

沙门柏干酪青霉多糖提取工艺优化 及其抗冻伤活性研究

Optimization for the extraction of polysaccharides from *Penicillium camemberti* and its antifreeze activity

刘冬¹ 叶红玲¹ 李萍¹ 谭炜²

LIU Dong¹ YE Hong-ling¹ LI Ping¹ TAN Wei²

(1. 安庆职业技术学院, 安徽 安庆 246003; 2. 安徽省食品药品检验研究院, 安徽 合肥 230051)

(1. Anqing Vocational Technical College, Anqing, Anhui, 246003, China;

2. Anhui Provincial Food and Drug Inspection and Research Institute, Hefei, Anhui, 230051, China)

摘要:利用单因素和 Box-Behnken 试验对沙门柏干酪青霉胞内多糖提取工艺(水料比、提取温度和提取时间)进行优化,并评价胞内多糖的抗冻伤活性。结果表明:最适水料比、提取温度和提取时间分别为 36.7 : 1 (mL/g)、89.6 °C 和 123 min,在该条件下多糖得率约为 12%。另外,胞内多糖抗冻伤活性与甘油相当,1%~2%的多糖可显著提高短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和两歧双歧杆菌的存活率。

关键词:沙门柏干酪青霉;多糖;提取条件;冷冻保护剂

Abstract: In this paper, the single-factor and Box-Behnken experiments were employed to optimize the extraction parameters of intracellular polysaccharide (IPS) from *Penicillium camemberti*, i.e. liquid-solid ratio, extraction time and temperature, and the antifreeze activity of IPS was also evaluated. The results showed that the IPS could be best extracted with liquid-solid ratio 36.7 : 1 (mL/g) at 89.6 °C for 123 min, and the yield of it was about 12%. In addition, the antifreeze activity of IPS was almost equal to glycerol, and the livabilities of *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium bifidum* were significantly improved by 1% ~ 2% IPS.

Keywords: *Penicillium camemberti*; polysaccharide; extraction condition; cryoprotectants

沙门柏干酪青霉 (*Penicillium camemberti*) 是 Camembert 干酪的主要成熟剂,它生长在 Camembert 干酪的表面,呈白色^[1]。在干酪成熟过程中,沙门柏干酪青霉分泌大量的脂肪酶和蛋白水解酶促进干酪的成熟,并形成 Camembert 干酪典型的风味和特有的组织结构^[2]。目前,关于 *P. Camemberti* 的研究主要集中在其对干酪品质的影响^[3-4]以及 Camembert 干酪成熟过程中不同成熟剂菌群间的协同作用等方面^[5-6]。此外,研究人员^[7]发现 *P. Camemberti* 可分泌右旋磷霉素,并具有抑制病原菌的作用;Bizet 等^[8]对 *P. Camemberti* 菌丝营养成分进行分析,发现其富含糖类、脂类、蛋白质和矿物质,其中糖类总含量为 33.3%。目前,关于 *P. Camemberti* 胞内多糖提取条件优化的研究,未见报道。本研究拟以沙门柏干酪青霉菌丝体为材料,采用单因素和 Box-Behnken 试验对胞内多糖提取工艺进行优化,并评价沙门柏干酪青霉胞内多糖对冷冻干燥处理过程中双歧杆菌的保护作用,旨在提高沙门柏干酪青霉胞内多糖的提取率,并为该多糖在益生菌冷冻保护剂领域的应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

沙门柏干酪青霉 (*Penicillium camemberti*): 美国 Mad Millie 公司;

短双歧杆菌 (*Bifidobacterium breve* 1.2213)、婴儿双歧杆菌 (*Bifidobacterium infantis* 1.1853)、两歧双歧杆菌 (*Bifidobacterium bifidum* 1.1852): 哈尔滨美华生物技术股份有限公司;

液氮: 安庆市华兴化工气体有限公司;

基金项目: 安徽省高等学校省级自然科学研究重点项目(编号: KJ2014A148);安徽省高等学校省级自然科学研究重点项目(编号: KJ2015A368);安徽省教育振兴计划重大教学改革研究项目(编号: 2015zdjy181);安徽省教质量工程项目(编号: 2015jtxx157);教育部高职教育创新发展行动计划项目(编号: XM-16)

作者简介: 刘冬(1982—),男,安庆职业技术学院讲师,博士。

E-mail: liudong1595693@163.com

收稿日期: 2016—10—08

牛肉浸膏、酵母膏、大豆蛋白、蛋白胨:生化试剂;
葡萄糖、95%乙醇、浓硫酸和苯酚等其他化学试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器

分析天平:ATX224 型,岛津仪器(苏州)有限公司;
紫外可见分光光度计:752 型,上海光学仪器有限公司;
CO₂培养箱:311 型,美国 Thermo 公司;
数显恒温水浴锅:HH-4 型,常州国胜电器有限公司;
超净工作台:SW-CJ-2FD 型,上海博讯仪器公司;
冷冻干燥机:FD-1B-50 型,北京博医康实验仪器有限公司;
高速冷冻离心机:ST40R 型,美国 Thermo 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 沙门柏干酪青霉菌丝的制备 在液体 PDA 培养基中接种 3~5 块沙门柏干酪青霉菌碟,于 28 ℃,150 r/min 条件下培养 72 h。过滤得菌丝球,去除琼脂块,以蒸馏水洗涤 3~5 遍后,在 50 ℃下干燥至恒重得菌丝体备用。

1.2.2 胞内多糖提取工艺 取菌丝(*m*)置于研钵中,倒入适量液氮研碎。按水料比例 30:1(mL/g)添加 70 ℃的热水并将菌丝全部转到烧杯中,将烧杯置于 70 ℃水浴锅中保温 90 min。冷却至室温,过滤得滤液(*V*₀),然后加入 3 倍体积的乙醇(95%)于 6 ℃冷藏 12 h。在 6 ℃,10 000 r/min 条件离心 10 min,收集多糖沉淀,用适量蒸馏水(*V*)复溶^[9]。

1.2.3 多糖含量测定及得率计算 采用苯酚—硫酸法^[10]制作多糖测定标准曲线。取浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液 0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6,0.7 mL 分别加入 25 mL 比色管中,补蒸馏水至 1 mL,以 1 mL 蒸馏水作空白对照。分别依次加入 6%苯酚 1 mL,浓硫酸 5 mL,室温静置 30 min。于 490 nm 下,测定吸光度值(*A*),试验重复 3 次,取平均值。以葡萄糖浓度为 *X* 轴,*A* 值为 *Y* 轴绘制标准曲线,得标准曲线方程:*A*=1.023 1*C*-0.007 2,*R*²=0.999 2。将多糖稀释适当倍数(*n*),取 1 mL 样品参考标准曲线制作方法测得吸光度值,代入方程(1)得多糖浓度。

$$P = \frac{n \times C \times V}{1\,000 \times m} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:
P——多糖得率,%;
n——多糖稀释倍数;
C——多糖浓度,mg/mL;
V——多糖溶液体积,mL;
m——菌丝质量,g;
1 000——质量单位换算系数。

1.2.4 单因素试验

(1) 水料比的选择:固定提取温度为 70 ℃,提取时间为 90 min,称取菌丝置于研钵中,倒入液氮,研碎。分别以 10:1,20:1,30:1,40:1,50:1(mL/g)的水料比,参考“1.2.2 胞内多糖提取工艺”步骤提取胞内多糖。按照“1.2.3 多糖含量测定及得率计算”方法获得不同水料比条件下的多糖得率。

(2) 提取温度的选择:固定提取时间为 90 min,水料比为 40:1(mL/g),称取菌丝置于研钵中,倒入液氮研碎。分别以 60,70,80,90,100 ℃的水,参考“1.2.2 胞内多糖提取工艺”步骤提取胞内多糖。按照“1.2.3 多糖含量测定及得率计算”方法获得不同提取温度下的多糖得率。

(3) 提取时间的选择:固定水料比为 40:1(mL/g),提取温度为 90 ℃,称取菌丝置于研钵中,倒入液氮,研碎。分别提取 30,60,90,120,150 min,参考“1.2.2 胞内多糖提取工艺”步骤提取胞内多糖。按照“1.2.3 多糖含量测定及得率计算”方法获得不同提取时间条件下的多糖得率。

1.2.5 Box-Behnken 试验 在单因素试验结果的基础上利用 Design expert 10 设计 Box-Behnken 试验,并在最优条件下进行验证,试验重复 3 次。

1.2.6 双歧杆菌冷冻试验 按 2 g/L 的接种量将短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和两歧双歧杆菌冷冻菌粉分别接于 50 mL MRS 液体培养基中,置于 37 ℃静置培养 24 h。将双歧杆菌培养物移至 50 mL 灭菌离心管中,于 10 000 r/min 6 ℃下离心 10 min,用适量无菌水洗涤 3 次,分别用 5 mL 不同质量分数的甘油和多糖溶液复溶双歧杆菌菌体,置于一 80 ℃下预冻 3 h,然后置于真空冷冻干燥机中在一 50 ℃,-20 Pa 下干燥 12 h,得双歧杆菌菌粉备用。

1.2.7 双歧杆菌计数及活菌存活率计算 双歧杆菌活菌计数参考 Ye 等^[11]报道的方法进行,取冷冻前后的双歧杆菌进行 10 倍稀释,分别接种于含 0.05% LiCl 的固体 MRS 培养基上,置于 37 ℃二氧化碳培养箱中培养 72 h 计数,试验重复 3 次,每个重复设 3 个平行。双歧杆菌存活率按式(2)计算:

$$S = \frac{N_2}{N_1} \times 100\%, \tag{2}$$

式中:
S——双歧杆菌存活率,%;
*N*₁——冷冻前液体菌悬液中双歧杆菌活菌数;
*N*₂——冷冻后菌粉中双歧杆菌活菌数。

1.3 数据分析

利用 excel 计算上述数据的平均值和标准偏差,试验结果以“ $\bar{x} \pm SD$ ”表示。以软件 origin 8.1 作图,利用 Design expert 10.0 处理 Box-Behnken 试验数据并绘图分析。

2 结果与分析

2.1 水料比对多糖得率的影响

由图 1 可知,水料比在 10:1~40:1(mL/g)时,多糖得率与水料比成正相关关系,当水料比大于 40:1(mL/g)时多糖得率呈下降趋势。即适宜的水料比在 30:1~40:1(mL/g)范围内,此时多糖得率在 8.0%~8.1%。

2.2 提取温度对多糖得率的影响

由图 2 可知,当提取温度在 60~90 ℃时,多糖得率随提取温度升高而增加,并在 90 ℃达到最大值 10.23%。当提取温度大于 90 ℃时,多糖得率与温度的增加呈负相关关系,类似的现象在 Zhu^[12]和 Ma^[13]等的报道中也被观察到。

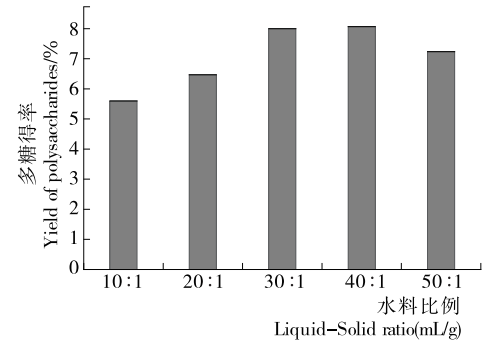


图 1 水料比对多糖得率的影响

Figure 1 Effect of liquid-solid ratio on the extraction yield of polysaccharides

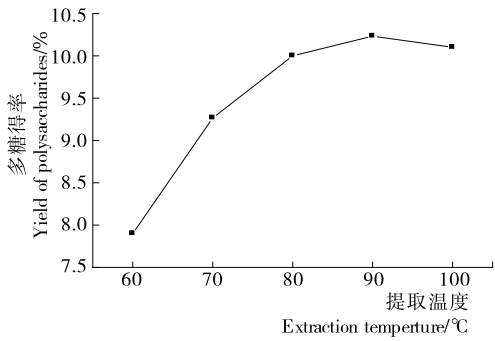


图 2 提取温度对多糖得率的影响

Figure 2 Effect of extraction temperature on the extraction yield of polysaccharides

2.3 提取时间对多糖得率的影响

提取时间是影响多糖提取得率的重要因素,因为提取液渗透到干物料中以及多糖被浸提出来并扩散到提取液中均需充足的时间^[12]。由图 3 可知,在 30~120 min 时,多糖得率与提取时间的增加呈正相关性,而后随着提取时间的增加多糖得率基本保持稳定。即适宜的提取时间为 120 min,此时多糖得率为 10.2%。此外,水料比、提取温度和提取时间之间往往存在交互作用^[14-15],且为获得多糖的最佳提取参数,在单因素结果的基础上用 Box-Behnken 试验进一步优化提取条件。

2.4 Box-Behnken 试验

选择水料比、提取温度和提取时间为变量,并确定它们

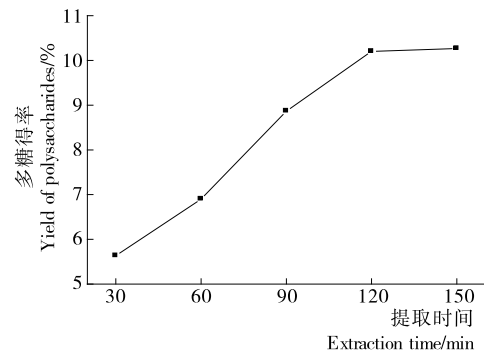


图 3 提取时间对多糖得率的影响

Figure 3 Effect of extraction time on the extraction yield of polysaccharides

的水平(见表 1)。按表 2 所列组合进行试验,试验结果见表 2。利用 Design expert 10.0 进行分析,结果见表 3。水料比、提取温度和提取时间均对多糖得率有显著影响,且影响程度从大到小依次为水料比>提取温度>提取时间。另外,

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水平	A 水料比(mL/g)	B 提取时间/min	C 提取温度/℃
—1	20	60	70
0	35	120	85
1	50	180	100

表 2 Box-Behnken 试验设计与试验结果

Table 2 Box-Behnken design and results

试验号	A	B	C	Y 多糖得率/%
1	—1	—1	0	7.30±0.20
2	1	—1	0	12.40±0.26
3	—1	1	0	11.00±0.10
4	1	1	0	11.30±0.10
5	—1	0	—1	8.50±0.26
6	1	0	—1	9.20±0.10
7	—1	0	1	10.00±0.17
8	1	0	1	12.20±0.26
9	0	—1	—1	10.20±0.10
10	0	1	—1	8.90±0.26
11	0	—1	1	11.60±0.17
12	0	1	1	10.70±0.40
13	0	0	0	10.00±0.26
14	0	0	0	12.13±0.12
15	0	0	0	9.80±0.17
16	0	0	0	10.10±0.20
17	0	0	0	12.00±0.17

表 3 二次多项式模型回归系数估计和试验结果方差分析[†]

Table 3 Estimated regression coefficients for the quadratic polynomial model and the analysis of variance for the experimental results

模型参数	系数估计	标准误差	平方和	F 值	P 值
模型	—	—	32.66	58.46	<0.000 1
常数项	12.06	0.11	—	—	—
A	0.67	0.088	3.65	58.72	0.000 1
B	0.21	0.088	0.36	5.82	0.046 6
C	0.61	0.088	3.00	48.35	0.000 2
AB	—0.075	0.12	0.023	0.36	0.566 1
AC	—0.73	0.12	2.10	33.87	0.000 7
BC	—0.45	0.12	0.81	13.05	0.008 6
A ²	—1.96	0.12	16.09	259.30	<0.000 1
B ²	—0.68	0.12	1.95	31.37	0.000 8
C ²	—0.83	0.12	2.90	46.73	0.000 2
失拟项	—	—	0.082	0.31	0.816 7
误差	—	—	0.35		

[†] R²=0.987, Adj R²=0.97, Pred R²=0.944, CV=2.39%。

水料比与提取温度的交互项、提取温度与提取时间的交互项以及三因素的平方项也对多糖得率有显著影响。回归方程为：

$$Y=12.06+0.67A+0.21B+0.61C-0.075AB-0.73AC-0.45BC-1.96A^2-0.68B^2-0.83C^2。$$

(3)

模型的方差分析结果见表 3,方程(3)的 $P_{\text{model}}<0.000\ 1$ 、 $P_{\text{lose}}=0.816\ 7>0.05$ 、 $R^2=0.987$ 、 $\text{Adj } R^2=0.970$ 、 $\text{Pred } R^2=$

0.944,CV(变异系数)=2.39%<5%。这些表明方程(3)显著、无失拟因素存在,能较好地反应所达三因素与多糖得率之间的真实关系^[13],而且具有良好的重现性^[14]。由方程(3)任选 A、B 和 C 中的 2 因素为变量另一因素固定为“0 水平”点,作图。多糖得率随水料比、提取温度和提取时间的增加呈现先增加后减少的趋势,且方程(3)存在最大值点(图 4~6)。由方程(3)得多糖得率预测最大值为 12.2%,此时水料比、提

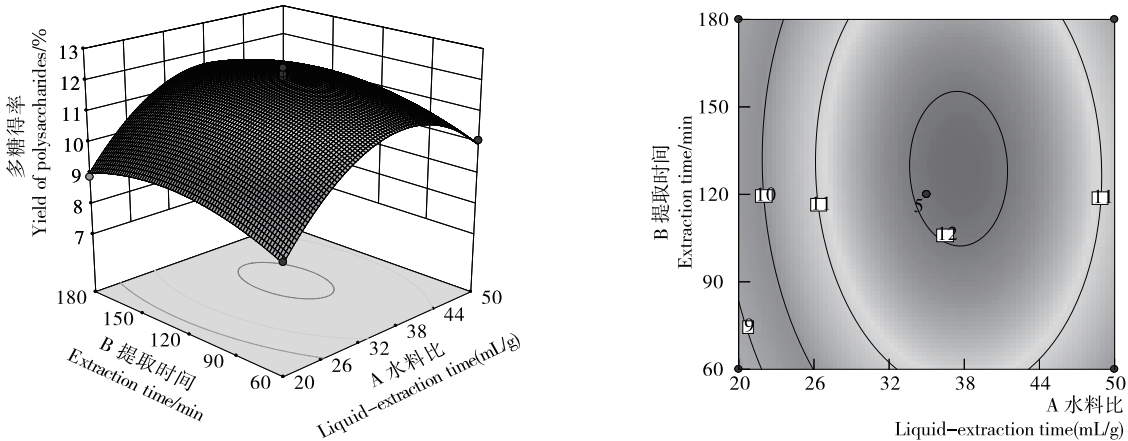


图 4 水料比和提取时间交互作用响应面和等高线图
Figure 4 Response surface and contour plot showing the interactive effects of liquid-solid ratio, and extraction time on the extraction yield

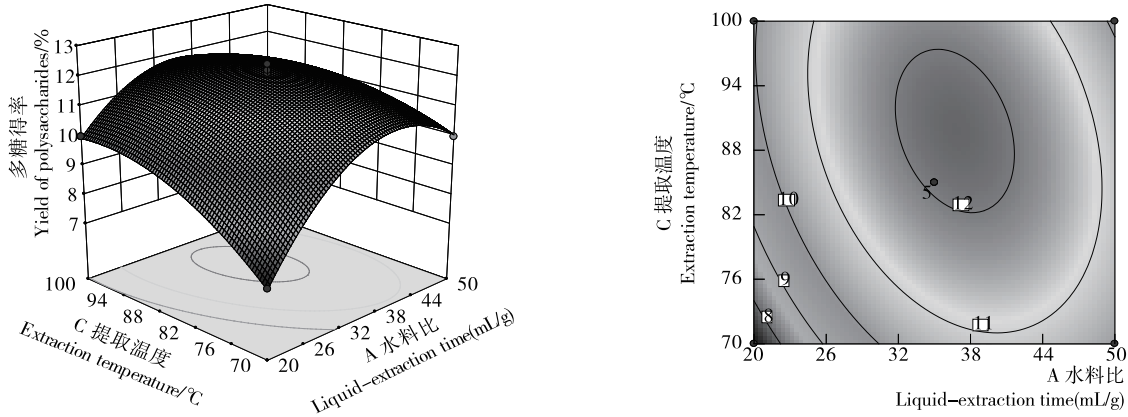


图 5 水料比和提取温度交互作用响应面和等高线图
Figure 5 Response surface and contour plot showing the interactive effects of liquid-solid ratio, and extraction temperature on the extraction yield

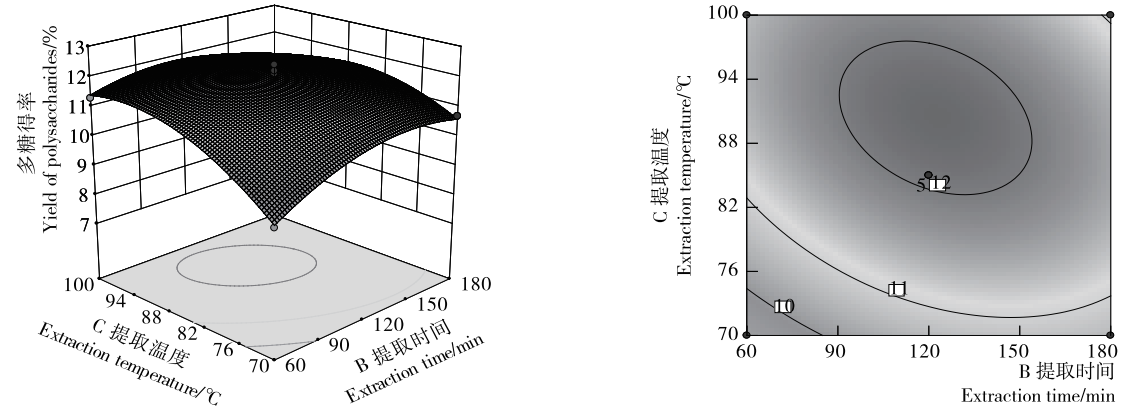


图 6 提取时间和提取温度交互作用响应面和等高线图
Figure 6 Response surface and contour plot showing the interactive effects of extraction time, and extraction temperature on the extraction yield

取温度和提取时间分别为 36.72 : 1 (mL/g)、89.59 ℃ 和 122.88 min。为方便验证试验的进行,选择在水料比为 36.7 : 1 (mL/g),提取温度为 89.6 ℃ 和提取时间为 123 min 条件下,进行验证实验得多糖得率为 12.1%,预测值和试验结果基本一致,进一步确认了模型预测的准确性,即在最优条件下可以得到较高的提取率。

2.5 多糖对冷冻干燥双歧杆菌的保护作用

冷冻干燥是益生菌菌粉生产的关键步骤,然而冷冻和干燥过程均会对益生菌造成损伤,致使益生菌存活率明显下降^[15-16]。为保证益生菌的活力在冷冻干燥过程中使用保护剂提高益生菌的存活率。保护剂按照化学结构分为 11 类,常用的保护剂为糖类和醇类,如羟乙基淀粉和甘油^[15]。多

糖也可作为冷冻保护剂减少冷冻干燥对细胞的损伤^[15],沙门柏干酪青霉胞内多糖对冷冻干燥双歧杆菌存活率的影响见表 4。未添加保护剂的双歧杆菌存活率在 3.28%~3.60% 时,结果显示冷冻干燥对双歧杆菌造成了较大的损伤。以甘油作为保护剂可显著提高双歧杆菌的存活率,这与李德斌等^[16]的报道一致。与空白相比,质量分数为 1%~2% 的多糖可显著提高短双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和两歧双歧杆菌的存活率,最高存活率分别达 31.27%,30.40%,30.66%。另外,添加相同浓度的甘油和多糖的双歧杆菌存活率基本一致,表明等质量分数的甘油和多糖对 3 种双歧杆菌的保护作用相当。即沙门柏干酪青霉胞内多糖可作为双歧杆菌冷冻干燥保护剂的潜在选项。

表 4 多糖对冷冻干燥过程中双歧杆菌存活率的影响[†]
Table 4 Effect of polysaccharides on the viability of *Bifidobacterium* during freeze-drying process

双歧杆菌	保护剂	冷冻干燥前 活菌数/mL ⁻¹	冷冻干燥后 活菌数/mL ⁻¹	存活率/ %
短双歧杆菌	空白 1	(3.97±0.12)×10 ⁸	(1.43±0.16)×10 ⁷	3.60±0.05
	甘油 1%	(4.06±0.09)×10 ⁸	(9.75±0.11)×10 ⁷	24.01±0.09 *
	甘油 2%	(4.00±0.13)×10 ⁸	(1.22±0.18)×10 ⁸	30.50±0.27 *
	多糖 1%	(2.56±0.18)×10 ⁸	(6.41±0.22)×10 ⁷	25.04±0.16 *
	多糖 2%	(2.90±0.06)×10 ⁸	(9.07±0.14)×10 ⁷	31.27±0.13 *
婴儿双歧杆菌	空白 2	(3.91±0.21)×10 ⁸	(1.37±0.06)×10 ⁷	3.50±0.08
	甘油 1%	(3.95±0.17)×10 ⁸	(9.52±0.07)×10 ⁷	24.10±0.12 *
	甘油 2%	(3.88±0.23)×10 ⁸	(1.18±0.15)×10 ⁸	30.41±0.17 *
	多糖 1%	(3.56±0.05)×10 ⁸	(8.89±0.12)×10 ⁷	24.97±0.19 *
	多糖 2%	(2.99±0.14)×10 ⁸	(9.09±0.19)×10 ⁷	30.40±0.26 *
两歧双歧杆菌	空白 3	(4.45±0.12)×10 ⁸	(1.46±0.08)×10 ⁷	3.28±0.03
	甘油 1%	(5.26±0.16)×10 ⁸	(1.26±0.14)×10 ⁸	23.97±0.09 *
	甘油 2%	(5.09±0.08)×10 ⁸	(1.55±0.17)×10 ⁸	30.46±0.22 *
	多糖 1%	(4.98±0.09)×10 ⁸	(1.25±0.23)×10 ⁸	25.02±0.06 *
	多糖 2%	(5.02±0.28)×10 ⁸	(1.54±0.13)×10 ⁸	30.66±0.11 *

[†] * 表示处理组与空白组相比双歧杆菌存活率在 P<0.01 下存在显著差异。

3 结论

利用单因素和 Box-Behnken 试验对沙门柏干酪青霉胞内多糖提取工艺进行优化,得最适水料比、提取温度和时间分别为 36.7 : 1 (mL/g)、89.6 ℃ 和 123 min,在此条件下多糖得率为 12.1%。该胞内多糖可降低冷冻干燥处理对双歧杆菌造成的损伤,显著提高双歧杆菌的存活率,其效果与等浓度的甘油相当。然而,起抗冻伤作用的胞内多糖具体组分及其抗冻伤机理尚需进一步研究。

参考文献

[1] 卢晓明,左芳雷,王洁婷,等. Camembert 干酪青霉 *Penicillium camemberti* 的分离鉴定[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(2): 143-147.
[2] MACEJ O, JOVANOVIC S, DENIN J. Characteristics of cam-embert-type cheese ripening produced from milk in which

complex between casein and whey protein is formed[J]. Journal of Agricultural Sciences, 2001, 46(1): 57-69.
[3] GALLI B D, MARTIN J G P, DA SILVA P P M, et al. Sensory quality of Camembert-type cheese: Relationship between starter cultures and ripening molds[J]. International Journal of Food Microbiology, 2016, 234: 71-75.
[4] DIAS G, MIRANDA TAVARES G, FERNANDES DE CAR-VALHO A, et al. Effect of the addition of a supplementary cul-ture on the physical-chemical and sensory characteristics of Cam-embert-type cheese[J]. Revista do Instituto Adolfo Lutz (Im-presso), 2012, 71(3): 500-506.
[5] PANGALLO D, ŠAKOVÁ N, KORENOVÁ J, et al. Microbial diversity and dynamics during the production of May bryndza cheese[J]. International journal of food microbiology, 2014, 170: 38-43.

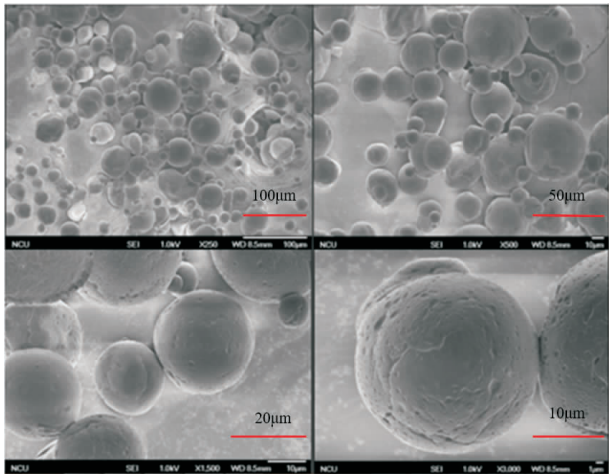


图 5 腰果及其微胶囊表面微观结构

Figure 5 Cashew nut microcapsules and Surface microstructure of it

(质量比);试验得出腰果全粉微胶囊产品基本成分为蛋白质 12.94%、水分 2.38%、碳水化合物 61.57%、灰分 2.45%、脂肪 20.66%。微胶囊包埋率为 94.23%、密度 0.68 g/cm³、自溶角 35.45°、溶解度 92.91%、吸湿性 0.77%,表明产品有较好的品质及营养价值,其中的腰果油也得到了较好的保护;电镜扫描得出微胶囊直径多数在 25 µm,包埋性较好,有利于产品的保藏。在此试验的基础上,制备出了腰果全粉微胶囊产品,产品色香味俱佳,缺陷是在存放过程中粉末易凝结,速溶效果不够好,未来对产品的优化可以考虑从改善粉末的结块现象与速溶性入手。

参考文献

[1] 赵丽, 黄海杰. 我国腰果研究概况[J]. 中国南方果树, 2012, 41 (2): 41-46, 77.
[2] SOARES D J, VASCONCELOS P H M, CAMELOA L M, et

al. Prevalent fatty acids in cashew nuts obtained from conventional and organic cultivation in different stages of processing[J]. Food Science and Technology (Campinas), 2013, 33(2): 265-270.
[3] 左亚文, 郭兴峰, 王雨辰, 等. 我国腰果生产加工工业发展现状与前景[J]. 中国果业信息, 2013(11): 13-18.
[4] PURI S K, GUPTA A A, RAJESH M, et al. Process of preparation of novel mannich bases from hydrogenated and distilled cashew nut shell liquid (CNSL) for use as additive in liquid hydrocarbon fuels; U.S, 6 797 021[P]. 2004-09-28.
[5] 刘义军, 朱德明, 黄茂芳. 腰果加工利用的研究进展[J]. 农产品加工: 学刊, 2013(22): 43-45.
[6] 钟俊桢, 顿儒艳, 黄宗兰, 等. 腰果蛋白的提取工艺条件优化[J]. 食品科学, 2014(16): 18-22.
[7] 刘成梅, 王芳, 钟俊桢, 等. 腰果蛋白的功能特性研究及其氨基酸组成分析[J]. 食品工业科技, 2016(2): 88-92.
[8] 薛文通, 刘晓毅, 李寿佳. 微胶囊核桃粉加工工艺的研究[J]. 农业工程学报, 2004(1): 230-233.
[9] 微胶囊化偃松仁全粉(乳珍)[J]. 食品与机械, 2001(2): 41-42.
[10] 胡旭涛. 腰果, 澳洲坚果油的微胶囊化及腰果速溶粉产品开发[D]. 南昌: 南昌大学, 2015: 11-14.
[11] 罗兰. 营养食品中脂肪测定方法探讨[J]. 江苏卫生保健, 2005 (5): 19-35.
[12] 高媛媛, 郑为完, 杨婧, 等. 以雪莲果汁为壁材制备月见草油微胶囊粉末[J]. 食品科学, 2011(16): 136-140.
[13] 李春莉, 郑为完, 张斌, 等. 耐酸型微胶囊粉末油脂的研制及其性能研究[J]. 中国油脂, 2007(10): 17-19.
[14] JITNGARMKUSOL S, HONGSUWANKUL J, TANANUWONG K. Chemical compositions, functional properties, and microstructure of defatted macadamia flours[J]. Food Chemistry, 2008, 110(1): 23-30.
[15] 魏巍, 李敏, 李春, 等. 1,3-二油酸-2-棕榈酸结构油脂微胶囊的研制[J]. 食品工业科技, 2013(20): 294-301.
[16] 刘楠楠. 喷雾干燥法制备芝麻油微胶囊的研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 219-222.

(上接第 183 页)

[6] LESSARD M H, VIEL C, BOYLE B, et al. Metatranscriptome analysis of fungal strains *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* reveal cheese matrix breakdown and potential development of sensory properties of ripened Camembert-type cheese[J]. BMC Genomics, 2014, 15(235): 2-13.
[7] 孙杨, 姜平, 孙东阳, 等. 右旋磷霉素手性转化菌株的筛选与鉴定[J]. 中国抗生素杂志, 2011, 36(6): 421-425.
[8] BIZET C, DESOBRY S, FANNI J, et al. Composition and physical properties of the *Penicillium camemberti* mycelium[J]. Le Lait, 1997, 77(4): 461-466.
[9] 李敏杰, 熊亚, 韩何波. 白灵菇多糖提取工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 225-228.
[10] VIÑARTA S C, MOLINA O E, FIGUEROA L I C, et al. A further insight into the practical applications of exopolysaccharides from *Sclerotium rolfsii*[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(5): 619-629.
[11] YE Ming, LIU Dong, ZHANG Rong, et al. Effect of hawk tea (*Litsea coreana* L.) on the numbers of lactic acid bacteria and

flavour compounds of yoghurt[J]. International Dairy Journal, 2012, 23(1): 68-71.
[12] ZHU Cai-ping, LIU Xiao-lin. Optimization of extraction process of crude polysaccharides from Pomegranate peel by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92 (2): 1 197-1 202.
[13] MA Ting-ting, SUN Xiang-yu, TIAN Cheng-rui, et al. Polysaccharide extraction from *Sphallerocarpus gracilis* roots by response surface methodology[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 88: 162-170.
[14] LIU Yong, GONG Gui-li, ZHANG Jiao, et al. Response surface optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction polysaccharides from *Lycium barbarum*[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 110(38): 278-284.
[15] 任艳, 陈明, 邵玉宇, 等. 真空冷冻干燥过程中保护剂对乳酸菌的保护机理[J]. 中国乳品工业, 2013, 41(9): 41-45.
[16] 李德斌, 赵敏. 双歧杆菌冻干菌粉制备过程中保护剂的研究[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(11): 32-34.