DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20231122006

辛弗林与橙皮苷等多酚联用抑制食品体系中 丙烯醛的协同效用研究

冯小兰¹, 王奕辰², 梁 雨², 贾梦玮², 卢永翎², 吕丽爽^{2*}

(1. 江苏旅游职业学院烹饪科技学院,扬州 225007; 2. 南京师范大学食品与制药工程学院,南京 210023)

摘要:目的 探究生物碱和黄酮单用以及多元联用对丙烯醛(acrolein, ACR)的抑制效果。方法 利用 Chou-Talalay 方法,采用高效液相色谱检测辛弗林(synephrine, SYN)、橙皮苷(hesperidin, HES)单用及二元联用 [半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)恒定比例,沃柑中实际比例]对 ACR 的抑制活性,在此 基础上与姜黄素(curcumin, CUR)、槲皮素(quercetin, QUE)、山奈酚(kaempferol, KAE)三元联用的抑制活性,采用 CompuSyn 软件对联用效果进行分析计算,并采用高效液相色谱-串联质谱法测定 HES、SYN、CUR 联用对 ACR 的捕获路径,分析其协同机制。最后从模型延展至食品体系,利用富含 SYN 和 HES 的柑橘和富含 CUR 的姜黄应用于烤鸭翅,验证多种物质叠加对 ACR 的抑制效果。结果 SYN 与 HES 按照 IC₅₀ 恒定比例或沃柑 中实际比例二元联用均具有协同抑制 ACR 的作用,且 HES、SYN 与 CUR/QUE/KAE 按照 IC₅₀ 恒定比例三元复配也对 ACR 的抑制具有协同增效性;相比于单用,联用时 SYN、HES、CUR 与 ACR 的加合物均有所提升,阐明协同机制为互相促进捕获更多的 ACR 形成加合物,从而协同抑制 ACR。在烤鸭翅体系中,同时添加 54.21 g/kg 沃柑果肉和 3.334 g/kg 姜黄对 ACR 的抑制率为 57.22%。结论 SYN 与 HES、CUR 等多酚联用对 ACR 的捕 获具有协同增效性,协同机制为互相促进捕获更多的 ACR 形成加合物,且富含 SYN 和 HES 的沃柑和富含 CUR 的姜黄动烤鸭翅体系中生成的 ACR 能够达到较好的抑制效果。

关键词: 丙烯醛; 辛弗林; 橙皮苷; 多酚; 协同作用

Study on the synergistic effect of synephrine combined with hesperidin and other polyphenols in inhibiting acrolein in food system

FENG Xiao-Lan¹, WANG Yi-Chen², LIANG Yu², JIA Meng-Wei², LU Yong-Ling², LV Li-Shuang^{2*}

College of Cooking Science and Technology, Jiangsu Vocational College of Tourism, Yangzhou 225007, China;
 College of Food and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the inhibitory effect of alkaloid and flavonoid on acrolein (ACR), alone and in combination. **Methods** Based on the Chou-Talalay method, the inhibition activity of synephrine (SYN) and hesperidin (HES) alone or in combination [a constant proportion of half maximal inhibitory concentration (IC₅₀), the actual proportion in *Orah mandarin*] on ACR was detected by high-performance liquid chromatography, on this basis, the inhibitory activities of curcumin (CUR), quercetin (QUE) and kaempferol (KAE) in triplet combination of SYN were analyzed and calculated by CompuSyn software. High-performance liquid chromatography-tandem mass

*通信作者:吕丽爽,博士,教授,主要研究方向为食品化学与功能性食品。E-mail: lishuanglv@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(32272433)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32272433)

^{*}Corresponding author: LV Li-Shuang, Ph.D, Professor, Nanjing Normal University, No.2, Xuelin Road, Qixia District, Nanjing 210023, China. E-mail: lishuanglv@126.com

spectrometry was further used to determine the capture path of ACR by HES, SYN, and CUR in combination, and the synergistic mechanism was also analyzed. Finally, extending the studies from the model to food system, citrus rich in SYN and HES, and turmeric rich in CUR were applied to the roast duck wings to verify the inhibitory effect of multiple substances on ACR. **Results** The combination of SYN and HES at a constant IC_{50} ratio or the actual ratio in *Orah mandarin* had a synergistic effect on inhibiting ACR, and the combination of HES, SYN, and CUR/QUE/KAE at a constant IC_{50} ratio also had a synergistic effect on inhibiting ACR. Compared with single use, the adducts of SYN, HES, CUR, and ACR were increased when combined, indicating that the synergistic mechanism was to promote each other to capture more ACR to form adducts, thereby synergistically inhibiting ACR. In the system of roast duck wing, the inhibition rate on ACR was 57.22% by adding 54.21 g/kg of *Orah mandarin* pulp and 3.334 g/kg of turmeric. **Conclusions** The combination of SYN and HES, CUR, and other polyphenols has a synergistic effect on the capture of ACR, and the synergistic mechanism is to promote each other to capture more ACR to form adducts. Moreover, the rich SYN and HES of *Orah mandarin* and the rich CUR of turmeric can achieve a better inhibitory effect on the formation of ACR in roasted duck wings.

KEY WORDS: acrolein; synephrine; hesperidin; polyphenols; synergy effect

0 引 言

丙烯醛(acrolein, ACR)是一种小分子不饱和醛, 其化 学结构简单但活性极强[1],是具有高度反应性的有毒物质, 由吸收部位吸入、摄入或皮肤暴露后可在全身发挥毒性作 用,有研究调查得成人平均每天吸入 26 µg^[2],而吸入高 浓度的 ACR 可导致急性肺损伤和化学性肺炎^[3]、心血管 疾病^[4],还会导致大脑中的氧化压力和炎症^[5]、促进动脉粥 样化[6-7],越来越多研究表明,作为自由基诱导的脂质过氧 化生成的 ACR, 是延续氧化应激的一个关键因素^[8], 对人 体造成氧化损伤,吸入或经口摄入 ACR 可通过与 Fas (Apo-1)死亡受体和肿瘤坏死因子受体相互作用诱导肌细 胞凋亡,促进细胞衰老^[9-10]。ACR 来源范围广泛,可以在工 业生产、内源性代谢、自然环境、食品加工中产生[11-13]。 加工食品是外源性 ACR 最主要的来源, 在高温食物烹饪制 备过程中(如煎炸、烘烤、发酵过程等),脂肪、氨基酸或碳 水化合物会相互作用产生大量 ACR^[14], 特别是未精制的油 在≥180°C 的温度下烹饪, 会产生含量浓度为 5~250 mg/kg 的 ACR^[8]。此外在啤酒、葡萄酒、朗姆酒、面包、甜甜圈、 奶酪、炸土豆等食物中也检出 ACR^[15], 其含量范围在 10~600 μg/kg^[16-17]。控制加工食品中有害 ACR 的形成,降 低食源性 ACR 的摄入,是多年来研究的热点。

已有大量研究表明食源性多酚可以直接捕获 ACR 形成加合物从而有效降低 ACR 含量水平。如:姜黄素 (curcumin, CUR;富含于生姜、姜黄等香料)^[18]、槲皮素 (quercetin, QUE;富含于于小茴香、草果、山奈等香料)^[19]、山奈酚(kaempferol, KAE;富含于香叶、小茴香、丁香、胡椒、山奈等多种香料)。通过之前的研究发现^[20],生物碱-辛弗林(synephrine, SYN;富含于陈皮、柑橘类)同样具有快速捕获 ACR 的功能。通常辛弗林与多种黄酮共存于柑橘

类水果果肉、果皮、玳玳花中。以往文献专注于模型体系 中单一 ACR 抑制剂的抑制活性和抑制机制的研究,而在 实际体系、天然植物或日常膳食中,通常存在多种 ACR 抑 制剂,如生物碱、黄酮、酚酸,共存条件下他们之间对 ACR 的消除作用是否存在相互影响,相互作用的程度如何,尚 未见相关报道,值得深入探究。以便为食源性复合型 ACR 抑制剂的开发提供理论支撑。

柑橘在中医学上具有"顺气、止咳、健胃、化痰、消肿、 止痛、疏肝理气"等多种功效^[21-22],常添加应用于多种烹饪 过程中,如烘焙过程中添加柠檬有助于减少腥味,卤煮烧烤 过程中添加橙皮使口感更加丰富多元。民间广有流传将柑橘 类水果的果汁、果皮、陈皮等添加入鸭翅的制作过程中,不 仅能减少鸭翅本身的腥臭味,同时中和香辛料带来的浓重的 辛香气息,此外更能够增加香甜独特的橙香味^[23-26]。前期研 究发现槲皮素与姜黄素^[27]、草豆蔻与姜黄素^[28]联用都具有协 同增效作用,但是以上研究仅限于多酚类。而柑橘中生物碱 与黄酮共存,有关生物碱与多酚之间复配对ACR的抑制活性 的影响,尚未可知。不仅柑橘中辛弗林与多种黄酮共存,通常 柑橘也常与其他香辛料多元联用。研究生物碱辛弗林与食源 多酚高温条件下联用对ACR 的抑制作用,对肉制品加工过 程中ACR 的有效控制具有重要的应用机制和现实意义。

本研究选用了富含橙皮苷(hesperidin, HES)和 SYN 的 沃柑(Orah mandarin)^[21],利用高效液相色谱-二极线性阵 列检测器法(high performance liquid chromatography with diode array detector, HPLC-DAD)检测 HES/SYN 单用及二 元联用对 ACR 的抑制作用,以及复配香辛料中的黄酮三 元联用的抑制作用,期间采用 CompuSyn 软件对联用效 果进行分析计算,优选确定了在实际食品加工体系具 有协同增效抑制 ACR 的配方,并采用液相色谱-串联质谱 法 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)分析实际作用效果及机制,拓展了富含 HES 和 SYN 药食两用原料在食品工业中作为"ACR 抑制剂"的新 用途,为相关研究的进一步发展提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

丙烯醛(纯度 98%,水溶液,山东西亚化学工业有限 公司);橙皮苷(纯度 97%)、辛弗林、姜黄素、槲皮素(纯度 98%)(上海麦克林生化试剂有限公司);山奈酚(纯度 98%, 南京广润生物试剂有限公司);乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merck 公司);磷酸二氢钠,磷酸氢二钠、二甲基亚砜 (dimethylsulfoxide, DMSO)(分析纯,上海国药集团化学试剂 有限公司);2,4-二硝基苯肼(2,4-dinitrophenylhydrazine, DNPH, 纯度 97%,美国 Sigma-Aldrich 公司)。

沃柑购于思吻水果旗舰店;鸭翅购于千荟旗舰店。

1.2 仪器与设备

Acquity® Arc™高效液相色谱仪、Xevo™ TQ-XS 超高效液相色谱-质谱联用仪[沃特世科技(上海)有限公司]; 1290/6460 Triple Quad 液相色谱-质谱联用仪[安捷伦科技 (中国)有限公司]; N-EVAP 氮气吹干仪(美国 Organomation 公司); WHY-2 台式震荡培养箱、DFY-1000D 高速粉碎机(常 州国宇仪器制造有限公司); CRTF32K 烤箱(长帝电器有限公 司); HYQ-3110 型涡旋混匀器(美国 Crystal 公司); PHS-3E 型 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司); PWC 254 型分析 天平(精度 0.1 mg, 英国 ADAM 公司); Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 µm, 美国 Waters 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 辛弗林, 橙皮苷等多酚对丙烯醛抑制活性的测定

参照 LU 等^[28]方法,用 0.1 mol/L, pH=7.0 的磷酸盐缓冲 液(phosphate buffer saline, PBS)配制 0.5 mmol/L 的 ACR 溶液, PBS 溶液(DMSO 助溶)配制 HES/SYN/CUR/QUE/KAE 溶液: HES 溶液浓度为 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0 mmol/L; SYN 溶 液浓度为 0.05、0.10、0.20、0.40、1.00 mmol/L; CUR 溶液 浓度为 0.125、0.250、0.500、1.000、1.500 mmol/L; QUE 溶液浓度为 0.125、0.250、0.500、1.000、1.500 mmol/L; KAE 溶液浓度为 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mmol/L; KAE 溶液浓度为 0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mmol/L。参照 WANG 等^[29]方法在 100°C反应 0.5 h 后,进行衍生化,用 HPLC 测定剩余 DNPH-ACR 含量,以 DMSO 代替样品溶 液作为空白,计算 HES/SYN/CUR/ QUE/KAE 在该条件下 对 ACR 的抑制率。每个样品制备 3 个平行样本。根据不 同浓度下 HES/SYN/CUR/QUE/KAE 的抑制率结果,分析 计算出其对 ACR 的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)。

1.3.2 橙皮苷和辛弗林二元联用对丙烯醛抑制活性的测定

联合使用的原理:当两物质或是多物质联合作为添加剂时,剂量采用近似两物质或多物质的 IC₅₀的比值为恒定比率,以接近 IC₅₀值为中点,按照 0.125、0.25、0.5、1、2、4 倍的中点剂量联合。两物质或是多物质的联合作用可

通过抑制率-组合指数(fa-combination index, Fa-CI)曲线进行评估,不同 CI 值区间代表不同作用, CI<1, CI=1, CI>1 分别表示物质之间具有协同,叠加和拮抗作用^[30]。天然产物联合作用对应的 CI 值区间及评价见表 1。

	表1	天然产物联合作用的 CI 值区间及评价	
Table 1	CI	value interval and evaluation of the combina	tion
		of natural products	

CI 值区间	相互作用评价	符号
CI<0.1	非常强协同	+ + + + +
$0.1 \le CI \le 0.3$	强协同	+ + + +
$0.3 \le CI \le 0.7$	协同	+ + +
$0.7 \le CI \le 0.85$	中等协同	+ +
$0.85 \le CI \le 0.90$	轻微协同	+
0.90≤CI<1.10	相加	±
1.10≤CI<1.20	轻微拮抗	-
1.20≤CI<1.45	中等拮抗	
1.45≤CI<3.3	拮抗	
3.3≤CI<10	强拮抗	
10≤CI	非常强拮抗	

(1)橙皮苷和辛弗林二元联用(以 IC₅₀比例)对丙烯醛 抑制活性的测定

单用:分别配制浓度为 0.125IC₅₀、0.25IC₅₀、0.5IC₅₀、 IC₅₀、2IC₅₀、4IC₅₀ 浓度的 HES/SYN 溶液,空白对照以 DMSO代替样品溶液,在2 mL离心管中,分别加入 0.8 mL 的 ACR 溶液和 0.8 mL 的 HES/SYN 溶液或 DMSO,涡旋混 匀后,置于 100°C恒温水浴振荡器中反应 0.5 h,反应结束 后进行衍生化,用 HPLC 检测 DNPH-ACR 含量,每个样品 均做 3 组平行。

二元联用:分别配制不同浓度的 HES 与 SYN 的混合 溶液,其终浓度为 0.125IC₅₀、0.25IC₅₀、0.5IC₅₀、IC₅₀、 2IC₅₀、4IC₅₀。将上述混合溶液以 1:1 (V:V,下同)的比例 与浓度为 1.0 mmol/L 的 ACR 溶液涡旋混匀后于 100℃恒 温水浴振荡器中反应 0.5 h,反应结束后进行衍生化,用 HPLC 检测 DNPH-ACR 含量,每个样品均做 3 组平行。分 析计算 HES 与 SYN 联合使用对 ACR 的抑制作用,并根据 Chou-Talalay 计算方法^[30-33]计算联合作用指数 CI,分析评 价两者联合作用对 ACR 的抑制效果。

(2)橙皮苷和辛弗林二元联用(以沃柑实际的比例)对 丙烯醛抑制活性的测定

单用:根据选取的沃柑果肉中HES与SYN的含量的固定比例配制各溶液,且每个对照组的浓度比为2.2:1.0。因此各溶液浓度配制如表2。将上述溶液以1:1的比例与浓度为0.5 mmol/L的ACR溶液涡旋混匀后于100°C恒温水浴振荡器中反应0.5 h,反应结束后进行衍生化,用HPLC检测DNPH-ACR含量,每个样品均做3组平行,分析计算HES与SYN以沃柑中含量比例单独使用对ACR的抑制作用。

二元联用:根据选取的沃柑果肉中 HES 与 SYN 的含量的固定比例配置各混合溶液,且每个混合溶液中 HES 与 SYN 的浓度比为 2.2:1.0。具体配制浓度如表 2 所示。

Table

表	2	混合溶液中 HES 与 SYN 配制浓度	
2	Co	ncentration of HES and SYN in the mixed	
		solution was propared	

solution was prepared				
混合液	HES 浓度/(mmol/L)	SYN 浓度/(mmol/L)		
a1	0.06875	0.03125		
a2	0.13750	0.06250		
a3	0.27500	0.12500		
a4	0.55000	0.25000		
a5	1.10000	0.50000		
a6	2.20000	1.00000		
a7	4.40000	2.00000		
a8	8.80000	4.00000		

上述不同浓度混合液以 1:1 的比例与浓度为 0.5 mmol/L 的 ACR 溶液涡旋混匀后于 100℃恒温水浴振荡器中反应 0.5 h,反应结束后进行衍生化,用 HPLC 检测 DNPH-ACR 含量,每个样品均做 3 组平行。并运用 CompuSyn 软件根 据 Chou-Talalay 计算方法计算联合作用指数 CI,分析评价 两者联合作用对 ACR 的抑制效果,并分析计算出混合液 于 100℃下反应 0.5 h 对 ACR 的 IC₅₀。

1.3.3 橙皮苷、辛弗林及其他多酚三元联用对丙烯醛抑 制活性的影响

(1)橙皮苷、辛弗林与其他多酚 IC₅₀ 三元联用对丙烯 醛抑制活性的测定

单用:分别配制浓度为 0.125IC₅₀、0.25IC₅₀、0.5IC₅₀、 IC₅₀、2IC₅₀浓的 CUR/QUE/KAE 溶液,空白对照以 DMSO 代替样品溶液,在 2 mL 离心管中,分别加入 0.8 mL 的 ACR 溶液和 0.8 mL 的 CUR/QUE/KAE 溶液或 DMSO,涡 旋混匀后,置于 100℃恒温水浴振荡器中反应 0.5 h,反应 结束后进行衍生化,用 HPLC 检测 DNPH-ACR 含量,每个 样品均做 3 组平行。

三元联用:分别配制不同浓度的 HES、SYN 及 CUR/QUE/KAE 的混合溶液,使其各物质的终浓度均为 0.125IC₅₀、0.25IC₅₀、0.5IC₅₀、IC₅₀、2IC₅₀。将上述混合溶 液以 1:1 的比例与浓度为 1.5 mmol/L 的 ACR 溶液涡旋混 匀后于 100℃恒温水浴振荡器中反应 0.5 h,反应结束后进 行衍生化,用 HPLC 检测 DNPH-ACR 含量,每个样品均做 3 组平行。分析计算 HES 与 SYN 联合使用对 ACR 的抑制 作用,并根据 Chou-Talalay 计算方法计算联合作用指数 CI, 分析评价两者联合作用对 ACR 的抑制效果。

(2)辛弗林、橙皮苷(以沃柑实际的比例)与姜黄素三元 联用对丙烯醛抑制活性分析

配制同 1.3.2 (2)中比例相同、浓度不同的 HES 和 SYN 的混合溶液 H+S,并将 CUR 溶于不同浓度的混合溶液 H+S,使得反应体系中 H+S 液和 CUR 的浓度均为 0.125IC₅₀、0.25IC₅₀、0.5IC₅₀、IC₅₀、2IC₅₀、4IC₅₀,将反应液等体积与 ACR (1.0 mmol/L)混合,置于 100℃恒温水浴振荡器中反应 0.5 h,反应结束后进行衍生化,用 HPLC 检测 DNPH-ACR 含量,每个样品均做 3 组平行。并根据 Chou-Talalay 计算方法 计算联合作用指数 CI,分析评价按照沃柑中的固定比例的 HES、SYN 与 CUR 三元联用对 ACR 的抑制效果。

(3)橙皮苷,辛弗林与姜黄素三元联用对丙烯醛的抑 制机制分析

反应液的制备:分别取 1.3.1, 1.3.2 (1)和 1.3.3 (1)中未 衍生化的物质单用及联用与 ACR 的反应液 200 µL,过 0.22 µm 有机滤膜后使用 LC-MS/MS^[23]分析,检测 HES、SYN、CUR 与 ACR 的产物,并探究变化规律。

色谱条件: 仪器: Waters Acquity® Arc™高效液相色 谱仪; Agilent 1290-6460 高效液相色谱-质谱联用仪; 色谱 柱: Waters Symmetry C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 二极管阵列检测器检测器。检测 HES/SYN 及其与 ACR 的产 物: 柱温: 35°C; 检测波长: 283 nm (HES), 275 nm (SYN); 流 速: 0.8 mL/min; 进样量: 10 μL; 洗脱剂: 10 mmol/L 甲酸铵水 溶液(甲酸调 pH 至 3)(流动相 A); 乙腈溶液(流动相 B); 流脱 条件: 0~4 min: 5% B, 4~5 min: 5%~25% B, 5~15 min: 25%~35% B, 15.0~15.1: 35%~5% B, 15.1~19.0 min: 5% B。检 测 CUR 及其与 ACR 的产物: 色谱柱: Waters Symmetry C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); PDA 检测器; 柱温: 25°C; 检 测波长: 375 nm; 流速: 0.6 mL/min; 进样量: 20 μL; 洗脱剂: 0.1%甲酸水溶液(流动相 A); 乙腈溶液(流动相 B); 梯度设置: 0~5 min: 30% B, 5~8 min: 30%~50% B, 8~13 min: 50%~90% B, 13~15 min: 90%~50% B, 15~19 min: 50%~30% B。

质谱条件: 电喷雾正离子化检测 HES、SYN 及其与 ACR 的产物; 电喷雾负离子化检测 CUR 及其与 ACR 的产 物, 扫描范围: *m/z* 50~1000, 喷雾电压: 4000 V, 雾化气压: 45 psi, 辅助气压力: 5 psi, 毛细管温度: 280℃, 裂解电压: 30 V (SYN)、135 V (HES、CUR)。

1.3.4 沃柑与姜黄联用于烤鸭翅体系中协同抑制丙烯醛分析
 (1)烤鸭翅的制作

参考文献^[33]的方法,选取沃柑果肉 100 g,置于低温 烘箱中(60℃)干燥至含水量低于 2%为止,使用高速粉碎机 将干果肉进行精细粉碎,放好备用。将鸭翅中洗净,并沥 干水分,在鸭翅肉质表面均匀划口。分别称取 300 g 鸭翅置 于密闭容器中,不同组别添加不同调料进行腌制,确保料液 均匀涂抹浸入鸭翅中,调料配制如表 3 所示。腌制 40 min 后,将腌制好的鸭翅平放于烤盘中,放入预热完毕的烤箱, 并于 200℃的烤制温度下加工 30 min。结束后将样品晾凉 至室温后分组储存在-20℃下待测。

表 3 不同组别调料配制 Table 3 Different groups of seasoning prepara

1	able 5 Different groups of seasoning preparation
组别	调料
٨	3g盐、3g糖、3g鲜抽、5g料酒、4mL蜂蜜、5g
А	花生油、10 mL 水
В	3g盐、3g糖、3g鲜抽、5g料酒、4mL蜂蜜、5g花
	生油、16.26g沃柑肉(计算出相应橙皮苷, 辛弗林含量)
С	3g盐、3g糖、3g鲜抽、5g料酒、4mL蜂蜜、5g
	花生油、10 mL 水、1.0002 g 姜黄
D	3g盐、3g糖、3g鲜抽、5g料酒、4mL蜂蜜、5g
	花生油、16.26g沃柑橘汁、1.0002g姜黄
Е	3g盐、3g糖、3g鲜抽、5g料酒、4mL蜂蜜、5g
	花生油、10 mL 水、20.63 mg HES, 2.57 mg SYN(计算
	出的沃柑果肉中含有的橙皮苷, 辛弗林含量)

(2)抑制活性的研究

样品预处理:将上述鸭翅脱骨后,使用高速粉碎机将 脱骨鸭翅精细粉碎后并均质。在50 mL 离心管中,放入已称 取好的3g烤鸭翅样品,首先加入5.0 mL 蒸馏水,涡旋3 min 得到均匀混合样品,接着以10000 r/min 离心10 min,离心 完成后将上清液取出,再向离心管中加入5.0 mL 50%的甲醇 水溶液,涡旋后利用超声萃取1 h,萃取完成后以10000 r/min 离心10 min,离心完成再次取上清液,两次上清液合并后混 合均匀,甲醇水定容至10 mL,以8000 r/min离心15 min, 最后取上清液衍生化,每个样品制备3个平行样本。

样品溶液衍生化:取 500 μL 上清液于离心管中,加入 300 μL 衍生化试剂,涡旋混匀,接着在 37°C,220 r/min 的 恒温摇床中避光反应 2 h,反应结束后加入 3 mL 二氯甲烷 溶液,并涡旋 30 s,然后在冰浴条件下超声萃取 15 min,萃 取完成后以 6000 r/min 离心 10 min,进行重复萃取 2 次,最 后将二氯甲烷层混合均匀,使用氮吹法至干,并取 300 μL 70%乙腈溶液复溶,利用 HPLC 检测 ACR-DNPH 含量。

(3)抑制 ACR 的机制研究

采用高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)分析上述 B、C、D 组样品中 HES, SYN 和 CUR 与烤制过程中产生的 ACR 形成的加合物,分析其作用路径。

样品预处理:将上述 B、C、D 组烤鸭翅分别粉碎,各称取 10g 粉碎的烤鸭翅样品置于 50 mL 离心管中,首先加入5 mL 乙腈饱和的正己烷溶液,涡旋混匀 2 min,再加入 15 mL 正己烷饱和的乙腈溶液,再次涡旋混匀 2 min,然后超声萃取 30 min,静置分层后,将乙腈层合并混合均匀,进行重复操作两次,将乙腈层旋蒸浓缩至干,最后再使用 1 mL 乙腈 复溶,过 0.22 μm 有机滤膜后通过 HPLC-MS/MS 进行分析。

液相色谱条件: B 组/D 组: 柱温: 25°C; 检测波长: 275, 283 nm; 进样量: 10 μL; 流速: 0.6 mL/min; 洗脱剂: 10 mmol/L 甲酸铵水(含甲酸调 pH 至 3)(流动相 A); 乙腈 (流动相 B); 梯度设置: 0~5.0 min, 5% B; 5.0~6.5 min, 5%~25% B; 6.5~13.5 min, 25%~30% B; 13.5~18.5 min, 30%~80% B; 18.5~19.0 min, 80%~30% B; 19.0~19.1 min, 30%~5% B; 19.1~24.0 min, 5% B。C 组: 柱温: 20°C; 检测 波长: 375 nm; 进样量: 10 μL; 流速: 0.6 mL/min; 洗脱剂: 水(含 0.1%甲酸)(流动相 A); 乙腈(流动相 B); 梯度设置: 0~5 min, 30% B; 5~8 min, 30%~40% B; 8~13 min, 40%~90% B; 13~15 min, 90%~50% B; 15~18 min, 50%~30% B。电喷雾正(HES/SYN)/负离子模式(CUR)检测, 扫描范围: *m/z* 50~1000, 喷雾电压: 4000 V, 雾化气压: 45 psi, 辅助气压力: 5 psi, 毛细管温度 280°C, 裂解电压: 10 V (B 组), 30 V (C 组), 135 V (D 组)。

1.4 数据处理

实验至少重复 3 次测定,所有结果均以平均值±标准 偏差表示。使用 GraphPad Prism(GraphPad 软件公司, San Diego, CAR, USA)进行统计分析。采用单因素方差分析和 Tukey's 多重比较显著性差异。

2 结果与分析

2.1 辛弗林/橙皮苷及其他黄酮单独使用对丙烯醛 抑制活性的测定

在模拟高温食品加工(100℃, pH=7.0)的条件下, 根据 HES/SYN/CUR/QUE/KAE 在一定浓度范围内对 ACR 的抑 制作用, 分析计算出两者对 ACR 的 IC₅₀, 如表 4 所示。IC₅₀ 的值越低, 则说明其抑制效果越好, 表中可见 SYN 的 IC₅₀ 值最小, 为 0.240 mmol/L, 说明其对 ACR 具有有优越于黄 酮的捕获效率。

表 4 化合物反应 0.5 h 对 ACR 的 IC_{50} Table 4 IC_{50} of compounds on ACR in the reaction of 0.5 h

物质	IC ₅₀ /(mmol/L)
HES	2.144
SYN	0.240
CUR	0.425
QUE	0.436
KAE	0.818

2.2 橙皮苷和辛弗林二元联用(以 IC₅₀ 比例)对丙烯 醛的抑制活性

采用 HPLC-DAD 法测定 HES/SYN 模拟食品高温下 (100°C, 30 min)单用和联用对 ACR 的清除效果。根据 Chou-Talalay 组合指数定理,基于中位效应方程,研究不同剂 量 CUR 和 QUE 对 ACR 的清除作用。如图 1(A)所示,100℃ 下,HES 和 SYN 均随着浓度的增加对 ACR 清除效率而增大。HES 和 SYN 联合应用对 ACR 的抑制作用明显高于单用 HES 和 SYN。如图 1(B)所示,HES 与 SYN 按照 IC₅₀ 固定比例二元 联用时,具有协同增效抑制 ACR 的作用(CI<1),且主要表现 在 HES 与 SYN 浓度范围在 0.25IC₅₀ 至 4IC₅₀ (HES 为 326.96~5231.36 mg/L,SYN 为 10.02~160.32 mg/L),CI 值 <0.89。协同抑制率最高可达到 94.05%,据文献报道可知^[34],沃柑果肉样品中 HES 及 SYN 含量的范围位于以 IC₅₀比例协 同的浓度范围区间内,故可进一步推广至实际体系的联用。

2.3 辛弗林和橙皮苷二元联用(以沃柑中实际的比例)对丙烯醛的抑制活性

据文献报道,在沃柑果肉 HES 含量范围为 0.598~ 1.207 mg/g、SYN 含量范围为 0.083~0.271 mg/g^[21]。贾梦 玮^[34]对所用样品进行测定,沃柑果肉样品中 HES 含量为 (1.257±0.104) mg/g, SYN 含量为(0.158±0.073) mg/g。所测 样品中的 HES 与 SYN 的含量在文献报道范围内, 会受到产 地, 气候,采摘时间等因素影响,沃柑果肉中 HES/SYN 含量 存在一定的差别。

已知按照 IC₅₀固定比例下, HES 与 SYN 在一定浓度 范围内联用具有协同抑制 ACR 的作用,考虑到实际应用, 则进一步探究以沃柑果肉中 HES 与 SYN 的实际含量固定 比例联用是否具有协同效应,以及达到协同抑制的添加量 范围。由图 2 可知,当固定沃柑中 HES 与 SYN 含量比例



注:不同大写字母表示同一物质在不同反应浓度下的显著性差异(P<0.05);不同小写字母表示不同物质在 同一浓度下的显著差异(P<0.05),下同。

图 1 HES 与 SYN 单独及联合使用对 ACR 的抑制作用(A)和联合指数 Fa-CI 曲线(B) (100℃, 0.5 h) Fig.1 Inhibition effects of HES alone and in combination with SYN on ACR (A) and joint exponential Fa-CI curve (B) (100℃, 0.5 h)







(HES:SYN=2.2:1.0,摩尔浓度之比),橙皮苷与辛弗林在不同浓度进行联用时,其抑制效果明显高于任一各自单用浓度条件下的抑制率,且差异性明显。且根据 Chou-Talalay方法,计算得到其联用 CI 值<0.77,可知 HES 与 SYN 在设定的浓度范围内联用对 ACR 的抑制在所有试验浓度范围内均具有协同增效抑制 ACR 的作用,且协同作用良好,对应的 HES 含量为 0.0419~2.6840 g/kg,SYN 含量为 0.0052~0.3340 g/kg。当 HES 含量为 1.342 g/kg,相对应SYN 含量为 0.167 g/kg 时,与沃柑果肉样品中 HES 与SYN 含量相近,实验得到的抑制率达到 89.61%,抑制活性良好,因此按照沃柑果肉中 HES 与 SYN 的实际含量与比例具有协同抑制 ACR 的效果。且通过 SPSS 计算,HES 与 SYN 的复配于 100℃下反应 0.5 h对 ACR 的 IC₅₀为 HES: 0.176 mmol/L,SYN: 0.08 mmol/L。

2.4 辛弗林、橙皮苷与其他多酚三元联用对丙烯醛 的抑制活性

上述研究表明 HES 与 SYN 二元联用具协同抑制效用, 且 CI 值 <0.77,协同抑制率较高。进一步将 HES, SYN 与 其他香辛料多酚模拟常用加工配比进行三元联用,以使 用更多品种的加工产品。如图 3 所示,HES,SYN 与 CUR/QUE/KAE 按照 IC₅₀ 1:1 比例三元联用时,抑制率明显 高于各自单用,差异性显著,最高抑制率接近 100%,且联 用时 CI <1,表明 3 种抑制剂之间具有协同增效性。且在同 样的 HES 与 SYN 浓度下,CUR、QUE、KAE 主要表现在 0.125IC₅₀至 2IC₅₀范围内,即 CUR: 19.55~312.8 mg/kg;QUE: 16.46~263.36 mg/kg;KAE: 58.49~467.90 mg/kg。当 HES 选择 接近实际HES 含量的浓度 1307.84 mg/kg,SYN为40.08 mg/kg 时,则 CUR 为 156.4 mg/kg,抑制率为 81.34%,抑制率为 CI 值为 0.86; QUE 为 131.68 mg/kg, 抑制率为 89.49%, CI 值为 0.27; KAE 为 233.95 mg/kg, 抑制率为 87.68%, CI 值为 0.44, 故在按照 IC₅₀ 比例橙皮苷、辛弗林与其他多酚三元联用时各 实验组均表现出更好的协同抑制活性。

2.5 辛弗林、橙皮苷与姜黄素三元联用对丙烯醛的 抑制活性

已知按照IC₅₀恒定比例, HES, SYN和CUR/QUE/KAE 联合使用具有协同抑制 ACR 作用,则进一步探究了按照

沃柑果肉中固定比例, H+S 混合与多酚以 IC₅₀ 固定比例下 联合使用时, 是否依然具有协同增效的作用。由于 QUE 与 KAE 在香辛料中的实际含量不满足后续食品加工实验, 即 若达到有效协同抑制作用, 其添加量远高于正常食品加工 过程中的应用, 因此选取 HES, SYN 和 CUR 联用组作为食 品加工实验的研究载体, 为此进行实际加工理论模型的实 验。如图 4 所示, 在配制浓度为 0.5IC₅₀ 时, 即 HES、SYN 和 CUR 质量浓度为 53.68、6.68 和 78 μg/mL 时, 联用对 ACR 的







图 4 HES 与 SYN 以沃柑果肉中含量比例混合(H+S)与 CUR 联合使用对 ACR 的抑制作用(A)及联合指数 Fa-CI 曲线(B) Fig.4 Inhibitory effect of the *Orah mandarin*'s proportion of HES and SYN and CUR in triplet combination on ACR (A) and combined index Fa-CI curve (B)

抑制效果具有较强协同作用,联用抑制率超过 50%,而 CUR单独使用时抑制率为 22.94%, HES 和 SYN 联用时的抑 制率也仅为 27.19%。且当反应体系中,联用物质浓度的不 断增大,对 ACR 的抑制率也在不断增加,均具有协同抑制 ACR 的作用,当浓度为 4IC₅₀时,几乎可消除全部的 ACR。 通过计算,当沃柑果肉添加量为 10.57~338.24 g/kg、姜黄添 加量为 0.65~20.80 g/kg 时,二者联用对 ACR 的抑制具有协 同效果。根据 GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添 加剂使用标准》得知,作为食品添加剂的姜黄素在复合调味 料中,最大添加量上限是 0.1 g/kg,姜黄则以姜黄素计,按 生产需要适量使用。实验所用姜黄中姜黄素的含量为 2.9%, 因此,为后续实验设计沃柑果肉的添加量为 54.21 g/kg、姜 黄的添加量为 3.334 g/kg,此时抑制率为 60.73%,并将此配 方比例应用于实际烤鸭翅体系进行验证。

2.6 LC-MS/MS 分析橙皮苷、辛弗林与姜黄素联用 抑制丙烯醛机制

为探究 HES, SYN 和 CUR 三元联用时协同抑制 ACR 的作用规律,利用 LC-MS/MS 的多反应监测(multiple response monitoring, MRM)模式检测了反应体系中原物质 及各自产物的含量变化。当在 100°C下, HES, SYN, CUR 分 别单独与 ACR 反应 0.5 h时,在波长 λ =283 nm时,如图 5(A) 所示,对于 HES,反应体系中出现相应的产物 HES-ACR-1、 HES-ACR-2(出峰时间为 14.03 min, 13.55 min);如图 5(B)所 示,在波长 λ =275 nm 时,对于 SYN,反应体系中出现相应 的产物 SYN-2ACR(出峰时间为 10.25 min);如图 5(C)所示, 在波长 λ =342 nm 时,对于 CUR,反应体系中出现相应的 产物 CUR-ACR-1、CUR-ACR-2、CUR-2ACR(出峰时间为 11.78 min、11.96、12.36 min)。

如图 5(D)和 5(E)所示,当 HES 与 SYN 两元联用时, HES、SYN 与 ACR 的加合产物均出现,且 HES-ACR-2, SYN-2ACR 含量均增长,但增长幅度不一, HES-ACR-2 含 量增长更为明显,而 HES-ACR-1 含量变化不明显,推测在 HES 与 SYN 两元联用时, SYN 与 HES 互相促进对方对 ACR 的捕获效果, SYN 的促进效果更为明显。

如图 5(F)、5(G)和 5(H)所示,当 HES, SYN 与 CUR 三元联用时,HES-ACR-2、SYN-2ACR、CUR-ACR-1、 CUR-ACR-2、CUR-2ACR 含量均增长,其中,CUR-ACR-1、 CUR-ACR-2、CUR-2ACR 含量大幅增长,CUR 的含量大幅 降低,而 HES-ACR-1 含量变化较小,因此推测当 HES, SYN 与 CUR 三元联用时,HES 与 SYN 极大地促进了 CUR 对反应体系内 ACR 的捕获作用,同时在 HES/SYN 与 ACR 的加合作用也在复杂的体系中有所提升(所涉及到加合产 物及 CUR 的一级、二级质谱如图 6 所示)。

2.7 沃柑与姜黄联用于烤鸭翅中抑制丙烯醛分析

2.7.1 沃柑与姜黄联于烤鸭翅体系中抑制丙烯醛活性

在模型体系中,从多种天然产物中优选出 HES, SYN 和 CUR,并通过 Chou-Talalay 方法二元、三元逐级联用,得 到具有协同增效的复配比例及添加量范围,然而 HES, SYN 均不是法定的食品添加剂,不能直接应用于食品加工 中,因此以富含 HES 和 SYN 的沃柑作为食物载体,在真实 烤鸭翅加工中,验证 HES, SYN 与 CUR 以非化合物单体、 共存于食材中,对加工过程中产生的 ACR 的抑制效果。

如图 7 所示,当烤鸭翅体系中分别单独添加沃柑果肉和姜黄时,对 ACR 的抑制率分别为 37.89%和 21.03%,对照 组(在腌制配方中添加与沃柑实际含量相当的 HES, SYN 纯 品)对 ACR 的抑制率为 34.17%,与沃柑果肉实验组的抑制 率相近,该结果表明沃柑可以作为 HES 与 SYN 的载体,直接在食品体系中起到捕获 ACR 的作用,沃柑中其余活性成分是否也发挥对 ACR 的协同抑制效应,有待进一步研究。 当沃柑果肉和姜黄共同添加到鸭翅时,对 ACR 的抑制率达 到了 57.22%,表明在烤鸭翅中,沃柑果肉中的 HES, SYN 与 姜黄中 CUR 共存时发挥了协同抑制 ACR 的作用。



注: (A)、(B)、(C): HES, SYN, CUR 单独作用; (D)、(E): HES, SYN 二元联用; (F)、(G)、(H): HES, SYN, CUR 三元联用。 图 5 HES, SYN 与 CUR 单独及联用时与 ACR 反应的液相色谱图(100°C, 0.5 h)

Fig.5 Liquid chromatogram of HES, SYN and CUR alone and in triplet combination reacted with ACR (100°C, 0.5 h)



注: (A): HES-ACR-1; (B): HES-ACR-2; (C): SYN-2ACR; (D): CUR-ACR-1; (E): CUR-ACR-2; (F): CUR-2ACR。 图 6 HES, SYN, CUR 与 ACR 的加合产物的一级、二级质谱图 Fig.6 ESI-MS¹ and MS² spectrometry of HES, SYN, CUR and adducts with ACR



注: (A): HES-ACR-1; (B): HES-ACR-2; (C): SYN-2ACR; (D): CUR-ACR-1; (E): CUR-ACR-2; (F): CUR-2ACR。 图 6(续) HES, SYN, CUR 与 ACR 的加合产物的一级、二级质谱图 Fig.6 ESI-MS¹ and MS² spectrometry of HES, SYN, CUR and adducts with ACR



注: CG (control group)表示沃柑果肉实验组的对照组; OM:沃柑 果肉实验组; CL:姜黄实验组;复配:联用实验组。
图 7 烤鸭翅中单独添加沃柑(OM),姜黄(CL)及联用对 ACR 的抑制率
Fig.7 Inhibition rates of ACR in roasted duck wings with OM and CL individual and in combination

2.7.2 LC-MS/MS 对沃柑与姜黄联用于烤鸭翅中抑制丙烯 醛机制解析

上述模型体系中, HES, SYN, CUR 联用与 ACR 反应, 可生成多个加合产物,以达到消除 ACR 的效果。在烤鸭 翅真实食品体系中是否存在同样的反应路径,本研究采用 LC-MS/MS,以多反应监测模式测定了沃柑与姜黄作 为香辛料烤制的鸭翅中 HES、SYN、CUR 与 ACR 形成 的加合物。

如图 8(A)所示,当在烤鸭翅体系中添加沃柑果肉,可 检出加合产物 HES-ACR-1 和 SYN-2ACR, 如图 8(B), 当添 加姜黄时, 可检出了加合产物 CUR-ACR-1, CUR-ACR-2 和 CUR-2ACR, 当两者联用于烤鸭翅体系时, 如图 8(C)和 8(D), 且 HES-ACR-1、SYN-2ACR、CUR-ACR-1 和 CUR-2ACR 峰面积有所增加, 而 CUR-ACR-2 同 HES, SYN, CUR一样峰面积有所减少。其中各加合物含量变化 如表 5 所示, 由 UPLC-MS/MS 的 MRM 模式进行检测, CUR 捕获 ACR 的产物的量由 HES-ACR-1、SYN-2ACR 当量表示, 烤鸭翅中提取的 HES-ACR-1、SYN-2ACR、 CUR-ACR-1和 CUR-2ACR 含量均呈现倍数增加。因此可 证明沃柑与姜黄联合比单独添加时对烤鸭翅中产生的 ACR 具有更强的抑制作用。沃柑中含有丰富的黄酮和生 物碱,沃柑果实中黄酮类物质以 HES 为主,最高含量可 达 7.684 mg/g 鲜重^[35], 生物碱类以 SYN 为主, 最高含量 可达 4.829 mg/g 鲜重^[36]。不否认其他黄酮等活性成分同 样发挥了一定作用,但本研究结果证实 HES、SYN、CUR 协同捕获 ACR 形成加合物反应途径, 是降低烤鸭翅体系 中 ACR 含量的重要途径之一。



注: (A): 单用沃柑; (B): 单用姜黄; (C)、(D): 沃柑和姜黄联用。 图 8 沃柑和姜黄单用、联用抑制烤鸭翅生成的 ACR 的液相-质谱图

Fig.8 LC-MS chromatograms of Orah mandarin and Curcuma longa L. to inhibit ACR individual and in combination in roasted duck wings

表 5 烤鸭翅中沃柑和姜黄单用/联用与 ACR 形成的加合物含量及增长率 Table 5 ACR adduct content and growth rate of *Orah mandarin* and *Curcuma longa* L. individual and in combination in roasted duck wings

加合物	HES-ACR-1	SYN-2ACR	CUR-ACR-1	CUR-ACR-2	CUR-2ACR
单用含量/(mg/mL)	$0.0105{\pm}0.0093$	$0.0189{\pm}0.0054$	$0.0370{\pm}0.0107$	$0.0453{\pm}0.0072$	$0.0533 {\pm} 0.0125$
联用含量/(mg/mL)	$0.0237 {\pm} 0.0146$	$0.0397 {\pm} 0.0102$	$0.0608{\pm}0.0092$	$0.0212{\pm}0.0038$	$0.0832{\pm}0.0127$
增长率/%	125.71 ± 32.28	110.05 ± 4.71	$64.32{\pm}17.57$	-53.20 ± 0.82	$56.10{\pm}10.36$

3 结 论

本文研究 SYN 与 HES 等多酚二元、三元联用对 ACR 的抑制效果,并从模型延展至烤鸭翅中,探究生物碱和多酚 复配对 ACR 的抑制活性及其机制,结论如下:按照 IC50 比 例和沃柑果肉中 HES 与 SYN 含量比例 2.2:1.0 二元联用时, HES与SYN对ACR的抑制具有协同增效作用,协同抑制率 最高可达到 94.05%和 89.61%; 按照 IC50 恒定比例 HES、 SYN 分别与 CUR/QUE/KAE 三元联用, 均呈现协同增效的效 应;在实际烹饪合理添加范围内,协同抑制 ACR 的配方为沃 柑果肉的添加量为54.21 g/kg、姜黄的添加量为3.334 g/kg, 此 时抑制率为 60.73%; 在烤鸭翅中, 联用沃柑和姜黄时对 ACR 抑制率为 57.22%, 高于两者单独添加于烤鸭翅体系的 抑制率(37.89%, 21.03%), 并通过 UPLC-MS/MS 测定了加合 物含量,其中 HES-ACR-1、SYN-2ACR、CUR-ACR-1 和 CUR-2ACR 含量均倍数增加,表明在实际烤鸭翅食品加工 体系中,沃柑与姜黄的联合使用比单独使用时捕获 ACR 的 效果更好,具有协同抑制生成的ACR的能力。

参考文献

- O'TOOLE TE, ZHENG YT, HELLMANN J, et al. Acrolein activates matrix metalloproteinases by increasing reactive oxygen species in macrophages [J]. Toxical Appl Pharm, 2009, 236(2): 194–201.
- [2] FAROON O, RONEY N, TAYLOR J, et al. Acrolein health effects [J].

Toxicol Ind Health, 2008, 24(7): 447-490.

- [3] SARKAR P, HAYES BE. Induction of COX-2 by acrolein in rat lung epithelial cells [J]. Mol Cell Biochem, 2007, 301(1–2): 191–199.
- [4] NEMMAR A, HOET PHM, VANQUICKENBORNE B, et al. Passage of inhaled particles into the blood circulation in humans [J]. Circulation, 2002, 105(4): 411–414.
- [5] SELMANOGLU G, OZGUN GM, KARACAOGLU E. Acrolein-mediated neurotoxicity in growing Wistar male rats [J]. Pestic Biochem Phys, 2018, 149: 37–43.
- [6] DEJARNETT N, CONKLIN DJ, RIGGS DW, et al. Acrolein exposure is associated with increased cardiovascular disease risk [J]. J Am Heart Assoc, 2014, 3(4): e000934.
- [7] MCCALL MR, TANG JY, BIELICKI JK, et al. Inhibition of lecithin-cholesterol acyltransferase and modification of HDL apolipoproteins by aldehydes [J]. Arteryoscl Throm Vas, 1995, 15(10): 1599–1606.
- [8] PARK J, MURATORI B, SHI R. Acrolein as a novel therapeutic target for motor and sensory deficits in spinal cord injury [J]. Neural Regeneration Res, 2014, 9(7): 677–683.
- [9] JANG JH, BRUSE S, HUNEIDI S, et al. Acrolein-exposed normal human lung fibroblasts in vitro: Cellular senescence, enhanced telomere erosion, and degradation of Werner's syndrome protein [J]. Environ Health Persp, 2014, 122(9): 955–962.
- [10] ROM O, KAISARI S, AIZENBUD D, et al. The effects of acetaldehyde and acrolein on muscle catabolism in C2 myotubes [J]. Free Radical Bio Med, 2013, 65: 190–200.
- [11] DE-JONGE ME, HUITEMA ADR, RODENHUIS S, et al. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide [J]. Clin Pharmacok, 2005, 44(11): 1135–1164.
- [12] DEVOS AJBM, REISEN F, COOK A, et al. Respiratory irritants in

Australian bushfire smoke: air toxics sampling in a smoke chamber and during prescribed burns [J]. Arch Environ Con Tox, 2009, 56(3): 380–388.

- [13] WHEAT LA, HABERZETTL P, HELLMANN J, et al. Acrolein inhalation prevents vascular endothelial growth factor-induced mobilization of Flk-1+/Sca-1+ cells in mice [J]. Arterioscl Throm Vas, 2011, 31(7): 1598–1606.
- [14] STEVENS JF, MAIER CS. Acrolein: Sources, metabolism, and biomolecular interactions relevant to human health and disease [J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52(1): 7–25.
- [15] LI H, WANG JL, KAPHALIA BS, *et al.* Quantitation of acrolein-protein adducts: Potential biomarker of acrolein exposure [J]. J Toxicol Env Heal A, 2004, 67(6): 513–524.
- [16] WANG GW, GUO Y, VONDRISKA TM, et al. Acrolein consumption exacerbates myocardial ischemic injury and blocks nitric oxide-induced PKC epsilon signaling and cardioprotection [J]. J Mol Cell Cardiol, 2008, 44(6): 1016–1022.
- [17] LUO J, HILL BG, GU Y, et al. Mechanisms of acrolein-induced myocardial dysfunction: implications for environmental and endogenous aldehyde exposure [J]. Am J Physiol-Heart C, 2007, 293(6): H3673– H3684.
- [18] LU Y, LIU J, TONG A, et al. Interconversion and acrolein-trapping capacity of cardamonin/alpinetin and their metabolites in vitro and in vivo [J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(40): 11926–11936.
- [19] ROSARIO Z, ISABEL A, MICHAEL G, et al. Toxicologically relevant aldehydes produced during the frying process are trapped by food phenolics [J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(27): 5583–5589.
- [20] ZHONG Y, LIANG Y, JIA M, *et al.* Synephrine, as a scavenger and promoter, cooperates with hesperidin to reduce acrolein levels [J]. Food Chem, 2024, 431: 136896.
- [21] 张静. 温州蜜柑和几种晚熟柑橘理化品质及功能成分研究[D]. 重庆: 西南大学, 2019.
 ZHANG J. Quality and functional compounds of satsuma mandarin and

several late-maturing citrus in China [D]. Chongqing: Southwest University, 2019.

[22] 郑洁. 我国不同品种金柑主要营养及功能成分研究[D]. 重庆: 西南大 学, 2015.

ZHENG J. Nutritional and functional compounds of (fortunellamajor varieties of kumquat swing) in China [D]. Chongqing: Southwest University, 2015.

- [23] BARUTH S, TERNES W. Volatile compounds of three types of roasted waterfowl (duck, mallard and goose) and of roasted duck marinated in orange juice [J]. Arch Geflugelkd, 2011, 75(3): 204–214.
- [24] FERNANDEZ-LOPEZ J, FERNANDEZ-GINES JM, ALESON-CARBONELL L, et al. Application of functional citrus by-products to meat products [J]. Trends Food Sci Technol, 2004, 15(3–4): 176–185.
- [25] PAL J, RAJU CV, PANDEY G, et al. Effect of pomegranate and orange peel extracts on the quality of fish ham under frozen storage [J]. J Environ Biol, 2022, 43(2): 197–204.
- [26] UCAR Y. Color and sensory changes in microencapsulated fish oil powders prepared using citrus peel essential oils during storage [J]. Ksu Tarim Doga Derg, 2020, 23(2): 515–526.
- [27] JIANG X, LV H, LU Y, et al. Trapping of acrolein by curcumin and the synergistic inhibition effect of curcumin combined with quercetin [J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(1): 294–301.
- [28] LU Y, LIU J, TONG AJ, et al. Dual effects of cardamonin/alpinetin and their acrolein adducts on scavenging acrolein and the anti-bacterial activity from Alpinia katsumadai Hayata as a spice in roasted meat [J]. Food Funct,

2022, 13(13): 7088-7097.

- [29] WANG J, LU Y, ZHENG T, et al. Scavenging of acrolein by food-grade antioxidant propyl gallate in a model reaction system and cakes [J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(31): 8520–8526.
- [30] CHOU TC. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies [J]. Pharmacol Rev, 2006, 58(3): 621–681.
- [31] 吴晓, 卢文丽, 方肇勤, 等. 中药成分联用抑制肝癌细胞增殖及机制研 究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2022, 36(3): 97–104.
 WU X, LU WL, FANG ZQ, *et al.* Research progress on inhibition of hepatoma cells proliferation by combination of traditional Chinese medicine ingredients and its mechanism [J]. Acad J Shanghai Univ Tradit Chin Med. 2022, 36(3): 97–104.
- [32] 黄俊源, 罗志锋, 苏艺,等. 发酵巴戟天中多糖、寡糖与蒽醌复配的抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(10): 3303–3310.
 HUANG JY, LUO ZF, SU Y, *et al.* Study on antioxidant activity of the compound of polysaccharide, oligosaccharide and anthraquinone in fermented *Morinda officinalis* How [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(10): 3303–3310.
- [33] LI P, ZENG SL, DUAN L, et al. Comparison of aurantii fructus immaturus and aurantii fructus based on multiple chromatographic analysis and chemometrics methods [J]. J Chromatogr A, 2016, 1469: 96–107.
- [34] 贾梦玮. 橙皮苷及辛弗林单用和联用抑制体内外丙烯醛机制研究[D]. 南京:南京师范大学, 2023. JIA MW. Inhibitory mechanism of hesperidin and synephrine alone and in combination on acrolein *in vitro* and *in vivo* [D]. Nanjing: Nanjing Normal University. 2023.
- [35] 臧文静.不同品种柑橘果实黄酮类化合物组分鉴定与抗氧化活性研究[D]. 杭州:浙江大学, 2019.

ZANG WJ. Butong identification and determination of flavonoids fromdifferent citrus cultivars fruit and their antioxidant activity [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.

[36] 刘伟,袁洪燕,苏东林,等.不同柑橘品种及保健品中辛弗林含量的比较[J]. 湖南农业科学, 2016, (12): 61-65.
LIU W, YUAN HY, SU DL, *et al.* Comparison on the content of synephrine in different varieties of citrus anddietary supplements [J]. Hunan Agric Sci, 2016, (12): 61-65.

(责任编辑: 韩晓红 张晓寒)

作者简介



冯小兰,副教授,主要研究方向为营 养与食品卫生学。 E-mail: junzilan1123@126.com



吕丽爽,博士,教授,主要研究方向为 食品化学与功能性食品。 E-mail: lishuanglv@126.com