

磷酸化与钙交联处理对刺参胶原聚集体凝胶特性的影响

彭喆, 侯虎, 冯雁临, 蔡诗娴, 黄萌, 张朝辉, 薛长湖, 赵雪, 李八方
(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266003)

摘要: 磷酸化与钙交联是影响刺参胶原聚集体凝胶特性的最重要因素之一。本文通过质构剖面 (TPA) 实验、应力松弛实验、低场核磁、VG 染色等, 研究了磷酸化与钙交联凝胶的质构学特征、水分迁移规律、化学键型变化以及胶原纤维特征的改变。结果表明: 用 2% 三聚磷酸钠进行磷酸化对刺参胶原聚集体的凝胶特性有一定的破坏, 其黏性、咀嚼性、 η_1 、 E_1 与空白组相比发生明显降低, 其结合水含量降低, 自由水含量升高, 水分活度 A_w 明显升高; 而在磷酸化基础上进行 1% CaCl_2 交联则会对刺参胶原聚集体凝胶特性产生明显影响, 其硬度及粘性比磷酸化刺参高, 水分活度降低, 提高了胶原聚集体与水分的结合程度, 增强了凝胶性, 使得胶原纤维结构更加稳定。与高温高压处理相比较, 磷酸化与钙交联处理能够增强刺参胶原聚集体的凝胶特性, 为刺参的加工及改性工艺提供了新途径。

关键词: 刺参; 胶原聚集体; 质构学参数; 核磁; 组织结构

文章编号: 1673-9078(2015)10-190-195

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.032

Effects of Phosphorylation and Calcium Cross-linking on the Gel Properties of Sea Cucumber Collagen Aggregates

PENG Zhe, HOU Hu, FENG Yan-lin, CAI Shi-xian, HUANG meng, ZHANG Zhao-hui, XUE Chang-hu, ZHAO Xue, LI Ba-fang

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

Abstract: Phosphorylation and calcium cross-linking are important factors affecting the gel properties of sea cucumber collagen aggregates. A texture profile analysis (TPA), a stress relaxation experiment, low field nuclear magnetic resonance (LF-NMR), and Van Gieson staining were performed to investigate the textural characteristics, moisture migration, and changes in chemical bonds as well as in the characteristics of collagen fibers of phosphorylated and calcium cross-linked collagen gels. The results showed that phosphorylation with 2% sodium tripolyphosphate adversely affected the gelling properties of sea cucumber collagen aggregates. Compared with the control group, the phosphorylated collagen aggregates had lower viscosity, chewiness, η_1 , E_1 , and bound water content, and higher free water content and water activity (A_w). Calcium crosslinking (with 1% calcium chloride) after phosphorylation had a significant impact on the gelling properties of sea cucumber collagen aggregates, resulting in greater hardness, higher viscosity, and lower A_w . The degree of binding between collagen aggregates and water increased and the gelling properties were enhanced, thus leading to a more stable structure of collagen fibers. Compared with the high pressure and high temperature treatment, the combination of calcium crosslinking and phosphorylation can improve the gelling properties of sea cucumber collagen fibers, and provide a new route for the processing and performances of sea cucumbers.

Key words: sea cucumber; collagen aggregates; TPA parameters; nuclear magnetic resonance; tissue structure

刺参, 属棘皮动物门, 海参纲。刺参体壁是刺参

收稿日期: 2014-12-09

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2014CQ015); 中国博士后面上基金 (2012M511549); 青岛市科技计划应用基础研究项目 (14-2-4-106-jch); 国家高技术研究发展计划 863 计划 (2014AA093508)

作者简介: 彭喆 (1991-), 女, 硕士, 研究方向为海洋生物活性蛋白

通讯作者: 侯虎 (1984-), 男, 博士, 硕士生导师, 研究方向为海洋生物活性蛋白

的主要食用部位, 由上皮组织和真皮结缔组织构成^[1]。在加工过程中, 刺参的组织结构和流变学特性的变化主要由胶原聚集体发生热变性或凝胶化所导致^[2]。而传统的干海参加工方法已经无法使刺参长时间保存 (传统加工方法: 腌渍、反复蒸煮、晒干, 即为成品干参)^[3], 因此, 高新技术如微波干燥技术、真空冷冻干燥技术^[4]、超高压技术等已被应用于刺参制品的加工中。这些加工方法都是对刺参胶原聚集体进行蛋

白质改性,改性的目的是为了能够更好地获取蛋白质营养性质和功能性质^[5]。

目前较为常用的刺参胶原聚集体改性加工方法是高温高压处理,而经过高温高压处理后的刺参,自溶酶已经失去活性,但贮藏过程中仍会发生软化现象,严重阻碍刺参的深加工。因此,采用何种改性加工方法并保持刺参体壁聚集体凝胶特性的研究成为目前亟待解决的问题。常见的蛋白质改性方法有热、压力、磷酸化修饰、金属离子交联处理等。磷酸化改性是在氨基酸侧链中加入磷酸基团,使其发生酯化作用,进而改变蛋白质的活性、构型等^[6]。钙交联使刺参胶原聚集体分子间通过离子键形成钙桥结构,从而形成凝胶网络^[7]。当刺参的胶原聚集体活性、构型以及与其他分子相互作用的能力改变时,其组织结构和流变学特性也会发生极大变化,因此对刺参进行改性处理,进而研究其凝胶软化现象是必要的。

目前对于刺参的研究较为深入,如薛冬梅^[8]等研究了刺参在不同温度(40~100 °C)下组织构造变化及其流变学特性,发现新鲜刺参体壁中胶原纤维含量非常高,且随加热温度的上升,刺参胶原纤维逐渐变性,出现凝结区。然而,对于刺参胶原聚集体变化规律的研究报道很少,关于磷酸化和钙桥交联对刺参胶原聚集体凝胶特性的研究未见报道,有待于进一步研究。

本文分别对刺参进行高温高压、磷酸化、钙交联处理,通过质构分析、水分变化分析、组织染色及羟脯氨酸等指标的测量,研究了处理前后刺参胶原聚集体凝胶特性的变化,为刺参加工及改性工艺提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜刺参(质量 100±10 g),购于青岛南山水产市场;2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)购于Sigma公司;光谱纯溴化钾(KBr)购于国药集团化学试剂有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

NMI20核磁共振成像分析仪,上海纽迈电子科技有限公司生产;HD-3A型智能水分活度测量仪,无锡市华科仪器仪表有限公司;TMS-PRO质构仪,美国FTC公司。

1.3 试验方法

1.3.1 样品预处理

将刺参洗净去内脏后分成7组,CK(control check)组为空白对照组,其余进行如下处理:G组120 °C高温高压处理15 min;P组加入2%三聚磷酸钠,料液比为1:20,在温度80 °C、pH 9.0条件下反应180 min;PG组在P组基础上,高温高压处理15 min;PC组在P组基础上,用1% CaCl₂交联18h;PCG组在PC组基础上,高温高压处理15 min。

1.3.2 质构剖面(TPA)分析试验

用整只刺参(质量 100±10g)作为样品进行TPA的测量,用圆柱型探头(直径4 mm,下行速度50 mm/min,返回速度50 mm/min)进行测量,样品变形量70%,每个样品重复测定6次。TPA特征测定参数包括硬度、黏性、弹性、粘聚性、咀嚼性^[9]。

1.3.3 应力松弛实验

用整只刺参(质量 100±10g)作为样品,采用单轴向压缩和拉伸型流变仪(型号TMS-PRO)测定其应力松弛特性,用圆柱型探头(直径4 mm,压缩速度1 mm/s)进行测量,样品变形量20%,每个样品重复测定6次,应力松弛曲线采用逐次渐近法来分析^[10]。

1.3.4 水分活度的测定

准确称取1g左右样品,剪碎后置于HD-3A型智能水分活度测量仪中,测量时间为20 min,待平衡后读取示数。使用前用饱和NaCl溶液进行校正,每个样品至少测量3次。

1.3.5 测定样品横向弛豫时间T₂

利用NMI20核磁共振仪测定样品横向弛豫时间T₂。测定时,样品切成2 cm×0.6 cm×0.6 cm的长条,置于NMR试管中,放入永久磁场中心位置的射频线圈的中心,设置CPMG实验参数:TR(ms)=4000,NS=8, EchoTime(us)=200, EchoCount=3500。利用反演软件得到T₂分布情况。

1.3.6 羟脯氨酸含量的测定

采用氯胺T法分别测定总羟脯氨酸(T-Hyp)和游离羟脯氨酸(F-Hyp)的含量。取1g左右样品,加入蒸馏水(料液比1:9),进行高速匀浆,离心取上清。在2.0 mL上清液中加入1.0 mL氯胺T试剂,振荡,室温放置20±2 min,再加入1 mL发色剂,振荡混合,65 °C水浴15 min,迅速冷却,测558 nm处吸光值。每个样品重复测定6次。

1.3.7 Van Gieson 染色

样品切小块(1 cm×0.5 cm)并进行乙醇梯度脱水,石蜡包埋切片,切片厚度7 μm,常规复水,VG染色流程:

Weigert 苏木素液染5~10 min→自来水冲洗2 min→蒸馏水洗→Van Gieson 液染5 min→95%乙醇分色脱水→100%乙醇脱

水→二甲苯固定→中性树脂胶封片, 显微镜下观察并拍照, 放大倍数为 200 倍

1.3.8 交联度的测定

准确称取冻干刺参样品 5 mg, 加入 4%碳酸氢钠溶液 0.5 mL 和 0.5% TNBS 溶液 0.5 mL, 40 °C 水浴 4h, 加 6 mol/L HCl 1.5 mL, 120 °C 热压灭菌器加热 1 h, 取出后加水 2.5 mL 稀释, 石油醚(沸程 30~60 °C) 萃取 3 次, 弃去石油醚层, 取水相 2.5 mL 水浴 15 min, 冷至室温后加水 7.5 mL 稀释, 充分震荡摇匀, 346 nm 处测定吸光值, 同时做空白对照, 样品重复测定 6 次

[11]。

1.3.9 数据分析

所有试验结果数据采用 EXCEL2003 软件进行统计分析, 实验重复三次, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与讨论

2.1 不同处理条件对刺参胶原聚集体 TPA 参数的影响

表 1 不同处理条件下刺参胶原聚集体的 TPA 参数

Table 1 TPA parameters of sea cucumber collagen aggregates for different treatments

样品名称	硬度	黏性	弹性	粘聚性	咀嚼性
CK	1770.49±145.65 ^a	24.63±14.21 ^a	0.95±0.06 ^a	0.71±0.07 ^a	1174.24±137.68 ^a
G	522.16±44.84 ^b	2.54±0.61 ^b	0.97±0.04 ^b	0.74±0.03 ^b	381.07±13.54 ^b
P	658.54±93.56 ^c	4.79±0.71 ^c	0.96±0.04 ^b	0.70±0.06 ^a	448.58±41.48 ^c
PC	1276.07±157.25 ^d	12.55±1.19 ^d	0.90±0.04 ^c	0.73±0.08 ^c	772.14±53.95 ^d
PG	306.84±34.58 ^e	7.43±2.05 ^e	0.93±0.04 ^d	0.88±0.02 ^d	280.68±11.95 ^e
PCG	417.48±22.18 ^f	10.29±0.44 ^f	0.92±0.03 ^e	0.74±0.03 ^b	300.39±11.34 ^f

注: 同列以不同字母表示两组间存在显著性差异 (p<0.05)。

刺参胶原聚集体的 TPA 参数如表 1 所示, 相较于空白 CK 组, 经过处理的各组的硬度均大幅度降低, 并与 CK 组存在显著性差异 (p<0.05), 经过磷酸化处理的 P 组与 CK 组相比, 硬度降低了近 2/3, 而经 CaCl₂ 交联的 PC 组在 P 组的基础上硬度大幅度回升。高温高压处理后, 经过钙交联处理的 PCG 组的硬度与 PG 组相比从 306.84 上升至 417.48, 达到适宜食用的硬度范围 (400~550) [12]。从表中可看出, 弹性及粘聚性的变化不大, 说明磷酸化及钙交联处理不会对弹性产生太大影响; 而黏性及咀嚼性与硬度有相似的变化, 说明用磷酸化会使刺参体壁的黏性、咀嚼性降低, 而进行钙交联处理后, 蛋白分子上的可交联基团会通过钙桥进行连接, 从而使已经被破坏的胶原蛋白二级结构重新稳定, 因而 PCG 组相较于 PG 组有更适宜的凝胶性。

2.2 不同处理条件对刺参胶原聚集体应力松弛参数的影响

刺参胶原聚集体应力松弛参数如表 2 所示, 相较于空白 CK 组, 所有处理条件下的组的弹性模量 E₁ 均显著减小 (p<0.05), 降低约 70%, PC 组与 P 组无显著性差异, PCG 组 E₁ 为 1.53×10⁵ dyn/cm², 比 PG 组高。弹性模量越大则使其发生形变所需的力越大, 反之则越小 [10], 说明高温高压处理、磷酸化处理及

CaCl₂ 交联均会使刺参的弹性增大。P 组的黏度 η₁ 与空白 CK 组相比显著减小 (p<0.05), 说明磷酸化能降低刺参胶原聚集体黏度, 进行钙交联处理的 PC 组和 PCG 组的 η₁ 分别比 P 组和 PG 组小, 推测是由于钙交联使胶原分子间紧密连接, 减少了胶原纤维间的滑动, 导致黏度降低。τ₁ 为应力松弛时间, 与刺参胶原聚集体的内摩擦力有关, 是弹性模量和黏度共同作用的结果 (τ₁=η₁/E₁), 应力松弛时间越短, 胶原纤维间互相滑动所需的时间也就越短 [9]。表中可看出, 经过钙交联处理的 PC 和 PCG 组的 τ₁ 均比 P 组和 PG 组低, 这是由于钙交联使得刺参胶原聚集体内蛋白分子中的可交联基团发生交联后, 加强了蛋白质间的空间网状结构, 从而增强了刺参胶原聚集体的凝胶特性, 这与 TPA 所得结果类似。

表 2 不同处理条件下的刺参胶原聚集体应力松弛参数

Table 2 Stress relaxation parameters of sea cucumber collagen aggregates for different treatments

样品名称	E ₁ /(×10 ⁵ dyn/cm ²)	τ ₁ /s	η ₁ /(×10 ⁶ dyn s/cm ²)
CK	3.10±0.48 ^a	81.13±7.26 ^a	251.73±3.53 ^a
G	1.29±0.15 ^b	79.73±10.72 ^a	103.05±1.71 ^b
P	1.85±0.39 ^c	123.30±22.45 ^b	228.64±8.92 ^c
PC	1.93±0.59 ^c	90.67±21.31 ^c	175.63±12.73 ^d
PG	1.26±0.32 ^b	150.74±13.69 ^d	191.17±4.40 ^d
PCG	1.53±0.49 ^d	83.82±18.73 ^a	128.36±9.27 ^e

注: 同列以不同字母表示两组间存在显著性差异

($p < 0.05$)。

2.3 不同处理条件对刺参胶原聚集体凝胶横

向弛豫时间 T_2 的影响

表 3 不同处理条件对刺参胶原聚集体水分的影响

Table 3 Effects of different treatments on the water content of sea cucumber collagen aggregates

样品名称	弛豫时间所对应面积比		
	T_{21}	T_{22}	T_{23}
CK	0.049 ± 0.006 ^a	-	0.951 ± 0.006 ^a
G	0.034 ± 0.013 ^a	0.027 ± 0.004 ^a	0.939 ± 0.011 ^a
P	0.023 ± 0.010 ^b	0.025 ± 0.006 ^b	0.953 ± 0.004 ^a
PC	0.037 ± 0.014 ^{ab}	0.963 ± 0.014 ^c	-
PG	0.027 ± 0.009 ^b	0.027 ± 0.007 ^a	0.945 ± 0.003 ^a
PCG	0.070 ± 0.013 ^c	0.929 ± 0.013 ^d	-

注：同列以不同字母表示两组间存在显著性差异 ($p < 0.05$)。

刺参胶原聚集体中的结合水、束缚水和自由流动水，分别对应横向弛豫时间 T_{21} 、 T_{22} 、 T_{23} ^[13]。与 CK 组相比，P 组的 T_{21} 明显小于 CK 组， T_{22} 高于 CK 组， T_{23} 无显著性差异 ($p > 0.05$)，且 T_{23} 所占比例达 0.953。说明刺参胶原聚集体自由流动水含量较高，而磷酸化会降低结合水含量，使其转化成束缚水，可能是由于磷酸基团占据了聚集体中与水结合的位点，使其与水的结合降低。PC 组的 T_{21} 与 P 组无显著性差异 ($p > 0.05$)， T_{22} 明显大于 P 组 ($p < 0.05$)，且所占比例最多，达到 0.963，说明磷酸化刺参经钙交联后结合水含量基本不变，自由流动水大幅减少转化成束缚水，这是由于钙交联使胶原聚集体内分子间连接更紧密，导致大量水分子被束缚在空间结构内。PCG 组与 PG 组相比，其变化类似，自由流动水大幅减小，转化成束缚水及结合水，且结合水所占比例达到 0.070，表明钙交联有助于增加高温高压刺参胶原聚集体与水的结合率，提高束缚水含量，降低水分的自由度，有助于提高其凝胶性。

2.4 不同处理条件对刺参胶原聚集体水分活度的影响

水分活度是反映胶原聚集体中水分状态的重要因素。由图 1 所示，G 组的水分活度为 0.928，CK 组为 0.949，说明高温高压会破坏胶原蛋白分子空间结构，使得水分子脱离蛋白分子的束缚，降低水分活度；而 P 组水分活度为 0.960，磷酸化会占据水分子与蛋

白质的结合位点，使结合程度减小，自由度增加。PC 组相比于 P 组水分活度降低，而 PCG 组与 PG 组相比也发生降低，这与核磁共振实验结果保持一致。这是由于钙离子可与胶原蛋白分子上带负电的基团间形成离子键，形成蛋白质-钙-蛋白质的结构^[7]，能够增强蛋白分子的空间结构的稳定性，使其与水分的结合程度增强，氢键结合力增强，水分活度降低，从而提高了刺参胶原聚集体的凝胶性。

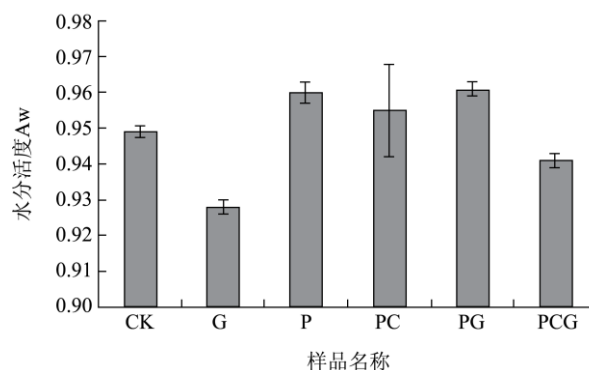


图 1 不同处理条件对刺参胶原聚集体水分活度的影响

Fig.1 Effects of different treatments on the water activity of sea cucumber collagen aggregates

2.5 不同处理条件对刺参胶原聚集体凝胶生化参数的影响

表 4 不同处理条件下刺参胶原聚集体的羟脯氨酸含量

Table 4 Effects of different treatments on the hydroxyproline content of sea cucumber collagen aggregates

样品名称	T-Hyp/千基/(mg/10 g)	F-Hyp 含量/(mg/10 g)
CK	58.01 ± 0.40 ^a	0.17 ± 0.01 ^a
G	49.69 ± 0.49 ^b	0.25 ± 0.01 ^b
P	62.38 ± 0.47 ^a	0.29 ± 0.00 ^c
PC	50.12 ± 0.37 ^b	0.10 ± 0.01 ^d
PG	61.95 ± 0.41 ^a	0.22 ± 0.01 ^{ab}
PCG	59.18 ± 0.44 ^a	0.08 ± 0.01 ^d

注：同列以不同字母表示两组间存在显著性差异 ($p < 0.05$)。

羟脯氨酸 (Hyp) 是胶原中的特征性氨基酸，其含量是衡量胶原水平的重要指标^[14]。由表 4 可知，各组的总羟脯氨酸 (T-Hyp) 含量变化不大，均在 50~60 mg/10 g 左右，G 组的 T-Hyp 含量低于 CK 组，这可能是由于高温高压使刺参胶原聚集体中蛋白分子的肽键断裂，胶原蛋白变性溶出，导致单位质量的 Hyp 含量下降。而 P 组、PG 组、PCG 组的 T-Hyp 含量与 CK 组相比无明显差异，但均大于 G 组，说明高温高压处理会破坏刺参胶原聚集体的胶原蛋白。

当胶原聚集体裂解或者分子结构破坏时，会产生

游离羟脯氨酸 (F-Hyp)。如表 4 所示, G 组、P 组、PG 组的 F-Hyp 增加, 是由于这些处理条件下的刺参蛋白分解, 使得 Hyp 游离出来。PC 组、PCG 组的 F-Hyp 比 CK 组显著减少 ($p < 0.05$), 说明钙桥交联下的结构更加稳定。其中 PC 组的 F-Hyp 仅为 P 组的 1/3, 这是由于钙交联使蛋白形成稳定结构, 胶原聚集体不易裂解产生 F-Hyp。PCG 组的 F-Hyp 含量较 PG 组和 G 组均降低, 仅为 0.08mg/10g, 说明经过钙交联会降低高温高压对刺参胶原聚集体胶原的破坏, 保持其结构, 对其凝胶性保持较好。

2.6 Van Gieson 染色

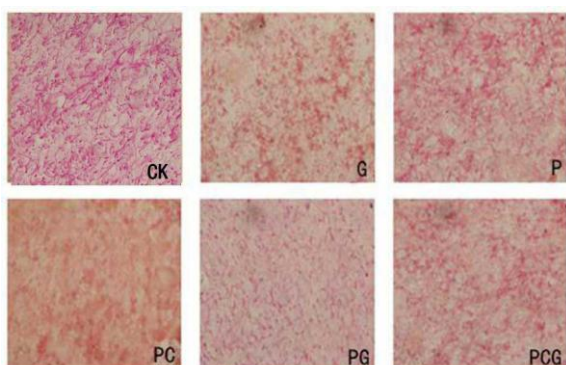


图 2 不同处理条件对刺参胶原纤维的影响 (×200)

Fig.2 Effects of different treatments on the collagen fiber from sea cucumbers (×200)

经 VG 染色处理, 胶原纤维呈红色。如图 2 所示, 不同处理使得刺参胶原纤维形态明显不同, 与 CK 组比较, 经不同处理的刺参都有不同程度的凝聚现象。经高温高压处理的 G 组的胶原纤维更粗, 且纹路不清晰, 说明高温高压能够使得蛋白质结构更松散, 这可能是由于高温高压的作用使蛋白质的肽键断裂, 结构破坏造成的, 这与薛冬梅对刺参物性学研究的成果一致^[8]。与空白 CK 组相比, 磷酸化 P 组刺参体壁胶原纤维则呈细密的交错排列, 说明磷酸化能够增加胶原纤维的结构稳定性, 而刺参由于胶原纤维间有粘多糖的作用, 使其具有广泛的交联作用^[15], 因此当磷酸化的刺参进行钙交联 (PC) 处理后, 胶原纤维呈现一定程度的聚集, PCG 组与 PG 组相比, 细密交错排列的网状结构变得疏松, 也呈现出聚集现象。

2.7 交联度的测定

肽链上赖氨酸侧链的 ϵ -氨基和 TNBS 在碱性条件下能够发生反应, 生成三硝基苯衍生物^[11], 该衍生物在 346 nm 的波长处有最大吸收峰。由此可以测出交联前后蛋白质的肽链中赖氨酸侧链上 ϵ -氨基的数量变化, 即可推出刺参体壁蛋白质的交联程度^[11]。交联后

赖氨酸侧链 ϵ -氨基越少, 交联程度越大。由图 3 可以看出, G 组 ϵ -氨基酸为 $0.126 \text{ mol}/(\text{g} \cdot 10^3)$, 高于空白组, 说明高温高压使交联变小, 可能由于高温高压导致凝胶破坏, 胶原被降解, 网状结构被破坏, 因此 ϵ -氨基酸含量变多。PCG 组 ϵ -氨基酸为 $0.113 \text{ mol}/(\text{g} \cdot 10^3)$, 相比于 PG 组和 G 组低, 说明其交联程度较好, 这与前文中水分状态的变化相符, 表明磷酸化和钙桥交联对刺参胶原聚集体的水分状态的改变, 不只是由于交联键的产生导致的, 而且更依赖于所形成的特殊聚集态结构。

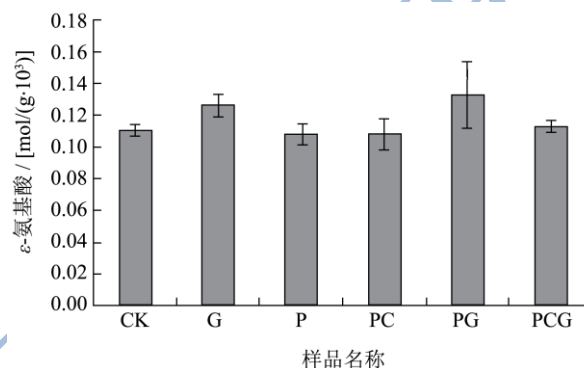


图 3 不同处理条件对刺参胶原聚集体交联的影响

Fig.3 Effects of different treatments on the cross linking of sea cucumber collagen aggregates

3 结论

- 3.1 磷酸化后的刺参胶原聚集体与普通刺参胶原聚集体相比, 在硬度及黏性方面显著降低, 结合水含量降低、自由水含量升高, 水分活度明显增大, 磷酸化对刺参胶原聚集体的凝胶特性存在显著影响。
- 3.2 磷酸化后又经钙交联处理的刺参胶原聚集体的硬度及黏性比磷酸化刺参胶原聚集体高, 结合水含量升高, 自由水含量降低, 水分活度降低, 提高了胶原聚集体与水分的结合程度, 增强了凝胶性。
- 3.3 与高温高压处理组相比较, 磷酸化与钙交联处理后再高温高压的刺参胶原聚集体的凝胶性增强, 结构保持较好, 钙交联通过蛋白质-钙-蛋白质结构的形成增强了刺参胶原聚集体的稳定性。
- 3.4 综上所述, 磷酸化和钙交联处理能够提高刺参加工后的凝胶性, 改善其高温高压后在质构及水分状态上的变化, 为刺参的加工及改性工艺提供了新途径。

参考文献

[1] Matsumura T, Shinmei M, Nagai Y. Disaggregation of connective tissue: preparation of fibrous components from sea cucumber body wall and calf skin [J]. Journal of Biochemistry, 1973, 73(1): 155-162

- [2] Gao X, Xue D, Zhang Z, et al. Rheological and structural properties of sea cucumber *Stichopus japonicus* during heat treatment [J]. Journal of Ocean University of China, 2005, 4(3): 244-247
- [3] Duan X, Zhang M, Mujumdar A S. Study on a combination drying technique of sea cucumber [J]. Drying Technology, 2007, 25(12): 2011-2019
- [4] Duan X, Zhang M, Mujumdar A S, et al. Microwave freeze drying of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(4): 491-497
- [5] 李君文,赵新准.食品中的蛋白质交联技术[J].食品工业科技,2011(1):380-384
LI Jun-wen, ZHAO Xin-zhun. Research progress in protein cross-linking in food [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011 (1): 380-384
- [6] 姜铮,王芳,何湘,等.蛋白质磷酸化修饰的研究进展[J].生物技术通讯,2009,20(2):233-237
JIANG Zheng, WANG Fang, HE Xiang, et al. Progress on protein/peptide phosphorylation [J]. Letters in Biotechnology, 2009, 20(2): 233-237
- [7] Lee N, Park J W. Calcium compounds to improve gel functionality of Pacific whiting and Alaska pollock surimi [J]. Journal of Food Science, 1998, 63(6): 969-974
- [8] 薛冬梅,高昕,崔凤霞,等.加热条件下刺参结构和流变学性质的变化[J].中国食品学报,2006,6(1):161-166
XUE Dong-mei, GAO Xin, CUI Feng-xia, et al. Rheological and structure properties changes of *Stichopus Japonicus* during heat treatment [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2006, 6(1): 161-166
- [9] Dolores Romero de Ávila M, Isabel Cambero M, Ordóñez, J A, et al. Rheological behaviour of commercial cooked meat products evaluated by tensile test and texture profile analysis (TPA) [J]. Meat Science, 2014, 98(2): 310-315
- [10] Gao X, Ogawa H, Tashiro Y, et al. Rheological properties and structural changes in raw and cooked abalone meat [J]. Fisheries Science, 2001, 67(2): 314-320
- [11] 董智.明胶海绵中明胶交联度的测定[J].明胶科学与技术,2009,29(2):74-84
DONG Zhi. Determination of cross-linking degree of gelatin in gelatin sponge [J]. The Science and Technology of Gelatin, 2009, 29(2):74-84
- [12] 张楠,王莹钰,陈海华,等.香菇海藻肉丸配方和质构特性的研究[J].青岛农业大学学报:自然科学版,2014,31(1):45-49
ZHANG Nan, WANG Ying-yu, CHEN Hai-hua, et al. Research on the formula and texture properties of mushroom-seaweed meatball. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science), 2014, 31(1): 45-49
- [13] Guo L Y, Shao J H, Liu D Y, et al. The distribution of water in pork meat during wet-curing as studied by Low-field NMR [J]. Food Science and Technology Research, 2014, 20(2): 393-399
- [14] Christensen M, Ertbjerg P, Failla S, et al. Relationship between collagen characteristics, lipid content and raw and cooked texture of meat from young bulls of fifteen European breeds [J]. Meat science, 2011, 87(1): 61-65
- [15] 侯虎,孙江,毛家楠,等.海参胶原纤维形态及胶原蛋白理化性质研究[J].现代食品科技,2013,29(7):1491-1495
HOU Hu, SUN Jiang, MAO Jia-nan, et al. Collagen fibers morphology and physical and chemical properties of collagen of sea cucumber [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(7): 1491-1495