

姬松茸多糖泡腾片的配方优化

Optimization on formulation of *Agaricus blazei* Murill polysaccharide effervescent tablets by response surface methodology

赵肖通¹

张彦青^{1,2}

李成波¹

张欢¹

ZHAO Xiao-tong¹ ZHANG Yan-qing^{1,2} LI Cheng-bo¹ ZHANG Huan¹

(1. 天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津 300134; 2. 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

(1. School of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China;

2. Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Tianjin 300134, China)

摘要:由姬松茸多糖泡腾片的崩解时限和脆碎度综合得出的归一化值(Z)为响应值,对姬松茸多糖泡腾片配方中的影响因素进行优化。对酸碱质量比、柠檬酸质量百分比、聚乙二醇(PEG6000)质量百分比进行三因素五水平的试验设计,模拟得到二次多项式回归方程的预测模型,并获得姬松茸多糖泡腾片最优配方。结果表明:所得回归模型很好地反映了各因素水平与响应值之间的关系,最优配方条件为酸碱质量比0.81,柠檬酸质量分数16.96%,PEG6000质量分数4.08%。在该条件下制得的姬松茸多糖泡腾片崩解时限少于300 s,脆碎度合格,与模型预测值非常接近,表明该配方具有良好的可行性。

关键词:姬松茸;多糖;泡腾片;崩解时限

Abstract:In this study, the formulation of *Agaricus Blazei* Murill polysaccharide effervescent tablets were optimized. The normalized values (Z) of effervescent tablets of disintegration time and friability was selected as the response value. The influence factors for formulation of *Agaricus Blazei* Murill polysaccharide effervescent tablets were acid and alkali mass ratio, Citric acid mass fraction, PEG6000 mass fraction. Moreover, a three-variable, five-level code experiment was designed to optimize the formulation of *Agaricus Blazei* Murill polysaccharide effervescent tablets. The quadratic polynomial regression equation was built and could well describe the relationship between the dependent and independent variables. The optimal formulation was as follows: 0.81 of mass ratio between acid and alkali, citric acid mass ratio 16.96%, and PEG6000 mass ratio 4.08%. Under these conditions, the disintegration time and the friability of the effervescent tablets were qualified, and the normalized values were

close to the predicted values of the model. The newly developed formulation of *Agaricus Blazei* Murill polysaccharide effervescent tablets was feasible and effective.

Keywords:*Agaricus Blazei* Murill; polysaccharide; effervescent tablets; disintegration time

姬松茸(*Agaricus blazei* Murill)属担子菌亚门,层菌纲,伞菌目,蘑菇科,蘑菇属,学名柏氏蘑菇,别名小松菇,原产于北美南部,巴西,秘鲁等地,也叫巴西蘑菇,是一种中温型食用菌和药食两用的珍稀真菌^[1-4]。姬松茸中含有糖、蛋白质、脂质、维生素、矿物质营养元素,及各种珍贵的维生素^[5]。研究^[6]表明,姬松茸中的多糖含量在已知的保健真菌中最高,其核心组分是 β 葡聚糖。姬松茸多糖是姬松茸的主要活性成分,具有抗氧化^[7]、免疫调节^[8]、抗肿瘤^[9]、抗病毒^[10]等生理活性。

泡腾片(effervescent tablets)是指含有食用碳酸氢钠(NaHCO_3)和有机酸,在水中反应可生成大量二氧化碳气体呈泡腾状的片剂^[11]附录1D,是近年来国内外开发应用的一种新颖片剂。泡腾片属于片剂的一种剂型,具有口感好、见效快、味道佳、溶解度高等优点^[12]。与其他片剂相比,泡腾片除了辅料为泡腾剂及不需要分散剂之外,其余基本相同^[13-16]。泡腾片在制备过程中需将酸源和碱源分别制粒后再进行混合、干燥、压片^[17]。

姬松茸多糖泡腾片能更好地利用泡腾片崩解速度快、溶解度高等优点,增加姬松茸多糖的生物利用度,且泡腾片在色香味方面能够灵活调理,特别适用于儿童、老人和吞服困难的患者。本课题拟在单因素试验的基础上,采用响应面法设计优化姬松茸多糖泡腾片的配方条件,为深入开发姬松茸多糖产品提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

姬松茸多糖粗提物:多糖含量为45%,实验室自制;

基金项目:国家星火计划重大项目(编号:2012GA610002);天津市科技支撑计划重点项目(编号:12ZCZDNC01400)

作者简介:赵肖通,男,天津商业大学在读硕士研究生。

通讯作者:张彦青(1976-),女,天津商业大学教授,博士。

E-mail: zhyqing@tjcu.edu.cn

收稿日期:2015-11-27

预胶化淀粉:曲阜市药用辅料有限公司;
乳糖:山东聊城安信药用辅料有限公司;
聚乙二醇(PEG)6000:北京佳福晨康药用辅料有限公司;
碳酸氢钠、柠檬酸、聚乙烯吡咯烷酮(K30):天津市光复精细化工研究所;
95%乙醇:分析纯。

1.2 仪器与设备

电子天平:FA1004 Max100g 型,上海精科天平有限公司;
电子分析天平:BP211D 型,德国 Sartorius 公司;
标准药筛:四号筛、二号筛,浙江上虞市华康化验仪器厂;
单冲式压片机:DP30A 型,北京国药龙立科技有限公司;
智能片剂硬度仪:YD-I 型,天大天发科技有限公司;
电热恒温鼓风干燥箱:DH-101-3 型,天津市中环实验电炉有限公司;
脆碎度检查仪:FT-2000 型,天津市金贝尔科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 泡腾片制备流程 选用湿法制粒方式^[18],将姬松茸多糖药物和填充剂按质量分数进行配比混合均匀,过 80 目筛,分为两份。一份加入酸源,另一份加入碱源,混合均匀,再过 80 目筛。将含水粘合剂加入到两份药物中进行制粒,达到“握即成团,轻压即散”的状态,软材分别过 28 目筛,整粒,40℃烘干,得泡腾颗粒,向干燥后的泡腾颗粒中添加润滑剂,混合均匀后,进行压片,片重控制在(200±10) mg。

1.3.2 姬松茸多糖泡腾片配方中辅料用量的筛选 由于姬松茸多糖具有一定的黏性,加入量过大在制备过程中会发生粘冲和崩解迟缓现象,反之则要增加服用剂量,所以加入药粉量应在最大服用量的基础上,结合前期预试验结果确定。本研究拟用 20%姬松茸多糖药粉量、5% PEG6000,用 PVP 乙醇溶液(质量分数 5%)做粘合剂,进行以下单因素试验,以平均片重(200 mg±10 mg)、平均硬度(4~6 kg/cm²)、崩解时限(<300 s)^[11]附录 1 D、M A 为单因素考察指标,对姬松茸多糖泡腾片配方中辅料用量进行筛选。考察方案见表 1。

1.3.3 姬松茸多糖泡腾片配方的响应面试验

(1) 响应面试验设计:通过在辅料、酸碱质量比值和酸碱用量对姬松茸多糖泡腾片影响的单因素试验基础上,确定各因素的水平值范围,采用响应面中心组合试验设计^[19],研究各因素对考察指标的影响规律。以酸碱质量比、柠檬酸质量百分比、PEG 6000 质量百分比为自变量,以泡腾片崩解时限(Y₁)和脆碎度(Y₂)综合得出的归一化值(Z)为标准,采用三因素五水平的响应面试验优化姬松茸多糖泡腾片的配方条件。

(2) 数据处理与分析:将各指标的最佳测定值定为满分,然后根据正比和反比关系将各值转换成相应的百分比,以影响片剂的崩解时限(Y₁)、脆碎度(Y₂)为指标,根据各指

表 1 辅料用量考察表 [†]					
Table 1 The inspection table of adjuvant dosage					
酸碱比 (<i>m</i> : <i>m</i>)	药粉用 量/%	乳糖/ %	PEG 6000/ %	柠檬酸/ %	碳酸氢 钠/%
0.70:1.00	20	55	5	8.2	11.7
	20	50	5	10.3	14.7
	20	45	5	12.3	17.6
	20	40	5	14.4	20.6
	20	55	5	9.9	10.1
0.98:1.00	20	50	5	12.4	12.6
	20	45	5	14.8	15.2
	20	40	5	17.3	17.7
1.25:1.00	20	55	5	11.1	8.9
	20	50	5	13.9	11.1
	20	45	5	16.7	13.4
	20	40	5	19.5	15.6

[†] 水温为 20℃。

标的重要性,确定其权重系数,按照综合评判公式:归一化值^[20] $Z=M\times\alpha\div Y_1+N\times\beta\div Y_2$,其中, M 、 N 分别为崩解时限、脆碎度的权重系数, α 为 20 个崩解时限中最小值, β 为 20 个脆碎度中最小值。试验所得数据利用统计学中 t 检验方法经 SPSS 16.0 软件处理进行比较,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 姬松茸多糖泡腾片配方中辅料用量的单因素试验

根据表 1 考察的酸碱比值及酸碱用量对姬松茸多糖泡腾片影响的单因素试验结果可知:不同酸碱比值及酸碱用量制作的姬松茸多糖泡腾片的试验结果均符合考察指标。由此得出影响姬松茸多糖泡腾片的辅料量范围,即酸碱质量比 0.70:1.00~1.25:1.00,柠檬酸质量百分比控制在 5.0%~20.0%。由于 PEG6000 质量百分比超过 5%,会出现粘冲的现象^[21],故 PEG6000 质量百分比在 1%~5%。响应面试验设计因素与水平编码表见表 2。

2.2 姬松茸多糖泡腾片配方条件研究的响应面试验

2.2.1 模型的建立与显著性分析 利用响应面试验设计方案,在单因素试验基础上设计三因素五水平的优化试验,试验设计方案及结果见表 3。

表 2 响应面试验因素水平编码表			
Table 2 Factors and levels for response surface analysis			
水平	A 酸碱质量比	B 柠檬酸质量 百分比/%	C PEG6000 质量 百分比/%
—1.682	0.70	5.00	1.00
—1	0.81	8.04	1.82
0	0.98	12.50	3.00
1	1.14	16.96	4.19
1.682	1.25	20.00	5.00

表 3 响应面法的试验设计及结果[†]

Table 3 The experimental design and result for response surface analysis

实验号	A	B	C	Y ₁ /s	Y ₂ /%	Z
1	-1	-1	-1	262	1.5	0.63
2	1	-1	-1	193	1.4	0.75
3	-1	1	-1	159	1.2	0.89
4	1	1	-1	170	1.3	0.83
5	-1	-1	1	292	1.2	0.69
6	1	-1	1	298	1.1	0.73
7	-1	1	1	140	1.2	0.95
8	1	1	1	211	1.1	0.83
9	-1.682	0	0	196	1.4	0.74
10	1.682	0	0	270	1.1	0.76
11	0	-1.682	0	348	1.1	0.70
12	0	1.682	0	138	1.1	1.00
13	0	0	-1.682	286	1.2	0.70
14	0	0	1.682	267	1.2	0.72
15	0	0	0	236	1.1	0.79
16	0	0	0	195	1.4	0.75
17	0	0	0	229	1.2	0.76
18	0	0	0	210	1.2	0.79
19	0	0	0	206	1.3	0.76
20	0	0	0	208	1.3	0.75

† 水温为 20℃。

根据表 3 数据,通过统计分析软件 Design-Expert 8.0 进行数据分析,建立响应面回归模型,根据本研究内容确定由姬松茸多糖泡腾片的崩解时间和脆碎度综合得出的归一化值为优化指标,其权重系数依次为:0.5,0.5,由此得出配方工艺的二次多项回归方程:

$$Z=0.77+9.985\times10^{-4}A+0.088B+9.785\times10^{-3}C-0.042AB-0.017AC+2.5\times10^{-3}BC-2.242\times10^{-3}A^2+$$

$$0.033B^2-0.016\times10^{-3}C^2。$$
 (1)

回归模型方差分析及显著性检验结果见表 4。由表 4 可知:该回归模型方程的拟合程度达极显著水平(P<0.01),该模型决定系数 R²=0.979 1,说明该模型能够解释 97.91%的变化,失拟性 F=0.80,P=0.591 6>0.05,不显著。这一结果表明该回归模型与试验数据拟合程度良好,试验误差小,模型方程可用于姬松茸多糖泡腾片配方的分析和预测指导。

由表 4 对该回归模型方程方差分析的结果表明:柠檬酸质量百分比对姬松茸多糖泡腾片配方研究的影响显著,酸碱质量比和 PEG 6000 质量百分比对姬松茸多糖泡腾片配方研究的影响不显著。各因素对姬松茸多糖泡腾片配方研究影响大小的顺序依次为柠檬酸质量百分比>PEG6000 质量百分比>酸碱质量比。

2.2.2 因素间的交互影响 经 Design-Expert 8.0 软件绘出响应面和等高线图(图 1)。根据响应面试验的设计原理及分析^[22],它们能够直观的反映出各因素之间的交互作用对响应值的影响。三维响应面图弯曲度越大,表示两因素间相互作用越显著,等高线图圆形表示两因素相互作用不显著,椭圆形表示相互作用显著。比较 3 组图可知,柠檬酸质量百分数和 PEG 6000 质量百分数两水平之间交互作用对姬松茸多糖泡腾片配方的研究影响作用不显著;酸碱质量比和柠檬酸质量百分数两水平之间交互作用对姬松茸多糖泡腾片配方的研究影响极显著,酸碱质量比和 PEG 6000 质量百分数两两水平之间交互作用对姬松茸多糖泡腾片配方的研究影响显著。

2.2.3 响应面优化的工艺条件验证 依据响应面法试验设计结果及回归方程模型^[23],结合实际生产工艺,优化最佳配方条件为酸碱质量比 0.81,柠檬酸质量百分比 16.96%,PEG 6000 质量百分比 4.08%。在此优化条件下,制备 3 批姬松茸多糖泡腾片,检测其片剂的 Z 值,结果见表 5。

表 4 回归模型方差分析[†]

Table 4 Analysis of variance for the regression model for adsorption capacity

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.150	9	0.016	51.93	< 0.000 1	* *
A	1.361×10 ⁻⁵	1	1.361×10 ⁻⁵	0.04	0.838 9	
B	0.110	1	0.110	339.74	< 0.000 1	* *
C	1.308×10 ⁻³	1	1.308×10 ⁻³	4.18	0.068 1	
AB	0.014	1	0.014	46.21	< 0.000 1	* *
AC	2.450×10 ⁻³	1	2.450×10 ⁻³	7.83	0.018 8	*
BC	5.000×10 ⁻⁵	1	5.000×10 ⁻⁵	0.16	0.697 7	
A ²	7.246×10 ⁻⁵	1	7.246×10 ⁻⁵	0.23	0.640 6	
B ²	0.016	1	0.016	50.53	< 0.000 1	* *
C ²	3.869×10 ⁻³	1	3.869×10 ⁻³	12.37	0.005 6	* *
残差	3.127×10 ⁻³	10	3.127×10 ⁻³			
失拟项	1.394×10 ⁻³	5	2.788×10 ⁻⁴	0.80	0.591 6	
纯误差	1.733×10 ⁻³	5	3.467×10 ⁻⁴			
总和	0.150	19				

† *. 差异显著(P<0.05);* *. 差异极显著(P<0.01)。

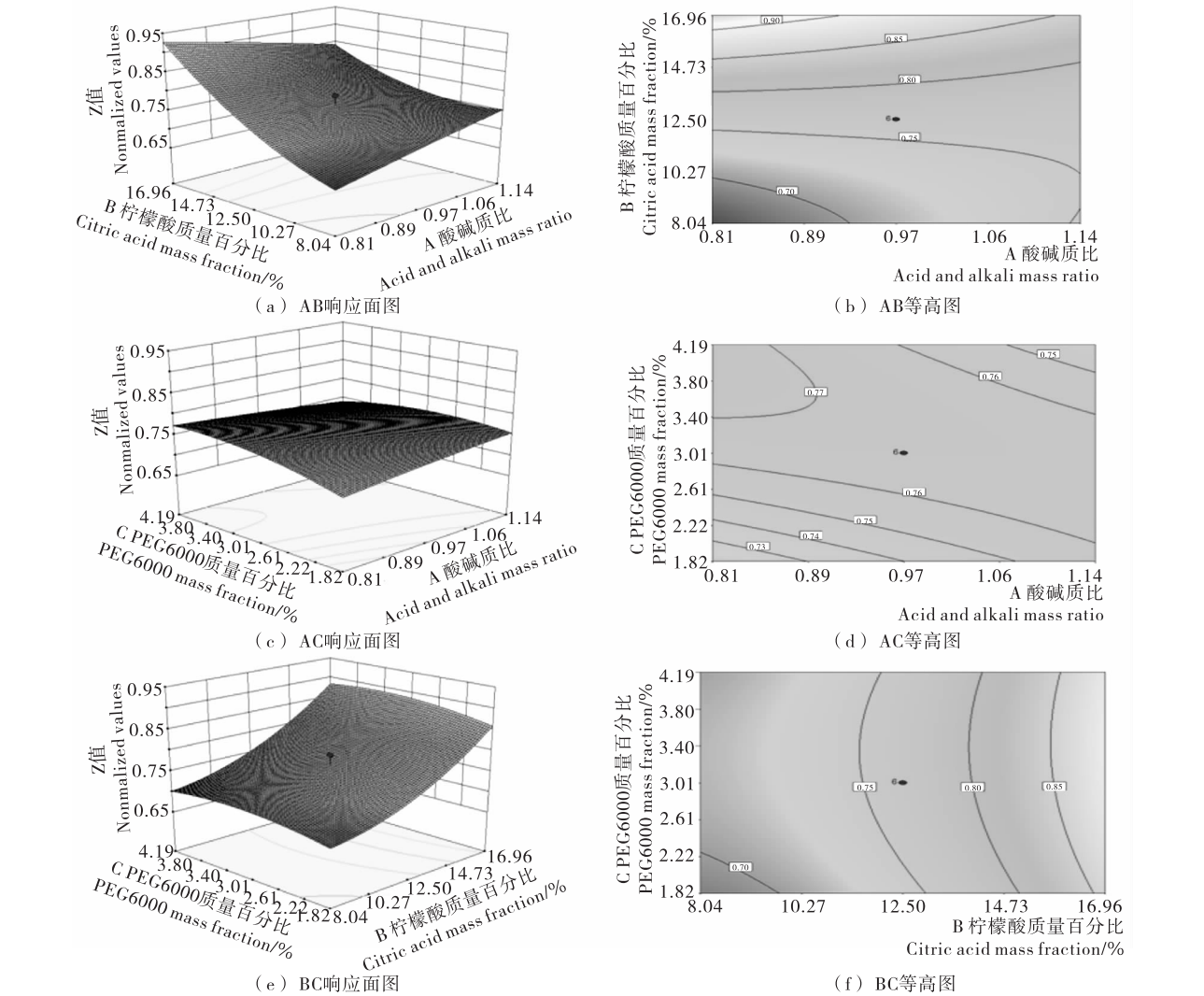


图 1 各因素交互作用对姬松茸多糖泡腾片配方研究影响的响应面及等高线图

Figure 1 Response surface and contour plots for interactive effects of optimizing formulation of *Agaricus Blazei* Murill polysaccharide effervescent tablets

表 5 最优化配方的预测值与实测值的比较(Z 值)				
Table 5 Comparison of measured value and predicted value of optimal formulation				
批号	预测值	实际值	误差	RSD/%
1	0.94	0.96	2.13	2.5
2	0.94	0.95	1.06	1.9
3	0.94	0.95	1.06	1.5

由表 5 可知,各项指标误差均小于 5%,说明本试验所建立的二次多项回归方程模型能够很好地描述各因素与效应面之间的变化关系。

3 结论

结合单因素试验,采用响应面试验设计和 Design-Expert 8.0 软件进行分析,以酸碱质量比、柠檬酸质量百分比、PEG 6000 质量百分比为相应变量,选取泡腾片的崩解时限和脆碎度综合得出的归一化值为响应值,得二次多项式回归方程的预测模型,所得回归模型能很好地反映各因素水平与响应

值之间的关系,对姬松茸多糖泡腾片的配方进行了优化,得到最佳的制备配方工艺为姬松茸多糖 20%、柠檬酸16.96%、碳酸氢钠 20.94%、PEG 6000 4.08%、乳糖 38.02%,粘合剂 PVP 乙醇溶液(质量分数 5%),在此条件下制备的 3 批姬松茸多糖泡腾片的平均片重、平均硬度和崩解时限分别为 0.21 g、4.9 kg/cm² 和 225 s,均满足《中华人民共和国药典》^[11]附录 I D、Ⅳ A 要求。

参考文献

[1] 殷蓓蓓,周晓燕,李爽. 姬松茸的研究与进展[J]. 工业微生物, 2007, 37(2): 52-56.

[2] 刘高翔. 姬松茸中镉的存在形态及其对镉吸附特性的研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013: 1-2.

[3] 王丽娟,张彦青,王勇,等. 姬松茸多糖增强免疫作用及急性毒性研究[J]. 食品科学, 2014, 35(13): 258-261.

[4] 张荣娇,吴天祥. 姬松茸多糖及其生物活性研究进展[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(6): 108-110.

[5] 单玉玲,张艳荣. 姬松茸多糖提取及纯化工艺的研究[D]. 长

春: 吉林农业大学, 2007: 1-2.

[6] 曹静, 刘高强, 王晓玲, 等. 可食真菌 β -葡聚糖的生物功能及检测技术[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 247-268.

[7] 王伟娟, 冯翠萍, 常明昌, 等. 姬松茸多糖对铅中毒雄性大鼠的抗氧化作用[J]. 中国食品学报, 2013, 13(6): 16-19.

[8] 王斌, 连宾. 食药用真菌多糖的研究与应用[J]. 食品与机械, 2005, 21(6): 96-100.

[9] 郑亚凤, 黄志伟, 陈瑞庆, 等. 姬松茸多糖的抗肿瘤活性[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2010, 39(4): 409-412.

[10] 樊廷俊, 钱冠兰, 杜玉堂, 等. 姬松茸提取物组分体外抗病毒感染活性的研究[J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2008, 38(5): 775-780.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010.

[12] 胡中慧, 胡晓青. 泡腾片的研究进展[J]. 中华临床医药, 2004, 5(9): 109-110.

[13] 王晓丽, 杨永建, 陈勇, 等. 异叶青兰总黄酮片剂制备及处方优化[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8): 1 878-1 880.

[14] 谢向阳, 邢传峰, 李银科, 等. 琥珀酸美托洛尔缓释微丸型片剂的制备与体外释放度考察[J]. 解放军药科学学报, 2014, 30(4): 299-302.

[15] 程新德. 复合辅料用于阿司匹林分散片制备的研究[D]. 山东: 山东大学, 2013: 17-18.

[16] 卢小凤. 凯乐泡腾片的制备工艺及质量标准研究[D]. 广东: 广州中医药大学, 2012: 5.

[17] 周小雅, 黄欣碧, 陈华海, 等. 苦丁茶泡腾片制备工艺的研究[J]. 西北药学杂志, 2012, 27(5): 452-454.

[18] 宿迷菊, 毛志方, 施海根, 等. 食用泡腾片的制备及研究概况[J]. 中国茶叶加工, 2008(2): 20-23.

[19] 郭勤涛, 张令弥, 费庆国. 用于确定性计算仿真的响应面法及其试验设计研究[J]. 航空学报, 2005, 27(1): 55-61.

[20] 廖红强, 邱勇, 杨侠, 等. 对应用层次分析法确定权重系数的探讨[J]. 机械工程师, 2012(6): 22-25.

[21] 王淑华, 林永强. 泡腾片的常用辅料及制备方法[J]. 食品与药品, 2006, 8(3): 70-72.

[22] 乐龙, 覃艳, 王志祥. 响应曲面法优化超声提取辣椒中辣椒红色素的工艺研究[J]. 中国药科大学学报, 2011, 42(6): 573-577.

[23] 张泽志, 韩春亮, 李成未. 响应面法在试验设计与优化中的应用[J]. 河南教育学院学报: 自然科学版, 2011, 20(4): 34-37.

(上接第 218 页)

[2] 王育红, 赵雨, 张长付, 等. 低糖颗粒型草莓酱的研制与工业化生产的探讨[J]. 农产品加工: 学刊, 2009(12): 70-72.

[3] 祝战斌. 果酱类产品加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 123-126.

[4] 王中风, 韦田, 张敏, 等. 真空处理对酥梨渗透脱水率和固形物增加率的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 53-56.

[5] Shi X Q, Fito P, Chiralt A. Influence of vacuum treatment on mass transfer during osmotic dehydration of fruits[J]. Food Research International, 1995, 28(5): 445-454.

[6] Yadav KA, Singh SV. Osmotic dehydration of fruits and vegetables: a review[J]. Journal of Food Science and Technology, 2012, 22(1): 1-20.

[7] Azarpazhooh E, Ramaswamy H S. Microwave-osmotic dehydration of apples under continuous flow medium spray conditions: comparison with other methods[J]. Drying Technology, 2009, 28(1): 49-56.

[8] Silva KS, Fernandes M A, Mauro M A. Osmotic dehydration of pineapple with Impregnation of sucrose, calcium, and ascorbic acid[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7(2): 385-397.

[9] 李辉, 吴巧梅, 林福兴, 等. 响应面法优化番木瓜渗透脱水工艺[J]. 热带作物学报, 2015, 36(3): 611-616

[10] 赵金红, 胡锐, 刘冰, 等. 渗透脱水前处理对芒果冻结速率和品质的影响[J]. 农业机械学报, 2014, 45(2): 220-227.

[11] 黄宗海, 何新益, 王佳蕊, 等. 预处理方式对胡萝卜变温压差膨化干燥品质的影响[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 124-126.

[12] 何金兰, 肖开恩, 张艳红, 等. 低糖南瓜果脯加工工艺研究[J]. 食品与机械, 2007, 23(4): 143-147.

(上接第 222 页)

[5] 张守文, 富校秩. 面粉酵母添加剂在面包加工过程中相互关系的研究[J]. 中国粮油学报, 2006, 15(3): 22-27.

[6] 杨秀琴, 邹奇波, 黄卫宁. 酵母菌对自然发酵面团面包中风味物质影响的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 37, 40-43.

[7] Gänzle Michael G, Loponen Jussi, Gobbetti Marco. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality[J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19(10): 513-521.

[8] Scanlon M G, Zghal M C. Bread properties and crumb structure[J]. Food research international, 2001, 34(10): 841-864.

[9] 孙国娟, 崔泰花, 王禹, 等. 乳酸菌发酵面包工艺研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 143-145.

[10] 周伟轩, 葛银行. 水果明珠—葡萄[J]. 福建农业, 2007(8): 38.

[11] 王晨, 房经贵, 刘洪, 等. 葡萄与葡萄酒的营养成分[J]. 江苏林业科技, 2009, 36(4): 38-40.

[12] 王小华. 葡萄与葡萄酒[J]. 葡萄栽培与酿酒, 1998(2): 53-56.

[13] 赵金海. 葡萄干酿制白葡萄酒生产工艺研究[J]. 农产品加工, 2011(6): 76-78.

[14] 涂雅俊, 黄田苗, 赵宝, 等. 发酵葡萄干对面包烘焙特性及风味的影响[J]. 食品工业科技, 2013(5): 80-84.

[15] 宋一恒, 谢定, 钟海雁. 响应面法优化酵母富硒优化条件[J]. 食品与机械, 2009, 25(6): 125-130.

[16] 肖冬光, 刘青, 李静. 面包酵母发酵力测定方法的研究[J]. 食品工业科技, 2004(11): 61-63.

[17] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 227-232.

[18] 陈维. 探究温度对酵母菌种群数量的影响[J]. 生物学通报, 2008, 43(12): 46-48.

[19] 杨秀炯, 李晨. 影响酵母菌发酵因素[J]. 中国酿造, 2008(11): 76-77.

[20] 赵硕. 耐高渗(高糖)酵母菌株的选育[D]. 安徽: 安徽农业大学, 2010: 1-3.