

# 绿原酸抑制猪肉肌原纤维蛋白氧化及 NDEA 生成的作用研究

李玲, 季慧, 段家玉

(临沂大学生命科学学院, 山东临沂 276000)

**摘要:**在羟自由基氧化体系中, 研究不同添加量的绿原酸对猪肉肌原纤维蛋白(MP)理化性质和亚硝基二乙胺(NDEA)生成的影响。结果表明, 氧化导致羰基含量升高, 疏水性增加, 蛋白结构展开。添加绿原酸后, 0.1~0.5 mmol/L 能有效抑制羰基的生成( $p < 0.05$ ), 而 0.8~1.0 mmol/L 未能抑制羰基的生成。0.1~2.0 mmol/L 的绿原酸使肌原纤维蛋白疏水性增加, 内源性色氨酸荧光强度降低。绿原酸对 NDEA 的生成具有浓度依赖性, 0.1~0.8 mmol/L 的绿原酸促进 NDEA 生成, 而 0.8~2.0 mmol/L 的绿原酸抑制 NDEA 生成。结论: 适量的绿原酸抑制了肌原纤维蛋白的氧化和 NDEA 的生成。

**关键词:**绿原酸, 肌原纤维蛋白, 蛋白氧化, 亚硝基二乙胺

## The inhibition study of chlorogenic acid on the oxidation and N-nitrosodiethylamine (NDEA) formation in pork myofibrillar protein

LI Ling, JI Hui, DUAN Jia-yu

(College of Life Science and Biotechnology, Linyi University, Linyi 276000, China)

**Abstract:** The objective of this study was to investigate the effects of chlorogenic acid on the oxidation and N-nitrosodiethylamine (NDEA) formation of pork myofibrillar protein (MP) in hydroxyl radical oxidation system. Results showed that carbonyl content and thiol group was increased, the structure of protein was extended. Treatments with 0.1~0.5 mmol/L chlorogenic acid could significantly inhibit the increase of carbonyl content ( $p < 0.05$ ), but did not prevent carbonyl content formation at 0.8~1.0 mmol/L chlorogenic acid. Treatments with 0.1~2.0 mmol/L chlorogenic acid increased the hydrophobicity of MP and decreased the fluorescence intensity of tryptophan. Chlorogenic acid has a concentration dependent on the formation of NDEA. The NDEA generation was promoted by chlorogenic acid at 0.1~0.8 mmol/L, while it was inhibited by chlorogenic acid at 0.8~2.0 mmol/L. In conclusion: the appropriate amount of chlorogenic acid can inhibit the oxidation of myofibrillar proteins and NDEA formation.

**Key words:** chlorogenic acid; myofibrillar protein; protein oxidation; N-nitrosodiethylamine

中图分类号: TS251.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)08-0029-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.08.006

**引文格式:** 李玲, 季慧, 段家玉. 绿原酸抑制猪肉肌原纤维蛋白氧化及 NDEA 生成的作用研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(8): 29-33.

肉类食品在贮藏过程中, 蛋白质容易受到自由基的攻击而发生氧化, 随后发生一系列的物理化学变化, 引起品质劣变<sup>[1-2]</sup>。羟自由基是众多自由基中氧化能力最强的自由基, 也是引起蛋白质和脂肪发生氧化的主要贡献者, 蛋白质多肽链的主链及侧链受到自由基的攻击而引起结构的变化, 影响其表面疏水性及羰基和巯基的含量, 进而影响蛋白质的凝胶保水性, 破坏肉制品的质地、口感和滋味等<sup>[3-4]</sup>。天然植物多酚作为抗氧化剂, 近年来广泛应用于肉类食品的加工过程中, 在蛋白质氧化体系中, 多酚和

蛋白质以共价键或者非共价键结合, 从而影响蛋白质的结构和功能<sup>[5-7]</sup>。目前, 人们对蛋白质氧化的研究有限, 对自由基氧化和多酚抗氧化对蛋白质结构的影响研究较少。亚硝胺是一类具有致癌作用的化合物, 在体内外都可以生成, 在肉品加工的高温环境中更有利于亚硝胺的产生<sup>[8-9]</sup>, 因此合理控制亚硝胺的生成是近年来的研究热点, 特别是在蛋白质氧化体系中研究多酚对亚硝胺生成的影响。本实验选用绿原酸作为抗氧化剂, 利用 Fenton 氧化体系产生的羟自由基, 探讨自由基诱导的肌原纤维蛋白氧化后

收稿日期: 2017-09-11

作者简介: 李玲(1976-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 肉品加工与质量安全控制, E-mail: lytuliling@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(31501503); 临沂大学科研启动基金(LYDX2013BS037)。

其理化性质的变化,以及氧化蛋白体系中亚硝胺形成的规律,以期为多酚的应用提供更多理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

猪背最长肌 冷鲜肉购自临沂东方购物中心; N-亚硝基二乙胺标准品(NDEA) 美国 Sigma 公司; 色谱纯甲醇、二氯甲烷 美国 Tedia 公司; 哌嗪-N, N'-二(2-乙磺酸)(PIPES)、溴酚蓝、盐酸胍、绿原酸(98%) solarbio 公司; 二乙胺、盐酸二乙胺、二甲亚砜、DNPH(2,4-二硝基苯肼)、DTNB(5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸))、三羟甲基氨基甲烷(Tris)水溶性维生素 E(trolox) 购自阿拉丁试剂; 亚硝酸钠、磷酸盐、对氨基苯磺酸、柠檬酸、柠檬酸钠、双氧水、三氯乙酸(TCA)等 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

Agilent 1260 液相色谱系统配紫外检测器、ZORBAX SB-C<sub>18</sub>反相柱(4.6×250 mm, 5 μm) 美国 Agilent 公司; Allegra 25R 高速冷冻离心机 美国 Beckman 公司; F-4600 荧光分光光度计 日本日立公司; H-S4 数显恒温水浴锅 金坛市医疗仪器厂; 优普 UPW 系列超纯水器 成都超纯科技有限公司; SANYO SIM-F124 制冰机 日本三洋公司; Spectrum 紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; BS223S 电子天平 北京塞多利斯仪器; 有机系一次性微孔滤膜(0.22 μm) 天津博纳艾杰尔科技有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 原料预处理 取宰后 24 h 的猪背最长肌, 去除筋膜和可见脂肪组织, 沿垂直肌纤维方向切成 100 g 左右的肉块, 用聚乙烯袋包装后于 -18 °C 冻藏。临用前将冷冻的猪肉置 4 °C 解冻 4 h 备用。

1.2.2 肌原纤维蛋白(MP)的制备 参考 Park<sup>[3]</sup>、Feng<sup>[6]</sup>的方法, 并做一定修改。称取 50 g 肉样, 加 4 倍体积的 pH7.0 缓冲液匀浆(10000 r/min, 30 s), 4 °C 离心(3000 r/min, 10 min), 弃上清液, 重复 3 遍。再加入 4 倍体积的 0.1 mol/L NaCl 洗液, 匀浆(10000 r/min, 30 s) 4 °C 离心(3000 r/min, 10 min), 弃上清液, 重复 2 次。第 3 次加洗液匀浆后, 用两层纱布过滤以除去结缔组织等, 最后用 0.1 mol/L HCl 调 pH 为 6.25 后离心去上清液, 所得膏状物为肌原纤维蛋白。

将制备好的 MP, 冰浴保存, 48 h 之内使用。采用双缩脲法测定蛋白的含量, 以牛血清白蛋白(BSA)为标准蛋白制作标准曲线,  $y = 0.027x + 0.08$ ,  $R^2 = 0.995$ 。

1.2.3 绿原酸的添加及氧化处理 绿原酸用 DMSO 配制 10 mmol/L 的溶液。用 15 mmol/L PIPES 缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl, pH6.25)将 MP 蛋白膏稀释为 40 mg/mL, 试管中先加入蛋白溶液, 再加入不同量的绿原酸溶液, 搅拌均匀后加入 fenton 氧化体系(终浓度 0.01 mmol/L FeCl<sub>3</sub>, 0.1 mmol/L 抗坏血酸, 10 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 4 °C 氧化 12 h。MP 的终浓度是 20 mg/mL, 绿原酸的终浓度分别是 0、0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、2.0 mmol/L。以未加绿原酸和氧化剂但有

trolox 的蛋白溶液作为对照组。氧化反应通过添加 trolox 终止反应(终浓度 1 mmol/L)。

1.2.4 肌原纤维蛋白物理化学变化的测定 羰基含量的测定采用 DNPH 法, 参照 Oliver<sup>[10]</sup>的方法进行; 游离巯基和总巯基含量按照 Xia X 等<sup>[11]</sup>的方法进行测定; 疏水性测定采用溴酚蓝(BPB)结合法进行, 参照曹云刚<sup>[12]</sup>描述的方法进行测定; 内源性氨基酸荧光的变化通过 F-4600 荧光分光光度仪检测, 用 15 mmol/L PIPES 缓冲液(含 0.6 mol/L NaCl, pH6.25)将样品稀释为蛋白浓度 0.1 mg/mL, 吸取 0.1 mL 置于石英比色皿中, 室温条件下于 283 nm 激发, 记录下 300~400 nm 的发射光谱供后续分析。激发和发射狭缝宽度均设置为 5 nm, 电压 700 V。

1.2.5 二乙基亚硝胺(NDEA)的测定 采用 Agilent1260 液相色谱系统, ZORBAX SB-C<sub>18</sub>反相柱(4.6×150 mm, 5 μm), 流速 1 mL/min, 进样量 20 μL, 流动相甲醇/水 = 35/65, 柱温 30 °C, 检测波长 230 nm。用蒸馏水分别配制 0.1、0.2、0.5、1、2、5、10 μg/mL 的 NDEA 标准溶液。利用最优检测条件, 从低浓度依次进样分析测定, 绘制 NDEA 标准工作曲线,  $y = 59.69x + 0.59$ ,  $R^2 = 0.991$ 。

吸取 1 mL 氧化处理好的 MP 溶液, 置于 5 mL 塑料离心管中, 再加入 0.1 mL 100 mmol/L 的 NaNO<sub>2</sub> 溶液(用上述 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液配制), 0.1 mL 1 mol/L 的二乙胺溶液(用上述 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液配制), 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液 0.8 mL, 涡旋混合调节 pH 至 3.0, 分别采用 37 °C 水浴反应 4 h 和 80 °C 水浴反应 1 h, 反应结束后迅速冷却, 加入 0.1 mL 100 mmol/L 的对氨基苯磺酸混匀终止反应, 离心(3000 r/min, 5 min)。上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后, 在上述液相色谱条件下进行测定。

### 1.3 数据统计分析

所有数据均用 Excel 建立工作表, 用 SPSS 18.0 统计软件进行方差分析和多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 绿原酸浓度对于 MP 蛋白羰基含量的影响

蛋白质的侧链氨基酸在某些特定条件下极易发生氧化, 羰基含量是判断蛋白质氧化程度的重要指标。一般羰基含量越高, 蛋白质氧化程度越高。如图 1 可见, 未氧化的对照组 MP 羰基含量为 2.98 nmol/mg 蛋白, 羟自由基氧化 12 h 未添加绿原酸组羰基升高到 5.75 nmol/mg 蛋白, 升高了 1.93 倍。而绿原酸的添加抑制了羰基的生成, 在 0.1~0.5 mmol/L 的绿原酸添加组与未添加绿原酸组相比差异显著( $p < 0.05$ ), 而 0.8 和 1 mmol/L 的绿原酸组与未添加绿原酸组相比差异不显著( $p > 0.05$ )。这可能是因为绿原酸中羟基含量较高, 具有一定的清除自由基和螯合金属离子的作用<sup>[13]</sup>。有关酚类物质抑制蛋白质羰基形成的作用, 前人研究发现 0.1% 质量分数的鞣酸和没食子酸具有抑制猪肉肌原纤维蛋白羰基形成的作用<sup>[7]</sup>。Estévez<sup>[13]</sup>研究发现没食子酸在低剂量时可以抑制猪肉糜蛋白羰基的产生, 而高剂量会促进蛋白质的氧化。酚类物质(绿原酸和没食子酸)

既能促进也能抑制肌原纤维蛋白羰基的生成,可能是与酚类物质的结构、浓度和氧化条件有密切关系<sup>[12]</sup>。

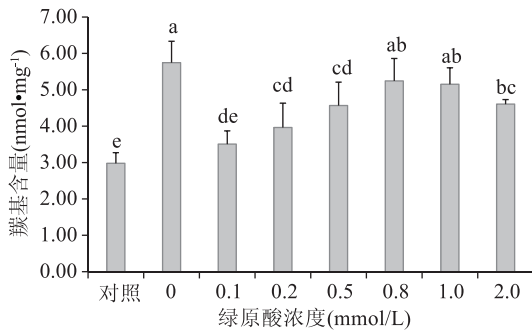


图1 绿原酸对肌原纤维蛋白羰基含量的影响

Fig.1 Effect of Chlorogenic acid on the carbonyl content of MP after oxidation

## 2.2 绿原酸浓度对于 MP 巯基含量的影响

绿原酸对氧化 MP 巯基含量的影响见图 2。从图中可见,与对照组相比,不加绿原酸的氧化组游离巯基含量增加了 11.7%, 差异显著( $p < 0.05$ ), 说明氧化使蛋白质结构展开, 巯基暴露, 导致检测到更多的游离巯基。随着绿原酸含量的增加, 游离巯基含量进一步升高, 可能是绿原酸保护了氧化过程中展开的游离巯基, 导致其含量继续增加。在 20 种氨基酸中, 半胱氨酸和甲硫氨酸含有硫原子, 最易受自由基引起的氧化修饰。与对照组相比, 氧化后总巯基含量增加了 21.3%, 差异显著( $p < 0.05$ )。添加绿原酸后, 总巯基含量进一步升高, 其中 0.1、0.2、0.8 mmol/L 的绿原酸与未添加组差异显著( $p < 0.05$ ), 而 0.5、1.0、2.0 mmol/L 的绿原酸与未添加组差异不显著( $p > 0.05$ ), 本研究认为高浓度的绿原酸抑制了体系中的总巯基含量。前人在研究羟自由基诱导猪肉肌原纤维蛋白氧化的过程中发现, 氧化处理及添加绿原酸后减少了体系中的总巯基含量<sup>[12]</sup>。Xiong G 等<sup>[14]</sup>在研究草鱼肌原纤维蛋白冻藏过程中的变化时, 发现随冷冻时间的延长, 总巯基和游离巯基含量逐渐降低。而本研究中, 巯基含量增加, 其原因可能与氧化剂与抗氧化剂(绿原酸)的浓度比例不同有关, 有待于对其进一步探讨。

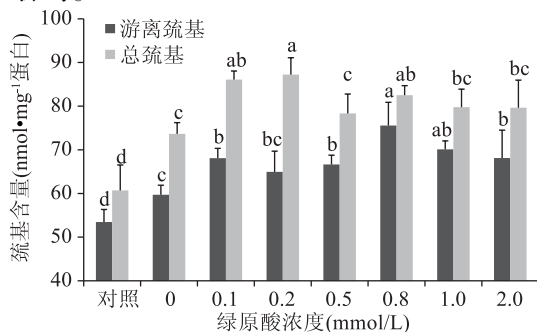


图2 绿原酸对肌原纤维蛋白巯基含量的影响

Fig.2 Effect of Chlorogenic acid on the sulfhydryl content of MP after oxidation

## 2.3 绿原酸浓度对于 MP 表面疏水性的影响

在肌原纤维蛋白氧化过程中, 自由基攻击蛋白质的多肽链, 使原本位于内部的疏水性肽段暴露, 导

致蛋白质表面疏水性氨基酸含量的变化。蛋白质表面疏水性可以通过测定 BPB 结合量来表示, BPB 分子可以结合在蛋白质分子表面的疏水性结合位点, 疏水性增加是蛋白质分子结构展开的一个重要指标。如图 3 所见, 与对照组相比, 氧化后的 MP 疏水性达到 3.74 ng, 差异显著( $p < 0.05$ ), 说明 MP 结构展开, 其疏水性显著升高。胡忠良等<sup>[1]</sup>的研究发现, 随着氧化剂浓度的增加, 表明疏水性显著增大, 更多的疏水氨基酸暴露在分子表面。当添加绿原酸后, 0.1 mmol/L 组与未添加绿原酸组相比, 差异不显著。但是 0.2~2.0 mmol/L 的绿原酸组, 与未添加绿原酸组相比, 差异显著( $p < 0.05$ )。高浓度的绿原酸促进了氧化诱导的 MP 结构的进一步展开, 疏水性升高。Li 等<sup>[15]</sup>的研究表明, 在羟自由基氧化体系中, 随氧化剂浓度和时间的增加, MP 的表面疏水性增加。有研究表明, 在肌原纤维蛋白中添加不同浓度的没食子酸, 表明疏水性持续增加, 高浓度没食子酸作用效果更明显, 与本实验的结果一致, 说明其促进了蛋白质结构的展开<sup>[16]</sup>。

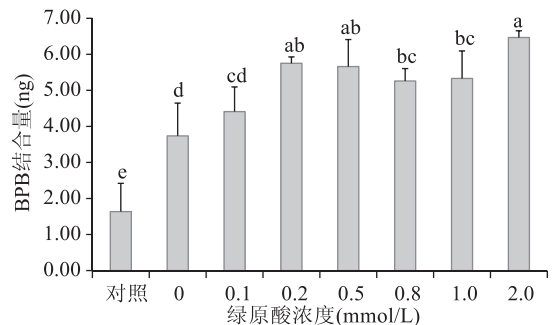


图3 绿原酸对肌原纤维蛋白疏水性的影响

Fig.3 Effect of Chlorogenic acid on the surface hydrophobicity of MP after oxidation

## 2.4 绿原酸浓度对 MP 内源性氨基酸荧光的影响

由图 4 绿原酸对 MP 内源性氨基酸荧光强度的变化可见, 对照组中, 发射波长 334 nm 时, 最大荧光强度为 8649。与对照组相比, 氧化处理后, 色氨酸荧光强度明显降低。随着绿原酸添加量的增加, 荧光强度逐渐降低, 0.8 mmol/L 的绿原酸组, 最大荧光强度红移到 337 nm。而 2.0 mmol/L 的绿原酸组, 出现大范围的荧光猝灭, 最大荧光强度红移到 367 nm。其原因可能是蛋白质中的氨基酸残基色氨酸对其周围

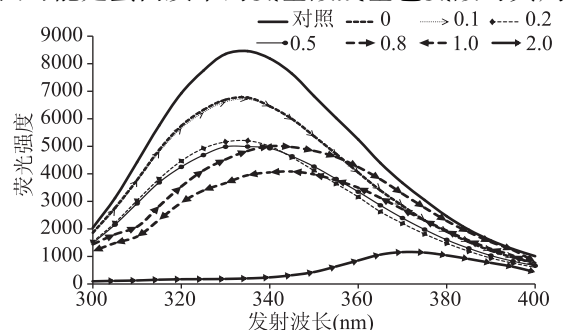


图4 绿原酸对肌原纤维蛋白内源性氨基酸荧光强度的影响

Fig.4 Effect of Chlorogenic acid on the tryptophan fluorescence of MP after oxidation



表1 羟自由基氧化体系中蛋白质理化指标与亚硝胺生成之间的相关性

Table 1 Correlation between physicochemical changes and nitrosodiethylamine in MP oxidation in the absence of Chlorogenic acid

	羰基	自由巯基	总巯基	疏水性	NDEA1	NDEA2
羰基	1	0.386	0.248	0.335	0.276	0.207
自由巯基		1	0.670**	0.642**	0.462*	0.477*
总巯基			1	0.709**	0.333	0.392
疏水性				1	0.152	0.185
NDEA1					1	0.792**
NDEA2						1

注: NDEA 1 表示 37 °C 4 h 处理, NDEA 2 表示 80 °C 1 h 处理; \* 表示差异显著,  $p < 0.05$ , \*\* 表示差异极显著,  $p < 0.01$ 。

微环境的极性非常敏感,当蛋白质处于折叠状态时,色氨酸残基主要位于蛋白质内核的疏水环境中,此时被激发的色氨酸具有相对较高的荧光强度和较低的发射波长;而当蛋白质部分或全部展开后,色氨酸残基会有更多的暴露在蛋白质分子表面的极性环境中,此时被激发的色氨酸荧光强度降低,发射波长较长(红移)。与此类似,Cao 等<sup>[5]</sup>也报道了绿原酸会导致 MP 色氨酸荧光强度降低,与本研究结果一致。Wu 等<sup>[17]</sup>研究发现,表没食子酸儿茶素(EGC)和 $\beta$ -乳球蛋白结合过程中,EGC 覆盖在 $\beta$ -乳球蛋白表面,引起蛋白结构变化, $\alpha$ -螺旋含量略有升高,色氨酸荧光强度降低。

## 2.5 绿原酸浓度对氧化蛋白体系中亚硝基二乙胺生成的影响

在肌原纤维蛋白氧化条件下,图 5 分析了 NDEA 的变化趋势。图中分别表示了 37 °C 保温 4 h 和 80 °C 保温 1 h 的数据。从图 5 可见,同一组处理在 80 °C 保温 1 h 后,NDEA 的生成量要大于 37 °C 保温 4 h 的生成量,说明高温能促进了亚硝胺的生成。这与前人对羟自由基氧化体系中亚硝基二甲胺(NDMA)和 NDEA 的研究结果一致<sup>[18-19]</sup>。与对照组相比,氧化后 NDEA 的含量有所升高。当添加绿原酸后,NDEA 的生成量增加,特别是 0.8 mmol/L 绿原酸组 80 °C 保温 1 h,NDEA 的含量达到 3.72  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,此后,NDEA 生成量下降。当绿原酸浓度为 2 mmol/L 时,37 °C 保温 4 h 检测不到 NDEA,80 °C 保温 1 h 检测的到。在一定浓度范围内,0.1~0.8 mmol/L 的绿原酸促进了亚硝胺的生成,而 0.8~2 mmol/L 的绿原酸抑制了亚硝胺的产生。作者前期研究表明,在模拟胃酸条件下,茶多酚和葡萄籽提取物具有抑制和促进亚硝胺生成的双重作用效果,抑制程度与多酚物质的量有关<sup>[20]</sup>。多酚类物质和本研究的绿原酸都是含有多羟基的酚酸化合物,当其在低浓度时,酚酸与亚硝根离子结合形成醌类化合物,醌类不稳定,继续结合亚硝根离子,形成亚硝-苯醌衍生物,可能促进了亚硝胺生成。但当酚酸达到一定量时,无过量的亚硝根离子与醌类物质反应,不能生成亚硝基苯醌衍生物,可能抑制了亚硝胺生成。

## 2.6 亚硝胺与理化指标的相关性分析

相关理化指标与亚硝胺之间的相关性见表 1。从表中可以看出,自由巯基与 NDEA 的生成显著相关( $p < 0.05$ )。而理化指标之间,自由巯基与总巯基

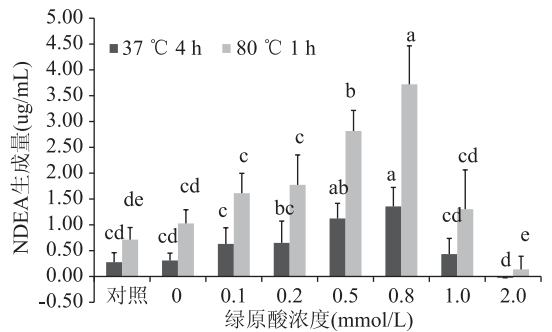


图5 绿原酸对氧化蛋白体系中亚硝基二乙胺生成的影响

Fig.5 Effect of Chlorogenic acid on the nitrosodiethylamine of MP after oxidation

之间极显著相关,疏水性与巯基(自由巯基和总巯基)极显著相关( $p < 0.01$ ),37 °C 4 h 处理组和 80 °C 1 h 处理组之间极显著相关( $p < 0.01$ )。孙卫青等采用相关性分析和主成分分析发现,猪肉蛋白的氧化程度与 NDEA 的生成量高度相关,羰基化合物促进了 NDEA 的生成<sup>[21]</sup>。

## 3 结论

羟自由基氧化导致肌原纤维蛋白羰基含量,内源性色氨酸荧光强度降低,表明疏水性增强。添加绿原酸能在一定程度上抑制羰基含量的升高,但高浓度抑制效果不显著。随添加绿原酸浓度的增加,巯基含量和表明疏水性有升高趋势,说明蛋白质结构进一步展开。低浓度的绿原酸促进了 NDEA 的生成,高浓度绿原酸抑制了 NDEA 的生成,具有剂量依赖性。可见,绿原酸对羟自由基引起的蛋白质氧化起到了一定的抑制作用。因此,通过向肉及肉制品中添加含有绿原酸的多酚类化合物,可防止蛋白质氧化,提高蛋白质的功能特性。

## 参考文献

- [1] 胡忠良,邹玉峰,林玉海,等.氧化程度对肌原纤维蛋白热凝胶及理化特性的影响[J].食品科学,2013(17):19-22.
- [2] Park D, Xiong Y L, Alderton A L. Concentration effects of hydroxyl radical oxidizing systems on biochemical properties of porcine muscle myofibrillar protein[J]. Food Chemistry, 2007, 101(3):1239-1246.
- [3] 吕卫金,赵进,汪金林,等.茶多酚延缓冷藏大黄鱼肌原纤维蛋白变性降解机理研究[J].中国食品学报,2014(1):60-67.
- [4] 李银,李侠,张春晖,等.羟自由基导致肉类肌原纤维蛋白

- 氧化和凝胶性降低[J].农业工程学报,2013(12):286-292.
- [5] Cao Y, Xiong Y L. Chlorogenic acid-mediated gel formation of oxidatively stressed myofibrillar protein [J]. Food Chemistry, 2015, 180:235-243.
- [6] Feng X, Chen L, Lei N, et al. Emulsifying properties of oxidatively stressed myofibrillar protein emulsion Gels prepared with (-) - epigallocatechin-3-gallate and NaCl [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(13):2816-2826.
- [7] 张慧芸, 吴静娟, 郭新宇. 多酚对猪肉肌原纤维蛋白氧化和凝胶特性的影响[J]. 食品科学, 2016(21):43-47.
- [8] Wang Y, Li F, Zhuang H, et al. Effects of plant polyphenols and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation, residual nitrites, biogenic amines, and N-nitrosamines formation during ripening and storage of dry-cured bacon [J]. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(1):199-206.
- [9] Li L, Shao J, Zhu X, et al. Effect of plant polyphenols and ascorbic acid on lipid oxidation, residual nitrite and N-nitrosamines formation in dry-cured sausage [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2013, 48(6):1157-1164.
- [10] Oliver C N, Ahn B W, Moerman E J, et al. Age-related changes in oxidized proteins [J]. Journal of Biological Chemistry, 1987, 262(12):5488-5491.
- [11] Xia X, Kong B, Liu Q, et al. Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles [J]. Meat Science, 2009, 83(2):239-245.
- [12] 曹云刚. 植物多酚对肉蛋白氧化稳定性和功能特性的影响机理及应用[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- [13] Estévez M, Heinonen M. Effect of phenolic compounds on the formation of  $\alpha$ -amino adipic and  $\gamma$ -glutamic semialdehydes from myofibrillar proteins oxidized by copper, iron, and myoglobin [J].
- Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(7):4448-4455.
- [14] Xiong G, Cheng W, Ye L, et al. Effects of konjac glucomannan on physicochemical properties of myofibrillar protein and surimi gels from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Food chemistry, 2009, 116(2):413-418.
- [15] Li C, Xiong Y L, Chen J. Oxidation-induced unfolding facilitates myosin cross-linking in myofibrillar protein by microbial transglutaminase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(32):8020-8027.
- [16] 贾娜, 刘丹, 张晓星, 等. 氧化条件下没食子酸对猪肉肌原纤维蛋白结构及凝胶特性的影响[J]. 食品工业科技, 2016(23):61-66.
- [17] Wu X, Wu H, Liu M, et al. Analysis of binding interaction between (-) - epigallocatechin (EGC) and  $\beta$ -lactoglobulin by multi-spectroscopic method [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011, 82(1):164-168.
- [18] 黄宗海, 孟培培, 孙卫青, 等. 羟自由基氧化系统对体外模拟体系中 NDMA 合成反应的影响[J]. 食品工业科技, 2013(9):62-66.
- [19] 杨华, 孟培培, 王昌禄, 等. 模拟肉制品加工条件下影响 N-亚硝胺的形成因素 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(16):95-99.
- [20] 李玲, 张余, 周光宏, 等. 植物多酚对模拟胃酸体系中亚硝酸盐清除能力与亚硝胺生成的影响[J]. 南京农业大学学报, 2013(3):111-116.
- [21] Sun W, Meng P, Ma L. Relationship between N-nitrosodiethylamine formation and protein oxidation in pork protein extracts [J]. European Food Research and Technology, 2014, 239(4):679-686.
- (上接第 28 页)
- 组成、抗氧化及降血糖作用研究 [J]. 营养学报, 2004(1):57-60.
- [7] 叶琼娟, 杨公明, 张全凯, 等. 挤压膨化技术及其最新应用进展 [J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(5):1329-1334.
- [8] 刘金霞, 李庆龙, 李丽, 等. 双螺杆挤压对小麦膳食纤维改性的研究 [J]. 粮食加工, 2010, 35(2):62-65.
- [9] 王强, 赵欣. 不同膳食纤维改性技术研究进展 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(9):392-395.
- [10] Chen Y, Ye R, Yin L, et al. Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and *in vivo* evaluation [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 120(1):1-8.
- [11] 焦自明, 高冉, 杨建雄, 等. 从茶渣中提取茶多糖工艺条件的优化研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(16):285-288.
- [12] 田成, 莫开菊, 汪兴平. 水不溶性豆渣膳食纤维改性的工艺优化 [J]. 食品科学, 2010, 31(14):148-152.
- [13] 李鹏飞, 王健, 任志远. 麦麸膳食纤维改性研究 [J]. 粮油食品科技, 2009, 17(6):3-5.
- [14] 王博, 叶阳, 周小芬, 等. 挤压膨化对绿茶茶渣中粗纤维影响 [J]. 茶叶科学, 2012, 32(1):29-36.
- [15] 袁根良, 江东文, 白永亮, 等. 茶渣的挤压膨化改性 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(5):517-520.
- [16] 常宪辉, 李丽, 李沛. 粒度对小麦膳食纤维结构和吸水性及悬浮特性的影响 [J]. 粮食与食品工业, 2011, 18(5):29-32.
- [17] 田成. 不溶性豆渣膳食纤维改性工艺及物化特性研究 [D]. 恩施: 湖北民族学院, 2010.
- [18] 付成程, 郭玉蓉, 严迈, 等. 木聚糖酶对苹果肉渣膳食纤维改性的研究 [J]. 食品工业科技, 2013, 34(7):140-143, 152.
- [19] Gao A, Yan X G, Xu X Y. Physicochemical and bioactive properties of soluble dietary fibers from blasting extrusion Processing (BEP) - Extruded carrot residues [J]. Food and Bioprocess Technology, 2015, 8(10):2036-2046.