

文章编号:1673-2383(2019)04-0052-07

网络出版网址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1378.N.20190813.1446.020.html

网络出版时间:2019-8-13 14:47:00

冷冻冻藏条件对酸面团中乳酸菌活力的影响

陈迪,程强,邵常青,李静,王金水*
(河南工业大学 生物工程学院,河南 郑州 450001)

摘要:与普通发酵剂相比,传统酸面团发酵面制品具有更好的风味、营养特性和货架期。但传统酸面团组分复杂,难以实现商品化生产。采用冷冻技术保存酸面团,以乳酸菌为研究对象,考察冷冻冻藏条件对乳酸菌活力的影响,结果表明 5 种冷冻冻藏因素均对乳酸菌活力影响显著。冻藏时间、冻融循环与乳酸菌活力之间呈线性关系,随着冻藏时间的延长和冻融循环次数的增加,乳酸菌的活菌数和产酸能力显著下降。冻结速率、加水量和 GSH 添加量对乳酸菌活力的影响为非线性。经过响应曲面试验优化,保持冷冻酸面团中乳酸菌活力的最佳冷冻冻藏条件为冻结速率 13.00 mm/h,加水量 45%,GSH 添加量 0.35%。在此条件下,乳酸菌产酸能力 ΔpH 可保持为 1.90,活菌数为 7.8×10^6 个/g,具备较好的再发酵能力。

关键词:冷冻酸面团;冷冻冻藏条件;乳酸菌活力;产酸能力;活菌数

中图分类号:TS201.2

文献标志码:B

0 引言

酸面团是由谷物粉(小麦粉、黑麦粉等)与水混合,经微生物(如乳酸菌和酵母菌)发酵形成的传统面制食品发酵剂^[1]。酸面团中微生物种类繁多,乳酸菌是其中典型且重要的一类^[2]。乳酸菌在发酵过程中产生乳酸、乙酸等有机酸,可以赋予面制品酸味;有机酸会降低面团 pH 值,激活谷物内源蛋白酶,促进面筋蛋白降解,提高面团的延展性;同时,蛋白质降解产生大量氨基酸,其为风味物质的前体,有利于改善产品风味;乳酸菌代谢过程中还会产生胞外多糖,能够赋予面制品功能特性;此外,乳酸菌发酵产生的二乙酰、苯乳酸等抑菌物质,可以延长产品的货架期^[3-7]。

目前国外按照生产工艺将酸面团分为 3 种: I 型为传统酸面团,微生物来源于自然环境,面团呈固体状态,多用于家庭手工制作或作坊生产; II 型

为工业用酸面团,接种特定菌种,在高温下(30 ℃以上)发酵,呈半流体状态; III 型为 II 型干燥后产品,多为粉末状^[1,8]。3 种类型相比, I 型酸面团赋予了面制品更好的风味、营养特性,以及更长的货架期^[9]。但传统酸面团由于微生物代谢活跃、组成复杂,较难实现稳定保存,制约了其商品化生产。

近年来,国内外学者多采用干燥、冷藏、冷冻等方法保存 I 型酸面团。研究表明,特定的干燥和冷藏条件可使 I 型酸面团在 30 d 内保持较好的发酵能力,而冷冻保存可使酸面团中乳酸菌活力保持至 90 d^[10]。为了进一步提高冷冻酸面团中乳酸菌的存活率,有学者采用添加抗冻剂的方法,抗冻剂在一定程度上保持了乳酸菌的活力,但使用添加剂可能会影响产品的最终风味,同时提高了生产成本^[11]。实际上,在冷冻酸面团体系(冰/水-微生物-小麦粉)中,影响微生物活性的直接因素是冰晶形成和水分迁移,而决定冰晶和水分变化的主要环节是冷冻冻藏过程^[12-14]。因此,研究冷冻冻藏条件可为保持传统酸面团中乳酸菌活力提供新的研究思路。

由于乳酸菌对酸面团的发酵特性起着典型且突出的贡献,本试验选取乳酸菌为研究对象,以活菌数和产酸能力作为评价其活力的主要指标,分别考察冻藏时间、冻融循环、冻结速率、加水量及抗冻剂 5 个冷冻冻藏因素对乳酸菌活力的影响,

收稿日期:2019-03-02

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(18A550002);河南工业大学高层次人才科研启动基金项目(31401078);河南工业大学基金项目(2017QNJH11);河南工业大学校属平台开放课题(NL2018002)

作者简介:陈迪(1986—),女,河南洛阳人,讲师,研究方向为食品生物技术。

* 通信作者:王金水,教授,E-mail:jinshuiw@163.com

并通过响应曲面试验优化得到酸面团的最佳冷冻冻藏条件,为实现传统酸面团的稳定保存和商品化生产提供技术参考。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

菌种:*Lactobacillus plantarum* M616 是本校实验室保藏的酸面团发酵用菌株,菌液加50%甘油保存在-80℃冰箱。

MRS液体培养基:蛋白胨1.0g,酵母膏0.5g,葡萄糖2.0g, $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.058g,牛肉膏1.0g,柠檬酸氢二胺0.2g,吐温-800.1mL, $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.2g, $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.025g,蒸馏水100mL,调节pH6.2~6.6^[14]。

MRS固体培养基:在MRS液体培养基的基础上加入琼脂15g/L,调节pH6.2~6.6。

1.2 仪器与amp;设备

Forma 88000超低温冰箱、X1台式离心机:美国Thermo公司;DW-FL253冷藏冷冻低温冰箱:中科美菱低温科技股份有限公司;SW-CJ-1F超净工作台:苏州净化设备有限公司;SPX-150BS-II生化培养箱:上海新苗医疗器械制造有限公司;FE20pH计:梅特勒-托利仪器(上海)有限公司;UV-1801紫外可见分光光度计:北京瑞利分析仪器有限公司;K型热电偶:深圳市源恒通科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 冷冻酸面团的制备

将*Lb. plantarum* M616冻存菌液按照1%接种量(V/V)接种于100mLMRS液体培养基中,37℃厌氧培养12~16h,充分活化到最佳状态。取已活化菌液1%二次接种到100mLMRS培养基中,37℃培养大约8h至 OD_{500} 为0.5~0.8。取100mL培养基4500r/min离心10min,得到菌体沉淀,用无菌水洗涤2次备用。取200g小麦粉按照一定比例(V/W)加入乳酸菌菌悬液,混合制备乳酸面团(每g小麦粉中乳酸菌加入量为 10^8 cfu)^[15]。将制备好的面团按一定质量分块置于无菌培养皿内,并用保鲜膜覆盖,在37℃培养箱内发酵24h,采用不同冷冻冻藏条件对发酵完成的乳酸菌酸面团进行处理。

1.3.2 乳酸菌活菌数的测定

取不同冷冻冻藏处理条件下的酸面团于30℃下解冻20min,准确称取解冻后样品1.000g,置于10mL无菌水中涡旋振荡至面块完全分散。吸取1mL悬浊液用无菌水梯度稀释 10^5 倍,按照GB

4789.2—2016方法将稀释液涂布于MRS固体培养基中测定活菌落数^[16],MRS固体培养基含有0.1g/L放线菌酮(经滤器除菌)。

1.3.3 乳酸菌产酸能力的测定

按照上述条件解冻酸面团样品,准确称取1.000g样品接入100mLMRS液体培养基(加入0.1g/L放线菌酮)中,37℃培养36h,每3h测定一次培养液pH值变化。以起始(0h)pH值与最终(36h)pH值作差得到 ΔpH 值,以 ΔpH 值为指标评价不同冷冻处理条件下乳酸菌的产酸能力。

1.3.4 单因素试验

(1)冻藏时间。将加水量50%的酸面团在-40℃冰箱中冻结至中心温度-18℃,然后置于-18℃冰箱冻藏,分别于第1、7、15、30、45、60、90天测定冷冻酸面团中乳酸菌的活菌数和产酸能力。

(2)冻融循环。按照上述条件制备冷冻酸面团,置于-18℃冰箱冻藏。取出冻藏样品于恒温培养箱中30℃下解冻20min,记为F0;其余样品放回-18℃冰箱冻藏,1d后将样品再次取出,按照上述条件解冻,记为F1;以此解冻-冻藏方式分别得到F2、F3、F4、F5、F6组,测定其乳酸菌活菌数和产酸能力。

(3)冻结速率。按50%加水量制备酸面团,发酵后分别置于-80、-40、-20℃冰箱中冻结,直至中心温度为-18℃。采用K型热电偶测定酸面团中心温度变化,3种冷冻条件下样品的平均冻结速率分别为18、13、8mm/h。将样品在-18℃冰箱冻藏,测定其乳酸菌活菌数和产酸能力。

(4)加水量。固定小麦粉和乳酸菌的使用量不变,分别加入40%、45%、50%、55%、60%的无菌水制备酸面团,发酵完成后,在-40℃冰箱中冻结至中心温度-18℃,然后置于-18℃冰箱冻藏,测定其乳酸菌的活菌数和产酸能力。

(5)抗冻剂。按50%加水量制备酸面团,在此过程中分别加入0.25g/100g的谷胱甘肽(GSH)、谷氨酸钠和抗坏血酸(V_C)作为冷冻保护剂,发酵后在-40℃冰箱中冻结至中心温度-18℃,置于-18℃冰箱冻藏,测定其乳酸菌的活菌数和产酸能力。

1.3.5 响应曲面试验设计

在单因素试验结果基础上,利用Design Expert 8.0.6设计三因素三水平响应面amp;试验。选取冻结速率、加水量和GSH添加量为因素,每个因素设计低、中、高3个水平(见表1),以乳酸菌产酸指标 ΔpH 为响应值,优化得到保持乳酸菌活力的最佳冷冻冻藏条件。

1.3.6 数据分析

文中数据均为3次平行试验计算得出的平均

值,用 SPSS 17.0 及 Origin 8.5.1 进行数据处理及绘图。

表 1 Box-Behnken 试验因素与水平
Table 1 Factors and levels of Box-Behnken experiment

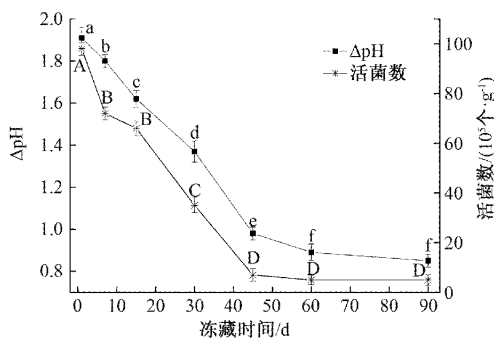
因素	水平		
	-1	0	1
冻结速率/(mm·h ⁻¹)	8	13	18
加水量/%	40	45	50
GSH 添加量/%	0.25	0.38	0.50

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 冻藏时间对酸面团中乳酸菌活力的影响

以乳酸菌的活菌数和产酸能力为评价指标,测定其在-18℃冻藏 90 d 期间活力的变化,结果如图 1 所示。



注:同组间不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。

图 1 冻藏时间对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响
Fig.1 Effects of frozen storage time on the viability of lactobacillus in frozen sourdough

随着冻藏时间的延长,乳酸菌的活菌数和产酸能力显著降低。在冻藏 45 d 之内活菌数和产酸能力急剧下降,在 45~90 d 期间变化平稳。冻藏 90 d 后乳酸菌的活菌数降低了 94.8%,产酸能力降低了 55.5%。由此可见,冻藏时间显著地影响了冷冻酸面团中乳酸菌活力。这主要是因为,在冻藏过程中,酸面团体系中水分冻结形成的冰晶不断发生消长变化,其内部不稳定的玻璃态出现转化,晶核生长,逐渐形成大的冰晶,加剧了对乳酸菌的损伤^[17]。

2.1.2 冻融循环对酸面团中乳酸菌活力的影响

冷冻食品在冷链流通及销售过程中难免发生温度波动。本试验模拟温度波动过程设计冻融循环试验,监测经过 6 次冻融循环处理后冷冻酸面团中乳酸菌活力变化,结果如图 2 所示。

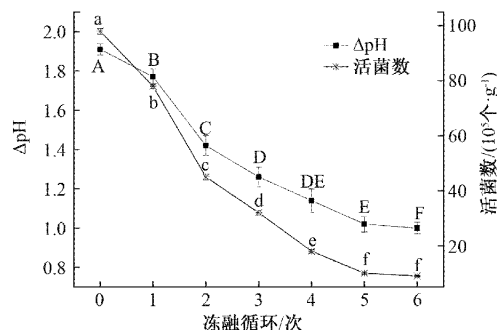


图 2 冻融次数对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响
Fig.2 Effects of freeze-thaw cycles on the viability of lactobacillus in frozen sourdough

冻融处理导致了酸面团中乳酸菌活力下降,随着冻融循环次数的增多,乳酸菌的活菌数和产酸能力均显著降低。经过 6 次冻融循环后活菌数和产酸能力分别降低了 85% 和 47.6%。冻融处理使酸面团经历了反复的冷冻-解冻过程。解冻时细胞内的冰融化成水,液相增加,胞内水分在渗透压作用下极易向胞间流失;再冷冻时这些水分会附着并冻结到细胞间隙中的冰晶上,使冰晶发生重结晶,大冰晶的形成加剧了细胞损伤^[18]。由此可见,反复冻融会显著影响乳酸菌活力。

2.1.3 冻结速率对酸面团中乳酸菌活力的影响

冻结速率是影响冷冻食品品质的关键因素之一。本试验分别选取 8、13、18 mm/h 3 种平均冻结速率对酸面团进行冷冻处理,结果如图 3 所示。

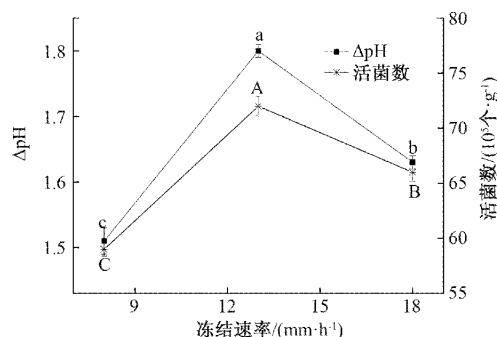


图 3 冻结速率对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响
Fig.3 Effects of freezing rate on the viability of lactobacillus in frozen sourdough

在试验条件下,随着冻结速率的增加,乳酸菌的活菌数和产酸能力表现出先增加后减少的趋势。相对于-20℃条件下慢速冻结(8 mm/h),-40℃冷冻(13 mm/h)更好地保持了酸面团中乳酸菌的活力。这主要因为缓慢冻结时,食品体系中形成的冰晶颗粒较大,容易对微生物细胞造成机械性

损伤,促进蛋白质变性;而快速冻结使食品中心温度快速通过最大冰晶生成带(通常在 $-1\sim-5\text{ }^{\circ}\text{C}$),形成的冰晶体积小,减少了对细胞的破坏。但在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下(18 mm/h)快速冷冻酸面团时,乳酸菌的活力和产酸能力反而下降。这可能是因为样品刚进入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境,还未来及冻结,在远低于乳酸菌最低生长温度的环境下,细胞中的酶迅速失活,导致乳酸菌死亡^[19-20]。

2.1.4 加水量对酸面团中乳酸菌活力的影响

在食品冻结过程中,造成微生物细胞损伤的主要因素是冰晶的生长和水分的流失,食品的水分含量又影响着冻结后体系中的水分分布和存在状态。因此,本试验选取40%、45%、50%、55%、60%加水量制备酸面团,研究不同加水量对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响,结果如图4所示。

酸面团加水量在40%~60%范围内,乳酸菌的活菌数和产酸能力表现出先上升后下降的趋势,活菌数和产酸分别在加水量50%和45%时达到最大值,水分过高或过低,均造成乳酸菌活力下降。这可能是因为加水量过高时,酸面团冷冻后体系中形成的冰晶总体积越大,增加了对乳酸菌的损伤;加水量过低时,乳酸菌细胞周围的水分相应较少,在酸面团冻结过程中,乳酸菌细胞内的水更容易在渗透压或胞外介质的水干燥作用下发生流失,从而引起活力下降^[21-22]。

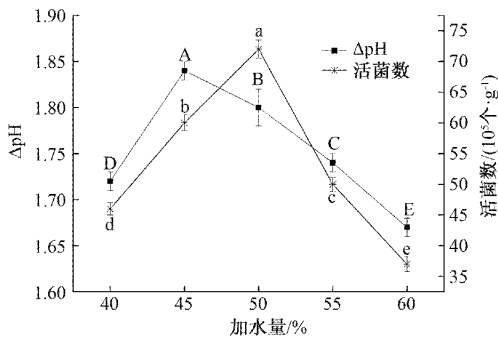


图4 加水量对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响
Fig.4 Effects of water addition amount on the viability of lactobacillus in frozen sourdough

2.1.5 抗冻剂对酸面团中乳酸菌活力的影响

在食品冻结期间,胞外介质中一些其他溶质的存在可以保护细胞免于溶质浓缩带来的伤害,这些溶质即为抗冻剂。常见的抗冻剂多为一些含有一COOH或—OH等亲水性基团的小分子物质,如氨基酸类、糖醇类和羧酸类^[23]。本试验选取几种常见的抗冻剂,考察它们对冷冻酸面团中乳酸菌的保护作用,结果如图5所示。

与对照组相比,添加谷氨酸钠和抗坏血酸(V_C)没有对冷冻酸面团中乳酸菌的存活及产酸能力产生显著影响,添加谷胱甘肽(GSH)提高了乳酸菌的活力。另外,试验过程中发现添加 V_C 使酸面团发酵后组织结构较硬偏干,使用了谷氨酸钠的酸面团略微发黏。因此,在后期试验中选取GSH为抗冻剂,对其添加量进行优化。

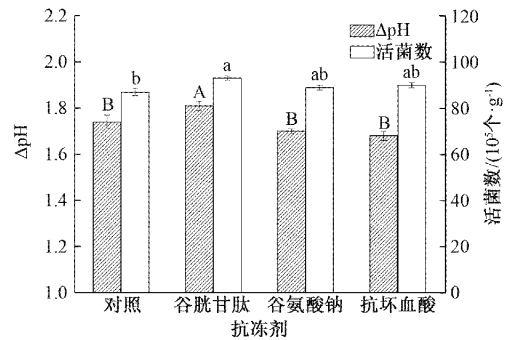


图5 抗冻剂对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响
Fig.5 Effects of antifreeze on the viability of lactobacillus in frozen sourdough

2.2 响应曲面试验结果与分析

2.2.1 数学模型的建立与检验

根据单因素试验结果,冻藏时间和冻融循环与乳酸菌活菌数和产酸情况呈线性关系,不具备优化的条件。因此,响应曲面试验选取冻结速率(A)、加水量(B)、GSH添加量(C)为自变量,以评价乳酸菌产酸能力的指标 ΔpH ($\Delta\text{pH}=\text{pH}_{\text{起始}}-\text{pH}_{\text{终止}}$)为响应值,利用Box-Behnken试验(BBD)设计三因素三水平RSM试验,试验设计及结果见表2。

基于Box-Behnken试验模型,对试验数据进行回归拟合,得到 ΔpH 对因变量的二次多项式回归模型方程:

$$y = 1.88 + 0.048A + 0.033B - 0.020C + 0.015AB - 0.011AC - 0.22A^2 - 0.078B^2 - 0.067C^2$$

对模型进行方差分析(表3),结果表明,该模型在99%置信水平上极显著($P < 0.0001$),失拟项不显著($P > 0.05$),表明该模型可用于预测未知条件下冷冻酸面团中乳酸菌的产酸情况。该模型的总决定系数 $R^2=0.9963$,说明模型拟合程度较好;调整决定系数 $R^2=0.9915$,表明与总决定系数一致性强;变异系数为0.73%,说明试验的重复性良好。

由表4中模型系数的显著性检验数据可知,3个因素A冻结速率、B加水量、C GSH添加量对产酸能力 ΔpH 的线性效应极显著,因素 A^2 、 B^2 、 C^2 对 ΔpH 的曲面效应极显著。 AB 交互项对 ΔpH 的影响显著, AC 、 BC 交互项对 ΔpH 的影响不显著。由回

表 2 Box-Behnken 试验设计与结果

Table 2 The experimental design and results of Box-

Behnken				
试验序号	A	B	C	ΔpH
1	8	45	0.25	1.55
2	13	45	0.38	1.87
3	8	50	0.38	1.55
4	13	50	0.25	1.80
5	18	45	0.25	1.67
6	13	45	0.38	1.89
7	13	45	0.38	1.87
8	18	40	0.38	1.59
9	13	50	0.50	1.75
10	18	50	0.38	1.67
11	13	45	0.38	1.89
12	13	45	0.38	1.88
13	13	40	0.25	1.72
14	8	45	0.50	1.54
15	18	45	0.50	1.62
16	8	40	0.38	1.53
17	13	40	0.50	1.67

归方程一次项可知,3 个因素对冷冻酸面团中乳酸菌活力的影响效应依次为冻结速率>加水量>GSH

表 3 回归模型方差分析

Table 3 Anovariance analysis of regression model

变异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.29	9	0.033	207.45	<0.000 1	**
残差	1.100E-003	7	1.571E-004			
失拟项	7.000E-004	3	2.333E-004	2.33	0.215 5	不显著
纯误差	4.000E-003	4	1.000E-004			
总和	0.29	16				

注: $R^2=0.996\ 3, R^2_{\text{adj}}=0.991\ 5$ 。

表 4 回归方程各项系数的显著性检验

Table 4 Significance test and analysis of variance for the terms in the regression model

系数项	回归系数	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
A	0.048	1	0.018	114.86	<0.000 1	**
B	0.033	1	8.450E-003	53.77	0.000 2	**
C	-0.020	1	3.200E-003	20.36	0.002 8	**
AB	0.015	1	9.000E-004	5.73	0.047 9	*
AC	-1.000E-002	1	4.000E-004	2.55	0.154 6	
BC	0.000	1	0.000	0.000	1.000 0	
A ²	-0.22	1	0.20	1 267.54	<0.000 1	**
B ²	-0.078	1	0.025	160.93	<0.000 1	**
C ²	-0.067	1	0.019	122.08	<0.000 1	**

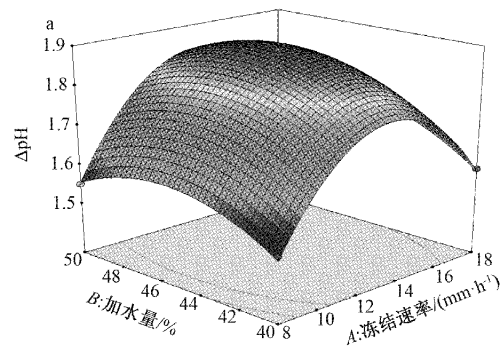
注:**表示差异极显著, $P<0.01$; *表示差异显著, $0.01\leq P<0.05$ 。

添加量。

2.2.2 响应曲面分析

利用 Design-Expert 8.0.5 软件对数据进行二次多元回归拟合, 所得的响应曲面图可以反映各因素之间的相互作用及最佳参数。等高线的形状为椭圆形, 表示交互作用显著; 为圆形, 表示不显著。结果如图 6 所示, 3 交互个因素 AB、BC、AC 对产酸能力 ΔpH 均有明显作用。

保持冷冻酸面团中乳酸菌活力的最佳冷冻冻藏条件为: 冻结速率 13.60 mm/h, 加水量 46.11%, GSH 添加量 0.36%。在此条件下, 乳酸菌产酸能力 ΔpH 预测值为 1.89。考虑到实际冷冻冻藏条件的可行性, 将各因素操作条件调整为冻结速率 13.00 mm/h, 加水量 45.00%, GSH 添加量 0.35%, 3 次平行试验验证得到乳酸菌产酸能力 ΔpH 为 $1.90\pm$



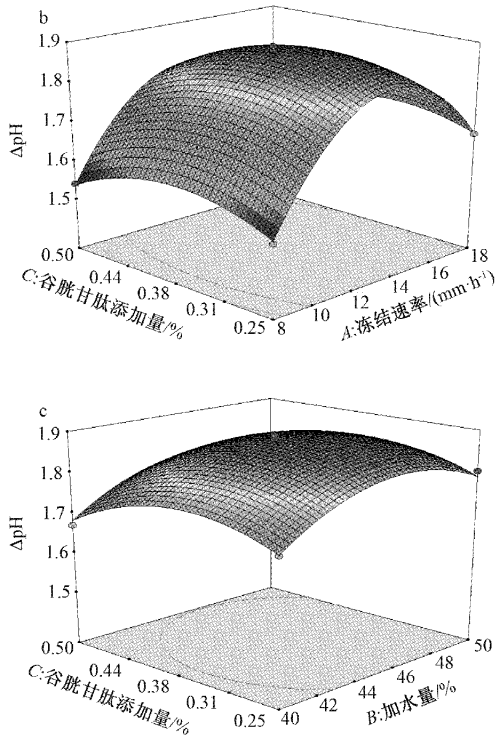


图6 两因素交互作用对 ΔpH 影响的响应曲面图

Fig.6 The response surface graph of effect of two factor interactions on ΔpH

0.02,活菌数为 7.8×10^6 个/g,高于预测值0.05%,证明响应曲面分析结果准确可靠。

3 结论

本试验所考察的冷冻冻藏条件均对酸面团中乳酸菌活力产生显著影响。冻藏时间、冻融循环与乳酸菌活力之间呈线性关系,随着冻藏时间的延长和冻融循环的增加,冷冻酸面团中的乳酸菌活菌数和产酸能力显著下降。冻结速率、加水量和GSH添加量对乳酸菌活力的影响为非线性。经过响应曲面试验优化,保持冷冻酸面团中乳酸菌活力的最佳冷冻冻藏条件为冻结速率13.00 mm/h,加水量45%,GSH添加量0.35%。在此条件下,乳酸菌产酸能力 ΔpH 可保持为1.90,活菌数为 7.8×10^6 个/g,具备较好的再发酵的能力。本试验研究结果可以为传统酸面团的稳定保存提供新的研究思路,为酸面团的商业化生产提供技术支撑。

参考文献:

[1] CHAVAN R S, CHAVAN S R. Sourdough technology—a traditional way for wholesome foods: a review [J]. *Comprehensive Reviews in Food*

Science and Food Safety, 2011, 10(3):169–182.

- [2] CORSETTI A, SETTANNI L. Lactobacilli in sourdough fermentation [J]. *Food Research International*, 2007, 40(5):539–558.
- [3] GOBBETTI M, RIZZELLO C G, DI CAGNO R, et al. How the sourdough may affect the functional features of leavened baked goods [J]. *Food Microbiology*, 2014, 37:30–40.
- [4] GÄNZLE M G, LOPONEN J, GOBBETTI M. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality [J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2008, 19(10):513–521.
- [5] APONTE M, BOSCAINO F, SORRENTINO A, et al. Effects of fermentation and rye flour on microstructure and volatile compounds of chestnut flour based sourdoughs [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2014, 58(2):387–395.
- [6] DI MONACO R, TORRIERI E, PEPE O, et al. Effect of sourdough with exopolysaccharide (EPS)-producing lactic acid bacteria (LAB) on sensory quality of bread during shelf life [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2015, 8(3):691–701.
- [7] CEVOLI C, GIANOTTI A, TRONCOSO R, et al. Quality evaluation by physical tests of a traditional Italian flat bread Piadina during storage and shelf-life improvement with sourdough and enzymes [J]. *European Food Research and Technology*, 2015, 240(6):1081–1089.
- [8] 杨浣漪. 传统酸面团中酿酒酵母和旧金山乳杆菌的种内多样性及其互作研究 [D]. 杭州:浙江大学, 2018.
- [9] LATTANZI A, MINERVINI F, GOBBETTI M. Assessment of comparative methods for storing type-I wheat sourdough [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2014, 59(2):948–955.
- [10] REALE A, DI RENZO T, PREZIUSO M, et al. Stabilization of sourdough starter by spray drying technique: new breadmaking perspective [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2019, 99:468–475.
- [11] 段立, 黄卫宁, 堵国成. 提高冷冻酸面团中乳酸菌抗冻性的研究 [J]. *食品科学*, 2006, 27(10):151–154.

- [12] HAN B, BISCHOF J C. Direct cell injury associated with eutectic crystallization during freezing[J]. *Cryobiology*, 2004, 48(1): 8-21.
- [13] VAN D E GUCHTE M, SERROR P, CHERVAUX C, et al. Stress responses in lactic acid bacteria [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, 82(1-4): 187-216.
- [14] 朱琳, 刘宁, 张英华, 等. 乳酸菌细胞膜的冻干损伤 [J]. *食品科学*, 2006, 27(2): 266-269.
- [15] 王金水, 杨森, 尹艳丽, 等. 植物乳酸菌 M616 对发酵酸面团发酵特性的影响 [J]. *现代食品科技*, 2015(4): 83-87.
- [16] 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB 4789.2—2016 [S].
- [17] CHEN G, ÖHGREN C, LANGTON M, et al. Impact of long-term frozen storage on the dynamics of water and ice in wheat bread [J]. *Journal of Cereal Science*, 2013, 57(1): 120-124.
- [18] 陶晗. 小麦淀粉在冻藏过程中品质劣变机理及其对面团品质影响的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [19] 阮征, 李汴生, 朱志伟, 等. 不同冻结速率对脆肉鲩鱼片冻结特性的影响研究 [J]. *农业工程学报*, 2008, 24(2): 250-254.
- [20] ACKER J P, MCGANN L E. Protective effect of intracellular ice during freezing? [J]. *Cryobiology*, 2003, 46(2): 197-202.
- [21] BAIER-SCHENK A, HANDSCHIN S, CONDE-PETIT B. Ice in prefermented frozen bread dough—an investigation based on calorimetry and microscopy [J]. *Cereal Chemistry*, 2005, 82(3): 251-255.
- [22] 王世新, 杨强, 李新华. 水分对冷冻小麦面团质构及面筋蛋白二级结构的影响 [J]. *食品科学*, 2017, 38(9): 149-155.
- [23] 叶鹏, 王学东, 陈聪莉, 等. 抗冻剂对冷冻面团中酵母冷冻保护机理研究 [J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(7): 7-13.

Effects of Freezing and Frozen Storage Conditions on the Viability of *Lactobacillus* in Frozen Sourdough

CHEN Di, CHENG Qiang, SHAO Changqing, LI Jing, WANG Jinshui

(School of Biological Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Flour products fermented by traditional sourdough present better flavour, nutritional properties, and longer shelf life compared to that fermented by leavening agents. However, it is difficult to realize its commercial production due to the complex composition of traditional sourdough. Frozen technology was applied to preserve traditional sourdough, and effects of several freezing and frozen storage conditions on the viability of *Lactobacillus* were investigated in order to maintain fermentative capability of microorganism in frozen sourdough. The results showed that five frozen storage factors had significant effects on the viability of *Lactobacillus*. There was a linear relationship between frozen storage time and freeze-thaw cycles and the viability of *Lactobacillus*. The survival rate and acid-producing capacity of *Lactobacillus* significantly decreased with the prolongation of frozen storage time and the increase of freeze-thaw cycles. Effects of freezing rate, water addition amount, and GSH addition level on the viability of *Lactobacillus* showed nonlinear. The optimal freezing and frozen storage conditions for maintaining the viability of *Lactobacillus* in frozen sourdough were freezing rate 13.00 mm/h, water addition amount 45%, and GSH addition level 0.35%, which was optimized by response surface method. On the selected condition, the acid-producing capacity and survival rate of *Lactobacillus* were 1.90 and 7.8×10^6 , respectively, which indicated *Lactobacillus* having refermentation capability. The results of this research provide a new research approach for stable preservation of traditional sourdough and technical supports for the commercial production of sourdough.

Key words: frozen sourdough; freezing and frozen storage conditions; viability of *Lactobacillus*; acid-producing capacity; viable counts