

# 绿原酸对不同加热方式的草鱼品质的影响

李君珂, 孙雪梅, 柳全文, 谭晓冕  
(鲁东大学食品工程学院, 山东 烟台 264025)

**摘 要:**以草鱼为原料,以质构变化、加热损失、颜色变化、杂环胺形成量为指标,研究加工方法(炉烤、煎烤、油炸、炭烤)、绿原酸添加量(0.015%、0.030%、0.045%)对草鱼品质的影响。结果表明,添加绿原酸的实验组与对照组相比,硬度、弹性提高( $P<0.05$ ),咀嚼性没有显著影响( $P>0.05$ ),加热损失减少, $L^*$ 值、 $a^*$ 值下降, $b^*$ 值上升( $P<0.05$ )。在这些加工方法中油炸对改善草鱼肉品质的影响最为明显。添加绿原酸使油炸草鱼肉中杂环胺含量显著下降( $P<0.05$ )。经过0.015%绿原酸处理的油炸草鱼杂环胺抑制率超过50%,0.045%绿原酸处理的油炸草鱼杂环胺抑制率达到94.85%。结果表明绿原酸可以抑制加工草鱼中杂环胺的形成,改善其色泽、质构、加热损失,为提高加工食品的品质提供了理论依据。

**关键词:**绿原酸;杂环胺;高温加热;草鱼肉;食用品质

## Effect of Chlorogenic Acid on Qualities of Grass Carp Processed by Different Cooking Methods

LI Junke, SUN Xuemei, LIU Quanwen, TAN Xiaomian  
(College of Food Engineering, Ludong University, Yantai 264025, China)

**Abstract:** In the present experiment, we investigated the effects of cooking method and chlorogenic acid on the quality of grass carp. Four cooking methods were evaluated namely, roasting, pan-frying, deep-fat frying and grilling. Chlorogenic acid was added at levels of 0.015%, 0.030% and 0.045%. Changes in the texture, color, cooking loss, heterocyclic amine formation of fish patties were determined. The results showed that addition of chlorogenic acid significantly increased hardness and elasticity ( $P < 0.05$ ), but had no significant effect on chewiness ( $P > 0.05$ ), and reduced cooking loss. It resulted in a decrease in  $L^*$  and  $a^*$  value and an increase in  $b^*$  ( $P < 0.05$ ). Deep-fat frying could improve the quality of grass carp meat most obviously among these cooking methods. Compared to the control group, the incorporation of chlorogenic acid significantly decreased the content of heterocyclic amines (HCAs) ( $P < 0.05$ ). The inhibitory rate was higher than 50% with the addition of 0.015% chlorogenic acid and it increased up to 94.85% at an addition level of 0.045%. These results suggested chlorogenic acid addition could evidently inhibit the formation of HCAs in grass carp meat during high-temperature cooking, improve the color and texture, and decrease cooking loss, which provides a theoretical basis for improving the quality of processed foods.

**Keywords:** chlorogenic acid; heterocyclic amines; high-temperature cooking; grass carp; eating quality

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190715-196

中图分类号: TS251.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2020) 04-0080-06

引文格式:

李君珂, 孙雪梅, 柳全文, 等. 绿原酸对不同加热方式的草鱼品质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 80-85. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190715-196. <http://www.spkx.net.cn>

LI Junke, SUN Xuemei, LIU Quanwen, et al. Effect of chlorogenic acid on qualities of grass carp processed by different cooking methods[J]. Food Science, 2020, 41(4): 80-85. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190715-196. <http://www.spkx.net.cn>

鱼肉营养丰富,富含多种人体必需氨基酸,是优质的蛋白质来源。经过油炸烧烤热加工的鱼肉香气浓郁、色泽

诱人,备受消费者喜爱。在传统烧烤油炸期间,鱼肉经过高温加热,可产生多种可疑致癌性杂环胺化合物<sup>[1-3]</sup>。杂环

收稿日期: 2019-07-15

基金项目: 烟台市重点研发计划项目(2017ZH059); 鲁东大学引进人才项目(LA2015011)

第一作者简介: 李君珂(1985—)(ORCID: 0000-0002-7058-2486),女,讲师,博士,研究方向为畜产品加工与质量控制。

E-mail: junjunke@163.com

胺化合物, 又称杂环芳香胺化合物(heterocyclic aromatic amines, HAAs), 依据其化学结构和形成方式可将其分为氨基咪唑类化合物(非IQ型杂环胺)和氨基咪唑氮杂芳烃(IQ型杂环胺)。非IQ型杂环胺是蛋白质、氨基酸在加热到300℃以上时热解反应的产物, 而IQ型杂环胺是肉中的还原糖、肌酐及氨基酸在150~300℃范围内加热后的反应产物。毒理学研究表明, 杂环胺在代谢过程中与DNA结合形成新的结合物, 对机体产生致癌或致突变作用<sup>[4-7]</sup>。

肉制品加工过程中炉烤、煎烤和油炸等多种热加工方式均可导致杂环胺的生成, 通过添加外源成分抑制肉制品加工过程中杂环胺的形成是当前研究热点<sup>[8-11]</sup>。天然抗氧化剂具有清除自由基和螯合金属离子的能力<sup>[12-13]</sup>, 通过抑制巯基氧化及蛋白交联的形成有效抑制蛋白质的氧化, 保护肉制品的色泽和质构。廖国周等<sup>[14]</sup>将葡萄籽提取物作用于烤羊肉, 发现其对烤羊肉中极性杂环胺的形成有显著抑制作用( $P<0.05$ )。姚瑶等<sup>[15]</sup>研究了20种市售香辛料对酱牛肉中杂环胺形成的抑制作用, 发现大部分具有抗氧化作用的香辛料对杂环胺的形成有较好的抑制作用。迷迭香提取物中包含迷迭香酸等多种多酚物质, 将0.05%~0.5%的迷迭香提取物添加到牛肉饼中, 可以降低92%的2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-*f*]喹啉(2-amino-3,4-dimethylimidazole[4,5-*f*]quinoline, MeIQ)和85%的2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑[4,5-*b*]吡啶(2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine, PhIP)的生成量<sup>[16]</sup>。Cheng等<sup>[17]</sup>认为, 柚皮素能够显著抑制PhIP的生成。

绿原酸作为强抗氧化物质, 包含脂肪族和芳香烃基团, 是一种广泛分布于果蔬中的水溶性多酚物质<sup>[18-19]</sup>。绿原酸具有抗氧化、抗癌、促进类脂代谢等生理功能<sup>[20-22]</sup>。本实验将绿原酸添加到高温加热的草鱼肉中, 旨在研究绿原酸对高温加热的草鱼肉食用品质及杂环胺形成的影响, 对于降低加工鱼肉中杂环胺含量、提高高温加热鱼肉产品的安全品质具有重要的理论意义和现实意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

草鱼, 购于山东烟台市振华量贩超市。

蒸馏水、食用盐、葵花籽油、木炭; 乙酸乙酯、氢氧化钠、二氯甲烷、盐酸、甲醇、乙酸铵、氨水均为分析纯; 绿原酸标准品(98%, 食品级) 南京泽郎生物科技有限公司。

3种杂环胺内标物: 9*H*-吡啶并[3,4-*b*]吡啶-*D*<sub>7</sub>(Norharman-*D*<sub>7</sub>)、2-氨基-3,4-二甲基咪唑并[4,5-*f*]喹啉-*D*<sub>3</sub>(MeIQ-*D*<sub>3</sub>, CAS No. 82050-11-1)、3-氨基-1-甲基-5*H*-吡啶并[4,3-*b*]吡啶-*D*<sub>3</sub>(3-amino-1-methyl-5*H*-

pyrido[4,3-*b*]indole-*D*<sub>3</sub>, Trp-P-2-*D*<sub>3</sub>), 12种杂环胺标准品: 2-氨基-3-甲基咪唑并[4,5-*f*]喹啉(2-amino-3-methylbenzimidazole[4,5-*f*]quinoline, IQ, CAS No. 76180-96-6)、MeIQ(CAS No. 77094-11-2)、2-氨基-3,8-二甲基咪唑并[4,5-*f*]喹啉(2-amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-*f*]quinoxaline, MeIQx, CAS No. 77500-04-0)、PhIP(CAS No. 105650-23-5)、2-氨基-3,4,8-三甲基咪唑并[4,5-*f*]喹啉(imidazo[4,5-*f*]quinoxalin-2-amine-3,4,8-trimethyl, 4,8-DiMeIQx, CAS No. 95896-78-9)、2-氨基-3,7,8-三甲基咪唑并[4,5-*f*]喹啉(imidazo[4,5-*f*]quinoxalin-2-amine-3,7,8-trimethyl, 7,8-DiMeIQx, CAS No. 92180-79-5)、9*H*-吡啶并[4,3-*b*]吡啶(Norharman, CAS No. 244-63-3)、2-氨基-9*H*-吡啶并[2,3-*b*]吡啶(2-amino-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole, AαC, CAS No. 26148-68-5)、2-氨基-3-甲基-9*H*-吡啶并[2,3-*b*]吡啶(2-amino-3-methyl-9*H*-pyrido[2,3-*b*]indole, MeAαC, CAS No. 68806-83-7)、1-甲基-9*H*-吡啶并[3,4-*b*]吡啶(Harman, CAS No. 486-84-0)、3-氨基-1-甲基-5*H*-吡啶并[4,3-*b*]吡啶(3-amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, Trp-P-2, CAS No. 72254-58-1)、3-氨基-1,4-二甲基-5*H*-吡啶并[3,4-*b*]吡啶(3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole, Trp-P-1, CAS No. 68808-54-8)、3,4-苯并芘标准品(5 μg/mL, 甲醇基体, 含量大于99%) 加拿大Toronto Research Chemicals公司。

### 1.2 仪器与设备

AR223CN电子天平 奥豪斯仪器(上海)有限公司; TQ-8食物切碎机 广东恒联食品机械有限公司; PT10/30 Polytron均质机 上海申鹿均质机有限公司; T3-L326B烤箱、MT2103A电磁炉 美的公司; CT3质构仪 美国Brookfield公司; UPY-111-103制冰机 四川优普超纯科技有限公司; 20A高效液相色谱仪 日本岛津公司; CR-400色差仪 日本Konica Minolta有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品的制备

草鱼去掉鱼头、鱼骨、内脏, 只留鱼肉, 将鱼肉称量、剁碎, 加入4%盐、15%冰水, 斩拌均匀。随后将鱼糜平均分为4份, 其中3份分别加入0.015%、0.030%、0.045%的绿原酸, 斩拌, 成型为宽5 cm, 厚2.5 cm, 质量为50 g的鱼饼; 空白对照组除不加绿原酸外, 其他步骤相同。

参考Khan等<sup>[23]</sup>的方法, 研究在180℃采用4种不同的加工方式测定绿原酸对草鱼中杂环胺的抑制作用, 如表1所示。4种加工方式分别为1) 炉烤: 在温控烤箱中, 样品被放在铁盘中烤制30 min。2) 煎烤: 不粘锅在电磁炉热板上预热至表面温度180℃, 使用葵花籽油保

护肉饼不粘锅。肉饼烤6 min, 每1.5 min换一面。3) 油炸: 在不锈钢商用油炸炉中, 加热葵花籽油到180 °C后放入肉饼油炸4 min (2 min翻面一次), 葵花籽油用量为1:10 (500 mL)。4) 炭烤: 1 kg木炭置于炉子底部, 加入100 mL汽油后, 点燃木炭, 木炭距离样品约10 cm, 每个肉饼每面烧烤10 min, 当所有火焰熄灭后, 耙平木炭。在整个过程中, 不添加其他食品添加剂、盐或辣椒。4个实验中, 每个实验重复3次, 每次3个肉饼。室温冷却, 样品置于4 °C冰箱保存备用。

表1 鱼肉样品的制备  
Table 1 Preparation of fish patty samples

组别	加热方法	绿原酸添加量/%	组别	加热方法	绿原酸添加量/%
1	炉烤	0	9	炉烤	0.030
2	煎烤	0	10	煎烤	0.030
3	油炸	0	11	油炸	0.030
4	炭烤	0	12	炭烤	0.030
5	炉烤	0.015	13	炉烤	0.045
6	煎烤	0.015	14	煎烤	0.045
7	油炸	0.015	15	油炸	0.045
8	炭烤	0.015	16	炭烤	0.045

### 1.3.2 质构测定

采用测定硬度、弹性、咀嚼性3个指标, 判断鱼肉质构的变化。测定参数: 选用P50的探头, 下压样品变形量50%, 测试速率1.0 mm/s, 触发点负载7 g, 数据收集率200点/s<sup>[24]</sup>。

### 1.3.3 颜色变化测定

使用CR-400色差仪测定肉面亮度值 ( $L^*$ )、红度值 ( $a^*$ )、黄度值 ( $b^*$ )。使用标准观测器 (白色瓷砖) 进行色度计的校准, 孔径 $\Phi 8$  mm/ $\Phi 11$  mm。在样品表面随机取3个点, 取平均值。

### 1.3.4 加热损失测定

加热损失计算公式如下:

$$\text{加热损失}/\% = \frac{\text{加热后样品质量}}{\text{加热前样品质量}} \times 100$$

通过以上3个指标的测定, 选择一个最佳的加热方法测定其杂环胺的含量。

### 1.3.5 杂环胺标准曲线的绘制

分别称取3种杂环胺内标物, 用甲醇充分溶解后配制10 mg/L单标溶液。再取1 mL上述3种内标标准溶液用甲醇配成1 mg/L的混合内标工作液, 备用。用甲醇溶液配制12种杂环胺标准品的单标储备液 (质量浓度均为100 mg/L)。再逐步稀释, 将单标储备液配制质量浓度分别为5、10、20、40、80、100、200、500  $\mu\text{g/L}$ 的混合标准工作液, 备用。各质量浓度梯度的混合标准工作液中加入100  $\mu\text{L}$ , 1 mg/L的混合内标工作液, 混合均匀, 按照质量浓度梯度由低到高进样, 测定样品中杂环

胺的含量, 按照徐琦等<sup>[25]</sup>的方法, 稍作修改, 绘制杂环胺溶液标准曲线。

### 1.3.6 杂环胺的提取和纯化

将加工好的草鱼肉切碎, 混合均匀, 取2 g样品研磨并用乙酸乙酯 (10 mL) 和1 mol/L的氢氧化钠溶液 (2 mL) 溶解。将混合物剧烈摇晃混合3 min并以10 000 r/min离心10 min。收集上清液, 并以相同方式将肉块再提取2次, 合并全部上清液。除去存在于离心管底部的沉淀溶液, 在氮蒸气下干燥乙酸乙酯萃取物。随后, 通过加入2 mL二氯甲烷将提取物再溶解。将该过程重复3次, 将6 mL二氯甲烷溶液一起装入预处理的PRS柱中。依次使用6 mL的0.1 mol/L HCl溶液、15 mL甲醇和0.1 mol/L HCl混合溶液 (50:50,  $V/V$ )、2 mL纯净水冲洗PRS柱。上述3种溶液洗出下面收集在管中的氨基咪唑。将收集的溶液用氨水 (0.5 mL) 中和, 并加入预先处理的 $C_{18}$ 柱, 其中含有2 mL甲醇和5 mL蒸馏水用于进一步纯化。在另一个预处理的 $C_{18}$ 柱上再次用乙酸铵 (20 mL, 0.5 mol/L, pH 8.5) 冲洗先前使用的PRS柱, 因为咪唑环类仍保留在PRS柱中。最后, 使用1 mL氨水-甲醇 (1:9,  $V/V$ ) 冲洗两个 $C_{18}$ 柱。收集洗脱液, 混和均匀后过0.22  $\mu\text{m}$ 尼龙微孔滤膜至棕色进样瓶中, 密封保存, 待高效液相色谱-质谱进行分析<sup>[26]</sup>。

### 1.4 统计分析

所有数据用Microsoft Excel进行整理, 利用Origin pro 7.0作图, 用SAS 8.2软件进行统计处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同加热条件下鱼肉的质构变化

表2 不同条件下鱼肉质构的变化  
Table 2 Changes in texture of fish patties with cooking method and chlorogenic acid addition

加热方法	绿原酸添加量/%	硬度/g	弹性/mm	咀嚼性/mJ
炉烤	0	77.73 $\pm$ 1.49 <sup>c</sup>	5.97 $\pm$ 0.25 <sup>c</sup>	5.91 $\pm$ 0.23 <sup>bc</sup>
	0.015	79.24 $\pm$ 1.12 <sup>b</sup>	6.47 $\pm$ 0.18 <sup>bc</sup>	6.04 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>
	0.030	81.47 $\pm$ 1.85 <sup>b</sup>	6.68 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>	5.94 $\pm$ 0.09 <sup>ab</sup>
	0.045	85.16 $\pm$ 1.48 <sup>a</sup>	7.22 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	5.82 $\pm$ 0.19 <sup>c</sup>
油炸	0	77.90 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>	9.34 $\pm$ 0.74 <sup>c</sup>	3.52 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
	0.015	79.48 $\pm$ 1.43 <sup>b</sup>	10.74 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	3.67 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
	0.030	80.54 $\pm$ 2.18 <sup>b</sup>	10.92 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	3.60 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
	0.045	82.19 $\pm$ 2.68 <sup>a</sup>	11.20 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	3.59 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
炭烤	0	88.41 $\pm$ 0.91 <sup>d</sup>	4.75 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	7.55 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
	0.015	91.45 $\pm$ 1.89 <sup>c</sup>	4.93 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	7.62 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
	0.030	94.75 $\pm$ 2.43 <sup>b</sup>	5.06 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	7.59 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>
	0.045	98.47 $\pm$ 2.54 <sup>a</sup>	5.27 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	7.63 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
煎烤	0	88.32 $\pm$ 0.96 <sup>c</sup>	6.34 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>	6.84 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
	0.015	90.13 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	6.91 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	6.78 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
	0.030	91.08 $\pm$ 1.95 <sup>b</sup>	7.25 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>	6.96 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
	0.045	94.12 $\pm$ 1.93 <sup>a</sup>	7.82 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	6.89 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>

注: 同加热方法同列不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。表3同。



如表2所示,添加绿原酸的样品硬度均比空白组高,并且添加量越大,硬度越高。可能是由于绿原酸能与蛋白质发生分子交联作用,使蛋白质不易降解,从而改善凝胶的特性<sup>[27]</sup>,使鱼肉硬度增强。其中空白组硬度最大的是炭烤加热的样品,为88.41 g,这可能是因为炭烤法烟气较大、水分蒸发较多。经绿原酸处理后硬度增大至98.47 g,仍是所有样品中的最大值。所有绿原酸处理的样品中,硬度最低的是0.015%绿原酸处理、炉烤的样品,硬度为79.24 g,这是由于添加绿原酸的量较小,导致样品硬度增加的幅度较小。在0.045%绿原酸处理的样品中,油炸样品硬度最低,为82.19 g,可能是因为油炸使葵花籽油阻隔了空气,水分较好地保留在样品中。同时,绿原酸与蛋白质的交联作用强化了样品的结构,使硬度指标提高。

由表2可以看出,添加绿原酸后,样品的弹性提高,且样品弹性随着绿原酸含量的升高而升高。可能原因是绿原酸的存在降低了样品的加热损失,提高了保水性,同时提高了凝胶的强度。由于水分含量增加,导致样品弹性上升。弹性最大的样品是0.045%绿原酸处理、油炸的样品,弹性达到11.20 mm。

咀嚼性综合反映样品对咀嚼的持续抵抗能力,是一种受硬度、内聚性、弹性3种质构指标影响的综合性指标,直接反映食品的口感<sup>[28]</sup>。绿原酸的添加对食品各种质地指标的影响具有补偿性,使综合表现在咀嚼性上得到平衡。由表2可见,在4种不同的加热方法中,绿原酸的添加均对咀嚼性没有显著影响;只有加热方法对咀嚼性起到一定影响,其中油炸加工的鱼肉咀嚼性最小,炭烤法加工的鱼肉咀嚼性最大,这代表炭烤方法加工得到的样品最耐嚼。

## 2.2 绿原酸对鱼肉色泽的影响

测量每个实验组的3个样品的色度并取其平均值记录,结果如表3所示。色差仪的检测结果显示,  $L^*$  值代表亮度,从0~100代表由黑至白;  $a^*$  值代表红绿轴上的颜色的饱和度,  $a^*$  值越大代表样品颜色越红,  $b^*$  值代表黄蓝轴上的颜色饱和度,  $b^*$  值越大代表样品颜色越黄。空白对照组中,加热方法仅对  $L^*$  值有较大影响,而对  $a^*$  值、 $b^*$  值影响不大。其中  $L^*$  值最大的加热方法为油炸,这代表油炸加工的鱼肉具有较好的明度,  $L^*$  值最小的样品为煎烤样品,即煎烤的样品在空白组中颜色最浅、最苍白。添加绿原酸后,随着绿原酸添加量的上升,  $L^*$  值和  $a^*$  值降低,  $b^*$  值上升,即亮度下降,样本颜色向黄色偏移。当绿原酸添加量增大到0.030%和0.045%时,绿原酸对样品颜色有显著影响 ( $P<0.05$ )。  $a^*$  值减小的可能原因是,高铁肌红蛋白的氧化对加热过程中肉的  $a^*$  值有不利的影响,而绿原酸作为一种天然抗氧化剂,抑制了样品中亚铁血红素的降解和高铁肌红蛋白的生成,起到护色的作用<sup>[16]</sup>。

表3 绿原酸处理对颜色的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Table 3 Effect of chlorogenic acid on color of fish patties ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

加热方法	绿原酸添加量/%	$L^*$	$a^*$	$b^*$
炉烤	0	34.06 $\pm$ 1.07 <sup>a</sup>	9.39 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	11.67 $\pm$ 0.30 <sup>c</sup>
	0.015	33.62 $\pm$ 0.89 <sup>b</sup>	9.15 $\pm$ 0.19 <sup>ab</sup>	13.48 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>
	0.030	32.97 $\pm$ 0.59 <sup>bc</sup>	9.01 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup>	14.09 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>
	0.045	32.28 $\pm$ 0.71 <sup>c</sup>	8.82 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	15.27 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>
油炸	0	37.35 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	11.18 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	16.84 $\pm$ 0.18 <sup>c</sup>
	0.015	36.10 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	10.91 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	16.93 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>
	0.030	35.89 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	10.53 $\pm$ 0.38 <sup>b</sup>	17.03 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>
	0.045	35.22 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>	10.20 $\pm$ 0.17 <sup>c</sup>	17.76 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>
炭烤	0	36.61 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	8.74 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	13.79 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
	0.015	32.28 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	8.21 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	14.06 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
	0.030	30.96 $\pm$ 0.39 <sup>c</sup>	8.03 $\pm$ 0.14 <sup>bc</sup>	14.18 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>
	0.045	29.46 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	7.96 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	14.23 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>
煎烤	0	29.14 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>	10.58 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	17.25 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>
	0.015	28.65 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	10.19 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	17.53 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>
	0.030	27.99 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	9.94 $\pm$ 0.21 <sup>bc</sup>	17.97 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>
	0.045	27.55 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>	9.73 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	18.00 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>

## 2.3 绿原酸对鱼肉加热损失的影响

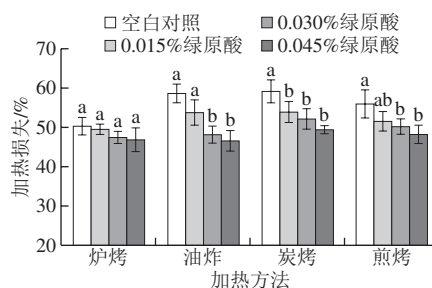


图1 绿原酸对鱼肉加热损失的影响

Fig. 1 Effect of chlorogenic acid on cooking loss of fish patties

如图1所示,在空白组中,几种热加工方式的草鱼平均加热损失为55.86%,加热损失最小的加热方法为炉烤,加热损失最大的为炭烤。这可能是因为炉烤的环境较为封闭,且样品的一面紧贴烤炉,阻止了样品的水分随温度升高而从底面蒸发,而炭烤是一种不直接接触火源的加热方法,因此样品水分散失的面积更大,火焰更难以控制。经绿原酸处理后,各组加热损失都有所下降,随着绿原酸添加量的升高,加热损失逐渐减小。0.045%绿原酸处理的4种样品平均加热损失为47.69%,比对照组平均减少了8.17%。其中,加热损失降低最大的是0.045%绿原酸处理的油炸样品,加热损失减少了11.88%;加热损失降低最小的是同样处理的炉烤样品,仅有3.51%,这可能是因为炉烤的加热损失相比其他3种的加热损失本身就较低,所以受绿原酸影响不明显。

添加绿原酸减少了样品的加热损失,这是因为绿原酸作为抗氧化剂,在蛋白质变性过程中起保护作用,增强了蛋白质的持水性,减少了样品的水分损失<sup>[29]</sup>。研究表明,当温度升高到40℃以上,肌原纤维蛋白开始失

水,肌原纤维间的容积下降,导致肌原纤维的持水能力下降,导致一部分之前被毛细管作用留住的水在加热中流失。最终,在56~62℃之间,因为外肌束膜结缔组织的约束,促进了水从肉切片中的释放<sup>[30]</sup>。

通过以上3个指标的测定,发现油炸方法制得的草鱼有最好的品质。因此,研究此方法下添加不同添加量的绿原酸对油炸草鱼中杂环胺形成的影响。

#### 2.4 绿原酸对鱼肉中杂环胺的影响

绘制12种杂环胺标品的标准曲线,线性方程如表4所示。

表4 标准曲线方程  
Table 4 Standard curve equation

杂环胺	方程	$R^2$
IQ	$Y=0.055\ 963\ 6X$	0.999 9
MeIQ	$Y=0.076\ 121\ 7X$	0.999 8
MeIQx	$Y=0.037\ 969\ 1X$	0.999 8
4,8-DiMeIQx	$Y=0.053\ 826\ 9X$	0.999 5
7,8-DiMeIQx	$Y=0.057\ 457\ 8X$	0.999 5
Trp-P-2	$Y=0.003\ 674\ 2X$	0.999 1
Trp-P-1	$Y=0.017\ 516\ 9X$	0.998 4
PhIP	$Y=0.059\ 061\ 6X$	0.997 1
AαC	$Y=0.005\ 789\ 1X$	0.987 4
Norharman	$Y=0.011\ 933\ 6X$	0.994 8
Harman	$Y=0.019\ 977\ 1X$	0.997 2
MeAαC	$Y=0.008\ 865\ 76X$	0.988 2

测定分别添加0.015%、0.030%、0.045%的绿原酸后油炸草鱼杂环胺含量,计算抑制率(抑制率/%=(空白对照杂环胺含量-样品杂环胺含量之差)/空白对照杂环胺含量×100),并与空白组对照,如表5所示。

表5 绿原酸对杂环胺含量的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )  
Table 5 Effect of chlorogenic acid on HCA content of fish patties ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

杂环胺	空白对照含量/ ( $\mu\text{g/kg}$ )		0.015%绿原酸		0.030%绿原酸		0.045%绿原酸	
	含量/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	抑制率/%	含量/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	抑制率/%	含量/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	抑制率/%	含量/ ( $\mu\text{g/kg}$ )	抑制率/%
IQ	$0.954 \pm 0.110^a$	—	$0.579 \pm 0.117^b$	39.31	$0.304 \pm 0.149^c$	68.13	$0.218 \pm 0.080^d$	77.15
MeIQ	$10.265 \pm 1.326^a$	—	$7.014 \pm 0.965^b$	31.67	$3.951 \pm 0.252^c$	61.51	$2.136 \pm 0.096^d$	79.19
MeIQx	$1.350 \pm 0.632^a$	—	$0.632 \pm 0.148^b$	53.19	$0.469 \pm 0.175^{bc}$	65.26	$0.210 \pm 0.089^d$	84.44
4,8-DiMeIQx	$17.657 \pm 2.742^a$	—	$6.145 \pm 1.013^b$	65.20	$2.631 \pm 0.054^c$	85.10	$1.947 \pm 0.178^d$	88.97
7,8-DiMeIQx	$0.963 \pm 0.148^a$	—	$0.591 \pm 0.092^b$	38.63	$0.213 \pm 0.019^c$	77.88	$0.162 \pm 0.032^d$	83.18
Trp-P-2	—	—	—	—	—	—	—	—
Trp-P-1	$0.225 \pm 0.019$	—	—	—	—	—	—	—
PhIP	$6.331 \pm 1.398^a$	—	$3.377 \pm 0.667^b$	46.66	$1.578 \pm 0.480^c$	75.08	—	—
AαC	—	—	—	—	—	—	—	—
Norharman	$5.741 \pm 1.024^a$	—	$1.942 \pm 0.041^b$	66.17	—	—	—	—
Harman	$6.339 \pm 0.153^a$	—	$3.874 \pm 0.041^b$	38.89	$1.465 \pm 0.334^c$	76.89	—	—
MeAαC	—	—	—	—	—	—	—	—
总量	49.825	—	24.154	51.52	10.611	78.70	2.564	94.85

注:同行不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。—未检出。

绿原酸处理法属于抑制杂环胺生成方法中的添加抑制剂法,通过添加抗氧化剂的方法阻止杂环胺的生成。绿原酸处理的样品中,杂环胺的形成受到抑制。且随绿原酸添加量的增加,杂环胺总量显著降低,抑制率升高。

空白对照组中,生成量最大的杂环胺是4,8-DiMeIQx,达到17.657  $\mu\text{g/kg}$ ,生成量最小的杂环胺是Trp-P-1,含量为0.225  $\mu\text{g/kg}$ 。与此同时,空白对照和添加3种含量绿原酸的草鱼中,IQ型杂环胺的生成量远高于非IQ型杂环胺的生成量,对照组和实验组均未检出Trp-P-2、AαC和MeAαC,可能因为此3种杂环胺属于非IQ型杂环胺,主要生成温度在300℃以上,本实验样品均在180℃条件下处理,导致这些杂环胺缺乏生成条件。前体物质含量较低或比例失衡也有可能是此3种杂环胺含量较低的原因。

受到绿原酸抑制作用最显著的杂环胺是PhIP、Norharman和Harman。Norharman和PhIP在0.030%绿原酸处理时已无法检出,Harman在0.045%绿原酸处理时也低至无法检出的含量。Trp-P-1含量虽经0.015%绿原酸处理后低于检出限,但空白对照中的Trp-P-1的含量本就极低,仅有0.225  $\mu\text{g/kg}$ ,故不能判断其受绿原酸抑制的程度。

添加0.015%绿原酸时,受到绿原酸抑制作用最显著的是Norharman,抑制率达66.17%,受抑制最不明显的是MeIQ,抑制率仅有31.67%。添加0.030%绿原酸时,受抑制作用最大的是Trp-P-1和Norharman,已无法检出,受抑制作用最小的是MeIQ,抑制率为61.51%,同时,PhIP抑制率为75.08%,Harman抑制率达到76.89%。添加绿原酸的量达到0.045%时,超过一半的杂环胺含量都已低于检测限,仅有5种杂环胺还未被完全抑制,抑制率平均可达82.59%,此5种杂环胺分别是IQ、MeIQ、MeIQx、4,8-DiMeIQx和7,8-DiMeIQx,拥有共同的结构喹啉。生成温度较低和前体物质丰富可能是这5种杂环胺难以被完全抑制的原因。

经过0.015%绿原酸处理的油炸草鱼总杂环胺抑制率达到51.52%,0.045%绿原酸处理的草鱼总杂环胺抑制率达到94.85%。绿原酸对IQ型杂环胺的抑制率最高达到了77.15%,对MeIQ、MeIQx、PhIP抑制率分别为31.67%~79.19%、53.19%~84.44%、46.66%~75.08%。

由此看出,添加绿原酸可以有效降低杂环胺的含量及食用热加工肉制品带来的致癌风险,提高热加工肉制品的安全性。

### 3 结论

添加绿原酸对油炸草鱼中杂环胺的形成具有明显抑制作用。随着绿原酸添加量的上升,油炸草鱼杂环胺含量显著降低( $P<0.05$ )。添加0.015%绿原酸使油炸草鱼杂环胺的抑制率超过50%,添加0.045%绿原酸的油炸草鱼杂环胺抑制率达到94.85%。绿原酸对可疑性致癌性杂环胺有明显的抑制作用,其中绿原酸对IQ的

抑制率最高, 达到了77.15%, 对MeIQ、MeIQx、PhIP抑制率分别为31.67%~79.19%、53.19%~84.44%、46.66%~75.08%。添加绿原酸对油炸草鱼的质构特性和表面色泽也有一定影响。因此, 研究绿原酸改善油炸草鱼食用品质和抑制杂环胺的形成具有重要的理论和实践意义。

#### 参考文献:

- [1] QIU Y, CHEN J H, YU W, et al. Contamination of Chinese salted fish with volatile *N*-nitrosamines as determined by QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2017, 232: 763-769. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.04.055.
- [2] 张峰, 吕泉福, 储晓刚, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时测定烤鱼中15种杂环胺含量[J]. 分析化学, 2011, 39(4): 501-505. DOI:10.3724/SP.J.1096.2011.00501.
- [3] SUGIMURA T, WAKABAYASHI K, NAKAGAMA H, et al. Heterocyclic amines: mutagens/carcinogens produced during cooking of meat and fish[J]. Cancer Science, 2004, 95(4): 290-299. DOI:10.1111/j.1349-7006.2004.tb03205.x.
- [4] OZ F, KOTAN G. Effects of different cooking methods and fat levels on the formation of heterocyclic aromatic amines in various fishes[J]. Food Control, 2016, 67: 216-224. DOI:10.1016/j.foodcont.2016.03.013.
- [5] IWASAKI M, KATAOKA H, ISHIHARA J, et al. Heterocyclic amines content of meat and fish cooked by Brazilian methods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2010, 23(1): 61-69. DOI:10.1016/j.jfca.2009.07.004.
- [6] 孟晓霞, 彭增起, 冯云. 煎炸对肉制品中杂环胺及多环芳香烃化合物含量的影响及其控制措施[J]. 肉类研究, 2009, 23(6): 52-55. DOI:10.3969/j.issn.1001-8123.2009.06.014.
- [7] 韩雪, 李可, 赵颖颖, 等. 肉制品加工中杂环胺的形成机制及检测控制的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(10): 268-273. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.201610043.
- [8] 陈炎, 蔡克周, 杨满, 等. 外源成分对肉制品中杂环胺抑制效果的研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(23): 329-333. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201523059.
- [9] ZENG M, WANG J, ZHANG M, et al. Inhibitory effects of Sichuan pepper (*Zanthoxylum bungeanum*) and sanshoamide extract on heterocyclic amine formation in grilled ground beef patties[J]. Food Chemistry, 2018, 239: 111-118. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.06.097.
- [10] TENGILIMOGLU-METIN M M, KIZIL M. Reducing effect of artichoke extract on heterocyclic aromatic amine formation in beef and chicken breast meat[J]. Meat Science, 2017, 134: 68-75. DOI:10.1016/j.meatsci.2017.07.018.
- [11] TENGILIMOGLU-METIN M M, HAMZALIOGLU A, GOKMEN V, et al. Inhibitory effect of hawthorn extract on heterocyclic aromatic amine formation in beef and chicken breast meat[J]. Food Research International, 2017, 99: 586-595. DOI:10.1016/j.foodres.2017.06.044.
- [12] HUSSAIN T, TAN B, RAHU N, et al. Protective mechanism of *Eucommia ulmoides* flavone (EUF) on enterocyte damage induced by LPS[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2017, 108: S40. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.152.
- [13] HAYES J E, STEPANYAN V, ALLEN P, et al. The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems[J]. Meat Science, 2009, 83(2): 201-208. DOI:10.1016/j.meatsci.2009.04.019.
- [14] 廖国周, 王桂瑛, 徐幸莲, 等. 葡萄籽提取物对烤羊肉中杂环胺形成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(6): 98-101. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2011.06.008.
- [15] 姚瑶, 彭增起, 邵斌, 等. 20种市售常见香辛料的抗氧化性对酱牛肉中杂环胺含量的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(20): 4252-4259. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2012.20.015.
- [16] PUANGSOMBAT K, SMITH J S. Inhibition of heterocyclic amine formation in beef patties by ethanolic extracts of rosemary[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(2): 40-47. DOI:10.1111/j.1750-3841.2009.01491.x.
- [17] CHENG K W, WONG C C, CHO C K, et al. Trapping of phenylacetaldehyde as a key mechanism responsible for naringenin's inhibitory activity in mutagenic 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-*b*] pyridine formation[J]. Chemical Research in Toxicology, 2008, 21(10): 2026-2034. DOI:10.1021/tx800220h.
- [18] 杨凯舟. 绿原酸抗氧化活性及其自协同抗氧化机理研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016.
- [19] NAVEED M, HEJAZI V, ABBAS M, et al. Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 97: 67-74. DOI:10.1016/j.biopha.2017.10.064.
- [20] JIANG J, ZHIPENG Z, JING Z, et al. The effect of non-covalent interaction of chlorogenic acid with whey protein and casein on physicochemical and radical-scavenging activity of *in vitro* protein digests[J]. Food Chemistry, 2018, 268: 334-341. DOI:10.1016/j.foodchem.2018.06.015.
- [21] ODUNAYO MICHAEL A, GANIYU O, ADEDAYO OLUWASEUN A, et al. Cardio-protective and antioxidant properties of caffeic acid and chlorogenic acid: mechanistic role of angiotensin converting enzyme, cholinesterase and arginase activities in cyclosporine induced hypertensive rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 109: 450-458. DOI:10.1016/j.biopha.2018.10.044.
- [22] AGUNLOYE O M, OBOH G, ADEMILUYI A O, et al. Cardio-protective and antioxidant properties of caffeic acid and chlorogenic acid: mechanistic role of angiotensin converting enzyme, cholinesterase and arginase activities in cyclosporine induced hypertensive rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 109: 450-458. DOI:10.1016/j.biopha.2018.10.044.
- [23] KHAN I A, LIU D, YAO M, et al. Inhibitory effect of *Chrysanthemum morifolium* flower extract on the formation of heterocyclic amines in goat meat patties cooked by various cooking methods and temperatures[J]. Meat Science, 2019, 147: 70-81. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.08.028.
- [24] 李君珂, 彭增起, 侯芹, 等. 芋头与卡拉胶复配体系对猪肉饼品质的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 76-81. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2017.11.006.
- [25] 徐琦, 杨洪生, 吴光红, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法同时测定鱼类加工品12种杂环胺类化合物[J]. 南方水产科学, 2012, 8(4): 7-15. DOI:10.3969/j.issn.2095-0780.2012.04.002.
- [26] 吕慧超, 彭增起, 刘森轩, 等. 温和条件下模型体系中烧烤风味及杂环胺形成测定[J]. 食品科学, 2015, 36(8): 150-155. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201508027.
- [27] 王正云, 唐劲松, 祁兴普. 竹叶抗氧化物结合气调包装对鱼丸品质的影响[J]. 食品工业科技, 2013, 34(23): 319-322. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2013.23.061.
- [28] DI MONACO R, CAVELLA S, MASI P. Predicting sensory cohesiveness, hardness and springiness of solid foods from instrumental measurements[J]. Journal of Texture Studies, 2008, 39(2): 129-149. DOI:10.1111/j.1745-4603.2008.00134.x.
- [29] SUAREZ-QUIROZ M L, CAMPOS A A, ALFARO G V, et al. Isolation of green coffee chlorogenic acids using activated carbon[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2014, 33(1): 55-58. DOI:10.1016/j.jfca.2013.10.005.
- [30] KHAN I A, LIU D M, YAO M J. Inhibitory effect of *Chrysanthemum morifolium* flower extract on the formation of heterocyclic amines in goat meat patties cooked by various cooking methods and temperatures[J]. Meat Science, 2019, 147: 70-81. DOI:10.1016/j.meatsci.2018.08.028.