



草鱼肌肉脂肪酸组成及其在冷藏中的含量变化

刘冬敏，王建辉，刘永乐^{*}，王发祥，李向红，俞健，成媛媛，刘小芳
(长沙理工大学化学与生物工程学院食品与生物工程系，湖南长沙 410114)

摘要：采用气相色谱-质谱法研究草鱼肌肉脂肪酸组成及其在2~4℃冷藏条件下的变化。结果表明，草鱼肌肉脂肪中不饱和脂肪酸含量较高；饱和脂肪酸(SFA):单不饱和脂肪酸(MUFA):多不饱和脂肪酸(PUFA)的比值为1.08:2.19:1, ω -6/ ω -3 PUFA的比值为5.65:1, 符合中国营养学会推荐的脂肪酸摄入标准；冷藏过程中，草鱼肌肉总脂肪含量逐渐下降，MUFA和PUFA的相对含量逐渐减少，SFA的相对含量逐渐增多，脂肪酸的降解速率及程度与脂肪酸的不饱和程度呈正相关；脂肪酸的降解与其结构类型有关， ω -3型PUFA降解比 ω -6型PUFA更早，但 ω -6型PUFA的降解速率更快；部分长链多不饱和脂肪酸(LPUFA)随冷藏时间的延长相对含量略微增加。因此，控制草鱼肌肉脂肪酸在冷藏过程中的降解有利于维持鱼肉制品的营养价值，延长其货架期。

关键词：冷藏；草鱼肌肉；脂肪酸；气相色谱-质谱法

Changes in Fatty Acid Composition during Cold Storage of Fresh Grass Carp Muscle

LIU Dong-min, WANG Jian-hui, LIU Yong-le^{*}, WANG Fa-xiang, LI Xiang-hong, YU Jian, CHENG Yuan-yuan, LIU Xiao-fang
(Department of Food and Bioengineering, School of Chemistry and Bioengineering, Changsha University of Science and Technology,
Changsha 410114, China)

Abstract: The fatty acid composition of fresh grass carp muscle and its changes during cold storage at 2~4℃ were analyzed by GC-MS. Fresh grass carp muscle was found to be rich in unsaturated fatty acids and its ratio of short chain fatty acids (SFA) to mono-unsaturated fatty acids (MUFA) to poly-unsaturated fatty acids (PUFA) and ratio of ω -6 PUFA to ω -3 PUFA were 1.08:2.19:1 and 5.65:1, respectively, meeting the fatty acid intake requirements recommended by Chinese Nutrition Society. Total fatty acid content of grass carp muscle and the relative contents of MUFAs and PUFAs gradually declined during cold storage, whereas relative SFA content gradually increased. In addition, there was a positive correlation between the rate and extent of fatty acid degradation and their extent of unsaturation. The degradation of fatty acids in grass carp muscle was associated with their structures. ω -3 PUFAs were degraded earlier but more slowly than ω -6 PUFAs. The relative contents of some long chain unsaturated fatty acids (LPUFA) slightly increased with increasing storage time. These results indicate that the nutritive value of fish products can be maintained and their shelf life can be prolonged by suppressing the degradation of fatty acids in grass carp muscle during cold storage.

Key words: cold storage; grass carp muscle; fatty acids; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号：TS201.6; TS207.4

文献标志码：A

文章编号：1002-6630(2013)02-0194-05

草鱼是我国的“四大家鱼”之一，也是我国重要的淡水经济鱼类。其肉质鲜嫩、营养丰富，是一种优质的动物蛋白质资源^[1]。然草鱼肌肉组织脆弱，含水分和不饱和脂肪酸较多，在加工、储运过程中容易腐败变质，影响其营养价值及加工品质^[2-3]。对于冷藏鱼类，脂肪的降解是造成其质量下降的主要原因之一^[4]。脂肪氧化产生的醛、酮等有机化合物不仅会使草鱼产生刺激性气味、苦

涩味，降低鱼肉的食用品质和营养价值，还会诱发鱼肉蛋白质的变性，从而给相关加工业造成损失^[5-6]。氧化严重时，一些次级氧化产物与鱼体内氨基酸、糖类等起作用，产生有毒物质，危及人体健康^[7-8]。研究表明，脂肪酸组成及含量是影响脂类降解的主要原因之一^[9]。本实验在研究草鱼肌肉脂肪酸组成及冷藏期间肌肉脂肪酸的变化，为淡水鱼加工业的发展提供理论依据和技术支持。

收稿日期：2012-03-27

基金项目：科技部科技人员服务企业项目(2009GJD20003); 湖南省科技重大专项(2010FJ1007)

作者简介：刘冬敏(1987—)，女，硕士研究生，研究方向为食品生物技术。E-mail: dongmink1@126.com

*通信作者：刘永乐(1962—)，男，教授，博士，研究方向为食品生物技术与农副产品加工。E-mail: lyle19@163.com



1 材料与方法

1.1 材料与试剂

草鱼肌肉 长沙市购。

石油醚(30~60℃沸程)、正己烷、甲醇 天津市光复科技发展有限公司; 氢氧化钾、无水硫酸钠 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

GCMS-QP2010 Plus气质联用仪 日本岛津公司; BS124S电子天平 德国赛多利斯公司; FD-1冷冻干燥机、RE-52A旋转蒸发器、HH-Z1多孔数显水浴锅 西安予辉仪器有限公司; DS-1高速组织捣碎机 无锡沃信仪器有限公司; DELTA 320 pH计 上海诚铭科技有限公司; JYL-C012料理机 九阳股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

选取质量约1kg, 体长约40cm的新鲜草鱼数条, 经冰水预冷30min后去鳞、头、内脏、尾, 剔除脊骨及主刺, 将鱼肉切成长、宽、厚分别为3cm×5cm×2cm的小块, 混匀后随机分成5份, 用透明塑料袋封装后置于玻璃门冰箱, 于2~4℃冷藏。实验期间按期取样, 去皮, 绞碎备用。

1.3.2 鱼油的提取

每2d取冷鲜鱼块肉样1kg, 去皮, 绞碎。冻干后, 添加2倍于干肉质量的石油醚(1:2(g/mL)), 混匀后密封, 于2~4℃冷藏室中浸提48h, 抽滤, 滤液于45℃条件下减压浓缩, 挥干溶剂, 即得澄清透明的鱼油样。

1.3.3 脂肪总含量的测定

按GB/T 9695.7—2008《肉与肉制品: 总脂肪含量测定》测定。

1.3.4 脂肪酸的衍生

准确称取鱼油0.200g, 用正己烷定容至10mL, 移取稀释油样品2mL置于衍生管, 加入4mol/L氢氧化钾-甲醇溶液2mL, 混匀, 60℃水浴甲酯化1min, 取出, 充分振荡20min, 加入适量无水Na₂SO₄颗粒, 振荡5min, 静置, 取上清液用于气相色谱-质谱联用(gas chromatography mass spectrometry, GC-MS)分析。

1.3.5 GC-MS分析

GC条件: 色谱柱: HP-88(100m×0.25mm, 0.20μm); 载气He, 流速1.04mL/min, 分流比20:1, 进样口温度250℃, 离子源温度230℃, 程序升温: 120℃保持1min, 然后以10.0℃/min升至175℃, 维持10min, 5℃/min升至210℃, 保持5min, 5℃/min升至230℃, 保持15min。

MS条件: 离子源温度: 200℃; GC-MS接口温度: 220℃; 电子电离源(electron ionization, EI); 电离电压: 70eV^[10]。采集方式: 全扫描, 质核比扫描范围: m/z 50~600。

1.4 脂肪酸相对含量的计算

对全部峰面积积分后利用面积归一化法得到各主要脂肪酸的相对含量。

2 结果与分析

2.1 新鲜草鱼肌肉脂肪中脂肪酸分析

根据GC-MS分析结果, 从新鲜草鱼肌肉鱼油中共鉴定出51种脂肪酸, 其TIC图见图1。其中相对含量超过0.01%的脂肪酸有32种, 占总脂肪酸的92.29%, 用面积归一法求得这32种脂肪酸占总脂肪酸的相对含量, 结果如表1所示。在检出的32种主要脂肪酸中, 单不饱和脂肪酸(MUFA)占总脂肪酸(TFA)的含量超过了50%, 饱和脂肪酸(SFA)和多不饱和脂肪酸(PUFA)分别占TFA的25.16%和23.21%, SFA:MUFA:PUFA的比值为1.08:2.19:1。其中MUFA主要为C_{16:1}、C_{17:1}、C_{18:1}、C_{20:1}、C_{22:1}, 其中C_{16:1}和C_{18:1}分别占MUFA的11.1%和85.3%; PUFA主要为C_{18:2}、C_{18:3}、C_{20:2}、C_{20:3}、C_{20:4}、C_{20:5}、C_{22:5}、C_{22:6}, 其中C_{18:2}和C_{18:3}分别占PUFA的70.6%和10.0%, EPA、DPA和DHA分别占TFA的0.16%、0.16%和0.64%, ω-6型与ω-3型PUFA的比值为5.65:1。

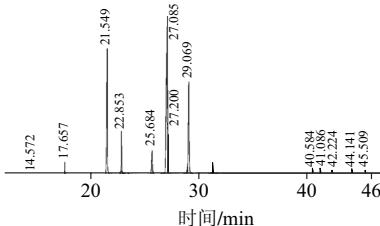


图1 新鲜草鱼肌肉脂肪酸甲酯的总离子流色谱图

Fig.1 Total ion chromatogram of fatty acid methyl esters from fresh grass carp muscle

由表1可见, 草鱼肌肉脂肪含有丰富的MUFA和PUFA, 这两类脂肪酸占TFA的74.13%。研究表明, MUFA能降低血清总胆固醇、低密度脂蛋白、甘油三酯和血浆胆固醇转移蛋白浓度, 具有降低血脂、预防动脉粥样硬化和心血管疾病的作用; PUFA是细胞和有机体生物膜的重要组成部分, 可调节细胞构型和细胞膜的通透性, 并可以转化为具有重要生理功能的代谢产物, 如前列腺素、凝血黄素、白三烯素、消炎素和保护素等, 从而发挥生理调节作用^[11-12]。中国营养学会在《中国居民膳食营养素参考摄入量》中提出ω-6型和ω-3型PUFA的适宜比值为(4~6):1^[13-14]。可见, 草鱼肌肉脂肪酸组成及含量都赋予草鱼肌肉良好的营养价值, 日常摄入草鱼肌肉有利于人们脂肪酸膳食平衡。

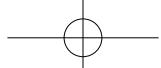


表1 新鲜草鱼肌肉脂肪酸的组成(占总脂肪酸的百分含量)
Table 1 Fatty acid composition of fresh grass carp muscle (% of the total fatty acids)

脂肪酸甲酯	系统命名	含量/%
C _{12:0}	十二烷酸甲脂	0.02
C _{14:0}	十四烷酸甲脂	1.25
C _{15:0}	十五烷酸甲脂	0.17
C _{18:1}	6-十八碳一烯酸甲脂	0.02
C _{16:0}	十六烷酸甲脂	19.37
C _{19:1}	9-十九碳一烯酸甲脂	5.36
C _{17:0}	十七烷酸甲脂	0.18
C _{17:1}	十七碳一烯酸甲脂	0.14
C _{18:0}	十八烷酸甲脂	3.86
C _{18:1}	8-十八碳一烯酸甲脂	0.31
C _{18:1 n-9}	9-十八碳一烯酸甲脂	38.49
C _{18:1}	11-十八碳一烯酸甲脂	4.56
C _{18:1}	13-十八碳一烯酸甲脂	0.05
C _{19:0}	十九烷酸甲脂	0.10
C _{18:2 n-6}	9,12-十八碳二烯酸甲脂	16.39
C _{20:0}	二十烷酸甲脂	0.21
C _{18:3 n-6}	6,9,12-十八碳三烯酸甲脂	0.18
C _{18:3 n-3}	9,12,15-十八碳三烯酸甲脂	2.15
C _{20:1}	11-二十碳一烯酸甲脂	1.71
C _{20:2}	8,11-二十碳二烯酸甲脂	0.29
C _{20:2}	11,13-二十碳二烯酸甲脂	0.54
C _{20:3 n-9}	5,8,11-二十碳三烯酸甲脂	0.50
C _{20:3}	8,11,14-二十碳三烯酸甲脂/7,10,13-二十碳三烯酸甲脂	0.62
C _{20:3}	10,13,16-二十碳三烯酸甲脂	0.17
C _{22:1}	13-二十二碳一烯酸甲脂	0.28
C _{20:4 n-6}	5,8,11,14-二十碳四烯酸甲脂	0.91
C _{20:4 n-3}	8,11,14,17-二十碳四烯酸甲脂	0.11
C _{20:5 n-3}	5,8,11,14,17-二十碳五烯酸甲脂	0.16
C _{22:4 n-6}	7,10,13,16-二十二碳四烯酸甲脂	0.09
C _{22:5 n-3}	4,7,10,13,16-二十二碳五烯酸甲脂	0.30
C _{22:5 n-3}	7,10,13,16,19-二十二碳五烯酸甲脂	0.16
C _{22:6 n-3}	4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸甲脂	0.64
SFA		25.16
MUFA		50.92
PUFA		23.21

2.2 冷藏过程中草鱼肌肉总脂肪含量的变化

表2 冷藏条件下草鱼肌肉总脂肪含量的变化(2~4℃)
Table 2 Changes in total fatty acid content during cold storage of fresh grass carp muscle

冷藏时间/d	0	2	4	6	8	10
总脂肪含量/%	3.03±0.05	2.94±0.05	2.80±0.06	2.62±0.07	2.47±0.12	2.28±0.10

由表2可知, 2~4℃冷藏过程中草鱼肌肉总脂肪含量随着贮藏时间的延长而逐渐减少, 冷藏10d后草鱼肌肉总脂肪含量下降了24.75%, 这主要是由草鱼肌肉在冷藏过程中脂肪不断水解和氧化造成的。脂肪水解和氧化不仅会减少肌肉中必须脂肪酸及脂溶性维生素的含量, 还会因一些挥发性氧化产物, 如醛类和酮类, 致使肌肉产生不良风味; 另外, 脂肪氧化过程中不断产生的自由基与人体细胞的老化、突变和癌变息息相关, 从而对食用者的健康造

成潜在危害^[10]。因此, 预防冷藏期间草鱼肌肉脂肪的降解对产品的营养价值、货架期及食用者健康具有实际意义。

2.3 冷藏过程中草鱼肌肉脂肪酸组成的变化

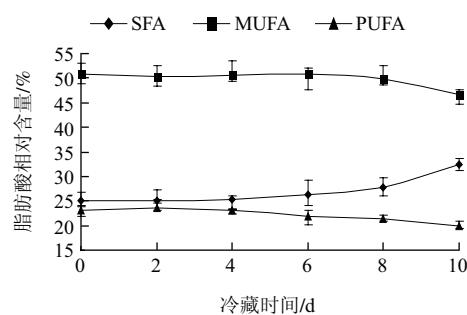


图2 冷藏过程中草鱼肌肉SFA、MUFA、PUFA相对含量的变化(2~4℃)
Fig.2 Changes in SFA, MUFA and PUFA contents during cold storage of fresh grass carp muscle

图2是草鱼肌肉在冷藏条件下SFA、MUFA、PUFA相对含量的变化。可见, 在2~4℃冷藏条件下, PUFA和MUFA在TFA中的相对含量随着冷藏时间的延长而逐渐减少, 而SFA的相对含量逐渐增大。冷藏10d后, SFA:MUFA:PUFA由新鲜鱼肉的1.08:2.19:1变为1.63:2.35:1。这与Saldanha等^[15]研究沙丁鱼在冷藏中脂肪酸组成的结果近似。此种变化可能是由于冷藏条件下草鱼肌肉脂肪仍然不断水解, 产生的游离脂肪酸(FFA)中, PUFA和MUFA比SFA更容易氧化, 导致脂肪酸中不饱和脂肪酸(UFA)的比例下降; 同时, 油脂氧化过程中自由基连锁攻击UFA, 使UFA逐渐趋于饱和, 一部分UFA转变成SFA。MUFA和PUFA分别在冷藏6~8d和4~6d明显减少, 分别下降了1.81%和5.80%; 冷藏10d后, MUFA和PUFA分别下降了8.34%和14.64%。

油酸是主要的MUFA, 亚油酸和亚麻酸是主要的PUFA, 它们的含量在冷藏期间的变化如图3~5所示。这3种脂肪酸碳原子数相同, 不饱和程度越大的脂肪酸越早发生降解。亚麻酸、亚油酸以及油酸的含量分别在冷藏2~4d、4~6d和6~8d开始明显减少, 分别减少了8.17%、7.71%和2.47%。冷藏10d后, 亚麻酸、亚油酸以及油酸分别比新鲜鱼肉的对应脂肪酸含量减少了25.58%、20.37%和9.56%。这说明, 2~4℃冷藏条件下, 草鱼肌肉脂肪酸仍然发生降解, 且其降解速率及程度均与脂肪酸的不饱和程度呈一定正相关。脂肪酸的降解不仅导致草鱼肌肉必需脂肪酸的损失, 其氧化产物还会影响鱼肉的风味, 且氧化产生的醛类物质还会与蛋白质发生复杂反应, 加剧蛋白质的变性, 从而影响鱼肉的质构特性^[12]。

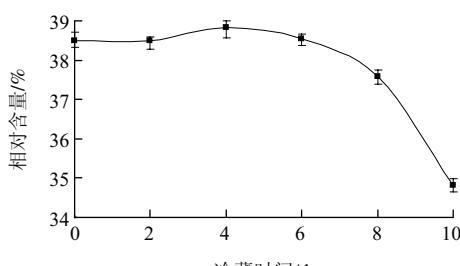
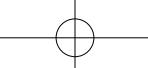


图3 冷藏过程中草鱼肌肉油酸相对含量的变化(2~4℃)

Fig.3 Change in oleic acid content during cold storage of fresh grass carp muscle

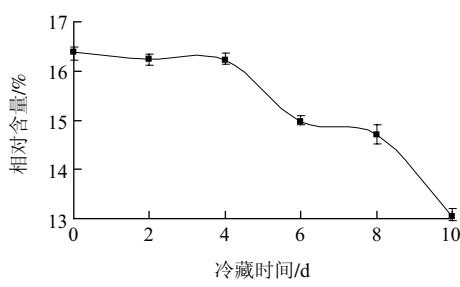


图4 冷藏过程中草鱼肌肉亚油酸相对含量的变化(2~4℃)

Fig.4 Change in linoleic acid content during cold storage of fresh grass carp muscle

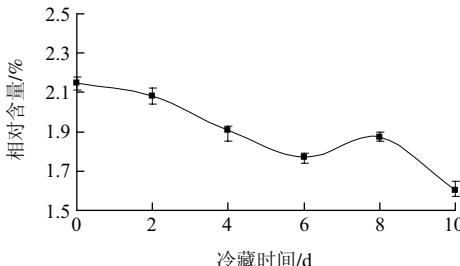
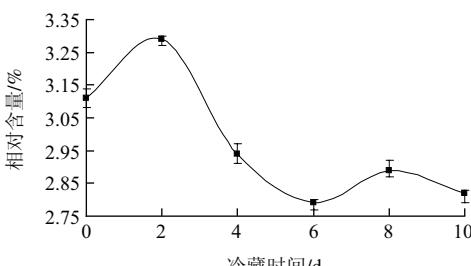


图5 冷藏过程中草鱼肌肉亚麻酸相对含量的变化(2~4℃)

Fig.5 Change in linolenic acid content during cold storage of fresh grass carp muscle

2.4 冷藏过程中草鱼肌肉脂肪PUFA含量的变化

图6 冷藏过程中草鱼肌肉 ω -3型PUFA相对含量的变化(2~4℃)Fig.6 Change in ω -3 PUFA content during cold storage of fresh grass carp muscle

通过比较冷鲜保藏条件下 ω -3型PUFA和 ω -6型PUFA的变化情况(图6、7)表明, ω -3型PUFA和 ω -6型PUFA分

别从冷藏的第2天和第4天开始迅速降解, 冷藏10d后, 二者的相对含量分别下降了10.29%和17.92%。由此看来, 2~4℃冷藏条件下, 草鱼肌肉脂肪酸的降解与其结构类型有关, ω -3型PUFA早于 ω -6型PUFA降解, 但随着冷藏时间的延长, ω -6型PUFA的降解程度深于 ω -3型PUFA。

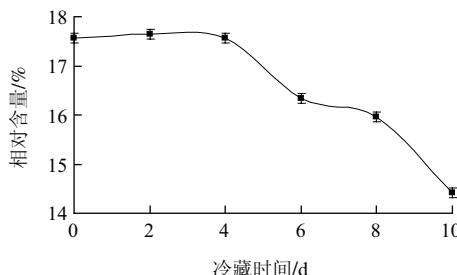
图7 冷藏过程中草鱼肌肉 ω -6型PUFA相对含量的变化(2~4℃)Fig.7 Change in ω -6 PUFA content during cold storage of fresh grass carp muscle

表3 冷藏条件下草鱼肌肉LPUFA相对含量的变化(2~4℃)

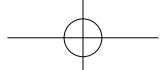
Table 3 Change in LPUFAs content during cold storage of fresh grass carp muscle

保藏时间/d	0	10
4,7,10,13,16-二十碳五烯酸甲酯	0.30±0.01	0.42±0.05
7,10,13,16,19-二十碳五烯酸甲酯	0.16±0.02	0.24±0.02
4,7,10,13,16,19-二十碳六烯酸甲酯	0.64±0.01	0.83±0.04

由表3冷藏前后部分长链多不饱和脂肪酸(LPUFA)的变化可以看出, 冷藏10d后, 部分LPUFA, 如EPA、DPA以及DHA等的含量有随冷藏时间的延长而增加的趋势。这些LPUFA多位于磷脂分子中, 动物细胞中各种复杂酶系统通过脂肪酸的去饱和化、碳链延长及脂肪酸在磷脂中的酯化作用等方式严格调控磷脂中LPUFA的相对含量, 以维持生物膜的相对稳定^[16-17]。这与Memon等^[18]提出的人工养殖淡水鱼肌肉在冷鲜保藏期间存在的 ω -6或 ω -3型LPUFA的链延长和去饱和现象相吻合。然由于这些脂肪酸占总PUFA的比例小, PUFA总量在草鱼肌肉冷藏过程中仍然因氧化而出现逐渐减少的趋势。

3 结论

经GC-MS分析, 草鱼肌肉脂肪富含不饱和脂肪酸, 其中MUFA和PUFA分别占到脂肪酸总量的50.92%和23.21%。脂肪酸中SFA:MUFA:PUFA的比值为1.08:2.19:1, PUFA中 ω -3型PUFA与 ω -6型PUFA的比值为5.65:1, 符合中国营养学会推荐的脂肪酸摄入标准。冷藏过程中, 草鱼肌肉的总脂肪含量逐渐减少, MUFA和PUFA的相对含量逐渐减少, SFA的相对含量逐渐增多。脂肪酸中, MUFA和PUFA分别在冷藏6~8d和4~6d明显减少, 冷藏10d后, MUFA和PUFA分别下降了8.34%和



14.64%，SFA:MUFA:PUFA变为1.63:2.35:1。亚麻酸、亚油酸以及油酸的含量分别在冷藏2~4d、4~6d和6~8d开始明显减少，冷藏10d后，三者的相对含量分别比新鲜鱼肉的对应脂肪酸减少了25.58%、20.37%和9.56%。因此，2~4℃冷藏条件下，草鱼肌肉脂肪酸的降解速率及程度均与脂肪酸的不饱和程度呈一定正相关。草鱼肌肉脂肪酸的降解与其结构类型有关， ω -3型PUFA早于 ω -6型PUFA降解，但随着冷藏时间的延长， ω -6型PUFA的降解程度深于 ω -3型PUFA。部分LPUFA的相对含量有随冷藏时间的延长而增加的趋势，然而此条件下脂肪酸的降解机理还需进一步研究。

参考文献：

- [1] 林洪,江洁.水产品营养与安全[M].北京:化学工业出版社,2007:39-58.
- [2] 吴涛.草鱼加工关键技术的研究与开发[D].杭州:浙江大学,2008.
- [3] NANTON D A, VEGUSDAL A, RØRÅ A M B, et al. Muscle lipid storage pattern, composition, and adipocyte distribution in different parts of Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed fish oil and vegetable oil[J]. Aquaculture, 2007, 265(1/4): 230-243.
- [4] 刘红英,齐凤生,张辉.水产品加工与储藏[M].北京:化学工业出版社,2006: 21-23
- [5] FU XiangJin, XU Shiying, WANG Zhang. Kinetics of lipid oxidation and off-odor formation in silver carp mince: the effect of lipoxygenase and hemoglobin[J]. Food Research International, 2009, 42(1): 85-90.
- [6] WANG Hua, LIU Fang, YANG Lei, et al. Oxidative stability of fish oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during long-term storage[J]. Food Chemistry, 2011, 128(1): 93-99.
- [7] TONGNUANCHAN P, BENJAKUL S, PRODPRAN T. Roles of lipid oxidation and pH on properties and yellow discolouration during storage of film from red tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle protein[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(3): 426-433.
- [8] 李学英,许钟,郭全友,等.大黄鱼冷藏过程中的鲜度变化[J].中国水产科学,2009, 16(3): 442-446.
- [9] CRUZ-ROMERO M C, KERRY J P, KELLY A L. Fatty acids, volatile compounds and colour changes in high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*)[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2008, 9(1): 54-61.
- [10] TEHRANY E A, JACQUOT M, GAIANI C, et al. Beneficial effects and oxidative stability of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids[J]. Food Science and Technology, 2011, 2(10): 1016-1018.
- [11] 傅惠萍.鱼油不饱和脂肪酸的自由基氧化规律[J].宁波化工,2009(2): 20-26.
- [12] HWANG K T, KIM J E, KANG S G, et al. Fatty acid composition and oxidation of lipids in Korean catfish[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2004, 81(2): 123-127.
- [13] 唐大寒.不饱和脂肪酸与健康[J].糖尿病新世界,2008(4): 34-35.
- [14] 蔡妙颜,李冰,袁向华.膳食中的脂肪酸平衡[J].粮油食品科技,2003, 11(2): 37-38.
- [15] SALDANHA T, BENASSI M T, BRAGAGNOLO N. Fatty acid contents evolution and cholesterol oxides formation in Brazilian sardines (*Sardinella brasiliensis*) as a result of frozen storage followed by grilling[J]. Food Science and Technology, 2008, 41(7): 1301-1309.
- [16] 杨红菊,乔发东,马长伟,等.肌肉脂肪及其在加工过程中的水解变化[J].肉类研究,2004, 19(2): 37-39.
- [17] 熊善柏.水产品保鲜储运与检验[M].北京:化学工业出版社,2007: 21-24.
- [18] MEMON N, TALPUR N, BHANGER M I, et al. Changes in fatty acid composition in muscle of three farmed carp fish species (*Labeo rohita*, *Cirrhinus mrigala*, *Catla catla*) raised under the same conditions[J]. Food Chem, 2011, 126(2): 405-410.