

添加小米对老面发酵小麦面团的微生物多样性及馒头品质的影响

刘俊利, 赵巍, 张爱霞, 李朋亮, 任素芬, 刘敬科*

(河北省农林科学院生物技术与食品科学研究所 石家庄 050000)

摘要 为了研究微生物生长代谢对老面馒头质地和品质的影响,采用高通量测序技术比较老面发酵小麦(SW)/小麦-小米(SM)面团中的微生物组成及其代谢功能差异,并对小麦/小麦-小米馒头的物理特性及其与微生物的相关性进行分析。结果表明,2组样品的微生物多样性和丰富度虽存在一定差异,但差异不大。SM中细菌和真菌群落的多样性较低。真菌较细菌的丰富度高,而多样性较低。2组微生物菌群组成相似,细菌的优势菌属为乳酸杆菌属和片球菌属,优势菌种为面包乳杆菌和发酵乳杆菌,在SW和SM中均差异显著($P<0.05$)。真菌的绝对优势菌属为酵母属,由酿酒酵母组成。KEGG分析显示,次生代谢产物生物合成和氨基酸代谢是SM中代谢旺盛的通路,而碳水化合物、脂质、维生素和核苷酸代谢在SW中显著上调($P<0.05$)。老面发酵对不同种类馒头的品质和质地特性产生了影响,相比于小麦馒头,小麦-小米馒头硬度、比容、咀嚼性较高,而弹性、内聚性较低。乳酸菌可以改善馒头的质地特性,这取决于菌属种类,低丰度菌属与弹性呈显著正相关关系($P<0.05$)。研究结果为阐明微生物组成与老面馒头物理特性的形成机制提供了理论依据,并为筛选、改善品质的潜在微生物提供了参考。

关键词 老面; 小米; 微生物多样性; 质构; 比容

文章编号 1009-7848(2024)05-0299-14 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.05.025

谷子(*Setaria italica* L.)是世界第六大作物,最早起源于中国,是大多数发展中国家的主产作物之一^[1]。谷子脱壳后称为小米,相比于小麦,营养成分十分均衡,是蛋白质、膳食纤维、矿物质、植物活性物质的良好来源,经常食用小米被认为有益于降低血脂、血糖,预防癌症等^[2]。然而,过去几十年来,为解决世界范围内的饥荒问题,高产作物水稻和小麦成为全球的主要消费作物,谷子随之边缘化。随着人们认知水平的提高,合理利用谷子将有助于缓解营养不良问题,并且将其加工成增值食品也可为亚洲和非洲许多国家的经济发展做出重大贡献。促进小米主食化、产品多样化是发展小米产业的重要举措。目前,市售主食形式以馒头、面条为主,多以小麦制成,其高升糖指数、高麸质的特性,不能满足高血糖和麸质不耐受人群的需求,而小米在改善血糖、缓解乳糖泻方面具有巨大

优势。由于小米不含麸质蛋白,不利于维持馒头的面筋结构^[3],并且常因口感不佳、适口性差而不受消费者青睐。

改善馒头的感官品质和质量特性常用的一种方式是使用老面发酵。老面是一种天然的多菌株发酵剂,在谷物粉和水混合过程中由面粉或环境引入的菌株(如乳酸菌、酵母菌)发酵制成^[4]。在老面发酵过程中,微生物会产生多种代谢物,如多肽、氨基酸和短链脂肪酸等,不同代谢物的协同作用可以提高发酵食品的质量和风味^[5]。酵母菌能产生二氧化碳以改善发酵产品的体积,而乳酸菌通过生产有机酸和胞外多糖来改善面团流变学和面包结构,并通过合成挥发性化合物来增加其风味^[6-7]。这些物质的生物合成会受到微生物代谢活性的影响。据报道,微生物生长繁殖与发酵温度、发酵时间、加工参数、谷物基质等参数密切相关^[8-9]。谷物类型虽然不是影响其生长的决定性因素,但是可以通过提供不同营养成分来改变微生物的结构组成。以往的研究表明,面粉的蛋白质含量、面筋强度和延展性与老面面包的体积和弹性呈正相关关系^[10]。小麦的脱皮率对老面馒头的体积、结构和质量评分产生积极影响^[11]。较低直链淀粉含量和较高的受损淀粉含量给予老面馒头更好的质地

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 河北省省级科技计划资助项目(22327101D); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-06-14.5-A29)

第一作者: 刘俊利,女,硕士,研究实习生

通信作者: 刘敬科 E-mail: liujingke79@163.com

属性^[12]。可以看出,改善效果受谷物种类、品种影响较大,然而目前对微生物和物理特性之间的关系研究很少,因此,有必要对不同谷物基质中的微生物组成进行研究,以便更好地了解对发酵食品物理特性的影响。

本文基于高通量测序技术,对老面发酵小麦和小麦-小米面团的微生物群落结构及其代谢功能进行分析,并测定小麦和小麦-小米馒头的质构特性和比容,以探究核心微生物和物理特性之间

的关系,为改善老面馒头的品质提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

老面,市售;高筋小麦粉,五得利面粉集团有限公司;高活性干酵母,安琪酵母股份有限公司;黄金苗,市售。

FastDNA[®] Spin Kit for Soil 分离试剂盒,美国 MP Biomedicals 公司。

表 1 原料粉的基本营养成分含量

Table 1 Basic nutrient content of raw material powders

种类	碳水化合物/%	粗蛋白/%	粗脂肪/%	灰分/%	水分/%
小米粉	81.46 ± 0.54 ^a	7.43 ± 0.21 ^c	2.20 ± 0.10 ^a	0.48 ± 0.01 ^a	8.43 ± 0.23 ^a
小麦粉	77.41 ± 0.15 ^c	12.37 ± 0.15 ^a	1.47 ± 0.17 ^b	0.42 ± 0.02 ^b	8.33 ± 0.20 ^a
混合粉	78.63 ± 0.26 ^b	10.88 ± 0.17 ^b	1.69 ± 0.15 ^b	0.44 ± 0.02 ^b	8.36 ± 0.08 ^a

注:同一列的不同字母表示具有显著性差异($P < 0.05$),下同。

1.2 设备与仪器

SY88-TH 砻谷机,韩国双龙机械产业株式会社;IKAMF10 粉碎机,德国 IKA 集团;YMZD-350 型自动压面机,杭州旭众机械设备有限公司;AG285 电子天平,梅特勒-托利多上海仪器有限公司;WPL-125BE 恒温培养箱,美国 PERCIVAL 科技公司;KVC3100 和面机,英国凯伍德集团;SW-CJ-1FD 超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;TMS-PRO 质构仪,美国 FTC 公司。

1.3 方法

1.3.1 老面的活化 将购得的老面和小麦粉、水按质量比 2:2:1 混合,揉成光滑面团,覆盖带孔保鲜膜,于 37 °C 恒温培养箱中活化 12 h。重复活化 2 次,于第 3 次活化 3 h 后开始使用。

1.3.2 老面发酵面团的制备 谷子经脱壳、碾制、粉碎、过筛后得到小米粉。将小麦粉、老面、温水按质量比 5:5:2 的比例均匀混合,于和面机中搅拌 10 min 得到光滑面团,置于 37 °C 醒发箱中发酵 120 min,得到老面发酵小麦面团,记为 SW 组;以 30% 小米粉替代小麦粉,按同样的步骤操作,得到老面发酵小麦-小米面团,记为 SM 组。每组样品设置 3 个生物学重复,于超净工作台将 5 g 面团快速转移至干燥无菌的 50 mL 离心管中,立即放入液氮速冻,并置于 -80 °C 冰箱储藏,供后续分析。

1.3.3 DNA 提取和 PCR 扩增 采用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil 分离试剂盒对样品总 DNA 进行提取,并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测提取质量。使用 338F (5'-CTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')/806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区,使用 ITS1F (5'-CTTGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')/ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 扩增真菌 ITS 的 ITS1-ITS2 区。

1.3.4 高通量测序和生物信息学分析 利用 Illumina Miseq PE300/NovaSeq PE250 平台(上海美吉生物医药科技有限公司)测序得到双端序列数据。通过 PE reads 拼接、Tags 过滤、去除嵌合体 3 个步骤,将双端序列拼接并进行质控过滤,得到优化后的有效序列数据。将最终优化数据在 97% 相似度水平下进行可操作分类单元 (Operational taxonomic units, OTU) 聚类分析,并基于 Sliva 数据库 (v138) 和 Unite 数据库 (v8.0) 对细菌和真菌进行分类学注释。

1.3.5 馒头的制作 通过压面机将老面发酵小麦/小麦-小米面团均匀切分为 70 g 面团,并多次搓揉面团至表面光滑,放入锅中用冷水蒸制 30 min。

1.3.6 馒头比容测定 将蒸制好的馒头在室温放

置 30 min,冷却后采用菜籽替代法测量比容,其计算公式为:

$$\text{比容}(\text{mL/g})=\text{馒头体积}/\text{馒头质量} \quad (1)$$

1.3.7 馒头质构特性测定 将馒头冷却至室温,将其平行置于质构仪的载物台上,进行质地剖面分析(Texture profile analysis, TPA),以硬度、弹性、内聚性、咀嚼性、胶黏性为评价指标。用 P75 压盘式探头评估,测试速率为 60 mm/min,压缩形变量为 30%,起点触发力为 1 N,数据采集频率为 100 Hz,每个样品测试至少重复 3 次,结果以平均数 \pm 标准差表示。

1.4 数据统计与分析

利用 SPSS 软件通过独立样本 t 检验法分析组间数据差异性($P<0.05$)。利用 Origin 2022b 绘图。通过京都基因和基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)数据库的 PICRUS2 进行途径分析,并用 Stamp 软件筛选

差异通路。使用 R 包 UpSetR 绘制 Upset 图,实现集合可视化。使用 R 包 corrplot 计算细菌、真菌与质构参数之间的 Pearson 相关系数,并绘制相关性热图。

2 结果与分析

2.1 测序数据质量评估

为了研究谷物基质对老面馒头微生物群落组成的影响,采用高通量测序方法检测了老面发酵小麦-小米/小麦面团样品(SM:小麦-小米;SW:小麦)的微生物多样性。初始序列经质控过滤后被有效读取。在 SM 中,读取到细菌和真菌的平均有效序列长度分别为 $44\,990\pm 1\,901$ 和 $33\,508\pm 1\,735$;而在 SW 中,细菌和真菌的平均有效序列长度分别为 $46\,712\pm 1\,151$ 和 $32\,488\pm 852$ 。基于 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类,如图 1a、1b 所示,随着序列读数的增加,稀释曲线逐渐平坦,OTU 覆盖

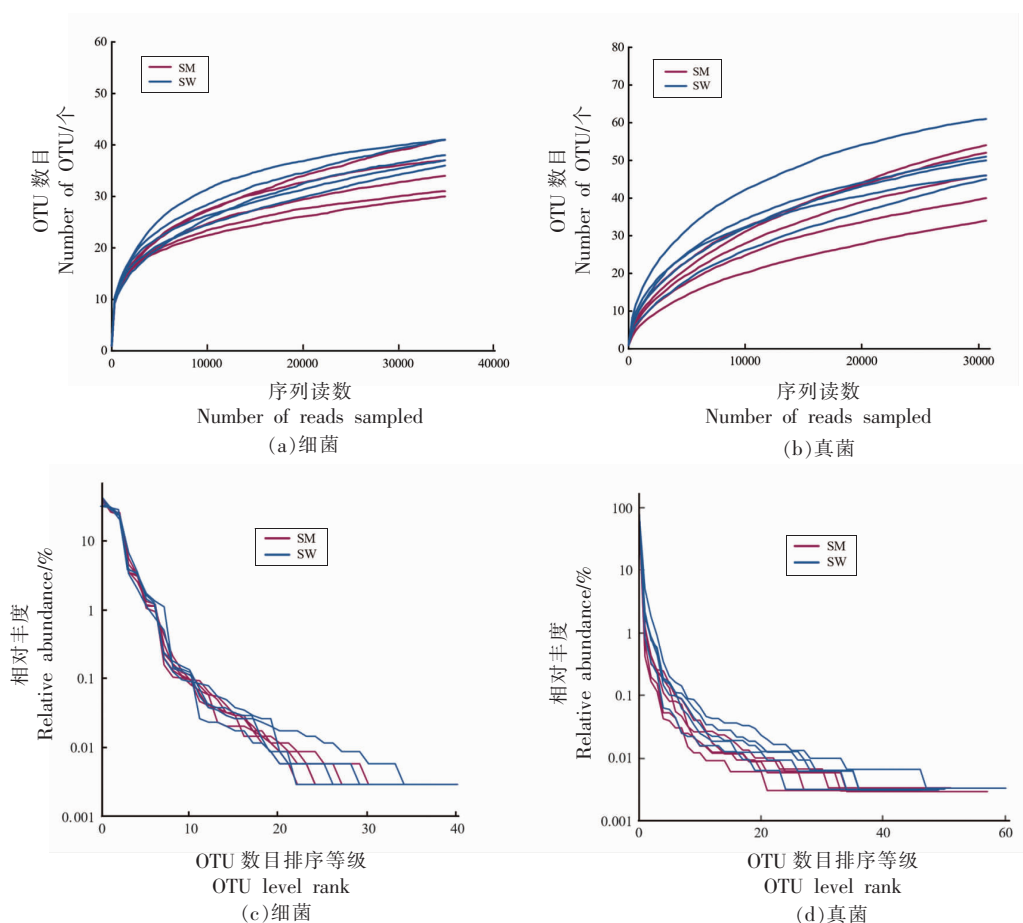


图 1 稀释曲线(a和b)和等级分布曲线(c和d)

Fig.1 Rarefaction curves (a and b) and rank-abundance curves (c and d)

率趋于饱和,说明测序数据合理,能较全面地注释到绝大多数物种,每个样品的微生物多样性能得到充分测量。Rank-Abundance 曲线可以用于分析微生物多样性,即物种丰富度和群落均匀度。如图 1c、1d 所示,在水平方向上,SW 较 SM 在横轴范围更广,说明物种丰富度更高;在纵轴方向上,两组曲线形状陡峭,斜率较大,说明无论在 SM 还是 SW 中,物种组成分布不均匀,各物种所占比例差异较大,优势菌群占比很高。

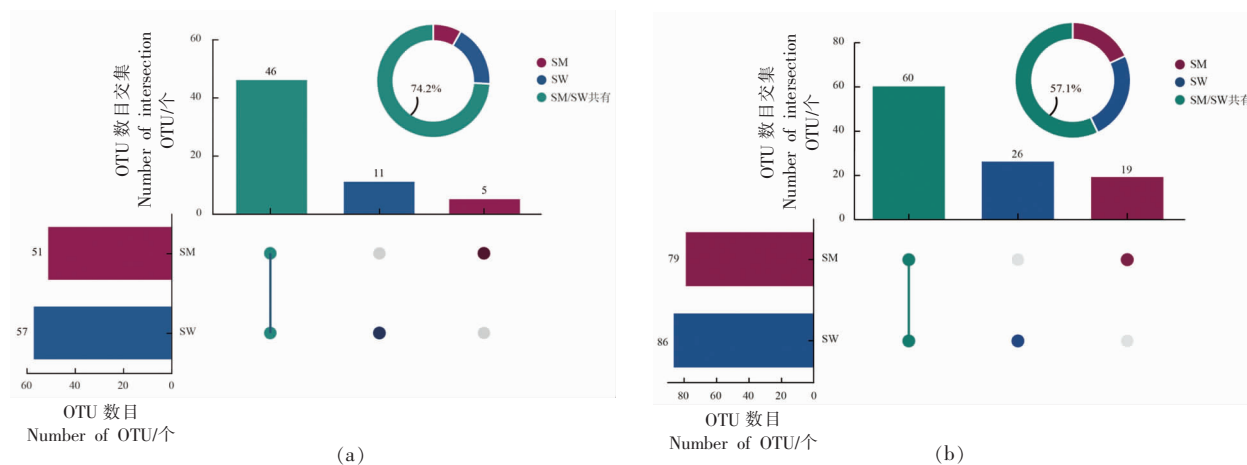
2.2 α -多样性分析

样品微生物群落的 α -多样性可用多个指数 (ACE、Chao1、Simpson、Shannon) 和覆盖率来衡量。如表 2 所示,每个样本的细菌/真菌覆盖率均达到 0.999 以上,说明测序覆盖了绝大多数物种,能真实反映群落丰富度及多样性,可用于后续分析。群

落丰富度以 Chao1 指数和 ACE 指数来衡量,二者基于不同的算法,估计该群落含有的 OTU 数目。相较于 SM,在 SW 组中观察到了细菌和真菌 ACE 指数和 Chao1 指数的增长,这与图 2 展示的 OTU 数目变化规律一致。两组样品细菌和真菌的共有 OTU 比例分别为 74.2% 和 57.1%,说明两组样品微生物组成虽然存在一定差异,但差异不大。Shannon 指数和 Simpson 指数一般用来衡量受物种数量和均匀度影响的群落多样性。无论是对细菌还是真菌,Shannon 指数的提高和 Simpson 指数的降低均表明了 SW 较 SM 多样性的增加。研究发现,老面中微生物的竞争力取决于基质的类型和质量、水分活度、发酵过程中发酵剂和微生物群的相互作用^[3],考虑到其它因素的一致性,面粉基质类型的不同是多样性存在差异的重要因素。由于

表 2 α -多样性指数
Table 2 α -Diversity indexes

样品	细菌		真菌	
	SM	SW	SM	SW
ACE 指数	54.21 ± 17.20	75.78 ± 41.55	73.01 ± 19.97	76.18 ± 16.45
Chao1 指数	45.75 ± 9.79	61.76 ± 36.56	60.69 ± 12.01	69.45 ± 9.94
Simpson 指数	0.28 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.96 ± 0.02	0.91 ± 0.06
Shannon 指数	1.47 ± 0.03	1.51 ± 0.07	0.13 ± 0.05	0.28 ± 0.14
覆盖率	0.99974	0.99970	0.99945	0.99944



注:左侧蓝色和红色柱子分别代表 SW 和 SM 所含 OTU 数目;右侧直方图、饼图、点和线呈现 SM 和 SW 两组 OTU 数目交集情况,其中蓝色柱子代表 SW 独有的 OTU 数目,蓝点代表 SW 独有蓝色柱子所标识的 OTU,红色柱子代表 SM 独有的 OTU 数目,红点代表 SM 独有红色柱子所标识的 OTU,绿色柱子代表两组共有的 OTU 数目,绿点代表两组共有绿色柱子所标识的 OTU;饼图中标识出的百分比代表共有 OTU 数目占总 OTU 数目的比例。

图 2 细菌(a)和真菌(b)的 OTU 韦恩图

Fig.2 OTU venn diagrams of bacteria (a) and fungi (b)

小米属于无麸质食物,很难单独作为发酵老面的发酵基质,与小麦、大麦等面粉混合会加速其发酵进程;而富含淀粉和麸质的小麦面团可以在较短的时间内发酵^[14],面团阶段的淀粉降解也是微生物利用可发酵碳水化合物和还原糖的主要来源,从而加快稳定微生物群体系的建立。这可能是造成添加小米粉导致微生物丰富度和多样性降低的重要原因之一。

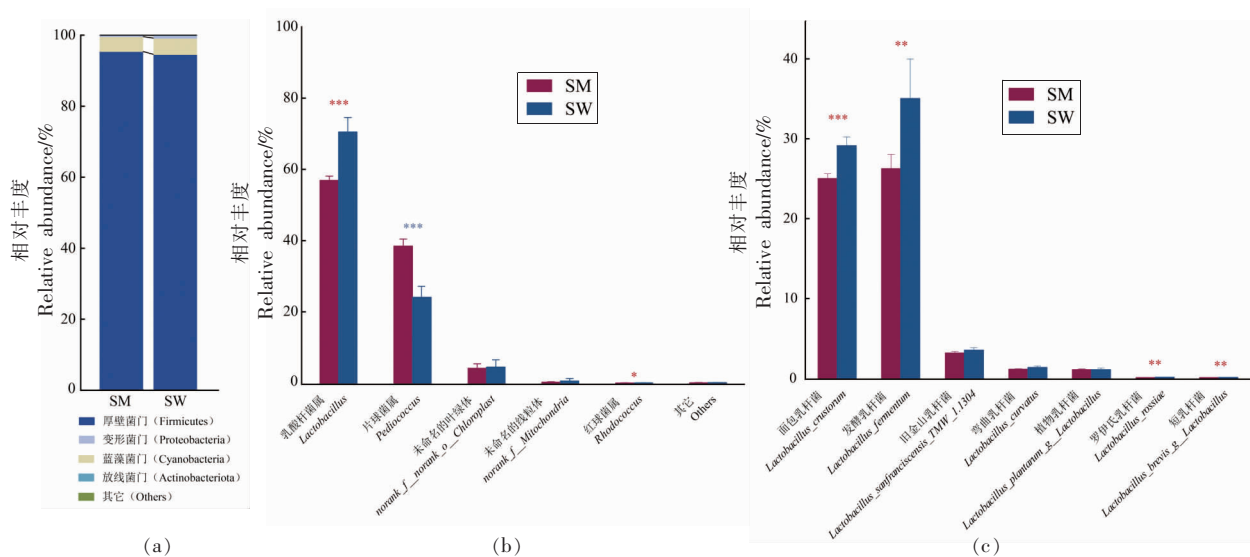
2.3 微生物群落组成

2.3.1 细菌微生物结构组成 16S rRNA 测序可用于表征细菌多样性,包括细菌种类及丰度鉴定。基于 97% 相似度对优化测序数据进行 OTU 聚类,共得到 62 个 OTU,并将其聚类成 5 个门、24 个属和 37 个种,将丰度较小的细菌剔除后,得到在不同分类学水平上相对丰度 >0.1% 的细菌。在门水平上的细菌组成如图 3a 所示,厚壁菌门(Firmicutes)是相对丰度最高的门,在两组样本中占有绝对优势,与大多数研究一致^[15];其次是蓝藻菌门(Cyanobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteriota)。厚壁菌门在 SM(95.42%)中丰度略高于 SW(94.60%),而蓝藻菌门则相反(4.18%和 4.55%),二者之和达到 99% 以上,是构成细菌的主要门类。少量的变形菌门存在于 2 组样品中(0.31%和 0.74%),研究证实它是存在于小

麦面粉中的唯一菌门,由原料引入馒头,这可能导致其丰度在 SW 中高于 SM 的原因之一。经发酵后其丰度显著降低,并与厚壁菌门以相对稳定的比例存在于发酵体系中^[16]。

细菌在属和种水平上的结构组成见图 3b 和 3c。乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)是 2 组样本中的优势菌属,在 SM 和 SW 中相对丰度分别为 56.88% 和 70.46% ($P < 0.001$),这也是老面中最常见的乳酸菌^[17],在改善老面发酵食品的流变学、风味和营养特性方面发挥着重要作用。图 3c 展示了相对丰度 >0.1% 的乳酸杆菌菌种。其中面包乳杆菌(*Lactobacillus_crustorum*)、发酵乳杆菌(*Lactobacillus_fermentum*)是该属的主要菌种,在 SW 中均表现出较高丰度,并且 2 组差异显著 ($P < 0.001$, $P < 0.01$),作为异型乳酸发酵菌株,可快速消耗碳水化合物并产生乙酸盐,降低 pH 值,有助于延长食品的保质期^[18]。此外,还有少量的旧金山乳杆菌(*Lactobacillus_sanfranciscensis_TMW_1.1304*)、弯曲乳杆菌(*Lactobacillus_curvatus*)、植物乳杆菌(*Lactobacillus_plantarum*)、罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus_rossiae*)和短乳杆菌(*Lactobacillus_brevis*)存在。不同种类的乳酸菌协同发挥作用,用于面团的酸化、风味形成和质地改善。

片球菌属(*Pediococcus*)并不经常从传统老面



注: * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$ 。

图 3 细菌在门(a)、属(b)和种(c)水平上的相对丰度

Fig.3 Relative abundances of bacteria at phylum (a), genus (b), and species (c) levels

中被分离出来,而在杂粮老面中经常被发现,例如,在玉米、荞麦、苔麸老面中鉴定出乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)^[19];由无麸质面粉(黍子、高粱、珍珠粟)复合配比生产3种老面并分析其细菌多样性,发现戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)是最丰富的物种^[20]。在SM和SW样品中发现了丰度不低的片球菌属(38.48%和24.07%)。研究发现,自发发酵的杂粮老面面团的低pH值和营养成分有利于片球菌属的生长^[21],因此,它在小麦-小米面团中的丰度显著高于小麦面团($P < 0.001$)。norank_f_norank_o_Chloroplast在SM和SW中相对丰度分别为4.18%和4.55%,而norank_f_Mitochondria在SM和SW中相对丰度分别为0.26%和0.64%。此外,还观察到红球菌属(*Rhodococcus*)的显著提高(0.08%到0.11%),该菌属于放线菌门,能通过一系列酶促反应对物质进行转化和降解。

无论面粉的类型如何,自然发酵老面中的LAB在发酵过程中都经历了3个阶段,即第1阶段由肠球菌属、乳球菌属和明串珠菌属的菌种占主导地位,第2阶段由酸面团代表性菌属(乳酸杆菌属、片球菌属和魏氏菌属等)的菌种占主导地位,最终阶段由适应性良好的异型发酵菌属(发酵乳杆菌、旧金山乳杆菌等)的菌种主导^[8]。将老面用于发酵不同谷物面团时,异型乳酸发酵乳酸杆菌

依旧占有绝对优势。细菌群落变化主要与发酵环境和底物有关,尤其是乳酸菌,其丰度和构成与酸性环境耐受程度以及在谷物基质中使用碳水化合物和氮源的方式有关^[22],例如旧金山乳杆菌优先利用麦芽糖而通常无法发酵果糖,植物乳杆菌则优先发酵葡萄糖和果糖,麦芽糖代谢受碳分解代谢物阻遏^[23]。对面粉中碳水化合物的使用差异可能导致不同细菌之间的非竞争性关联,共存菌株可以通过营养互作而提高其主导地位和竞争力。综上,不同谷物基质作为底物发酵面团造成的细菌多样性差异显而易见,具体机制还需结合代谢物变化作进一步探讨。

2.3.2 真菌微生物结构组成 通过将测序得到的ITS序列与参考数据库进行比对,得到105个OTU,对每个OTU进行物种注释,划分为4个门、59个属和90个种。真菌的属和种的组成比细菌更复杂,低丰度菌(<0.1%)居多,而多样性低,优势菌占有绝对优势^[24]。如图4a所示,在门水平上,仅检测出一个相对丰度大于>0.1%的门类:子囊菌门(Ascomycota),在两组样本中相对丰度均高达99.89%。图4b和4c展示了在属和种水平上的真菌构成。目前,对老面酵母的研究主要集中在酵母属(*Saccharomyces*)、念珠菌(*Candida*)、毕赤酵母属(*Pichia*)和哈萨克斯坦酵母属(*Kazachstania*)等^[25]。在这项研究中,酵母属作为绝对优势菌属被

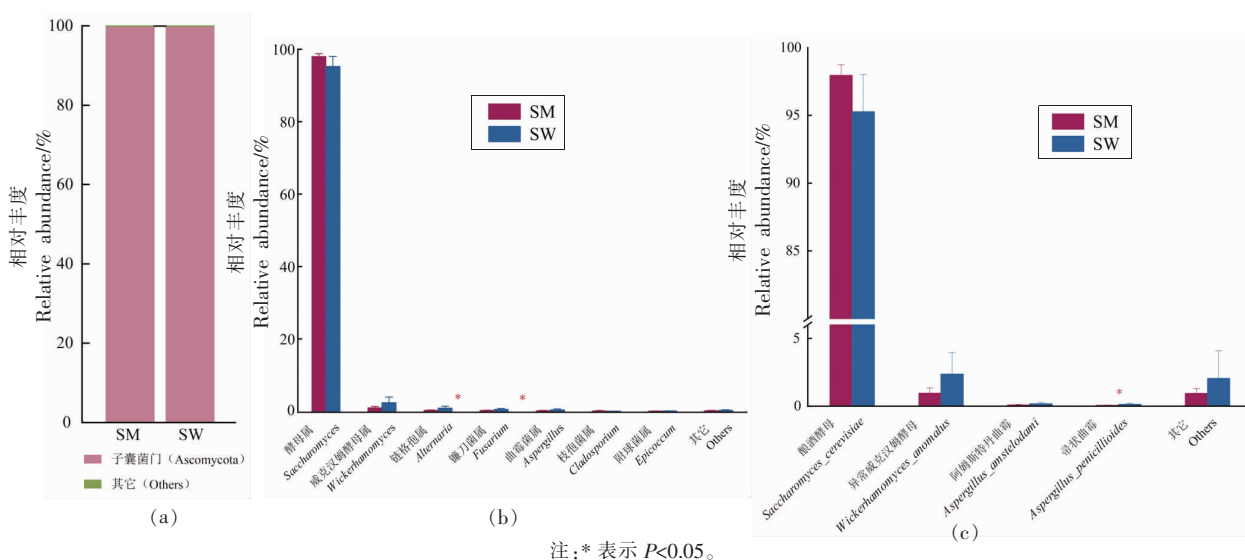


图4 真菌在门(a)、属(b)和种(c)水平上的相对丰度

Fig.4 Relative abundances of fungi at phylum (a), genus (b), and species (c) levels

鉴定出来,由酿酒酵母(*Saccharomyces_cerevisiae*)组成,在 SM 和 SW 中相对丰度分别为 97.95%和 95.27%;威克汉姆酵母属(*Wickerhamomyces*)被证实是河南老面中常见的酵母菌,由异常威克汉姆酵母(*Wickerhamomyces_anomalous*)构成,在 SM 和 SW 中相对丰度分别为 0.96%和 2.37%,两种酵母占比之和达到 97.5%以上,其比例的不同与使用的面粉种类有直接关系^[26]。以往的许多研究都证明了酿酒酵母和异常威克汉姆酵母是存在于老面的最常见酵母菌。酿酒酵母在发酵小麦、玉米面团中占有主导地位,同时对谷物饮料发酵、产生乙醇有促进作用^[27];异常威克汉姆酵母常见于发酵小麦面团和酒曲,与香气和乙醇的生产有关^[28]。其它酵母的低丰度(<0.1%)或未检出可能是由于发酵环境、加工过程或基质等因素造成的。

在样品中还检测到了一定丰度的污染微生物链格孢属(*Alternaria*),有研究对 22 种小麦粒进行菌种鉴定,发现均被链格孢属感染,表明该菌是从发酵中使用的原料中衍生出来的^[29],这也解释了其在 SW 中丰度显著高于 SM($P<0.05$)的现象。此外,还检测到微量的镰刀菌属(*Fusarium*)、曲霉菌属(*Aspergillus*)、枝孢菌属(*Cladosporium*)和附球菌属(*Epicoccum*),其中,曲霉菌属主要由阿姆斯特丹曲霉(*Aspergillus_amstelodami*)和帚状曲霉(*Aspergillus_penicillioides*)组成。对于非酵母菌,除枝孢菌属外,其余真菌均在 SW 中丰度较高。

传统的发酵食品由少数微生物物种主导,这是由于在发酵过程中对食物基质的生理和代谢适应导致的^[30]。2 组样品中优势酵母的多样性体现了酵母对发酵环境的自然选择过程,在促进面团产气、提供产品风味方面起着关键作用。非酵母菌也是发酵面团微生物群落必不可少的一部分,可以作为面团发酵的辅助培养物。

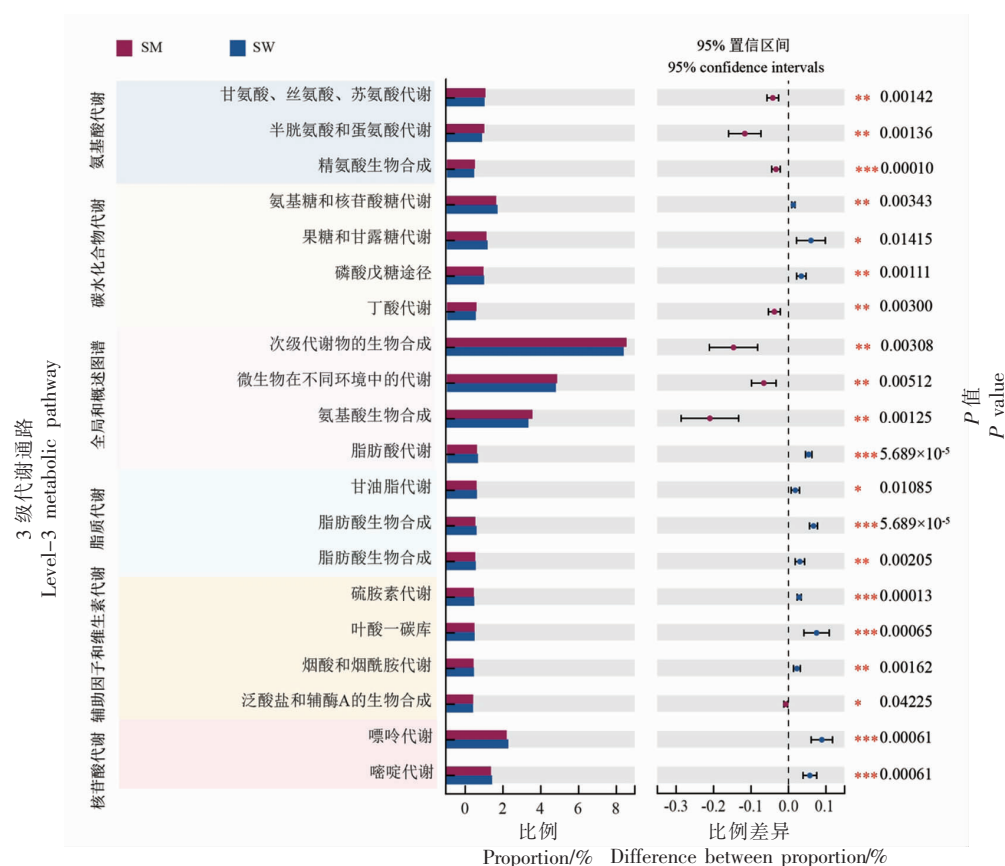
2.4 KEGG 代谢通路差异性分析

老面中的微生物代谢物被认为是影响面团加工性能的重要因素。在发酵体系中,微生物通过一系列酶促反应以改变产品营养品质、风味特征及质地特性,细菌往往比真菌进行着更旺盛且多样化的代谢活动。为了更深入的分析各类代谢物的变化,对 2 组样品的细菌 KEGG 代谢相关途径进行分析,得到 82 条差异显著($P<0.05$)的 3 级代谢

通路。图 5 展示了相对丰度较高的前 20 个 3 级差异代谢通路,并将其归属为 6 大类 2 级代谢通路:全局和概述图谱(Global and overview maps)、碳水化合物代谢(Carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢(Amino acids metabolism)、核苷酸代谢(Nucleotide metabolism)、脂质代谢(Lipid metabolism)、辅助因子和维生素代谢(Metabolism of cofactors and vitamins)。相较于 SW,SM 中相对丰度较高的代谢通路集中在全局和概述图谱和氨基酸代谢,包括次级代谢物的生物合成(Biosynthesis of secondary metabolites),微生物在不同环境中的代谢(Microbial metabolism in diverse environments),氨基酸生物合成(Biosynthesis of amino acids),甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(Glycine, serine and threonine metabolism),半胱氨酸和蛋氨酸代谢(Cysteine and methionine metabolism),精氨酸生物合成(Arginine biosynthesis)。

次级代谢产物是由初级代谢产物(蛋白质、脂质、碳水化合物等)经分解、聚合、修饰转化而来,虽然对细菌生长繁殖或生理功能无明显促进作用但却是不可或缺的一类物质,如抗生素、色素、毒素等,该生物合成途径在 2 组样品中均表现出最高的相对丰度。已有研究证明,乳酸菌(尤其是乳杆菌属)会生成多种次级代谢产物以维持菌群平衡及改善产品品质,例如乳酸菌代谢葡萄糖、果糖形成葡聚糖、果聚糖等胞外多糖(Exopolysaccharides, EPS),有助于老面酸化,改善面包的流变性、质地和体积^[31];细菌素的生产有助于提高乳酸菌的竞争力及对有害菌的抑制能力^[32]。不同的谷物基质会影响微生物代谢产物的含量,以 EPS 为例,其含量与发酵底物中的碳水化合物含量密切相关。在小麦中,高浓度麦芽糖的存在有利于乳酸菌葡聚糖酶生成寡糖或麦芽糖糊精,而在 C4 植物小米中,低浓度的麦芽糖迅速消耗殆尽,有利于葡萄糖向 EPS 的转化^[33]。然而,底物和受体碳水化合物对多糖产量的影响是菌株特异性的,而菌种生长又受到碳源利用方式和底物类型的影响,因此细菌、底物、产物和代谢方式的相互联系可能需要联合转录组学和代谢组学做进一步分析。

此外,氨基酸的生物合成在 SM 中十分活跃,



注: * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$ 。

图5 细菌中丰度前20的KEGG 3级差异代谢通路

Fig.5 The top 20 KEGG level-3 differential metabolic pathways with high abundance in bacteria

在一定程度上表明了蛋白水解程度的增加。除蛋白水解外,氨基酸的转化对老面发酵和风味形成有重要作用。在发酵乳杆菌和罗伊氏乳杆菌中鉴定出参与蛋氨酸和半胱氨酸合成的关键酶胱硫醚裂解酶,其活性有助于奶酪成熟期间的风味发展,并且被证明对发酵乳杆菌的氧耐受性至关重要^[34],而半胱氨酸和蛋氨酸代谢在老面中可能的功能作用仍有待确定。精氨酸是部分乳酸杆菌(发酵乳杆菌、短乳杆菌、罗伊氏乳杆菌等)通过精氨酸脱氨酶将其转化为风味前体物质鸟氨酸的关键氨基酸,该途径有助于维持pH值稳态和增强乳酸杆菌的耐酸性^[35]。甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸在老面发酵过程中的代谢机制和功能尚不明确。造成2组样本中氨基酸代谢相对丰度的差异可能与底物中蛋白组成及含量、菌种及酶活有关。

SM中次级代谢产物和氨基酸代谢比较旺盛,而SW中碳水化合物、脂质、维生素和核苷酸代谢显著上调。氨基糖和核苷酸糖代谢(Amino sugar

and nucleotide sugar metabolism)、果糖和甘露糖代谢(Fructose and mannose metabolism)、磷酸戊糖途径(Pentose phosphate pathway)等通路展示了细菌利用碳源的多样性,各类维生素(硫胺素、叶酸、烟酸和烟酰胺)的生成丰富了老面的营养成分,嘌呤代谢(Purine metabolism)和嘧啶代谢(Pyrimidine metabolism)为物质生成提供基础原料,甘油酯、甘油磷脂、脂肪酸的生物合成有助于风味的提升。总之,不同的谷物基质提供的底物种类和浓度不同,可能导致微生物结构和组成发生变化,使得代谢通路产生差别,影响发酵产品的特性。

2.5 老面馒头的比容和质构特性

为了明晰不同基质下微生物代谢活动对发酵产品特性的影响,对小麦(SW)和小麦-小米馒头(SM)的质构特性和比容进行比较,结果如表3所示。TPA参数包括硬度、弹性、内聚性、咀嚼性和胶黏性。小麦馒头的硬度、咀嚼性、胶黏性均低于小

麦-小米馒头,而弹性和内聚性高于小麦-小米馒头,除咀嚼性外,均表现出显著差异($P<0.05$)。弹性是受到外力产生形变后的恢复能力,以往的研究证明,蛋白质含量、面筋强度和延伸性与馒头弹性呈正相关关系^[10]。小麦粉和小麦-小米混合粉的粗蛋白含量分别为 12.37%和 10.88%,由于小米是无麸质谷物,因此在小麦粉中存在更多的麸质蛋白,支撑起面筋的网络结构并保持其稳定,有利于小麦馒头弹性的增加。小麦-小米馒头的弹性降低可能是由于小米面粉中支链淀粉含量高,这也是淀粉黏度增加的主要因素,EPS 的形成也是面筋强度和弹性降低的原因之一^[36]。弹性往往和硬度呈现相反的趋势,因此在小麦-小米馒头中观察到了硬度较高的现象。咀嚼性反映了食物入口后消耗能量的大小,一般与硬度呈正相关关系,数值越大,口感越硬。在两组样品中,咀嚼性和硬度的变化趋势一致。此外,老面发酵不同种类的馒头对内聚性也有显著影响,小麦馒头的内聚性显著高于小麦-小米馒头。内聚性体现了馒头的收缩力,具有较好内聚性的馒头可能具有更多的氢键、二硫键等以维持结构稳定性,尽管高内聚性可能使得馒头在口中不易消化分解。

比容是衡量发酵食品的重要指标,也是酵母和乳酸菌发酵产气率和面团麸质强度的综合作用的表现^[37],一般与硬度呈负相关关系,而与弹性呈正相关关系。表 3 的结果显示,虽然小麦含有更多的麸质蛋白,但小麦-小米馒头比小麦馒头的比容更高。研究表明,通过老面对无麸质面粉进行酸化可以增强淀粉膨胀特性,从而增强无麸质面粉的结构和气体保留能力^[38-39]。老面发酵馒头的比容受微生物菌株和酸化水平影响很大,例如,在异常威克汉姆酵母 LD7 发酵的高粱面包中,发现了较高的酸化水平和最高的比容^[9]。此外,面粉基质如糖类、灰分含量可以通过影响微生物生长从而显著影响最终酸度。一方面,麸皮部分含有更多的矿物质和微量营养素,有利于乳酸菌的生长,并且对糖类的合理利用有利于 EPS 的生成,促进老面酸化^[40];另一方面,灰分含量会影响老面系统的缓冲能力,从而达到更高的可滴定酸度^[41]。

综上,影响馒头质地特性和比容的因素并非单一化,相比于老面小麦馒头,用小麦小米混合面粉制成的老面馒头整体比容较高,硬度较高而弹性较低,具有较好的内聚性和咀嚼性。

表 3 老面馒头的比容和质构特性分析

Table 3 Specific volume and texture profile analysis of sourdough fermented steamed breads

样品	硬度/N	弹性/mm	内聚性	咀嚼性/mJ	胶黏性/N	比容/mL·g ⁻¹
SM	22.66 ± 0.92 ^b	11.69 ± 0.12 ^a	0.74 ± 0.02 ^a	196.71 ± 10.58 ^a	16.83 ± 0.75 ^b	1.95 ± 0.02 ^b
SW	19.43 ± 0.38 ^a	12.53 ± 0.23 ^b	0.78 ± 0.01 ^b	190.55 ± 3.87 ^a	15.21 ± 0.30 ^a	1.82 ± 0.01 ^a

注:同一列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.6 老面发酵面团微生物群落和馒头物理特性的相关性分析

面粉特性和工艺参数会极大地影响老面微生物群落的代谢活性;同样地,在发酵过程中,微生物及其内源性酶的作用会导致酸化和基质分解(碳水化合物和蛋白质,尤其麸质蛋白)速率的改变,从而影响老面的特性及最终产品的质量^[42]。在老面馒头发酵过程中,微生物通过建立麸质网络和生成各种次级代谢物(如 EPS、有机酸、酶、CO₂)等方式改善馒头的弹性、硬度、比容等与品质相关的重要物理特性^[43]。

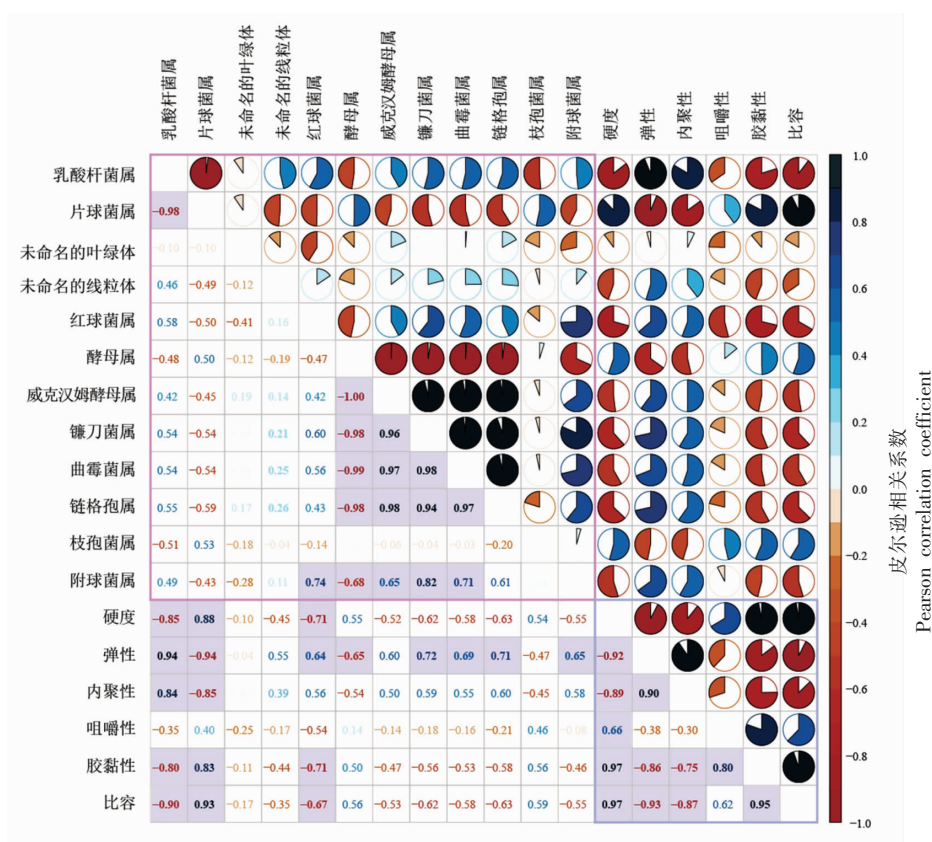
为深入了解微生物与物理特性的相关性,通过 corrplot 包计算老面核心微生物(相对丰度 >

0.1%的菌属)与小麦/小麦-小米馒头物理特性(质构特性和比容)的 Pearson 相关系数,如图 6 所示。乳酸杆菌属与硬度、胶黏性、比容呈负相关关系,而与弹性和内聚性呈正相关关系,片球菌属则呈现完全相反的相关性,表明乳酸菌对馒头的质构特性和比容有改善作用,具体效果与菌株种类有关^[44]。麸质网络的形成是评判馒头产品体积和质量的重要标准,麸质蛋白能够形成可拉伸的蛋白质-淀粉基质网络,赋予面团良好的内聚性、黏度、弹性、吸水能力和持气能力^[45]。一方面,EPS 的生成能提高麸质网络质量,一些高产 EPS 的菌种如短乳杆菌、植物乳杆菌、噬淀粉乳杆菌等对发酵产品的体积和硬度有积极影响^[46],将植物乳杆菌

添加到老面中发酵全麦面包可显著降低硬度,并增加弹性和内聚力^[47],有助于生产更新鲜柔软、口感友好的全麦产品。另一方面,乳酸菌酸化诱导麸质蛋白二级结构的改变,导致其发生不同程度的解聚以形成特定的微观结构,例如纤维网络和层状结构,以增加面筋的柔软度和弹性^[38],这些变化与每种菌株独特的酸化动力学有关,如发酵乳杆菌和植物乳杆菌改善层状结构中麸质蛋白的排列,二者构象均以平行的 β 片层为主,而戊酸片球菌在促进三维纤维网络发展方面占主导地位,反平行 β 片层随之增加,从而影响面团流变特性和馒头质量^[48]。因此,细菌菌株的选择是影响产品质地的重要因素。

老面微生物群除对麸质蛋白的结构和流变学产生影响外,其气体产量也是影响馒头物理特性的重要指标之一。酵母菌是老面中产气的主要微

生物,作为优势真菌,通过糖酵解途径和三羧酸循环将可发酵糖转化为乙醇和二氧化碳,从而增加面团的多孔性和疏松性,还有助于发展和加强面团中的面筋网络^[49],因此对面团的弹性、内聚性及比容有积极作用。然而在本研究中发现酵母属与弹性呈显著负相关关系。除此之外,酵母属没有表现出与其它物理特性显著的相关性。以往的研究报道称,用含有异常威克汉姆酵母的复合发酵剂发酵面包可显著降低硬度^[50],而在本研究中威克汉姆酵母属与硬度呈现不显著的负相关关系($r=-0.52$)。红球菌属、镰刀菌属、曲霉属、链格孢属、附球菌属与弹性呈显著正相关关系,说明了低丰度微生物在促进馒头质地改善方面发挥着作用。总之,这项研究的结果表明了这些微生物可能在改善馒头质量方面的应用。



注:方格紫色填充及数字加粗代表差异性显著($P<0.05$)。

图6 微生物群落和物理特性的相关性分析

Fig.6 Correlations between microbiota and physical properties

3 结论

本研究采用高通量测序技术解析了老面发酵小麦/小麦-小米面团中的微生物结构组成及其与馒头物理特性的相关性。小麦-小米面团中菌群多样性较低,然而,2组样品微生物群落组成结构相似,优势菌属均以乳酸杆菌属、片球菌属和酵母属为主。面团发酵过程中微生物通过不同的代谢方式,对馒头品质产生影响,如小麦-小米面团中细菌可能通过产生次级代谢产物和多种氨基酸来发挥作用。小麦-小米馒头表现出较高的比容和咀嚼性,而弹性和内聚性较低。相关性分析表明,乳酸杆菌属和片球菌属对馒头品质的提升具有良好作用,其它低丰度菌属,如红球菌属、镰刀菌属、曲霉属等也有助于改善馒头质地。该研究表明了老面发酵面团中的一些微生物在改良主食馒头品质方面的潜在应用。

参 考 文 献

- [1] LU H Y, ZHANG J P, LIU K B, et al. Earliest domestication of common millet (*Panicum miliaceum*) in East Asia extended to 10,000 years ago[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(18): 7367-7372.
- [2] GONZÁLEZ-ALONSO V, PRADAL I, WARDHANA Y R, et al. Microbial ecology and metabolite dynamics of backslopped triticale sourdough productions and the impact of scale[J]. International Journal of Food Microbiology, 2024, 408: 110445.
- [3] OLOJEDE A O, SANNA A I, BANWO K. Rheological, textural and nutritional properties of gluten-free sourdough made with functionally important lactic acid bacteria and yeast from *Nigerian sorghum* [J]. LWT -Food Science and Technology, 2020, 120: 108875.
- [4] DENKOVA R, ILIEVA S, DENKOVA Z, et al. Production of wheat bread without preservatives using sourdough starters[J]. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2014, 28(5): 889-898.
- [5] WANG Y H, YANG Y Y, LI H Q, et al. Characterization of aroma-active compounds in steamed breads fermented with Chinese traditional sourdough [J]. LWT -Food Science and Technology, 2021, 152: 112347.
- [6] FALASCONI I, FONTANA A, PATRONE V, et al. Genome-assisted characterization of *Lactobacillus fermentum*, *Weissella cibaria*, and *Weissella confusa* strains isolated from sorghum as starters for sourdough fermentation[J]. Microorganisms, 2020, 8(9): 1388.
- [7] SU X Q, WU F F, ZHANG Y Q, et al. Effect of organic acids on bread quality improvement[J]. Food Chemistry, 2019, 278: 267-275.
- [8] MINERVINI F, DE ANGELIS M, DI CAGNO R, et al. Ecological parameters influencing microbial diversity and stability of traditional sourdough[J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 171: 136-146.
- [9] ZHOU Y M, SHE X M, ZHU S Y, et al. The study of microbial diversity and volatile compounds in Tartary buckwheat sourdoughs[J]. Food Chemistry-X, 2022, 14: 100353.
- [10] HE Z H, LIU A H, PENA R J, et al. Suitability of Chinese wheat cultivars for production of northern style Chinese steamed bread[J]. Euphytica, 2003, 131(2): 155-163.
- [11] LIN Q, LIU L N, BI Y, et al. Effects of different debranning degrees on the qualities of wheat flour and Chinese steamed bread[J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 5(2): 648-656.
- [12] WANG Z, YIN Z Q. Study on the relationship between starch components and the quality of steamed bread[J]. Cereal and Feed Industry, 2005(3): 13-14.
- [13] VOGELMANN S A, SEITTER M, SINGER U, et al. Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters[J]. International Journal of Food Microbiology, 2009, 130(3): 205-212.
- [14] SHEUCHENKO A, YANG Y M, KNAUST A, et al. Proteomics identifies the composition and manufacturing recipe of the 2500-year old sourdough bread from Subeixi cemetery in China[J]. Journal of Proteomics, 2014, 105: 363-371.
- [15] ERCOLINI D, PONTONIO E, DE FILIPPIS F, et al. Microbial ecology dynamics during rye and wheat sourdough preparation[J]. Applied and Environmental

- Microbiology, 2013, 79(24): 7827–7836.
- [16] WECKX S, VAN DER MEULEN R, MAES D, et al. Lactic acid bacteria community dynamics and metabolite production of rye sourdough fermentations share characteristics of wheat and spelt sourdough fermentations[J]. Food Microbiology, 2010, 27(8): 1000–1008.
- [17] DE VUYST L, VAN KERREBROECK S, LEROY F. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation[J]. Advances in Applied Microbiology, 2017, 100: 49–160.
- [18] GANZLE M G, ZHENG J S. Lifestyles of sourdough *Lactobacilli*—Do they matter for microbial ecology and bread quality?[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 302: 15–23.
- [19] EDEMA M O, SANNA A I. Functional properties of selected starter cultures for sour maize bread [J]. Food Microbiology, 2008, 25(4): 616–625.
- [20] ADEPEHIN J O, ENUJIUGHA V N, BADEJO A A, et al. Bacterial ecology and rheological parameters of multigrain gluten-free sourdoughs[J]. LWT—Food Science and Technology, 2018, 96: 344–349.
- [21] SUNIL C K, GOWDA N A N, NAYAK N, et al. Unveiling the effect of processing on bioactive compounds in millets: Implications for health benefits and risks[J]. Process Biochemistry, 2024, 138: 79–96.
- [22] LAU S W, CHONG A Q, CHIN N L, et al. Sourdough microbiome comparison and benefits[J]. Microorganisms, 2021, 9(7): 1355.
- [23] GOBBETTI M. The sourdough microflora: Interactions of lactic acid bacteria and yeasts[J]. Trends in Food Science and Technology, 1998, 9(7): 267–274.
- [24] KATSI P, KOSMA I S, MICHAILIDOU S, et al. Characterization of artisanal spontaneous sourdough wheat bread from central Greece: Evaluation of physico-chemical, microbiological, and sensory properties in relation to conventional yeast leavened wheat bread[J]. Foods, 2021, 10(3): 635.
- [25] DE VUYST L, VAN KERREBROECK S, HARTH H, et al. Microbial ecology of sourdough fermentations: Diverse or uniform?[J]. Food Microbiology, 2014, 37: 11–29.
- [26] LI Z J, LI H F, BIAN K. Microbiological characterization of traditional dough fermentation starter (Jiaozhi) for steamed bread making by culture-dependent and culture-independent methods[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 234: 9–14.
- [27] GREPPI A, RANTISOU K, PADONOU W, et al. Yeast dynamics during spontaneous fermentation of mawe and tchoukoutou, two traditional products from Benin[J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 165(2): 200–207.
- [28] ZHENG X W, YAN Z, HAN B Z, et al. Complex microbiota of a Chinese ‘Fen’ liquor fermentation starter (Fen-Daqu), revealed by culture-dependent and culture-independent methods[J]. Food Microbiology, 2012, 31(2): 293–300.
- [29] LI F Q, YOSHIZAWA T. Alternaria mycotoxins in weathered wheat from China[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(7): 2920–2924.
- [30] MADORABA E, STEENKAMP E T, THERON J, et al. Diversity and dynamics of bacterial populations during spontaneous sorghum fermentations used to produce ting, a South African food[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2011, 34(3): 227–234.
- [31] 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.
- [32] LEROY F, DE WINTER T, MORENO M R F, et al. The bacteriocin producer *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 is a competitive starter culture for type II sourdough fermentations[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007, 87(9): 1726–1736.
- [33] GANZLE M G. Enzymatic and bacterial conversions during sourdough fermentation[J]. Food Microbiology, 2014, 37: 2–10.
- [34] WEIMER B, SEEFELDT K, DIAS B. Sulfur metabolism in bacteria associated with cheese [J]. Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, 1999, 76(1/2/3/4): 247–261.
- [35] THIELE C, GANZLE M G, VOGEL R F. Contribution of sourdough *Lactobacilli*, yeast, and cereal enzymes to the generation of amino acids in dough relevant for bread flavor[J]. Cereal Chemistry, 2002, 79(1): 45–51.
- [36] LU J, SHAN L K, XIE Y T, et al. Effect of fermentation on content, molecule weight distribution

- and viscosity of beta-glucans in oat sourdough[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2019, 54(1): 62–67.
- [37] GOESAERT H, BRIJS K, VERAVERBEKE W S, et al. Wheat flour constituents: How they impact bread quality, and how to impact their functionality[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2005, 16: 12–30.
- [38] ARENDT E K, RYAN L A M, DAL BELLO F. Impact of sourdough on the texture of bread[J]. *Food Microbiology*, 2007, 24(2): 165–174.
- [39] OLOJEDE A O, SANI A I, BANWO K, et al. Improvement of texture, nutritional qualities, and consumers' perceptions of sorghum-based sourdough bread made with *Pediococcus pentosaceus* and *Weissella confusa* strains[J]. *Fermentation*—Basel, 2022, 8(1): 32.
- [40] TU J, ZHAO J, LIU G H, et al. Solid state fermentation by *Fomitopsis pinicola* improves physicochemical and functional properties of wheat bran and the bran-containing products[J]. *Food Chemistry*, 2020, 328: 127046.
- [41] DECOCK P, CAPPELLE S. Bread technology and sourdough technology[J]. *Trends in Food Science and Technology*, 2005, 16(1/2/3): 113–120.
- [42] SUO B, CHEN X Y, WANG Y X. Recent research advances of lactic acid bacteria in sourdough: Origin, diversity, and function[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 37: 66–75.
- [43] LYNCH K M, COFFEY A, ARENDT E K. Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products[J]. *Food Research International*, 2018, 110: 52–61.
- [44] FEKRI A, TORBATI M, KHOSROSHAHI A Y, et al. Functional effects of phytate-degrading, probiotic lactic acid bacteria and yeast strains isolated from Iranian traditional sourdough on the technological and nutritional properties of whole wheat bread[J]. *Food Chemistry*, 2020, 306: 125620.
- [45] MA 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: 130038.
- [46] LYNCH K M, COFFEY A, ARENDT E K. Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products[J]. *Food Research International*, 2018, 110: 52–61.
- [47] 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*, 2020, 109: 106914.
- [48] NUTTER J, SAIZ A I, IURLINA M O. Microstructural and conformational changes of gluten proteins in wheat-rye sourdough[J]. *Journal of Cereal Science*, 2019, 87: 91–97.
- [49] TAGLIERI I, MACALUSO M, BIANCHI A, et al. Overcoming bread quality decay concerns: Main issues for bread shelf life as a function of biological leavening agents and different extra ingredients used in formulation. A review[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(5): 1732–1743.
- [50] CODA R, RIZZELLO C G, DI CAGNO R, et al. Antifungal activity of *Meyerozyma guilliermondii*: Identification of active compounds synthesized during dough fermentation and their effect on long-term storage of wheat bread[J]. *Food Microbiology*, 2013, 33(2): 243–251.

Effects of Adding Foxtail Millet on Microbial Diversity of Fermented Wheat Dough and Quality of Steamed Bread

Liu Junli, Zhao Wei, Zhang Aixia, Li Pengliang, Ren Sufen, Liu Jingke*

(*Institute of Biotechnology and Food Science, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050000*)

Abstract To study the effects of microbial growth and metabolism on the texture and quality of sourdough fermented steamed bread, high-throughput sequencing was used to compare sourdough fermented wheat (SW) /wheat-millet (SM)

doughs, and the physical characteristics of wheat/wheat-millet steamed bread and its correlation with microorganisms were analyzed. The results showed that there were some differences in microbial diversity and richness between the two groups, but the differences were not significant. The diversity of bacterial and fungal communities in SM was low. Fungi had higher richness than bacteria, but lower diversity. The microbial flora composition of the two groups was similar. The dominant bacterial genera were *Lactobacillus* and *Pediococcus* and the dominant bacterial species were *Lactobacillus crustorum* and *Lactobacillus fermentum*. They were all significantly different in SW and SM ($P<0.05$). The dominant fungal genus was *Saccharomyces*, which was composed of *Saccharomyces cerevisiae*. KEGG analysis showed that secondary metabolite biosynthesis and amino acid metabolism were highly metabolized pathways in SM, while carbohydrate, lipid, vitamin and nucleotide metabolism were significantly up-regulated in SW ($P<0.05$). Compared with wheat steamed bread, the wheat-millet steamed bread had higher hardness, specific volume and chewiness, but lower springiness and cohesiveness. Lactic acid bacteria could improve the texture of steamed bread, depending on the species of bacteria. There was a significant positive correlation between low abundance genera and springiness ($P<0.05$). These results provided a theoretical basis for exploring the formation mechanism of microbial composition and physical characteristics, and a reference for screening potential microorganisms to improve the quality of sourdough fermented steamed bread.

Keywords sourdough; millet; microbial diversity; texture; specific volume