

文章编号: 1673-1689(2011)02-0213-05

复配大豆磷脂和蔗糖酯对面包酵母冷冻保护作用

徐云峰^{1,2}, 杨娜², 金征宇^{1,2}, 谢正军², 徐学明^{*1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 以质量比为 2:1 的大豆磷脂和蔗糖酯复配处理面包酵母, 研究了其对酵母抗冻性的影响。结果表明, 与未添加乳化剂组相比, 酵母在 -30 °C 含复配乳化剂质量分数为 4 g/dL 的 YPD 培养液中冷冻贮藏 5 d, 解冻并于 30 °C 平板培养 48 h, 存活率提高了 60%, 酵母生长适应期缩短了 10 h 左右。将乳化剂处理酵母应用于冷冻面团体系, 面团经 -30 °C 冷冻贮藏 60 d 后醒发时间缩短, 醒发体积增大。扫描电镜观察表明酵母与乳化剂呈聚集状, 存在一定的交互作用。

关键词: 乳化剂; 酵母; 醒发能力; 抗冻性

中图分类号: TS 202.3

文献标识码: A

Cryoprotective Role of Combined Emulsifiers with Soybean Lecithin and Sucrose Ester on Baker's Yeast

XU Yunfeng^{1,2}, YANG Na², JIN Zhengyu^{1,2}, XIE Zhengjun², XU Xueming^{*1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The cryoprotective role of emulsifiers combined with two molar soybean lecithin and one molar sucrose ester on baker's yeast was examined in this study. The results showed that the survival ratio of yeast cultivated for 48 hours after frozen at -30 °C for 5 days in a culture medium with 4 g/dL combined emulsifiers increased by 60% compared with that of the control group, and the adaptive phase shorten by 10 hours. The dough made from yeast dealt with emulsifiers after frozen at -30 °C for 60 days had a relatively stronger ability to leaven within a short time. The phenomenon of yeast congregated with emulsifiers, which was imaged by scanning electron microscope (SEM), indicated that there might be some interaction effects between the two substances.

Key words: food emulsifier, baker's yeast, leavening ability, antifrozen

大豆磷脂是存在于大豆中的各种磷酸甘油酯 及其衍生物的总称, 由于其特殊的化学结构而具有

收稿日期: 2010-05-01

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划项目(2007BAQ00075); 教育部新世纪优秀人才计划项目(NCET-07-0379)。

* 通信作者: 徐学明(1968-), 男, 江苏苏州人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品组分与物性方面的研究。Email: xmxu@jiangnan.edu.cn

乳化、软化、润湿、分散、渗透、增溶、消泡及抗氧化等作用,因此被广泛应用于医药、食品、化妆品、饲料、纺织、制革以及其他行业^[1]。蔗糖酯是蔗糖羟基与有机酸的羧基缩合而成的一类有机化合物的总称,由于缩合取代度和羧酸种类以及混合比例的影响使蔗糖酯具有不同的结构和特性^[2],如降低界面张力;乳化;润湿;渗透;分散;悬浮;增溶;润滑;粘度调节;发泡或消泡;结晶过程调节;与淀粉形成复合物(防止淀粉老化);防止蛋白质(冷或热)变性等,广泛应用在日用化学品、化妆品、制药、食品、纺织、塑料及农业等行业中。蔗糖酯用在焙烤食品中可增大面团韧性和体积,使气孔细密、均匀、质地柔软,用于冷冻面团中可以防止淀粉及蛋白质的变性,抑制冰晶粗大,保护面筋网状结构,改善冷冻面团品质^[3]。

近年来,烘焙行业用冷冻面团来制作面包已经越来越普遍。与传统面包制作方式相比,冷冻面团具有生产规模化,使用方便化,质量稳定化等优点,但也存在面团醒发时间长,面包体积小,质构差等缺点^[4]。冷冻面团品质劣变主要由两方面的原因引起。一是冷冻过程中温度变化使面筋网络结构受损^[5-6]。这种破坏作用归因于面团水分发生重结晶和迁移,以及酵母细胞破损引起的酵母内含物特别是还原物质的释放。针对此问题,目前主要的解决办法是添加面筋强化剂,通常使用的是亲水胶体和乳化剂^[7-8]。另一原因是冷冻导致面团中酵母存活率减小,活力下降,产气能力降低^[9-10]。针对该问题,目前可采用的解决方法主要有3个,方法一是添加比较多的酵母,尽量减少加工时间和降低加工过程的温度^[11-12]。方法二是利用基因工程和生物技术手段开发抗冻的酵母菌种,但是改良菌种周期长,投入大。方法三是使用冷冻保护剂。冷冻保护剂具有成本低,可规模使用等特点。目前研究的主要有海藻糖^[13],聚谷氨酸^[14],大豆缩氨酸^[15]等。

作者使用更加常用的大豆磷脂和蔗糖酯复配乳化剂来处理面包酵母,研究了复配乳化剂对酵母冷冻后的存活率和生长速度的影响,考察了乳化剂在冷冻面团中对酵母的保护作用,并通过电镜探讨了乳化剂减少酵母低温损伤的原因。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

高筋面粉:中粮面业鹏泰股份有限公司,面筋质量分数13.5%,水分质量分数13.6%,灰分质量分数0.45%;起酥油,面包改良剂,食用盐,白砂糖,

奶粉,梅山牌酵母:江南大学烘焙技术中心提供;酵母浸出膏,大豆蛋白胨,葡萄糖:中国国药集团上海化学试剂有限公司;大豆粉末磷脂:北京美亚斯磷脂技术有限公司;蔗糖脂肪酸酯(HLB值13):上海武马食品科技有限公司。

1.2 仪器与设备

FA2004型电子天平:上海衡平仪器仪表厂;小型面团搅拌机:Model sk5ss.st. 美国;数显鼓风干燥箱 GZX-9540 MBE:上海博迅实业有限公司医疗设备厂;台式高速离心机 TDL 16G,上海安亭科学仪器厂;多功能搅拌机:广州威事万有限公司;低温冷冻冰箱:日本三洋公司;HHBII 电热恒温箱:上海跃进医疗器械一厂;电子显微镜 SX-40 型:日本明石公司;PQX 型多段可编程人工气候箱:宁波东南仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 乳化剂的复配 以质量比为2:1的大豆磷脂和蔗糖酯配制成质量分数为2%、3%、5%、8%的溶液,30℃匀质10 min,即得酵母处理液,4℃冰箱保存备用。

1.3.2 酵母冷冻后的存活率及生长速率的测定 取干酵母悬浮于 YPD 液体培养基中(酵母膏 1 g/dL,蛋白胨 2 g/dL,葡萄糖 2 g/dL),使酵母浓度达到 660 nm^[16] 处吸光度为 0.2,以未添加乳化剂的作为对照组,培养基中乳化剂质量分数为 4% 的作为实验组。取其中一部分酵母悬液于 -30℃ 冷冻贮藏 5 d,20℃ 解冻 30 min,30℃ 解冻 30 min。取适量解冻后的酵母悬液,涂于含有 2 g/dL 琼脂的固体 YPD 平板上,30℃ 培养 48 h,每隔 12 h 计算酵母菌落数目并观察菌落大小,结合另一部分未经过冷冻的酵母悬液的菌数,计算冷冻后的存活率。

酵母冷冻后生长曲线的绘制。具体步骤如下:充分摇匀冷冻后的酵母悬液,从中取 0.5 mL,接种于含有 100 mL YPD 液体培养基的 250 mL 摇瓶中,于 30℃ 摇床(转速 220 r/min)培养,每隔 2 h 取菌样 1 mL,在波长 560 nm^[17] 处测吸光度,以吸光度 A 对时间 t 作图绘制生长曲线。

1.3.3 乳化剂处理酵母细胞及制作冷冻面团

1) 酵母处理:分别使用 2%、3%、5%、8% 的酵母处理液处理酵母,使酵母质量分数为 3%,在 20℃ 下搅拌 10 h,其中使用 3% 乳化剂处理的酵母液于 3 000 r/min 离心 10 min 得到抗冻酵母,使用此抗冻酵母以及未离心的不同质量分数乳化剂的酵母处理液制作冷冻面团。

2) 冷冻面团的制作:面团配方为高筋面粉

100, 白砂糖 18, 奶粉 4, 食盐 1, 改良剂 0.6, 不同处理的酵母 1.2 (绝对量), 起酥油 8, 水 50~53。首先将所有干配料放入搅面机中搅拌均匀, 将不同处理的酵母加入搅面机, 然后加入剩下的水, 慢速搅打至面筋吸水(无干面粉存在), 加入起酥油快速搅打约 15 min 至面筋形成(面团可以拉成薄膜)。将面团分割, 称重 100 g/个, 罩上保鲜膜松弛 30 min 后放于 30 °C 人工气候箱中预醒发 1 h, 随后置于 -30 °C 低温冰箱冷冻, 并于此条件下冷藏。

3) 冷冻面团的醒发: 将不同处理的酵母制作的面团在冷冻贮藏一定时间后取出解冻。20 °C 解冻 30 min, 30 °C 解冻 30 min。将解冻后的面团放于人工气候箱中发酵, 发酵温度 30 °C, 湿度 85%, 用量筒法测量^[18]面团的醒发体积。

1.3.4 乳化剂与酵母相互作用的微观结构 取 1.3.2 中解冻后的酵母悬液, 3 000 r/min 离心得到酵母。将酵母双固定制样, 用扫描电镜观察样品的微观结构。取上述酵母细胞用戊二醛(1:30)固定 2 h, 然后依次放入体积分数为 25%, 50%, 75%, 80% 的丙酮中, 每个浓度脱水 20 min, 最后放入 100% 的丙酮中脱水 20 min。完全脱水后取样品在 CO₂ 中临界点干燥 2 h, 随后样品喷金 4 min, 于 6 kV 加速电压下上镜观察。

2 结果与讨论

2.1 乳化剂对酵母冷冻后的存活率和生长速率的影响

2.1.1 乳化剂对酵母存活率的影响 由实验结果发现, 冷冻以后培养液中含有乳化剂的酵母存活率与空白组相比, 由 50% 升高到 80%, 相对提高了 60%。同时发现, 添加过乳化剂的酵母相对空白组菌落比较大, 酵母解冻后生长得比较快。而且添加过乳化剂的平板菌落差异比较大, 这种差异可能同乳化剂与酵母作用的均匀性有关。

2.1.2 酵母冷冻后的生长曲线 酵母冷冻贮藏后的生长曲线见图 1。

可以看出, 培养基中添加乳化剂的酵母冻藏后生长的延迟期比较短, 只需经过 6 h 左右就可以到达对数生长期, 而没有添加乳化剂的酵母冷冻后生长非常慢, 延迟期长达 16 h, 说明低温对其影响更大, 这与平板观察酵母的生长情况是一致的。这种冷冻保存的效果对于工业上低温保存发酵种子而言意义重大, 它既能提高菌种的存活率, 又能显著缩短发酵生产周期, 提高生产效率。

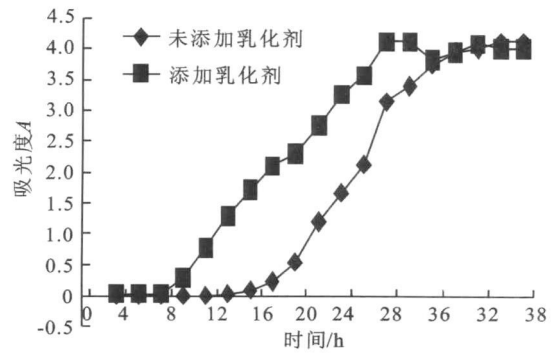
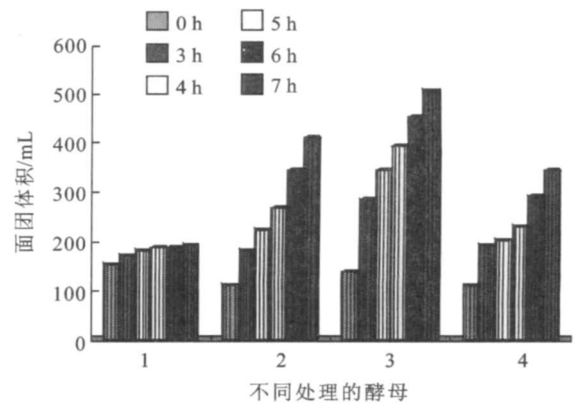


图 1 酵母冷冻后的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of yeast after frozen

2.2 冷冻面团的醒发

2.2.1 复配乳化剂对面团冷冻贮藏后醒发能力的影响 使用酵母处理液以及抗冻酵母制做的面团于 -30 °C 冷冻贮藏 60 d 后醒发体积的变化见图 2。



1 空白 2 使用 2% 乳化剂酵母处理液 3 使用 3% 乳化剂酵母处理液 4 使用 3% 乳化剂处理得到的抗冻酵母

图 2 不同处理的酵母在冷冻面团中的产气情况

Fig. 2 Gas production of yeast with different treatments in frozen dough

从图 2 可以看出, 随着醒发时间的增加, 空白组的面团醒发体积增加很少, 而使用处理液及抗冻酵母制作的面团醒发体积有明显的增加, 而且处理液中乳化剂浓度越大, 面团醒发能力越强。使用抗冻酵母所制作的冷冻面团(4 组)醒发能力与处理液制作的面团(2, 3 组)相比出现下降趋势, 其原因可能有两方面: 一是酵母经过离心后减少了与乳化剂相互作用的机会。二是处理液中乳化剂除了对酵母有保护作用外, 同时也会增强面团的筋力, 减少冷冻对于面筋造成的损伤, 降低可冻结水分的比例, 增加面筋的持气性^[19]。

2.2.2 乳化剂浓度及冻藏时间对面团醒发能力的影响 分别使用空白、2%、3%、5%、8% 的乳化剂处理酵母, 并用处理液制作面团。-30 °C 条件贮存

7、30、60、100 d 后取样品解冻并醒发, 记录 30 °C 醒发 5 h 后面团的体积, 结果见图 3。

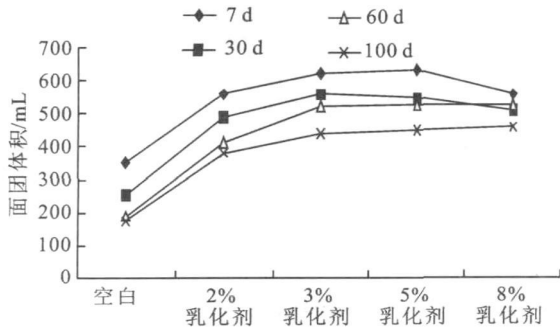


图 3 乳化剂质量分数及冻藏时间对面团醒发能力的影响

Fig. 3 Effect of different emulsifier concentration and frozen period on yeast's leavening ability

图 3 数据表明, 使用质量分数为 2%、3%、5% 和 8% 的乳化剂酵母处理液制作的面团, 冷冻贮藏一定时间后的醒发能力大于直接使用酵母制作的面团。随着冷冻贮藏时间的延长, 所有面团的醒发能力都在下降, 但是使用乳化剂处理液制作的面团经过 7、30、60、100 d 的冷冻贮藏后仍有比较强的醒发能力。而空白组面团冷冻后醒发能力下降得很快, 60 d 时已经基本上丧失了制作面包所需的醒发能力。从曲线观察, 质量分数 3% 的乳化剂效果比较好, 提高乳化剂用量意义不大, 而且使用高质量分数的乳化剂在短时间的贮藏(7 d 和 30 d)不利于面团的醒发, 长时间的贮藏(60 d 和 100 d)有利于面团的醒发。原因归结于乳化剂对面筋的强化作用^[20], 短时间贮藏, 面筋结构损伤小, 较多的乳化剂使面筋结构过强导致面团不易醒发; 长时间贮藏, 面筋结构损伤大, 面团持气能力下降, 乳化剂的使用则可以抵消冰晶对面筋结构造成的损伤, 增加面团的持气能力。

2.3 酵母微观形态

使用扫描电镜观察酵母与乳化剂相互作用的微观结构见图 4~ 图 5。

从图 4 可以观察到表面吸附了部分培养基残渣的单个酵母细胞。图 5 中可以发现, 乳化剂与酵母细胞聚集在了一起。这种经高速离心收集所得酵母的电镜图片表明了乳化剂与酵母之间存在某种相互作用, 否则离心更有利于乳液中乳化剂同酵母的分离。这种作用可能会使得复合乳化剂中流动性好而且具有疏水性的磷脂在一定程度上减少酵母细胞内热量散失, 造成细胞周围的疏水环境, 减少环境中的冰晶对于酵母细胞壁的损伤。但是发现这种结合作用并不均匀, 故如何在适于酵母生

长的条件下使得乳化剂与酵母发生更好的结合也就值得深入研究。

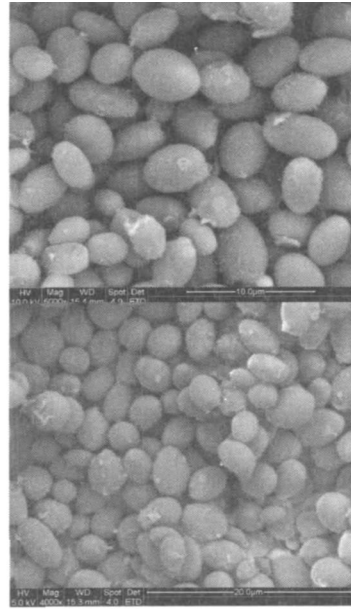


图 4 未添加乳化剂冷冻后的酵母细胞

Fig. 4 Microcosmic configuration of yeast without emulsifier after frozen

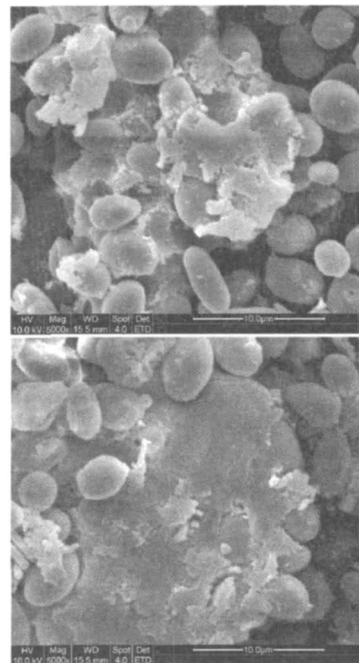


图 5 添加乳化剂冷冻后的酵母细胞

Fig. 5 Microcosmic configuration of yeast with emulsifier after frozen

3 结 语

一定比例复配的大豆磷脂与蔗糖酯处理酵母可有效提高面包酵母冷冻后的存活率和生长速率; 将以这种方法制备的抗冻酵母制作冷冻面团, 可显

著改善面团的醒发能力和持气性,有利于提高冷冻 面团的品质。

参考文献(References):

- [1] 刘小杰,袁长贵.大豆磷脂的研究进展[J].中国食品添加剂,2001,4:15- 19.
LIU Xiao jie, YUAN Chang gui. Research progress of soybean phosphatide[J]. **China Food Additives**, 2001, 4: 15- 19. (in Chinese).
- [2] 刘小杰.蔗糖酯的合成工艺及其应用研究[J].食品与发酵工业,2001,27(11):64- 69.
LIU Xiao jie. The synthetic technics and applied research of sucrose ester[J]. **Food Fermentation Indust**, 2001, 27(11): 64 - 69. (in Chinese).
- [3] Anne Sophie Muller, Juliette Gagnaire, Yves Queneau. Winsor behaviour of sucrose fatty acid esters: choice of the cosurfactant and effect of the surfactant composition[J]. **Physicochemical and Engineering Aspects**, 2002, 203: 55- 66.
- [4] Kenny S, Wehrle K, Dennehy T. Correlations between empirical and fundamental rheology measurements and baking performance of frozen bread dough[J]. **Cereal Chemistry**, 1999, 76(3) : 421- 425.
- [5] Bache I C, Donald A M. The structure of the gluten network in dough: a study using environmental scanning electron microscopy[J]. **Journal of Cereal Science**, 1998, 28: 127- 133.
- [6] Rojas J A, Rosell C M, Benedito de Barber C. The baking process of wheat rolls followed by cryoscanning electron microscopy[J]. **European Food Research Technology**, 2000, 212: 57- 63.
- [7] 王海鸥.面包酵母中谷胱甘肽对面团流变性质的影响[J].无锡轻工大学学报,1999,18(3):29- 32.
WANG Hai ou. The effect of glutathione in baker's yeast s on rheological properties of dough[J]. **Journal of Wuxi University of Light Industry**, 1999, 18(3): 29- 32. (in Chinese).
- [8] Rosell C, Rojas J, Benedito. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality[J]. **Food Hydrocolloids**, 2001, 15: 75- 81.
- [9] Sidhu J, Singh J, Bawa A. Effect of incorporation of sodium alginate on rheological, gas formation/retention and baking quality of wheat flour[J]. **Journal of Food Science Technology**, 2000, 37: 79- 82.
- [10] Bagueña R, Soriano M D, Martinezanaya M A. Viability and performance of pure yeast strains in frozen wheat dough[J]. **Journal of Food Science**, 1991, 56(6): 1690- 1694.
- [11] El Hady E A, ElSamahy S K, Seibel W. Changes in gas production and retention in non-fermented frozen wheat doughs [J]. **Cereal Chemistry**, 1996, 73(4): 472- 477.
- [12] Bárcenas M E, Rosell C M. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition[J]. **Journal of Food Engineering**, 2006, 72: 92- 99.
- [13] Bárcenas M E, Rosell C M. Different approaches for increasing the shelf life of partially baked bread: low temperatures and hydrocolloid addition[J]. **Food Chemistry**, 2007, 100: 1594- 1601.
- [14] Virginia Giannou, Constantina Tzia. Cryoprotective role of exogenous trehalose in frozen dough products[J]. **Food Bioprocess Technol**, 2008, 1: 276- 284.
- [15] Yung Shin Shyu, Jear Yu H wang, Cheng Kuang Hsu. Improving the rheological and thermal properties of wheat dough by the addition of γ -polyglutamic acid[J]. **LWT food science and technology**, 2008, 41: 982- 987.
- [16] Shingo Izawa, Kayo Ikeda, Nobuyuki Takahashi. Improvement of tolerance to freeze-thaw stress of baker's yeast by cultivation with soy peptides[J]. **Microbiol Biotechnol**, 2007, 75: 533- 537.
- [17] Kumio Yokoigawa, Machiko Sato and Kenji Soda. Simple improvement in freeze tolerance of baker's yeast with poly- γ -glutamate[J]. **Journal of bioscience and bioengineering**, 2006, 215- 219.
- [18] 周德庆,微生物学教程(第二版)[M].北京:高等教育出版社,2002:150- 151.
- [19] 张守文,张智武.国内市售面包酵母发酵特性及其适用性的研究[J].中国粮油学报,1999,14(6):12- 18.
ZHANG Shou wen, ZHANG Zhi wu, The research of ferment property and applicability on domestic bake yeast[J]. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, 1999, 14(6) : 12- 18. (in Chinese).
- [20] Inoue Y, Sapirstein H, Bushuk W. Studies on frozen doughs: Effect of shortening systems on baking and rheological properties[J]. **Cereal Chemistry**, 1995, 72: 221- 226.
- [21] Ribotta P D, Pérez G T, León A E et al. Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough[J]. **Food Hydrocolloids**, 2004, 18, 305- 313.