

不同温度发酵的全麦酸面团质量评价及乳酸菌多样性分析和选育

王博, 张维清, 高涵, 王超, 刘玉春, 郭超

Quality Evaluation of Whole Wheat Sourdough Fermented at Different Temperatures and Diversity Analysis and Breeding Selection of Lactic Acid Bacteria

WANG Bo, ZHANG Weiqing, GAO Han, WANG Chao, LIU Yuchun, and GUO Chao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024060141>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

乳酸菌冻干粉剂发酵全麦酸面包工艺优化及储藏特性分析

Process Optimization and Storage Characteristics Analysis of Lactic Acid Bacteria Lyophilized Powder Fermented Whole Wheat Sourdough Bread

食品工业科技. 2023, 44(12): 172-184 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022080230>

基于高通量测序技术的不同产地腐乳微生物多样性分析

Microbial Diversity Analysis of Sufu from Different Origins Based on High-throughput Sequencing

食品工业科技. 2023, 44(2): 134-142 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030065>

摩洛哥发酵橄榄汁中乳酸菌的分离鉴定及其多样性研究

Isolation, Identification and Diversity of Lactic Acid Bacteria from Fermented Olive Juice in Morocco

食品工业科技. 2021, 42(9): 108-113 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070385>

鄂尔多斯地区酸粥细菌多样性分析及乳酸菌的分离鉴定

Bacterial Diversity Analysis of Sour Porridge from Ordos and Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria

食品工业科技. 2023, 44(9): 153-159 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022060261>

乳酸菌全基因组测序的应用进展

Application Progress of Lactic Acid Bacteria Whole Genome Sequencing

食品工业科技. 2022, 43(15): 444-450 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080128>

乳酸菌发酵酸面团对青麦仁面包品质的影响

Effect of Sourdough Fermented by *Lactobacillus* on the Quality of Green Wheat Kernel Bread

食品工业科技. 2021, 42(1): 61-67,74 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020030018>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王博, 张维清, 高涵, 等. 不同温度发酵的全麦酸面团质量评价及乳酸菌多样性分析和选育 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 182–191. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060141

WANG Bo, ZHANG Weiqing, GAO Han, et al. Quality Evaluation of Whole Wheat Sourdough Fermented at Different Temperatures and Diversity Analysis and Breeding Selection of Lactic Acid Bacteria[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 182–191. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060141

· 生物工程 ·

不同温度发酵的全麦酸面团质量评价及乳酸菌多样性分析和选育

王 博¹, 张维清^{2,*}, 高 涵³, 王 超², 刘玉春², 郭 超²

(1. 甘肃工业职业技术学院, 甘肃天水 741025;

2. 国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037;

3. 辽宁农业职业技术学院, 辽宁营口 115009)

摘要: 为探究发酵温度对全麦酸面团质量及乳酸菌多样性的影响, 利用全长高通量测序技术系统解析不同温度发酵的全麦酸面团在成熟过程中细菌群落结构及其演替规律, 通过理化分析评价酸面团质量, 采用传统培养法分离优势菌种并从中筛选特异菌株。结果表明, 发酵温度对酸面团的质量特征存在显著影响, 随发酵温度升高, 酸面团成熟时的 pH 从 4.18 降低到 3.87, 总滴定酸度 (Total titratable acidity, TTA) 从 15.0 mL 增加到 24.0 mL, 发酵温度 $\geq 30^{\circ}\text{C}$ 时, 成熟酸面团总抗氧化活性、类黄酮和氨基酸含量显著增加 ($P < 0.05$), 高温发酵可赋予全麦酸面团更好的质量特征。不同温度发酵成熟的全麦酸面团中优势乳酸菌存在显著物种差异, 20°C 和 25°C 以弯曲乳杆菌为主, 30°C 以弯曲乳杆菌和乳酸片球菌为主, 37°C 以桥粘液乳杆菌为主。通过酶活力筛选, 乳酸菌 (Lactic acid bacteria, LAB) LAB 31 弯曲乳杆菌的纤维素酶活最高, 为 $77.92 \pm 2.26 \text{ U/L}$, LAB 22 乳酸片球菌的淀粉酶活最高为 $42.19 \pm 4.12 \text{ U/L}$ 。该研究为全麦发酵食品发酵剂的开发提供了一定的理论依据与菌种资源。

关键词: 发酵温度, 全麦酸面团, 乳酸菌, 高通量测序技术, 微生物多样性

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)08-0182-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024060141

本文网刊:



Quality Evaluation of Whole Wheat Sourdough Fermented at Different Temperatures and Diversity Analysis and Breeding Selection of Lactic Acid Bacteria

WANG Bo¹, ZHANG Weiqing^{2,*}, GAO Han³, WANG Chao², LIU Yuchun², GUO Chao²

(1. Gansu Industry Polytechnic College, Tianshui 741025, China;

2. Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China;

3. Liaoning Agricultural Vocation and Technical College, Yingkou 115009, China)

Abstract: To investigate the impact of fermentation temperature on the quality and biodiversity of lactic acid bacteria (LAB) in whole wheat sourdough, full-length high-throughput sequencing technology was applied to systematically analyze the community structure and succession patterns of bacterial communities in sourdough samples fermented at different temperatures during the maturation process. Sourdough quality was assessed by physicochemical analysis, and dominant bacterial strains were isolated using traditional cultivation methods and then screened for unique characteristics. The results indicated that high temperature fermentation could impart better quality characteristics to whole wheat sourdough. There

收稿日期: 2024-06-11

基金项目: 甘肃省自然科学基金青年科技基金项目 (23JRRE0735); 甘肃工业职业技术学院: 2023 年度校级重点科研项目 (gsgzxy20230101); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目 (ZX2226)。

作者简介: 王博 (1993-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品微生物, E-mail: wbo9311@163.com。

* 通信作者: 张维清 (1988-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 分子生物学, E-mail: zwqing119@126.com。

was a significant effect of fermentation temperature on sourdough quality characteristics. The pH of the matured sourdough decreased from 4.18 to 3.87 and the total titratable acidity (TTA) increased from 15.0 mL to 24.0 mL with increasing fermentation temperature. The total antioxidant activity, flavonoids and amino acid content of ripened sourdough increased significantly when the fermentation temperature was not lower than 30 °C ($P<0.05$). There were significant differences in the dominant lactic acid bacteria between ripened whole wheat sourdough fermented at different temperatures. The *Latilactobacillus curvatus* predominated at 20 °C and 25 °C, and both *Latilactobacillus curvatus* and *Pediococcus acidilactici* were prevalent at 30 °C. The *Limosilactobacillus pontis* became the dominant strain when the fermentation temperature was increased to 37 °C. Enzyme activity screening revealed that LAB 31, identified as *Latilactobacillus curvatus*, had the highest cellulase activity of 77.92 ± 2.26 U/L and LAB 22, identified as *Pediococcus acidilactici*, had the highest amylase activity of 42.19 ± 4.12 U/L. This study is expected to provide a theoretical basis and bacterial resources for the development of starter cultures for whole wheat fermentation foods.

Key words: fermentation temperature; whole wheat sourdough; lactic acid bacteria; high-throughput sequencing technology; biodiversity

酸面团发酵是谷物食品生产中最古老的生物工艺技术之一, 其对全麦发酵食品的感官品质、营养价值、货架期等所产生积极影响已成为共识^[1-3]。面团发酵过程中形成了以乳酸菌和酵母菌为主的独特的微生物生态系统, 它们进行着复杂的生命活动和代谢相互作用, 影响着酸面团的发酵性能。但由于谷物和发酵温度的多样性, 在世界各地的酸面团中发现的乳酸菌群各不相同, 刘同杰^[4]分析对比了我国 15 个地区的传统酸面团(小麦粉为发酵基质)优势菌株, 发现旧金山乳杆菌和酿酒酵母分别是优势乳酸菌和酵母菌。Elif 等^[5]研究发现无壳大麦酸面团中的优势乳酸菌为乳酸片球菌。Rodríguez 等^[6]研究发现, 莴苣籽粉酸面团中的优势乳酸菌为植物乳杆菌。此外, 发酵温度也会影响酸面团中乳酸菌/酵母菌的比例及同型发酵乳酸菌与异型发酵乳酸菌之间的平衡^[7], 进而对酸面团的发酵性能产生影响。Hilal 等^[8]报道, 在初始菌落数无显著差异情况下, 30 °C 发酵的酸面团显示出比 25 °C 更高的乳酸菌计数水平, 更快的酸化速率, 但酵母菌的数量并无显著差异。

全长高通量测序技术是基于 PacBio 测序平台, 利用单分子实时测序的方法对 marker 基因进行测序, 具有长读长、高通量、快速等优点^[9]。孙蒙等^[10]利用高通量测序解析了契达奶酪在加工过程中菌群结构多样性变化。孙洁等^[11]对锡林郭勒的鲜奶样品进行宏基因组测序分析, 从 6 份鲜奶样品共分离出 47 株菌, 鉴定出优势菌种为乳酸乳球菌。但利用高通量测序技术探究发酵温度对全麦酸面团中优势乳酸菌的影响鲜有报道。通过物种注释及丰度分析, 可揭示全麦酸面团中的微生物构成; 通过微生物多样性分析、显著物种差异分析和相关性分析等, 可挖掘不同温度发酵成熟的全麦酸面团间的微生物差异。利用此技术可实现全麦酸面团乳酸菌群多样性组成谱的“高分辨率”解析。

本文通过传统培养法和全长高通量测序技术系统解析全麦酸面团成熟过程中细菌群落结构及其演替规律。分析不同发酵温度对全麦酸面团中优势乳

酸菌种类及酸面团质量特征的影响, 筛选并鉴定具有高纤维素酶活、淀粉酶活等关键功能的乳酸菌株, 以期选育出适用于全麦发酵食品的乳酸菌, 研发发酵性能优良的全麦酸面团, 推动全麦发酵食品主食化发展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

全麦高筋面粉 鲍勃红磨坊; 细菌基因组 DNA 提取试剂盒(DP302) 天根生化科技(北京)有限公司; 纤维素酶(CL)活性检测试剂盒(BC2540-50T/24S)、 α -淀粉酶(α -AL)活性检测试剂盒(BC 0610-100T/48S)、总抗氧化能力检测试剂盒(BC 1315)、植物总酚(TP)含量检测试剂盒(BC 1345)、氨基酸(AA)含量检测试剂盒(BC1575)、还原糖含量检测试剂盒(BC0235)、植物类黄酮含量检测试剂盒(BC1330)、游离脂肪酸含量检测试剂盒(BC0595)、植酸含量检测试剂盒(BC5845)、MRS 肉汤培养基 北京索莱宝科技有限公司; 其它试剂来源于国药集团化学试剂有限公司, 均为分析纯。

VS-1300L 无菌操作台 苏州安泰空气技术有限公司; PYL-125 恒温培养箱 天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司; 多功能读板仪(酶标仪) 美国伯腾仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 全麦酸面团的制备 称取 50 g 全麦粉于无菌烧杯中, 加入 50 g 自来水, 用无菌玻璃棒充分搅拌混匀, 获得面团得率(Dough Yield, DY=100×(水+面粉)/面粉)为 200 的面团。将此面团在 20、25、30、37 °C 下发酵 24 h, 即为第 1 代酸面团 D1, 分别记为 T20D1、T25D1、T30D1 和 T37D1; 取 10 g D1 于无菌烧杯中并加入 45 mL 自来水和 45 g 全麦粉, 充分混匀, 再次发酵 24 h, 即为第 2 代酸面团 D2, 分别记为 T20D2、T25D2、T30D2 和 T37D2。依次类推, 取 10 g D(n) 于无菌烧杯中, 加入 45 mL 自来水和 45 g 全麦粉, 充分混匀, 发酵 24 h, 得

到 D(n+1), 连续多次传代后, 酸面团的 pH 保持稳定即为成熟酸面团, 分别记为 T20、T25、T30 和 T37。本实验制备的酸面团共传 30 代, 每代发酵 24 h, 共发酵 30 d。

1.2.2 全麦酸面团 pH 和总滴定酸度变化 取 10 g 自然发酵的全麦酸面团, 加入 90 mL 无 CO₂ 蒸馏水, 充分搅拌 30 min 后静置 10 min, 使用 pH 计测定稀释液的 pH。随后用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定稀释液至 pH8.3, 记录消耗的 NaOH 溶液总体积 (mL), 即为全麦酸面团的总滴定酸度 (Total titratable acidity, TTA)^[12]。

1.2.3 成熟全麦酸面团中乳酸菌与酵母菌计数 采用平板计数法对成熟酸面团中的乳酸菌和酵母菌计数。将 90 mL 0.85% 无菌盐水 (w/v) 与 10 g 成熟酸面团充分混合。取 1 mL 悬浮液按照 10 倍等梯度稀释至 10⁻⁹, 取 10⁻⁷~10⁻⁹ 倍系列稀释液 1 mL 于无菌培养皿中, 倒入灭菌的 MRS 和 YPD 培养基, 迅速混匀, 凝固后分别于 37 °C 和 28 °C 下倒置培养 72 h, 对乳酸菌和酵母菌进行计数。

1.2.4 成熟全麦酸面团营养价值测定 使用索莱宝试剂盒测定酸面团的总抗氧化活性 (Total Antioxidant Activity, T-AOC)、总酚、氨基酸、还原糖、类黄酮、游离脂肪酸的含量以及发酵前后的植酸降解率。其中 T-AOC 的测定是在酸性环境下, 通过检测 Fe³⁺-三吡啶三吖嗪 (Fe³⁺-TPTZ) 被还原产生蓝色的 Fe²⁺-TPTZ 的含量以反映总抗氧化能力; 总酚含量是通过测定碱性条件下, 酚类物质将钨钼酸还原所产生的蓝色化合物在 760 nm 处的吸光值确定。具体检测方法可参照官方网站 <https://www.solarbio.com/>。

1.2.5 全麦酸面团的微生物多样性分析 将成熟酸面团样品在超净工作台中分装, 用无菌采样杯密封后送至生物技术公司进行高通量测序分析。具体步骤为: 提取全麦酸面团样品总 DNA 后, 根据全长引物序列合成带有 Barcode 的特异引物, 进行 PCR 扩增并对其产物纯化、定量和均一化, 形成测序文库 (SMRT Bell), 基于 PacBio 测序平台, 利用单分子实时测序 (Single Molecule Real-Time Sequencing) 方法对 marker 基因进行测序, 然后对 CCS (Circular Consensus Sequencing) 序列进行过滤、聚类或去噪, 进行全麦酸面团进行全长微生物多样性 OUT 分析、全长微生物多样性指数分析、多样性物种注释及分类学分析等。

1.2.6 全麦酸面团中乳酸菌的鉴定和筛选

1.2.6.1 优势菌株的鉴定 利用十倍梯度浓度稀释法对成熟酸面团样品进行稀释, 选择合适的稀释梯度平板涂布培养, 挑单克隆菌落于摇菌管中培养 12~24 h; 使用“细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (DP302)”按说明书提取发酵液 DNA, 利用通用引物扩增并送检测公司测序; 在 NCBI BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 网站上比对分析, 找到与待鉴定菌株同源性最高的模式菌株, 对菌株进行鉴定。

1.2.6.2 特异菌株的筛选 纤维素酶发酵液制备^[13]: 将分离鉴定的菌体在 PYC 培养基 (PYC 培养基中包括羧甲基纤维素钠 10 g, 蛋白胨 5 g, 酵母浸粉 5 g, 磷酸氢二钾 1 g, 七水硫酸镁 0.2 g, 氯化钠 5 g, 水 1000 mL, pH6.0) 中活化 2 代, 再按 10% 的接种量接种, 37 °C、200 r/min 摆瓶连续培养 3 d。发酵结束后于 10000 r/min、4 °C 离心 10 min, 取上清液进行纤维素酶活的测定。

淀粉酶发酵液制备^[14]: 将分离鉴定的菌体在产淀粉酶液体培养基 (液体培养基中包括淀粉 10 g, 硫酸铵 2 g、氯化钠 5 g、硫酸亚铁 0.5 g、磷酸氢二钾 1 g、水 1000 mL, pH7.0) 中活化 2 代, 再按 10% 的接种量接种, 37 °C、200 r/min 摆瓶连续培养 24 h。发酵结束后于 10000 r/min、4 °C 条件离心 10 min, 取上清液进行淀粉酶活的测定。

纤维素酶和淀粉酶活的测定按索莱宝纤维素酶 (CL) 活性检测试剂盒 (BC2540-50T/24S) 和 α -淀粉酶 (α -AL) 活性检测试剂盒 (BC0610-100T/48S) 说明书进行。

1.3 数据处理

采用 Excel 2016 和 SAS 9.2 对数据进行统计分析, 运用方差分析方法 (ANOVA) 进行显著性分析 ($P<0.05$)。所有试验重复 3 次, 数据表示为平均值 \pm 标准偏差。

2 结果与分析

2.1 全麦酸面团的质量特征

2.1.1 pH 和 TTA 酸面团的酸度是其发挥发酵性能、提升全麦发酵食品风味、延长货架期的关键^[15], 快速酸化更利于抑制酸面团中杂菌的生长。由图 1 可知, 在不同发酵温度下, 全麦酸面团的 pH 均先下降后保持稳定, 相应地 TTA 先增加后趋于稳定, 当发酵温度高于等于 25 °C 时, 其 pH 在发酵 1~2 d 迅速下降, TTA 快速增加; 而 20 °C 发酵时, 面团的酸化速率较慢, 其 pH 在发酵 2~3 d 才开始迅速下降, 可能是由于低温发酵时乳酸菌生长繁殖较慢, 延滞期略有延长; 但所有酸面团达到稳定 pH 所需发酵时间并无显著区别, 均在 10 d 左右, TTA 达到稳定天数与 pH 基本相同, Hilal 等^[8] 也报道了相似的结果。

酸面团发酵成熟时的 pH ≤ 4.5 ^[16]。由图 1 可知, 随着发酵温度的升高, 酸面团成熟时的 pH 分别为 4.18、4.04、3.96 和 3.87, TTA 分别为 15.0、16.6、21.0 和 24.0 mL。明显地, 酸面团成熟时的 pH 与其发酵温度成反比、TTA 成正比, 不同温度发酵成熟的全麦酸面团的 pH 和 TTA 差异显著 ($P<0.05$)。在酸面团发酵过程中, 乳酸菌对全麦粉中碳水化合物的利用并产生乳酸是引起面团酸化的主要原因, 但过多的乳酸会导致面团中的面筋蛋白溶胀、水解, 破坏全麦

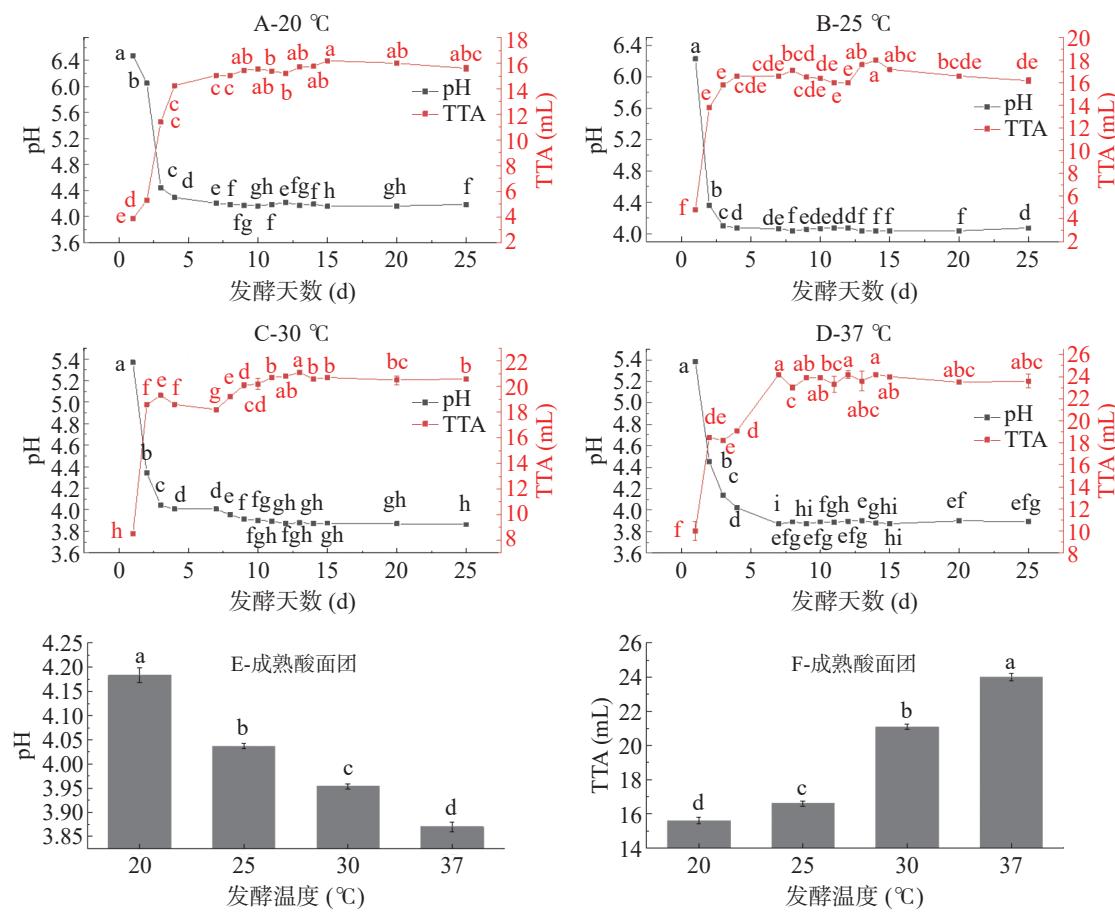


图 1 不同温度发酵的全麦酸面团 pH 和 TTA 随发酵时间的变化

Fig.1 Changes in pH and TTA of whole wheat sourdough with fermentation time at different fermentation temperatures

注: 图中相同指标的不同字母表示样品间差异显著($P<0.05$)。

发酵食品的质构^[1]。因此,具有良好产酸能力的乳酸菌的选育显得尤为重要,在实际生产中,也可根据产品需要,调整发酵温度,使酸面团快速达到产品所需的 pH 和 TTA,以发挥其最佳发酵性能。

2.1.2 菌落总数 乳酸菌和酵母菌的协同发酵对酸面团发酵性能的改善、腐败微生物生长的抑制及全麦发酵食品货架期的延长、营养价值的提高、风味挥发和风味辅助物质的形成等方面起到了积极的作用^[17-19]。在酸面团发酵前期,体系的 pH 相对较高,乳酸菌尚未大量繁殖,酵母菌为优势菌株,其产生的大量 CO_2 气体使酸面团的体积迅速增加,如图 2 所

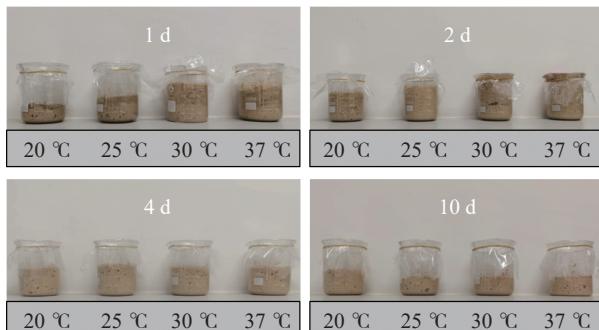


图 2 全麦酸面团发酵体积的变化

Fig.2 Changes in fermentation volume of whole wheat sourdough

示,所有酸面团的体积在发酵第 2 d 达到最大,且最大发酵体积与发酵温度成正比;随着发酵的进行,乳酸菌大量繁殖,体系的 pH 迅速下降,抑制了酵母菌的生长,产生的 CO_2 减少,发酵体积随之减小,与 2.1.1 的变化趋势一致。

全麦酸面团逐渐成熟,体系的 pH 和发酵体积趋于稳定,酵母菌与乳酸菌的数量保持平衡,根据工业和信息化部颁发的轻工标准 QB/T 5756-2022《酸面

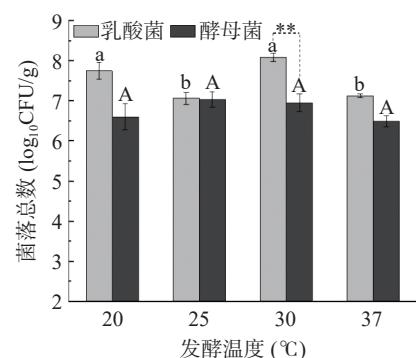


图 3 发酵温度对成熟全麦酸面团菌落总数的影响

Fig.3 Effect of fermentation temperature on the total number of bacterial colonies in mature whole wheat sourdough

注: 图中小写字母表示各组样品间乳酸菌数量差异显著($P<0.05$),大写字母表示各组样品间酵母菌数量差异显著($P<0.05$),**表示组间差异极显著($P<0.01$)。

团》,成熟活性酸面团中乳酸菌总数 $\geq 1\times 10^6$ CFU/g,酵母菌总数 $\geq 1\times 10^5$ CFU/g。不同温度发酵成熟的酸面团菌落总数如图3所示,所有全麦酸面团的菌落总数均符合标准,乳酸菌的菌落总数总是大于酵母菌,其中,30℃发酵的酸面团中乳酸菌与酵母菌的数量差异极为显著($P<0.01$)。发酵温度对酸面团中酵母菌的菌落总数无显著影响($P>0.05$),与以往的报道一致^[8],25℃发酵时,酵母菌菌落总数最高,为 1.09×10^7 CFU/g。但30℃和20℃发酵的酸面团中乳酸菌菌落总数显著高于其余两组($P<0.05$),其中30℃发酵时,乳酸菌菌落总数最高,为 1.21×10^8 CFU/g;在发酵成熟的酸面团中,乳酸菌与酵母菌典型的数量比为乳酸菌:酵母菌=100:1或10:1,因此,可通过调控酸面团中乳酸菌与酵母菌的比例,使全麦发酵食品达到理想的品质。

2.1.3 全麦酸面团的营养价值 与精制小麦粉相比,全麦粉因保留了小麦中的麸皮和胚芽等成分,营养素密度更高,但对于全麦食品生产来说,麸皮和胚芽的存在增加产品出现氧化酸败、感官缺陷等质量风险,而酸面团发酵可有效改善全麦粉在生产中的弊端。由表1可知,全麦粉经自然发酵后,T-AOC和总酚含量显著增高($P<0.05$),类黄酮的含量升高,尤其是

30℃和37℃发酵成熟的全麦酸面团中类黄酮的含量显著增加($P<0.05$),酚类、类黄酮等活性物质的增加,可增强酸面团及其发酵食品的抗氧化性、降低淀粉老化速度,更好地维持全麦食品的质地与口感,延长货架期。发酵后,体系内还原糖的含量显著增加($P<0.05$),但发酵温度越高,成熟酸面团中的还原糖含量越低,可能是由于温度升高,微生物的代谢活动增强、具有较强糖代谢水平的乳酸菌成为优势菌种,消耗了大量的还原糖。全麦粉发酵后,游离脂肪酸(25℃除外)、氨基酸含量的显著增加($P<0.05$)有利于酯类、羧基化合物和有机酸等可提高全麦食品滋味的挥发性化合物的形成,其中30℃和37℃发酵成熟的酸面团中氨基酸的含量是全麦粉的4倍以上。此外,全麦粉经发酵后,植酸降解率均在92%以上,植酸含量的大幅降低,减少了其与Ca、K、Mg、Fe和Zn等阳离子的螯合,增加了矿物质和小麦蛋白的生物利用率。综上,全麦酸面团的营养和应用价值明显优于未经发酵的全麦粉,适当地提高发酵温度(≥ 30 ℃)可赋予全麦酸面团更好的质量特征。

2.2 全麦酸面团中的微生物多样性

2.2.1 细菌多样性数据评估及OTU分析 由全麦酸面团中细菌高通量测序结果(表2)可知,各组序列

表1 发酵温度对全麦酸面团理化特性的影响

Table 1 Effect of fermentation temperature on the physicochemical properties of whole wheat sourdough

指标	全麦粉	自然发酵全麦酸面团发酵温度(℃)			
		20	25	30	37
植酸降解率(%)	—	95.88 ^a	92.75 ^b	97.25 ^a	96.23 ^a
T-AOC(μmol/g)	0.16±0.01 ^d	0.25±0.02 ^b	0.25±0.01 ^b	0.35±0.01 ^a	0.20±0.01 ^c
总酚(mg/g)	2.30±0.1 ^c	2.92±0.03 ^b	3.39±0.04 ^a	3.04±0.07 ^b	3.46±0.1 ^a
类黄酮(μmol/g)	2.13±0.04 ^b	2.24±0.08 ^b	2.29±0.15 ^b	2.52±0.09 ^a	2.51±0.12 ^a
还原糖(mg/g)	12.08±0.52 ^c	104.03±0.35 ^a	56.23±1.09 ^b	21.71±0.99 ^c	14.17±0.4 ^d
氨基酸(μmol/g)	177.14±48.68 ^d	521.54±26.76 ^c	677.79±23.26 ^b	717.01±35.74 ^b	784.88±25.77 ^a
游离脂肪酸(μmol/g)	1.22±0.09 ^c	1.46±0.08 ^{ab}	1.34±0.09 ^{bc}	1.48±0.1 ^{ab}	1.51±0.07 ^a

注:数据表示为平均值±标准差;同一行中不同小写字母表示各组样品间差异显著($P<0.05$)。

表2 全麦酸面团细菌高通量测序结果

Table 2 High throughput sequencing results of bacteria in whole wheat sourdough

样品编号	温度(℃)	天数(d)	测序数据评估	
			有效序列(条)	序列有效率(%)
C	常温	0	8254	99.17
T20D2		2	14301	99.98
T20D4	20	4	13557	99.00
T20D10		10	13240	99.87
T25D2		2	12459	98.34
T25D4	25	4	13676	99.94
T25D10		10	13154	99.98
T30D2		2	12295	99.55
T30D4	30	4	12841	99.89
T30D10		10	13677	99.56
T37D2		2	13110	99.19
T37D4	37	4	12763	99.96
T37D10		10	13704	99.99

注:C-对照组,未发酵的全麦面团。

有效率均在 99% 以上, 发酵组的有效序列数均高于未发酵组(8254 条), 说明发酵后, 全麦酸面团中的细菌生物量显著增加($P<0.05$)。

为了更直观地表征不同全麦酸面团中细菌的相似性及差异性, 利用 Usearch 软件在 97.0% 的相似度水平下进行聚类, 获得 OTU 信息, 并用 VENN 图统计其共有、特有的 OTU 数目^[20-21]。图 4a 为不同酸面团 OTUs 个数分布情况, 发酵组 OTUs 数量均显著低于未发酵的对照组, 且随发酵时间的延长, OTUs 数量逐渐减少, 说明发酵后全麦酸面团中的细菌种类明显减少, 优势乳酸菌株凸显并保持稳定, 其中 20 ℃ 发酵的全麦酸面团 OTUs 数量下降最为迅速且成熟后 OTUs 数量最低, 可能是因为低温发酵时, 大部分细菌生长受限制, 只有少部分适低温菌得以快速生长。由图 4b 可知, 20、25、30、37 ℃ 发酵成熟的全麦酸面团特有 OTUs 分别为 4、11、10 和 7 个, 占各自 OTUs 总数的 21.05%、39.29%、33.33% 和 29.17%; 共有的 OTUs 8 个, 只占 OTUs 总数 7.92%。因此, 不同温度发酵成熟的全麦酸面团细菌菌群结构差异显著。

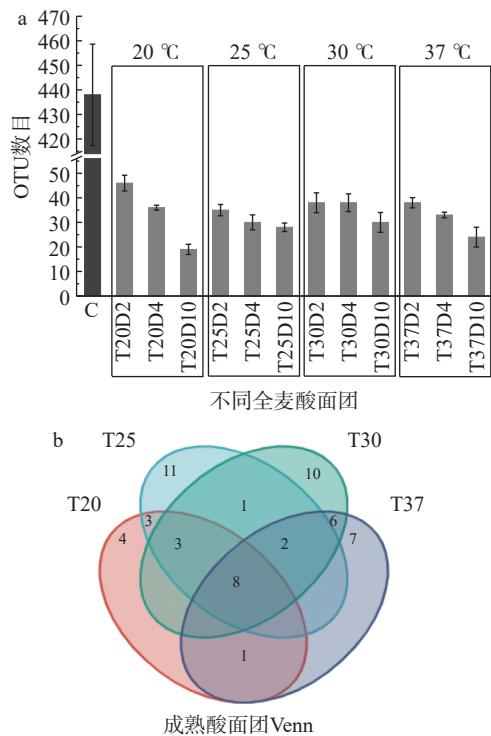


图 4 微生物多样性 OTU 分析

Fig.4 OTU analysis of microbial diversity

注: (a)酸面团成熟过程中 OTUs 变化; (b)成熟酸面团 OTUs 差异性。

2.2.2 细菌多样性注释及菌群结构分析 如图 5 所示, 未发酵的全麦面团与发酵后存在显著的菌群结构差异, 成为一个单独分支。发酵进行到第 4 d 和第 10 d 时, 从 1 个主支上又分化出 2 个单独分支, 说明全麦酸面团的发酵可划分为前(0~2 d)、中(2~4 d)和后(4~10 d)3 个阶段, 其发酵过程的细菌菌落在门、属和种水平上的丰度变化如图 6 所示。由图 6a 可

知全麦面团未发酵时(Control), 门水平相对丰度大于 1% 的菌群共 3 个, 分别为变形菌门(Proteobacteria, 89.58%)、厚壁菌门(Firmicutes, 4.68%)和拟杆菌门(Bacteroidota, 1.48%), 优势菌门为变形菌门。发酵前期, 其优势菌门依然为变形菌门, 但相对丰度下降到 53.40%~69.43%; 发酵中期, 优势菌门转变为厚壁菌门, 相对丰度达到了 93.87%(20 ℃)、98.11%(25 ℃)、98.41%(30 ℃)和 98.62%(37 ℃), 发酵温度越高, 其相对丰度越高, 优势越明显; 发酵后期, 厚壁菌门逐渐占据优势, 相对丰度达到了 96.27%~99.60%, 而变形菌门相对丰度下降到了 0.37%~3.66%。在全麦酸面团发酵成熟的过程中, 优势菌门由变形菌门演替为厚壁菌门的趋势与以往的研究结果一致^[22]。

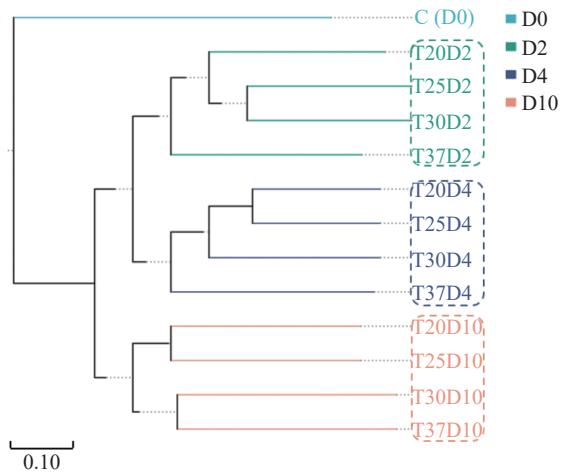


图 5 UPGMA 分析

Fig.5 Unweighted pair group method with arithmetic mean analysis

由图 6b 可知全麦面团未发酵时, 属水平相对丰度大于 1% 的菌群共 4 个, 分别为芽孢杆菌属(52.48%)、黄单胞杆菌属(28.16%)和泛菌属(4.39%)。发酵前期, 全麦酸面团中的优势菌属均以泛菌属、科萨克氏菌属和乳球菌属为主; 从发酵中期开始, 不同温度发酵的全麦酸面团优势菌属及其丰度出现差异, 20 ℃ 发酵的优势菌属从乳球菌属(90.77%)演替为后期的乳杆菌属(94.33%), 而 25 ℃ 优势菌属始终为乳杆菌属(中期 95.16%, 末期 96.91%); 30 ℃ 和 37 ℃ 发酵中期的优势菌属均为乳杆菌属, 30 ℃ 发酵后期转变为乳杆菌属(53.76%)和片球菌属(42.7%)共存, 37 ℃ 发酵后期的优势菌属为粘液乳杆菌属(99.58%)。在全麦酸面团发酵成熟过程中, 其优势菌属的演替规律与 Ercolini 等^[23]的报道具有一定的相似性。

不同发酵基质和发酵条件的酸面团中优势酵母菌大多以酿酒酵母为主, 但优势乳酸菌差异较大, 包括植物乳杆菌、戊糖片球菌、旧金山乳杆菌、食窦魏斯氏菌以及瑞士乳杆菌等^[24-26]。由图 6c 可知全麦面团未发酵时, 种水平相对丰度大于 1% 的菌种共

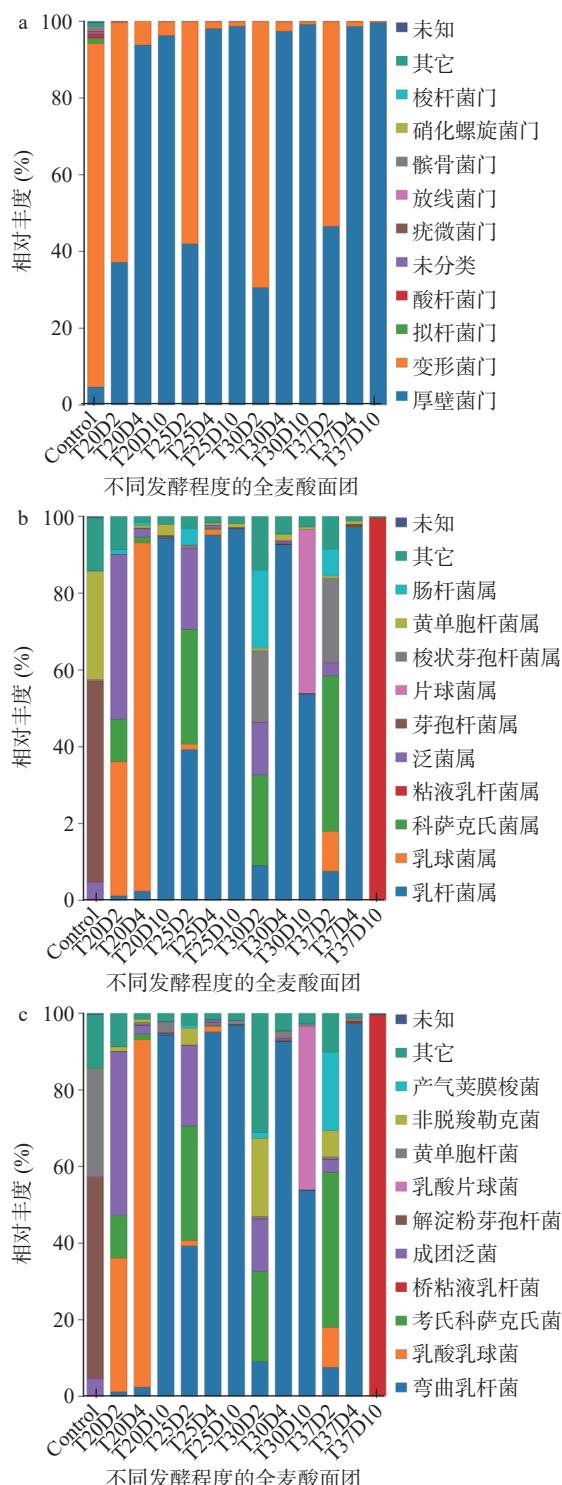


图 6 全麦酸面团在门(a)、属(b)、种(c)水平上细菌菌落结构

Fig.6 Microbial community composition in whole wheat sourdough at phylum (a), genus (b) and species (c) levels

3个,分别为解淀粉芽孢杆菌(52.48%)、黄单胞杆菌(28.15%)和成团泛菌(4.39%)。发酵前期,优势菌种为成团泛菌、考氏科萨克菌、乳酸乳球菌、弯曲乳杆菌和产气荚膜梭菌;发酵中期,其优势菌种转变为乳酸乳球菌和弯曲乳杆菌;发酵后期,温度对酸面团中优势菌种的影响开始显现,20 ℃和25 ℃发酵的优势均属为弯曲乳杆菌(20 ℃, 94.33%; 25 ℃, 96.91%),30 ℃发酵时,弯曲乳杆菌(53.76%)与乳酸

片球菌(42.7%)共存作为优势菌属,37 ℃发酵的优势菌属为桥粘液乳杆菌(99.58%)。

2.2.3 Alpha 多样性指数分析 利用 QIIME2 2020.6 软件对成熟全麦酸面团中细菌 Alpha 多样性指数进行评估^[27]。所有酸面团样品的覆盖度(Coverage)均不小于 0.999,表明测序数据覆盖了样品中几乎所有细菌种类,能够真实地表征全麦酸面团细菌丰富度和多样性,数据有效性高,可用于后续分析。

Simpson 指数和 Shannon 指数综合考虑了群落的丰富度和均匀度,用来衡量样本物种菌群多样性,其越大,说明该样本物种多样性越高;Chao1 指数和 ACE 指数常用来估计物种总数,用来衡量样本物种

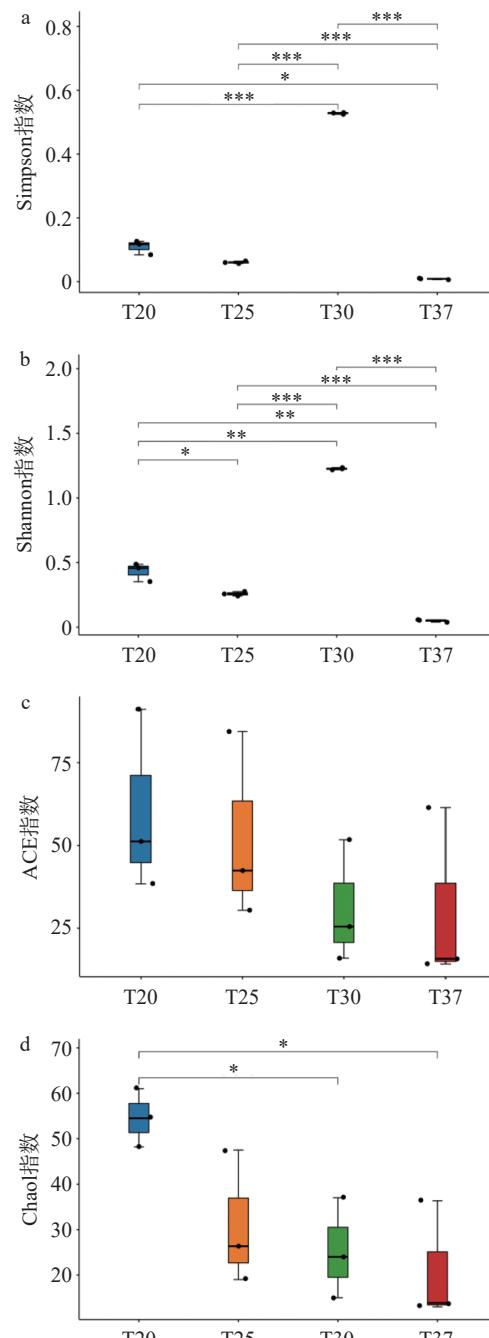


图 7 成熟全麦酸面团细菌群落 Alpha 多样性分析

Fig.7 Alpha diversity analysis of bacterial communities in mature whole wheat sourdough

菌群丰富度, 其越大, 说明该样本物种数越多。全麦酸面团细菌群落多样性和物种丰富度如图 7 所示。由图 7a、图 7b 可知, 不同温度发酵成熟的全麦酸面团细菌菌群多样性间差异显著($P<0.05$), 30 ℃ 发酵成熟的全麦酸面团 Simpson 指数和 Shannon 指数最大, 该酸面团的物种多样性最高, 优势乳酸菌的种类也更为丰富。由图 7c、图 7d 可知, 全麦酸面团的 Chao1 指数和 ACE 指数随发酵温度升高逐渐减小, 即酸面团物种丰富度随发酵温度升高逐渐下降, 其中 20 ℃ 发酵成熟的全麦酸面团细菌菌种丰富度与 30 ℃ 和 37 ℃ 的差异显著($P<0.05$), 表明发酵温度越高, 其优势菌种也越明显。

2.2.4 Beta 多样性指数分析 使用 QIIME 软件进行 Beta 多样性分析, 以比较不同温度发酵成熟全麦酸面团细菌群落多样性。基于 Binary jaccard 算法的 PCoA 分析显示(图 8a), T30 和 T37 的置信椭圆区域相互靠近并有部分重叠, 与 T20、T25 距离较远, 表明 30 ℃、37 ℃ 发酵成熟的全麦酸面团细菌群落组成和丰富度具有一定的相似性。再经偏最小二乘法判别分析(Partial Least Squares Discrimination Analysis, PLS-DA)(图 8b), T20 和 T25 不与任何样品处于同一象限中, 表明 20 ℃ 和 25 ℃ 发酵成熟的全麦酸面团中的细菌菌落组成和丰富度与其他全麦酸面团差异显著; 而 T30 和 T37 在同一象限且有重

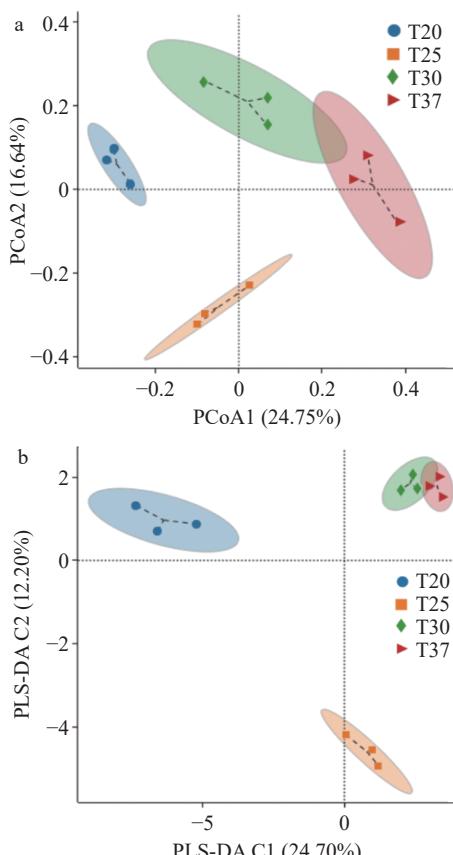


图 8 成熟全麦酸面团细菌菌落 Beta 多样性分析

Fig.8 Beta diversity analysis of bacterial colonies in mature whole wheat sourdough

叠区域, 说明 30 ℃ 和 37 ℃ 发酵成熟的全麦酸面团细菌菌落和丰富度无显著差异, 与 PCoA 分析法结论相一致。

2.3 成熟全麦酸面团中优势乳酸菌株的鉴定及筛选

2.3.1 乳酸菌的鉴定 将成熟全麦酸面团样品中分离出的菌株 16S rRNA 基因序列与 NCBI 数据库中已有菌株的 16S rRNA 序列进行同源性比对后, 共鉴定出微生物菌种 125 个, 主要菌株为弯曲乳杆菌、乳酸片球菌、乳酸乳球菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌、解淀粉芽孢杆菌等。

2.3.2 特异性乳酸菌株的筛选 淀粉酶、木聚糖酶和纤维素酶等酶类单独或协同作用会使全麦面团的软化度、耐搅拌指数、粘性和延展性增加^[28], 将发酵和酶处理相结合改善麸皮对全麦发酵食品品质的消极影响已成为了一种新型的生物技术^[29], 因此, 筛选高酶活菌株对改善全麦发酵食品品质具有重要意义。从 2.3.1 已鉴定出的乳酸菌中筛选 60 株作为候选菌, 其纤维素酶活和淀粉酶活测定结果见表 3(表中仅展示有代表性的 10 株乳酸菌酶活数据)。不同乳酸菌菌株的纤维素酶活和淀粉酶活相差较大, 其中 LAB 31 菌株的纤维素酶活最高为 77.92 ± 2.26 U/L, 经 DNA 鉴定为弯曲乳杆菌。纤维素酶可促进全麦粉中麸皮的水解, 释放出与纤维素紧密结合的酚类物质、维生素和阿拉伯木聚糖等, 增加可溶性膳食纤维的含量, 对全麦粉中麸皮结构改善和营养素生物利用率的提高起到了积极的作用^[30]。而乳酸菌发酵过程中产生的淀粉酶可提高全麦发酵食品的感官风味且有益于延缓淀粉的老化; 高淀粉酶活还可以增强菌株的发酵能力, 减弱面团发酵过程中与酵母菌对全麦粉中可溶性碳水化合物的竞争利用^[31]。经酶活测定, LAB 22 菌株的淀粉酶活最高, 为 42.19 ± 4.12 U/L, DNA 鉴定为乳酸片球菌, 是酶活最低的 LAB 36 菌株(9.36 ± 4.65 U/L)的 4.5 倍。因此, LAB 31 和 LAB 22 菌株具有较大的生物技术潜力开发高发酵性能的全麦酸面团发酵剂。

表 3 乳酸菌的纤维素酶活和淀粉酶活
Table 3 Cellulase activity and amylase activity of lactic acid bacteria

菌株编号	纤维素酶活(U/L)	淀粉酶活(U/L)
LAB 1	77.47 ± 2.34	16.78 ± 8.67
LAB 2	48.02 ± 5.46	40.68 ± 8.82
LAB 31	77.92 ± 2.26	19.90 ± 2.5
LAB 4	44.69 ± 5.61	31.31 ± 3.67
LAB 5	65.88 ± 4.48	40.09 ± 7.9
LAB 22	46.66 ± 4.7	42.19 ± 4.12
LAB 7	43.44 ± 4.77	11.4 ± 2.68
LAB 8	69.71 ± 2.28	21.71 ± 3.1
LAB 9	68.62 ± 5.85	38.96 ± 6.1
LAB 36	69.45 ± 3.64	9.36 ± 4.65

3 结论

发酵温度对全麦酸面团的质量特性和乳酸菌多

样性具有显著影响。适当地提高发酵温度($\geq 30^{\circ}\text{C}$)可加快酸面团的酸化速率,获得较低pH的成熟酸面团,其T-AOC、总酚、类黄酮、氨基酸、游离脂肪酸的含量和植酸降解率均处于较高水平,赋予全麦酸面团更好的质量特征。全麦酸面团在不同温度发酵成熟过程中,优势菌门都由变形菌门演替为厚壁菌门,但优势乳酸菌属和菌种并不相同,其中 20°C 和 25°C 发酵成熟的全麦酸面团中优势菌属为乳杆菌属(94.33%和96.91%), 30°C 为乳杆菌属(53.76%)和片球菌属(42.7%)共存, 37°C 为粘液乳杆菌属(99.58%); 20°C 和 25°C 发酵成熟的全麦酸面团中优势乳酸菌是弯曲乳杆菌(94.33%和96.91%), 30°C 发酵成熟的全麦酸面团中优势乳酸菌为弯曲乳杆菌(53.76%)和乳酸片球菌(42.7%), 37°C 发酵成熟的全麦酸面团的中优势乳酸菌是桥粘液乳杆菌(99.58%)。通过系统解析全麦酸面团中乳酸菌的组成,从中选育出的高纤维素酶活LAB31弯曲乳杆菌($77.92\pm2.26\text{ U/L}$)和高淀粉酶活LAB22乳酸片球菌($42.19\pm4.12\text{ U/L}$)具有较大的潜力开发高发酵性能的全麦酸面团发酵剂。该研究可为全麦酸面团发酵剂的研发、发酵性能的标准化、安全使用和质量管理等方面提供积极引导。本研究只探讨了发酵温度对全麦酸面团中乳酸菌的影响及其演替规律,而酸面团中的酵母菌对其发酵性能的发挥同样具有至关重要的作用,有待进一步解析。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] SUN X Y, WU S M, LI W, et al. Effects of ingredient and processing conditions on the rheological properties of whole wheat flour dough during breadmaking: A review [J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 135: 1–11.
- [2] 田梦洋, 田霞, 王志伟, 等. 乳酸菌冻干粉剂发酵全麦酸面包工艺优化及储藏特性分析 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(12): 172–184. [TIAN Mengyang, TIAN Xia, WANG Zhiwei, et al. Process optimization and storage characteristics analysis of lactic acid bacteria yophilized powder fermented whole wheat sourdough bread [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(12): 172–184.]
- [3] LAU S W, CHONG A Q, CHIN N, et al. Sourdough microbiome comparison and benefits [J]. *Microorganisms*, 2021, 9: 1355.
- [4] 刘同杰. 传统酸面团中微生物多样性及其风味物质代谢研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2017: 29–30. [LIU Tongjie. Biodiversity of Chinese traditional sourdough microbiota and its flavor metabolism [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017: 29–30.]
- [5] ELIF Ç, MUHAMMET A, MUHAMMED Z D. Biodiversity and techno-functional properties of lactic acid bacteria in fermented hull-less barley sourdough [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2020, 130(5): 450–456.
- [6] RODRIGUEZ L R, PINGITORE E V, ROLLAN G, et al. Biodiversity and technological potential of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented amaranth sourdough [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2016, 63(2): 147–154.
- [7] MINERVINI F, ANGELIS M D, CAGNO R D, et al. Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 171: 136–146.
- [8] HILAL D B, MUHAMMET A, OSMAN Y M S, et al. Effect of different fermentation condition on estimated glycemic index, *in vitro* starch digestibility, and textural and sensory properties of sourdough bread [J]. *Foods*, 2021, 109(514): 1–13.
- [9] 乔美灵, 任宇婷, 张桂莲, 等. 传统清香型白酒发酵过程中细菌群落演替及自组装机理 [J]. *食品科学*, 2023, 44(22): 138–148. [QIAO Meiling, REN Yuting, ZHANG Guilian, et al. Bacterial community succession and self-assembly mechanism during the fermentation process of traditional light-flavor baijiu [J]. *Food Science*, 2023, 44(22): 138–148.]
- [10] 孙蒙, 刘璐, 谭心, 等. 高通量测序解析契达奶酪在加工过程中菌群结构多样性变化 [J]. *食品工业科技*, 2024, 45(6): 161–168. [SUN Meng, LIU Lu, TAN Xin, et al. High-throughput sequencing to analyze changes in the structural diversity of the flora of Cheddar cheese during processing [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(6): 161–168.]
- [11] 孙洁, 苏茜, 杜萍, 等. 锡林郭勒鲜牛乳中乳酸菌分离鉴定及微生物多样性分析 [J]. *食品科学*, 2023, 44(18): 175–182. [SUN Jie, SU Qian, DU Ping, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria and microbial diversity in fresh cow milk from Xilin Gol [J]. *Food Science*, 2023, 44(18): 175–182.]
- [12] CAVALLO N, ANGRLIS M D, CALASSO M, et al. Microbial cell-free extracts affect the biochemical characteristics and sensorial quality of sourdough bread [J]. *Food Chemistry*, 2017, 237: 159–168.
- [13] 任强. 木质纤维素高效降解菌株的筛选及其在秸秆好氧堆肥中的强化作用 [D]. 郑州: 河南大学, 2023: 13–14. [REN Q. Screening of high efficient lignocellulose degrading strain and its enhancement in straw aerobic composting [D]. Zhengzhou: Henan University, 2023: 13–14.]
- [14] 田瑞杰. 中温大曲原核微生物群落解析及高产淀粉酶菌株的筛选与应用探究 [D]. 郑州: 郑州轻工业大学, 2023: 25–27. [TIAN R J. Analysis of prokaryotic microbial community and screening and application of high amylase producing strain in medium temperature Daqu [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University of Light Industry, 2023: 25–27.]
- [15] SUN L, LI X F, ZHANG Y Y, et al. Effect of organic acids on bread quality improvement [J]. *Food Chemistry*, 2019, 278: 267–275.
- [16] 中华人民共和国工业和信息化部. 酸面团: QB/T 5756-2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022: 1–2. [Ministry of industry and information technology of the People's Republic of China. Sourdough: QB/T 5756-2022[S]. Beijing: China Standards Publishing House, 2022: 1–2.]
- [17] SUN L, LI X F, ZHANG Y Y, et al. A novel lactic acid bacterium for improving the quality and shelf life of whole wheat bread [J]. *Food Control*, 2019, 109: 1–9.
- [18] LANDIS E A, OLIVERIO A M, MCKENNEY E A, et al. The diversity and function of sourdough starter microbiomes [J]. *eLife Sciences*, 2021, 10: e61644.
- [19] FRANCIELI B S, VALERY R, NINA W, et al. Overview of sourdough technology: From production to marketing [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2018, 11: 242–270.

- [20] ROBERT C E. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10: 996–998.
- [21] ZHANG G H, ZHANG W Z, SADIQ F A, et al. Microbiota succession and metabolite changes during the traditional sourdough fermentation of Chinese steamed bread[J]. *Cyta Journal of Food*, 2019, 17(1): 172–179.
- [22] BORECZEK J, LITWINEK D, ZYLINSKA-URBAN J, et al. Bacterial community dynamics in spontaneous sourdoughs made from wheat, spelt, and rye wholemeal flour[J]. *Microbiology Open*, 2020, 9(4): e1009.
- [23] ERCOLINI D, PONTONIO E, FILIPPIS F D, et al. Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(24): 7827–7836.
- [24] 闫博文. 老面酵头微生物菌群多样性差异分析及其对馒头风味特性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2019. [YAN B W. Variation analysis of microbial diversity in sourdough and its influence on the flavor of Chinese steamed bread[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.]
- [25] 邢小龙. 河南地区老酵面团菌群结构及优势菌种复配研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2021: 34–35. [XING X L. Microbial communities in Chinese traditional fermented dough from Henan province and compound properties of predominant microorganism [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2021: 34–35.]
- [26] FRABERGER V, UNGER C, KUMMER C, et al. Insights into microbial diversity of traditional Austrian sourdough[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2020, 127: 109358.
- [27] EVAN B, RAM R J, MATTHEW R D, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37: 852–857.
- [28] LIU W J, BRENNAN M. A, SERVENTI L, et al. Effect of cellulase, xylanase and α -amylase combinations on the rheological properties of Chinese steamed bread dough enriched in wheat bran[J]. *Food Chemistry*, 2017, 234: 93–102.
- [29] MAN S, WANG Z, GUO X F, et al. Sourdough improves the quality of whole-wheat flour products: Mechanisms and challenges: A review[J]. *Food Chemistry*, 2021, 360: 1–12.
- [30] 徐丹. 旧金山乳杆菌对酸面团面包品质影响机理及面包风味改良的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019: 20–30. [XU D. Study on the mechanism of *Lactobacillus sanfranciscensis* on sourdough bread quality and improvement of its bread flavor[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019: 20–30.]
- [31] SUN X Y, WU S M, LI W, et al. The effects of cooperative fermentation by yeast and lactic acid bacteria on the dough rheology retention and stabilization of gas cells in a whole wheat flour dough system-A review[J]. *Food hydrocolloids*, 2022, 135: 108212.