZL201010556381.3.
- [39] 张永勤, 薛长湖, 薛勇, 等. 一种胶原蛋白稳定的即食海参的制作方法[P]. 中国专利, ZL201010144056.6.
- Zhang YQ, Xue CH, Xue Y, *et al.* A preparation method making instant sea cucumber collagen stable[P]. China Patent, ZL201010144056.6.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



刘征东, 硕士研究生, 主要研究方向为酶工程、食品质量控制与检测。
Email: liuzdtdcq@126.com



张永勤, 博士, 教授, 主要研究方向为酶工程、食品质量控制与检测。
Email: zyzq0205@qust.edu.cn