



东海光参生物酶解软化工艺研究

霍健聪¹, 邓尚贵^{1*}, 潘华芬²

(1.浙江海洋学院, 舟山 316000; 2.浙江海士德食品有限公司, 舟山 316000)

摘要: 研究了东海光参的生物酶解软化工艺, 探讨了不同蛋白酶作用效果, 确定了最佳蛋白酶生物酶解软化的工艺参数, 并采用扫描电镜研究了酶解前后光参微结构变化情况。结果表明: 木瓜蛋白酶软化处理光参的最佳工艺条件为酶解温度55 ℃, 酶解时间1 h, 酶解pH6.0, 加酶量0.1%; 扫描电镜结果显示酶解前后光参表皮蛋白肌纤维结构有较大变化, 肌纤维由致密变为疏松, 达到了酶解软化的目标。

关键词: 光参; 酶解; 软化

中图分类号: TS 254.1

文献标志码: A

文章编号: 1005-9989(2011)01-0034-05

Enzymolysis softening technology from *Cucumaria japonica*

HUO Jian-cong¹, DENG Shang-gui^{1*}, PAN Hua-fen²

(1.Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316000; 2.Zhejiang Hai Shi De Food Ltd., Zhoushan 316000)

Abstract: The technology of enzymolitical softening and effects of different enzymes were studied in this paper. The optimum parameters of enzymolysis were confirmed and the changes of microstructure in enzymolysis process were studied with the method of SEM(scanning electron microscope). The results were as follows: 55 ℃, 1 h, pH6.0 and dosage of enzyme 0.1%. The results of SEM showed that there were great changes in structure in protein fibers of cucumaria japonica, the protein fibers became loose, and the target of softening was realized.

Key words: *Cucumaria Japonica*; enzymolysis; softening

海参是我国传统名贵海产品之一, 由于其营养价值高、具有延缓衰老等功效, 历来被认为是一种名贵滋补食品和药材, 被冠为“海八珍”之首, 市场需求逐年扩大, 经济价值较高, 市场前景广阔^[1]。

我国是海参资源大国, 主要以刺参和光参两大类为主。刺参肉厚皮薄, 鲜嫩爽滑, 深受市场欢迎。尽管目前已开展人工养殖, 但由于刺参产量同市场需求之间的矛盾长期以来未能得到良好解决。光参主产于我国东海海区, 体形肥胖,

肉质肥厚, 蛋白质、微量元素等含量丰富。尽管与刺参相比口感较差, 但光参体内海参皂甙和海参黏多糖等生理活性物质高于刺参, 药用价值较高。我国光参资源丰富, 资源保有量高达十余万t, 仅浙江省产量就达数千t。目前市场上光参主要以初级加工品形式即咸干制品出售, 售价极低, 与光参实际价值相背离。其主要原因由于光参表皮坚硬, 不易泡涨, 水发处理时间过长, 普通烹调后外皮仍然难以软化, 造成消费者食用不

收稿日期: 2010-07-17

*通讯作者

基金项目: 浙江省重大科技专项重点农业项目(2009C12020)。

作者简介: 霍健聪(1981—), 男, 讲师, 研究方向为水产品精深加工。





便,光参的经济价值、营养价值和保健价值未能得到充分体现。

研究资料表明:海参机体组织中90%为胶原蛋白^[2]。因而,采用生物蛋白酶对光参表皮进行适当酶解,部分水解胶原蛋白以降低表皮硬度成为一条有望提高光参食用品质的有效途径。目前国内外对光参的研究尚处于开始阶段,仅有傅玉颖、陈卉卉等以东海海参为原料,研究了酶解条件及酶解产物的抗氧化特性^[2-3]。基于这一状况,本研究以光参为研究对象,研究蛋白酶生物软化光参表皮工艺,有望为低值光参实现高值化提供有益思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

咸干光参及鲜光参:浙江海士德食品有限公司;风味酶(20000 U/g)、木瓜蛋白酶(50000 U/g)及胰蛋白酶(2000 U/g):南宁庞博生物工程有限公司。

1.2 主要仪器

紫外分光光度计(U-2800)、高速冷冻离心机(CR21G):日本日立公司;TMS-PRO质构仪:美国FTC公司;pH计(DECTA320A/C):瑞士梅特勒托利多公司;SYD-K2040恒温冷冻切片仪:北京爱普瑞莱医疗器械有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 胶原蛋白溶解度的测定^[4] 准确称取光参表皮3~5 g,加入30 mL浓度为25%的Ringer液,组织捣碎机10000 r/min处理10 min后(间歇开机)将匀液倒入50 mL离心管,90℃水浴1 h后4000 r/min离心10 min,上清液倒入150 mL消化瓶中,再向沉淀中加入10 mL浓度25% Ringer液,相同条件下离心10 min,将两次上清液合并。上清液和沉淀中分别加入20 mL和30 mL硫酸(7 mol/L),于105℃消化10 h,分别测定上清液及沉淀中羟脯氨酸含量,并换算成胶原蛋白含量,其中两部分中的胶原蛋白含量分别为可溶性和不溶性胶原蛋白含量。胶原蛋白含量测定参考关静等方法^[5],以羟脯氨酸浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,得出标准曲线回归方程为 $y=0.0066x+0.0032$, $R^2=0.9998$ 。

胶原蛋白溶解度(%)=可溶性胶原蛋白×100/(可溶性胶原蛋白+不溶性胶原蛋白)

1.3.2 质构特性分析^[6-7] 本研究采用质构仪TPA模式下测定酶解处理后光参6项质构参数,即硬

度、黏附型、弹性、咀嚼性、凝聚性和回复性。选用直径为2 mm的圆柱探头,具体测试参数为:预压速度为3 mm/s,下压速度为1 mm/s,回复速度为4 mm/s,压缩量为40%,两次压缩之间停留时间为10 s,触发力5 g。由得到的质构特性曲线可计算出光参的质构参数。

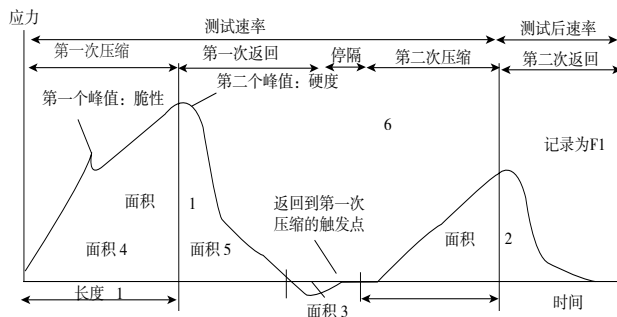


图1 TPA实验的质地特征曲线

图1是典型的TPA实验特征曲线,样品的硬度、黏附性、弹性等质构特征参数可根据曲线计算得出。该图中第1次压缩时的最大峰值表明硬度,多数样品的硬度值出现在最大变形处;黏性为第1次压缩曲线达到零点到第2次压缩曲线开始之间的曲线的负面积,即面积3;弹性为变形样品在去除压力后恢复到变形前的高度比例,用第2次压缩与第1次压缩的高度比表示,即长度2/长度1;黏聚性表示测试样品经过第1次压缩变性后所表现出来的对第2次压缩的相对抵抗能力,在曲线上表现为面积2/面积1;曲线上面积5/面积4标识样品在第一次压缩过程中的回弹能力,即样品的回复性;咀嚼性则表示的是将食品咀嚼到可吞咽时需要做的功,为弹性、凝聚性和硬度的乘积。

1.3.3 扫描电镜观测^[8] 酶解后的样品用冷冻切片仪处理后切成5 μm切片,用2.5%戊二醛(由25%戊二醛溶液10 mL,去离子水40 mL,0.2 mol/L pH值为7.2的磷酸缓冲液50 mL混合成100 mL配制而成)固定2 h后涂片,用pH7.2磷酸缓冲液细心洗涤3次,再用1%四氯化锇固定1 h,再用磷酸缓冲液洗涤3次。以25%、50%、75%和95%乙醇按顺序各脱水1次,每次10 min,最后用无水乙醇重复脱水2次,每次10 min。将涂片放入临界点干燥器内进行干燥,干燥后的涂片放入高真空蒸发器中喷金镀膜后以电镜观察;同时制备未经酶解处理的空白样品。

1.3.4 数据处理 数据采用SPSS 13.0进行统计学检验。



2 结果与分析

2.1 酶制剂种类的确定

蛋白酶种类众多,综合考虑后选用木瓜蛋白酶、胰蛋白酶及风味酶作为初选酶制剂,在3种酶最佳酶解条件下(风味酶和胰蛋白酶均为50℃, pH7.5, 木瓜蛋白酶为55℃, pH5.7)进行酶解处理,酶用量均为底物质量的0.02%,实验结果见表1。

表1 不同酶制剂处理效果

酶制剂	处理时间/min	酶处理现象	胶原蛋白溶解度/%
风味酶	60	参体表面破损严重,呈现透明凝胶状,有轻微腥味	44.98
胰蛋白酶	60	腥味较重,口感较硬	22.46
木瓜蛋白酶	60	腥味较轻,口感较好	32.83

表2 不同酶处理时间光参的质构特征

处理条件/min	硬度/g	黏附性/(g/s)	弹性	咀嚼性/g	凝聚性	回复性
20	1223.28±88.84	-0.2±0.12	1.28±0.11	4434.78±249.20	0.78±0.02	0.65±0.04
40	982.98±46.29	-0.23±0.21	2.54±0.32	3876.12±128.43	0.81±0.01	0.68±0.01
60	679.37±28.39	-0.32±0.14	4.34±0.13	1221.08±58.32	0.82±0.03	0.98±0.02
80	442.18±26.47	-0.53±0.22	4.32±0.22	1198.78±47.29	0.82±0.03	0.97±0.01
空白	712.23±18.73	-0.35±0.12	4.32±0.17	1123.46±38.92	0.81±0.01	0.96±0.05

光参经不同酶处理时间质构特性参数如表2所示。从表2中可以看出,光参硬度与咀嚼性两项质构参数变化趋势类似,均随酶处理时间延长而显著降低,表明光参表皮蛋白在蛋白酶作用下逐步降解;而弹性则随时间延长呈现逐步上升,这主要是由于在酶解过程中,随着胶原蛋白的降解及胶原蛋白溶解度的增加,部分水溶性蛋白吸水性增强,因而弹性逐步增强;凝聚性与回复性在酶解过程中变化较小,而黏附性总体而言随酶解时间延长而逐渐升高,这与光参蛋白降解过程紧密相连,由于蛋白降解后产生众多吸附于表皮的水溶性小分子物质,造成黏附性逐渐增加。此外,从表2中还可以看出,水解时间为60 min的质构参数同空白,即鲜光参相比最为接近。因此,木瓜蛋白酶处理时间定为60 min。

2.2.2 酶用量的确定 在酶处理温度50℃, pH5.7, 处理时间1 h条件下分别选择加酶量为原料质量的0.1%、0.2%、0.3%、0.4%和0.5%,结果见图2。

由图2可知,胶原蛋白溶解度随加酶量的增加而升高,当加酶量超过0.4%后,胶原蛋白溶解度随加酶量升高增长幅度有限,仅增加0.72%,表明

由表1可以看出,不同酶制剂在其最佳酶解条件下处理相同时间后对光参处理效果存在较大差异。其中胰蛋白酶效果最差,这主要是由于胰蛋白酶对蛋白质肽链的降解存在专一位点所致;风味酶是由多种蛋白酶混合而成,作用位点较为分散,对参体蛋白降解效果最佳,但酶解后样品有轻微腥味;而木瓜蛋白酶对光参表皮蛋白的胶原蛋白溶解度介于胰蛋白酶和风味酶之间,且酶解处理后光参腥味较轻,口感较好。因而选择木瓜蛋白酶为实验用酶。

2.2 光参胶原蛋白酶处理工艺条件的确定

2.2.1 酶处理时间的确定 在酶处理温度50℃、酶用量为原料质量0.02%, pH5.7条件下,分别选择木瓜蛋白酶处理时间为20、40、60、80 min,结果见表2。

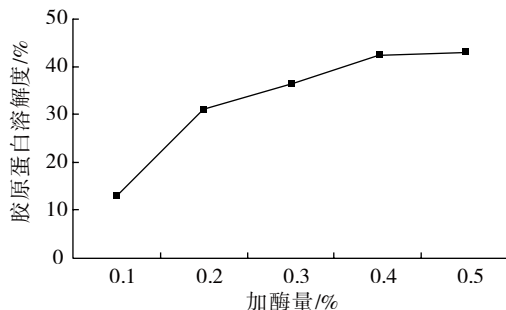


图2 加酶量对胶原蛋白溶解度的影响

0.4%的加酶量为合理用量。但实验中发现当加酶量大于0.3%时,酶解1 h后,光参表皮发生破溃,而加酶量为0.2%则保持完好。因而加酶量选择0.2%为适宜参数。

2.2.3 酶解温度确定 在pH5.7, 加酶量0.2%, 酶处理时间1 h条件下探讨酶解温度对光参表皮蛋白酶解效果的影响,结果见图3。

由图3可以看出温度低于60℃时,随着酶处理温度的升高,胶原蛋白的溶解度呈上升趋势,超过60℃后,随着温度的进一步升高,环境温度不适于酶反应,胶原蛋白溶解度反而开始降低。从图3可以看出温度为60℃时胶原蛋白溶解度最高,达到39.43%,但光参出现表皮破溃现象,因

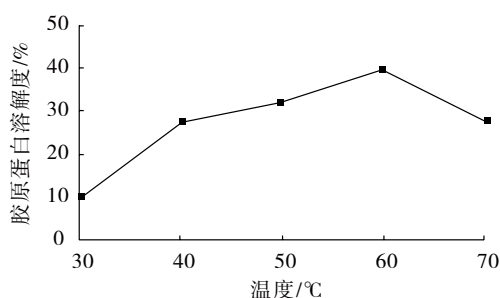


图3 酶解温度对胶原蛋白溶解度的影响

而选择50℃, 即木瓜蛋白酶最适温度作为反应温度。

2.2.4 酶解pH的确定 以加酶量0.2%, 酶处理时间1 h及50℃条件下探讨酶解最适pH, 结果见图4。

由图4可以看出pH对木瓜蛋白酶的酶解效果存在极大影响, 在较低pH(4)和较高pH(高于7)条件下, 胶原蛋白溶解度均较低, 其中pH为5时胶原蛋白溶解度最高, 这同木瓜蛋白酶最适pH5.7较为

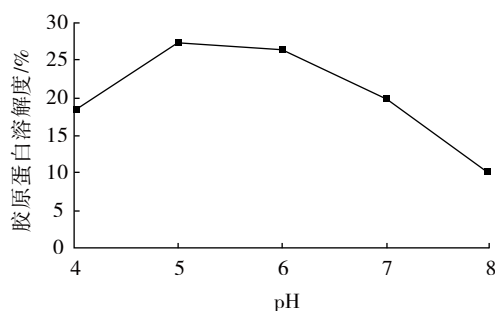


图4 pH对胶原蛋白溶解度的影响

接近。因此, 选择木瓜蛋白酶最适pH为酶解最适pH。

2.2.5 均匀实验设计 在单因素实验确定的酶法水解光参胶原蛋白最佳值范围基础上, 考察多个因素的综合作用, 在单因素实验结果基础上, 通过设计均匀实验, 选择最佳工艺条件。结果见表3。

由表3可知, 不同实验号处理后的光参在胶

表3 均匀实验设计方案

实验号	因素				胶原蛋白溶解度/%	光参感官特性
	温度/℃ A	处理时间/min B	pH C	酶用量/% D		
1	1(30)	2(30)	3(5.0)	6(0.6)	45.23	肉质过软, 出现破溃
2	2(35)	4(50)	6(8.0)	5(0.5)	24.12	肉质较硬, 有腥味
3	3(40)	6(70)	2(4.0)	4(0.4)	18.31	肉质硬
4	4(45)	1(20)	5(7.0)	3(0.3)	19.32	肉质硬
5	5(50)	3(40)	1(3.0)	2(0.2)	26.73	肉质较软, 有腥味
6	6(55)	5(60)	4(6.0)	1(0.1)	29.56	肉质较软, 无腥味
7	7(60)	7(80)	7(9.0)	7(0.7)	11.23	肉质坚硬

原蛋白溶解度和感官品质上存在明显差异, 其中第6组胶原蛋白溶解度为29.56%, 实验中也发现在该条件下处理后的光参同鲜光参口感近似, 且处理后的光参无腥味, 表皮无破溃, 达到实验要求。因此, 确定采用木瓜蛋白酶软化处理光参的工艺条件为: 酶解温度55℃, 酶解时间1 h, 酶解pH6.0, 加酶量0.1%。

2.3 酶解前后光参微结构变化

按照木瓜蛋白酶软化工艺条件对光参进行酶解处理后采用电镜扫描得到图5。

从图5中可以看出, 酶解处理前由于光参表皮蛋白严重变性, 肌纤维之间已形成较大的空洞, 组织极为致密且粗细不均匀, 表现为硬度较大; 而采用木瓜蛋白酶处理后的光参肌肉纤维在吸水及酶的作用下发生适度降解, 肌纤维间由先前的致密变得疏松、无序, 光参组织变得较为松

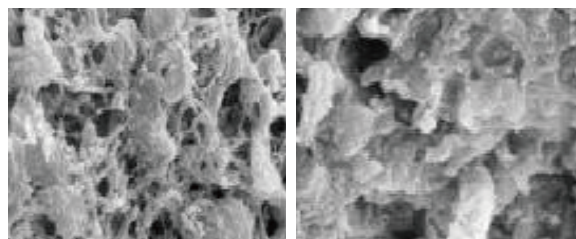


图5 光参酶解前后扫描电镜图

软。由此可见, 采用木瓜蛋白酶对光参进行适当处理实现了适度降解表皮胶原蛋白、软化光参的目标。

3 结论

酶制剂种类繁多, 不同酶制剂对蛋白多肽链作用位点不同。本研究选用海产品中应用较多的3种酶制剂, 即木瓜蛋白酶、风味酶和胰蛋白酶作



为初始酶制剂。通过实验发现,木瓜蛋白酶对光参进行酶解处理后光参腥味较轻,口感较好,因而选择木瓜蛋白酶为实验用酶。

通过以胶原蛋白溶解度为测试指标及通过质构参数分析确定木瓜蛋白酶最佳酶解工艺参数为酶解时间1 h,酶解温度50℃,最适pH5.7,加酶量0.2%;在单因素实验确定的酶法水解光参胶原蛋白最佳值范围基础上,考察多个因素的综合作用,在单因素实验结果基础上,通过设计均匀实验,选择最佳工艺条件为酶解温度55℃,酶解时间1 h,酶解pH6.0,加酶量0.1%。

扫描电镜结果显示木瓜蛋白酶酶解前后光参表皮蛋白肌纤维结构有较大变化,肌纤维由致密变为疏松,达到了酶解软化的目标。

尽管光参营养价值及药用价值较,但由于其表皮坚硬,造成消费者食用困难,难以赢得市场青睐,使得光参价格极低,市场价仅为3000元/t。木瓜蛋白酶是广泛应用于食品行业的一种价格低廉的生物酶制剂,本研究结果有望为光参的表皮

软化提供一条切实可行的途径,实现低值光参的高值化。

参考文献:

- [1] 廖玉麟.中国动物志.棘皮动物门海参纲[M].北京:科学出版社,1997:1-61
- [2] 傅玉颖,陈卉卉,励建荣,等.东海海参胶原蛋白酶解工艺研究[J].中国食品学报,2009,9(3):84-91
- [3] 陈卉卉,于平,励建荣.东海海参胶原蛋白多肽的制备及清除自由基功能研究[J].中国食品学报,2010,10(1):19-25
- [4] Hill F. The solubility of intramuscular collagen in meat animals of various ages. Food Sci,1966(2):161-166
- [5] 关静,叶萍,武继民.胶原海绵的羟脯氨酸含量测定[J].氨基酸和生物资源,2000,22(1):52-54
- [6] 孙彩玲,田纪春,张永祥.TPA质构分析模式在食品研究中的应用[J].实验科学与技术,2007,5(2):1-4
- [7] 李云飞,殷涌光,金万镐,等.食品物性学[M].北京:中国轻工业出版社,2005:90-125
- [8] 鲁维,孙君社,韩北忠,等.青方腐乳酿造过程内部微细结构的扫描电镜观察[J].四川大学学报(工程科学版),2004,3(5):40-43

食事传递

Food Info



怎样对待反式脂肪酸

中国农业大学食品科学与营养工程学院副教授、食品科学博士范志红曾表示,令人庆幸的是,那些反式脂肪酸含量高的食品,大都是营养价值低、且价格相对较高的食品。人们如果真的害怕反式脂肪酸给自身带来危害,那就尽量不吃或少吃那些高价格、低营养的食物。平日炒菜使用的植物油,大都不含反式脂肪酸,人们可以放心食用。对于那些含有反式脂肪酸的食品,一定要注意产品说明上标注的反式脂肪酸含量,尽量购买含量低的,含量过高应尽量少吃。同时应该注意一日三餐的饮食习惯,以传统的中式餐饮代替西式餐饮,可能更适合国人的健康标准。

研讨会上,中国营养学会名誉理事长、首席顾问葛可佑明确指出,反式脂肪酸是营养问题,这是因为反式脂肪酸是食物成分不是毒物,是食物中诸多不健康成分之一,是长期慢性作用而不是立竿见影的效果,它有安全摄入界限。人们要科学对待反式脂肪酸,既应当重视,但也不必恐慌。葛可佑强调,美味和健康是可以兼顾的,应有正确的、健康的生活方式。

有专家表示,消费者应尽量减少反式脂肪酸的摄入,这是因为反式脂肪酸是一种不健康的食物成分,应努力做到每天摄入量不超过2克。应注意:多选用天然食品,少吃含脂肪多的加工食品;在购买加工食品时,细看食品配料表,选购不含“部分氢化植物油”、“起酥油”、“奶

精”、“植物末”、“人造奶油菜”等标示的食品;努力减少口感很香、脆、滑的多油食物的频度和数量;少吃油炸食物,少用煎炸方法烹调食物。

记者了解到,目前有关反式脂肪酸仍存在争议。中国一家协会的相关负责人就指出,氢化油不等于反式脂肪酸,消费者可安心食用国内品牌企业生产的相关产品。还有专家表示,国际上对含有反式脂肪酸的食品不是简单禁止食用,而是依据本国反式脂肪酸的摄入情况设定限量标准或标签标示要求。他说,西方国家强制规定在食品标签上标明反式脂肪酸的含量,目的是告诉消费者,反式脂肪酸吃多了不好,但含有反式脂肪酸的食品不等于有毒、有害食品,“尽管中国人的饮食中同样有反式脂肪酸,但是由于东西方的膳食结构不同,中国人摄入的反式脂肪酸要比西方人少得多。”对于反式脂肪酸,人们应该正确对待。

食品科技

——提高生活品质!