

氨基酸对葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中丙烯酰胺形成的抑制作用研究

周艳玲, 梁文娟, 高 晴, 董文明*, 和劲松*

(云南农业大学食品科学技术学院, 昆明 650201)

摘 要: **目的** 研究 4 种氨基酸对已建立的葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中丙烯酰胺生成的影响。**方法** 以葡萄糖-天冬酰胺组为对照组, 在此基础上分别加入半胱氨酸、甘氨酸、赖氨酸和谷氨酸 4 种氨基酸为实验组, 于 140 °C 反应 5~30 min, 测定反应后模拟体系的褐变程度、色差值、生成丙烯酰胺含量和剩余葡萄糖含量。**结果** 4 种氨基酸中, 半胱氨酸和谷氨酸对模拟体系中的褐变度和色差值的抑制作用较好; 半胱氨酸和赖氨酸对底物葡萄糖的消耗作用较快; 半胱氨酸对丙烯酰胺的抑制效果最好, 抑制率为 $(76.00\pm0.73)\%$, 其他氨基酸的抑制率分别为甘氨酸 $(38.39\pm0.44)\%$ 、赖氨酸 $(51.03\pm3.09)\%$ 和谷氨酸 $(28.76\pm2.43)\%$; 进一步研究发现, 当添加 4.2 mmol 半胱氨酸时, 丙烯酰胺抑制率达 $(95.32\pm0.47)\%$ 。**结论** 4 种氨基酸相比, 半胱氨酸对丙烯酰胺形成的抑制效果最好, 且对于降低葡萄糖-天冬酰胺模拟体系的褐变度、色差值、葡萄糖含量有较好的效果。**关键词:** 丙烯酰胺; 葡萄糖-天冬酰胺模拟体系; 半胱氨酸; 抑制率; 褐变度

Inhibitory effects of amino acids on the formation of acrylamide in glucose-asparagine simulation system

ZHOU Yan-Ling, LIANG Wen-Juan, GAO Qing, DONG Wen-Ming*, HE Jin-Song*

(College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

ABSTRACT: Objective To study the effect of 4 kinds of amino acids on the formation of acrylamide in the glucose-asparagine simulation system. **Methods** The glucose-asparagine group was used as the control group, and on this basis, 4 kinds of amino acids, including cysteine, glycine, lysine and glutamic acid were added respectively as the experimental group. The reaction was carried out at 140 °C for 5~30 min, and the degree of browning, color difference value, the content of acrylamide produced and the content of residual glucose in the simulated system after the reaction were determined. **Results** Among the 4 kinds of amino acids, cysteine and glutamic acid had the good inhibitory effects on browning degrees and color difference values, cysteine and lysine had rapid consumption effects on the substrate glucose. In addition, cysteine had the good inhibitory effect on acrylamide, where its inhibitory rate was $(76.00\pm0.73)\%$, whereas the inhibitory rates of other amino acids were glycine of $(38.39\pm0.44)\%$, lysine of

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860474、32060573、32160536)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31860474, 32060573, 32160536)

*通信作者: 董文明, 教授, 主要研究方向为食品科学。E-mail: dongwenming88@sina.com

和劲松, 副教授, 主要研究方向为食品非热加工与质量安全控制。E-mail: hejinsong@mail.tsinghua.edu.cn

*Corresponding author: DONG Wen-Ming, Professor, College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China. E-mail: dongwenming88@sina.com

HE Jin-Song, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China. E-mail: hejinsong@mail.tsinghua.edu.cn

(51.03±3.09)% and glutamate of (28.76±2.43)%. Further research found that when 4.2 mmol cysteine was added, the inhibition rate of acrylamide reached (95.32±0.47)%. **Conclusion** Among the 4 kinds of amino acids, cysteine has a good inhibitory effect on the formation of acrylamide and has a good effect on reducing the browning degree, color difference value and glucose content of the glucose-asparagine simulation system.

KEY WORDS: acrylamide; glucose-asparagine simulation system; cysteine; inhibition rate; browning degree

0 引言

丙烯酰胺(acrylamide, AA)是美拉德反应的副产物之一^[1], 1994 年被国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)列为 2A 级致癌物^[2]。研究表明, 丙烯酰胺具有神经毒性^[3]、遗传毒性^[4]、生殖毒性^[5-6]及潜在致癌性^[7-8]。食品中丙烯酰胺主要来源于美拉德反应, 广泛存在于淀粉类含量高的热加工食品中(如薯片、面包、饼干等)^[9-10], 其原料中的天冬酰胺和还原糖是丙烯酰胺形成的主要前体物质^[11-12]。美拉德反应有助于提高食品的颜色、风味和口感等^[13], 但反应过程中的丙烯酰胺因对人体健康造成一定威胁而引发关注。

有研究表明, 相同比例(0.1 mmol:0.1 mmol)的还原糖和天冬酰胺混合后高温反应 20 min, 能够检测出大量(221 mg/mol 氨基酸)丙烯酰胺^[14]。食品中成分复杂, 研究丙烯酰胺的抑制作用时易受到干扰, 因此建立一种成分简单又具代表性的葡萄糖-天冬酰胺模拟体系有助于研究的进行。众多研究^[15-18]均以葡萄糖和天冬酰胺作为反应底物构建模拟体系对美拉德反应及其产物(maillard reaction products, MRPs)进行研究。有研究发现, 一些氨基酸对食品中的丙烯酰胺有一定抑制作用, 如有研究者发现, 氨基酸在高温条件下对单一丙烯酰胺和葡萄糖-丙烯酰胺两种体系中丙烯酰胺具有消除作用, 并且发现半胱氨酸、赖氨酸和甘氨酸对丙烯酰胺的消除效果较好^[19]。陈嘉琪^[20]用谷氨酸溶液浸泡马铃薯丝, 发现谷氨酸溶液可以较好地抑制马铃薯丝的褐变。郭晓艳等^[21]和高晴等^[22]用半胱氨酸溶液浸泡油炸前的马铃薯片, 发现半胱氨酸溶液预处理对马铃薯片中的丙烯酰胺有一定抑制作用。目前, 相关研究多为某种氨基酸对食品中丙烯酰胺的抑制作用, 对于比较多种氨基酸在抑制葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中丙烯酰胺形成方面的研究未见系统报道。

本研究以葡萄糖和天冬酰胺为反应底物建立美拉德反应模拟体系, 从抑制模拟体系中丙烯酰胺的角度, 在模拟体系中加入半胱氨酸、甘氨酸、赖氨酸和谷氨酸, 研究 4 种氨基酸对模拟体系的影响及对丙烯酰胺的抑制作用, 为降低热加工食品中丙烯酰胺的含量提供理论技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

葡萄糖(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); L-天冬酰胺、L-半胱氨酸、L-赖氨酸、L-谷氨酸(分析纯, 上海源叶生物有限公司); 甘氨酸(分析纯, 德国 Biofroxx 有限公司); 甲醇(色谱纯, 德国 Merck KGaA 公司); 丙烯酰胺标准品(99.9%, 德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司); 尼龙注射器过滤器(0.22 μm, 天津津滕实验设备有限公司); 3,5-二硝基水杨酸(分析纯, 上海博研生物科技股份有限公司); 水系滤膜、有机系滤膜(0.45 μm, 天津津腾实验设备有限公司); 实验室用水均为超纯水; 其他试剂均为国药集团化学试剂有限公司生产的分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

DF-101 恒温油浴锅(上海秋佐科学仪器有限公司); UltiMate 3000 高效液相色谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; Milli-Q 超纯水系统(美国密理博公司); KQ3200E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); CM-5 分光色差计(天津特鲁斯科技有限公司); UV-1800 紫外可见分光光度计[翱艺仪器(上海)有限公司]; AR224CN 电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 葡萄糖-天冬酰胺模拟体系的建立

参考章宇^[23]的方法并稍做修改。准确称取 0.2774 g 葡萄糖固体粉末(1.4 mmol)和 0.1850 g 天冬酰胺固体粉末(1.4 mmol)混合均匀, 放入耐热试管中, 置于 140 °C 油浴锅中分别反应 5、10、15、20、25、30 min, 反应结束后, 迅速冰水浴冷却, 加入 10 mL 超纯水超声溶解 20 min 备用。

1.3.2 不同氨基酸-葡萄糖-天冬酰胺模拟体系的建立

准确称取 0.2774 g 葡萄糖固体粉末和 0.1850 g 天冬酰胺固体粉末, 分别加入 1.0 mmol 的半胱氨酸、甘氨酸、赖氨酸和谷氨酸固体粉末混合均匀, 放入耐热试管中, 置于 140 °C 油浴锅中分别反应 5、10、15、20、25、30 min, 反应结束后, 迅速冰水浴冷却, 向耐热试管中加入 10 mL 超纯水超声溶解 20 min 备用。

1.3.3 不同半胱氨酸添加量对模拟体系中丙烯酰胺的抑制作用

准确称取 0.2774 g 葡萄糖固体粉末和 0.1850 g 天冬酰胺

胺固体粉末,分别加入 0.7、1.4、2.1、2.8、3.5、4.2 mmol 半胱氨酸固体粉末混合均匀,放入耐热试管中,置于 140 °C 油浴锅中反应 15 min,反应结束后,迅速冰水浴冷却,加入 10 mL 超纯水超声溶解 20 min 备用。

1.3.4 模拟体系褐变度的测定

参考刘园等^[24]和 ARACHCHI 等^[25]的方法并稍做修改。反应体系的褐变程度用反应产物在波长 420 nm 下的吸光度表示。将反应后超声溶解的样品溶液用超纯水按体积比 1:30 稀释,以超纯水为空白对照(校零),于 420 nm 处测定吸光度(A),测定结果作为褐变指数。褐变指数 A 越大,表明经美拉德反应后的褐色产物越多。

1.3.5 模拟体系色差的测定

使用分光色差计,参考国际照明委员会的 L^* 、 a^* 、 b^* 颜色空间表示方法系统描述模拟体系反应后的颜色。3 个值的正负以标准白板、黑板为基准, L^* 、 a^* 、 b^* 分别表征了样品的黑白度、红绿度和黄蓝度^[26],测定超纯水的初始 L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* 作为参考点。对样品进行测定,记录 L_t^* 、 a_t^* 、 b_t^* ,并计算 E 。 E 表示总体色差但不能体现样品色差的偏移方向,其中 ΔE 数值越大,代表色差越大,反之则越小^[27],计算如公式(1):

$$\Delta E = \sqrt{(L_t^* - L_0^*)^2 + (a_t^* - a_0^*)^2 + (b_t^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

式中: L_t^* 为样品 L^* ; L_0^* 为超纯水 L^* 值; a_t^* 为样品 a^* ; a_0^* 为超纯水 a^* ; b_t^* 为样品 b^* ; b_0^* 为超纯水 b^* 。

1.3.6 葡萄糖含量的测定

(1) 3,5-二硝基水杨酸试剂的配制

参考高文军等^[28]的方法并稍做修改。准确称取 3,5-二硝基水杨酸 6.30 g 溶于 500 mL 超纯水中,加入 2 mol/L 氢氧化钠溶液 262 mL,依次加入 182.00 g 酒石酸钾钠、5.00 g 苯酚和 5.00 g 亚硫酸钠,45 °C 水浴加热,搅拌溶解后定容至 1000 mL,存于棕色瓶中备用。

(2) 标准曲线的制作

配制 10.00 mg/mL 葡萄糖标准溶液储备液,分别稀释为 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50、4.00 mg/mL 的葡萄糖标准溶液,吸取上述稀释好的标准溶液各 1 mL 于试管中,分别加入 2.5 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂,沸水浴加热 8 min,取出后冰水浴冷却,冷却后加入 21.5 mL 超纯水,摇匀、静置 20 min,以相同条件下不加葡萄糖溶液的作空白对照,在 540 nm 波长下测定吸光度。以葡萄糖质量浓度为横坐标(X_1 , mg/mL),吸光度值为纵坐标(Y_1),绘制葡萄糖溶液标准曲线 [$Y_1 = 0.3367X_1 - 0.0682$ ($r^2 = 0.9993$)]。

(3) 模拟体系中葡萄糖含量的测定

准确吸取反应后超声溶解的样品液 100 μ L 于试管中,加入 2.5 mL 3,5-二硝基水杨酸试剂,沸水浴加热 8 min,取出后冰水浴冷却,冷却后加入超纯水 21.5 mL,摇匀、静置 20 min,以相同条件下未加入样品液的作为空白对照,在 540 nm 波长下测定吸光度。将样品吸光度值代入标准曲线

计算样品液中的葡萄糖含量。

1.3.7 模拟体系中丙烯酰胺含量的测定

(1) 色谱条件

色谱柱: Synchronis C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 柱温: 25 °C; 流动相 A 为甲醇, B 为水, A:B=5:95 (V/V); 流速: 1 mL/min; 进样量: 10 μ L; 检测波长: 210 nm^[23]。

(2) 标准曲线的制作

配制 0.10 mg/mL 的丙烯酰胺储备液。将储备液稀释为 0.10、0.50、1.00、3.00、5.00、7.00、9.00、11.00 μ g/mL 的标准溶液进样分析,以丙烯酰胺浓度为横坐标(X_2 , μ g/mL),以色谱峰的峰面积为纵坐标(Y_2)绘制标准曲线 [$Y_2 = 1.0217X_2 + 0.0554$ ($r^2 = 0.9995$)]。

(3) 样品前处理

准确吸取反应后超声溶解的样品溶液 2.0 mL,用乙酸乙酯作为萃取剂,准确吸取 2.0 mL 乙酸乙酯液-液萃取 4 次,将乙酸乙酯相合并,待乙酸乙酯挥发干,加入 1.5 mL 超纯水复溶,选用经 3.0 mL 甲醇和 3.0 mL 超纯水活化的 HLB 固相萃取小柱净化,将上述复溶样液通过固相萃取小柱,弃去滤液,用 3.0 mL 超纯水洗脱并收集洗脱液,过 0.22 μ m 滤膜,进样分析^[29]。

(4) 丙烯酰胺抑制率的计算

丙烯酰胺抑制率的计算如公式(2):

$$\text{丙烯酰胺抑制率}/\% = \left[\frac{C_0 - C_t}{C_0} \right] \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_0 为对照组丙烯酰胺含量, μ g; C_t 为添加氨基酸实验组丙烯酰胺含量, μ g。

1.4 统计分析

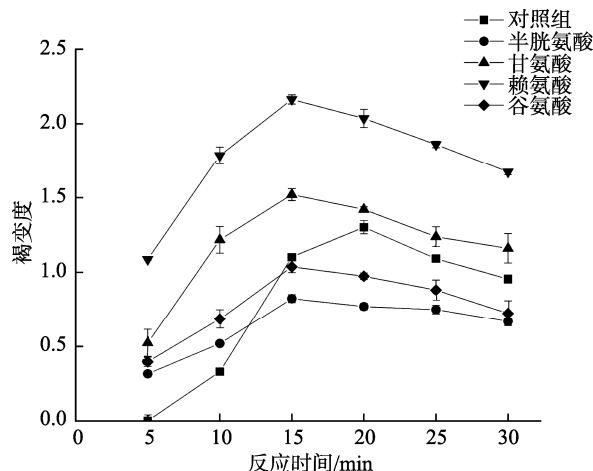
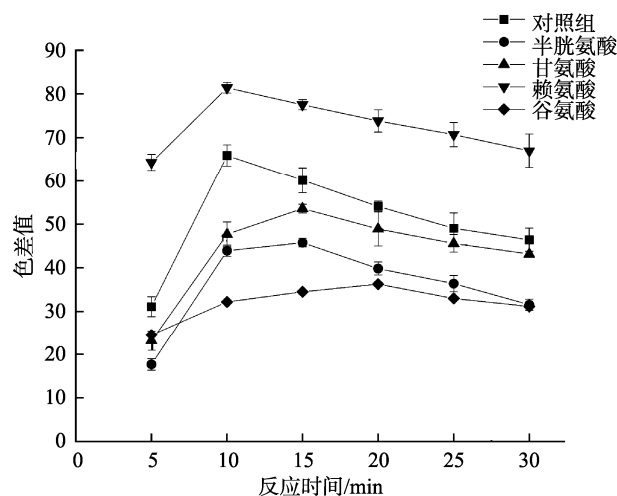
采用 Microsoft Excel 2016 对试验数据进行整理,结果以平均值±标准偏差表示,使用 Origin 2018 软件绘图、使用 SPSS Statistics 25.0 的单因素方差分析(one-factor analysis of variance, one-way ANOVA)对实验数据进行显著性分析, $P < 0.05$ 表示具有显著性差异,每个样品 3 个平行。

2 结果与分析

2.1 不同氨基酸对模拟体系的影响

2.1.1 不同氨基酸对模拟体系褐变度和色差值的影响

高温条件下,羰基化合物与氨基化合物经过缩合、聚合生成一类结构复杂、聚合度不等的高分子棕褐色混合物,称之为类黑精,类黑精的产生受到反应时间和温度的影响^[30-32],一般认为反应液颜色越深,反应程度越深^[33]。本研究比较了 140 °C 下反应 5~30 min,不同氨基酸对葡萄糖-天冬酰胺模拟体系褐变度和色差值的影响,其中葡萄糖-天冬酰胺组为对照组,结果如图 1 和图 2 所示。

图 1 不同氨基酸对模拟体系褐变度的影响($n=3$)Fig.1 Effects of different amino acids on browning degrees of simulated system ($n=3$)图 2 不同氨基酸对模拟体系色差的影响($n=3$)Fig.2 Effects of different amino acids on chromatic aberrations of simulated system ($n=3$)

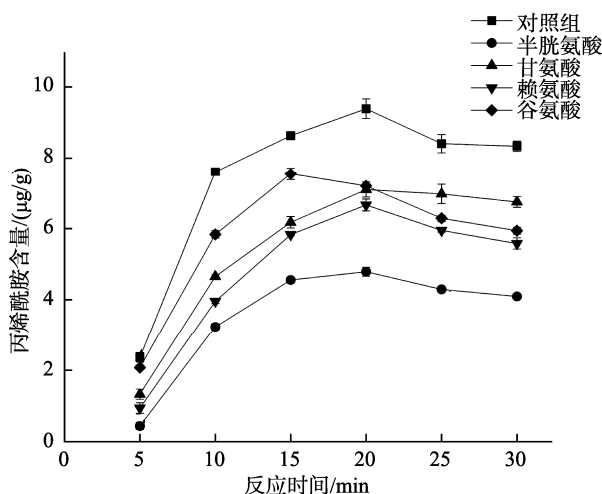
由图 1 可知, 在反应 5~15 min 时, 4 种氨基酸实验组的褐变度均呈上升趋势, 15 min 时到达峰值, 褐变度大小分别为赖氨酸>甘氨酸>对照组>谷氨酸>半胱氨酸。此时, 反应的褐变程度加深, 类黑精产生较多。其中, 反应时间为 5~10 min 时, 4 种氨基酸实验组褐变度均大于对照组, 推测在反应初期, 实验所选用的 4 种氨基酸均可促进模拟体系的褐变。对照组的褐变度在反应 20 min 时到达峰值, 4 种氨基酸实验组均在 15 min 时到达峰值, 推测 4 种氨基酸可以加快反应的褐变。反应时间 15~30 min 时, 与对照组相比, 赖氨酸和甘氨酸会促进反应的褐变, 原因可能是赖氨酸具有活泼的 $\epsilon\text{-NH}_2$ 是美拉德反应中产生褐变最强的氨基酸^[34]。色差值 ΔE 数值越大, 代表样品与超纯水之间的色差越大, 反之则越小。由图 2 可知, 在反应过程中色差

值大小整体为赖氨酸>对照组>甘氨酸>半胱氨酸>谷氨酸, 表明赖氨酸能够增大反应的色差值, 半胱氨酸和谷氨酸能够较好地抑制反应的色差值。分析发现, 随着反应时间的延长, 模拟体系褐变度和色差值均呈先升高后降低的趋势, 半胱氨酸和谷氨酸能够对模拟体系的褐变度和色差值有抑制作用。

2.1.2 不同氨基酸对模拟体系丙烯酰胺含量的影响

本研究比较了 140 °C 下反应 5~30 min, 不同氨基酸对葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中丙烯酰胺含量的变化, 以葡萄糖-天冬酰胺组为对照组。

由图 3 可知, 随着反应时间的延长, 丙烯酰胺含量均先升高后缓慢下降。通过比较得出, 不同氨基酸实验组的丙烯酰胺含量均低于对照组。对照组中丙烯酰胺含量峰值为 $(9.39 \pm 0.27) \mu\text{g/g}$, 其中半胱氨酸组的抑制作用最强, 其峰值为 $(4.79 \pm 0.13) \mu\text{g/g}$ 、其次是赖氨酸组 $(6.66 \pm 0.17) \mu\text{g/g}$ 、甘氨酸组 $(7.10 \pm 0.21) \mu\text{g/g}$ 和谷氨酸组 $(7.55 \pm 0.16) \mu\text{g/g}$ 。表明实验选取的 4 种氨基酸对美拉德反应模拟体系中的丙烯酰胺有一定的抑制效果, 其中半胱氨酸的抑制效果最好, 这与冷文慧等^[35]的研究结果相似。在美拉德反应中, 丙烯酰胺是美拉德反应的中间产物, 它的形成和消减是同时发生的。反应初期, 丙烯酰胺的形成大于消减, 其含量不断上升。随着反应时间的延长, 形成丙烯酰胺的反应底物减少, 消减反应逐渐超过形成反应, 丙烯酰胺含量呈下降趋势^[36-37]。

图 3 不同氨基酸对模拟体系丙烯酰胺含量的影响($n=3$)Fig.3 Effects of different amino acids on acrylamide content in simulated system ($n=3$)

2.1.3 不同氨基酸对模拟体系葡萄糖含量的影响

本研究比较了 140 °C 下反应 5~30 min, 不同氨基酸对葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中葡萄糖含量的变化, 以葡萄糖-天冬酰胺组为对照组。由图 4 可知, 随着反应时间的延长, 反应底物葡萄糖不断被消耗, 葡萄糖含量均呈

逐渐下降的趋势。与对照组比较发现, 甘氨酸组和谷氨酸组的下降趋势较慢, 下降幅度较小, 而赖氨酸组和半胱氨酸组下降趋势较快, 尤其是反应前 10 min, 赖氨酸组葡萄糖含量由(341.11±6.78) mg 下降至(206.47±5.18) mg, 半胱氨酸组葡萄糖含量由(354.97±1.49) mg 下降至(161.63±8.97) mg。由此可见, 赖氨酸和半胱氨酸能够快速与模拟体系中的葡萄糖反应, 降低体系中的葡萄糖含量, 进而一定程度地阻断丙烯酰胺的形成。葡萄糖是模拟体系中产生丙烯酰胺的前体物质, 赖氨酸和半胱氨酸能够与葡萄糖迅速反应^[38-39], 消耗反应体系中的葡萄糖, 从而减少丙烯酰胺的生成。

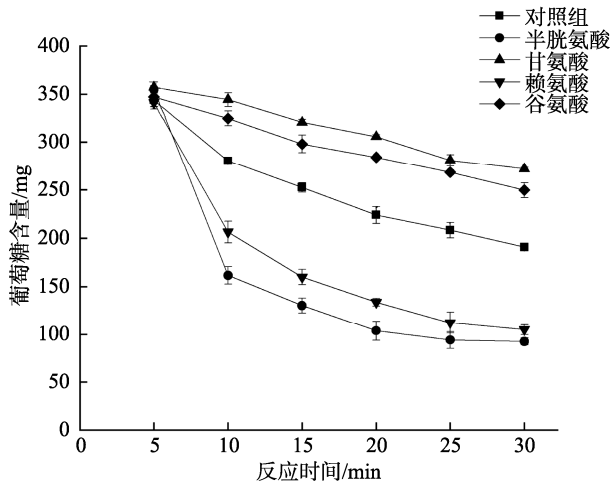


图 4 不同氨基酸对模拟体系葡萄糖含量的影响($n=3$)
Fig.4 Effects of different amino acids on glucose content in simulated system ($n=3$)

2.1.4 不同氨基酸对模拟体系丙烯酰胺抑制率的影响

为探讨不同氨基酸对模拟体系丙烯酰胺抑制率的影响, 本研究比较了 140 °C 下反应 5~30 min, 不同氨基酸对葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中丙烯酰胺抑制率的变化。

由图 5 可知, 比较 4 种氨基酸的丙烯酰胺抑制率得出, 半胱氨酸的丙烯酰胺抑制率在 5~30 min 内均为最高。4 种氨基酸组对丙烯酰胺抑制率的峰值分别为: 半胱氨酸组(76.00±0.73)%、甘氨酸组(38.39±0.44)%、赖氨酸组(51.03±3.09)%和谷氨酸组(28.76±2.43)%。分析表明, 半胱

氨酸较其他 3 种氨基酸对丙烯酰胺的抑制效果好。该结果与王笑^[40]在面制品中丙烯酰胺的检测技术及抑制方法研究中的结果一致。

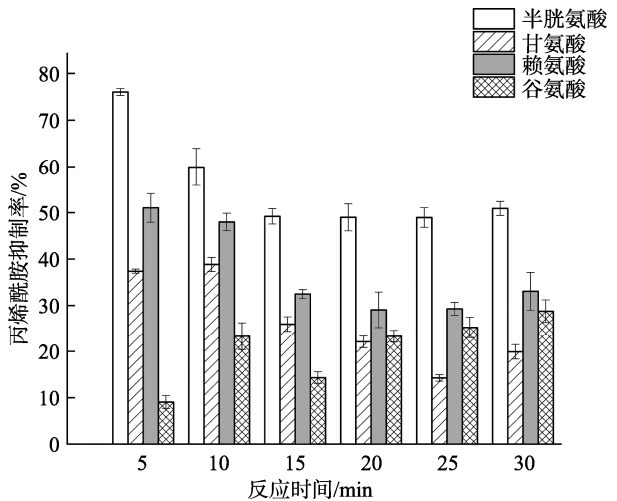


图 5 不同氨基酸对模拟体系丙烯酰胺抑制率的影响($n=3$)
Fig.5 Effects of different amino acids on acrylamide inhibition rates of simulated system ($n=3$)

2.2 半胱氨酸添加量对模拟体系的影响

鉴于半胱氨酸抑制丙烯酰胺的效果较好, 本研究进一步探讨了半胱氨酸添加量对模拟体系的影响。本研究比较了 140 °C 下反应 15 min 时, 不同半胱氨酸添加量对葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中褐变度、色差值、葡萄糖含量和丙烯酰胺抑制率的变化, 结果表 1 所示。

随着半胱氨酸添加量的增加, 模拟体系褐变度和色差值逐渐降低。由表 1 可知, 未加入半胱氨酸时, 模拟体系褐变度为 1.10±0.08。当加入 1.4 mmol 半胱氨酸时, 褐变度与对照组相比有显著性差异($P<0.05$); 此后, 随着半胱氨酸添加量增加至 4.2 mmol 时, 模拟体系褐变度逐渐降低至 0.67±0.19。未加入半胱氨酸时, 色差值为 60.11±2.91, 当添加量为 0.7 mmol 时, 色差值与对照组相比具有显著性差异($P<0.05$); 此后, 随着半胱氨酸添加量增加至 4.2 mmol 时, 模拟体系色差值逐渐下降至 42.73±0.43, 由此可见, 在实验剂量范围内半胱氨酸可对模拟体系的褐变度和色差值有较好的抑制效果。

表 1 半胱氨酸添加量对模拟体系的影响($n=3$)
Table 1 Effects of cysteine additions on the simulated system ($n=3$)

半胱氨酸添加量/mmol	褐变度	色差值	葡萄糖含量/mg	丙烯酰胺抑制率/%
0	1.10±0.08 ^a	60.11±2.91 ^a	254.59±2.64 ^a	-
0.7	1.07±0.03 ^a	55.26±1.74 ^b	98.27±1.47 ^b	31.51±2.09 ^f
1.4	0.89±0.13 ^b	49.47±0.52 ^c	74.11±1.47 ^c	56.94±1.55 ^e
2.1	0.86±0.01 ^b	48.34±0.76 ^{cd}	71.14±2.27 ^{cd}	80.22±1.44 ^d
2.8	0.82±0.04 ^c	46.49±1.82 ^{de}	69.76±1.52 ^d	87.37±1.02 ^c
3.5	0.75±0.02 ^d	44.55±1.11 ^{ef}	59.76±0.79 ^e	92.80±0.67 ^b
4.2	0.67±0.19 ^e	42.73±0.43 ^f	56.98±1.37 ^e	95.32±0.47 ^a

注: 同列不同字母表示具有显著性差异, $P<0.05$; -表示无具体数值。

葡萄糖是模拟体系的底物之一,葡萄糖含量在一定程度上能说明反应的进程。如表 1 所示,随着半胱氨酸添加量的增加,模拟体系中葡萄糖含量呈逐渐下降趋势。未加入半胱氨酸时,葡萄糖含量为 (254.59 ± 2.64) mg,当添加 0.7 mmol 半胱氨酸时,葡萄糖含量与未添加组相比具有显著性差异($P < 0.05$)。此后,随着半胱氨酸添加量增加至 4.2 mmol 时,葡萄糖含量降低至 (56.98 ± 1.37) mg。由此可见,半胱氨酸能够与模拟体系中的葡萄糖反应,产生吡咯噻唑盐等物质^[41],消耗模拟体系中的葡萄糖,进而一定程度上抑制丙烯酰胺的形成。

如表 1 所示,随着半胱氨酸添加量的增加,模拟体系丙烯酰胺抑制率呈逐渐上升趋势。当添加 1.4 mmol 半胱氨酸时,丙烯酰胺抑制率为 $(56.94 \pm 1.55)\%$ 。此后,随着半胱氨酸添加量增加至 4.2 mmol 时,模拟体系丙烯酰胺抑制率升高至 $(95.32 \pm 0.47)\%$ 。由此可见,加入半胱氨酸能够有效抑制模拟体系中的丙烯酰胺。

3 结论与讨论

通过在葡萄糖-天冬酰胺模拟体系中添加 4 种氨基酸,于 140 °C 反应 5~30 min,测定反应后模拟体系的褐变程度、色差、产生丙烯酰胺的含量和剩余底物葡萄糖的含量,探讨 4 种氨基酸对丙烯酰胺的抑制情况和对模拟体系的影响。研究发现半胱氨酸和谷氨酸对模拟体系的褐变度和色差值有较好的抑制作用,在反应过程中抑制了类黑素的形成,一定程度上抑制了反应的进程^[42];半胱氨酸和赖氨酸可快速消耗葡萄糖,减少了底物葡萄糖的含量,在一定程度上抑制丙烯酰胺的形成;在相同反应条件下添加 1 mmol 的 4 种氨基酸,半胱氨酸对丙烯酰胺的抑制率最高为 $(76.00 \pm 0.73)\%$,其他氨基酸分别为甘氨酸 $(38.39 \pm 0.44)\%$ 、赖氨酸 $(51.03 \pm 3.09)\%$ 和谷氨酸 $(28.76 \pm 2.43)\%$;进一步研究发现,随着半胱氨酸添加量的增加,丙烯酰胺抑制率逐渐升高。当添加 1.4 mmol 半胱氨酸时,模拟体系中丙烯酰胺的抑制率为 $(56.94 \pm 1.55)\%$,当添加 4.2 mmol 半胱氨酸时,模拟体系丙烯酰胺抑制率达 $(95.32 \pm 0.47)\%$ 。半胱氨酸所含的巯基具有很强的亲核性,能够抑制活性较强的中间产物形成,阻碍后续醛醇缩合、脱水、裂解、环化等反应,减缓美拉德反应进程,且巯基与烯烃具有良好的反应活性,能与丙烯酰胺发生 Michael 加成反应,降低丙烯酰胺的含量^[43]。该研究可为后续探究 4 种氨基酸对丙烯酰胺的抑制机制提供一定的数据支撑。

参考文献

- [1] MOTTRAM DS, WEDZICHA BL, DODSON AT. Acrylamide is formed in the Maillard reaction [J]. *Nature*, 2002, 419(6906): 448-449.
- [2] 程劼, 韩彩芹, 谢建春, 等. SERS 的煎炸食品中丙烯酰胺速测方法研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40(4): 1087-1092.
- [3] CHENG J, HAN CQ, XIE JC, *et al.* Rapid determination of acrylamide in SERS fried food [J]. *Spectrosc Spect Anal*, 2020, 40(4): 1087-1092.
- [4] PARK JS, SAMANTA P, LEE S, *et al.* Developmental and neurotoxicity of acrylamide to zebrafish [J]. *Int J Mol Sci*, 2021. DOI: 10.3390/ijms22073518
- [5] ZHU F, WANG J, JIAO J, *et al.* Exposure to acrylamide induces skeletal developmental toxicity in zebrafish and rat embryos [J]. *Environ Pollut*, 2021, 271: 116395.
- [6] GAO JG, YANG JK, ZHU L, *et al.* Acrylamide impairs the developmental potential of germinal vesicle oocytes by inducing mitochondrial dysfunction and autophagy/apoptosis in mice [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(12): S370-S380.
- [7] SKERRETT-BYME DA, NIXON B, BROMFIELD EG, *et al.* Transcriptomic analysis of the seminal vesicle response to the reproductive toxicant acrylamide [J]. *BMC Genom*, 2021, 22(1): 728.
- [8] 张璐佳, 杨柳青, 王鹏璞, 等. 丙烯酰胺毒性研究进展[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(8): 274-283.
- [9] ZHANG LJ, YANG LQ, WANG PP, *et al.* Research progress of acrylamide toxicity [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2018, 18(8): 274-283.
- [10] MERHI A, NAOUS GE, DAHER R, *et al.* Carcinogenic and neurotoxic risks of dietary acrylamide consumed through cereals among the Lebanese population [J]. *BMC Chem*, 2020, 14(1): 53.
- [11] KOSZUCKA A, NOWAK A, NOWAK I, *et al.* Acrylamide in human diet, its metabolism, toxicity, inactivation and the associated European Union legal regulations in food industry [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(10): 1677-1692.
- [12] RAFFAN S, HALFORD NG. Acrylamide in food: Progress in and prospects for genetic and agronomic solutions [J]. *Ann Appl Biol*, 2019, 175(3): 259-281.
- [13] YAYLAYAN VA, WNOROWSKI A, PEREZ LC. Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(6): 1753-1757.
- [14] STADLER RH, BLANK I, VARGA N, *et al.* Acrylamide from Maillard reaction products [J]. *Nature*, 2002, 419(6906): 449-450.
- [15] 戚繁. 美拉德反应在食品工业中的研究进展[J]. *现代食品*, 2020, (19): 44-46.
- [16] QI F. Effect of drying temperature on changes of Maillard reaction main index components in processing of black cinseng [J]. *Mod Food*, 2020, (19): 44-46.
- [17] YILTIRAK S, KOCADAGLI T, CELIK EE, *et al.* Effects of sprouting and fermentation on free asparagine and reducing sugars in wheat, einkorn, oat, rye, barley, and buckwheat and on acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural formation during heating [J]. *J Agric Food Chem*, 2021, 69(32): 9419-9433.
- [18] LIN HV, CHAN DS, KAO LY, *et al.* Effect of hydroxymethylfurfural and low-molecular-weight chitosan on formation of acrylamide and hydroxymethylfurfural during Maillard reaction in glucose and asparagine model systems [Z]. 2021.
- [19] 戴炳业, 左洁, 张永菊, 等. 葡萄糖/天冬酰胺低湿模拟体系中丙烯酰胺产生机理研究[J]. *粮油食品科技*, 2014, 22(3): 45-49.
- [20] DAI BY, ZUO J, ZHANG YJ, *et al.* Study on the formation of acrylamide in glucose/asparagine low-humidity simulation system [J]. *Sci Technol*

- Cere Oils Foods, 2014, 22(3): 45–49.
- [17] 孙颖, 丁奇, 张莉莉, 等. Maillard 反应体系中 HMF 和丙烯酰胺的含量分析[J]. 食品科技, 2016, 41(12): 35–40.
- SUN Y, DING Q, ZHANG LL, *et al.* Content analysis of HMF and acrylamide in Maillard reaction system [J]. Food Sci Technol, 2016, 41(12): 35–40.
- [18] 邱朝坤, 黄琳. 丙烯酰胺天冬酰胺/葡萄糖低湿模式反应体系条件优化[J]. 食品工业, 2019, 40(6): 22–24.
- QIU CK, HUANG L. Optimization of reaction system of acrylamide in asparagine/glucose low humidity model system [J]. Food Ind, 2019, 40(6): 22–24.
- [19] 于森, 邓刘蒙子, 江姗姗, 等. 7 种氨基酸对丙烯酰胺的消除作用[J]. 食品科学, 2012, 33(17): 21–24.
- YU M, DENG LMZ, JIANG SS, *et al.* Effects of seven amino acids on the elimination of acrylamide [J]. Food Sci, 2012, 33(17): 21–24.
- [20] 陈嘉琪. 谷氨酸溶液处理抑制鲜切马铃薯褐变的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2021.
- CHEN JQ. Study on browning inhibition of glutamic acid solution on fresh-cut potatoe [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2021.
- [21] 郭晓艳, 高晴, 董文明, 等. 不同预加工方式对马铃薯片中丙烯酰胺的影响[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(1): 66–72.
- GUO XY, GAO Q, DONG WM, *et al.* Effect of different pretreatment methods on acrylamide in potato chips [J]. Food Res Dev, 2021, 42(1): 66–72.
- [22] 高晴, 孙浩男, 范江平, 等. 预处理对云南脆皮薯条中丙烯酰胺形成的抑制效果研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(19): 6841–6848.
- GAO Q, SUN HN, FAN JP, *et al.* Study on inhibitory effect of pretreatment on acrylamide formation in Yunnan crispy potato chips [J]. J Food Saf Qual, 2020, 11(19): 6841–6848.
- [23] 章宇. 生物黄酮抑制食品中丙烯酰胺形成的机理及其构效关系研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- ZHANG Y. Studies on reduction mechanism and structure-activity relationship of acrylamide in foods by bio-flavonoids [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [24] 刘园, 肖广健, 陈飞, 等. 热烫方式对桃微观结构、酶促褐变及相关品质的影响[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 183–190.
- LIU Y, XIAO GJ, CHEN F, *et al.* Effects of blanching methods on microstructure, enzymatic browning and related quality of peach [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(20): 183–190.
- [25] ARACHCHI SJ, KIM YJ, KIM DW, *et al.* Optimization of Maillard reaction in model system of glucosamine and cysteine using response surface methodology [J]. Prev Nutr Food Sci, 2017, 22(1): 37–44.
- [26] 曾欣怡, 陈尔豹, 张雨, 等. 基于色差及电子鼻的红糖品质研究[J]. 粮油食品科技, 2020, 28(5): 170–180.
- ZENG XY, CHEN EB, ZHANG Y, *et al.* Research on brown sugar quality using color difference and electronic nose [J]. Sci Technol Cere Oils Foods, 2020, 28(5): 170–180.
- [27] 王美, 傅玉颖, 李欣, 等. 水溶性姜黄色素分散体系的稳定性研究[J]. 中国食品学报, 2018, 18(11): 34–43.
- WANG M, FU YY, LI X, *et al.* Stability study of the water-soluble curmeric dispersion system [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2018, 18(11): 34–43.
- [28] 高文军, 李卫红, 王喜明, 等. 3,5-二硝基水杨酸法测定蔓菁中还原糖和总糖含量[J]. 中国药业, 2020, 29(9): 113–116.
- GAO WJ, LI WH, WANG XM, *et al.* Determination of reducing sugar and total sugar in turnip by 3,5-dinitrosalicylic acid colorimetry [J]. China Pharm, 2020, 29(9): 113–116.
- [29] 邹志博, 段云, 徐志, 等. 超高压液相色谱-串联质谱法测定速溶咖啡和曲奇饼干中丙烯酰胺的含量[J]. 理化检验(化学分册), 2021, 57(10): 913–918.
- HUAN ZB, DUAN Y, XU Z, *et al.* Determination of acrylamide in instant coffee and cookies by UHPLC-MS/MS [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2021, 57(10): 913–918.
- [30] 韩易, 赵燕, 徐明生, 等. 美拉德反应产物类黑精的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 339–345.
- HAN Y, ZHAO Y, XU MS, *et al.* Research progress on the melanoidins of Maillard reaction product [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(9): 339–345.
- [31] 刘定波. 微波法制备I类焦糖色素的工艺与性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- LIU DB. Technology and properties of class I caramel by microwave heating [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [32] 唐微. 同时脱水-反应法制备肽美拉德反应中间体[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
- TANG W. Preparation of peptide derived-Maillard reaction intermediates by simultaneous dehydration-reaction [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020.
- [33] 胡云峰, 王晓彬, 陈君然, 等. 基于美拉德反应制备的熟制黑枸杞加工工艺及活性成分变化规律[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(7): 151–156.
- HU YF, WANG XB, CHEN JR, *et al.* Processing technology and changes in active ingredients of cooked black *Lycium barbarum* L. based on Maillard reaction [J]. Food Ferment Ind, 2019, 45(7): 151–156.
- [34] 刘健南, 王小博. 葡萄糖/赖氨酸模拟体系中丙烯酰胺的生成[J]. 食品工业, 2019, 40(11): 18–21.
- LIU JN, WANG XB. The formation of acrylamide in glucose/lysine simulated system [J]. Food Ind, 2019, 40(11): 18–21.
- [35] 冷文慧, 郝瑞芳, 景浩. 三种氨基酸及其美拉德反应产物对丙烯酰胺生成的抑制作用[J]. 农产品加工(学刊), 2012, (2): 60–64.
- LENG WH, HAO RF, JING H. Inhibition of acrylamide formation by three amino acids and their maillard reaction products [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2012, (2): 60–64.
- [36] CHEN XM, TAIT AR, KITTS DD. Flavonoid composition of orange peel and its association with antioxidant and anti-inflammatory activities [J]. Food Chem, 2017, 218: 15–27.
- [37] 陈卓静, 关亚飞, 丁城, 等. 葡萄糖-天门冬酰胺体系中丙烯酰胺的生成规律研究[J]. 中国调味品, 2017, 42(12): 23–27.
- CHEN ZJ, GUAN YF, DING C, *et al.* Study on the formation rule of acrylamide in model system of glucose-asparagine [J]. China Cond, 2017, 42(12): 23–28.
- [38] 张丽, 宋丽军, 李述刚. 利用模拟溶液研究葡萄糖与氨基酸褐变反应[J]. 农业与技术, 2014, 34(11): 26–27.
- ZHANG L, SONG LJ, LI SG. The browning reaction between glucose and amino acids was studied in simulated solution [J]. Agric Technol, 2014,

34(11): 26–27.

- [39] 钱敏, 白卫东, 赵文红, 等. 不同氨基酸和糖对美拉德反应产物的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(13): 31–35.

QIAN M, BAI WD, ZHAO WH, *et al.* Effects of amino acids and reducing sugars on Maillard reaction products [J]. Food Sci, 2016, 37(13): 31–35.

- [40] 王笑. 面制品中丙烯酰胺的检测技术及抑制方法研究[D]. 杭州: 中国计量学院, 2015.

WANG X. Study on detection technology and inhibition methods of acrylamide in flour products [D]. Hangzhou: China Jiliang University, 2015.

- [41] NODA K, TERASAWA N, MURATA M. Formation scheme and antioxidant activity of a novel maillard pigment, pyrrolothiazolate, formed from cysteine and glucose [J]. Food Funct, 2016, 7(6): 2551–2556.

- [42] 陈立彪, 朱凤妹, 李军. 干燥温度对黑参加工过程中美拉德反应主要指标成分变化的影响[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(6): 120–125.

CHEN LB, ZHU FM, LI J. Effect of drying temperature on changes of Maillard reaction main index components in processing of black ginseng [J]. Storage Process, 2020, 20(6): 120–125.

- [43] 熊志勇. 食品加工过程中丙烯酰胺与硫醇类香味物质的反应及其机理研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018.

XIONG ZY. Study on the reaction and mechanism of acrylamide and thiol

flavor substances in food processing [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

作者简介



周艳玲, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工与安全控制。

E-mail: 1402329030@qq.com



董文明, 教授, 主要研究方向为食品科学。

E-mail: dongwenming88@sina.com



和劲松, 副教授, 主要研究方向为食品非热加工与质量安全控制。

E-mail: hejinsong@mail.tsinghua.edu.cn