

# 乳酸菌发酵降低饼干中丙烯酰胺含量机理的初步探究

张均叶<sup>1</sup>, 赵建新<sup>1</sup>, 闫博文<sup>1</sup>, 郭本恒<sup>2</sup>, 范大明<sup>1</sup>, 何晓赞<sup>1</sup>, 陈卫<sup>1</sup>, 张灏<sup>1</sup>

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122) (2. 光明乳业股份有限公司, 上海 200436)

**摘要:** 食品中丙烯酰胺的危害正日益受到人们关注。本文采用 GC-MS 法测定了采用 6 株不同种乳酸菌发酵制备饼干所产生丙烯酰胺的差异, 结果表明经乳酸菌发酵制备的饼干中丙烯酰胺含量较对照组 336.77  $\mu\text{g}/\text{kg}$  均显著降低, 其中由植物乳杆菌 CCFM382 制备的饼干中丙烯酰胺含量仅为 100.63  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。对比发酵后面团以及饼干中的影响丙烯酰胺合成的底物含量发现它们在发酵过程中均有增加, 但其加工后损失率显著低于对照组。这一结果证实了通过乳酸菌发酵降低丙烯酰胺合成底物而降低终产品丙烯酰胺的设想不成立。不同乳酸菌在面团中的产酸能力不同, 经 4 h 发酵后面团的 pH 值具有差异, 而丙烯酰胺的生成量与面团 pH 值呈正相关。采用化学酸化手段同样可达到降低产品中丙烯酰胺含量, 可以推测乳酸菌发酵降低饼干中丙烯酰胺含量的原因主要是由乳酸菌在发酵过程中所产生的有机酸抑制了丙烯酰胺的合成。

**关键词:** 乳酸菌; 饼干; 丙烯酰胺; 天冬酰胺; 还原糖; pH

文章编号: 1673-9078(2015)12-277-282

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.041

## Reducing Acrylamide Content in Biscuits via Lactic Acid Bacteria Fermentation

ZHANG Jun-ye<sup>1</sup>, ZHAO Jian-xin<sup>1</sup>, YAN Bo-wen<sup>1</sup>, GUO Ben-heng<sup>2</sup>, FAN Da-ming<sup>1</sup>, HE Xiao-yun<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>1</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>

(1.School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(2.Bright Dairy and Food Co., Ltd, Shanghai 200436, China)

**Abstract:** The adverse effects of acrylamide in food are a growing public concern. Acrylamide content in biscuits fermented by six different lactic acid bacteria (LAB) strains was investigated by gas chromatography-mass spectrometry. The results indicated that the acrylamide content in biscuits fermented by LAB strains was significantly lower than that of the control, which contained 336.77  $\mu\text{g}/\text{kg}$  acrylamide. Lowest acrylamide content was found in the biscuit fermented by *Lactobacillus plantarum* CCFM382, at 100.63  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Acrylamide content in the dough increased during fermentation, whereas after baking, the loss ratio was lower than that in the unfermented control. The results confirmed that the consumption of the synthetic substrate (acrylamide) by LAB was inconsistent. Different LAB strains showed varying of acid-producing abilities and the pH of dough after 4-h fermentation showed remarkable differences. Acrylamide content and pH value in the dough were positively correlated. Moreover, acrylamide content in the products could be reduced by chemical acidification. Thus, the mechanism of reducing acrylamide by LAB can be attributed mainly to organic acid production by LAB strains during fermentation, which inhibits the synthesis of acrylamide.

**Key words:** lactic acid bacteria; biscuit; acrylamide; asparagine; reducing sugar; pH

烘焙食品中丙烯酰胺的危害正日益被人们所重视, 丙烯酰胺主要在食物高温 (120  $^{\circ}\text{C}$  以上) 加工的过程中形成, 且研究表明, 在 120~200  $^{\circ}\text{C}$  间的温度范

收稿日期: 2015-02-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31471721)

作者简介: 张均叶 (1990-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 赵建新 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术

围内, 加工温度越高丙烯酰胺的生成量越多<sup>[1]</sup>。研究证实由天冬酰胺参与的美拉德反应是食品中丙烯酰胺产生的重要途径<sup>[2]</sup>, 因此, 降低或消耗产品中丙烯酰胺合成底物及抑制食品加工过程中的美拉德反应进程是减少丙烯酰胺在加工过程中生成的两种重要手段。现有的降低食品中丙烯酰胺的方法主要是通过改变食品加工中如加热温度与时间、比表面积等工艺参数, 降低了美拉德反应的进程, 进而达到抑制丙烯酰胺生

成的目的<sup>[3]</sup>,但这种方法往往会引起产品的色泽、质构、风味等的不良变化,并导致终产品的质量不够理想。而若在食品、半成品加热前加入天冬酰胺酶,减少或抑制天冬酰胺在加热过程中形成丙烯酰胺<sup>[4]</sup>,这种方法又对产品的基质组成有要求,且因成本太高而难以在工业化生产中广泛应用。

研究证实,除丙烯酰胺的合成底物-天冬酰胺(Asn)与还原糖外,食品的pH也是其丙烯酰胺含量的重要影响因素<sup>[5-6]</sup>。近年来,乳酸菌(Lactic acid bacteria, LAB)发酵生产的烘焙谷物食品已被发现在产品的风味、质构、货架期等诸多理化特性方面具有积极作用<sup>[7]</sup>。此外,在乳酸菌发酵过程中,不仅可能通过消耗丙烯酰胺的合成底物来达到抑制其形成,还可能通过产酸降低食品的pH值而使丙烯酰胺合成受影响。然Fredriksson等<sup>[8]</sup>认为乳酸菌酸面团发酵对酵母代谢面团中的游离天冬酰胺具有强烈的抑制作用,从而可能导致面包中丙烯酰胺含量的增加,针对乳酸菌发酵是否具有降低食品中丙烯酰胺含量的功能,本文就此对乳酸菌降低发酵饼干中丙烯酰胺含量的机理进行初步探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料

#### 1.1.1 菌株

乳酸菌的基本信息如表1所示。所有乳酸菌均分离于各类发酵食品,由江南大学食品生物技术中心保藏,菌株被存放于-70℃的冷藏系统中直至在MRS琼脂培养基上划线并于30或37℃培养48h,经2次传代后乳酸菌被制成约为 $10^{10}$  cfu/g的冻干粉,冻干保护剂为12.5%脱脂乳液。

表1 本研究所使用的乳酸菌株信息

Table 1 LAB strains used in this study

乳酸菌编号	菌株	拉丁学名
CCFM236	干酪乳杆菌	<i>Lactobacillus casei</i>
CCFM308	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>
CCFM381	发酵乳杆菌	<i>Lactobacillus fermentum</i>
CCFM382	植物乳杆菌	<i>Lactobacillus plantarum</i>
CCFM635	乳酸乳球菌 乳酸亚种	<i>Lactococcus lactis subsp.</i> <i>Lactis</i>
CCFM671	戊糖片球菌	<i>Pediococcus pentosaceus</i>

#### 1.1.2 原料

低筋小麦粉,益海嘉里食品工业有限公司;起酥油,天津南侨食品有限公司;白砂糖,中粮屯河股份有限公司;食用盐,江苏省盐业集团有限公司;即发

型活性干酵母,安琪酵母股份有限公司;脱脂乳粉,光明乳业股份有限公司。所选用的原料均为食品级。

#### 1.1.3 试剂

丙烯酰胺标准品、天冬酰胺标准品,美国Sigma公司;其余试剂,国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器设备

ATLAS MOTOR 150 压面机,意大利MARCATO公司;SM-25 搅拌机、SK-12P 醒发箱、SK-12P 层炉,无锡新麦机械有限公司;Trace MS 气相色谱-质谱联用仪,美国Finnigan公司;UV1800 紫外分光光度计,日本岛津公司;HPLC-1525 高效液相色谱,美国Waters公司;Milli-Q Reference 超纯水系统。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 饼干的制作

乳酸菌发酵饼干组:按照表2所示配方等比例称取饼干制备的原辅料,将小麦粉、起酥油、白砂糖及食盐加入搅面缸内,以80 r/min 搅拌5 min;干酵母和乳酸菌粉剂先用无菌水溶解,再加入搅面缸内,所有原辅料以速率180 r/min 搅拌7 min 制成表面光滑的饼干面团;将饼干面团静置于条件为35℃、湿度70%的醒发箱内发酵4 h;发酵完成的面团用压片机压至2 mm 厚,切割成 $5 \times 5$  cm<sup>2</sup> 大小的面片,在面火180℃底火160℃的条件下烘烤15 min,冷却后得到发酵饼干成品。

表2 发酵饼干制作配方

Table 2 Recipe for fermented biscuits

原辅料	使用量/g
低筋小麦粉	100
起酥油	30
白砂糖	5
食用盐	1
即发型活性干酵母	1
乳酸菌发酵剂	2
无菌水	30

空白组:按照表2所示的配方等比例称取饼干制备的原辅料,并按乳酸菌发酵饼干组一节所述的方法搅拌制备形成表面光滑的饼干面团,面团成形后不经发酵步骤,直接按乳酸菌发酵饼干组中的焙烤参数加工空白组饼干并得到饼干成品。

酵母饼干组:按表2所示配方等比例称取小麦粉、起酥油、砂糖、食盐及活性干酵母,并按乳酸菌发酵饼干的制备方法将酵母饼干的原辅料经搅拌、发酵、塑形、焙烤加工制得酵母组发酵饼干成品。

乳酸酸化组：按空白组所述的方法制备饼干面团，以 0.5 mol/mL 乳酸分别调节面团酸度至其 pH 值与 6 株乳酸菌发酵后面团 pH 值相同，按空白组中烘烤参数加工饼干。

### 1.3.2 丙烯酰胺含量的测定

样品的预处理及丙烯酰胺的衍生化参照国标 GB/T 5009.204-2005<sup>[9]</sup>中的方法，衍生物利用 GC-MS 进行定性和定量。

色谱条件：色谱柱 HPINNOwax 毛细管柱，60 m×0.25 mm×0.25 μm；升温程序色谱柱温度 60 °C，保留 2 min→升温 15 °C/min 直到 240 °C→终温保留 16 min。质谱条件：进样口温度 200 °C，离子源温度 180 °C；离子源 EI 源，70 eV；测定方式离子监测方式 (SIM)，选择监测离子 (m/z) 152、150、108、106；进样方式恒流 1.0 mL/min，无分流进样，载气为氦气 (99.999%)。

### 1.3.3 天冬酰胺含量的测定

准确称取 10.0 g 粉碎样品并加入 5% 三氯乙酸 25 mL，高速匀浆 30 s 后用双层滤纸进行过滤。滤液以 10000 r/min 离心 10 min，上清液用邻苯二醛进行衍生，衍生完成的溶液使用 HPLC 测定其中天冬酰胺的含量。

色谱条件：色谱柱 ODS Hypersil 毛细管柱，250 mm×4.5 mm×5 μm；流动相 20 mmol/L 乙酸钠的甲腈-乙腈(体积比 1:2)溶液；流速 1.0 mL/min；柱温 40 °C；UV 检测 338 nm。

### 1.3.4 还原糖含量的测定

8.2 g 无水醋酸钠溶于 400 mL 去离子水中，并加水至 960 mL 左右，以冰醋酸调节溶液 pH 至 5.0，定容至 1000 mL，即为 0.1 mol/L 醋酸缓冲液。准确称取 1.000 g 干燥至恒重的葡萄糖固体并用醋酸缓冲液定容至 1000 mL，即为还原糖标准液。准确吸取 0.0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL 和 1.0 mL 标准液并用去离子水补至 1.0 mL，分别与 3.0 mL DNS 显色液混合，沸水浴反应 5 min 后冷却至室温，用去离子水定容至 25 mL，测定 520 nm 处的 OD 值并绘制标准曲线。

样品中还原糖的提取参照国标 GB/T 5009.7-2008<sup>[10]</sup>中的方法，准确吸取提取液 1.0 mL 与 3.0 mL DNS 混合后，用与标准液相同的处理方法处理提取液，提取液中还原糖浓度通过在标准曲线中代入所得的 OD 值计算。

### 1.3.5 面团 pH 的测定

面团 pH 值的测定方法参照国标 GB/T 22427.9-2008<sup>[11]</sup>所述并稍作修改，具体为：称取 10.0 g

待测样品，置于 90 g 煮沸去离子水中，溶液于磁力搅拌器上搅拌 30 min，静置至溶液恢复室温；利用 pH 计测定溶液的 pH。

### 1.3.6 数据处理

本研究中的实验除在方法中另提及外，均执行 3 次平行实验。利用 SPSS Statistics 17.0 软件对实验数据进行单因素 ANNOVA 分析和相关性分析，Tukey HSD 被用于确定 p≤0.05 水平时数据的显著性差异，Pearson 被用于计算数据的相关性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 乳酸菌发酵对饼干中丙烯酰胺含量的影响

Elena B 等<sup>[12]</sup>在黑麦面包的基质中分别添加了 15% 经干酪乳杆菌、清酒乳杆菌、乳酸片球菌、戊糖片球菌所制备的酸面团，并对面包基质进行二次发酵后，所生产出的黑麦面包中丙烯酰胺含量较未使用酸面团发酵者均有显著下降，说明乳酸菌发酵对降低黑麦面包中丙烯酰胺的含量具有良好的效果。为考察乳酸菌该作用是否只存在于特定的食品中，或是否仅为某些乳酸菌的特性，本研究采用 6 株不同乳酸菌发酵制备饼干，观察其对产品中丙烯酰胺含量的变化影响。

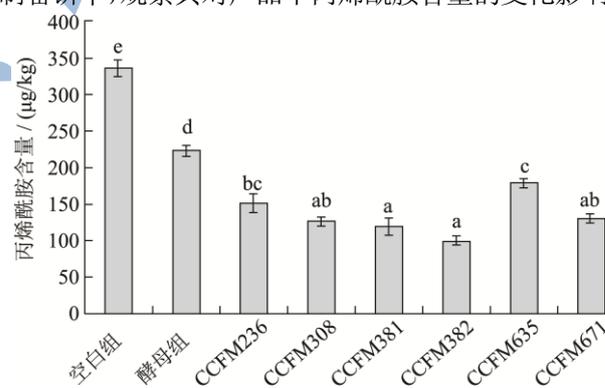


图 1 未发酵及乳酸菌发酵饼干中丙烯酰胺含量  
Fig.1 Acrylamide content in biscuits with or without fermentation by LAB strain

注：不同字母标示的组别间具有显著性差异 (p<0.05)。

结果发现，未经发酵制备的空白组饼干中丙烯酰胺含量为 336.77 μg/kg，酵母发酵饼干组与乳酸菌发酵饼干组与空白相比其丙烯酰胺含量均显著下降。酵母饼干组中的丙烯酰胺含量为 223.10 μg/kg，较之酵母饼干组乳酸菌发酵对饼干中丙烯酰胺含量的降低效果更为显著，其中发酵乳杆菌 CCFM381 及植物乳杆菌 CCFM382 发酵制得的饼干中丙烯酰胺的含量最低，分别为 119.73 μg/kg 和 100.63 μg/kg。丙烯酰胺主

要由天冬酰胺与还原单糖经高温美拉德反应过程中生成。Weining H 等<sup>[13]</sup>发现油条在热加工前经 0.8% 酵母发酵 4 h 后面团中的游离天冬酰胺及还原糖含量都显著减少, 从而有效降低成品中丙烯酰胺的含量; 而还原糖或天冬酰胺也可能作为乳酸菌的代谢底物被利用, 因此我们假设利用乳酸菌通过发酵降低还原糖或天冬酰胺含量, 可减少产品在油炸或加热过程中丙烯酰胺的合成。本研究拟从合成底物入手研究乳酸菌发酵对降低丙烯酰胺的作用机制。

## 2.2 发酵饼干加工过程中丙烯酰胺合成底物的变化

天冬酰胺 (Asn) 是一种谷物天然携带的氨基酸, 它被证实是高温加工淀粉质食品中丙烯酰胺产生的主要来源<sup>[14]</sup>。结果发现, 酵母饼干组面团中 Asn 和还原糖含量在发酵后均有所下降, 这一结果与 Weining H 等<sup>[13]</sup>的结论是相似的。然而, 与 Fredriksson 等<sup>[8]</sup>的报道相同, 6 株不同乳酸菌发酵的面团内部所含 Asn 含量显著提高, 其中以乳酸乳球菌亚种 CCFM635 最为显著, 约为空白对照组面团的 2 倍。而且, 乳酸菌发酵制得饼干中 Asn 损失量相较空白对照组也存在显著降低的现象, 其中, 发酵乳杆菌 CCFM381 和植物乳杆菌 CCFM382 发酵制得饼干中 Asn 损失量最低, 仅

为 0.12 g/100 g 和 0.09 g/100 g。此外, 研究结果还发现, 乳酸菌发酵可显著提高面团中还原糖的含量, 且经烘烤制得饼干后, 还原糖损失率相较空白对照组降低显著。其中, 植物乳杆菌 CCFM382 还原糖损失率为 3.11 g/kg, 而空白对照组还原糖损失率则为 16.08 g/kg。

上述现象主要可能是由于乳酸菌发酵产酸, 导致面团 pH 降低, 在酸性环境的作用下有效激活了谷物中的内源性蛋白酶, 降解产生大量的游离氨基酸<sup>[15]</sup>, 从而引起 Asn 含量上升。还原糖含量的显著提高, 有可能是因为面粉中的淀粉和蔗糖被面粉天然携带的  $\alpha$ -淀粉酶、 $\beta$ -淀粉酶及酵母中麦芽糖酶转化为麦芽糖或葡萄糖<sup>[16]</sup>, 而乳酸菌与酵母间可能具有拮抗作用<sup>[17]</sup>, 导致乳酸菌发酵面团中酵母利用还原糖的速率低于单一酵母发酵的面团。张国华和张庆也报道了类似的结果<sup>[16, 18]</sup>。然而, 丙烯酰胺合成底物含量的提高, 却没有伴随发生产品中丙烯酰胺含量的升高。从丙烯酰胺的主要合成底物含量的变化可以发现, 乳酸菌发酵降低饼干中丙烯酰胺含量的机制和 2.1 节的假设不符, 与酵母发酵降低食品丙烯酰胺的机理不同, 它可能是通过产生某种物质有效阻止或降低了高温加工过程中美拉德或焦糖化反应程度, 进而达到抑制丙烯酰胺生成的结果。

表 3 面团及饼干中天冬酰胺和还原糖的含量

Table 3 Asparagine reducing sugar content in dough or biscuits

发酵菌株	天冬酰胺含量/(g/100 g)			还原糖含量/(g/kg)		
	面团	饼干	$\Delta$ Asn	面团	饼干	$\Delta$ 还原糖
空白组	0.65 $\pm$ 0.06	0.34 $\pm$ 0.02	0.30 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	28.15 $\pm$ 1.37	11.35 $\pm$ 0.30	16.80 $\pm$ 1.07 <sup>c</sup>
酵母组	0.46 $\pm$ 0.04	0.26 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	24.80 $\pm$ 2.07	18.99 $\pm$ 1.07	5.81 $\pm$ 1.35 <sup>ab</sup>
CCFM236	1.38 $\pm$ 0.03	1.22 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	39.35 $\pm$ 0.78	32.02 $\pm$ 1.44	7.34 $\pm$ 1.00 <sup>ab</sup>
CCFM308	1.27 $\pm$ 0.06	1.11 $\pm$ 0.04	0.17 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	39.08 $\pm$ 1.87	34.41 $\pm$ 0.78	4.67 $\pm$ 2.64 <sup>ab</sup>
CCFM381	1.07 $\pm$ 0.04	0.90 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	41.91 $\pm$ 1.18	34.69 $\pm$ 0.64	7.22 $\pm$ 1.17 <sup>ab</sup>
CCFM382	1.20 $\pm$ 0.05	1.03 $\pm$ 0.03	0.09 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	39.23 $\pm$ 0.96	36.12 $\pm$ 0.61	3.11 $\pm$ 1.13 <sup>a</sup>
CCFM635	1.50 $\pm$ 0.05	1.32 $\pm$ 0.08	0.20 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	48.97 $\pm$ 1.10	40.35 $\pm$ 0.89	8.61 $\pm$ 0.94 <sup>b</sup>
CCFM671	1.30 $\pm$ 0.04	1.13 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	37.20 $\pm$ 1.28	32.18 $\pm$ 0.80	5.02 $\pm$ 1.71 <sup>ab</sup>

注: 不同字母标示的同一列间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

## 2.3 面团 pH 值随乳酸菌发酵时间的变化影响

针对上述现象, 本研究拟从乳酸菌发酵产酸特性本质出发, 观察面团中 pH 值随乳酸菌发酵时间的变化情况。图 2 显示了乳酸菌发酵过程中面团 pH 值的变化。较空白对照组, 所有 6 组经乳酸菌发酵的面团其 pH 值均有显著降低。这主要是面团在发酵过程中, 乳酸菌大量快速增殖, 菌体通过代谢产生乳酸、乙酸

等有机酸从而降低整体面团体系的 pH 值。不同乳酸菌在面团中的生长情况及产酸能力不同, 因此造成不同菌株制备的面团 pH 的差异。其中经 4 h 发酵后面团 pH 值降低最多的是发酵乳杆菌 CCFM381 和植物乳杆菌 CCFM382, 分别从未发酵时的 pH 值 5.56 及 5.53 降低至 4.89 及 4.81。

对比面团 pH 值与终产品中丙烯酰胺含量的结果发现, 面团的 pH 与饼干中丙烯酰胺含量具有对应关

系。相关性分析显示面团 pH 与发酵饼干中丙烯酰胺含量的相关性系数为 0.900 ( $p=0.015$ ), 呈显著正相关, 即 pH 越低的乳酸菌发酵面团所制备的饼干中丙烯酰胺含量越低。这可能是因为食品体系的低 pH 环境阻断了 Asn 与碳水化合物的亲核加成反应, 从而阻止了丙烯酰胺合成时的关键中间物-希夫碱的形成<sup>[19]</sup>。因此, 乳酸菌发酵为面团产生的低 pH 环境可能是其降低饼干成品内丙烯酰胺含量的主要原因, 这一结果与 Ghasemzadeh V 等<sup>[20]</sup>的报道相似。

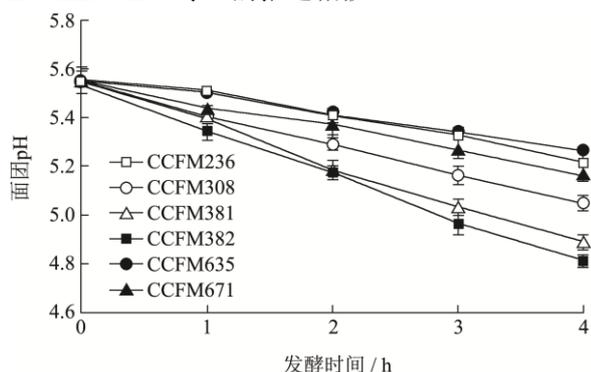


图 2 乳酸菌发酵面团 pH 的变化

Figure 2 pH value profile of dough fermented by LAB strain

#### 2.4 化学酸化对饼干中丙烯酰胺含量的作用

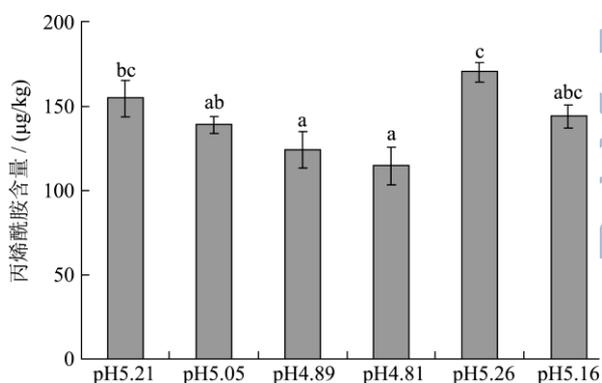


图 3 不同 pH 面团制备的饼干中丙烯酰胺含量

Figure 3 Acrylamide content in biscuits prepared from dough with different pH

注: 不同字母标示的组别间具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

在饼干面团制备时, 利用 0.5 mol/L 乳酸将面团 pH 值分别调节至 6 株乳酸菌发酵 4 h 后对应的面团 pH 值, 即 pH 5.21、5.05、4.89、4.81、5.26 和 5.16, 面团不经发酵并制备饼干。其饼干中丙烯酰胺含量如图 3 所示。与空白组相比, 在添加乳酸的 6 组饼干中, 丙烯酰胺的含量均有所下降, 其中当调至面团 pH 值为 4.81 时的饼干中丙烯酰胺含量最低, 为 114.50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 而当面团 pH 值为 5.26 时其饼干的丙烯酰胺含量为 170.13  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。对比 6 组不同 pH 值面团制备的饼干可以发现, 当面团 pH 值越低时, 其饼干中丙烯酰

胺的含量越低, 相关性分析显示化学酸化面团 pH 与饼干中丙烯酰胺含量的相关性系数为 0.968 ( $p=0.002$ ), 呈显著正相关, 而这一结果与上述乳酸菌发酵饼干中的结论一致。进一步证实了乳酸菌发酵降低饼干中丙烯酰胺含量的原因可能主要是其代谢的有机酸所形成的酸性环境。

### 3 结论

3.1 在饼干焙烤前利用乳酸菌作为发酵剂将面团发酵 4 h, 可以有效的降低饼干成品中丙烯酰胺的含量。经发酵乳杆菌 CCFM381 及植物乳杆菌 CCFM382 发酵的饼干中丙烯酰胺的降低率可分别达到 64.44% 和 70.11%。

3.2 丙烯酰胺的合成底物-天冬酰胺和还原糖均由于乳酸菌的发酵而升高, 因此, 乳酸菌发酵降低饼干中丙烯酰胺的机理并非是将丙烯酰胺的合成底物作为营养物质而利用, 而是通过发酵产生大量的有机酸从而降低面团环境的 pH 值, 使丙烯酰胺在低 pH 值条件下缺乏合成的能力。通过向空白面团内添加乳酸至形成与乳酸菌发酵相同 pH 值的实验验证了这一假设。

#### 参考文献

- [1] G KMEN V, PALAZOĞLU T K. Acrylamide formation in foods during thermal processing with a focus on frying [J]. Food and Bioprocess Technology, 2007, 1 (1): 35-42
- [2] KERAMAT J, LEBAIL A, PROST C, et al. Acrylamide in foods: chemistry and analysis. A review [J]. Food and Bioprocess Technology, 2010, 4 (3): 340-363
- [3] HAASE N U, GROTHE K H, MATTHAUS B, et al. Acrylamide formation and antioxidant level in biscuits related to recipe and baking [J]. Food Additives & Contaminants Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 2012, 29 (8): 1230-1238
- [4] KUMAR N S M, SHIMRAY C A, INDRANI D, et al. Reduction of acrylamide formation in sweet bread with L-asparaginase treatment [J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7 (3): 741-748
- [5] MUTTUCUMARU N, POWERS S J, ELMORE J S, et al. Evidence for the complex relationship between free amino acid and sugar concentrations and acrylamide-forming potential in potato [J]. Annals of Applied Biology, 2014, 164 (2): 286-300
- [6] MESTDAGH F, DE WILDE T, DELPORTE K, et al. Impact of chemical pre-treatments on the acrylamide formation and sensorial quality of potato crisps [J]. Food Chemistry, 2008,

- 106 (3): 914-922
- [7] GALLE S, SCHWAB C, ARENDT E K, et al. Structural and rheological characterisation of heteropolysaccharides produced by lactic acid bacteria in wheat and sorghum sourdough [J]. Food Microbiology, 2011, 28 (3): 547-553
- [8] FREDRIKSSON H, TALLVING J, ROS N J, et al. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread [J]. Cereal Chemistry, 2004, 81 (5): 650-653
- [9] GB/T 5009.204-2005, 食品中丙烯酰胺含量的测定方法气相色谱-质谱(GC-MS)法[S]  
GB/T 5009.204-2005, GC-MS method for determination of acrylamide in food[S]
- [10] GB/T 5009.7-2008, 食品中还原糖的测定[S]  
GB/T 5009.7-2008, Determination of reducing sugar in foods[S]
- [11] GB/T 22427.9-2008, 淀粉及其衍生物酸度测定[S]  
GB/T 22427.9-2008, Starch and derived products - determination of acidity[S]
- [12] BARTKIENE E, JAKOBSONE I, JUODEIKIENE G, et al. Study on the reduction of acrylamide in mixed rye bread by fermentation with bacteriocin-like inhibitory substances producing lactic acid bacteria in combination with *Aspergillus niger* glucoamylase [J]. Food Control, 2013, 30 (1): 35-40
- [13] HUANG W, YU S, ZOU Q, et al. Effects of frying conditions and yeast fermentation on the acrylamide content in you-tiao, a traditional Chinese, fried, twisted dough-roll [J]. Food Research International, 2008, 41 (9): 918-923
- [14] 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 4782-4787
- [15] G NZLE M G, LOPONEN J, GOBBETTI M. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality [J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19 (10): 513-521
- [16] 张国华. 不同地区传统面食发酵剂中菌群结构及优势菌种代谢的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014  
ZHANG Guo-hua. Microbial communities in traditional sourdoughs from different areas of China and metabolic activity of dominant microorganism [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014
- [17] HONORE A H, THORSEN M, SKOV T. Liquid chromatography-mass spectrometry for metabolic footprinting of co-cultures of lactic and propionic acid bacteria [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405 (25): 8151-8170
- [18] 张庆. 植物乳杆菌燕麦面团发酵过程及其面包烘焙特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012  
ZHANG Qing. Studies on the properties of oat sourdough fermented by *Lactobacillus Plantarum* and its breadmaking characteristics [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012
- [19] PEDRESCHIA F, KAACKB K, GRANBYC K, et al. Acrylamide reduction under different pre-treatments in French fries [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79 (4): 1287-1294
- [20] GHASEMZADEH V, ATEFI M, HOMAUNFAR R, et al. Investigation of acrylamide formation and reduction ways of it in specific food products [J]. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 2013, 5: 957-957