

原花青素抑制丙烯酰胺的动力学

周梦舟^{1,2,3}, 丁城^{1,2,3}, 关亚飞⁴, 吴茜^{1,2,3,*}

(1.湖北工业大学生物工程与食品学院, 湖北 武汉 430068; 2.工业发酵湖北省协同创新中心, 湖北 武汉 430068;
3.湖北省食品发酵工程技术研究中心, 湖北 武汉 430068; 4.武汉市华测检测技术有限公司, 湖北 武汉 430068)

摘要: 对原花青素对丙烯酰胺形成-消除动力学的影响进行研究。在荔枝原花青素 (litchi pericarp procyanidin, LPPC) 和莲房原花青素 (lotus seedpod procyanidin, LSPC) 对丙烯酰胺最大抑制率添加条件的基础上, 分别采用 Logistic-生长曲线模型、Logistic-Fermi 动力学模型和 Logistic-指数动力学模型描述丙烯酰胺的形成-消除动力学过程, 最终优化选择 Logistic-指数动力学模型为描述对象。实验结果表明: 两种原花青素对丙烯酰胺形成过程具有显著性影响, 且 LSPC 的作用大于 LPPC, 在反应后期, 两种原花青素对丙烯酰胺抑制均无显著性影响。

关键词: 荔枝原花青素; 莲房原花青素; 丙烯酰胺; 动力学

Inhibitory Kinetics of Acrylamide by Procyanidins

ZHOU Mengzhou^{1,2,3}, DING Cheng^{1,2,3}, GUAN Yafei⁴, WU Qian^{1,2,3,*}

(1. School of Food and Biological Engineering, Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;
2. Hubei Provincial Cooperative Innovation Center of Industrial Fermentation, Wuhan 430068, China;
3. Research Center of Food Fermentation Engineering and Technology of Hubei, Wuhan 430068, China;
4. Centre Testing International (Wuhan) Co. Ltd., Wuhan 430068, China)

Abstract: The effect of procyanidins on the formation and elimination kinetics of acrylamide was investigated. The concentrations of litchi pericarp procyanidin (LPPC) and lotus seedpod procyanidin (LSPC) for the maximum percentage inhibition of acrylamide were determined, and then the kinetic process of acrylamide formation and elimination was described by the Logistic-growth curve, Logistic-Fermi and Logistic-exponential kinetic models. The Logistic-exponential kinetic model was found to be the best among these models. The experimental results showed that both LPPC and LSPC had a significant impact on the formation of acrylamide, especially LSPC; however, they had no significant inhibitory effect at the later stage of reaction.

Keywords: litchi pericarp procyanidin; lotus seedpod procyanidin; acrylamide; kinetics

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201803019

中图分类号: TS201.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2018) 03-0123-06

引文格式:

周梦舟, 丁城, 关亚飞, 等. 原花青素抑制丙烯酰胺的动力学[J]. 食品科学, 2018, 39(3): 123-128. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201803019. <http://www.spkx.net.cn>

ZHOU Mengzhou, DING Cheng, GUAN Yafei, et al. Inhibitory kinetics of acrylamide by procyanidins[J]. Food Science, 2018, 39(3): 123-128. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201803019. <http://www.spkx.net.cn>

2002年, 瑞典国家食品管理局和斯德哥尔摩大学研究发现: 含有丰富碳水化合物的食品在高温下加工可能会产生丙烯酰胺^[1-2]。丙烯酰胺具有强烈的致癌性^[3], 同时也具有神经毒性^[4-5]、生殖毒性^[6]、遗传毒性^[7]。因此, 在全世界, 丙烯酰胺被广泛研究。一些物质已

经被确定是形成丙烯酰胺的前体物质, 主要包括脱羧希夫碱^[8]、脱羧基重排物质^[9]、丙烯酸^[10-11]和丙烯醛^[12]等。丙烯酰胺的动力学研究可以系统地表征出其反应的机制, 如反应前体的用量、丙烯酰胺和其他一些重要中间产物 (如希夫碱) 的形成等^[13], 为进一步研究丙

收稿日期: 2016-09-30

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (4115/00051); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31601455);

“十三五”国家重点研发计划重点专项 (2016YFD0400701); 湖北省技术创新专项重大项目 (2016ABA085)

第一作者简介: 周梦舟 (1986—), 男, 讲师, 博士, 研究方向为食品微生物和发酵。E-mail: zmzkvelin@163.com

*通信作者简介: 吴茜 (1988—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为天然产物及食品生物技术。E-mail: qianwill2007@163.com

烯酰胺形成和抑制机理提供基础。目前国际上关于丙烯酰胺的动力学研究已有较大进展,主要有形成-消除一级动力学模型^[14-15]、机理动力学模型(Logistic-生长曲线型、Logistic-Fermi动力学模型和Logistic-指数动力学模型)^[16-18]和非等温变化动力学模型^[19],由于非等温变化动力学模型额外考虑了温度的变化速率对本反应的影响,使得模拟变得十分的复杂,目前也应用较少。

19世纪末,人们研究发现许多高等植物的叶、果、花内的无色物质在酸作用下生成红色的产物,从而揭开了原花青素的研究序幕。原花青素能有效清除自由基^[20],增强免疫力、保护心血管、预防高血压、抗肿瘤、抗辐射、抗突变及美容等^[21-24]。同时原花青素具有强大的生物活性,并以其高效、低毒和极高的生物利用率被广泛关注^[25]。凌智群等^[26]从莲房的成熟花托中和荔枝皮中分别分离了莲房原花青素(lotus seedpod procyanidin, LSPC)和荔枝原花青素(litchi pericarp procyanidin, LPPC),同时证明了它们具有抗氧化、免疫调节等多种生理功能^[27]。研究发现原花青素能显著抑制丙烯酰胺的形成^[28]。

因此,本实验研究两种原花青素对丙烯酰胺的抑制影响,选择机理动力学的3种模型对实验进行拟合,选择最佳的拟合方程,并计算得出添加原花青素后相应动力学参数的变化,评价LPPC与LSPC对动力学的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

LPPC(99.56%)和LSPC(100.89%)由湖北省食品发酵工程技术研究中心室制备得到。

丙烯酰胺标准品(>99.9%) 德国Dr. Ehrenstorfer公司; D-(±)-水合葡萄糖、L-水合天门冬酰胺、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、甲醇、甲酸、亚铁氰化钾、硫酸锌、正己烷 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

LC-20AT高效液相色谱仪 日本岛津公司; ENVI™-18固相萃取小柱(十八烷基, 17%含碳量, 3 mL) 美国Superclean公司; Atlantis® T3色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 美国Waters公司; 0.22 μm水系针筒式微孔滤膜过滤器 上海楚柏实验室设备有限公司; Milli-Q水纯化系统 法国Millipore公司; 冷冻离心机 德国Eppendorf公司; 万分之一电子天平 瑞士Mettler Toledo公司。

1.3 方法

1.3.1 类黑精浓度和丙烯酰胺质量浓度测定

1.3.1.1 类黑精浓度测定

将反应产物用水稀释10倍后,采用紫外-可见分光光

度计在470 nm波长处测定吸光度,通过Lambert-Beer定律计算样品中类黑精的浓度(式(1)),其中类黑精的摩尔消光系数取282 L/(mol·cm)^[20,29],每组实验重复3次。

$$c = \frac{A \times V \times 1000}{\epsilon \times b} \quad (1)$$

式中: c 为类黑精的浓度/(mmol/L); A 为吸光度; V 为样品定容体积/mL; ϵ 为类黑精的摩尔消光系数(282 L/(mol·cm)); b 为比色皿宽度/cm。

1.3.1.2 丙烯酰胺质量浓度测定

采用高效液相色谱检测,色谱条件:色谱柱Atlantis® T3(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: V (甲醇): V (0.1%甲酸水溶液)=5:95; 流速: 1 mL/min; 检测柱温: 30 °C; 检测波长: 205 nm; 进样量: 20 μL。

1.3.2 葡萄糖-天冬酰胺动力学反应体系的构建

用pH 8.0的0.1 mol/L的磷酸盐缓冲溶液,分别配制0.2 mol/L的天冬酰胺(asparagine, Asn)溶液和0.2 mol/L的葡萄糖(glucose, Glu)溶液,向不锈钢密封试管中分别加入500 μL Asn溶液和500 μL Glu溶液,构成0.1 mol/L的Glu-Asn模拟体系,设置空白对照组和原花青素实验组,在实验组向体系中分别加入0.5 mg/mL LPPC和0.1 mg/mL LSPC溶液,在空白对照组中加入相同体积的磷酸盐缓冲液,密封置于180 °C恒温油浴锅中分别反应5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55 min后取出,迅速冰浴阻止其继续反应,各实验重复3次。

1.3.3 动力学反应模型的构建

1.3.3.1 Logistic-生长曲线模型的构建

对Logistic-生长曲线模型而言,体系中丙烯酰胺的含量分别用两个不同阶段表示,即将生成和消除看作两个不同的时段,而不是一个可逆的整体反应(即看作一个分段函数)。 $C_f(t)$ 表示丙烯酰胺含量上升时的变化量/(μmol/mol Asn), $C_e(t)$ 表示丙烯酰胺含量下降时的变化量/(μmol/mol Asn),动力学方程如式(2)、(3)所示^[17]。

$$C_f(t) = \frac{A_f}{1 + \exp[k_f(t_f - t)]} \quad (2)$$

$$C_e(t) = \frac{A_e}{1 + \exp[k_e(t - t_e)]} \quad (3)$$

式中: A_f 和 A_e 分别代表与丙烯酰胺在生成和消除时的温度依赖系数/(μmol/mol Asn); k_f 和 k_e 分别代表形成和消除过程中与温度相关的陡度参数/min⁻¹; t_f 和 t_e 分别代表形成和消除过程中与温度相关的拐点处时间/min; t 为反应时间/min。

1.3.3.2 Logistic-Fermi动力学模型的构建

对于Logistic-Fermi动力学模型而言, $C_f(t)$ 表示丙烯酰胺形成过程中的含量变化(μmol/mol Asn),

$C_e(t)$ 表示丙烯酰胺消除过程中的含量变化 ($\mu\text{mol/mol Asn}$)， $C_f(t)$ 和 $C_e(t)$ 的乘积就表示整个体系中丙烯酰胺的含量变化，动力学方程如式 (4) ~ (6) 所示^[13]。

$$C_f(t) = \frac{a}{1 + \exp[k_f(t_f - t)]} - \frac{a}{1 + \exp(k_f \times t_f)} \quad (4)$$

$$C_e(t) = \frac{1}{1 + \exp[k_e(t - t_e)]} \quad (5)$$

$$C(t) = C_f(t) \times C_e(t) \quad (6)$$

式中： a 代表与丙烯酰胺浓度相关的温度依赖系数 ($\mu\text{mol/mol Asn}$)； k_f 和 k_e 分别代表形成和消除过程中与温度相关的陡度参数/ min^{-1} ； t_f 和 t_e 分别代表形成和消除过程中与温度相关的拐点处时间/ min ； t 为反应时间/ min 。

1.3.3.3 Logistic-指数动力学模型的构建

对于Logistic-指数动力学模型而言，是在Logistic-Fermi动力学模型的基础上进行改进，即其他参数不变，将丙烯酰胺消除过程中的含量变化改成指数形式的表达，简化了模型的参数，动力学方程如式 (7) ~ (9) 所示^[18]。

$$C_f(t) = \frac{a}{1 + \exp[k_f(t_f - t)]} - \frac{a}{1 + \exp(k_f \times t_f)} \quad (7)$$

$$C_e(t) = \exp\left(-\frac{t}{p}\right) \quad (8)$$

$$C(t) = C_f(t) \times C_e(t) \quad (9)$$

式中： a 代表与丙烯酰胺浓度相关的温度依赖系数/ ($\mu\text{mol/mol Asn}$)； k_f 和 t_f 分别代表形成过程中与温度相关的陡度参数和时间参数/ min^{-1} ； p 为特征时间/ min ； t 为反应时间/ min 。

1.3.3.4 类黑精Slogistic动力学模型的构建

对类黑精Slogistic动力学模型而言， $C_f(t)$ 表示类黑精的含量变化，动力学方程如式 (10) 所示。

$$C_f(t) = \frac{a_f}{1 + \exp[-k_f(t - t_f)]} \quad (10)$$

式中： a_f 代表与丙烯酰胺浓度相关的温度依赖系数/ ($\mu\text{mol/mol Asn}$)； k_f 代表形成过程中的温度依赖系数/ min^{-1} ； t_f 代表形成过程中的温度依赖系数/ min ； t 为反应时间/ min 。

1.3.3.5 动力学模型的选择和参数分析

对上述3种动力学模型采用Origin 8.0软件进行无限迭代拟合，建立最终动力学方程，得出各个动力学参数，从中选择最佳反应模型，并计算预测值，建立预测值-实验值的相关散点曲线，并对参数进行分析。

1.3.4 原花青素对体系丙烯酰胺生成后的影响

分别配制10 $\mu\text{g/mL}$ 和20 $\mu\text{g/mL}$ 的丙烯酰胺标准溶液，于4 $^{\circ}\text{C}$ 下储存备用。

采用逐级稀释法，分别用纯水配制质量浓度梯度为0.001、0.005、0.010、0.050、0.100、0.500 mg/mL 和1.000 mg/mL 的LPPC和LSPC溶液，于4 $^{\circ}\text{C}$ 下储存备用。

向不锈钢密封试管中加入1 mL丙烯酰胺标准溶液 (0.2、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 和20.0 $\mu\text{g/mL}$)，并分别加入100 μL 上述质量浓度梯度的LPPC和LSPC溶液，设置空白对照组，空白对照组中加入等量的纯水，密封置于180 $^{\circ}\text{C}$ 恒温油浴锅中反应30 min 后取出，迅速置于冰浴阻止其继续反应，按照1.3.1.2节所述测定丙烯酰胺质量浓度，各实验重复3次。

向不锈钢密封试管中加入1 mL的10 $\mu\text{g/mL}$ 的丙烯酰胺溶液和100 μL 的1.0 mg/mL 的LPPC与LSPC溶液，设置空白对照组，空白对照组中加入等量的纯水，分别于120、140、160、180、200 $^{\circ}\text{C}$ 下加热30 min 后取出，迅速置于冰浴阻止其继续反应，按照1.3.1.2节所述测定丙烯酰胺质量浓度，各实验重复3次。

1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用SPSS 13.0软件进行方差分析 (ANOVA)，显著性差异采用Duncan's多重比较法，表现为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。动力学模型的评价采用伪相关系数 (pseudo- R^2)，计算公式如式 (11)。

$$\text{pseudo-}R^2 = 1 - \frac{\text{SS}_{\text{残差平方和}}}{\text{SS}_{\text{校正平方和}}} \quad (11)$$

动力学模型的构建用Origin 8.0软件完成，分析利用无限迭代法，得出最优解，并计算残差平方和和校正平方和，进而得出pseudo- R^2 。

2 结果与分析

2.1 丙烯酰胺形成-消除动力学曲线的结果

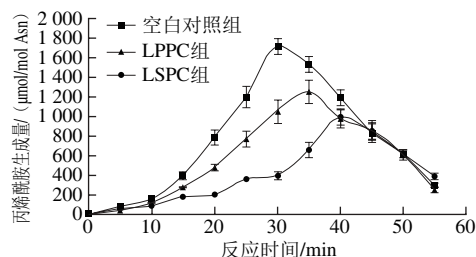


图1 模拟体系中丙烯酰胺的形成-消除动力学曲线 ($n=3$)

Fig. 1 Kinetic profiles of acrylamide formation and elimination in model system ($n=3$)

选取添加水平LSPC为0.1 mg/mL 和LPPC为0.5 mg/mL 最佳剂量进行动力学实验。从图1中可以看出，实验组中丙烯酰胺的最大生成量与空白对照组相比均有不同程度的降低，LSPC组降低的幅度大于LPPC

组；同时最大生成量所对应的时间也比空白对照组要延后，空白对照组、LPPC组和LSPC组丙烯酰胺的最大生成量与其时间分别为1 734.2、1 296.7、1 026.4 $\mu\text{mol/mol}$ Asn和30、35、40 min；3组实验中丙烯酰胺的生成量到最大之后均开始降低，到加热后期（50 min后），丙烯酰胺生成量降至几乎相当的水平。这种结果表明原花青素对丙烯酰胺的抑制作用主要表现在前期，到后期原花青素可能对丙烯酰胺已无抑制作用。

2.2 类黑精动力学曲线结果

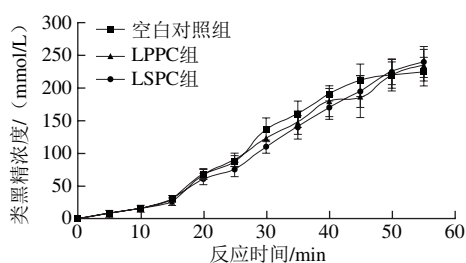


图2 Glu-Asn体系中空白对照组和实验组的类黑精浓度变化的动力学曲线 ($n=3$)

Fig. 2 Kinetic curves of melanoidins in control and experimental groups in Glu-Asn system ($n=3$)

如图2所示，随着反应时间的延长，3组实验中类黑精浓度呈递增趋势，且到反应后期慢慢趋向平衡。比较实验组和空白对照组可以看出，类黑精浓度高低顺序为空白对照组>LPPC组>LSPC组，即从侧面说明加入原花青素后美拉德反应的程度可能降低，同时LSPC组降低的程度略大于LPPC组。

2.3 动力学反应模型的拟合

2.3.1 丙烯酰胺的Logistic-生长曲线模型拟合

表1 Glu-Asn模拟体系中丙烯酰胺Logistic动力学模型参数和pseudo- R^2 值 ($n=3$)

Table 1 Parameters and pseudo- R^2 values of Logistic kinetic models for acrylamide in Glu-Asn model system ($n=3$)

Logistic动力学模型参数	Glu-Asn模拟体系		
	空白对照组	LPPC组	LSPC组
形成过程	A_f ($\mu\text{mol/mol}$ Asn)	$1\,026.34 \pm 207.70^a$	$1\,296.55 \pm 149.23^a$
	k_f/min^{-1}	0.289 ± 0.016^a	0.211 ± 0.070^a
	t_f/min	20.82 ± 1.25^a	23.37 ± 1.86^b
	pseudo- R^2	0.996 7	0.949 5
消除过程	A_d ($\mu\text{mol/mol}$ Asn)	$2\,141.32 \pm 185.22^a$	$1\,439.77 \pm 282.01^b$
	k_d/min^{-1}	0.121 ± 0.015^a	0.152 ± 0.012^b
	t_d/min	42.28 ± 1.76^a	43.54 ± 3.30^{ab}
	pseudo- R^2	0.993 0	0.944 0

注：同行小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

实验最初考虑用分段函数进行模型的拟合，其Logistic-生长曲线拟合结果如表1所示。以动力学曲线最高点为界拆开，分别进行表观的形成和消除的动力学模

型拟合，其pseudo- R^2 值均在0.9以上，拟合度较高，但后期考虑到整个反应体系中形成和消除作为一个整体同时进行反应，将其分开考虑无法很好地解释模型的参数，故而舍弃Logistic-生长曲线模型。

2.3.2 丙烯酰胺的Logistic-Fermi动力学模型拟合

表2 Glu-Asn模拟体系中丙烯酰胺的Logistic-Fermi动力学模型的参数及pseudo- R^2 值 ($n=3$)

Table 2 Parameters and pseudo- R^2 values of Logistic-Fermi kinetic models for acrylamide in Glu-Asn model system ($n=3$)

Glu-Asn模拟体系	a_f ($\mu\text{mol/mol}$ Asn)	k_f/min^{-1}	t_f/min	k_d/min^{-1}	t_d/min	pseudo- R^2
空白对照组	$(1.56 \pm 0.34) \times 10^{6a}$	0.225 ± 0.027^a	20.87 ± 1.13^a	0.079 ± 0.012^a	-49.12 ± 12.74^a	0.990 2
LSPC	$(5.83 \pm 0.62) \times 10^{6b}$	0.176 ± 0.025^a	31.12 ± 2.48^b	0.147 ± 0.039^b	-40.99 ± 7.21^a	0.971 7
LPPC	$(2.34 \pm 0.17) \times 10^{6c}$	0.187 ± 0.046^b	27.79 ± 2.17^a	0.128 ± 0.052^{ab}	41.81 ± 14.2^b	0.979 6

注：同列小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。表3、4同。

从表2可以看出，pseudo- R^2 值均大于0.97，且拟合效果较好，此外Logistic-Fermi动力学模型参数较多，可以很好地反映出丙烯酰胺的形成状态，但是此模型中出现了空白对照组和LSPC组的消除动力学参数 $t_d<0$ 的情况，对于本实验而言， t_d 作为时间是不可能小于0，不符合客观规律，故舍弃这种动力学模型。

2.3.3 丙烯酰胺的Logistic-指数动力学模型拟合

表3 Glu-Asn模拟体系中丙烯酰胺的Logistic-指数动力学模型的参数及pseudo- R^2 值 ($n=3$)

Table 3 Parameters and pseudo- R^2 values of Logistic-exponential kinetic models for acrylamide in Glu-Asn model system ($n=3$)

Glu-Asn模拟体系	Logistic-指数动力学模型				
	a_f ($\mu\text{mol/mol}$ Asn)	k_f/min^{-1}	t_f/min	p/min	pseudo- R^2
空白对照组	$(3.14 \pm 0.13) \times 10^{5a}$	0.249 ± 0.010^a	20.13 ± 1.02^a	41.21 ± 5.04^a	0.991 4
LSPC组	$(1.39 \pm 0.22) \times 10^{6b}$	0.171 ± 0.026^b	32.24 ± 1.83^b	43.82 ± 3.30^b	0.975 2
LPPC组	$(4.14 \pm 0.65) \times 10^{5a}$	0.197 ± 0.041^b	22.31 ± 1.99^a	44.79 ± 3.75^a	0.979 6

从表3可以看出，Logistic-指数动力学模型拟合结果中，LSPC组的 k_f 和 t_f 均与空白对照组存在显著性差异 ($P<0.05$)，LSPC的加入使得丙烯酰胺的生成速率明显降低，最大生成量时间也显著延长；LPPC组 k_f 与空白对照组存在显著性差异 ($P<0.05$)， t_f 无显著性差异，LPPC的加入也使得丙烯酰胺的生成速率明显降低，但最大生成量时间与空白对照组相比无显著延长；两个实验组的特征时间 p 与空白对照组相比均无显著性差异，这表明在反应后期的消除动力学阶段，两种原花青素的添加对丙烯酰胺的抑制并无明显效果。同时pseudo- R^2 值均大于0.97，说明动力学模型的拟合结果良好，适于描述本实验中丙烯酰胺的形成-消除动力学过程。此时，建立预测-实际相关散点图（图3）。结果表明，空白对照组和实验组的丙烯酰胺相关系数均在0.98以上，说明对丙烯酰胺具有较强的拟合性。

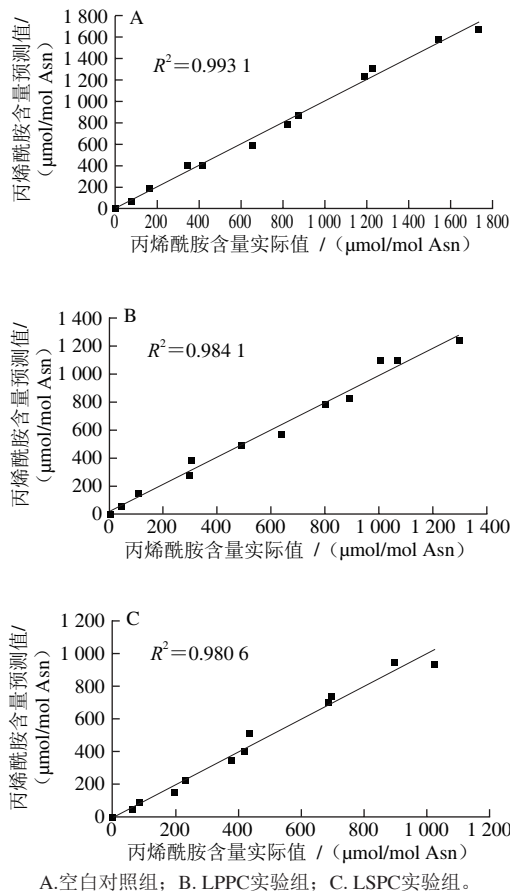


图3 Glu-Asn模拟体系中丙烯酰胺含量的实测值与预测值的相关性散点图

Fig. 3 Scattering plots for the relationship between acrylamide experimental values and predicted values in Glu-Asn model system

2.3.4 类黑精的Slogistic动力学模型拟合

表4 Glu-Asn模拟体系中类黑精Slogistic动力学模型的参数及pseudo- R^2 值 ($n=3$)

Table 4 Parameters and R^2 values of Slogistic kinetic models for melanoidins in Glu-Asn model system ($n=3$)

Glu-Asn 模拟体系	a_d (mmol/L)	k_d/min^{-1}	t_d/min	pseudo- R^2
空白对照组	238.16 ± 14.15^a	28.10 ± 2.78^a	0.126 ± 0.016^a	0.997 5
LSPC组	264.43 ± 11.80^b	32.00 ± 3.03^a	0.107 ± 0.007^a	0.999 5
LPPC组	241.27 ± 12.04^{ab}	29.72 ± 1.95^a	0.118 ± 0.011^a	0.990 5

从表4可看出, pseudo- R^2 值均大于0.99, 说明动力学模型拟合结果良好。实验组的 k_d 和 t_d 值与空白对照组相比, 均无显著性差异。

2.4 原花青素对体系丙烯酰胺生成后的抑制作用

由于最终测定时将溶液定容至10 mL, 故终质量浓度为添加质量浓度的1/10。考察了原花青素不同添加质量浓度对低、中、高3个质量浓度的丙烯酰胺标准品在体系中的抑制作用(表5)和不同温度条件下原花青素对丙烯酰胺标准品的抑制作用(图4)。体系丙烯酰胺质量浓度为0.02、0.20 $\mu\text{g/mL}$ 和2.00 $\mu\text{g/mL}$, LSPC和

LPPC添加质量浓度在0.001~1.000 mg/mL时, 产物中丙烯酰胺质量浓度分别在0.017 0~0.018 8、0.179~0.191、1.71~2.08 $\mu\text{g/mL}$ 和0.017 6~0.018 6、0.179~0.193、1.79~2.05 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 且分别与相应空白对照组无显著性差异($P>0.05$); 体系丙烯酰胺质量浓度为1.0 $\mu\text{g/mL}$, LSPC和LPPC质量浓度为0.1 mg/mL, 在不同加热温度下, 产物中丙烯酰胺的质量浓度分别在0.84~0.91 $\mu\text{g/mL}$ 和0.85~0.90 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 且分别与相应空白对照组无显著性差异($P>0.05$)。此结果证明LSPC和LPPC对丙烯酰胺的消除过程无显著性影响, 表明这2种原花青素可能与丙烯酰胺并不发生反应, 而是在丙烯酰胺的形成过程中起到抑制作用。原花青素对丙烯酰胺无消除作用, 可能因为以下几种情况: 一是随着高温反应的进行, 抗氧化剂本身的活性降低, 不足以对丙烯酰胺的抑制起到影响^[30]; 二是原花青素可能只对丙烯酰胺在前期的生成过程中起作用, 而当丙烯酰胺生成后, 对其并无消除效果^[13]; 三是到反应后期, 作为反应的前提Glu和Asn都大量减少, 原花青素不能很好地与它们结合, 从而对消除动力学无显著影响。同时原花青素的添加对丙烯酰胺无消除作用, 而是在丙烯酰胺的形成过程中起到抑制作用。

表5 丙烯酰胺与LSPC/LPPC在加热反应后含量的变化 ($n=3$)

Table 5 Changes in acrylamide contents after reaction with LSPC and LPPC under heating conditions ($n=3$)

丙烯酰胺理论 质量浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	原花青素抑制剂 质量浓度/ (mg/mL)	LSPC		LPPC	
		丙烯酰胺质量浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	P 值	丙烯酰胺质量 浓度/ ($\mu\text{g/mL}$)	P 值
0.02	空白对照	$0.018 5 \pm 0.001 2$		$0.018 6 \pm 0.001 3$	
	0.001	$0.017 4 \pm 0.009 3$	0.14	$0.017 6 \pm 0.000 5$	0.27
	0.005	$0.017 9 \pm 0.001 1$	0.39	$0.017 9 \pm 0.000 8$	0.43
	0.010	$0.018 1 \pm 0.001 0$	0.60	$0.018 1 \pm 0.000 6$	0.62
	0.050	$0.017 0 \pm 0.004 0$	0.05	$0.017 8 \pm 0.000 6$	0.39
	0.100	$0.018 2 \pm 0.004 6$	0.69	$0.017 9 \pm 0.001 4$	0.45
	0.500	$0.018 8 \pm 0.006 0$	0.70	$0.017 7 \pm 0.000 8$	0.31
	1.000	$0.018 1 \pm 0.007 0$	0.57	$0.018 4 \pm 0.000 6$	0.93
	空白对照	0.188 ± 0.082		0.189 ± 0.053	
	0.001	0.189 ± 0.030	0.82	0.184 ± 0.012	0.54
0.20	0.005	0.186 ± 0.075	0.71	0.179 ± 0.064	0.20
	0.010	0.188 ± 0.053	1.00	0.193 ± 0.041	0.51
	0.050	0.183 ± 0.059	0.24	0.186 ± 0.011	0.82
	0.100	0.191 ± 0.040	0.50	0.190 ± 0.032	0.74
	0.500	0.190 ± 0.040	0.65	0.183 ± 0.096	0.48
	1.000	0.179 ± 0.015	0.07	0.182 ± 0.017	0.36
	空白对照	1.96 ± 0.23		1.99 ± 0.04	
	0.001	1.95 ± 0.66	0.96	1.80 ± 0.17	0.09
	0.005	2.08 ± 0.45	0.27	1.99 ± 0.09	0.99
	0.010	1.80 ± 0.24	0.17	2.02 ± 0.10	0.77
2.00	0.050	1.93 ± 0.05	0.84	1.96 ± 0.08	0.79
	0.100	1.80 ± 0.02	0.18	1.79 ± 0.22	0.07
	0.500	1.71 ± 0.12	0.05	1.88 ± 0.14	0.29
	1.000	1.74 ± 0.23	0.07	2.05 ± 0.06	0.56

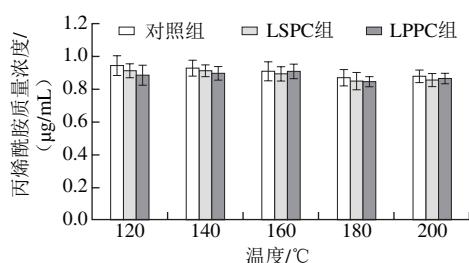


图4 丙烯酰胺与LSPC/LPPC在不同加热温度下质量浓度变化 (n=3)

Fig. 4 Changes in acrylamide contents after reaction with LSPC and LPPC at different heating temperatures (n=3)

3 结论

本实验在180 °C加热30 min、pH 8.0的条件下,研究了原花青素抑制丙烯酰胺的动力学行为。结果表明:其动力学曲线的不对称性较大,温度控制在180 °C有利于动力学分析的进行,反应温度过低,动力学模型很难被准确地模拟,而温度过高,体系反应剧烈,容易导致测定时丙烯酰胺不稳定性加大。Logistic-指数动力学模型科学地解释了原花青素的添加对丙烯酰胺动力学的影响。从结果可以看出,原花青素的添加使动力学模型中 k_t 和 t_f 与空白对照组均有显著性差异(除LPPC组 t_f),说明其对丙烯酰胺的形成确实有一定的影响,这可以理解为原花青素添加之后,在前期形成动力学占主导阶段,它可以使得丙烯酰胺的最大生成率降低,同时使最大生成量的时间延后。而消除动力学参数 p 与空白对照组相比均无显著性差异,即对消除动力学无显著影响,则说明在反应后期,原花青素对丙烯酰胺无抑制作用。

参考文献:

- [1] Swedish National Food Administration (SNFA). Acrylamide is formed during the preparation of food and occurs in many foodstuffs[R]. Uppsala: SNFA, 2002.
- [2] TAREKE E, RYDBERG P, KARLSSON P, et al. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4998-5006. DOI:10.1021/jf020302f.
- [3] RICE J M. The carcinogenicity of acrylamide[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2005, 580(1/2): 3-20. DOI:10.1016/j.mrgentox.2004.09.008.
- [4] TILSON H A. The neurotoxicity of acrylamide: an overview[J]. Neurobehavioral Toxicology and Teratology, 1981, 3(4): 445-461.
- [5] 李闪霞, 姜红芹, 崔宁, 等. 丙烯酰胺对大鼠大脑皮质神经细胞退变及bcl-2和bax表达的影响[J]. 毒理学杂志, 2008, 22(1): 31-32.
- [6] 赵佳, 蔡智鸣, 王振, 等. 丙烯酰胺对雄性果蝇生育力的影响[J]. 同济大学学报(医学版), 2009, 30(2): 24-27.
- [7] 王菊, 赵建军, 马旭. 丙烯酰胺对斑马鱼胚胎发育过程中microRNA表达的影响[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(3): 169-172.
- [8] ZYZAK D V, SANDERS R A, STOJANOVIC M, et al. Acrylamide formation mechanism in heated foods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(16): 4782-4787. DOI:10.1021/jf034180i.
- [9] YAYLAYAN V A, WNOROWSKI A, PEREZ LOCAS C. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(6): 1753-1757. DOI:10.1021/jf0261506.
- [10] BECALSKI A, LAU B P Y, LEWIS D, et al. Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(3): 802-808. DOI:10.1021/jf020889y.
- [11] STADLER R H, BLANK I, VARGA N, et al. Acrylamide from Maillard reaction products[J]. Nature, 2002, 419: 449-450. DOI:10.1038/419449.
- [12] YASUHARA A, TANAKA Y, HENGEL M, et al. Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browning model systems[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(14): 3999-4003. DOI:10.1021/jf0300947.
- [13] ZHANG Y, ZHANG Y. Effect of natural antioxidants on kinetic behavior of acrylamide formation and elimination in low-moisture asparagine-glucose model system[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 85(1): 105-115. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2007.07.013.
- [14] GOKMEN V, SENYUYA H Z. A simplified approach for the kinetic characterization of acrylamide formation in fructose asparagine model system[J]. Food Additives and Contaminants, 2006, 23(4): 348-354. DOI:10.1080/026520305000482355.
- [15] DE VLEESCHOUWER K, VAN DER PLANCKEN I, VAN LOEY A, et al. Kinetics of acrylamide formation/elimination reactions as affected by water activity[J]. Biotechnology Progress, 2007, 23(3): 722-728. DOI:10.1021/bp060389f.
- [16] LÓPEZ-LÓPEZ A, BEATO V M, SÁNCHEZ A H, et al. Effects of selected amino acids and water-soluble vitamins on acrylamide formation in a ripe olive model system[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 120: 9-16. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2013.07.
- [17] CORRADINI M G, PELEG M. Linear and non-linear kinetics in the synthesis and degradation of acrylamide in foods and model systems[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(6): 489-517. DOI:10.1080/10408390600758280.
- [18] KNOL J J, VIKLUND G Å I, LINSSEN J P H, et al. Kinetic modelling: a tool to predict the formation of acrylamide in potato crisps[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 103-109. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.07.032.
- [19] KOLEK E, ŠIMON P, ŠIMKO P. Nonisothermal kinetics of acrylamide elimination and its acceleration by table salt: a model study[J]. Journal of food science, 2007, 72(6): E341-E344. DOI:10.1111/j.1750-3841.2007.00403.x.
- [20] 高军涛, TANG Huiru, 侯京武, 等. 葡萄籽中多酚类物质对氧自由基清除作用的ESR研究[J]. 波谱学杂志, 1999, 16(5): 408-414.
- [21] DEL BAS J M, FEMANDEZ-LARREA J, BLAY M, et al. Grape seed procyanidins improve atherosclerotic risk index and induce liver CYP7A1 and SHP expression in healthy rats[J]. Federation of American Societies for Experimental Biology, 2005, 19(3): 479-481. DOI:10.1096/fj.04-3095fje.
- [22] HUYNH T H, TEEL R W. Selective induction of apoptosis in human mammary cancer cells (MCF-7) by pycnogenol[J]. Anticancer Research, 2000, 20(4): 2417-2420.
- [23] BLAZSÓ G, GÁBOR M, ROHDEWALD P. Antiinflammatory activities of procyanidin-containing extract from *Pinus pinaster* Ait. after oral and cutaneous application[J]. Pharmazie, 1997, 52(5): 380-382.
- [24] BAGCHI D, BAGCHI M, STOHS S J, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention[J]. Toxicology, 2000, 148(2): 187-197. DOI:10.1016/S0300-483X(00)00210-9.
- [25] 崔介君, 孙培龙, 马新. 原花青素的研究进展[J]. 食品科技, 2003, 28(2): 92-95.
- [26] 凌智群, 谢笔钧. 莲房原花青素对氧自由基和脂质过氧化的作用[J]. 营养学报, 2002, 24(2): 121-125.
- [27] 凌智群. 莲房原花青素及其生物、药理活性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2001: 26-34.
- [28] CORKE H, CAI Y Z, ZHU F, et al. Inhibitory effect and primary mechanism of proanthocyanidins from grape seeds against acrylamide formation in a Maillard reaction model system[J]. Scientific Bulletin, 2014, 18: 207-210.
- [29] LEONG L P, WEDZICHA B L. A critical appraisal of the kinetic model for the Maillard browning of glucose with glycine[J]. Food Chemistry, 2000, 68(1): 21-28. DOI:10.1016/S0308-8146(99)00146-6.
- [30] 洪新, 唐克, 鞠广龙. 葡萄籽中原花青素稳定性研究[J]. 粮油食品科技, 2013, 21(4): 61-64.