

植物乳酸菌 M616 对发酵酸面团发酵特性的影响

王金水, 杨森, 尹艳丽, 张艳杰, 冯景丽, 周晓配

(河南工业大学生物工程学院, 河南郑州 450000)

摘要: 本文研究了在酸面团发酵过程中, 植物乳酸菌 M616 (*Lactobacillus plantarum* M616) 对面团 pH、TTA 以及糖类含量变化的影响, 并利用 F3 流变式发酵仪和吹泡仪对面团发酵力及流变特性的变化进行了研究。结果表明植物乳酸菌 M616 不仅对酵母菌的生长具有一定抑制作用, 而且在面团 pH 和 TTA 的变化过程中起主导作用; 另外, 乳酸菌对淀粉的降解作用大于对还原糖的吸收, 从而使面团中还原糖的含量增加, 增加面团的甜味。在发酵后期, 面团 pH 降低至 3.73, 这在一定程度上抑制了体系中霉菌和其它杂菌的生长。植物乳酸菌的生长代谢不仅显著提高了面团黏度、筋力, 而且减缓了面团在发酵过程中韧性的降低。其中发酵酸面团对面团黏度和筋力影响最大, 发酵过程中酸面团的黏度和筋力可以达到酵母发酵面团的 2 倍。

关键词: 植物乳酸菌; 酸面团; 发酵特性

文章编号: 1673-9078(2015)4-83-87

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.4.014

Effects of *Lactobacillus plantarum* M616 on the Fermentation Characteristics of Sourdough

WANG Jin-shui, YANG Sen, YIN Yan-li, ZHANG Yan-jie, FENG Jing-li, ZHOU Xiao-pe

(School of Biotechnology Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450000, China)

Abstract: In the current work, the effect of sourdough fermentation by *Lactobacillus plantarum* M616 on pH, TTA, and sugar content were analyzed, and the rheofermentation properties of the sourdough were examined using an F3 Rheofermentometer and Chopin Alveograph. The results showed that *L. plantarum* M616 had suppressive effect on the growth of yeast and played an important role in the changes of pH and TTA. In addition, the degradation of starch by *L. plantarum* was higher than its absorption of reduced sugar, increasing the sugar content and sweetness of the resulting sourdough. The pH of sourdough decreased to 3.73 at the end of fermentation, which partly inhibited the growth of mold and other unwanted microorganisms. The growth and metabolism of *L. plantarum* M616 not only improved the dough viscosity and dough thews, but also relieved the decrease in dough tenacity. Among these features, the viscosity and thews were the most affected and increased by two-fold in sourdough compared with yeast-fermented dough.

Key words: *Lactobacillus plantarum*; sourdough; fermentation characteristic

酸面团发酵是食品烘焙技术中重要的工艺方法, 将面粉通过酸面团发酵生产出营养价值高, 美味可口的面制品是一种古老的工艺手段。以往研究发现, 乳酸菌和酵母菌可以共存于面团之中, 而且是酸面团发酵过程中对面团营养价值和风味的提高起主导作用的微生物, 其中面团中的乳酸菌种类大于 23 种, 酵母菌也有 20 种之多^[1]。通过乳酸菌和酵母菌的生长代谢降解面团中的蛋白质、脂类以及糖类等产生肽类、氨基酸、多聚糖、苯乳酸等化合物^[2-3]。酵母菌主要作用于糖类和脂类的降解, 产生二氧化碳和部分醛类, 增加面团的体积, 香味和粘弹性^[4]; 乳酸菌则主要作用于

蛋白质和糖类的降解, 产生大量乳酸、游离氨基酸和小肽, 这些产物通过代谢作用形成许多具有生物活性的功能化合物, 如核黄素, 苯乳酸, 以及部分抗菌类物质^[5-6]。另有研究发现, 酸面团发酵可以通过合成多聚糖(EPS)改变面筋蛋白结构, 进而改善面团的流变学特性^[7]。总之, 酸面团发酵可以提升面制品营养价值, 增加面制品风味, 提高抗菌性, 改善面团流变学特性, 延长保质期。酸面团的发酵特性对制备酸面团及最终面制发酵食品的品质有直接的影响, 所以深入系统的研究酸面团的发酵特性对于指导酸面团的生产及研究控制机理有着重要的意义。

本论文主要通过对三种面团发酵过程中的微生物生长, pH, TTA, 糖类代谢以及相应的发酵力和流变学特性的变化进行研究对比, 探究植物乳酸菌 M616 在发酵酸面团过程中对面团各特性的影响以及

收稿日期: 2014-10-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071496); 郑州市科技创新团队项目(121PCXTD518)

作者简介: 王金水(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术

之间的相互关系,为酸面团的工业化标准生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

Thermo2877水浴摇床,美国热电科技公司;SW-CJ-2FD洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;IXFD7醒发箱,北京东孚久恒仪器技术有限公司;Pico 17/21微量离心机,美国热电科技公司;F3流变发酵仪,法国肖邦(CHOPIN)公司;吹泡仪,法国肖邦(CHOPIN)公司。

1.2 材料与试剂

面粉,金苑精制粉;酵母,安琪高活性干酵母,湖北安琪酵母股份有限公司;乳酸菌,植物乳酸菌 M616,老酵头中提取鉴定得来。

1.3 方法

1.3.1 乳酸菌的活化及酸面团的制备

在无菌条件下取植物乳酸菌 M616 于液体培养基 37 °C 培养 16 h,再以 2% 的接种量转接到 75 mL 的 MRS 液体培养基中,37 °C 培养 8 h 后取 50 mL 培养基 3000×g 离心洗涤两次备用(此时菌体密度 9.0 log cfu/mL)。称取 5.5 g 酵母与以上乳酸菌混合制成 250 g 菌液并与 500 g 面粉混合成酸面团。其中植物乳酸菌的加入量为 8.0 log cfu/g 面粉^[8];用 250 g 含有 5.5 g 酵母的水与 500 g 面粉混合制备酵母发酵面团;取 500 g 面粉与 250 g 乳酸菌菌悬液混合制备乳酸菌面团(乳酸菌含量为 8.0 log cfu/g)。混匀后切块放入醒发箱 30 °C 发酵,每隔两小时取样放入冰箱冷冻 12 h 后进行冷冻干燥,磨粉备用。

1.3.2 发酵面团中细菌的生长

用电子天平称取三种发酵样品各 1 g 加入 9 mL 的无菌水,用涡旋振荡仪混合 2 min,混匀后用无菌水在无菌台中梯度稀释,并取 10⁵、10⁶、10⁷ 稀释液各 100 μL 涂布于 MRS 培养基和麦芽汁琼脂培养基,分别置于 30 °C 和 28 °C 的恒温培养箱中培养,每个梯度做两个平行^[9-10]。36 h 后进行微生物计数。

1.3.3 pH 值、总酸度(TTA)的测定

根据 AACC 方法,分别称取上述酸面团 10 g 于三角瓶中并加入 90 mL 蒸馏水,用磁力搅拌器搅拌 30 min,待面粉充分溶解后用 pH 计测定 pH 值;之后,用 0.1 mol/L NaOH 标准溶液调 pH 至 8.5,所消耗的 0.1 mol/L NaOH 标准溶液的毫升数即为总酸度^[11]。

1.3.4 面团中总糖,还原糖及糖化力的测定^[12]

1.3.5 发酵过程面团发酵力的测定

利用 F3 流变发酵仪将搅打形成的面团放入 F3 发酵篮中,按照操作规程进行测定。测定条件为面团质量 250 g,测定温度 28.5 °C,时间 6 h,砝码质量 2000 g。

1.3.6 发酵过程中面团吹泡特性的测定

采用吹泡仪测定,取搅打形成的面团放入吹泡仪的发酵室内,每隔 30 min 取样测定吹泡特性。

1.3.7 数据分析

文章中的数据都是经过三次平行实验计算得出的平均值,并使用 origin 8.5.1 进行数据分析处理。

2 结果与讨论

2.1 发酵过程菌落密度的变化

起初,酸面团和酵母发酵面团中酵母菌的接种量均为 6.0 log cfu/g,乳酸菌的接种量为 8.0 log cfu/g。面团发酵前期,乳酸菌经历了 2 h~3 h 的延滞期后进入对数生长期,而酵母菌经过短暂的延滞期后进入对数期。如图 1 所示,与酸面团相比,酵母菌发酵面团的酵母菌繁殖速度相对较快;在稳定期,酵母发酵面团的酵母菌菌密度达到 8.82 log cfu/g,远远大于酸面团的 7.91 log cfu/g。乳酸菌在酸面团和乳酸菌发酵面团中的生长也有明显差异;乳酸菌在酸面团发酵中不仅有较长的延滞期,而且生长速率也相对较低,但有一个较长的对数生长期;在稳定期,酸面团发酵的乳酸菌数量相对较低。

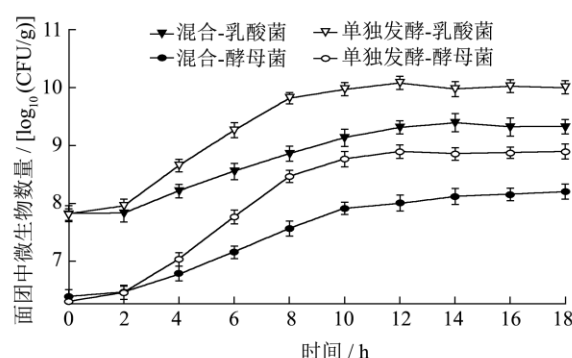


图 1 面团发酵过程中微生物生长趋势

Fig.1 Growth curves of microorganisms during dough fermentation

分析表明在酸面团发酵面团中,酵母菌和乳酸菌具有一定的相互抑制作用。可能是由于乳酸菌的繁殖代谢产生大量乳酸降低了环境的 pH,从而在一定程度上抑制酵母菌生长;酵母菌的生长消耗大量还原糖,乳酸菌因营养物质缺乏而生长缓慢。另外,在发酵初

期酵母菌起主导作用促进面团的醒发,之后乳酸菌代谢产酸和风味物质增加面团风味和抗菌性。

2.2 pH值和TTA的变化

在酸面团发酵过程中乳酸菌的生长可以降低面团pH,增加面团总酸度。如图2所示,随着发酵的进行,三种发酵面团的pH和TTA具有显著区别,酵母发酵面团的pH和TTA变化微小,酸面团和乳酸菌发酵面团的pH和TTA变化明显。发酵初期各面团的pH均为6.0;2h后,酸面团和乳酸菌发酵面团的pH急剧降低,7h时变化渐缓,10h时达到稳定;相比之下,酵母发酵面团虽然pH也处于降低趋势,但变化缓慢,在18h时达到最低值5.25;除此之外,酸面团和乳酸菌发酵面团的pH变化趋势相似,但乳酸菌发酵面团的pH始终低于酸面团发酵。如图2,TTA的变化基本和pH的变化趋势相吻合,与酸面团相比,酵母发酵面团的TTA虽然变化幅度小,但持续时间相对较长;与酵母发酵面团相比,酸面团发酵和乳酸菌发酵的TTA变化明显。

显而易见,酸面团发酵过程中乳酸菌对面团酸化起重要作用,因为乳酸菌合成乳酸使面团保持较高的酸度,这不仅可以一定程度上抑制杂菌的生长,而且可以促进面团的酸溶化合物的溶解;酵母发酵过程中pH虽然减小幅度不大,但持续时间较长,这可能是因为酵母菌的持续发酵产生CO₂导致酸度稍有增加。

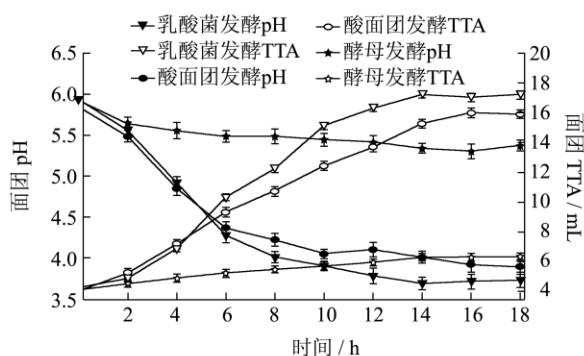


图2 面团发酵过程中pH值和TTA值的变化

Fig.2 Changes in pH and TTA during dough fermentation

2.3 总糖、还原糖及糖化力的变化

糖是酵母菌和乳酸菌生长过程中重要的营养物质,也是面制品主要甜味剂。如图3,通过对三种发酵面团含糖量的测定比较,发现酸面团发酵,乳酸菌发酵和酵母菌发酵过程中面团总糖含量分别从85%降低至72.03%、74.93%和75.66%,皆呈现降低趋势。相反,还原糖含量却呈现明显差异。酸面团发酵和酵

母发酵面团中还原糖含量一直保持在较低水平。而乳酸菌发酵面团中还原糖却持续增加且在16h时达到3.9%,是酸面团发酵和酵母发酵的4倍。在0~2h,酸面团发酵和酵母发酵的还原糖含量迅速降低至0.9%,并在2~16h内保持在0.9%左右不变。

分析可知,乳酸菌和酵母菌对面粉多糖都有一定的降解作用,酸面团发酵对多糖的消耗强于单独发酵面团。对还原糖的分析可知乳酸菌对多糖的降解作用大于对还原糖的消耗,从而使面团中的还原糖累积,而酵母菌对还原糖的消耗远大于对多糖的降解作用。面团中总糖和还原糖的变化表明,乳酸菌发酵酸面团可以增加面团中还原糖的含量,在混合发酵面团中乳酸菌可以为酵母菌的生长提供还原糖。

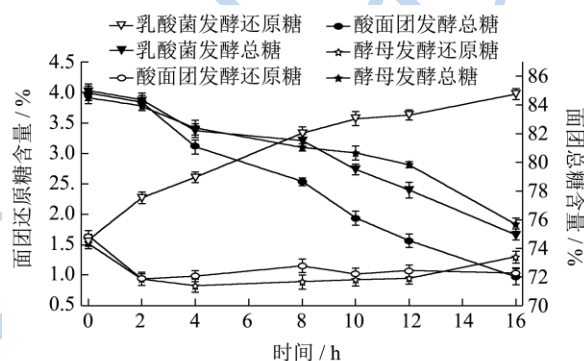


图3 面团发酵过程总糖的降解作用和还原糖的变化

Fig.3 Degradation of total sugars and changes in reduced sugars during dough fermentation

2.4 糖化力的变化

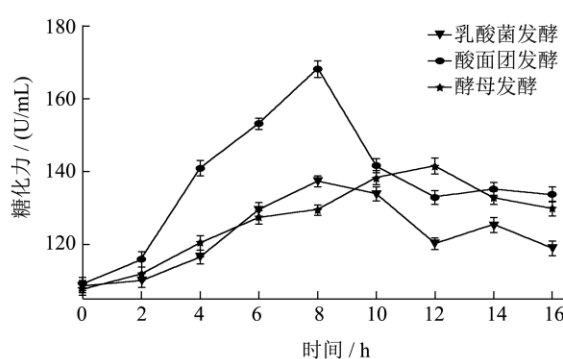


图4 发酵过程中糖化酶活力的变化

Fig.4 Changes in saccharifying enzyme activity during fermentation

为了进一步研究三种发酵方式对糖类的降解作用,实验测定了发酵过程中三种面团的糖化酶活力。如图4所示,随着发酵的进行三种发酵面团的糖化酶活力皆呈现先增加后减小趋势。酸面团发酵的糖化酶活力增加较快,在8h达到最大168.17 U/mL。而酵母菌发酵和乳酸菌发酵面团糖化酶活力增加缓慢,分别

在 8 h 和 12 h 达到最大 141.5 U/mL 和 137.21 U/mL。乳酸菌的糖化酶活力在 12~16 h 达到稳定。结合图 2 分析表明,糖化力的变化趋势和总糖含量变化趋势相耦合,糖化力的增加可以提高糖类的利用率,促进酵母菌和乳酸菌生长,提高面制食品口感以及色泽。

2.5 酸面团发酵对面团发酵特性的影响

利用F3流式发酵仪对三种面团的发酵特性进行测定。结果包括Hm(面团的最高高度)、H'm(气体释放曲线的最大高度)、h(实验结束时面团的高度)、T₁(达到气体释放曲线最大高度的时间)、(Hm-h)/Hm(在一定程度上带便面团的稳定性)、V_总(释放气体的总体积)、R(保留系数)等如表1、图5所示。

表 1 F3 流变式发酵仪的分析结果

指标	酸面团发酵	酵母菌发酵	乳酸菌发酵
Hm	33.0 mm	36.3 mm	3.5 mm
H'm	61.6 mm	70.9 mm	-
h	26.2 mm	16.4 mm	3.5 mm
T ₁	2:54:00	1:25:30	-
(Hm-h)/Hm	20.6%	54.8%	-
V _总	1875 mL	2001 mL	-
R	67.8%	64.1%	-

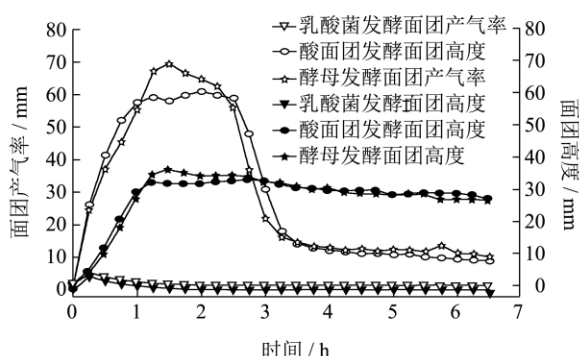


图 5 面团发酵过程产气率和面团高度的变化

Fig.5 Changes in gas yield and height of dough during dough fermentation

表1中,与酵母发酵面团相比,酸面团的Hm, H'm以及V_总呈现降低趋势这表明酵母菌发酵面团的产气性能优于酸面团发酵,即乳酸菌的生长在一定程度上降低了酵母菌在面团醒发时的产气性。然而,从h和(Hm-h)/Hm可以看出,酸面团发酵的稳定性却远高于酵母发酵,说明乳酸菌的生长改变了面团的流变特性,提高了面团的结构强度。乳酸菌发酵面团无发酵力特性,不再进一步研究。

图5中的气体产生曲线及面团高度曲线明显可以看出,酵母发酵的产气率在1.25 h达到最大后迅速下

降,相反酸面团的产气率在达到最大后保持稳定。另外,图5中酵母发酵面团高度在达到最大后就开始缓慢降低,而酸面团却保持稳定。

2.6 酸面团发酵对面团粘弹性及筋力的影响

为了进一步研究酸面团发酵对面团流变特性的影响,利用肖邦吹泡仪对发酵不同时间的三种面团特性进行测定,其中P相当于面团的韧性、L相当于面团的粘性、W相当于面团的筋力。结果如表2,首先,与酵母发酵面团相比,随着发酵时间的延长三种面团的韧性均呈现下降趋势,酵母发酵面团的下降速度大于酸面团和乳酸菌发酵面团,表明乳酸菌的代谢可以缓解发酵过程对面团韧度的影响。其次,面团的黏度在发酵前1 h表现出先增加后减少的趋势,之后变化趋缓,但酵母菌的黏度远小于酸面团发酵,表明乳酸菌可以提高面团的黏度,可能是由于乳酸菌代谢分解多糖产生单糖和水,进而提高面团的黏度。另外,随着发酵时间的延长,三种发酵面团的筋力都呈现先增加后减少的趋势。酸面团发酵的筋力增幅最大,乳酸菌发酵面团次之,酵母发酵面团最低,表明乳酸菌的代谢对面团筋力的增加具有重要的促进作用。

表 2 吹泡仪分析结果

时间/h	0.25	0.5	1	1.5	2	2.5
P 酸面团	131	114	115	99	95	81
P 酵母	135	99	93	83	73	70
P 乳酸	138	121	109	104	90	87
L 酸面团	47	67	70	41	34	36
L 酵母	35	42	30	41	40	35
L 乳酸	41	61	51	46	40	41
W 酸面团	167	313	279	160	156	115
W 酵母	147	163	117	141	110	159
W 乳酸	159	298	268	196	171	143

3 结论

3.1 酸面团发酵过程中,乳酸菌生长代谢不仅产生大量乳酸降低环境的pH,增加面团的总酸度,而且会降解糖类提高面团中还原糖含量。乳酸菌对酵母菌的抑制作用,这可能是由于乳酸菌产生的酸性环境不利于酵母菌的生长。酵母菌也会影响乳酸菌的生长速率,可能是由于酵母菌生长消耗大量还原糖从而导致乳酸菌生长所需的营养匮乏。

3.2 对酸面团发酵特性和流变特性的研究表明,对酵母菌的抑制作用造成酸面团发酵的产气量稍低于酵母菌发酵,但其中乳酸菌的代谢可以增加面团的稳定性。

进一步研究表明, 酸面团发酵过程中, 乳酸菌的生长可以很大程度上缓解面团韧性的降低, 并且可以大大提高面团的筋力。

参考文献

- [1] Vogel R F, Ehrmann M A, Gänzle M G. Development and potential of starter lactobacilli resulting from exploration of the sourdough ecosystem [M]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, 81: 631-38
- [2] Michael G Gänzle, Neline V. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough [J]. *Food Microbiology*, 2007, 24: 128-138
- [3] Van Hijum S A F T, Kralj S, Ozimek L K, et al. Structure function relationships of glucanase and fructanase enzymes from lactic acid bacteria [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2006, 70: 157-176
- [4] 刘长虹,董彩文.发酵工艺与馒头质量[J].粮食与饲料工业, 1999,2:40-43
LIU Chang-hong, DONG Cai-wen. Fermentation technology and quality of steamed bread [J]. *Feed Industry Magazine*, 1999, 2: 40-43
- [5] Noelia R P, Laura V A, Noelia P R, et al. Cell-free supernatants obtained from fermentation of cheese whey hydrolyzates and phenylpyruvic acid by *Lactobacillus plantarum* as a source of antimicrobial compounds, bacteriocins, and natural aromas [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 171: 1042-1060
- [6] Pasquale R, Vittorio C, Mattia P A, et al. Riboflavin-overproducing strains of *Lactobacillus fermentum* for riboflavin-enriched bread [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98: 3691-3700
- [7] Decock P, Capelle S. Bread technology and sourdough technology [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2005, 16: 113-120
- [8] Andrea M D, Micaela P, Graciela F D V. Fermentation of quinoa and wheat slurries by *Lactobacillus plantarum* CRL778: proteolytic activity [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97: 3129-3140
- [9] Gul H, Ozcelik S, Sagdic O, et al. Sourdough bread production with *Lactobacilli* and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs [J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40: 691-697
- [10] Rehman S U, Paterson A, Piggott J R. Flavour in sourdough breads: a review [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2006, 17: 557-566
- [11] Paramithionis S, Gioulatos S, Tsakalidou E, et al. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough [J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41: 2429-2433
- [12] 赵谋明,赵强忠,王才华,等.1乳化剂的HLB值对搅打稀奶油搅打性能的机理研究[J].食品与生物技术学报,2005,24(6): 10-14
ZHAO Mou-ming, ZHAO Qiang-zhong, WANG Cai-hua, et al. Effects of HLB value of emulsifiers on the whipping properties of the whipping cream and its mechanism [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005, 24(6): 10-14