



倪众,楚鹏飞,林颖,等.低温长时间热处理过程中氧化和加热对海参体壁胶原纤维结构的影响[J].轻工学报,2025,40(1):21-31,57.  
NI Z, CHU P F, LIN Y, et al. Effects of oxidation and heat on the collagen fibers structure of the sea cucumber body wall during low-temperature long-time thermal treatment[J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(1): 21-31, 57.  
DOI: 10.12187/2025.01.003

# 低温长时间热处理过程中氧化和加热对海参体壁胶原纤维结构的影响

倪众<sup>1</sup>, 楚鹏飞<sup>2</sup>, 林颖<sup>1</sup>, 刘玉欣<sup>1</sup>

1. 大连工业大学 食品学院/海洋食品加工与安全控制全国重点实验室/国家海洋食品工程技术研究中心/海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034;
2. 丹东元一海产精制品有限公司, 辽宁 丹东 118399

**摘要:**以新鲜海参为研究对象,考查低温(60℃)长时间热处理过程中氧化和加热对其质构特性的影响,并进一步从新鲜海参体壁中提取完整的胶原纤维,分别进行氧化处理、热处理及氧化协同热处理后,采用差示扫描量热(DSC)仪、冷冻扫描电子显微镜(cryo-SEM)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)仪、电子自旋共振波谱(ESR)仪等对其热稳定性、微观结构、蛋白质二级结构、氧化程度等变化情况进行研究。结果表明:单一氧化处理对胶原纤维仅有氧化降解作用。单一热处理会使胶原纤维发生氧化、变性、降解等变化。相较于两种单一处理方式,经氧化协同热处理后,胶原纤维结构被破坏得更加明显,处理1h后,胶原纤维内的蛋白聚糖桥连结构发生明显断裂,处理24h后,在15~24℃附近出现新的吸热峰,胶原纤维发生明胶化;随着处理时间的延长,胶原纤维结构的孔径进一步收缩,且发生破损;氧化协同热处理能促进热处理对胶原纤维的氧化程度,并使大分子蛋白质发生降解,增加羟脯氨酸、糖胺聚糖(GAG)等可溶性小分子物质溶出。因此,氧化协同热处理能使胶原纤维发生氧化、变性、聚集、降解等变化,进而影响海参体壁的质构特性。

**关键词:**海参体壁;胶原纤维;低温长时间热处理;氧化;质构特性

**中图分类号:**TS254.4 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2025)01-0021-12

## 0 引言

海参(*Stichopus japonicus*)是一类经济价值和营养价值均较高的水产品,富含皂苷、酚类化合物、硫酸多糖等活性成分,具有抗衰老、提高免疫力、预防肿瘤、抗氧化、抗病毒等功效<sup>[1]</sup>。2022年,我国海参年产量达 $2.485 \times 10^5$  t<sup>[2]</sup>。新鲜海参因含有基质金

属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶等内源酶<sup>[3]</sup>,极易自溶,难以贮藏,因而捕捞后常被加工成干制品。近年来,即食海参等新产品因具有更高的营养价值而发展迅速,然而,海参体壁独特的理化结构使其在传统高温热加工过程中难以保持适宜的嫩度和弹性<sup>[4-5]</sup>。低温长时间热处理技术是指原料在50~65℃的温度下进行较长时间(通常为几小

收稿日期:2024-04-29;修回日期:2024-06-20;出版日期:2025-02-15

基金项目:国家自然科学基金项目(31901615);大连市高层次人才创新支持计划青年科技之星项目(2021RQ087)

作者简介:倪众(1998—),女,辽宁省铁岭市人,大连工业大学硕士研究生,主要研究方向为水产品加工、贮藏过程中品质变化。E-mail:nz1025001@163.com

通信作者:刘玉欣(1988—),女,辽宁省沈阳市人,大连工业大学副教授,博士,主要研究方向为水产品加工、贮藏过程中品质变化与调控机制及新产品开发。E-mail:303999266@qq.com

时至几天)烹饪的方法<sup>[6-7]</sup>,采用该技术加工海参,可以赋予海参制品更好的嫩度、色泽及多汁性,减少烹饪损失和营养流失,提高海参的食用品质<sup>[8-9]</sup>,并降低过度热加工造成的体壁组织机械强度损失、原有形态难以维持等使海参失去商品价值的风险。

海参体壁胶原组织主要由胶原纤维构成,而原纤蛋白微纤维之间通过 $\varepsilon$ -( $\gamma$ -谷氨酰)赖氨酸交联结构连接并包围缠绕胶原纤维,所形成的纤维网络结构可维持胶原组织的机械强度<sup>[10]</sup>。胶原纤维内部的原纤维之间则是通过由糖胺聚糖(GAG)和核心蛋白质构成的蛋白聚糖桥连结构连接<sup>[11]</sup>。在食品加工、贮藏等过程中均存在的蛋白质氧化可使胶原纤维发生交联、降解、溶出等变化。前期研究<sup>[12]</sup>发现,海参的热加工过程会诱导自由基生成,进而引发蛋白质氧化,导致蛋白质在分子水平上发生羰基衍生物增加、硫醇基团减少、分子内和分子间交联形成等变化。目前,热处理海参质构特性相关研究大多围绕热处理温度和时间展开<sup>[4-5]</sup>,针对低温长时间热处理过程中氧化对海参质构特性影响的研究仍较少。另外,氧化应激会激活内源酶,这在一定程度上会影响海参的质构特性,因此,为了规避内源酶等信号蛋白的干扰,通常以提取的胶原纤维为研究对象,直接探究氧化对胶原纤维结构的作用,进而阐明氧化对质构特性的影响规律。

基于此,本文拟以新鲜海参为研究对象,考查低温(60℃)长时间热处理过程中氧化对其质构特性的影响,随后从新鲜海参体壁中提取完整的胶原纤维,分别进行氧化处理、热处理及氧化协同热处理以进一步研究胶原纤维的热稳定性、微观结构、蛋白质二级结构、氧化程度等变化,明确氧化和热处理对海参体壁胶原纤维结构的影响规律,以期揭示低温长时间热处理过程中海参体壁原位结构的质构特性变化规律,为提升低温长时间热处理海参制品的品质提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

新鲜海参(*Stichopus japonicus*),产自大连附近黄海海域,120~150 g/只,购于辽宁省大连市刘家桥

市场。氨基酸标准品(色谱级),上海和璞生物技术有限公司;1,9-二甲基亚甲蓝(DMMB)、L-羟脯氨酸、硫酸软骨素,美国 Sigma 公司;维生素 C、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、FeCl<sub>3</sub>,天津市大茂化学试剂厂;5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)、2,4-二硝基苯肼(DNPH),上海生工生物工程有限公司。若无特指,以上试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器与设备

TA-XTPPLUSZ 型质构仪,英国 Stable Micro System 公司; $\mu$ -DSC III型差示扫描量热(DSC)仪,法国 Setaram 公司;A200 型电子自旋共振波谱(ESR)仪,德国 BRUKER 公司;M200 型多功能酶标仪,瑞士 TECAN 公司;JSM-7800F 型冷冻扫描电子显微镜(cryo-SEM),日本 JEOL 公司;Frontier 型傅里叶变换红外光谱(FTIR)仪,美国 Perkin Elmer 公司;CF16RN 型高速冷冻离心机,日本 HIMAC 公司;LA8080 型自动氨基酸分析仪,日本 HITACHI 公司;LC-20AB 型高效液相色谱(HPLC)仪,日本岛津公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 低温长时间热处理海参样品制备** 将新鲜海参去除内脏及头尾后,清洗干净,分为如下3组:

1)对照组(Blank 组)。直接将清洗干净的海参装入自封袋中。

2)氧化处理组(Fenton 组)。将清洗干净的海参装入自封袋中,并加入3倍体积的 Fenton 溶液(0.01 mmol/L FeCl<sub>3</sub>, 0.1 mmol/L 维生素 C, 50 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,溶于磷酸盐缓冲溶液(0.02 mol/L, pH 值为 7.4,下同)中)。

3)真空包装组(Vacuum 组)。将清洗干净的海参装入耐热聚乙烯(PE)袋(12 cm×17 cm)中,在 50 Pa 条件下进行真空包装。

将以上3组样品放入 60℃ 恒温水浴锅内,分别孵育 0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h。

**1.3.2 质构特性测定** 参照 M. F. Qiao 等<sup>[13]</sup>的方法,略作修改。采用质构仪对不同低温长时间热处理条件下的海参体壁进行质地剖面分析(TPA)和剪切力分析。TPA 测定采用 P50 探头,测试条件如下:测试前、测试中和测试后速率均为 1 mm/s,压缩程度为 70%,停留间隔为 5 s,压缩量为 5 g。剪切力测定

采用 HDP/BS 探头,测试条件如下:测试前、测试中速率均为 1 mm/s,测试后速率为 10 mm/s,停留间隔为 5 s,压缩量为 5 g。相同样品至少平行测定 12 次。

**1.3.3 氧化和热处理胶原纤维样品制备** 参照 Y. X. Liu 等<sup>[14]</sup>的方法提取胶原纤维。将新鲜海参体壁打碎,加入 5 倍体积的去离子水,4 ℃ 条件下磁力搅拌 90 min,于 11 700 r/min 条件下离心 15 min,收集沉淀,重复上述水洗步骤;在所得沉淀中加入 5 倍体积的 0.5 mol/L 冰乙酸,4 ℃ 条件下磁力搅拌 72 h,于 11 700 r/min 条件下离心 15 min,收集沉淀;将沉淀水洗至水洗液的 pH 值为 7 左右,即为胶原纤维。将该胶原纤维按不同氧化和热处理条件分为如下 4 组:

1) 对照组(CON 组)。将 3 g 胶原纤维与 9 mL 磷酸盐缓冲溶液混合,于 4 ℃ 条件下孵育 0 h。

2) 氧化处理组(O 组)。将 3 g 胶原纤维与 9 mL Fenton 溶液混合,于 4 ℃ 条件下分别孵育 0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h。

3) 热处理组(T 组)。将 3 g 胶原纤维与 9 mL 磷酸盐缓冲溶液混合,于 60 ℃ 条件下分别孵育 0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h。

4) 氧化协同热处理组(OT 组)。将 3 g 胶原纤维与 9 mL Fenton 溶液混合,于 60 ℃ 条件下分别孵育 0 h、1 h、3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h。

上述 4 组样品反应完成后,于 4 ℃、11 700 r/min 条件下离心 10 min,将上清液于 -80 ℃ 冻存;取出部分沉淀,直接进行热变性温度测定和微观结构表征,余下沉淀经冷冻干燥后保存。

**1.3.4 热变性温度测定** 参照 M. Zhang 等<sup>[15]</sup>的方法,略作修改。采用 DSC 仪测定胶原纤维的热变性温度。温度范围为 5~80 ℃,升温速率为 1 ℃/min。

**1.3.5 微观结构表征** 采用 SEM,参考 Z. Q. Liu 等<sup>[16]</sup>的方法,略作修改。将胶原纤维修整至 2 mm×2 mm×1 cm,经液氮速冻后转移至冷冻隧道真空室中,于 -80 ℃ 条件下升华 20 min,同时设置温度(SEM 冷阱 -175 ℃、SEM 冷台 -140 ℃、制备室冷阱 -175 ℃、制备室冷台 -140 ℃),氩气喷金 60 s,10 kV 条件下扫描观察并拍照。

**1.3.6 FTIR 测定** 参照 X. F. Dong 等<sup>[17]</sup>方法,略

作修改。取约 0.5 mg 冻干粉,与干燥 KBr 粉末按照质量比 1:100 混合后,研磨均匀,采用透过法进行 FTIR 测定;利用 Peakfit 软件(Systat Software Inc, USA),通过 1700~1600 cm<sup>-1</sup> 的高斯分布拟合计算蛋白质各二级结构的相对含量。

**1.3.7 自由基残留量测定** 参照 M. Zhang 等<sup>[12]</sup>的方法,采用 ESR 仪测定胶原纤维自由基的残留量。取适量冻干粉,放入 5 mm 核磁管中,高度约 1 cm,检测条件如下:微波功率为 6.10 mW,中心磁场为 3450 G,扫描宽度为 160 G,调制频率为 100 kHz。采用 WIN-EPR 软件进行分析,以信号波峰与波谷的差值表示自由基的残留量。

**1.3.8 羰基含量测定** 参照 R. L. Levine 等<sup>[18]</sup>的方法测定上清液中羰基含量。以蛋白质羰基与 DNPH 反应产物的含量为基础进行测定,根据摩尔消光系数 22 mmol/(L·cm) 计算羰基含量,结果以 μmol/g 蛋白质表示。

**1.3.9 游离巯基含量测定** 参照刘鑫鑫等<sup>[19]</sup>的方法测定上清液中游离巯基含量。以游离巯基与 DTNB 反应产物的含量为基础进行测定,结果以 μmol/g 蛋白质表示。

**1.3.10 GAG 溶出量测定** 参照刘义等<sup>[20]</sup>的方法测定上清液中 GAG 溶出量,并以硫酸软骨素为标准品绘制标准曲线。

**1.3.11 羟脯氨酸溶出量测定** 参照 J. F. Yang 等<sup>[21]</sup>的方法测定上清液中羟脯氨酸溶出量,并以 L-羟脯氨酸为标准品绘制标准曲线。

**1.3.12 蛋白质相对分子质量分布测定** 参照董秀芳<sup>[22]</sup>的方法,采用 HPLC 仪测定上清液中蛋白质相对分子质量的分布情况。检测条件如下:进样量为 20 μL;检测波长为 220 nm;流动相为 0.01 mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0.1 mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 缓冲溶液(含质量浓度为 0.001 g/mL 的 SDS);洗脱流速为 0.7 mL/min。保留时间与相对分子质量的对数呈线性相关性,标准曲线为  $y = -0.1666x + 3.8898 (R^2 = 0.9772)$ 。

**1.3.13 氨基酸含量测定** 参照《食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定》(GB 5009.124—2016)<sup>[23]</sup>测定上清液中氨基酸含量。采用自动氨基酸分析仪分析上清液中氨基酸的组成,同时用氨基

酸标准溶液对样品中的氨基酸进行定量,通过峰面积计算得到氨基酸含量。

## 1.4 数据统计与分析

除质构特性测定外,其余实验操作均进行3次平行实验,结果以(平均值±标准差)表示。采用Origin 2022 软件(OriginLab Corporation. MA, USA)绘图,利用SPSS 22.0 软件(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)的单因素方差(Student-Newman-Keuls 模式)进行显著性分析, $P<0.05$ 表示具有显著性差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同低温长时间热处理下海参体壁的质构特性分析

不同低温长时间热处理下海参体壁的质构特性变化如图1所示,其中不同小写字母表示组间差

异显著( $P<0.05$ ),下同。由图1可知,随着热处理时间的延长,各处理组海参体壁的剪切力和硬度整体呈逐渐下降的趋势,下降程度表现为:Fenton 组>Blank 组>Vacuum 组。另外,弹性和回复性均逐渐增加,这表明各组胶原纤维均发生了不同程度的降解。相较于Blank 组,Fenton 组的氧化处理加剧了胶原纤维的降解,而 Vacuum 组的真空无氧处理则延缓了胶原纤维的降解。在低温长时间热处理过程中,除了加热外,氧化也会影响海参体壁的质构特性。氧化会激活内源酶,还会诱导细胞凋亡等生物学现象发生<sup>[24-25]</sup>。因此,为规避内源酶等信号蛋白的作用,下文以海参体壁主要结构单元胶原纤维为研究对象,进一步考查加热和氧化处理对其结构的影响。

### 2.2 胶原纤维热稳定性分析

热变性温度是衡量胶原纤维热稳定性的参数

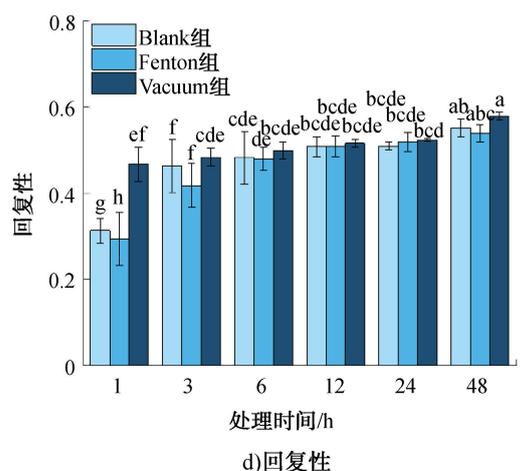
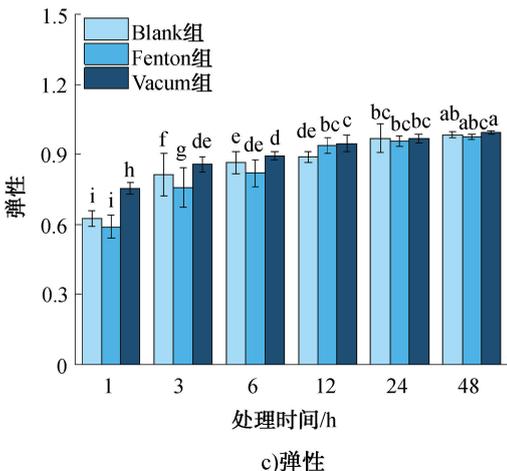
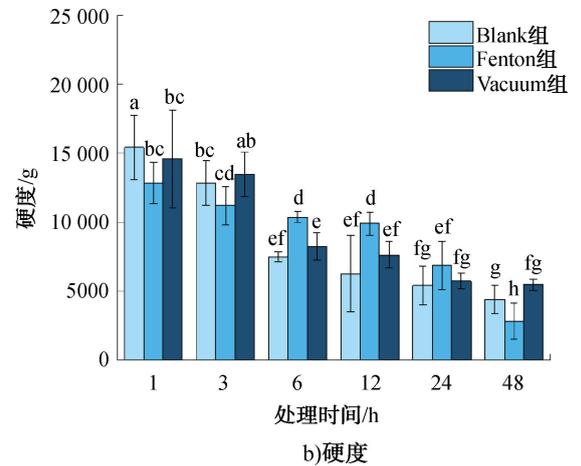
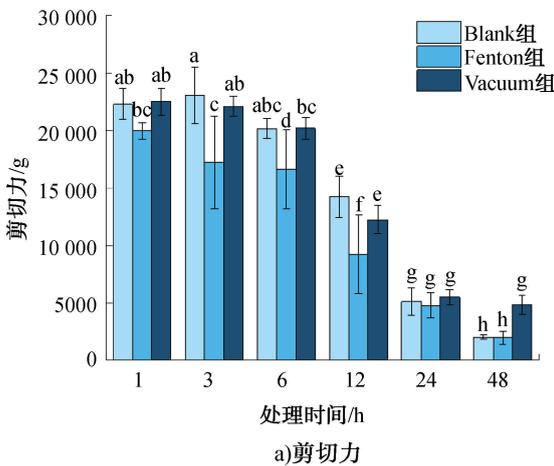


图1 不同低温长时间热处理下海参体壁的质构特性变化

Fig. 1 Changes in texture properties of sea cucumber body wall under different low-temperature long-time thermal treatment

之一,且依据胶原纤维所处层级的不同而存在差异,会随着胶原纤维的降解而降低<sup>[26]</sup>。不同处理条件下胶原纤维的 DSC 曲线如图 2 所示。由图 2 可知,完整胶原纤维(CON 组)的热变性温度为 $(56.81 \pm 0.30)^\circ\text{C}$ ,与前期研究<sup>[27]</sup>相近。随着处理时间的延长,O 组胶原纤维的热变性温度逐渐下降,处理 48 h 时下降至 $(50.78 \pm 0.14)^\circ\text{C}$ ,且峰型变化不大,表明胶原纤维主体结构尚在,氧化处理仅使其完整性和有序性下降。T 组和 OT 组胶原纤维的热变性温度均明显下降,处理 1 h 时迅速下降至 $(43.43 \pm 0.15)^\circ\text{C}$ 和 $(43.79 \pm 0.39)^\circ\text{C}$ ,处理 6~12 h 时基本完全变性,且 OT 组处理 24 h 后,在 15~24  $^\circ\text{C}$  附近出现新的吸热峰,推测其可能为明胶。上述结果表明,氧化处理和热处理均会使胶原纤维降解,热处理还会使胶原纤维发生变性,而氧化协同热处理会进一步增加胶原纤维的变性降解程度,促进海参体壁胶原纤维

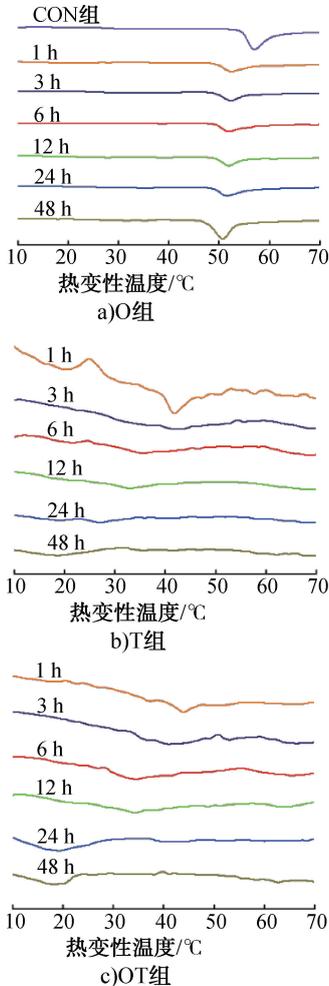


图 2 不同处理条件下胶原纤维的 DSC 曲线  
Fig. 2 DSC curves of collagen fibers under different treatment conditions

发生明胶化。X. Xiong 等<sup>[28]</sup>研究发现,经  $37^\circ\text{C}$  嫩化 6 h 后,海参体壁胶原纤维发生解聚,最高热变性温度由 $(52.75 \pm 0.01)^\circ\text{C}$ 降低至 $(52.00 \pm 0.12)^\circ\text{C}$ ,且其结构发生变化。M. Zhang 等<sup>[15]</sup>研究发现,煮制 20 min 时,海参体壁胶原纤维的结构完整性被破坏,热变性温度由 $(52.90 \pm 0.05)^\circ\text{C}$ 降至 $(42.51 \pm 0.30)^\circ\text{C}$ ,继续煮制到 30 min 时,吸热峰完全消失,胶原蛋白彻底变性。本研究结果与上述研究结果类似。

### 2.3 胶原纤维微观结构分析

不同处理条件下胶原纤维的超微结构(放大 5000 倍)如图 3 所示。由图 3 可知,新鲜海参体壁胶原纤维由胶原原纤维(孔径多为 70~100 nm)紧密排列而成,孔径约为 2~3  $\mu\text{m}$ ,在 SEM 下可观察到周期性的明暗条纹,边界清晰且结构完整<sup>[29]</sup>。随着处理时间的延长,O 组胶原纤维结构的孔径基本不变,蛋白聚糖桥连结构在处理初期(1 h)发生明显降

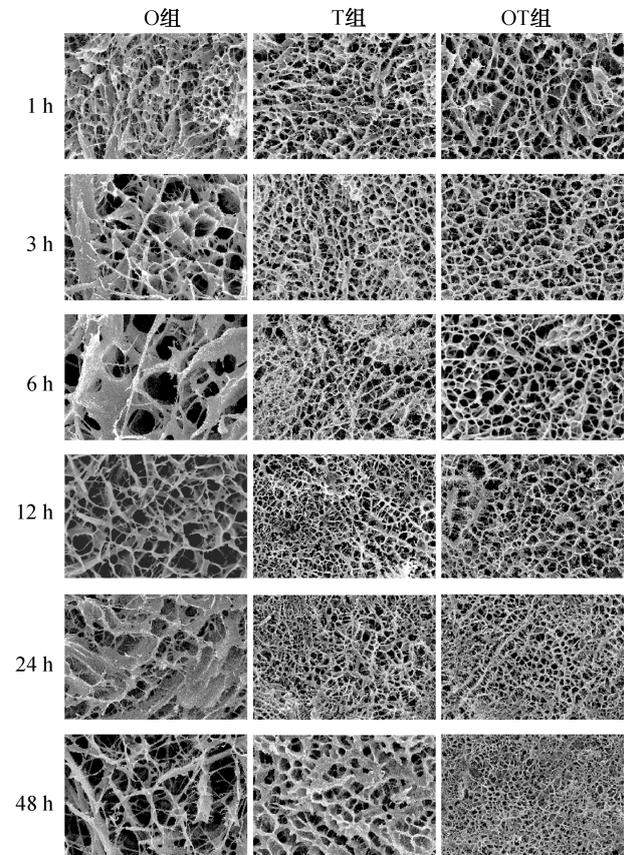


图 3 不同处理条件下胶原纤维的超微结构  
(放大 5000 倍)

Fig. 3 Ultrastructure of collagen fibers under different treatment conditions (magnification  $\times 5000$ )

解,12 h后开始断裂,胶原纤维完整性下降。在处理1 h后,T组的胶原纤维结构孔径开始缩小,随着处理时间的继续延长,胶原纤维结构孔径进一步缩小,且变得杂乱、无序;OT组的蛋白聚糖桥连结构发生明显断裂,随着处理时间的继续延长,胶原纤维结构孔径进一步收缩,且发生破损。上述结果表明,氧化和加热处理均会破坏胶原原纤维之间的蛋白聚糖桥连结构,导致胶原纤维发生解聚和降解,进而降低其稳定性。氧化协同热处理较单一氧化处理和单一热处理效果更为明显,这与胶原纤维热稳定性研究结果一致。M. Zhang等<sup>[15]</sup>研究发现,煮制处理会使海参体壁胶原组织急剧收缩,煮制2 h后,可观察到大量孔径小于10 nm的小丝形成蓬松、致密、带有小孔的海绵状多孔网络,本研究中的海参体壁胶原纤维微观结构与其类似。董秀芳<sup>[22]</sup>在SEM下观察到新鲜海参体壁的真皮层呈多孔的海绵状结构,随着氧化程度的增加,孔隙分布逐渐变得不均匀,胶原纤维间的小孔增多,且包裹孔隙的纤维有断裂。本研究结果与其类似。

## 2.4 胶原纤维蛋白质二级结构分析

胶原蛋白的特征吸收峰主要为酰胺A带(约 $3410\text{ cm}^{-1}$ )、酰胺I带(约 $1659\text{ cm}^{-1}$ )和酰胺III带(约 $1239\text{ cm}^{-1}$ ),分别来自于N—H伸缩振动、多肽链骨架的C=O伸缩振动、C—N伸缩振动和同相N—H弯曲振动。胶原蛋白FTIR谱图中的酰胺I带吸收最强,C=O与相邻基团间形成的氢键能够保持胶原蛋白稳定的三股螺旋结构,因此常选取酰胺I带来反映三螺旋特征结构的变化<sup>[30]</sup>。对酰胺I带进行高斯分布拟合,计算所得蛋白质各二级结构的相对含量见表1。由表1可知,完整胶原纤维(CON组)的 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规则卷曲结构的相对含量分别为(14.57±0.01)%、(37.87±0.01)%、(32.85±0.04)%和(14.71±0.05)%。经氧化和加热处理后, $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角和无规则卷曲结构的相对含量均下降,而 $\beta$ -折叠结构的相对含量有所增加,其中OT组的变化最明显。这表明氧化和加热处理均能导致胶原纤维蛋白质二级结构由有序变为无序,且氧化协同热处理过程中,氧化会促进胶原纤维蛋白质分子之间氢键的断裂或减弱,

表1 不同处理条件下胶原纤维蛋白质各二级结构的相对含量

Table 1 Relative content of each secondary structure of proteins of collagen fibers under different treatment conditions %

组别	$\alpha$ -螺旋	$\beta$ -折叠
CON组	14.57±0.01 <sup>a</sup>	37.87±0.01 <sup>d</sup>
O组-1 h	14.06±0.06 <sup>b</sup>	39.72±0.63 <sup>cd</sup>
T组-1 h	13.52±0.77 <sup>c</sup>	41.86±4.18 <sup>bc</sup>
OT组-1 h	12.41±0.05 <sup>f</sup>	46.12±0.49 <sup>a</sup>
O组-6 h	12.82±0.08 <sup>def</sup>	45.29±0.29 <sup>a</sup>
T组-6 h	13.06±0.05 <sup>cde</sup>	45.02±0.03 <sup>a</sup>
OT组-6 h	12.26±0.01 <sup>f</sup>	47.41±0.03 <sup>a</sup>
O组-48 h	13.25±0.11 <sup>cd</sup>	43.89±0.35 <sup>ab</sup>
T组-48 h	12.65±0.22 <sup>ef</sup>	46.10±1.06 <sup>a</sup>
OT组-48 h	12.57±0.09 <sup>ef</sup>	47.32±0.29 <sup>a</sup>
组别	$\beta$ -转角	无规则卷曲结构
CON组	32.85±0.04 <sup>a</sup>	14.71±0.05 <sup>a</sup>
O组-1 h	31.89±0.61 <sup>a</sup>	14.33±0.07 <sup>b</sup>
T组-1 h	30.85±2.90 <sup>ab</sup>	13.77±0.52 <sup>c</sup>
OT组-1 h	28.79±0.52 <sup>bc</sup>	12.68±0.11 <sup>ef</sup>
O组-6 h	28.89±0.19 <sup>bc</sup>	13.00±0.02 <sup>de</sup>
T组-6 h	28.77±0.14 <sup>bc</sup>	13.16±0.07 <sup>d</sup>
OT组-6 h	27.92±0.19 <sup>c</sup>	12.41±0.23 <sup>f</sup>
O组-48 h	29.46±0.26 <sup>bc</sup>	13.40±0.02 <sup>d</sup>
T组-48 h	28.89±0.71 <sup>bc</sup>	12.35±0.12 <sup>f</sup>
OT组-48 h	27.55±0.21 <sup>c</sup>	12.55±0.16 <sup>f</sup>

注:同列不同小写字母表示组间差异显著( $P<0.05$ ),下同。

破坏胶原分子三螺旋结构,使胶原纤维结构的稳定性下降,进而导致结构发生更高层次的变化,如蛋白质聚集、交联等。Z. Y. Wang等<sup>[31]</sup>研究发现,在空气炸、烘烤等热处理过程中,随着热处理温度的升高,扇贝内收肌蛋白质的二级结构从 $\alpha$ -螺旋向 $\beta$ -折叠逐渐转变,本研究结果与其类似。

## 2.5 胶原纤维氧化程度分析

在低温长时间热处理过程中,蛋白质侧链上的氨基酸易被氧化为羰基,导致羰基含量增加,而游离巯基受氧化脱氢作用生成二硫键,导致游离巯基含量下降;同时,胶原纤维提供的未成对电子会和氧自由基而被氧化,导致自身未成对电子减少<sup>[32-33]</sup>。因此,羰基含量、游离巯基含量和自由基残留量通常用来表征蛋白质的氧化程度。不同处理条件下胶原纤维自由基残留量、羰基含量和游离巯基含量的变化如图4所示。由图4a)可知,T组自

由基残留量最多;随着处理时间的延长,各处理组的自由基残留量均逐渐降低,处理 12 h 后,O 组和 OT 组自由基残留量的下降速率均变缓,其中 OT 组的自由基残留量始终最低。这表明胶原纤维在低温长时间热处理(T 组)过程中一直在发生轻微的氧化反应,当加入 Fenton 溶液后(O 组和 OT 组),胶原纤维被剧烈氧化,导致自由基残留量大幅降低,且温度升高(OT 组),氧化反应加剧。董秀芳<sup>[22]</sup>研究发现,37 °C 热处理过程中,胶原纤维被剧烈氧化,且随着处理温度的升高,氧化反应加剧,本研究结果与其类似。由图 4b)和 c)可知,随着处理时间的延长,各处理组的羰基含量均逐渐上升,其中 OT 组上升最明显,48 h 后达到(169.60±5.09) μmol/g 蛋白质;游离巯基含量均逐渐下降,处理 48 h 后,OT 组的游离巯基含量最低,为(31.25±0.11) μmol/g 蛋白质。上述结果表明,胶原纤维蛋白的氧化程度与处理时间呈线性相关关系,但不同处理条件会导致蛋白质氧化程度不同。氧化和热处理均能诱导自由基和活性氧(ROS)的产生,二者既会攻击海参胶原纤维的氨基酸侧链,形成羰基<sup>[32]</sup>,也会攻击蛋白质肽键,引起肽链断裂,导致海参胶原纤维发生降解。R. F. Feng 等<sup>[34]</sup>研究发现,鳙鱼鱼肉蛋白质的氧化程度会随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的增加而加剧,表现为鳙鱼鱼片肌原纤维中羰基含量升高和巯基含量降低。本研究结果与其类似。

## 2.6 胶原纤维降解程度分析

完整的胶原纤维由不可溶的具有三股螺旋结构的胶原蛋白构成,胶原纤维发生降解后,胶原蛋

白三股螺旋结构被破坏,其降解产物具有水溶性<sup>[35]</sup>。羟脯氨酸是胶原蛋白的特征氨基酸,GAG 是胶原纤维内蛋白聚糖桥连结构的特征成分,二者的溶出能够证明胶原蛋白和蛋白聚糖桥连结构的降解及胶原纤维内胶原原纤维的解聚,进而表征胶原纤维被降解的程度<sup>[36]</sup>。因此,通过测定水溶性降解产物中羟脯氨酸溶出量、GAG 溶出量、蛋白质相对分子质量分布和氨基酸含量,可探究不同处理条件下胶原纤维的降解程度。不同处理条件下羟脯氨酸溶出量、GAG 溶出量、蛋白质相对分子质量分布和特征氨基酸含量如图 5、表 2—表 4 所示。由图 5a)和 b)可知,不同处理组的羟脯氨酸溶出量和 GAG 溶出量均随着处理时间的延长呈上升趋势,其中 O 组上升幅度最小,这可能是由于蛋白质发生轻微降解,未发生变性;处理 48 h 后,T 组和 OT 组的羟脯氨酸溶出量和 GAG 溶出量均显著增加,表明蛋白质变性和降解对胶原纤维结构的破坏较明显,且氧化会加剧胶原纤维的降解程度,这与 SEM 观察到的结果一致。Y. Z. Huang 等<sup>[37]</sup>研究发现,在低温热处理过程中,海参体壁胶原蛋白和 GAG 的溶出量均随着处理时间的延长逐渐增加,本研究结果与其类似。由图 5c)可知,随着处理时间的延长,各处理组的吸收峰面积均不断增大,溶出物逐渐增多。O 组溶出物主要以 10 kDa(18 min)左右的蛋白质为主,且随着处理时间的延长缓慢增加;还含有部分 230 kDa(9 min)、25 kDa(15 min)和 4 kDa(20 min)的蛋白质。T 组和 OT 组的蛋白质相对分子质量主要为 10(18 min)~4 kDa(20 min),大分子蛋白质含量极

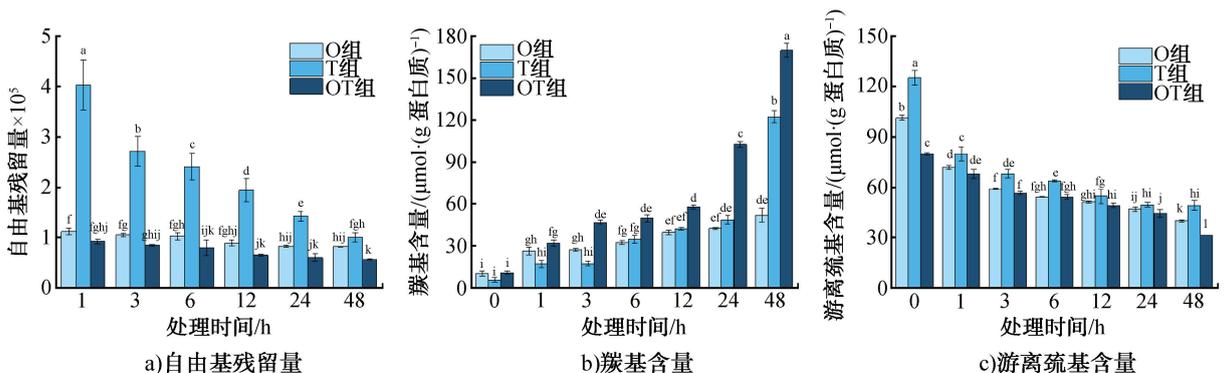


图 4 不同处理条件下胶原纤维自由基残留量、羰基含量和游离巯基含量的变化

Fig. 4 Changes in free radicals residue, dissolution of carbonyl and free sulfhydryl of collagen fibers under different treatment conditions

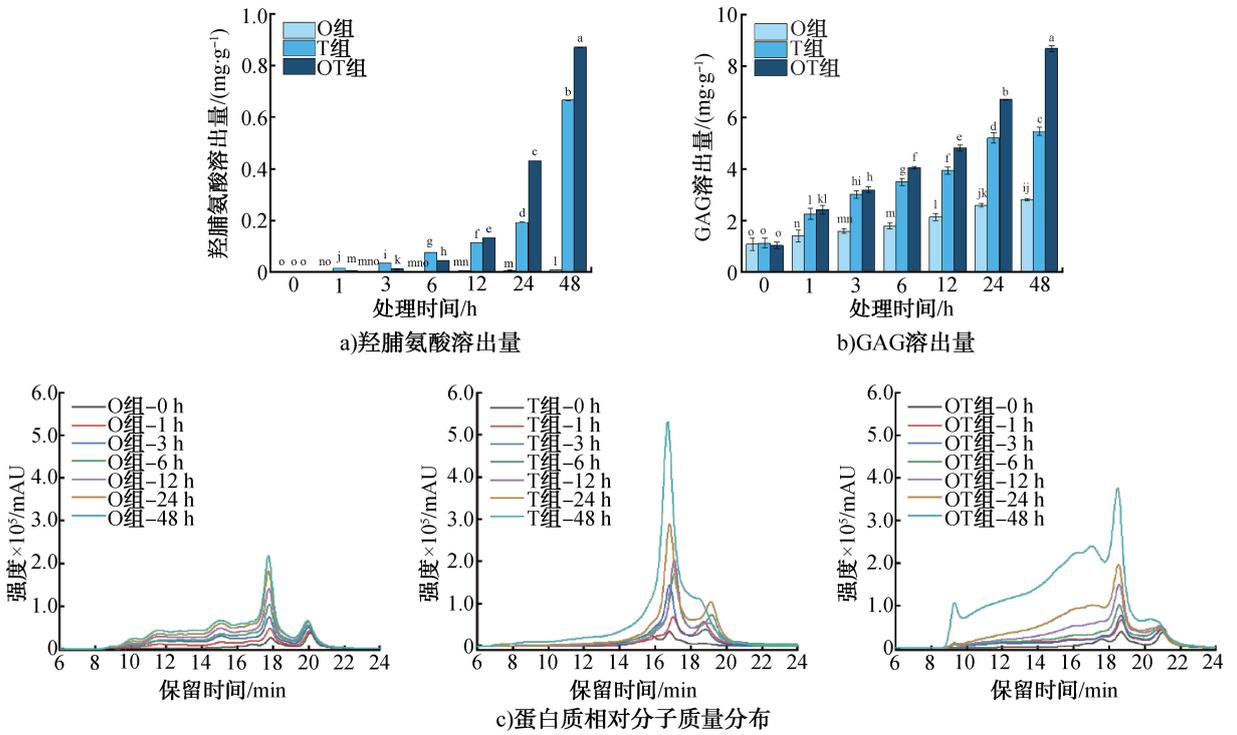


图5 不同处理条件下胶原纤维羟脯氨酸溶出量、GAG溶出量和蛋白质相对分子质量分布  
 Fig. 5 Dissolution of hydroxyproline and GAG, proteins relative molecular mass distribution of collagen fibers under different treatment conditions

表2 氧化处理下胶原纤维的水溶性氨基酸含量

Table 2 Water-soluble amino acid content of collagen fibers under oxidative treatment mg/g 蛋白质

组别	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	缬氨酸	异亮氨酸
O组-0 h	0.17±0.02 <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>f</sup>	0.08±0.01 <sup>e</sup>	0.18±0.02 <sup>e</sup>	0.05±0.02 <sup>f</sup>	0.14±0.02 <sup>d</sup>	0.10±0.01 <sup>e</sup>	0.03±0.00 <sup>f</sup>
O组-1 h	0.3±0.03 <sup>d</sup>	0.09±0.01 <sup>f</sup>	0.11±0.01 <sup>e</sup>	0.32±0.03 <sup>e</sup>	0.10±0.00 <sup>e</sup>	0.21±0.02 <sup>d</sup>	0.22±0.02 <sup>e</sup>	0.04±0.00 <sup>f</sup>
O组-3 h	1.77±0.16 <sup>e</sup>	0.62±0.03 <sup>e</sup>	0.55±0.06 <sup>d</sup>	1.47±0.13 <sup>d</sup>	0.41±0.02 <sup>d</sup>	0.64±0.07 <sup>e</sup>	0.84±0.08 <sup>d</sup>	0.29±0.01 <sup>e</sup>
O组-6 h	2.11±0.19 <sup>e</sup>	0.75±0.04 <sup>d</sup>	0.64±0.07 <sup>d</sup>	1.72±0.16 <sup>d</sup>	0.45±0.02 <sup>d</sup>	0.72±0.07 <sup>e</sup>	0.97±0.09 <sup>d</sup>	0.38±0.02 <sup>d</sup>
O组-12 h	2.98±0.27 <sup>b</sup>	1.08±0.05 <sup>e</sup>	0.93±0.10 <sup>e</sup>	2.46±0.22 <sup>e</sup>	0.67±0.03 <sup>e</sup>	0.97±0.10 <sup>b</sup>	1.34±0.12 <sup>c</sup>	0.58±0.03 <sup>c</sup>
O组-24 h	3.33±0.30 <sup>b</sup>	1.26±0.06 <sup>b</sup>	1.07±0.11 <sup>b</sup>	2.82±0.26 <sup>b</sup>	0.73±0.04 <sup>b</sup>	1.07±0.11 <sup>b</sup>	1.53±0.14 <sup>b</sup>	0.68±0.03 <sup>b</sup>
O组-48 h	3.84±0.35 <sup>a</sup>	1.48±0.07 <sup>a</sup>	1.23±0.13 <sup>a</sup>	3.24±0.29 <sup>a</sup>	0.83±0.04 <sup>a</sup>	1.21±0.12 <sup>a</sup>	1.73±0.16 <sup>a</sup>	0.79±0.04 <sup>a</sup>
组别	亮氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	合计	
O组-0 h	0.07±0.01 <sup>e</sup>	0.05±0.00 <sup>e</sup>	0.05±0.01 <sup>d</sup>	0.02±0.00 <sup>e</sup>	0.04±0.00 <sup>d</sup>	0.05±0.00 <sup>e</sup>	1.01±0.07 <sup>f</sup>	
O组-1 h	0.08±0.01 <sup>e</sup>	0.02±0.00 <sup>e</sup>	0.11±0.01 <sup>d</sup>	0.08±0.00 <sup>e</sup>	0.09±0.01 <sup>d</sup>	0.07±0.01 <sup>e</sup>	1.76±0.13 <sup>f</sup>	
O组-3 h	0.56±0.06 <sup>d</sup>	0.03±0.00 <sup>e</sup>	0.50±0.05 <sup>e</sup>	0.22±0.01 <sup>d</sup>	0.59±0.06 <sup>e</sup>	0.44±0.04 <sup>d</sup>	8.93±0.63 <sup>e</sup>	
O组-6 h	0.74±0.08 <sup>e</sup>	0.04±0.00 <sup>e</sup>	0.59±0.06 <sup>e</sup>	0.31±0.01 <sup>e</sup>	0.70±0.07 <sup>e</sup>	0.49±0.04 <sup>d</sup>	10.60±0.74 <sup>d</sup>	
O组-12 h	1.08±0.11 <sup>b</sup>	0.05±0.01 <sup>e</sup>	0.82±0.08 <sup>b</sup>	0.57±0.03 <sup>b</sup>	0.98±0.10 <sup>b</sup>	0.72±0.07 <sup>e</sup>	15.23±1.16 <sup>c</sup>	
O组-24 h	1.23±0.13 <sup>b</sup>	0.18±0.01 <sup>b</sup>	0.92±0.10 <sup>b</sup>	0.65±0.03 <sup>b</sup>	1.10±0.11 <sup>b</sup>	0.84±0.08 <sup>b</sup>	17.42±1.16 <sup>b</sup>	
O组-48 h	1.40±0.14 <sup>a</sup>	0.73±0.03 <sup>a</sup>	1.07±0.11 <sup>a</sup>	0.59±0.03 <sup>a</sup>	1.27±0.13 <sup>a</sup>	1.01±0.09 <sup>a</sup>	20.42±1.32 <sup>a</sup>	

少,这可能是由于热处理导致大分子蛋白质发生降解,且氧化会促进热处理过程中蛋白质的溶出。由表2—表4可知,各处理组中水溶性氨基酸总量随着处理时间的延长而增加,这进一步证实了水溶性蛋白质的释放。其中,甘氨酸(Gly)是胶原蛋白的主要氨基酸,其在胶原蛋白超螺旋结构的形成中具

有重要作用<sup>[38]</sup>,其次是谷氨酸(Glu)和脯氨酸(Pro)<sup>[39]</sup>。苏氨酸(Thr)、组氨酸(His)、脯氨酸(Pro)和赖氨酸(Lys)的侧链易发生氧化形成羰基衍生物<sup>[40]</sup>,这4种氨基酸含量的变化趋势与羰基含量的变化规律保持一致。此外,相同处理时间下,水溶性氨基酸总量的大小依次为:OT组>T组>O

表3 热处理下胶原纤维的水溶性氨基酸含量

Table 3 Water-soluble amino acid content of collagen fibers under thermal treatment mg/g 蛋白质

组别	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	缬氨酸	异亮氨酸
T组-0 h	0.20±0.02 <sup>f</sup>	0.08±0.00 <sup>f</sup>	0.16±0.02 <sup>f</sup>	0.28±0.03 <sup>f</sup>	0.10±0.002 <sup>g</sup>	0.17±0.02 <sup>f</sup>	0.11±0.01 <sup>f</sup>	0.03±0.00 <sup>e</sup>
T组-1 h	2.90±0.26 <sup>e</sup>	1.15±0.05 <sup>e</sup>	1.00±0.10 <sup>e</sup>	2.54±0.23 <sup>e</sup>	0.79±0.04 <sup>f</sup>	1.10±0.11 <sup>ef</sup>	1.40±0.13 <sup>e</sup>	0.52±0.02 <sup>d</sup>
T组-3 h	3.17±0.29 <sup>e</sup>	1.17±0.06 <sup>e</sup>	1.03±0.11 <sup>e</sup>	3.10±0.28 <sup>e</sup>	1.74±0.08 <sup>e</sup>	1.59±0.16 <sup>e</sup>	1.35±0.12 <sup>e</sup>	0.55±0.03 <sup>d</sup>
T组-6 h	5.15±0.47 <sup>d</sup>	1.96±0.09 <sup>d</sup>	1.74±0.18 <sup>d</sup>	5.32±0.48 <sup>d</sup>	3.22±0.15 <sup>d</sup>	2.67±0.28 <sup>d</sup>	2.16±0.20 <sup>d</sup>	0.96±0.05 <sup>c</sup>
T组-12 h	6.95±0.63 <sup>e</sup>	2.55±0.12 <sup>e</sup>	2.34±0.24 <sup>e</sup>	7.61±0.69 <sup>e</sup>	5.68±0.27 <sup>e</sup>	4.09±0.42 <sup>e</sup>	2.71±0.25 <sup>e</sup>	1.30±0.06 <sup>b</sup>
T组-24 h	9.42±0.86 <sup>b</sup>	3.38±0.16 <sup>b</sup>	3.20±0.33 <sup>b</sup>	10.55±0.90 <sup>b</sup>	7.59±0.36 <sup>b</sup>	7.43±0.77 <sup>b</sup>	3.48±0.32 <sup>b</sup>	1.21±0.06 <sup>b</sup>
T组-48 h	13.79±1.25 <sup>a</sup>	4.91±0.23 <sup>a</sup>	4.85±0.50 <sup>a</sup>	16.28±1.48 <sup>a</sup>	10.26±0.49 <sup>a</sup>	12.3±1.27 <sup>a</sup>	4.65±0.42 <sup>a</sup>	2.69±0.13 <sup>a</sup>
组别	亮氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	合计	
T组-0 h	0.06±0.01 <sup>e</sup>	0.05±0.03 <sup>g</sup>	0.07±0.01 <sup>e</sup>	0.04±0.00 <sup>f</sup>	0.06±0.01 <sup>f</sup>	0.42±0.04 <sup>f</sup>	1.40±0.09 <sup>g</sup>	
T组-1 h	0.94±0.10 <sup>d</sup>	1.01±0.05 <sup>f</sup>	0.91±0.09 <sup>d</sup>	0.28±0.01 <sup>e</sup>	1.01±0.10 <sup>e</sup>	0.78±0.07 <sup>e</sup>	16.32±1.03 <sup>f</sup>	
T组-3 h	0.88±0.09 <sup>d</sup>	0.81±0.04 <sup>e</sup>	0.85±0.09 <sup>d</sup>	0.25±0.01 <sup>e</sup>	1.39±0.14 <sup>e</sup>	1.27±0.12 <sup>e</sup>	19.15±1.18 <sup>e</sup>	
T组-6 h	1.49±0.15 <sup>e</sup>	1.29±0.06 <sup>d</sup>	1.17±0.12 <sup>e</sup>	0.35±0.02 <sup>d</sup>	2.48±0.26 <sup>d</sup>	2.25±0.21 <sup>d</sup>	32.21±1.97 <sup>d</sup>	
T组-12 h	1.90±0.20 <sup>b</sup>	1.47±0.07 <sup>e</sup>	1.32±0.14 <sup>e</sup>	0.39±0.02 <sup>e</sup>	3.72±0.38 <sup>e</sup>	3.57±0.32 <sup>e</sup>	45.61±2.73 <sup>e</sup>	
T组-24 h	2.14±0.22 <sup>b</sup>	1.84±0.09 <sup>b</sup>	1.63±0.17 <sup>b</sup>	0.49±0.02 <sup>b</sup>	5.42±0.56 <sup>b</sup>	5.14±0.47 <sup>b</sup>	62.90±3.95 <sup>b</sup>	
T组-48 h	3.37±0.35 <sup>a</sup>	2.41±0.11 <sup>a</sup>	2.10±0.22 <sup>a</sup>	0.63±0.03 <sup>a</sup>	9.16±0.94 <sup>a</sup>	8.61±0.78 <sup>a</sup>	96.00±6.22 <sup>a</sup>	

表4 氧化协同热处理下胶原纤维的水溶性氨基酸含量

Table 4 Water-soluble amino acid content of collagen fibers under oxidative synergistic thermal treatment mg/g 蛋白质

组别	天冬氨酸	苏氨酸	丝氨酸	谷氨酸	甘氨酸	丙氨酸	缬氨酸	异亮氨酸
OT组-0 h	0.46±0.04 <sup>g</sup>	0.15±0.01 <sup>g</sup>	0.17±0.02 <sup>g</sup>	0.45±0.04 <sup>g</sup>	0.19±0.01 <sup>g</sup>	0.24±0.02 <sup>f</sup>	0.19±0.02 <sup>g</sup>	0.05±0.01 <sup>f</sup>
OT组-1 h	2.93±0.27 <sup>f</sup>	1.04±0.05 <sup>f</sup>	0.93±0.1 <sup>f</sup>	2.47±0.22 <sup>f</sup>	0.80±0.04 <sup>f</sup>	1.08±0.11 <sup>e</sup>	1.35±0.12 <sup>f</sup>	0.46±0.02 <sup>e</sup>
OT组-3 h	3.62±0.33 <sup>e</sup>	1.58±0.14 <sup>e</sup>	1.17±0.10 <sup>e</sup>	3.24±0.27 <sup>e</sup>	1.27±0.04 <sup>e</sup>	1.45±0.15 <sup>e</sup>	1.66±0.10 <sup>e</sup>	0.77±0.08 <sup>d</sup>
OT组-6 h	5.07±0.29 <sup>d</sup>	2.13±0.15 <sup>d</sup>	1.63±0.13 <sup>d</sup>	4.73±0.35 <sup>d</sup>	2.62±0.18 <sup>d</sup>	2.21±0.19 <sup>d</sup>	2.17±0.16 <sup>d</sup>	1.08±0.09 <sup>d</sup>
OT组-12 h	7.13±0.45 <sup>e</sup>	2.85±0.18 <sup>e</sup>	2.30±0.19 <sup>e</sup>	7.19±0.54 <sup>e</sup>	5.48±0.34 <sup>e</sup>	3.58±0.42 <sup>e</sup>	2.71±0.18 <sup>e</sup>	1.49±0.12 <sup>e</sup>
OT组-24 h	12.83±0.19 <sup>b</sup>	5.05±0.06 <sup>b</sup>	4.53±0.02 <sup>b</sup>	14.88±0.04 <sup>b</sup>	11.59±0.22 <sup>b</sup>	8.97±0.22 <sup>b</sup>	4.14±0.01 <sup>b</sup>	2.41±0.49 <sup>b</sup>
OT组-48 h	28.76±0.03 <sup>a</sup>	10.45±0.34 <sup>a</sup>	12.13±0.22 <sup>a</sup>	36.33±0.39 <sup>a</sup>	10.41±0.09 <sup>a</sup>	20.79±0.5 <sup>a</sup>	8.34±0.15 <sup>a</sup>	3.92±0.03 <sup>a</sup>
组别	亮氨酸	苯丙氨酸	赖氨酸	组氨酸	精氨酸	脯氨酸	合计	
OT组-0 h	0.06±0.01 <sup>g</sup>	0.03±0.04 <sup>e</sup>	0.13±0.01 <sup>g</sup>	0.2±0.01 <sup>g</sup>	0.14±0.01 <sup>f</sup>	0.12±0.01 <sup>f</sup>	2.38±0.17 <sup>g</sup>	
OT组-1 h	1.00±0.10 <sup>f</sup>	0.06±0.00 <sup>e</sup>	0.81±0.08 <sup>f</sup>	0.4±0.02 <sup>f</sup>	0.98±0.10 <sup>e</sup>	0.75±0.07 <sup>e</sup>	15.05±1.04 <sup>f</sup>	
OT组-3 h	1.28±0.12 <sup>e</sup>	0.09±0.01 <sup>e</sup>	0.99±0.08 <sup>e</sup>	0.78±0.06 <sup>e</sup>	1.24±0.13 <sup>e</sup>	0.99±0.15 <sup>e</sup>	20.13±1.76 <sup>e</sup>	
OT组-6 h	1.67±0.12 <sup>d</sup>	0.34±0.02 <sup>d</sup>	1.23±0.09 <sup>d</sup>	0.90±0.07 <sup>d</sup>	1.93±0.15 <sup>d</sup>	1.61±0.06 <sup>d</sup>	29.32±2.03 <sup>d</sup>	
OT组-12 h	2.02±0.17 <sup>e</sup>	1.37±0.10 <sup>e</sup>	1.43±0.11 <sup>e</sup>	0.66±0.05 <sup>e</sup>	3.33±0.31 <sup>e</sup>	3.12±0.21 <sup>e</sup>	44.66±3.38 <sup>e</sup>	
OT组-24 h	3.11±0.21 <sup>b</sup>	2.57±0.01 <sup>b</sup>	1.89±0.01 <sup>b</sup>	0.55±0.01 <sup>b</sup>	8.22±0.04 <sup>b</sup>	7.70±0.01 <sup>b</sup>	88.43±0.69 <sup>b</sup>	
OT组-48 h	5.60±0.09 <sup>a</sup>	4.38±0.10 <sup>a</sup>	3.05±0.07 <sup>a</sup>	1.28±0.04 <sup>a</sup>	22.8±0.43 <sup>a</sup>	21.54±0.35 <sup>a</sup>	189.77±2.17 <sup>a</sup>	

组,表明相较于单一氧化处理,热处理对胶原蛋白的降解作用更大,且氧化可促进热处理过程中蛋白质的降解程度,这与SEM观察到的结果一致。M. M. Yu等<sup>[41]</sup>研究发现,在80℃煮制条件下,随着煮制时间的延长(30 min和240 min),鲍鱼水溶性组分中的氨基酸含量显著增加,本研究结果与其类似。

### 3 结论

本研究以新鲜海参为研究对象,考查低温长时间热处理过程中氧化和加热对海参体壁胶原组织

质构特性的影响;进一步从新鲜海参体壁中提取完整的胶原纤维,探究了低温长时间热处理过程中氧化处理、热处理及氧化协同热处理对胶原纤维结构的影响,得到如下结论:单一氧化处理对胶原纤维仅有氧化降解作用;单一热处理会使胶原纤维发生氧化、变性、降解等变化;氧化协同热处理不仅能促进热处理对胶原纤维的氧化程度,还能加剧低温长时间热处理过程中蛋白质的变性程度,表现为胶原纤维热稳定性降低并进一步发生降解,羟脯氨酸、GAG、氨基酸等小分子溶出物增多。本研究揭示了

低温长时间热处理过程中氧化和加热对海参胶原纤维结构的影响规律,即氧化协同热处理可使胶原纤维发生氧化、变性、聚集、降解等变化,进而影响海参体壁的质构特性。未来将利用蛋白质组学技术进一步研究海参胶原纤维结构变化的分子机制,为确保低温长时间热处理海参制品的品质提供更深层次、更全面的理论依据。

## 参考文献:

- [1] MAIER M S, ROCCATAGLIATA A J, KURISS A, et al. Two new cytotoxic and virucidal trisulfated triterpene glycosides from the Antarctic sea cucumber *Staurocucumis liouvillei* [J]. *Journal of Natural Products*, 2001, 64(6): 732-736.
- [2] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴: 2023 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2023.
- [3] LIU Z Q, LIU Y X, ZHOU D Y, et al. The role of matrix metalloprotease (MMP) to the autolysis of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(13): 5752-5759.
- [4] 杨青. 真空低温即食海参冻干片工艺研究 [D]. 烟台: 烟台大学, 2021.
- [5] ZHANG Q, LIU R, GEIRSDÓTTIR M, et al. Thermal-induced autolysis enzymes inactivation, protein degradation and physical properties of sea cucumber, *Cucumaria frondosa* [J]. *Processes*, 2022, 10(5): 847.
- [6] DOMINGUEZ-HERNANDEZ E, SALASEVICIENE A, ERTBJERG P. Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms [J]. *Meat Science*, 2018, 143: 104-113.
- [7] LATORRE M E, PALACIO M I, VELÁZQUEZ D E, et al. Specific effects on strength and heat stability of intramuscular connective tissue during long time low temperature cooking [J]. *Meat Science*, 2019, 153: 109-116.
- [8] 葛小通, 王红丽, 尹明雨, 等. 冷冻即食海参质构特性指标的相关性研究 [J]. *中国食品学报*, 2023, 23(1): 326-334.
- [9] HE B Y, FENG D D, JIANG D, et al. studies on quality and physicochemical properties of sea cucumber *stichopus japonicus* during low temperature treatment [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(6): 134-140.
- [10] RIBEIRO A R, BARBAGLIO A, BENEDETTO C D, et al. New insights into mutable collagenous tissue: Correlations between the microstructure and mechanical state of a sea-urchin ligament [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e24822.
- [11] LEWIS P N, PINALI C, YOUNG R D, et al. Structural interactions between collagen and proteoglycans are elucidated by three-dimensional electron tomography of bovine cornea [J]. *Structure*, 2010, 18(2): 239-245.
- [12] ZHANG M, LIU Y X, JIN M L, et al. The effect of heat treatment on the digestion and absorption properties of protein in sea cucumber body wall [J]. *Foods*, 2023, 12(15): 2896.
- [13] QIAO M F, YI Y W, PENG Y Q, et al. Impact of cooking time and methods on the color, texture, and flavor of Chinese prickly ash [J]. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 2018, 18(1): 56-62.
- [14] LIU Y X, ZHOU D Y, MA D D, et al. Effects of endogenous cysteine proteinases on structures of collagen fibres from dermis of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) [J]. *Food Chemistry*, 2017, 232: 10-18.
- [15] ZHANG M, LIU Y X, ZHAO G H, et al. Studying on effects of boiling on texture, microstructure and physicochemical properties of sea cucumber body wall and its mechanism using second harmonic generation (SHG) microscopy [J]. *Food Chemistry*, 2023, 400: 134055.
- [16] LIU Z Q, LI D Y, SONG L, et al. Effects of proteolysis and oxidation on mechanical properties of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) during thermal processing and storage and their control [J]. *Food Chemistry*, 2020, 330: 127248.
- [17] DONG X F, HE B Y, JIANG D, et al. Proteome analysis reveals the important roles of protease during tenderization of sea cucumber *Apostichopus japonicus* using iTRAQ [J]. *Food Research International*, 2020, 131: 108632.
- [18] LEVINE R L, GARLAND D, OLIVER C N, et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins [M] // *Methods in Enzymology*. Amsterdam: Elsevier, 1990: 464-478.
- [19] 刘鑫鑫, 陈彧, 陈徐欢, 等. 生姜提取物对鱿鱼肌原纤维蛋白氧化的影响 [J]. *中国食品学报*, 2021, 21(9): 225-232.
- [20] 刘义, 钱和. 1, 9-二甲基亚甲基蓝光度法测定海参糖胺聚糖 [J]. *分析试验室*, 2005, 24(6): 59-61.
- [21] YANG J F, GAO R C, WU H T, et al. Analysis of apoptosis in ultraviolet-induced sea cucumber (*Stichopus japonicus*) melting using terminal Deoxynucleotidyl-Transferase-mediated dUTP nick end-Labeling assay and cleaved Caspase-3 immunohistochemistry [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(43): 9601-9608.
- [22] 董秀芳. 低温辅助内源酶主导的海参嫩化分子机理研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2019.
- [23] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定: GB 5009.124—2016 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [24] 张佳莹, 余群力, 韩玲, 等. 溶酶体组织蛋白酶参与宰后牛肉 AIF 介导细胞凋亡研究 [J]. *农业机械学报*, 2018, 49(3): 354-360.
- [25] 岳建伟, 师希雄, 孙金龙, 等. 宰后成熟过程中活性氧介导的氧化应激对肉品质的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(2): 247-251.

- [26] ZHU L L, SUN X, FAN Y, et al. Effect of Gallic acid and chlorogenic acid on physicochemical, microstructural and thermal degradation properties of ready-to-eat sea cucumber[J]. Food Chemistry, 2022, 380:132186.
- [27] TIKTOPULO E I, KAJAVA A V. Denaturation of type I collagen fibrils is an endothermic process accompanied by a noticeable change in the partial heat capacity [J]. Biochemistry, 1998, 37(22):8147-8152.
- [28] XIONG X, XIE W C, XIE J W, et al. Protein oxidation results in textural changes in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) during tenderization [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 144:111231.
- [29] GAUTIERI A, VESENTINI S, REDAELLI A, et al. Hierarchical structure and nanomechanics of collagen microfibrils from the atomistic scale up[J]. Nano Letters, 2011, 11(2):757-766.
- [30] SONG X, SI L L, SUN X, et al. Rheological properties, thermal stability and conformational changes of collagen from sea cucumber (*Apostichopus japonicas*) [J]. Food Chemistry, 2022, 389:133033.
- [31] WANG Z Y, WU Z X, ZHAO G H, et al. Effect of air frying and baking on physicochemical properties and digestive properties of scallop (*Patinopecten yessoensis*) adductor muscle[J]. Food Bioscience, 2023, 52:102460.
- [32] STADTMAN E R, LEVINE R L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins[J]. Amino Acids, 2003, 25(3/4):207-218.
- [33] BAO Y L, ERTBJERG P. Effects of protein oxidation on the texture and water-holding of meat: A review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59(22):3564-3578.
- [34] FENG R F, LIANG W Y, LIU Y Y, et al. Protein oxidation affected the digestibility and modification sites of myofibrillar proteins from bighead carp fillets treated with hydroxyl radicals and endogenous oxidizing system [J]. Food Chemistry, 2023, 409:135279.
- [35] IMBERMAN M, OPPENHEIM F, FRANZBLAU C. The appearance of free hydroxyproline as the major product of degradation of newly synthesized collagen in cell culture [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -General Subjects, 1982, 719(3):480-487.
- [36] LIU Z Q, LI D Y, SONG L, et al. Effects of proteolysis and oxidation on mechanical properties of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) during thermal processing and storage and their control [J]. Food Chemistry, 2020, 330:127248.
- [37] HUANG Y Z, XIE Y S, LI Y X, et al. Quality assessment of variable collagen tissues of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) body wall under different heat treatment durations by label-free proteomics analysis [J]. Food Research International, 2023, 165:112540.
- [38] SONG Z L, LIU H M, CHEN L W, et al. Characterization and comparison of collagen extracted from the skin of the Nile *Tilapia* by fermentation and chemical pretreatment [J]. Food Chemistry, 2021, 340:128139.
- [39] CHEN X H, JIN W G, CHEN D J, et al. Collagens made from giant salamander (*Andrias davidianus*) skin and their odorants [J]. Food Chemistry, 2021, 361:130061.
- [40] YU T Y, MORTON J D, CLERENS S, et al. Cooking-induced protein modifications in meat [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2017, 16(1):141-159.
- [41] YU M M, FAN Y C, ZHANG X R, et al. Effect of boiling on texture of abalone muscles and its mechanism based on proteomic techniques [J]. Food Chemistry, 2022, 388:133014.

## Effects of oxidation and heat on the collagen fibers structure of the sea cucumber body wall during low-temperature long-time thermal treatment

NI Zhong<sup>1</sup>, CHU Pengfei<sup>2</sup>, LIN Ying<sup>1</sup>, LIU Yuxin<sup>1</sup>

1. School of Food Science and Technology/SKL of Marine Food Processing & Safety Control/National Engineering Research Center of Seafood/ Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2. Dandong Yuanyi Seafood Precision Products Co., Ltd., Dandong 118399, China

**Abstract:** Fresh sea cucumber was used as the object to study the effect of oxidation and heat on its texture properties during low-temperature (60 °C) long-time thermal treatment. Then intact collagen fibers were extracted from the fresh sea cucumber body wall, and were subjected to oxidation, thermal treatment and the combination of both. Differential scanning calorimetry (DSC), cryo-scanning electron microscopy (cryo-SEM), fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), electron spin resonance (ESR) were used to study the changes in thermal stability, microstructure, protein secondary structure, and oxidation degree of collagen fibers during low-temperature long-time thermal treatment. The results showed that single oxidation treatment had only oxidative degradation effect on collagen fibers, and single thermal treatment caused oxidation, denaturation, degradation and dissolution of collagen fibers. Oxidative synergistic thermal treatment resulted in more pronounced structural degradation and

(下转第 57 页)

antioxidants (phenolic substances, vitamin C) and antioxidant activities of sprouts were reviewed, and the possible regulatory mechanisms were analyzed. Compared with the same mature vegetables, microgreens contained more bioactive substances such as  $\beta$ -carotene, chlorophyll, phenolic substances and vitamin C, and had higher nutritional value and stronger antioxidant activity. LED light source provided the optimal wavelength matching the absorption spectrum of photoreceptors and photosynthetic pigments (such as chlorophyll and carotenoids) in the plant body, which played a crucial role in optimizing plant growth and development, photosynthesis, and secondary metabolites synthesis, thereby maximizing plant production efficiency. Red-light, blue-light, red-blue combined light, and green-light promoted the synthesis of nutrients and antioxidants, and increased antioxidant activity in microgreens. Future research will focus on the light-quality ratio, LED light coordination with other factors, and the regulatory effect and mechanisms of LED light on the storage and preservation of microgreens, so as to provide theoretical foundation and technical reference for the production, processing, storage, and preservation of microgreens entire industrial chain.

**Key words:** microgreens; light emitting diode (LED); quality control; color; nutrients; antioxidant activity

[责任编辑:杨晓娟]

(上接第 31 页)

destruction of collagen fibers compared to single oxidation or thermal treatment. After one hour of oxidative synergistic thermal treatment, the proteoglycan bridge in collagen fibers was obviously broken. After 24 hours, a new thermal absorption peak appeared near from 15~24 °C, indicating that the collagen fibers was gelatinized. With the prolongation of treatment time, the aperture of collagen fibers network was further contracted and broken. Oxidative synergistic thermal treatment promoted the oxidation degree of collagen fibers by thermal treatment, which resulted in the degradation of macromolecular proteins and the dissolution of soluble substances such as hydroxyproline and glycosaminoglycans (GAG). Therefore, oxidative synergistic thermal treatment can cause oxidation, denaturation, aggregation and degradation of collagen fibers, which in turn affects the textural properties of the sea cucumber body wall.

**Key words:** sea cucumber body wall; collagen fiber; low-temperature long-time thermal treatment; oxidation; texture property

[责任编辑:杨晓娟]