

L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中 4 种有害醛类形成的抑制作用及其品质的改善效果

刘百里, 郑洁, 黄才欢, 刘付, 欧仕益*

(暨南大学理工学院, 烘焙食品安全粤港联合创新平台, 广东广州 510632)

摘要: 该研究将 L-半胱氨酸盐酸盐添加到面团中制作曲奇, 研究了不同添加量 (0.3、0.6、1.0、1.5 g/kg) L-半胱氨酸盐酸盐对 4 种有害醛类含量、曲奇外观和挥发性物质的影响。结果表明: 添加后, 曲奇的接受度高于未添加对照组, 且 4 种有害醛类的含量显著降低。当 L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 1.5 g/kg 时, 曲奇中 5-羟甲基糠醛、3-脱氧葡萄糖醛酮、乙二醛和丙酮醛含量分别降低 28.75%、62.73%、46.27%、36.59%。微固相萃取-气质联用结果显示: 添加后, 曲奇的挥发性醛、醇和吡嗪类物质含量增加, 大部分酮类物质含量减少。细胞毒性实验结果显示: 添加 L-半胱氨酸盐酸盐的曲奇水提取物添加对人胃粘膜上皮细胞活力有促进作用。结合实验分析, 曲奇最适 L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 1.0 g/kg。

关键词: 曲奇; L-半胱氨酸盐酸盐; 二羰基化合物; 5-羟甲基糠醛; 挥发性化合物

文章编号: 1673-9078(2022)06-198-205

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.6.0882

L-Cysteine Hydrochloride Inhibited the Formation of Four Harmful Aldehydes in Cookies and Improved Their Quality

LIU Baili, ZHENG Jie, HUANG Caihuan, LIU Fu, OU Shi Yi*

(School of Science and Technology, Guangdong Hong Kong Joint Innovate Platform Safety, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: In this study, L-cysteine hydrochloride was added into the dough for making cookies, and the effects of L-cysteine hydrochloride at different addition amounts (0.3, 0.6, 1.0, 1.5 g/kg) on the contents of four harmful aldehydes, appearance and volatile substances of cookies were investigated. The results showed that the acceptance of fortified cookies was higher than that of the control group, and the contents of four harmful aldehydes were significantly reduced. The addition of L-cysteine hydrochloride at 1.5 g/kg decreased the contents of hydroxymethylfurfural (HMF), 3-deoxyglucuronone (3-DG), glyoxal (GO) and methylglyoxal (MGO) in cookies by 28.75%, 62.73%, 46.27% and 36.59% respectively. The results of micro-solid phase extraction-GC-MS showed that the contents of volatile aldehydes, alcohols and pyrazines in cookies increased while the contents of most ketones decreased after the addition of L-cysteine hydrochloride. The results of cytotoxicity experiments showed that the water extracts of cookies with added L-cysteine hydrochloride could promote the viability of human gastric epithelial cells. The above experimental results revealed that the optimal amount of L-cysteine hydrochloride for adding to cookies was 1.0 g/kg.

Key words: cookie; L-cysteine hydrochloride; dicarbonyl compounds; 5-HMF; volatile compounds

引文格式:

刘百里, 郑洁, 黄才欢, 等. L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中 4 种有害醛类形成的抑制作用及其品质的改善效果[J]. 现代食品科技, 2022, 38(6):198-205

LIU Baili, ZHENG Jie, HUANG Caihuan, et al. L-Cysteine hydrochloride inhibited the formation of four harmful aldehydes in cookies and improved their quality [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(6): 198-205

收稿日期: 2021-08-11

基金项目: 广州市民生科技攻关计划项目 (201903010004)

作者简介: 刘百里 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: L-半胱氨酸盐酸盐在曲奇中的应用, E-mail: chilinjian@gmail.com

通讯作者: 欧仕益 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全和功能食品, E-mail: tosy@jnu.edu.cn

曲奇是全世界最受欢迎的烘焙产品之一^[1]。它们含有大量糖、蛋白质和脂质，并经过高温烘烤处理，因此曲奇是研究美拉德反应衍生的化学危害的典型模型。以往研究焙烤加工食品的危害物方面多专注于丙烯酰胺问题^[2]。然而，在美拉德反应或糖类的直接热裂解过程中，还会产生 5-羟甲基糠醛 (HMF)、 α -二羰基化合物如 3-脱氧葡萄糖醛酮 (3-DG)、乙二醛 (GO)、丙酮醛 (MGO) 等^[3]。此外，脂质氧化也会产生 GO、MGO 等 α -二羰基化合物^[4]。研究表明，HMF 可生物转化为 5-亚砷甲基-2-糠醛 (SMF)，后者能够与 DNA 发生反应且具有潜在致癌性^[5]。二羰基化合物与蛋白质反应形成晚期糖基化终末产物 (AGEs)，AGEs 与多种和年龄相关的慢性炎症疾病的发展相关，例如糖尿病、心血管疾病^[6]、癌症^[7]、中枢神经系统疾病^[8]。在分子水平上，羟基酪醇可以有效捕获乙二醛和丙酮醛，它们与 3-脱氧葡萄糖醛酮一起，代表了食物中最丰富的二羰基化合物^[9]。L-半胱氨酸由发酵法制得，我国年产约 1×10^4 t^[10]。它是一种还原剂，能切断蛋白质分子内的二硫键进而弱化蛋白质的结构，使蛋白质伸展开。L-半胱氨酸在食品、化妆品和医药保健品中有广泛用途，其中食品添加剂用途占比 60% 以上。同时，L-半胱氨酸还具有抗氧化应激、改善人体脂质代谢和益生元等作用^[11]。

根据课题组前期研究，在生理条件下半胱氨酸可以与 3-DG、GO、MGO、HMF 形成加合物并降低细胞毒性，如丙烯醛的毒性降低近 60 倍^[12,13]。因 L-半胱氨酸溶解度小，食品工业中都用其盐酸盐；L-半胱氨酸盐酸盐是面粉改良剂，但在曲奇中的使用剂量，

能否显著降低以上四种有害醛类还未知。因此，本研究通过将不同添加量的 L-半胱氨酸盐酸盐加于曲奇中，研究对曲奇外观品质、4 种有害醛类含量及细胞毒性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

低筋小麦粉，益海嘉里金龙鱼粮油股份有限公司；酥油、烘焙油，天津南侨食品有限公司；二甲基亚砷、氯化钠、蔗糖、碳酸氢钠，均为分析纯，天津大茂有限公司；2,4-二硝基苯肼、邻苯二胺、甲醇，德国默克试剂有限公司；5-羟甲基糠醛 (98%)，北京百灵威科技有限公司；乙二醛、丙酮醛，质量分数 40% 水溶液，北京百灵威科技有限公司；3-脱氧葡萄糖醛酮，加拿大 TRC 有限公司；L-半胱氨酸盐酸盐 (99%)，北京梦怡美生物科技有限公司；MTT，德国 BIOFROX 公司。

1.2 仪器与设备

LC-20AT 高效液相色谱、GCMS-QP2010 ULTRA 气相色谱-质谱联用仪，日本岛津公司；Centrifuge 5810 R 离心机，德国 Eppendorf 公司；XW-80A 型微型旋涡混合仪，上海沪西分析仪器厂；SPECTRONIC-200 分光光度计，赛默飞；QTS 质构仪，英国 Stable.Micro System 公司。

1.3 实验方法

表 1 曲奇配料

Table 1 Cookie ingredients (g)

小麦粉	奶粉	氯化钠	蔗糖	碳酸氢钠	酥油	烘焙油	水	果葡糖浆	碳酸氢铵
100	1.00	1.25	42	1.00	24	16	22	1.50	0.50

1.3.1 曲奇的制备

参照美国 AACC 10-54^[14]方法制作曲奇。曲奇配方如表 1 (原料小麦粉不含有 L-半胱氨酸盐酸盐) 所示，首先将酥油迅速搅拌，加入蔗糖、奶粉、盐、小苏打搅打；之后取高果糖浆、碳酸氢铵、水，混合再向其中添加 L-半胱氨酸盐酸盐 (L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 0.0、0.3、0.6、1.0、1.5 g/kg) 制得混合溶液。将溶液与干粉料搅拌均匀，置于心型模具内制成曲奇，放在预热 45 min 后的烤箱中，于 200 °C 下烘焙 15 min 制得曲奇。

1.3.2 感官评价

构建感官评价小组，小组有 12 名成员 (3 名男性和 9 名女性，年龄 21 至 24 岁)。对曲奇样品进行评价，

分别从颜色、形态、香味、甜味、细腻度、裹齿感、后味七个特性分析。每种特性分数构成为：颜色 0~20 分，形态 0~15 分，香味 0~15 分，甜味 0~15 分，细腻度 0~10 分，裹齿感 0~10 分，后味~15 分。

1.3.3 曲奇中挥发性风味物质的测定

根据钟京等^[15]的方法稍加改动，采用固相微萃取方法检测曲奇中风味物质。取 5 g 研磨后的曲奇样品放入 40 mL 的顶空采样瓶中，于 60 °C 恒温条件下吸附萃取 30 min。吸附结束后，将萃取头立即插入气相色谱-质谱联用仪进样口，于 250 °C 解析 3 min，进行分析。色谱条件：DB-5MS 色谱柱 (300 mm×0.25 mm, 0.25 μ m)；载气 (氦气) 流量：恒定流速，0.8 mL/min；升温程序：初温 40 °C，保留 3 min，以 5 °C/min 升至

90 °C, 之后按照 12 °C/min 升至 220 °C, 保留 7 min。

质谱条件: 离子源温度 200 °C, 电子能量 70 eV, 电离方式为电子轰击 (electron impact), 质量扫描范围为 30~490。

1.3.4 曲奇白度、质构测定

采用白度计对曲奇样品的色度进行测定, 以 L^* 、 a^* 和 b^* 为色度参数。用质构分析仪检测曲奇样品的质构 (配备探头 TA11/1000 和 TA90 平台), 测试速度 2 mm/s, 触发点负载 1 g, 返回速度 2 mm/s^[16]。

1.3.5 曲奇中水提物的制备

将 1 g 研磨后的曲奇样品置于 50 mL 离心管中, 加入 5 mL 去离子水, 涡旋 3 min, 在 10000 r/min 下离心 10 min, 收集上清液, 用 5 mL 去离子水重复提取两次, 合并上清液, 用去离子水定容至 15 mL。

1.3.6 HMF 的测定

将曲奇水提物用 0.22 μm 滤膜过滤, 参照 Huang 等^[17]的方法, 进行高效液相色谱分析, 色谱柱为 Zorbax SB-Aq 柱。流动相: 5%甲醇水溶液; 样品进样体积: 10 μL ; 流速: 0.6 mL/min; 检测波长: 284 nm。通过 HMF 标准曲线定量。HMF 的标准曲线的回归方程为 $y=101278x-145308$ ($R^2=0.9992$, 线性范围 10~600 $\mu\text{g/mL}$)。每处理重复 3 次。

1.3.7 MGO、3-DG 的测定

对于 MGO 和 3-DG 的检测采用 OPD 衍生法进行高效液相色谱检测, 取 1.0 mL 样品水提物与 100 μL 10% (m/V) 邻苯二胺甲醇溶液混合后, 60 °C 水浴避光衍生 24 h。将衍生后的混合物用 0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液采用 HPLC 测定。混合均匀后在 60 °C 水浴中加热 60 min, 然后取出用 0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液进样分析。根据 Ou 等^[18]的方法, 样品分离在 Zorbax SB-Aq 柱上进行, 流动相: A 为 0.1%乙酸水, B 为甲醇, 进行梯度洗脱, 梯度程序设置: B=28%~43%, 0.00~15.00 min; B=43%~75%, 15.01~30.00 min; B=75%, 30.01~35.00 min。流速: 0.8 mL/min; 进样量: 10 μL , 柱温: 40 °C, 检测波长: 314 nm。通过 MGO 和 3-DG 的标准曲线进行定量, 其中 MGO 浓度为 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.2 $\mu\text{mol/mL}$, 3-DG 浓度为 10、30、50、70、90、120 $\mu\text{g/mL}$ 由本实验测得标准曲线回归方程: MGO 为 $y=2128405.56x-12276.93$ ($R^2=0.9996$, 线性范围 0.1~1.2 $\mu\text{mol/mL}$) 3-DG 为 $y=21986.31x+3027.17$ ($R^2=0.9999$, 线性范围 10~120 $\mu\text{g/mL}$)。每处理重复 3 次。

1.3.8 GO 的测定

对于 GO 的检测采用 2,4-二硝基苯肼衍生法^[19]进行高效液相色谱检测。取 0.2 mL 样品水提物加入 1.8

mL 乙腈和 1 mL DNPH (浓度为 12.5 mmol/L 溶于乙腈/浓盐酸 9:1) 混合均匀后在 70 °C 水浴中加热 2 h, 冷却后取出用 0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液进样分析。根据 Ou 等^[18]的方法, 流动相 A 为 0.1%乙酸水, 流动相 B 为甲醇, 进行梯度洗脱, 梯度程序设置: B=28%~43%, 0.00~15.00 min; B=43%~75%, 15.01~30.00 min; B=75%, 30.01~35.00 min。进样量: 10 μL ; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 40 °C。检测波长: 435 nm。绘制 GO 的标准曲线进行定量, 其中 GO 的浓度设置为 0.01、0.1、0.2、0.3、0.4 $\mu\text{mol/mL}$, 由本实验测得 GO 的标准曲线回归方程如下 $y=3095277.65x-15928.29$ ($R^2=0.99$, 线性范围 0.01~0.40 $\mu\text{mol/mL}$)。每处理重复 3 次。

1.3.9 细胞活力

通过 MTT 法检测曲奇水提物对人胃粘膜上皮细胞 (GES-1) 的毒性, 向 96 孔细胞培养板中加入 100 μL 10^4 cells/mL 的 GES-1 细胞单细胞悬液, 然后加入 100 μL 曲奇水提物在 37 °C 培养箱中培养 24 h, 移除培养液, 用 120 μL 含有 5 mg/mL MTT 溶液的培养基替代药物, 37 °C 继续培养 4 h 后终止培养, 移除培养液, 每孔加入 150 μL DMSO 溶液, 置于摇床上振荡 10 min, 然后在 570 nm 处检测吸光度。每处理重复 3 次。

1.4 数据分析

实验数据采用 Microsoft Excel 软件处理, 使用平均数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示, 应用 SPSS 25.0 软件进行方差分析, 并在 $p=0.05$ 水平下进行 Duncan's 显著性差异分析。

2 结果与讨论

2.1 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇感官、色泽和质地的影响

感官评价的结果如表 2 所示。从颜色、形态、香味、甜味、细腻度、裹齿感、后味七个属性的得分分析, 添加 L-半胱氨酸盐酸盐后曲奇的感官评价得分高于空白组, 当 L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 1.0 g/kg 时, 曲奇的感官评价得分最高。

曲奇的白度可以通过三个参数来确定, 即 L^* 值、 a^* 值和 b^* 值, 其中 L^* 值表示黑色 (0) /白色 (100) 颜色, a^* 值表示绿色 (-) /红色 (+), b^* 值表示蓝色 (-) /黄色 (+)^[20]。随着 L-半胱氨酸盐酸盐添加量的增大, L^* 值显著提高, b^* 值下降, 证实了曲奇经 L-半胱氨酸盐酸盐处理后会变白。

表 2 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇的感官评分的影响

Table 2 The sensory scores of cookies after adding L-cysteine hydrochloride

L-半胱氨酸盐酸盐/(g/kg)	颜色	形态	香味	甜味	细腻度	裹齿感	后味
0	9.71±3.91 ^a	9.33±2.67 ^b	10.54±2.43 ^a	18.34±6.23 ^a	5.41±1.92 ^a	6.31±1.81 ^a	9.82±2.31 ^a
0.3	10.32±4.37 ^a	6.93±2.41 ^a	10.28±2.52 ^a	20.40±5.21 ^a	6.83±2.13 ^{ab}	6.83±1.33 ^a	9.69±3.03 ^a
0.6	12.12±3.53 ^{ab}	9.54±2.24 ^b	11.73±1.34 ^a	19.32±5.08 ^a	7.58±1.24 ^b	6.89±1.64 ^a	10.11±2.01 ^a
1	14.14±3.24 ^b	11.2±2.32 ^b	11.17±2.41 ^a	20.63±4.13 ^a	7.46±1.41 ^b	7.01±1.02 ^a	9.90±1.82 ^a
1.5	12.38±2.81 ^{ab}	9.63±1.80 ^b	12.11±1.21 ^a	19.94±4.42 ^a	6.59±1.77 ^{ab}	7.31±1.73 ^a	10.21±1.67 ^a

注：数据表示为平均值±SD (n=3)，同列字母不同表示存在显著差异 (p<0.05)；下同。

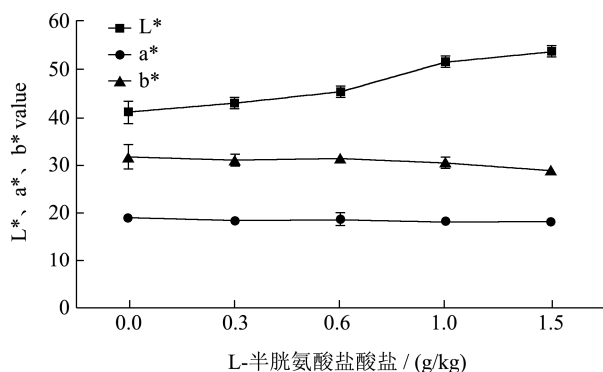


图 1 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇色度的影响

Fig.1 Effect of L-cysteine hydrochloride on the color parameters of cookies

随着 L-半胱氨酸盐酸盐的添加，硬度先升后降。在 1.5 g/kg 添加量时硬度小于空白组曲奇，咀嚼性显著增加。所以，L-半胱氨酸盐酸盐可对曲奇质构中的硬度和咀嚼性有较大的影响，可使曲奇口感变得更酥脆^[21]。

表 3 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇质构的影响

Table 3 Effect of L-cysteine hydrochloride on texture in cookies

L-半胱氨酸盐酸盐/(g/kg)	硬度/g	咀嚼性/mJ
0	6301.12±275.24 ^a	27.21±8.60 ^a
0.3	6883.67±386.33 ^a	34.07±7.43 ^a
0.6	6900.33±665.46 ^a	79.63±18.42 ^b
1	6593.18±650.56 ^a	113.91±31.04 ^c
1.5	5684.11±932.12 ^b	212.54±38.13 ^d

2.2 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中二羰基化合物含量的影响

在本实验中，我们研究了 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中 3 种二羰基化合物 (3-DG、GO、MGO) 的影响。二羰基化合物 3-DG、GO、MGO 等化学性质非常活泼，对人体健康产生有害影响，是焙烤食品中需要把控的物质^[22]。

由表 4 可知，L-半胱氨酸盐酸盐的添加可显著降

低曲奇中 3-DG、GO、MGO 的含量。

表 4 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中 3-DG、GO、MGO 的影响 (mg/kg)

Table 4 Effect of L-cysteine hydrochloride on 3-DG, GO, and MGO in cookies (mg/kg)

L-半胱氨酸盐酸盐/(g/kg)	3-DG	GO	MGO
0	64.63±5.31 ^c	61.61±0.62 ^e	40.11±0.49 ^e
0.3	45.21±0.33 ^b	56.71±0.14 ^d	36.42±0.38 ^d
0.6	47.92±0.92 ^b	47.73±0.73 ^c	32.23±0.41 ^c
1	28.08±3.31 ^a	41.02±0.39 ^b	30.31±0.85 ^b
1.5	24.09±1.78 ^a	33.10±0.37 ^a	25.43±0.73 ^a

当 L-半胱氨酸盐酸盐的添加量为 0.3 g/kg 时，3-DG 含量显著下降，减少了 30.05% (p<0.05)，随着添加量继续增大，3-DG、GO、MGO 都有显著降低，L-半胱氨酸盐酸盐添加量为 1.5 g/kg 时，3-DG、GO、MGO 含量分别下降了 62.73%、46.27%、36.59% (p<0.05)。以往的研究中，Liu 等^[23]在热加工模拟体系中添加槲皮素分别降低 MGO、GO 含量 32.60%、40.48%。与此结果相比，L-半胱氨酸盐酸盐效果较好。实验结果表明，L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中产生的二羰基化合物有明显的抑制作用，能有效地降低烘焙过程中产生的有害物。这可能是因为 L-半胱氨酸和二羰基化合物形成了加合产物^[13]。

2.3 L-半胱氨酸盐酸盐对 HMF 的影响

表 5 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中 HMF 的影响

Table 5 Effect of L-cysteine hydrochloride on HMF in cookies

L-半胱氨酸盐酸盐添加量/(g/kg)	HMF/(mg/kg)
0	211.34±5.66 ^e
0.3	150.59±0.63 ^d
0.6	93.77±7.34 ^c
1	51.22±0.10 ^b
1.5	36.02±0.24 ^a

注：同列字母不同代表差异显著 (p<0.05)。

研究表明 HMF 在高浓度下具有细胞毒性，对眼睛、上呼吸道、皮肤和粘膜有刺激性^[24]。由表 5 可知，

添加 L-半胱氨酸盐酸盐可显著降低曲奇中的 HMF 含量: 当添加量达到 0.3 g/kg 后, HMF 显著下降, 降低幅度达到 28.75% ($p < 0.05$)。继续增加 L-半胱氨酸盐酸盐的添加量, 抑制率显著增加, 添加量至 1.5 g/kg 时, HMF 下降 82.95%。

2.4 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中挥发性风味物质的影响

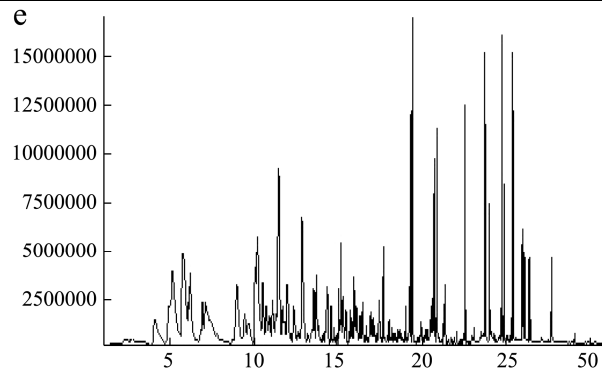
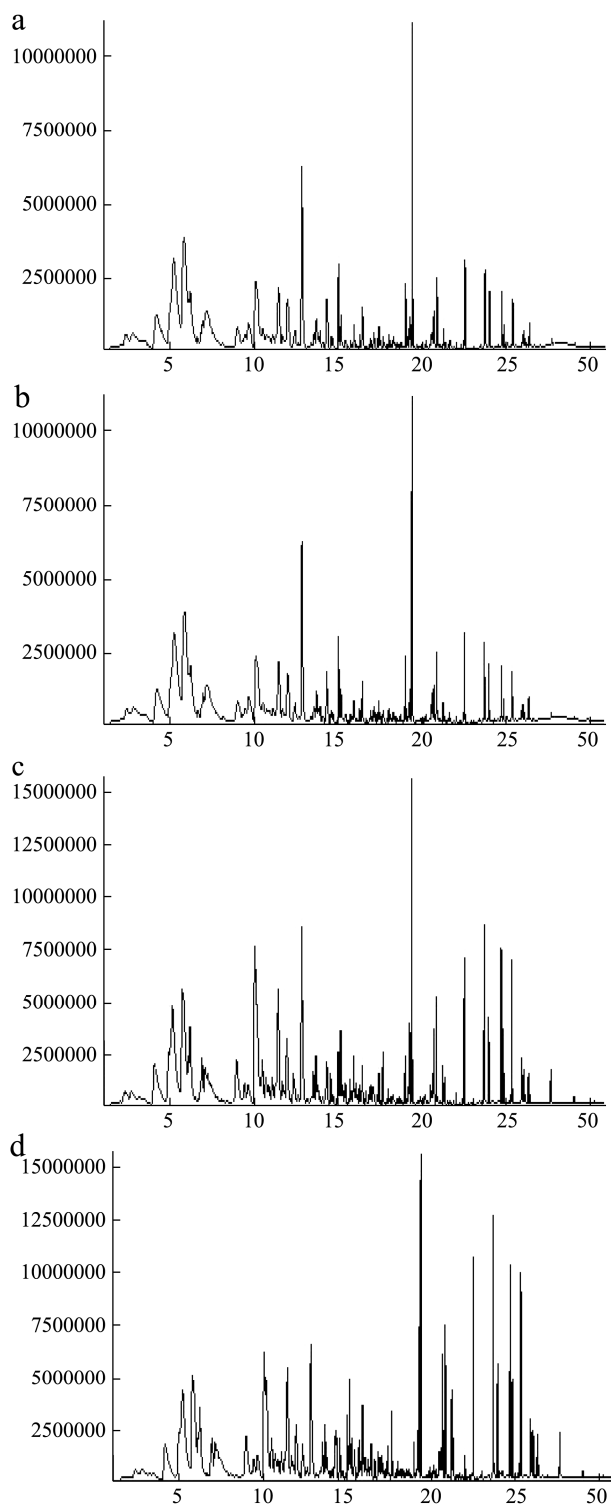


图 2 不同浓度 L-半胱氨酸盐酸盐曲奇中挥发性化合物的气相色谱图

Fig.2 Gas chromatography of volatile compounds in cookies after adding different concentration of L-cysteine hydrochloride

注: a: 空白; b: L-半胱氨酸盐酸盐浓度 0.3 g/kg; c: L-半胱氨酸盐酸盐浓度 0.6 g/kg; d: L-半胱氨酸盐酸盐浓度 1.0 g/kg; e: L-半胱氨酸盐酸盐浓度 1.5 g/kg。

半胱氨酸可以通过美拉德反应产生肉香、烧烤风味^[25]。添加 L-半胱氨酸盐酸盐后, 曲奇中的挥发性醛、醇和吡嗪含量升高, 除呋喃酮外大部分酮类物质含量减少。如表 6 所示, 风味物质含量采用峰面积归一化法计算。吡嗪类物质在对照组中检测到 2-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2,6-二甲基吡嗪、2-乙基吡嗪, 添加了 L-半胱氨酸盐酸盐后增加了 2,3-二甲基-吡嗪, 2-(正丙基)-吡嗪。其中添加了 L-半胱氨酸盐酸盐后 2-甲基吡嗪、2,5-二甲基吡嗪、2-乙基吡嗪含量分别增加了 72.51%、92.54%、40%, 2,6-二甲基吡嗪含量降低 11.18%。醇类物质在对照组中检测到苯甲醇、乙醛缩丙醇苯乙醇、3-呋喃甲醇、1-戊醇、1-辛醇、1,2-丙二醇、3-甲基-4 戊烯-1 醇、2,3-丁二醇、叶醇, 添加 L-半胱氨酸盐酸盐后 1,2-丙二醇、3-甲基-4 戊烯-1 醇含量分别降低 72.22%、100%, 苯甲醇、乙醛缩丙醇苯乙醇、3-呋喃甲醇、叶醇含量分别升高 80%、25%、8.15%、4.65%。醛类物质在对照组中检测到乙醛、壬醛、糠醛、2,4-二甲基-苯甲醛、辛烷醛, 添加 L-半胱氨酸盐酸盐后增加了桃醛、反式-2,4-癸二烯醛、苯甲醛、2-噻吩甲醛。添加了 L-半胱氨酸盐酸盐后, 壬醛、2,4-二甲基-苯甲醛、辛烷醛含量分别升高 85.71%、728.57%、66.67%, 乙醛、糠醛含量分别降低 88.24%、43.59%。酮类物质在对照组中检测到 1-羟基-2-丙酮、3,4-二氢-6-甲基-2H-吡喃-2-酮、5-乙基二氢-2(3H)-呋喃酮、2,3-二氢-3,5 二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮、3-甲基-1,2-环戊二酮、1-羟基-2-丁酮、2-庚酮、3-[3-溴苯基]-7-氯-3,4-二氢-10-羟基-1,9(2H,10H)-吡啶二酮、2(5H)-呋喃酮、二氢-5-丙基-2(3H)-呋喃酮、5-丁基二

氢-2(3H)-呋喃酮、二氢-5-戊基-2(3H)-呋喃酮、5-己基二氢-2(3H)-呋喃酮, 添加前后酮种类基本不变, 含量有较明显变化, 在添加了 L-半胱氨酸盐酸盐后 3-[3-溴苯基]-7-氯-3,4-二氢-10-羟基-1,9(2H,10H)-吡啶二酮、2-庚酮、2(5H)-呋喃酮、5-丁基二氢-2(3H)-呋喃酮、二氢-5-戊基-2(3H)-呋喃酮含量分别升高 200%、17.24%、7.69%、46.27%、176.14%, 1-羟基-2-丙酮、3-甲基-1,2-环戊二酮、1-羟基-2-丁酮、二氢-5-丙基

-2(3H)-呋喃酮物质含量分别降低 4.75%、61.90%、79.31%、42.67%。这可能是因为半胱氨酸和还原糖的美拉德反应会降低脂肪族羰基的水平源自脂质氧化和降解的化合物, 例如酮^[26]。含硫化合物-噻吩是肉香味的重要来源^[27]。对照组中检测到 4-甲基-5-(beta-羟乙基)噻唑, 在添加 L-半胱氨酸盐酸盐后增加了 2-乙基-噻唑、2-乙酰噻唑。

表 6 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇中挥发性风味物质的影响

Table 6 Effect of L-cysteine hydrochloride on the volatile flavor substances in cookies

类别	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%				
			空白	0.3	0.6	1	1.5
吡嗪	12.01	2-甲基吡嗪	1.71±0.15	1.81±0.06	1.90±0.39	2.29±0.25	2.95±0.06
	13.53	2,5-二甲基吡嗪	0.67±0.09	0.56±0.01	0.87±0.27	0.82±0.07	1.29±0.09
	13.74	2,6-二甲基吡嗪	1.52±0.01	1.00±0.01	0.99±0.05	1.04±0.05	1.35±0.04
	13.82	2-乙基吡嗪	0.35±0.05	0.41±0.01	-	-	0.49±0.01
	24.67	2-(正丙基)-吡嗪	-	-	-	-	0.05±0.01
	14.08	2,3-二甲基-吡嗪	-	0.16±0.01	0.18±0.01	0.22±0.01	0.27±0.02
醛类	6.93	乙醛	1.02±0.01	-	0.07±0.01	0.11±0.01	0.12±0.01
	10.45	壬醛	0.77±0.44	1.23±0.25	1.60±0.39	1.89±0.09	1.43±0.31
	16.44	糠醛	1.17±0.19	0.99±0.01	0.79±0.02	0.66±0.03	-
	21.41	2,4-二甲基-苯甲醛	0.07±0.02	0.18±0.01	0.40±0.18	0.52±0.07	0.58±0.09
	12.60	辛烷醛	0.15±0.01	0.24±0.06	0.35±0.01	0.23±0.01	0.25±0.06
	26.03	桃醛	-	-	0.48±0.01	0.75±0.06	0.75±0.18
	15.84	2-十一烯醛	-	-	-	0.41±0	-
	15.84	反-2-十二烯醛	-	-	0.32±0.01	0.40±0.01	-
	21.32	反式-2,4-癸二烯醛	-	-	0.21±0.01	0.25±0.04	0.32±0.03
	17.41	苯甲醛	0.62±0.01	-	0.51±0.09	0.52±0.07	0.70±0.11
醇类	19.89	2-噻吩甲醛	-	-	0.06±0.01	0.09±0	0.16±0.08
	22.02	苯甲醇	0.15±0.04	0.10±0.02	0.14±0.01	0.27±0.02	0.12±0.01
	12.44	乙醛缩丙醇苯乙醇	0.72±0	0.90±0.01	-	-	-
	19.43	3-呋喃甲醇	3.19±0.40	3.35±0.02	3.58±0.53	3.66±0.35	3.45±0.18
	11.58	1-戊醇	0.37±0.04	0.54±0.01	-	-	-
	18.04	1-辛醇	0.24±0.01	0.28±0.01	0.20±0.03	0.21±0.01	0.23±0.02
	18.51	1,2-丙二醇	0.18±0.09	0.13±0.05	0.05±0.01	-	-
	17.34	3-甲基-4-戊烯-1-醇	0.13±0.04	-	-	-	-
	17.72	2,3-丁二醇	0.47±0.37	-	-	-	-
	15.04	叶醇	0.86±0.12	1.48±0.15	0.92±0.04	0.92±0.04	0.90±0.02
酮类	12.78	1-羟基-2-丙酮	4.00±0.44	4.76±0.03	4.55±0.86	3.86±0.19	3.81±0.20
	18.56	3,4-二氢-6-甲基-2H-吡喃-2-酮	0.08±0.01	0.08±0.01	-	-	-
	20.03	5-乙基二氢-2(3H)-呋喃酮	0.07±0.04	0.07±0.04	-	-	0.08±0.01
	26.01	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	0.16±0.04	0.49±0.24	0.54±0.40	0.70±0.13	0.89±0.23
	21.59	3-甲基-1,2-环戊二酮	0.21±0.10	0.12±0.02	0.10±0.02	0.07±0.01	0.08±0.01
	14.67	1-羟基-2-丁酮	0.29±0.06	0.23±0.07	0.12±0.04	0.05±0.01	0.06±0.01
9.56	2-庚酮	0.87±0.14	1.83±0.13	1.05±0.05	0.98±0.13	1.02±0.11	

续表 6

类别	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%				
			空白	0.3	0.6	1	1.5
酮类	15.78	3-[3-溴苯基]-7-氯-3,4-二氢-10-羟基-1,9(2H,10H)-吡啶二酮	0.12±0.01	0.21±0.03	0.32±0.01	0.37±0.01	-
	20.56	2(5H)-呋喃酮	0.52±0.01	0.51±0.05	0.43±0.05	0.41±0.01	0.56±0.06
	21.32	二氢-5-丙基-2(3H)-呋喃酮	0.75±0.07	0.41±0.08	0.47±0.13	1.04±0.07	0.45±0.06
	22.51	5-丁基二氢-2(3H)-呋喃酮	1.34±0.72	1.52±0.32	1.95±0.64	2.71±0.25	1.96±0.37
	23.70	二氢-5-戊基-2(3H)-呋喃酮	0.88±0.04	1.61±0.35	2.60±0.87	3.27±0.30	2.43±0.25
	24.90	5-己基二氢-2(3H)-呋喃酮	0.09±0.01	0.42±0.08	0.76±0.62	1.41±0.19	1.46±0.29
含硫化合物	26.41	4-甲基-5-(beta-羟乙基)噻唑	0.35±0.27	0.45±0.11	0.63±0.48	0.64±0.13	0.69±0.18
	20.32	2-乙基-噻唑	-	-	0.07±0.02	0.09±0.01	0.12±0.01
	19.31	2-乙酰噻唑	-	0.69±0.21	1.07±0.26	1.73±0.08	2.40±0.12

注：数据表示为平均值±SD (n=3)。

2.5 L-半胱氨酸盐酸盐对曲奇水提物细胞毒性的影响

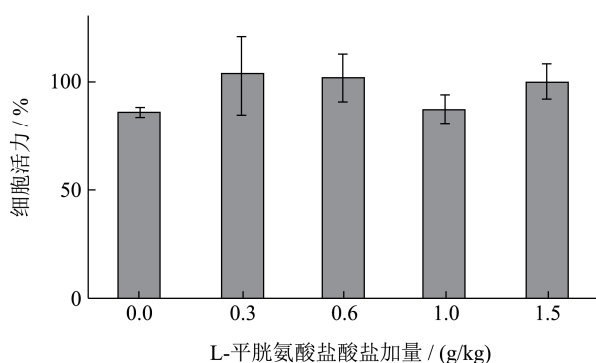


图3 曲奇水提物对 GES-1 细胞毒性的影响

Fig3 Effect of water extract from L-cysteine hydrochloride fortified cookie on GES-1 cytotoxicity

采用人胃粘膜细胞 (GES-1) 研究了曲奇水提物对细胞活力的影响。未加药的对照组细胞存活率为 84.8%，添加 L-半胱氨酸盐酸盐的曲奇水提物培养 GES-1 细胞的存活率分别为 103.7%、100.9%、86.3%、99.2%。添加了 L-半胱氨酸盐酸盐的曲奇水提物培养细胞的存活率均有提高，说明 L-半胱氨酸盐酸盐的添加对 GES-1 细胞活力有促进作用。

3 结论

本实验通过添加不同量 L-半胱氨酸盐酸盐，研究对烘焙曲奇外观品质及有害物质的影响。研究表明：L-半胱氨酸盐酸盐提高了曲奇的白度和感官评分，更加酥脆的口感。抑制了曲奇中的活泼羰基化合物 (HMF、3-DG、GO、MGO) 的形成。同时对风味成分有不同程度的影响，挥发性醛、醇和吡嗪含量升高，

除呋喃酮外大部分酮类物质含量减少。添加 L-半胱氨酸盐酸盐对细胞没有抑制作用。结合实验数据分析可以得出结论，在 1.0 g/kg L-半胱氨酸盐酸盐添加量时，曲奇的外观、气味、口感均令人满意，有害醛类含量较少且对 GES-1 细胞活力有促进作用。

参考文献

- [1] Davidov-Pardo G, Moreno M, Arozarena I, et al. Sensory and consumer perception of the addition of grape seed extracts in cookies [J]. Journal of Food Science, 2012, 77(12): S430-S438
- [2] Cheng L, Jin C, Zhang Y. Investigation of variations in the acrylamide and Nε-(Carboxymethyl) lysine contents in cookies during baking [J]. Journal of Food Science, 2014, 79(5): T1030-T1038
- [3] Troise A D, Colantuono A, Fiore A. Spray-dried olive mill wastewater reduces Maillard reaction in cookies model system [J]. Food Chemistry, 2020, 323: 126793
- [4] Capuano E, Fogliano V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): a review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies [J]. LWT, 2011, 44(4): 793-810
- [5] Hellwig M, Gensberger-Reigl S, Henle T, et al. Food-derived 1,2-dicarbonyl compounds and their role in diseases [C]// Seminars in cancer biology. Academic Press, 2018, 49: 1-8
- [6] Tikellis C, Pickering R J, Tsorotes D, et al. Dicarbonyl stress in the absence of hyperglycemia increases endothelial inflammation and atherogenesis similar to that observed in diabetes [J]. Diabetes, 2014, 63(11): 3915-3925
- [7] Vlassara, Helen. Advanced glycation endproducts in diabetes and diabetic complications [J]. Endocrinology & Metabolism

- Clinics of North America, 2013, 42(4): 697-719
- [8] Schalkwijk C G, Stehouwer C D A. Methylglyoxal, a highly reactive dicarbonyl compound, in diabetes, its vascular complications, and other age-related diseases [J]. *Physiological Reviews*, 2020, 100(1): 407-461
- [9] Navarro M, Atzenbeck L, Pischetsrieder M, et al. Investigations on the reaction of C3 and C6 α -dicarbonyl compounds with hydroxytyrosol and related compounds under competitive conditions [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(32): 6327-6332
- [10] Kondoh Mariko, Takashi Hirasawa. L-cysteine production by metabolically engineered *Corynebacterium glutamicum* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103: 2609-2619
- [11] Yin J, Ren W, Yang G, et al. L-Cysteine metabolism and its nutritional implications [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2016, 60(1): 134-146
- [12] 赵倩竹.一种羟甲基糠醛—半胱氨酸加合物的鉴定及其细胞毒性研究[D].广州:暨南大学,2018
ZHAO Qianzhu. Identification of a hydroxymethylfurfural-cysteine adduct and its absorption and cytotoxicity in Caco-2 cells [D]. Guangzhou: Jinan University, 2018
- [13] Jiang K, Huang C, Jiao R, et al. Adducts formed during protein digestion decreased the toxicity of five carbonyl compounds against Caco-2 cells [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 363: 26-33
- [14] AACC. (2000). Approved methods, 10th edn. Method 10-54. St. Paul, Minn.: The American Assn. of Cereal Chemists
- [15] 钟京,吴超,王凤,等.固相微萃取和气相色谱-质谱联用分析添加孜然粉的甜菊苷低糖曲奇食品的风味物质[J].食品科学,2012,33(12):149-153
ZHONG Jing, WU Chao, WANG Feng, et al. Solid phase microextraction and GC-MS analysis of the effect of cumin powder on volatile compounds in low sugar cookies with stevioside [J]. *Food Science*, 2012, 33(12): 149-153
- [16] 刘瑞,于章龙,孙元琳,等.运黑 161 与运黑 14207 小麦粉加工特性研究[J].中国粮油学报,2020,35(5):18-22,29
LIU Rui, YU Zhanglong, SUN Yuanlin, et al. Research of processing characteristics of Yunhei 161 and Yunhei 14207 [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2020, 35(5): 18-22, 29
- [17] Huang J, Wang Y, Yang L, et al. Effect of maize bran feruloylated oligosaccharides on the formation of endogenous contaminants and the appearance and textural properties of biscuits [J]. *Food Chemistry*, 2018, 245: 974-980
- [18] Ou J, Teng J, El-Nezami H S, et al. Impact of resveratrol, epicatechin and rosmarinic acid on fluorescent AGEs and cytotoxicity of cookies [J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 40: 44-50
- [19] 唐川江,聂锦梅,崔成民,等.纺织品中醛类化合物的高效液相色谱法测定[J].纺织学报,2015,36(8):99-103
TANG Chuanjiang, NIE Jinmei, CUI Chengmin, et al. Determination of aldehydes in textile by high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Textile Research*, 2015, 36(8): 99-103
- [20] 程璐.曲奇中美拉德反应伴生危害物及其控制技术研究[D].杭州:浙江大学,2014
CHENG Lu. Studies on Maillard reaction-derived hazards and their control technology in a cookie system [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014
- [21] 欧小春,胡国权,韦世菊,等.D-最优混料设计甜茶无蔗糖抗氧化性酥性饼干[J].食品工业,2021,42(4):72-77
OU Xiaochun, HU Guoquan, WEI Shiju, et al. D-Optimal mixture design for researching on the development of sweat tea sucrose-free antioxidant biscuit [J]. *The Food Industry*, 2021, 42(4): 72-77
- [22] Shuo Wang. Chemical Hazards in Thermally-Processed Foods [M]. Springer Nature, 2019
- [23] Liu Guimei, Xia Qiuqin, Lu Yongling, et al. Influence of quercetin and its methylglyoxal adducts on the formation of α -dicarbonyl compounds in a lysine/glucose model system [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(10): 2233-2239
- [24] Capuano, Edoardo, Vincenzo Fogliano. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): a review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2011, 44: 793-810
- [25] Wang Y, Li P, Wang J, et al. Application of fuzzy comprehensive evaluation to sensory quality analysis of meat favour aroma [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 33(22): 155-158
- [26] Yang Z, Xie J, Zhang L, et al. Aromatic effect of fat and oxidized fat on a meat - like model reaction system of cysteine and glucose [J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2015, 30(4): 320-329
- [27] Hou L, Xie J, Zhao J, et al. Roles of different initial Maillard intermediates and pathways in meat flavor formation for cysteine-xylose-glycine model reaction systems [J]. *Food Chemistry*, 2017, 232: 135-144