

冷冻面团发酵技术在中式食品中的应用

II. 冰结构蛋白对鲜酵母及包子类冷冻面团流变发酵特性的影响

任士贤¹, 黄卫宁^{1,*}, 王宏兹², 堵国成³, 廖祥儒³, 贾春利¹, RAYAS-DUARTE Patricia⁴

(1.江南大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2.福建福马食品集团有限公司, 福建 晋江 362200;
3.江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 4.俄克拉荷马州立大学农产品与食品研究中心,
美国 斯蒂尔沃特 74078-6055)

摘 要:应用 F3 流变发酵仪和动态流变仪研究冰结构蛋白(ISP)对冻藏 0、1、2、3、4 周鲜酵母发酵特性和冷冻面团动态流变学特性的影响。结果表明:随着冻藏时间延长,所有酵母样品发酵过程中气体释放曲线最大高度 H'_m 、产生 CO_2 气体总体积 $V_{\text{总}}$ 及面团最大膨胀高度 H_m 均逐渐降低,冷冻面团的弹性模量(G')和黏性模量(G'')逐渐下降,冷冻面团包子比容显著减小。引入冰结构蛋白(ISP)后,冻藏时间相同时,酵母发酵过程中的 H'_m 、 $V_{\text{总}}$ 及 H_m 均有所增大, G' 和 G'' 下降趋势减缓,冷冻面团包子比容明显大于空白组,说明 ISP 能够抑制冻藏过程中冰晶的形成和重结晶,减弱冰晶对酵母及面筋蛋白质网络结构的破坏,同时也说明 ISP 能够增强面筋蛋白质网络结构的强度,提高面筋蛋白质对冰晶破坏的抵抗力。

关键词:冰结构蛋白; 鲜酵母; 包子冷冻面团; 发酵; 流变学

Application of Frozen Dough Fermentation in Chinese Traditional Foods

II. Effect of Ice-structural Protein on Rheofermentation Properties of Compressed Yeast and Frozen Dough

REN Shi-xian¹, HUANG Wei-ning^{1,*}, WANG Hong-zi², DU Guo-cheng³, LIAO Xiang-ru³, JIA Chun-li¹,
RAYAS-DUARTE Patricia⁴

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Fujian Fuma Food Co. Ltd., Jinjiang 362200, China; 3. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 4. Food and Agricultural Products Research Center, Oklahoma State University, Stillwater 74078-6055, USA)

Abstract: Effect of ice-structural protein (ISP) on rheofermentation properties of compressed yeast and frozen dough after frozen for 0, 1, 2, 3 and 4 weeks were investigated using F3 rheofermentometer and dynamic rheometer, respectively. Results showed that extended frozen time resulted in decrease of maximum height of gas release curve (H'_m), total volume of CO_2 produced by yeast (V_{total}), maximum swelling height of dough (H'_m), elastic modulus (G') and viscous modulus (G'') of frozen dough, specific volume of frozen dough. However, addition of ISP could effectively increase H'_m , V_{total} and H_m of compressed yeast, G' and G'' of frozen dough, and specific volume of frozen dough at same frozen time. These investigations suggested that ISP could inhibit the formation of ice crystallization and prevent from recrystallization, and reduce the damage of yeast and protein texture of dough from ice crystallization.

Key words: ice-structural protein (ISP); compressed yeast; frozen dough; fermentation; rheology

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)23-0017-05

冷冻面团技术是 20 世纪 50 年代发展起来的烘焙食品 加工新技术, 主要指在面制食品的生产过程中, 运用

收稿日期: 2009-08-14

基金项目: 美国农业部国际合作项目[A-(86269)]

作者简介: 任士贤(1982—), 男, 硕士研究生, 研究方向为谷物与烘焙科学、功能配料与食品添加剂。

E-mail: jobon666@163.com

* 通讯作者: 黄卫宁(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品烘焙与发酵技术、谷物食品化学。

E-mail: wnhuang@jiangnan.edu.cn

冷冻冷藏原理和方法处理半成品或成品,使其在此阶段保留或储存若干时间,待需用时经解冻处理,而后继续余下的生产流程,直至成为成品^[1]。1998年冷冻面团面包已占法国面包销售量的90%以上,在德、日、美等国也备受青睐,近年来的增长更为迅速,我国冷冻面团技术正处于起步阶段。

冷冻面团技术的应用,不仅使消费者能够随时吃上新鲜的面制食品,解决我国传统主食品(包子、馒头等)易老化货架期短的难题,而且由于产品在中央工厂集中生产、集中配送,避免了小作坊式生产,这就可能推动传统发酵面制食品行业的工业化、产品质量标准化,增强食品安全性,促进产品的品牌连锁式经营;为我国传统主食品的工业化提供一条经济有效的技术途径。但是冷冻和冻藏过程中面团中冰晶的形成和重结晶不仅造成酵母的产气性下降,而且造成面筋蛋白质三维网络持气性变差,导致产品比容减小^[2-5]。

冰结构蛋白(ice structuring proteins, ISP)是一类存在于特定生物体中,具有抗冻活性的蛋白质。ISP的功能特性包括:抑制冰晶生长,能在较低的浓度下抑制冰的重结晶^[6-7];控制和修饰冰晶形态^[8];非依数性降低溶液的冰点^[9]。1992年,Griffith等^[10]首次发现经低温锻炼的、能够忍受细胞外结冰的冬黑麦(*Secale cereale*)中含有内源ISP,并从冬黑麦叶片的质外体中提取并部分纯化了该蛋白。此后,国外多名学者在多种植物中发现了ISP^[6,11-12]。国内,1994年,费云标等^[13]在沙冬青中发现了ISP;后来,王维香等^[14]确认了沙冬青中存在稳定性ISP;2007年,刘尚等^[15]在越冬的女贞叶中发现并成功提取了具有热滞活性的ISP。

ISP是我国卫生部于2006年最新公布的可用于冷冻食品中的新型食品添加剂^[16]。已有学者将其应用于改善冰淇淋和冻藏肉的品质^[17];周美玲等^[18]、潘振兴等^[19]和Xu等^[20]成功地将其应用于冷冻面团,但其在中式冷冻面团中的应用至今未见报道。本实验主要研究ISP对冻藏鲜酵母发酵特性、冷冻面团流变特性和冷冻面团包子比容的影响,为ISP在中式冷冻面团制品中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

冰结构蛋白(女贞叶热稳定ISP) 自制;面粉 丹阳市同乐面粉有限公司;燕山鲜酵母 河北马利食品有限公司;海藻糖 南宁中诺生物工程有限公司;馅料(肉类) 上海中饮餐饮管理有限公司;白砂糖、泡打粉均为市售。

5K5SS型搅拌机 美国Kitchenaid公司;F3流变发酵仪 法国Chopin公司;AR-100流变仪 英国TA

Instrument公司;SM-32S型醒发箱 新麦机械(无锡)有限公司;A01单孔燃气蒸炉 广州市领创节能厨具有限公司;菜籽替代装置 美国National公司。

1.2 方法

1.2.1 F3流变发酵仪研究酵母发酵特性

1.2.1.1 酵母的冻藏

称取6g鲜酵母,溶于30ml生理盐水中,然后加入0.3g的海藻糖或ISP,以不添加海藻糖和ISP的酵母液为空白样,将酵母液静置10min,之后将所有样品在-36℃条件下冷冻2h,然后转移至-18℃条件冻藏备用。冻藏期分别为0、1、2、3、4周。

1.2.1.2 酵母解冻

将冻藏后的酵母样品在38℃条件下解冻40min,然后将酵母液与其他原料混合制备面团。

1.2.1.3 面团制备

面团配方为面粉:酵母:水=100:3:50(m/m),其中各成分含量以面粉为基准。将面粉、酵母液和水同时放入搅拌机中,先慢速搅匀,然后快速搅打至面团形成,取出,准备进行F3流变发酵实验。

1.2.1.4 F3流变发酵实验

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250g、测定温度28.5℃、时间3h、砝码质量2000g。

1.2.2 ISP对冷冻面团流变特性的影响

1.2.2.1 冷冻面团的制备

将面粉、水(按最佳吸水率添加)、ISP(0和0.5%,以面粉为基准)投入搅拌机,搅匀后,快速搅打至面团形成,取出,分块(120g/块),成型,用保鲜膜包裹,在-36℃条件下速冻2h,然后转移至-18℃保藏。冻藏时间为0、1、2、3、4周。

1.2.2.2 冷冻面团动态流变特性测定

采用振荡模式下的频率扫描实验研究ISP对冷冻面团流变学特性的影响。将1.2.2.1节中冻藏的冷冻面团在38℃、相对湿度80%条件下解冻1h,然后进行测量。动态流变仪测定条件为:平板直径20mm,夹缝距离1mm,应变0.5%,温度25℃,频率0.1~40Hz。测定过程为:先将面团放在两块平板之间,刮掉多余部分,并立刻将涂有矿物油的盖子盖上以防止水分挥发,再静置5min,以使残留的压力松弛,最后进行频率扫描。

1.2.3 ISP对冷冻面团包子比容的影响

1.2.3.1 冷冻面团包子的制作

面皮配方:面粉:鲜酵母:水:白砂糖:泡打粉:ISP=100:3:50:2:1.5:0.5(m/m),其中各成分含量以面粉质量为基准。

制作工艺：将制成的包子在 38℃、相对湿度 75% 条件下醒发 30min，并于室温下静置 5min，用保鲜膜包裹，在 -36℃ 条件下速冻 2h，再转移至 -18℃ 冻藏。分别冻藏 0、1、2、3、4 周后取出，直接汽蒸 15min，然后将其表面覆盖白纱布，在室温条件下冷却 2h，进行测量。

1.2.3.2 包子比容的测定

$$\text{包子比容}(\text{ml/g}) = \frac{\text{体积}(\text{ml})}{\text{质量}(\text{g})}$$

2 结果与分析

2.1 冷冻保护剂对酵母发酵特性的影响

F3 流变发酵实验结果可用气体释放曲线和面团发酵曲线进行描述，从气体释放曲线可以得到 H'_m (气体释放曲线最大高度)、 T'_i (达到气体释放曲线最大高度的时间)、 $V_{\text{总}}$ (产气总量)、 R (保留系数)；从面团发酵曲线可以得到 H_m (面团最大形成高度)、 T'_i (达到面团最大形成高度的时间) 等参数。以下选取具有代表性的参数 H'_m 、 $V_{\text{总}}$ 和 H_m 进行分析。

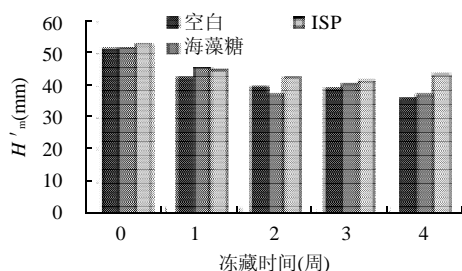


图1 冷冻保护剂对气体释放曲线最大高度 H'_m 的影响
Fig.1 Effect of cryoprotectant on H'_m

H'_m 是气体释放曲线的最大高度，在一定程度上反映了酵母发酵过程中的产气特性。从图 1 可以看出，随冻藏时间延长，所有样品的 H'_m 值均减小了，说明冻藏过程中酵母产气能力下降了，这可能是由冻藏过程中部分酵母死亡所致。同时发现空白组样品 H'_m 值下降的幅度最大，其次是海藻糖组样品，下降最小的是 ISP 组样品，说明海藻糖和 ISP 对酵母产气能力的下降有不同程度的抑制作用，其中 ISP 效果更好。

$V_{\text{总}}$ 代表酵母发酵过程中产生的 CO_2 总体积，直接反应酵母产气能力， $V_{\text{总}}$ 在冻藏过程中的变化见图 2。由于酵母以还原糖为营养源，所以在未冻藏的条件下，海藻糖组样品的 $V_{\text{总}}$ 在 3 组样品中最大，空白组样品与 ISP 组样品差异不大。冻藏 1 周时，由于外源性海藻糖既对酵母有保护作用，也可以作为酵母的营养源，因而酵

母的 $V_{\text{总}}$ 在三组样品中处于首位，其次是 ISP 组样品，空白组样品最小，这可能是由于 ISP 抑制了冰晶生长、对酵母细胞产生了抗冻保护作用所致。

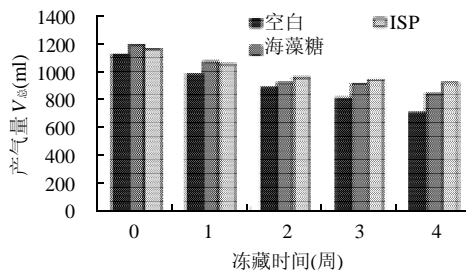


图2 冷冻保护剂对酵母产生 CO_2 总体积的影响
Fig.2 Effect of cryoprotectant on $V_{\text{总}}$

整体来看，冻藏后酵母的 $V_{\text{总}}$ 是逐渐下降的，且随着冻藏时间延长，下降的幅度逐渐增大，这主要是由酵母存活率随冻藏时间延长持续下降所致，其中空白组样品 $V_{\text{总}}$ 下降的幅度最大，其次是海藻糖组样品， $V_{\text{总}}$ 下降最小的是 ISP 组样品。冻藏 4 周后，空白、海藻糖和 ISP 组样品的 $V_{\text{总}}$ 分别为 718、835ml 和 930ml，即海藻糖和 ISP 组样品的 $V_{\text{总}}$ 明显高于空白组样品，而 ISP 组样品的 $V_{\text{总}}$ 又明显高于海藻糖组样品，说明海藻糖和 ISP 对冻藏过程中的酵母细胞都具有保护作用，都能够提高酵母冻藏后的存活率，且 ISP 的保护效果明显好于海藻糖。

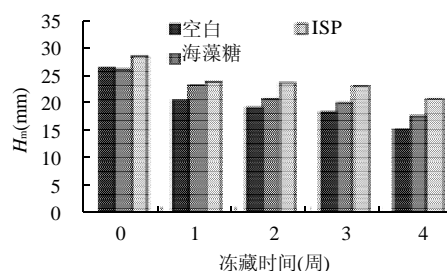


图3 冷冻保护剂对面团最大膨胀高度 H_m 的影响
Fig.3 Effect of cryoprotectant on H_m

H_m 为面团最大膨胀高度，是酵母产气力和面筋蛋白质持气能力的综合反映。由图 3 可知，在冻藏 0 周，即未冷冻时，空白组与海藻糖组样品的 H_m 基本一致，而 ISP 组样品的 H_m 明显高于前两者，这可能是由于 ISP 增强了面筋网络结构，增大了面团持气能力。在冻藏过程中(即冻藏 1~4 周期间)，空白组样品的 H_m 下降幅度最大，其次是海藻糖组样品，而 ISP 组样品的 H_m 基本保持不变，只有在 4 周时有少许的降低，说明 ISP 通过抑制冰晶生长有效地控制了酵母在冻藏过程中的死亡率。

综上所述,由海藻糖及ISP对 H'_m 、 V_m 和 H_m 的影响可以发现,ISP和海藻糖都能够增大冻藏后酵母的发酵产气能力,其中ISP效果明显好于海藻糖。

2.2 ISP对冷冻面团流变特性的影响

面团是一种具有黏弹性的材料,它既有黏性流体的黏性特征,也具有弹性固体的弹性特征。流变学特性是面团最重要的特性之一,因为它决定了产品的加工品质和最终产品的质量。动态流变特性的两个主要参数:弹性模量(G')指物质在经过一个振动周期的正弦形变后所能恢复的能量,它代表的是物质的弹性本质。黏性模量(G'')指一个振动周期的正弦形变后所消耗的能量,它代表的是物质的黏性本质。

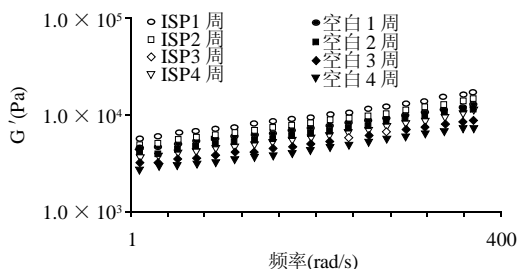


图4 ISP对冷冻面团弹性模量的影响
Fig.4 Effect of ISP on G' of frozen dough

恒定温度下的频率扫描,能反应面团分子结构方面的信息,不同冻藏时期及不同ISP添加量时面团的频率扫描图谱如图4所示。首先,同一频率下空白组及ISP组样品的 G' 均随着冻藏时间延长而减小,可能是由于随着冻藏时间延长,面团体系中冰晶逐渐重结晶,导致面团中面筋蛋白质网络结构遭到的破坏日益严重,出现更多断裂,使得体系逐渐丧失弹性。其次,冻藏0周和扫描频率相同时,ISP组样品的 G' 明显大于空白组样品,说明ISP能与面团中蛋白质结合,增强蛋白质网络强度,这与上述F3流变发酵实验中 H_m 的结论相同。再次,扫描频率相同时,随冻藏时间延长ISP组样品 G' 下降的幅度明显小于空白组样品,冻藏4周后,ISP组样品的 G' 大于冻藏4周甚至冻藏3周后空白组样品的 G' ,这说明添加0.5%ISP可以减小冰晶对面筋蛋白质网络结构的破坏。

动态流变实验结果说明,ISP能够通过抑制冰晶重结晶及增强面团中面筋蛋白质网络结构两个方面提高面团的抗冻性。

图5显示了冻藏时间及ISP对面团体系黏性模量 G'' 的影响。分析可见,冻藏时间相同时,所有面团的黏性模量 G'' 都随频率的增加而增大;扫描频率相同时,随着冻藏时间延长,同一种面团的黏性模量 G'' 呈下降

趋势,可能是由于冰晶在冻藏过程中经过重结晶逐渐增大,对面团体系的破坏力也越来越强,导致体系发生相同形变所需的能量减少;扫描频率相同时,随着冻藏时间延长,ISP组样品 G'' 的下降趋势较空白组的缓和,其原因可能是ISP抑制了冰晶重结晶,减小了冰晶对面团体系的破坏,因而增大了体系发生相同形变所消耗的能量;冻藏时间和扫描频率都相同时,ISP组样品的 G'' 均大于空白组样品,说明ISP自身对面团体系有增强作用。

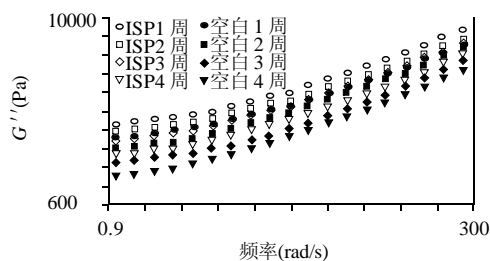
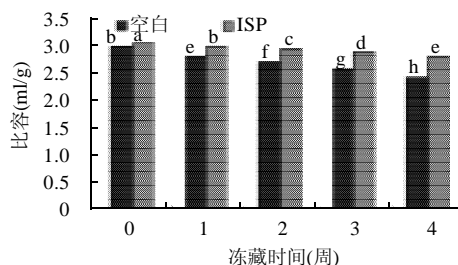


图5 ISP对冷冻面团黏性模量的影响
Fig.5 Effect of ISP on G'' of frozen dough

动态流变实验结果说明ISP在抑制冰晶重结晶、削弱冰晶对面团体系中面筋蛋白质网络结构破坏的同时,还能增强面筋蛋白质对冰晶破坏的抵抗能力。

2.3 ISP对冷冻面团包子比容的影响



同种条件不同时间的数据间不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

图6 ISP对冷冻面团包子比容的影响
Fig.6 Effect of ISP on specific volume of frozen dough

比容是体现发酵面制品质量的重要指标之一。图6显示了ISP对冷冻面团包子比容的影响。经过4周冻藏,空白组样品的比容从3.00ml/g减小到2.45ml/g,下降了18.3%;ISP组样品的比容从3.08ml/g减小到2.81ml/g,下降了8.7%,说明添加ISP后,包子比容随冻藏时间延长而减小的趋势得到了抑制。出现这一结果的可能原因是:冰晶的形成及重结晶一方面破坏了面筋蛋白网络结构,使其持气能力下降,另一方面也导致酵母细胞死亡,使其产气力下降,两者综合导致包子比容随着冻藏时间延长而减小,而ISP由于能够减少面团体系中可冻结水含量,且能够吸附在冰晶表面抑制冰晶形成和

重结晶,因而抑制了冰晶对冷冻面团中面筋蛋白质网络结构和酵母细胞的破坏,增大了包子中酵母的产气力和面团的持气能力,进而增大了包子的比容,这正印证了上述实验结果,即ISP能够增强酵母及面筋蛋白质抗冻性,进而增强面团中酵母产气能力及面筋蛋白质持气能力。

3 结 论

本研究结果表明,ISP和海藻糖都能够改善酵母的发酵产气特性,增强冻藏后酵母的产气能力,其中ISP的效果明显好于海藻糖;ISP能够改善相同冻藏时间和扫描频率下面团的流变学特性,增大其弹性模量 G' 及黏性模量 G'' ;ISP可以显著增大冻藏时间相同时包子的比容。这些结果说明ISP能够抑制冻藏过程中冰晶的形成和重结晶,减弱冰晶对酵母及面筋蛋白质网络结构的破坏,同时也说明ISP能够增强面筋蛋白质网络结构的强度,提高面筋蛋白质对冰晶破坏的抵抗力。

参考文献:

- [1] 陈明燎. 冷冻面团技术[J]. 食品科学, 1998, 19(8): 14-16.
- [2] INOUE Y, BUSHUK W. Studies on frozen dough. I. Effects of frozen storage and freeze-thaw cycles on baking rheological properties[J]. Cereal Chemistry, 1991, 68: 627-631.
- [3] VARRIANO-MARSTON E, HSU K H, MAHDI J. Rheological and structural changes in frozen dough[J]. Baker's Digest, 1980, 54(1): 32-34; 41.
- [4] NEYRENEUF O, DELPUECH B. Freezing experiments on yeasted dough slabs. Effects of cryogenic temperatures on the baking performance [J]. Cereal Chemistry, 1993, 70(1): 109-111.
- [5] KLINE L, SUGIHARA T F. Factors affecting the stability of frozen bread doughs. I. Prepared by straight dough method[J]. Baker's Digest, 1968, 42(5): 44-80.
- [6] SIDEBOTTOM C, BUCKLEY S. Heat-stable antifreeze protein from grass[J]. Nature, 2000, 406(6793): 249-251; 256-263.
- [7] YEH Y, FEENEY R E, MCKOWN R L, et al. Measurement of grain growth in the recrystallization of rapidly frozen solutions of antifreeze glycoproteins[J]. Biopolymers, 1994, 34(11): 1495-1504.
- [8] BARCENAS M E, ROSELL C M. Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par-baked bread[J]. Food Chemistry, 2006, 95(3): 438-445.
- [9] DEVRIES A L. The role of antifreeze glycopeptides and peptides in the freezing avoidance of antarctic fishes[J]. Comp Biochem Physiol, 1988, 90(3): 611-621.
- [10] GRIFITH M, ALA P S C, YANG D, et al. Antifreeze proteins produced endogenously in winter rye leaves[J]. Plant Physiol, 1992, 100(2): 593-596.
- [11] WORRALL D, ELIAS L, ASHFORD D, et al. A carrot leucine-rich-repeat protein that inhibits ice recrystallization[J]. Science, 1998, 282(2): 115-117.
- [12] MICHAEL W, ROBERT W, RON B, et al. Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: A dehydrin from peach (*Prunus persica*) [J]. Physiologia Plantarum, 1999, 105(4): 600-608.
- [13] 费云标, 孙龙华, 黄涛, 等. 沙冬青高活性抗冻蛋白的发现[J]. 植物学报, 1994, 36: 649-650.
- [14] 王维香, 魏令波, 张虎. 沙冬青热稳定抗冻蛋白的分离纯化及其部分性质研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2007, 44(4): 912-917.
- [15] 刘尚, 廖祥儒, 张建国, 等. 一种女贞叶抗冻蛋白的分离纯化[J]. 植物学通报, 2007, 24(4): 505-510.
- [16] 黄卫宁. 冰结构蛋白: GB2760 新成员[N]. 中国食品报, 2006-08-22(6).
- [17] PAYNE S R, SANDFORD D, HARRIS A, et al. The effects of antifreeze proteins on chilled and frozen meat[J]. Meat Science, 1994, 37(3): 429-438.
- [18] 周美玲, 邹奇波, 黄卫宁, 等. 冰结构蛋白影响冷冻面团及面包体系发酵烘焙与热力学特性的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(11): 125-129.
- [19] 潘振兴, 邹奇波, 黄卫宁, 等. 冰结构蛋白对长期冻藏冷冻面团抗冻发酵特性与超微结构的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 39-42.
- [20] XU H N, HUANG W N, JIA C L, et al. Evaluation of water holding capacity and breadmaking properties for frozen dough containing ice structuring proteins from winter wheat[J]. Journal of Cereal Science, 2009, 49(2): 250-253.