

耐冻性面包酵母菌种的选育及其特性的研究

李 楠¹ 奚 震² 任云霞¹ 叶 樱² 李红芬¹ 汪小芬¹

1(天津商学院食品生物科学与工程系,天津,300134)

2(天津市工业微生物研究所,天津,300221)

摘 要 通过对实验室保藏和市售的面包酵母进行耐冻性测定,以存活率为主要指标,选育出 1 支耐冻性良好的菌株(FTY-5),在 -20°C 条件下冷冻保存 56 d,存活率达 90% 以上。并且通过冷冻贮藏、耐糖性、产气性和生长曲线测定等实验对该菌株的特性进行了研究,在此基础上采用正交实验确定了糖蜜培养基的配方和培养条件。

关键词 耐冻性,面包酵母,存活率,冷冻面团

冷冻面团法是 20 世纪 50 年代发展起来的制作面包的新工艺^[1]。自 1990 年开始,美国、法国、日本等国家的面包店逐步采用这项工艺^[2,3]。冷冻面团技术同样适用于制作符合我国饮食特点的传统发酵面制品。而制作品质良好的冷冻面团的关键,是选育耐冻性强、产气性好的面包酵母菌种^[4,5]。

我国耐冻性面包酵母的选育工作起步较晚,在实验研究中所采用的冷冻温度为 -10°C ,与实际生产和贮存温度 $-20^{\circ}\text{C} \sim -24^{\circ}\text{C}$ 仍有很大的差异,用选育出的酵母制作的冷冻面团经历不同的冷冻前发酵时间后,发酵活性与国外文献报道的也有明显的不同^[6,7]。

笔者在接近实际生产和贮存的冷冻温度下(-20°C),选育出了耐冻性面包酵母 FTY-5,并对其耐冻、耐糖、产气特性和生长曲线进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 菌 种

出发菌株:低温酵母 LBY-009,中国工业微生物菌种保藏中心保存,由该出发菌株分离筛选出 12 株酵母突变菌株即 Baker's yeast: LTY-1; LTY-2; LTY-3; LTY-4; FTY-5;

FTY-6; FTY-7; FTY-8; MTY-9; MTY-10; MTY-11; MTY-12

由商业面包酵母分离得到菌种:

BYTU-1; BYYG-2; BYA-2; BYMS-3; BYM-2; BYD-2

1.1.2 培养基

YPD 培养基:葡萄糖 2%,蛋白胨 2%,酵母膏 1%, $\text{pH}5.0$, 121°C 灭菌 15 min。

糖蜜培养基: 6°Brix 蔗糖糖蜜, $\text{pH}4.8$, 121°C 灭菌 30 min。

保护剂:浓度分别为 2%、5%、10%、15% 的葡萄糖溶液。

1.1.3 仪器与设备

生化培养箱 LRH-250A,广东省医疗器械厂;冷藏箱 MDF-U333 SANYO,日本;离心机 LD4-2,北京医用离心机厂;恒温往复培养箱 HZQ-C,哈尔滨市东明医疗仪器厂。

1.2 方 法

1.2.1 菌种筛选方法

对待测菌种进行 2 次活化,将活化好的菌液适量加入到不同浓度的保护剂溶液中,菌浓度在 10^5 个/mL,充分振荡摇匀后分别装入无菌空试管,放入冷冻箱中冷冻,冷冻速率控制在 $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, -20°C 下冷冻贮藏 24 h 后解冻(28°C , 30 min),以活菌计数法(GB/T 4789—1994)测定冷冻前后的活菌数,将冷冻

存活率 $>90\%$ 的菌株视为耐冻性良好的菌株,用麦芽汁斜面保存。

1.2.2 耐冻性实验

取耐冻性好的斜面菌种进行2次活化,将活化菌液加入5%葡萄糖溶液保护剂中,使菌液浓度为 10^5 个/mL,充分混匀后分装无菌试管,置于冰箱中冷冻(-20°C),冷冻时间设定为3、7、14、21、28、42和56 d,然后按设定时间解冻,条件同1.2.1,测定冷冻前后的活菌数,计算冷冻存活率,并据此绘制冷冻存活率随冷冻时间的变化图。

1.2.3 冷冻贮藏过程中发酵力的变化

采用面团法(QB1501—1992)测定酵母在冷冻贮藏过程中发酵力的变化^[8]。

面团配方:面粉100%、蔗糖5%、盐1%、水65%、酵母3%。面团冷冻保藏条件: -30°C 冰箱冷冻2 h左右,取出置于 -24°C 冰箱冷冻贮藏8周,定期取样测定发酵力的变化,并以BYTU-1和BYA-2为对照。

1.2.4 压榨酵母的制备及水分含量的测定

将耐冻性好的斜面菌种进行2次活化后,转接入装有YPD培养液的500 mL三角瓶中, 160 r/min 振荡培养18 h,离心收集菌体,蒸馏水洗涤2次,用布氏漏斗抽滤,制成压榨酵母(含水74%,活菌数 1.2×10^9 个/g)。

1.2.5 耐高糖实验

按照不同的蔗糖含量(0%、5%、10%、15%、20%、25%、30%),添加5% FTY-5压榨酵母,1%食盐,加水后制成面团,参照QB1501—1992方法测定2 h内酵母的产气量。

1.2.6 生长曲线的测定

取耐冻性好的斜面菌种进行活化,接种于液体YPD培养基中,摇床培养,以活菌计数法测定不同生长时间的活菌数。设定时间依次为2、4、6、8、10、11、13、15、16、18、20 h。并以活菌数的对数为纵坐标,时间为横坐标绘制生长曲线。

1.2.7 糖蜜培养实验

以糖蜜为原料进行正交培养实验,确定糖蜜(本实验采用广西糖厂的甘蔗糖蜜)培养基的配方及培养条件。以碳源(A)、硫酸氢(B)和pH(C)为主要影响因素,按照 $L_9(3^4)$ 正交方法配制培养基,灭菌后将活化后的菌液接入, 160 r/min , 28°C 培养16~17 h,按1.2.2方法做冷冻实验,测定菌种的冷冻存活率并据此确定最佳培养基配方。

2 结果与讨论

2.1 菌种的筛选

筛选结果如表1所示。在18支菌株中

表1 菌种的冷冻存活率

菌种		冷冻存活率/%				
		0%葡萄糖	2%葡萄糖	5%葡萄糖	10%葡萄糖	15%葡萄糖
Baker's yeast	LTY-1	80	81	83	82	82
	LTY-2	87	88	90	89	87
	LTY-3	70	72	75	73	72
	LTY-4	69	70	71	69	69
	FTY-5	91	95	96	93	90
	FTY-6	79	80	82	81	78
	FTY-7	71	74	76	75	74
	FTY-8	80	83	85	82	80
	MTY-9	80	81	81	80	79
	MTY-10	72	73	75	72	71
	MTY-11	83	85	88	86	85
	MTY-12	81	83	85	82	81
Commercial	BYTU-1	21	23	23	22	20
	BYYG-2	18	20	19	21	18
	BYMS-3	20	22	22	21	19
	BYA-2	36	39	41	40	37
	BYM-2	22	24	24	25	24
	BYD-2	25	26	26	27	25

只有 Baker's yeast FTY-5 在不同浓度的葡萄糖保护液中的冷冻存活率均超过 90% ,而其他菌株耐冻性较差 ,特别是 6 支由商业面包酵母分离纯化的菌株 ,经冷冻贮藏后存活率大幅下降 因此选 FTY-5 菌株进行以下实验。

2.2 耐冻性实验

耐冻性实验结果如图 1 所示。FTY-5 菌株经过 56 d 冷冻保存后存活率仍能达到 92% 。

2.3 冷冻贮藏过程中发酵力的变化

冷冻贮藏过程中发酵力的变化如图 2 所示。BYA-2 和 BYTU-1 菌株经过 2 周的冷冻贮藏发酵力下降了 46% ,8 周后分别降至原发酵力的 15% 和 35%。而 FTY-5 菌株经过 8 周的冷冻贮藏其发酵力仅下降 18%。

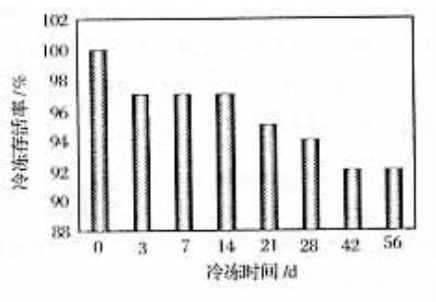


图 1 FTY-5 菌株的冷冻存活率

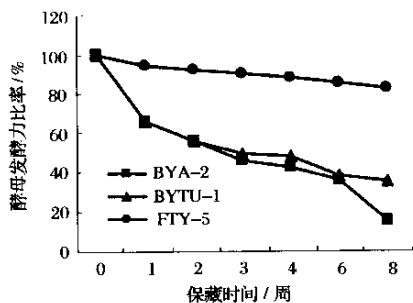


图 2 冷冻贮藏过程中酵母发酵力的变化

2.4 耐高糖实验

FTY-5 菌株在不同蔗糖含量的面团中发酵产气量的测定结果如图 3 所示。

由图 3 可知 ,在面团的蔗糖含量由 0% 增加至 10% 的过程中 ,FTY-5 菌株的发酵产气量随着面团中蔗糖含量的增加逐渐增

大 ;当面团中蔗糖含量达到 15% 以上时 ,FTY-5 菌株的发酵产气量随着蔗糖含量的增加而减少。这说明 FTY-5 菌株适于在 0% ~15% 蔗糖中使用。

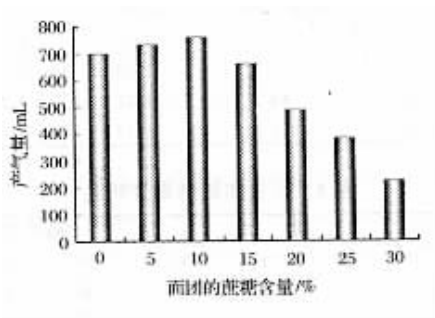


图 3 FTY-5 菌株在不同蔗糖含量的面团中的发酵产气量

2.5 生长曲线测定

测定结果如表 3 和图 4(以表 3 中第 2 组数据作图)所示。

由表 3 和图 4 可以看出 ,FTY-5 的延滞期为 0~4 h ,对数期为 6~13 h ,稳定期为 15~18 h ,18 h 后转入衰亡期。据有关资料报道 ,为提高酵母细胞中海藻糖含量 ,增强其耐冻性 ,可采用饥饿培养法延长稳定期^[9]。

表 3 不同培养时间的活菌数

培养时间 /h	活菌数/个·mL ⁻¹	
	1#	2#
2	7.1×10^5	7.0×10^5
4	1.6×10^6	1.6×10^6
6	7.9×10^6	7.8×10^6
8	1.6×10^7	1.6×10^7
10	4.3×10^7	4.3×10^7
11	9.2×10^7	9.1×10^7
13	1.7×10^8	1.6×10^8
15	2.4×10^8	2.3×10^8
16	2.5×10^8	2.4×10^8
18	2.4×10^8	2.4×10^8
20	9.5×10^7	9.4×10^7

2.6 糖蜜培养实验

糖蜜培养正交实验的有关参数和结果如表 4 和表 5 所示。从表 5 可知 ,影响因素次序为 A>C>B ,最佳配方为 A₁B₂/B₃C₂ ,即糖蜜浓度 12° Brix , (NH₄)₂SO₄ 0.1% 或

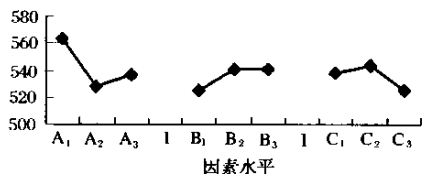
0.15% ,pH 4.5 , MgSO_4 0.04% ,过磷酸钙 0.25%。

表4 因素水平表

水平	因 素		
	碳源/°Brix (A)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ / % (B)	pH (C)
1	12	0.10	4.0
2	13	0.12	4.5
3	14	0.15	4.9

表5 正交实验结果分析表

水平	因 素			实验结果	
	A	B	C	1#	2#
1#	1	1	1	90	91
2#	1	2	2	95	94
3#	1	3	3	85	88
4#	2	1	2	85	84
5#	2	2	3	88	89
6#	2	3	1	90	92
7#	3	1	3	87	88
8#	3	2	1	86	89
9#	3	3	2	92	94
K_1	563	525	538		
K_2	528	541	544		
K_3	536	541	525		
k_1	93.8	87.5	89.7		
k_2	88.0	90.2	90.7		
k_3	89.3	90.2	87.5		
极差 R	5.8	2.7	4.0		
最佳水平	A_1	B_2/B_3	C_2		



由正交实验结果分析可知,实验中选育出的耐冻性面包酵母的最佳工业用甘蔗糖蜜培养基配方为:糖蜜浓度 12°Brix,添加的营养盐为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 MgSO_4 ,用量分别为 0.1% 和 0.04% ,pH 控制在 4.5 左右。

3 结 论

通过对耐冻性面包酵母菌株的选育及性能测定,可得到以下结论:

(1)选育出的 FTY-5 菌株具有良好的耐冻性,在 -20°C 下冷冻贮存 56 d (8 周),冷冻存活率仍能达到 92%。

(2)FTY-5 菌株具有一定的耐高糖性能,在蔗糖含量 15% 以下的面团中生长较好,产气较多。

(3)用 FTY-5 菌株制备面团经过 8 周冷冻保存,发酵力仍能达到原发酵力的 82%。

(4)FTY-5 菌株在 15 h 后进入稳定期,据此可以指导生产实践。

(5)为降低生产成本,采用工业糖蜜培养面包酵母,本实验得出的培养基配方及培养条件为:糖蜜 12°Brix、pH 4.5、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1%、 MgSO_4 0.04% , 28°C ,160 r/min ,摇床培养 16~17 h。

参 考 文 献

- 1 张守文. 面包科学与加工工艺. 北京:中国轻工业出版社,1996. 42
- 2 陈正宏,顾 军. 食品与机械,1993,37(5):15~16
- 3 周才堯. 食品资讯(台),1995(7):36~38
- 4 高野博信. 食品与科学(日),1990,32(4):85~88
- 5 陆 婕,管筱武,梁运祥. 粮食与饲料工业,2000,10:38~40
- 6 陆 婕,管筱武,梁运祥. 食品与发酵工业,2001,27(2):47~51
- 7 许春英,王昌禄. 粮食与油脂,2001,2:30~32
- 8 凌关庭. 食品添加剂手册(第二版),北京:中国轻工业出版社,1997. 1048~1048
- 9 Gelinas P, Fiset G, Leduy A et al. Appl Environ Microbiol, 1989, 55(10):2453~2459



日本推出乌龙茶无糖饮料新品

日本伊藤园公司近期推出配加 8 种草药的乌龙茶无糖饮料新品。该新品是在“水仙”、“乌龙”2 种乌龙茶中配加草本植物柠檬草、菩提、扶桑花和百里等 8 种提取物,并采用时间差提取法精制而成,既有乌龙茶的清凉感的涩味,又不失草本植物的韵味。

Isolation and Characterization of a Freeze-tolerant Baker's Yeast

Li Nan¹ Xi Zhen² Ren Yunxia¹ Ye Ying²

Li Hongfen¹ Wang Xiaofen¹

1 (Department of Food and Biotechnology Science and Engineering ,

Tianjin University of Commerce , Tianjin , 300134)

2 (Tianjin Research Institute of Industrial Microbiology , Tianjin , 300221)

ABSTRACT A freeze-tolerant baker's yeast (FTY-5), which had the survival rate of more than 90 % at -20℃ for 56 days , was isolated from the strains preserved in the laboratory or obtained from the market. The FTY-5's features of freeze-storage , sugar-tolerance , gas-production and growth curve were studied. The optimal culture medium and the culture conditions using industrial cane molasses were determined by orthogonal experiment.

Key words freeze-tolerance , baker's yeast , survival rate , frozen dough



未来 3 年全球葡萄酒生产趋势预测

据有关报告 ,全球葡萄栽种面积趋于稳定 ,葡萄酒生产和消费将继续增长。该报告预计 :美国新增葡萄栽培面积减缓 ,到 2006 年增长率为 10 % 左右。到 2006 年 ,美国葡萄酒生产的增长率为 14 % ,葡萄酒消费将增长 4 % ,达到 22 亿 L。人均消费量从 2000 年的 11L 增长到 2006 年的 12L。由于产量超过国内消费需求 ,出口将成为美国葡萄酒行业的首选。

该报告认为 ,全球葡萄酒生产趋势如下 :葡萄栽培总面积趋于稳定。1994~2000 年 ,世界葡萄栽培总面积增长了 7.2 % ,2000 年达到 600 多万 hm² (估计) 。其中大洋洲增长最快(107.8 %) ,其次是亚洲(34 %) 和南美洲(17.6 %) 。而西欧传统产区的种植面积却减少了 9.1 % 。这种趋势将会继续保持 ,从而使葡萄种植面积在 2006 年达到稳定。

到 2006 年 ,全世界葡萄酒产量将增长 6.5 % ,但各产区有较大差异。西欧地区将增长 2 % 左右 ,但意大利葡萄酒产量将减少 5 % 。北美地区将保持 14 % 的增幅 ,南非的增幅将高达 33 % 。

从 1994~2000 年 ,世界大部分地区的葡萄酒消费都有所增长 ,只有东欧和南美的消费下降(分别下降 5 % 和 11 %) ,但这种下降主要是由于消费习惯的改变引起的 ,那里的消费者开始转向更高质量的葡萄酒。在这期间 ,增长最快的国家和地区是台湾 ,波兰 ,日本 ,新加坡 ,芬兰 ,挪威 ,比利时和英国。从全球来看 ,葡萄酒消费量将在 2006 年达到 221 亿 L ,增长率为 5 % 。

我国巧克力行业将保持 8 % 的增速

连续 5 年保持增长态势的糖果巧克力业 ,已成为我国食品工业中快速发展的行业。预计在今后数年内 ,我国糖果巧克力行业将保持 8 % 左右的增长速度 ,高于全球糖果的年均增长速度 6 % 。

据报道 ,目前我国人均消费糖果巧克力仅为 0.7kg ,约为发达国家的 1/10 ,国际人均水平的 1/3。糖果巧克力市场空间巨大 ,如果能够达到国际水平 ,那么我国糖果巧克力的市场供给总量将达到 270 万 t 以上。

据专家介绍 ,2002 年我国糖果市场以 15.3 % 的高速度增长 ,总产量达到 98.5 万 t ,实现销售收入 141 亿元。目前主要的糖果制造商为阿尔卑斯、冠生园、箭牌、雅客、上好佳等。主要品牌销售基本上以上海、北京、广州等大城市为主 ,同时渗透到二线城市 ,其中上海以其独特的经济地位和强劲的消费水平成为中外企业必争之地和国内糖果巧克力市场最新动态的晴雨表。纵观今年上海市场 ,糖果巧克力新品呈以下特点 :口感风味独特、讲求健康、追求保健、包装讲求个性。