

带鱼肌原纤维蛋白氧化过程及其消化特性变化

黄洁友, 李孟华, 冯洁, 张宾, 林慧敏, 张建乔

The Oxidation Process and the Changes of Digestion Characteristics on Myofibrillar Protein of *Trichiurus lepturus*

HUANG Jieyou, LI Menghua, FENG Jie, ZHANG Bin, LIN Huimin, and ZHANG Jianqiao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024060186>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

黄洁友, 李孟华, 冯洁, 等. 带鱼肌原纤维蛋白氧化过程及其消化特性变化 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 1-8. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060186

HUANG Jieyou, LI Menghua, FENG Jie, et al. The Oxidation Process and the Changes of Digestion Characteristics on Myofibrillar Protein of *Trichiurus lepturus*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 1-8. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060186

· 研究与探讨 ·

带鱼肌原纤维蛋白氧化过程及其消化特性变化

黄洁友¹, 李孟华¹, 冯洁¹, 张宾^{1,2}, 林慧敏^{1,*}, 张建乔³

(1. 浙江海洋大学食品与药学院, 浙江舟山 316022;

2. 浙江海洋大学中意比萨海洋研究生学院, 浙江舟山 316022;

3. 浙江恒和食品有限公司, 浙江舟山 316022)

摘要: 将带鱼肌原纤维蛋白置于 4 °C 条件下进行自然氧化 (37 °C 为加速对照组), 通过肌原纤维蛋白含量、羰基、总巯基、游离氨基酸、蛋白二级结构及体外消化率的变化研究带鱼肌原纤维蛋白自然氧化及其消化特性的变化。结果表明: 随着氧化时间的延长, 两个温度条件下氧化的带鱼肌原纤维蛋白含量、巯基含量、羰基含量均发生显著变化 ($P < 0.05$), 第 20 d 蛋白含量由 93.97 mg/mL 降低到 40.15 mg/mL (4 °C)、11.19 mg/mL (37 °C), 巯基含量由 35.99 $\mu\text{mol/g}$ 降低到 24.57 $\mu\text{mol/g}$ (4 °C)、18.23 $\mu\text{mol/g}$ (37 °C), 羰基含量由 1.32 nmol/mg 升高到 3.85 nmol/mg (4 °C)、6.60 nmol/mg (37 °C); 同时, 体外胃消化率先上升后下降, 4 °C 条件下氧化的蛋白在第 18 d 达到最高消化率 69.37%, 37 °C 条件下氧化的蛋白在第 16 d 达到最高消化率 58.31%。蛋白二级结构发生改变, β -转角和 β -折叠相对含量发生显著变化 ($P < 0.05$), β -转角由 37.99% 下降到 28.24% (4 °C)、22.53% (37 °C), 而 β -折叠由 22.54% 升高到 35.80% (4 °C)、43.40% (37 °C), β -折叠含量与体外消化率呈负相关。经过 20 d 的氧化, 游离氨基酸含量显著减少 ($P < 0.05$), 总含量由 9.8940 mg/mL 减少到 0.3132 mg/mL (4 °C)、0.8438 mg/mL (37 °C), 在 37 °C 条件下, 游离氨基酸检出种类减少 6 种。综上, 带鱼肌原纤维蛋白在自然氧化条件下, 其结构发生变化、游离氨基酸含量下降、消化率先上升后下降。温度越高, 氧化发生速率越迅速, 蛋白质氧化程度与体外消化率呈负相关。

关键词: 肌原纤维蛋白, 自然氧化, 消化特性, 游离氨基酸

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)08-0001-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060186

本文网刊:



The Oxidation Process and the Changes of Digestion Characteristics on Myofibrillar Protein of *Trichiurus lepturus*

HUANG Jieyou¹, LI Menghua¹, FENG Jie¹, ZHANG Bin^{1,2}, LIN Huimin^{1,*}, ZHANG Jianqiao³

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Zhongyi Pisa Marine Graduate College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

3. Zhejianghenghefood Limited Liability Company, Zhoushan 316022, China)

Abstract: In order to explore the natural oxidation and the changes of digestion characteristics on myofibrillar protein of *Trichiurus lepturus*, the myofibrillar protein of *Trichiurus lepturus* was subjected to natural oxidation at 4 °C (37 °C was the accelerated control group) through the changes of myofibrillar protein content, sulfhydryl group, total carbonyl group, free amino acids, protein secondary structure and external digestibility. The results showed that with the extension of oxidation time, the contents of myofibrillar protein, carbonyl group and total sulfhydryl group of *Trichiurus lepturus* had significant

收稿日期: 2024-06-13

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD2100504); 浙江省特支计划科技创新项目 (2020R52027); 浙江省基础公益项目 (LTGN24C200008)。

作者简介: 黄洁友 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工, E-mail: huangjieyou@zjou.edu.cn。

* 通信作者: 林慧敏 (1979-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 水产品精深加工, E-mail: lin.huimin@zjou.edu.cn。

changes under two temperature conditions ($P<0.05$). At 20 days, protein content decreased from 93.97 mg/mL to 40.15 mg/mL (4 °C) and 11.19 mg/mL (37 °C), carbonyl content increased from 1.32 nmol/mg to 3.85 nmol/mg (4 °C) and 6.60 nmol/mg (37 °C). The content of total sulfhydryl group decreased from 35.99 $\mu\text{mol/g}$ to 24.57 $\mu\text{mol/g}$ (4 °C) and 18.23 $\mu\text{mol/g}$ (37 °C). At the same time, external digestibility increased and then decreased, the highest digestibility of protein oxidized at 4 °C reached 69.37% at 18 days, and the highest digestibility of protein oxidized at 37 °C reached 58.31% at 16 days. The secondary structure of the protein changed. The relative contents of β -turn and β -fold were significantly changed ($P<0.05$). β -turn decreased from 37.99% to 28.24% (4 °C) and 22.53% (37 °C), while β -fold increased from 22.54% to 35.80% (4 °C) and 43.40% (37 °C). The relative content of β -folds of myofibrillar proteins was negatively correlated with the external digestibility. Through 20 days of oxidation, the content of free amino acids was significantly decreased ($P<0.05$). The content of total amino acid decreased from 9.8940 mg/mL to 0.3132 mg/mL (4 °C), 0.8438 mg/mL (37 °C). The specie of amino acids detected decreased by 6 at 37 °C. In conclusion, the structure of myofibrillar protein of *Trichiurus lepturus* will change, the content of free amino acids would decrease, the external digestibility would increase first and then decrease in the natural oxidation condition. The higher the temperature, the faster the oxidation will occur. The degree of protein oxidation was negatively correlated with the *in vitro* digestibility.

Key words: myofibrillar protein; natural oxidation; digestion characteristics; free amino acid

水产品加工与储藏过程中,蛋白质氧化是一种不可避免的现象^[1]。蛋白质极易受到分子氧自由基或活性氧的侵害,导致其发生氧化变质^[2]。蛋白质经过氧化修饰作用后,其主要表现为结构变异和水解作用,适度氧化可以改善其食用品质和营养品质,而过度氧化则会带来负面影响^[3-4]。蛋白质变性或水解会导致蛋白质天然结构完整性的改变,这些蛋白质理化性质的改变会影响水产品的品质特性,从而造成氨基酸损失,进而导致其消化率下降,影响水产品的营养价值^[5-6]。已有大量的研究模拟不同的氧化体系对于肌原纤维蛋白氧化的影响,如自由基氧化体系(羟自由基、超氧阴离子自由基、烷过氧自由基等)、油脂氧化产物诱导的氧化体系(丙烯醛、丙二醛、亚油酸-脂肪氧化酶等)、高铁肌红蛋白氧化体系^[7-12],但肌原纤维蛋白在无额外化学试剂添加的自然氧化^[13]条件下的变化研究较少。

带鱼(*Trichiurus lepturus*)又名刀鱼、裙带、牙带鱼等^[14],是我国东南沿海产量最高的经济鱼类,2022年带鱼海洋捕捞产量达90.34万吨^[15]。带鱼肉质细腻,味道鲜美,是膳食蛋白质的良好来源^[16]。在加工与贮藏过程中,带鱼肌原纤维蛋白质氧化的现象普遍存在,姜晴晴等^[17]研究发现在模拟羟基自由基氧化体系中,带鱼肌原纤维蛋白质体外消化率在氧化1 h后达到最大值92.09%,随着氧化时间的延长呈现出先上升后下降的趋势。但关于带鱼肌原纤维蛋白自然氧化及其消化特性变化的研究还未见报道,为此,本实验以新鲜舟山带鱼为原料,提取其肌原纤维蛋白,在4 °C条件下自然氧化20 d,并设置37 °C为加速对照实验,通过测定肌原纤维蛋白含量、巯基、氨基、游离氨基酸、蛋白二级结构及体外消化率的变化,观察带鱼肌原纤维蛋白自然氧化规律,并模拟体外胃消化过程,研究自然氧化后肌原纤维蛋白消化率的变化,以为带鱼肌原纤维蛋白自然氧化后消化特性的变化规律提供科学依据,也为水产品的加工与储藏提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜带鱼(体长约70 cm、厚度约1.5 cm、质量约1000 g) 浙江舟山当地水产品市场,将其置于泡沫箱中,采用碎冰充分覆盖,30 min内运回实验室;蛋白质定量测定试剂盒、蛋白质羰基含量试剂盒、总型巯基含量试剂盒 南京建成生物工程研究所;三氯乙酸(分析纯) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、碳酸氢钠、六水氯化镁、碳酸铵、二水氯化钙(分析纯)、溴化钾(光谱纯) 国药集团化学试剂有限公司;蛋白酶(酶活 ≥ 800 U/mg) 上海瑞永生物科技有限公司。

AR224CN电子天平 奥豪斯仪器有限公司; FSH-2 可调高速匀浆机 常州国华电器有限公司; Multi-fuge X1R 高速冷冻离心机 赛默飞世尔(中国)科技有限公司; MDF-U35V 超低温冰箱 日本三洋公司; BCD-286WNQISS1 家用冷藏冷冻箱 苏州三星电子有限公司; DHP-9052 电热恒温培养箱 上海仪天科学仪器有限公司; UV1910 紫外可见分光光度计 上海棱光技术有限公司; LA8080 氨基酸自动分析仪 日本株式会社日立高新技术科学; Nicolet iS50 傅里叶红外光谱仪 美国赛默飞公司。

1.2 实验方法

1.2.1 新鲜带鱼肌原纤维蛋白的提取 参照王悦松等^[18]的方法,稍作修改,取带鱼去皮样品绞碎,加入5倍体积的磷酸盐缓冲液(20 mmol/L, pH7.5),匀浆,离心,留沉淀,重复上述过程一次。沉淀中加入6倍体积NaCl溶液(0.1 mol/L),匀浆,离心,留沉淀。继续向沉淀中加入8倍体积的磷酸盐缓冲液(含0.1 mol/L NaCl),均质,过滤,离心,留沉淀。最后沉淀中加入缓冲液(25 mmol/L磷酸盐缓冲液,含0.6 mol/L NaCl, pH7.0),匀浆后冰浴溶解1 h,超声1 h,纱布过滤去除不溶性部分,离心,取上清液,滤液即为肌原纤维蛋白溶液。上述所有匀浆条件均为

10000 r/min, 匀浆 1 min; 离心条件均为 4 ℃, 12000 r/min, 离心 15 min。

1.2.2 带鱼肌原纤维蛋白的自然氧化分组 将提取的肌原纤维蛋白溶液分为两组, 每组三管, 每管 20 mL, 分别放置于 4 ℃ 冰箱(常见的冷藏温度)与 37 ℃ 恒温培养箱(加速实验对照组)。在 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18 和 20 d 取样品检测相关指标含量。

1.2.3 肌原纤维蛋白含量测定 使用蛋白质定量测定试剂盒进行测定。取 50 μL 蛋白质样品加入 2500 μL 双缩脲试剂, 混匀, 在 37 ℃ 下水浴 10 min, 流水冷却后, 在紫外分光光度计 540 nm 处使用光径 1 cm 的比色皿测定其吸光度值, 双蒸水调零。

1.2.4 羰基含量测定 使用蛋白质羰基含量试剂盒进行测定。取 100 μL 蛋白质样品加入 400 μL 10 mmol/L 的 2,4-二硝基苯肼(DNPH, 对照组加入 2 mol/L HCl, 其余操作相同), 漩涡混匀 1 min, 在 37 ℃ 下避光反应 30 min, 然后加入 500 μL 质量分数为 20% 的三氯乙酸, 在 4 ℃ 下, 以 12000 r/min 离心 10 min, 弃上清液, 留沉淀, 加入 1000 μL 乙酸乙酯:乙醇(V/V=1:1)洗涤沉淀 4 次, 弃上清液, 留沉淀, 加入 1250 μL 盐酸胍溶液(6 mol/L, 溶于 20 mmol/L 磷酸钠缓冲液, pH6.5), 混匀后, 在 37 ℃ 下水浴反应 15 min, 取出漩涡混匀 1 min, 以 12000 r/min 离心 15 min, 取上清液在紫外分光光度计 370 nm 处使用光径 0.5 cm 的比色皿测定其吸光度值, 盐酸胍溶解的牛血清蛋白调零。

1.2.5 巯基含量测定 使用总型巯基含量试剂盒进行测定。采用 ELLMAN 法测定蛋白质溶液的总巯基含量。取 100 μL 蛋白质样品依次加入 900 μL 缓冲液(0.01 mol/L EDTA, 8 mol/L 尿素和 0.1 mol/L K₂HPO₄, pH6.0)、20 μL Ellman 试剂(10 mmol/L DTNB 和 0.01 mol/L KH₂PO₄ 缓冲液, pH6.0)混合, 使用漩涡振荡约 1 min, 37 ℃ 水浴避光条件下静置 20 min, 在紫外分光光度计 412 nm 处使用光径 0.5 cm 的比色皿测定其吸光度值, 双蒸水调零。

1.2.6 游离氨基酸含量测定 参照李鹏鹏等^[19]的方法, 稍作修改, 测定第 0、10、20 d 的肌原纤维蛋白溶液中游离氨基酸的变化。取 2 mL 待测样品, 加入 10 mL 10%(m/v)三氯乙酸进行均质。混合物在 4 ℃、10000 r/min 离心 10 min, 上清液通过 0.22 μm 孔径的滤膜过滤后, 注入到 2 mL 棕色小样瓶中, 使用氨基酸自动分析仪进行测定分析。

1.2.7 蛋白质二级结构测定 参照常海军等^[20]的方法, 稍作修改, 分别称取 1 mg 样品与 100 mg 溴化钾, 将二者混合均匀研磨压片。室温下采用傅里叶红外光谱仪扫描压片谱带, 分辨率为 4 cm⁻¹, 范围为 4000~400 cm⁻¹, 波数精度 0.01 cm⁻¹, 扫描次数为 64 次。使用 Peakfit Version 4.12 拟合 FT-IR 检测所

得波谱图, 进行基线校正、傅里叶去卷积和二阶导数峰拟合, 从而通过各峰相对面积计算出各种构象的相对含量。

1.2.8 蛋白质体外消化率测定 参照林柳^[21]的方法模拟体外消化实验, 稍作修改, 胃液消化液的配制以 100 mL 为例, 称取 0.6 g 胃蛋白酶溶解于 75 mL 胃液模拟液浓缩液中, 再加入 0.05 mL 0.3 mol/L 的 CaCl₂·2H₂O 和 24.95 mL 去离子水, 用 6 mol/L HCl 调节 pH 至 1.5。

$$\text{蛋白质消化率(\%)} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

式中, m₀ 表示消化前肌原纤维蛋白质含量, mg/mL; m₁ 表示经胃消化后的肌原纤维蛋白含量, mg/mL。

1.3 数据处理

数据采用 IBM SPSS Statistics 27 和 Origin 2022 进行处理, 结果用“均值±标准差”表示。采用 LSD 法进行统计学比较, 在 P<0.05 水平上具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 肌原纤维蛋白含量分析

由图 1 可知, 随着氧化时间的延长, 4 ℃ 和 37 ℃ 条件下的带鱼肌原纤维蛋白含量均呈下降趋势, 经过 20 d 的氧化, 蛋白含量分别减少了 57.26%(4 ℃)和 88.08%(37 ℃), 这可能是因为随着氧化时间的积累, 蛋白降解为小分子蛋白, 肽键逐渐断裂, 因此蛋白含量逐渐降低。从第 2 d 开始, 不同温度条件下氧化的带鱼肌原纤维蛋白含量呈现出显著差异性(P<0.05), 第 20 d 时, 4 ℃ 条件下氧化的蛋白含量(40.15 mg/mL)明显高于 37 ℃(11.19 mg/mL), 这可能是因为在此较低的温度下, 蛋白分子运动较为缓慢, 肌原纤维蛋白结构舒展较慢, 保护了隐藏在蛋白质分子内部的肽键^[22], 这说明在自然氧化条件下, 温度是促进氧化的一个主要因素。蒋祎人等^[10]研究油脂氧化产物诱导的氧化体系对于白鲢肌原纤维蛋白的影响, 发现随着丙二醛浓度的上升, 肌原纤维蛋白溶解

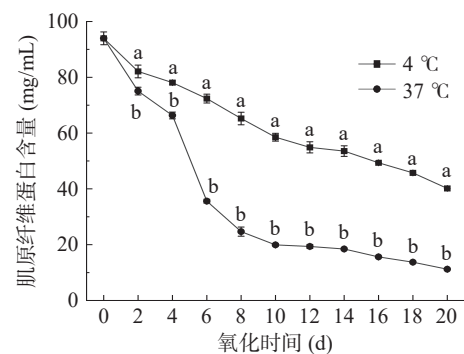


图 1 氧化时间对肌原纤维蛋白含量的影响

Fig.1 Effect of oxidation time on myofibrillar protein content
注: 不同小写字母表示 4 ℃ 和 37 ℃ 下该指标差异显著(P<0.05)。

度下降,丙二醛为 1.00 mmol/L 时,蛋白溶解度下降至 47.75%。而在自然氧化条件下,可能存在多因素诱导蛋白质氧化,如肌原纤维蛋白提取过程中残留的脂质,其氧化产生的自由基诱导蛋白质发生氧化分解^[3],以及蛋白质水解导致肽键逐渐断裂,从而导致蛋白质含量减少。张萌等^[23]研究秦川牛背最长肌在 4 ℃ 条件下自然氧化过程中的变化,发现随着贮藏时间的延长,蛋白质氧化导致肽键骨架断裂,进而导致其含量变化,这与本研究结果一致。

2.2 羰基含量分析

蛋白质的部分侧链氨基酸易氧化成羰基衍生物,因此羰基含量可作为衡量蛋白质氧化程度的敏感指标。由图 2 可知,随着时间的延长,4 ℃ 和 37 ℃ 条件下的蛋白质羰基含量均呈上升趋势,从第 12 d 开始,不同温度条件下氧化的带鱼肌原纤维蛋白羰基含量呈现出显著差异性($P<0.05$),经过 20 d 的氧化,羰基含量分别增加了 65.81%(4 ℃)和 80.03%(37 ℃),可能在氧化时间较短时,蛋白降解为小分子蛋白^[24],暴露出更多最初被隐藏在蛋白质分子内部的侧链氨基酸,从而氧化生成的羰基含量上升。随着进一步氧化,肌原纤维蛋白的结构发生变化,肽键逐渐断裂,游离氨基酸越来越多,氨基酸侧链中的残基暴露,形成新的自由基,引发蛋白质自由基链式反应,产生了大量的羰基基团。从氧化 0 d 起,37 ℃ 的蛋白羰基含量逐渐高于 4 ℃。这可能是在较高的温度下,分子运动较为迅速,自由基反应发生较快,从而产生了较多的羰基^[25]。朱文慧等^[26]模拟自由基氧化体系中发现,随着体系中羟基浓度的增加,更多的羟基攻击氨基酸侧链或肽链,导致秘鲁鲑鱼蛋白中羰基含量不断上升。李学鹏等^[9]模拟油脂氧化产物诱导大黄鱼肌原纤维蛋白氧化中发现,丙烯醛分子中的双键可以与氨基酸侧链基团发生亲核加成反应,从而诱导羰基的形成。在自然氧化条件下,带鱼肌原纤维蛋白羰基含量变化与单一的蛋白氧化模拟体系一致,均呈现上升趋势。

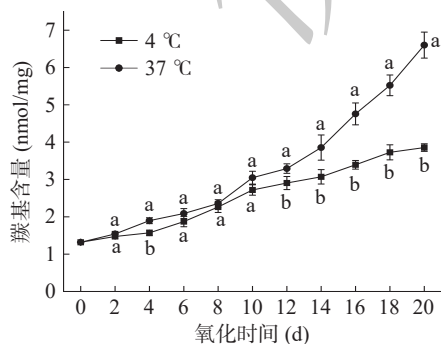


图 2 氧化时间对蛋白质羰基含量的影响

Fig.2 Effect of oxidation time on protein carbonyl content
注:不同小写字母表示 4 ℃ 和 37 ℃ 下该指标差异显著($P<0.05$)。

2.3 巯基含量分析

在蛋白质的结构中,巯基(-SH)具备一种独特的

化学性质,即能够在氧化过程中转化为二硫键(-S-S-),并且随着氧化条件的增强还会衍生出多种非二硫键类的氧化产物,因此巯基含量也可以作为蛋白氧化的一个重要指标。由图 3 可知,随着氧化时间的延长,蛋白巯基含量呈先减少,后增加,再减少的趋势,从第 2 d 开始,不同温度条件下氧化的带鱼肌原纤维蛋白巯基含量呈现出显著差异性($P<0.05$),经过 20 d 的氧化,巯基含量分别减少了 31.78%(4 ℃)和 50.02%(37 ℃)。37 ℃ 条件下,巯基含量在氧化第 6 d 突然增加,这可能是因为肌原纤维蛋白的结构发生变化,暴露出更多隐藏在分子内部的巯基位点,使得检测到的巯基含量增加。4 ℃ 条件下,巯基含量在氧化第 8 d 突然增加,比 37 ℃ 条件下晚 2 d,这可能与温度对分子运动的影响有关。随着氧化时间的积累,巯基发生氧化分解,从而巯基含量降低。从氧化 8 d 起,4 ℃ 条件下的蛋白巯基含量明显高于 37 ℃($P<0.05$),这可能是因为较高的温度下,二硫键的形成速度较快^[27]。这表明,自然氧化条件下,肌原纤维蛋白氧化导致了巯基基团的大量损失,可能是因为巯基被自由基氧化生成二硫键,或者是进一步被氧化生成磺酸类,也可能是其他氧化产物而导致的^[28]。

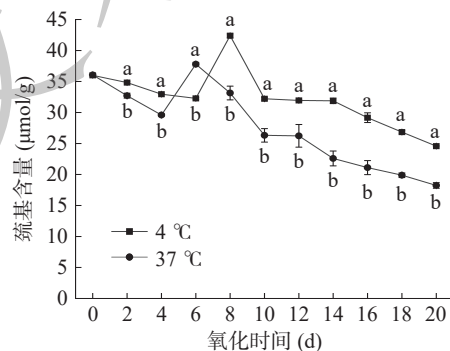


图 3 氧化时间对蛋白质巯基含量的影响

Fig.3 Effect of oxidation time on protein sulfhydryl content
注:不同小写字母表示 4 ℃ 和 37 ℃ 下该指标差异显著($P<0.05$)。

2.4 游离氨基酸含量分析

由表 1 可知,氧化 0 d、10 d(4 ℃、37 ℃)、20 d(4 ℃)的带鱼肌原纤维蛋白中共检出 24 种氨基酸,而氧化 20 d(37 ℃)的带鱼肌原纤维蛋白中检出 18 种氨基酸,未检出天冬氨酸 Asp、丝氨酸 Ser、半胱氨酸 Cys、胱氨酸 Cysthi、组氨酸 His、精氨酸 Arg 这六种游离氨基酸,均检出 8 种必需氨基酸。

带鱼肌原纤维蛋白中总氨基酸量 TAA 分别为 9.8940 mg/mL(0 d)、5.4645 mg/mL(10 d, 4 ℃)、0.3132 mg/mL(20 d, 4 ℃)、7.9516 mg/mL(10 d, 37 ℃)和 0.8438 mg/mL(20 d, 37 ℃),氧化 0 d 的带鱼肌原纤维蛋白中 TAA 含量高于自然氧化的蛋白,且其必需氨基酸 EAA 和非必需氨基酸 NEAA 含量也高于自然氧化的蛋白,其中赖氨酸 Lys(3.2887 mg/

表 1 不同氧化时间带鱼肌原纤维蛋白的氨基酸种类及含量分析(mg/mL)

Table 1 Analysis of the types and contents of free amino acids in myofibrillar protein of *Trichiurus lepturus* with different oxidation time (mg/mL)

氨基酸种类	氧化0 d	4 °C		37 °C	
		氧化10 d	氧化20 d	氧化10 d	氧化20 d
Thr(苏氨酸)*	0.0757±0.0051 ^{aA}	0.0681±0.0023 ^b	0.0003±0.0001 ^c	0.0025±0.0006 ^B	0.0017±0.0002 ^B
Val(缬氨酸)*	0.3072±0.0018 ^{aA}	0.2738±0.0038 ^b	0.0101±0.0011 ^c	0.0630±0.0024 ^C	0.0810±0.0009 ^B
Met(蛋氨酸)*	0.2193±0.0083 ^{aA}	0.1139±0.0026 ^b	0.0040±0.0005 ^c	0.0216±0.0016 ^B	0.1119±0.0012 ^C
Ile(亮氨酸)*	0.1898±0.0090 ^{aA}	0.1648±0.0029 ^b	0.0085±0.0003 ^c	0.0357±0.0013 ^C	0.0754±0.0017 ^B
Leu(异亮氨酸)*	0.1844±0.0037 ^{aA}	0.1742±0.0024 ^b	0.0101±0.0011 ^c	0.0759±0.0017 ^C	0.1124±0.0023 ^B
Phe(苯丙氨酸)*	0.3575±0.0136 ^{aA}	0.2168±0.0064 ^b	0.0071±0.0003 ^c	0.0814±0.0002 ^B	0.0305±0.0013 ^C
Lys(赖氨酸)*	3.2887±0.0594 ^{aB}	1.4968±0.0077 ^b	0.0025±0.0002 ^c	3.8520±0.0626 ^A	0.0013±0.0004 ^C
Trp(色氨酸)	0.2634±0.0090 ^{aB}	0.2107±0.0075 ^b	0.0172±0.0001 ^c	1.2406±0.0155 ^A	0.1343±0.0041 ^C
Tau(牛磺酸)	0.1525±0.0033 ^{aA}	0.0905±0.0020 ^b	0.0033±0.0004 ^c	0.0242±0.0010 ^B	0.0036±0.0004 ^C
Asp(天冬氨酸)	0.0770±0.0024 ^{aA}	0.0753±0.0020 ^a	0.0008±0.0001 ^b	0.0110±0.0010 ^B	-
Ser(丝氨酸)	0.0704±0.0007 ^{aA}	0.0635±0.0018 ^b	0.0002±0.0001 ^c	0.0036±0.0004 ^B	-
Glu(谷氨酸)	0.0984±0.0005 ^{aA}	0.0850±0.0010 ^b	0.0205±0.0001 ^c	0.0130±0.0004 ^C	0.0734±0.0042 ^B
Sar(肌氨酸)	0.1762±0.0041 ^{aA}	0.1338±0.0034 ^b	0.0001±0.0001 ^c	0.0263±0.0053 ^B	0.0007±0.0006 ^C
Gly(甘氨酸)	0.1320±0.0011 ^{aA}	0.0325±0.0008 ^b	0.0025±0.0002 ^c	0.0113±0.0007 ^C	0.0895±0.0008 ^B
Ala(丙氨酸)	0.1498±0.0009 ^{aA}	0.0801±0.0012 ^b	0.0074±0.0004 ^c	0.0106±0.0002 ^C	0.0236±0.0034 ^B
Cit(瓜氨酸)	0.1276±0.0121 ^{aA}	0.0831±0.0008 ^b	0.0006±0.0002 ^c	0.1069±0.0057 ^B	0.0087±0.0006 ^C
Cys(半胱氨酸)	0.2335±0.0068 ^{aA}	0.2404±0.0248 ^a	0.0024±0.0005 ^b	0.0928±0.0029 ^B	-
Cysthi(胱氨酸)	0.2536±0.0013 ^{aA}	0.1486±0.0008 ^b	0.0003±0.0001 ^c	0.2205±0.0022 ^B	-
Tyr(酪氨酸)	0.2207±0.0073 ^{aA}	0.2257±0.0040 ^a	0.0040±0.0001 ^b	0.1366±0.0009 ^B	0.0055±0.0005 ^C
His(组氨酸)	0.4720±0.0079 ^{aA}	0.1565±0.0018 ^b	0.0015±0.0003 ^c	0.4428±0.0125 ^B	-
Arg(精氨酸)	0.2896±0.0114 ^{aB}	0.1709±0.0012 ^b	0.0001±0.0001 ^c	0.3265±0.0020 ^A	-
Orn(鸟氨酸)	0.4303±0.0007 ^{aB}	0.1720±0.0054 ^b	0.0009±0.0001 ^c	0.7120±0.0043 ^A	0.0067±0.0002 ^C
Asn(天冬酰胺)	0.0441±0.0024 ^{aB}	0.0359±0.0026 ^b	0.0028±0.0000 ^c	0.2137±0.0091 ^A	0.0238±0.0018 ^C
Pro(脯氨酸)	2.0805±0.0326 ^{aA}	0.7116±0.0078 ^b	0.2059±0.0033 ^c	0.2272±0.0084 ^B	0.0600±0.0004 ^C
TAA	9.8940±0.0464	5.4645±0.3660	0.3132±0.0040	7.9516±0.0762	0.8438±0.0057
EAA	4.6225±0.1009	2.5084±0.0281	0.0426±0.0034	4.1320±0.0703	0.4142±0.0079
NEAA	5.2716±0.1044	2.9561±0.4834	0.2706±0.0057	3.8196±0.0722	0.4297±0.0170
EAA:TAA(%)	46.7205	45.9036	13.5943	51.9649	49.0875
EAA:NEAA(%)	87.6871	84.8559	15.7329	108.1791	96.3973

注: *为必需氨基酸; -表示未检出(<0.0001); 总氨基酸(total amino acid, TAA); 必需氨基酸(essential amino acid, EAA); 非必需氨基酸(non-essential amino acid, NEAA)。所有数据表示平均值±标准差(n=3), 同一行不同小写字母表示4 °C该氨基酸差异显著(P<0.05), 不同大写字母表示37 °C该氨基酸差异显著(P<0.05)。

mL)和脯氨酸 Pro(2.0805 mg/mL)含量最高。这表明, 自然氧化导致肌原纤维蛋白的游离氨基酸组成变化及含量降低等营养损失。经过 20 d 的氧化, TAA、EAA 和 NEAA 分别减少了 96.83%、99.08%、94.87% (4 °C)和 91.47%、91.04%、91.85%(37 °C)。

37 °C 条件下氧化的蛋白质其 TAA、EAA 和 NEAA 含量均高于 4 °C, 这可能是因为较高温度下, 氧化作用会更加剧烈, 蛋白质肽键水解程度越高, 氨基酸侧链发生不可逆氧化修饰, 但同时, 游离氨基酸氧化分解程度也越高^[29]。大量氨基酸的氧化导致羰基和其他衍生物的形成, 这与本研究蛋白质氧化指标的结果一致。

4 °C 条件下, 不同游离氨基酸含量均随着氧化时间的延长而逐渐减少。37 °C 条件下, 大部分游离氨基酸含量随着氧化时间的延长而减少, 某些游离氨基酸含量出现波动, 六种游离氨基酸未检出, 这可能是因为氨基酸在较高温度下的稳定性差异^[30], 特别是

对于热稳定性较差的氨基酸(如 His、Cys 和 Cystine), 高温可能加速其氧化, 氧化作用产生活性氧自由基, 加速蛋白质分解, 导致更多的游离氨基酸被释放出来, 某些氨基酸(如 Cys)容易发生氧化反应, 生成氧化产物, 这些产物在检测时可能无法被识别为原氨基酸, 或者其检测信号被掩盖。同时因为某些特定氨基酸(如 Met)会选择优先进行氧化反应, 通过这些具有抗氧化潜力的氨基酸主动清除自由基, 从而有效地为其他更为敏感的氨基酸提供保护, 进而在整体层面上发挥抗氧化效应, 所以 37 °C 条件下自然氧化的蛋白质其游离氨基酸含量较高, 但种类有所减少^[31]。

2.5 蛋白质二级结构分析

如图 4, 随着氧化时间的延长, 蛋白质二级结构的比例发生了显著变化, α -螺旋和 β -转角向 β -折叠和无规卷曲转换, 经过 20 d 的氧化, β -折叠的百分含量显著上升(P<0.05), 分别增加了 58.83%(4 °C)、

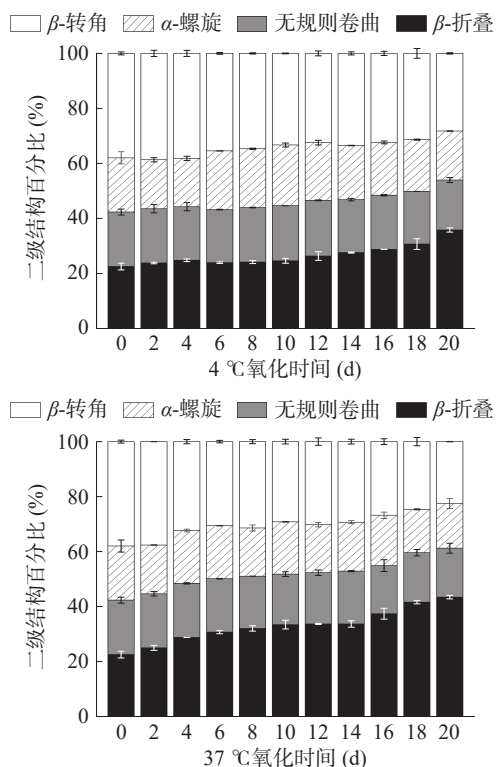


图4 氧化对肌原纤维蛋白二级结构的影响

Fig.4 Effect of oxidation on secondary structure of myofibrillar protein

92.56%(37℃)。 β -转角、 α -螺旋和无规卷曲的百分含量逐渐下降, β -转角分别减少了9.76%(4℃)、15.46%(37℃), α -螺旋分别减少了9.49%(4℃)、17.45%(37℃),无规卷曲分别减少了8.26%(4℃)、9.93%(37℃)。这说明自然氧化条件对带鱼肌原纤维蛋白的二级结构产生了较大的影响, β -转角、 α -螺旋和无规卷曲均转化成 β -折叠,基于这4种次级结构的特性, β -转角显著减少的原因可能是氧化导致蛋白质中一些氨基酸侧链上的残基与自由基发生氧化修饰,从而使原本稳定的 β -转角结构变得不稳定,在这种情况下, β -转角转变为其他更稳定的结构,如 β -折叠。 β -折叠显著增加的原因可能是氧化导致蛋白质中的硫含量较高的氨基酸(如蛋氨酸、胱氨酸和半胱氨酸等)的硫原子发生氧化,从而形成二硫键,这种二硫键可能促进 β -折叠的形成。氧化还可能导致蛋白质中的氨基酸残基发生交联反应,形成新的共价连接或氢键结构,这些新的连接方式可能会导致蛋白质结构的改变,从而影响 β -折叠和 β -转角的相对含量^[32-33]。 β -折叠和 β -转角这种相对变化可能是因为两者的结构均含有大量的氧化敏感的氨基酸,比如半胱氨酸和赖氨酸。当这些氨基酸发生氧化时,其构象也会发生改变,导致 β -折叠相对含量显著增加、 β -转角相对含量显著减少。而 α -螺旋和无规卷曲含有的氧化敏感氨基酸相对较少,因此其结构变化不明显。此外,有研究表明, β -折叠含量与体外消化率呈负相关,二硫键与体外消化率呈负相关^[24,34],这与本研究蛋白质氧化指标的结果一致。

2.6 蛋白质体外消化率分析

由图5可知,在模拟体外消化实验中,带鱼肌原纤维蛋白含量变化随氧化时间延长均呈下降趋势。前1h的体外消化,蛋白质含量急剧下降,占到消化阶段蛋白总消化率的60%~90%(4℃)和40%~80%(37℃)。这可能是因为模拟体外消化实验中的消化液、酶等物质是在实验开始时一次性加入的,因此在反应起始阶段,底物与酶之间能够达到充分的接触,蛋白质急剧减少。后1h的体外消化,消化率均下降,这可能是因为氧化蛋白在胃消化阶段逐渐到达反应的饱和点^[21]。

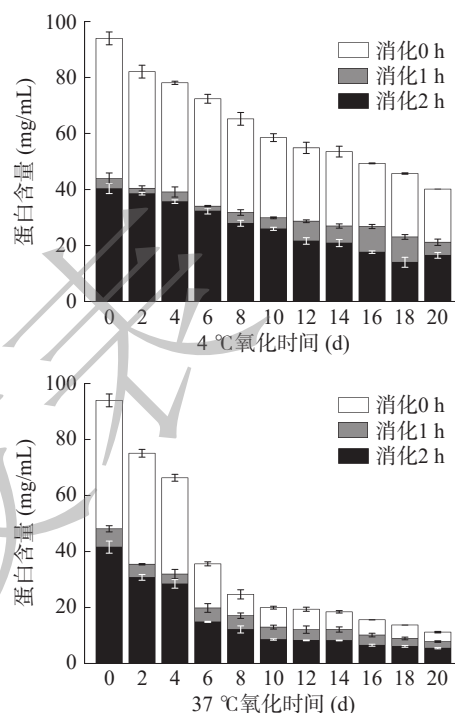


图5 氧化肌原纤维蛋白在体外消化阶段的含量变化

Fig.5 Changes of oxidized myofibrillar protein content during simulated digestion

37℃条件下氧化的蛋白质的消化率总体低于4℃,这可能是因为较高的温度下,蛋白质氧化程度更高,蛋白质结构发生氧化修饰,蛋白酶的识别位点发生改变,使蛋白酶的水解敏感性降低,从而导致蛋白质消化率下降^[35]。

从消化样品来看,随着氧化时间的延长,蛋白质的消化率先上升后下降,这可能是因为氧化前期,蛋白质空间结构的改变有助于蛋白酶的识别,而氧化后期,过度的氧化导致蛋白质消化率下降^[17],这可能是因为随着氧化时间的增加,蛋白质氧化所产生羰基化、羟基化等氨基酸侧链修饰,以及蛋白质之间的交联聚合反应使蛋白质对消化酶的敏感性降低,造成蛋白质消化率下降^[36]。

3 结论

本研究发现在自然氧化条件下,较高的温度加速了带鱼肌原纤维蛋白氧化的发生。在4℃和37℃条件下,肌原纤维蛋白检测指标变化趋势相似,蛋白

含量逐渐下降,羰基含量逐渐上升,巯基含量先下降后上升再下降;同时,肌原纤维蛋白的体外消化率逐渐下降,游离氨基酸含量也呈减少趋势,尤其在较高的氧化温度下,游离氨基酸的种类减少更为显著。值得注意的是, β -折叠含量的增加与体外消化率的降低呈现负相关,这表明氧化程度较高的蛋白质其消化率会有所下降。这一发现为进一步研究氧化对蛋白质三级结构和高级结构的影响,以及氧化对蛋白质其他功能(如粘附和信号传导)的影响提供了重要的线索。

本研究从消化特性的角度探讨了蛋白质氧化后引起的变化,研究结果为带鱼及其副产品实际生产中控制蛋白质氧化及其影响提供了科学依据,对于优化带鱼及其副产品加工条件、延长保质期以及提升食品营养品质具有重要的指导意义。例如,在贮藏运输过程中控制温度,以减少肌原纤维蛋白的氧化损失,提高带鱼营养品质。然而,本研究尚存在一些难以解决的问题,如不同种类蛋白质在氧化过程中的具体差异、氧化过程中其他可能影响蛋白质营养价值的因素、氧化产物的鉴定等,未来研究可以进一步探讨这些问题,以期为带鱼及其副产品的开发生产提供更为全面的理论支撑和实践指导。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] N M L, MARINA H, P C B, et al. Protein oxidation in muscle foods: A review[J]. *Molecular Nutrition Food Research*, 2011, 55(1): 83–95.
- [2] 袁凯,张龙,谷东陈,等. 肉品中的蛋白质氧化机制及其影响因素[J]. *食品科学*, 2018, 39(5): 329–335. [YUAN K, ZHANG L, GU D C, et al. A review of mechanisms and factors affecting protein oxidation in meat[J]. *Food Science*, 2018, 39(5): 329–335.]
- [3] 胡春林,谢晶. 蛋白质氧化对肉食品品质影响的研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(17): 275–281. [HU C L, XIE J. Progress in understanding the effect of protein oxidation on the eating quality of meat[J]. *Food Science*, 2021, 42(17): 275–281.]
- [4] RUBÉN D, MIRIAN P, S. E P M, et al. Protein oxidation in muscle foods: A comprehensive review[J]. *Antioxidants*, 2021, 11(1): 60–60.
- [5] ESTEVEZ M, GERAERT P A, LIU R, et al. Sulphur amino acids, muscle redox status and meat quality: More than building blocks-Invited review[J]. *Meat Science*, 2020, 163: 108087.1–108087.15.
- [6] SOLADOYE O, JUÁREZ M, AALHUS J, et al. Protein oxidation in processed meat: mechanisms and potential implications on human health[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2015, 14(2): 106–122.
- [7] 李学鹏,周凯,周明言,等. 自由基氧化对大黄鱼肌原纤维蛋白交联和聚集的影响[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(4): 13–21. [LI X P, ZHOU K, ZHOU M Y, et al. Effects of radical oxidation on the cross-linking pattern of myofibrillar protein in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. *Journal of Chinese Institute of*

- Food Science and Technology*, 2015, 15(4): 13–21.]
- [8] 周明言. 蛋白质氧化对草鱼肌原纤维蛋白凝胶性质的影响[D]. 锦州:渤海大学, 2017. [ZHOU Y M. Effect of protein oxidation on the gel properties of myofibrillar protein of grass carp[D]. Jinzhou: Bohai University, 2017.]
- [9] 李学鹏,王祺,周凯,等. 丙烯醛氧化对大黄鱼肌肉组织和肌原纤维蛋白结构性质的影响[J]. *现代食品科技*, 2014, 30(10): 1–7. [LI X P, WANG Q, ZHOU K, et al. Effects of acrolein oxidation on muscle structure and myofibrillar protein structural properties in large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*) [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2014, 30(10): 1–7.]
- [10] 蒋祎人,李涛,刘友明,等. 丙二醛氧化修饰对白鲢肌原纤维蛋白结构性质的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(6): 1–7. [JIANG Y R, LI T, LIU Y M, et al. Effect of malondialdehyde-induced protein oxidation on structural properties of myofibrillar protein from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. *Food Science*, 2020, 41(6): 1–7.]
- [11] 杨玉玲,周磊,游远,等. 氧化对肌原纤维蛋白热诱导凝胶质构特性及保水性的影响[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(18): 3570–3581. [YANG Y L, ZHOU L, YOU Y, et al. The effects of oxidation on textural properties and water holding capacity of heat-induced myofibrillar protein gel [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(18): 3570–3581.]
- [12] L Y X, DONKEUN P, TOORU O. Variation in the cross-linking pattern of porcine myofibrillar protein exposed to three oxidative environments [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(1): 153–159.
- [13] 谢传奇,王瑶珺,陈娅娜,等. 表没食子儿茶素没食子酸酯(E GCG)自然氧化产物的分析[J]. *西南农业学报*, 2017, 30(9): 1958–1963. [XIE C Q, WANG Y J, CHEN Y N, et al. Analysis of Epigallocatechin gallate normal oxidation products [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 30(9): 1958–1963.]
- [14] LIU J, SHAO Y, YUAN C, et al. Eugenol-chitosan nanoemulsion as an edible coating: Its impact on physicochemical, microbiological and sensorial properties of hairtail (*Trichiurus haumela*) during storage at 4 °C [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 183: 2199–2204.
- [15] 农业农村部渔业渔政管理局. 中国渔业统计年鉴-2023[M]. 北京:中国农业出版社, 2023. [National Aquatic Technology Extension Station of Fishery Administration of Ministry of Agriculture and Rural Affairs. China fishery statistical yearbook 2023 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2023.]
- [16] SHAIMAA H, KILIAN J K, WENHUA M, et al. Atmospheric cold plasma: A new approach to modify protein and lipid properties of myofibrillar protein isolate from hairtail (*Trichiurus leP-turus*) fish [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 102(5): 2041–2049.
- [17] 姜晴晴,鲁璐,胡玥,等. 羟基自由基氧化体系对带鱼蛋白理化性质的影响[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(5): 116–123. [JIANG Q Q, LU J, HU Y, et al. Effect of a hydroxyl radical-generating system on the characteristics of proteins from hairtail (*Trichiurus haumela*) [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2015, 31(5): 116–123.]
- [18] 王悦松,刘香玲,李学鹏,等. 白藜芦醇对鲢鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(12): 42–49. [WANG Y S, LIU X L, LI X P, et al. Effect of resveratrol on gel properties of silver carp myofibrillar protein [J]. *Food Science*, 2023, 44(12): 42–49.]
- [19] 李鹏鹏,温丽敏,吕经秀,等. 不同养殖模式克氏原螯虾

- (*Procambarus clarkii*)游离氨基酸的主成分分析及综合评价[J]. *食品科学*, 2023, 44(16): 284-291. [LI P P, WEN L M, LÜ J X, et al. Principal component analysis and cluster analysis for evaluating free amino acids in crayfish (*Procambarus clarkii*) from different co-culture modes[J]. *Shipin Kexue*, 2023, 44(16): 284-291.]
- [20] 常海军, 伯朝英, 石源伟, 等. 姜黄素对羟自由基诱导的肌原纤维蛋白氧化及结构的影响[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(11): 74-83. [CHANG H J, BO Z Y, SHI Y W, et al. Effects of curcumin on oxidation and structure of myofibrillar protein induced by hydroxyl radical[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(11): 74-83.]
- [21] 林柳. 鱼头汤中微/纳胶粒的体外消化特性及其影响因素研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021. [LIN L. Digestion characteristics *in vitro* of micro/nanosized colloidal particles in fish head soups and its influence factors[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021.]
- [22] 张燕, 李升升, 赵立柱, 等. 烹饪温度对牦牛肉蛋白质氧化和体外消化特性的影响[J]. *食品科学*, 2024, 45(2): 9-16. [ZHANG Y, LI S S, ZHAO L Z, et al. Effect of cooking temperature on protein oxidation and *in vitro* digestive properties of yak meat[J]. *Food Science*, 2024, 45(2): 9-16.]
- [23] 张萌, 马思丽, 李亚蕾, 等. 贮藏期间蛋白质氧化对牛肉品质的影响[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(7): 327-336. [ZHANG M, MA S L, LI Y L, et al. Effect of protein oxidation on beef quality during storage[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, 23(7): 327-336.]
- [24] 王发祥, 李强, 俞健, 等. 草鱼冷藏过程中肌肉蛋白质结构特征的变化[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(6): 196-199. [WANG F X, LI Q, YU J, et al. Changes in structural properties of muscle protein in grass carp during cold storage[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2015, 41(6): 196-199.]
- [25] 李南, 李蛟龙, 李鹏鹏, 等. 加工对肉类蛋白质氧化及肉品质影响的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(15): 392-399. [LI N, LI J L, LI P P, et al. Research Progress on the Effects of Processing Conditions on the Meat Protein Oxidation and Meat Quality[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(15): 392-399.]
- [26] 朱文慧, 宦海珍, 李月, 等. 蛋白氧化对秘鲁鱿鱼肌肉品质及其结构的影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(17): 25-29, 37. [ZHU W H, HUAN H Z, LI Y, et al. Effects of protein oxidation on quality and structure of *Dosidicus gigas* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(17): 25-29, 37.]
- [27] 沈妮. 带鱼低温贮藏蛋白氧化、组织蛋白酶活性及鱼肉质地结构的变化规律[D]. 杭州: 浙江大学, 2019. [SHEN N. Protein oxidation, cathepsin activity, texture and structure of muscle change of hairtail during low-temperature storage[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.]
- [28] 张海萍, 余小月, 程梦颖, 等. 羟自由基氧化对鲢鱼肌原纤维蛋白凝胶特性的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(6): 9-16. [ZHANG H P, YU X Y, CHEN M Y, et al. Effect of hydroxyl radical-induced oxidation on gel properties of silver carp myofibrillar protein[J]. *Food Science*, 2023, 44(6): 9-16.]
- [29] 刘昊天, 殷小钰, 汪海棠, 等. 基于蛋白氧化行为的肉及肉制品品质提升及劣变机制研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 230-237. [LUI H T, YIN X Y, WANG H T, et al. Quality improvement and deterioration of meat and meat products based on the protein oxidation: A review of recent research[J]. *Food Science*, 2020, 41(21): 230-237.]
- [30] CHAKRAVARTY S, VARADARAJAN R. Elucidation of determinants of protein stability through genome sequence analysis[J]. *FEBS Letters*, 2000, 470(1): 65-69.
- [31] ESTEVEZ M, KYLLI P, PUOLANNE E, et al. Fluorescence spectroscopy as a novel approach for the assessment of myofibrillar protein oxidation in oil-in-water emulsions[J]. *Meat Science*, 2008, 80(4): 1290-1296.
- [32] 常莉莉, 王璇琳, 刘祉好, 等. 不同水分含量对自热后烤制带鱼品质影响的比较分析[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(3): 143-151, 327. [CHANG L L, WANG A L, LIU Z Y, et al. Comparative analysis of the effects of different moisture contents on the quality of self-heating grilled *Trichiurus haumela* [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2022, 38(3): 143-151, 327.]
- [33] 赵文秀, 杜瑞, 罗瑞明, 等. RNS介导的氧化机制对肉品质的影响研究进展[J/OL]. *食品科学*: 1-14[2025-01-17]. [ZHAO W X, DU R, LUO R M, et al. Research progress on the effect of RNS-regulated oxidative stability on meat quality[J/OL]. *Food Science*: 1-14[2025-01-17].]
- [34] YANG Yong, WANG Zhongjiang, WANG Rui, et al. Secondary structure and subunit composition of soy protein *in vitro* digested by pepsin and its relation with digestibility[J]. *BioMed Research International*, 2016, 2016: 5498639.
- [35] ZHAO Jie, SU Guowan, ZHAO Mouming, et al. Physicochemical changes and *in vitro* gastric digestion of modified soybean protein induced by lipoxygenase catalyzed linoleic acid oxidation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(50): 13978-13985.
- [36] 黄琳琳, 张一敏, 朱立贤, 等. 蛋白质氧化和翻译后修饰对肉品质的影响及机制研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(9): 241-247. [HUANG L L, ZHANG Y M, ZHU L X, et al. Advances in research of the effects and mechanisms of protein oxidation and post-translational modification on meat quality[J]. *Food Science*, 2021, 42(9): 241-247.]