

蓝莓果渣花青素的超声辅助提取工艺优化

Optimization of extraction process for anthocyanins from blueberry pomace by response surface methodology

张盼盼¹ 王丽¹ 时志军² 杜美君¹

ZHANG Pan-pan¹ WANG Li¹ SHI Zhi-jun² DU Mei-jun¹

(1. 安徽科技学院食品药品学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 凤阳健民蓝莓农业发展有限公司, 安徽 凤阳 233100)
(1. School of Food and Drug, Anhui Science and Technology University, Fengyang, Anhui 233100, China;
2. Jianmin Blueberry Agricultural Development Co., Ltd, Fengyang, Anhui 233100, China)

摘要:以蓝莓果渣为原料,用酒石酸酸化乙醇提取花青素,同时应用超声波进行辅助提取,采用双波长 pH 示差法计算花青素提取率,利用响应面分析法对蓝莓果渣花青素的提取工艺条件进行优化。结果表明:其最佳提取条件为提取温度 50 ℃, pH 3.0, 酸化乙醇浓度 65%, 料液比 1:70(g/mL), 超声波提取功率 500 W, 提取时间 20 min, 蓝莓果渣花青素提取率实际值为 83.638%, 与预测值 85.442% 的偏差为 2.111%。该试验设计操作简便合理, 得率高, 可预测性较好, 为蓝莓果渣花青素提取提供了理论依据。

关键词: 蓝莓; 果渣; 花青素; 超声辅助提取

Abstract: The optimization of the ultrasonic extraction of anthocyanins in blueberry pomace by the response surface method was investigated in this study. With tartaric acid acidification ethanol extracting anthocyanins from blueberry pomace, with applying ultrasonic assisted extraction, anthocyanin extraction rate was determined by using the double wavelength pH differential method. Through the single factor experiment, to determine the best conditions were determined, and then the extraction process conditions of anthocyanins in blueberry pomace were optimized using the response surface analysis. The results showed that the extraction conditions on the influence of the anthocyanins blueberry pomace extraction yield order was as follows. i.e. material liquid ratio > ethanol concentration > extraction time > ultrasonic power. Moreover, the best extraction condition was extracting it by using acidic ethanol concentration 65% (pH 3.0), with material liquid than 1:70, and 500 W ultrasonic, at 50 ℃ for 20 min. It was found that the anthocyanins in blueberry

pomace extraction yield the actual value was 83.638%, only showing a 2.111% deviation to the forecasting one (85.442%). In conclusion, the reasonable design of experiments was easy to handle, with high acquirement rate and good predictability, and this provided for the extraction of anthocyanins blueberry pomace a theoretical basis.

Keywords: blueberry; pomace; anthocyanins; ultrasonic-assisted extraction

花青素属于黄酮类化合物,是存在于植物中的水溶性天然食用色素,自然条件下的花青素极少见,常与糖形成糖苷称为花色苷^[1]。花青素对人体具有多种保健功能^[2],如抗氧化、清除自由基、抗突变、抗癌、抗炎症、防脑神经老化、防护肝损伤和缓解视疲劳等,近年来作为天然色素应用于食品、化妆品生产^[3]。蓝莓为杜鹃花科越橘属多年生落叶或常绿灌木,也是越橘属植物中营养成分最丰富的种类,市面上常见的蓝莓产品通常有果汁饮料、蓝莓果酒、蓝莓果干、蓝莓果酱等^[4]。在蓝莓产品生产加工过程中会产生大量的蓝莓废弃果渣,其中富含多酚类和黄酮类化合物,尤其是花青素。据报道^[5]仅有 13%~23% 的花青素存在于蓝莓果汁中,而大约 42% 的花青素存留在废弃果渣中,如果将蓝莓废弃果渣丢弃是极大的资源浪费。前几年关于蓝莓的研究主要集中于蓝莓果实营养成分及其花青素分离鉴定提取纯化等,近几年对蓝莓果渣的研究逐渐成为热门课题^[6],尤其对花青素的提取工艺进行了广泛研究,但大部分存在耗时较长^[7],得率低的不足^[8]。本研究拟以蓝莓果渣为原料,用酒石酸酸化乙醇提取花青素,同时应用超声波进行辅助提取,采用双波长 pH 示差法计算花青素提取率,结合单因素试验结果,利用响应面分析法优化蓝莓果渣花青素的提取工艺条件,为提高花青素的提取效率提供理论依据从而使蓝莓资源得到充分利用。

基金项目:安徽省科技重大专项(编号:15CZZ03105)

作者简介:张盼盼,女,安徽科技学院在读硕士研究生。

通信作者:王丽(1977-),女,安徽科技学院副教授,博士。

E-mail: wangli@ahstu.edu.cn

收稿日期:2016-12-27

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

蓝莓果渣:安徽凤阳健民蓝莓农业发展有限公司。蓝莓榨汁后的果渣,经过解冻、干燥、粉碎,过60目筛备用;

无水乙醇、酒石酸、氯化钾、醋酸钠、冰醋酸、盐酸等:分析纯;

试验水为蒸馏水。

1.2 仪器

精密pH计:PHS-3B型,上海虹益仪器仪表有限公司;

超声波提取机:BILON-2000CT型,上海比朗仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:754P型,上海光谱仪器有限公司;

千分之一天平:ME403E型,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;

高速粉碎机:RT-02A小型,北京开创同和科技发展有限公司;

数显电热鼓风干燥箱:101c-3B型,上海市实验仪器总厂。

1.3 试验方法

1.3.1 蓝莓果渣花青素提取工艺流程

蓝莓果渣粉末→酸性乙醇溶解→超声波提取→蓝莓果渣花色苷提取液

1.3.2 蓝莓果渣花青素的测定方法 采用双波长pH示差法,取待测液1 mL,分别加入pH 4.5缓冲溶液(0.4 mol/L醋酸钠)和pH 1.0缓冲溶液(0.25 mol/L氯化钾)9 mL,摇匀,静置15 min,转入光路长为1 cm的比色皿中,以蒸馏水代替样品溶液做空白对照,分别在520 nm和700 nm波长处测定吸光度。

$$Y = (A/\epsilon L) \times M_w \times DF \times V/W_t, \quad (1)$$

式中:

Y——花青素提取率, %;

A——吸光度, $A = (A_{520 \text{ nm pH } 1.0} - A_{700 \text{ nm pH } 1.0}) -$

$(A_{520 \text{ nm pH } 4.5} - A_{700 \text{ nm pH } 4.5})$;

ϵ ——矢车菊花素-3-葡萄糖苷的消光系数,26 900;

L——光程,1 cm;

M_w ——矢车菊花素-3-葡萄糖苷的分子量,449.2 g/mol;

DF——稀释因子;

V——最终体积,mL;

W_t ——产品重量,mg。

1.3.3 提取工艺单因素试验

(1) 在料液比为1:60(g/mL),pH 3.0,超声波功率500 W,提取时间20 min,提取温度50 °C的条件下,分别考查乙醇浓度(40%,50%,60%,70%,80%)对蓝莓果渣花青素提取率的影响,重复测定3次,取平均值。

(2) 在料液比为1:60(g/mL),乙醇浓度60%,超声波功率500 W,提取时间20 min,提取温度50 °C的条件下,分

别考查pH(2.0,2.5,3.0,3.5,4.0)对蓝莓果渣花青素提取率的影响,重复测定3次,取平均值。

(3) 在料液比为1:60(g/mL),乙醇浓度60%,pH 3.0,提取时间20 min,提取温度50 °C的条件下,分别考查超声波功率(300,400,500,600,700 W)对蓝莓果渣花青素提取率的影响,重复测定3次,取平均值。

(4) 在乙醇浓度60%,pH 3.0,超声波功率500 W,提取时间20 min,提取温度50 °C的条件下,分别考查料液比[1:100,1:80,1:60,1:40,1:20(g/mL)]对蓝莓果渣花青素提取率的影响,重复测定3次,取平均值。

(5) 在料液比为1:80(g/mL),乙醇浓度60%,pH 3.0,超声波功率500 W,提取时间20 min的条件下,分别考查提取温度(40,45,50,55,60 °C)对蓝莓果渣花青素提取率的影响,重复测定3次,取平均值。

(6) 在料液比为1:80(g/mL),乙醇浓度60%,pH 3.0,超声波功率500 W,提取温度50 °C的条件下,分别考查提取时间(10,15,20,25,30 min)对蓝莓果渣花青素提取率的影响,重复测定3次,取平均值。

1.3.4 响应面法优化提取工艺 采用Central Composite Design响应面优化分析法,结合单因素试验结果,固定溶剂pH 3.0,提取温度50 °C,观察乙醇浓度、料液比、提取时间、超声波功率对蓝莓果渣花青素提取率的影响,根据试验结果确定最佳提取工艺。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

由图1~6可知,蓝莓果渣花青素提取率随乙醇浓度的增大先增加后减小,乙醇浓度为60%时提取率最大。花青素是黄酮类物质,溶于水、乙醇等极性溶剂。乙醇溶液随着浓度的升高其极性会减小,当溶剂极性最接近花青素极性时,其溶解性最好,溶出率最高。当乙醇浓度继续增大与花青素的极性有所偏离,不利于花青素的溶出^[9]。蓝莓果渣花青素提取率随pH值的增大先增加后减小,pH 3.0时提取率最大。花青素在酸性溶液有4种存在形式,pH<2.0,主要是红色黄烺阳离子(AH⁺),随pH值升高,红色黄烺阳离子(AH⁺)转变为蓝色醌氏碱(A),当pH值升高到3.0~5.0时,生成无色的甲醇假碱,并进一步形成查尔酮,花色苷的颜色会逐渐退至无色^[10]。蓝莓果渣花青素提取率随超声波功率的增大逐渐增加后趋于稳定,超声波功率较高时,会破坏花青素的稳定性,因此取500 W为最适功率。超声波的物理剪切作用不仅可以破坏蓝莓果渣的细胞结构,同时使乙醇分子快速运动,加速花青素和乙醇的融合。当功率较低时,由于破碎力度小,花青素与乙醇不能快速融合,但当超声波功率较高时,会破坏花青素的稳定性且环境噪音过大^[11]。蓝莓果渣花青素提取率随料液比的减小先增加后稳定,料液比为1:80(g/mL)时花青素溶出几乎达到饱和状态。蓝莓果渣花青素提取率随提取温度的增大先增加后减小,提取温度为50 °C时提取率最大。花青素的耐热性较差,温度过高会使花青素降解^[12]。随提取时间的延长,蓝莓果渣花青素提

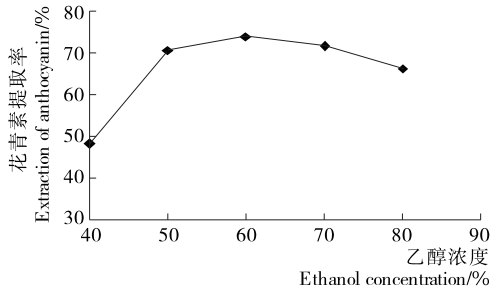


图 1 乙醇浓度对蓝莓果渣花青素提取率的影响

Figure 1 Effect of Ethanol concentration on extraction of anthocyanin

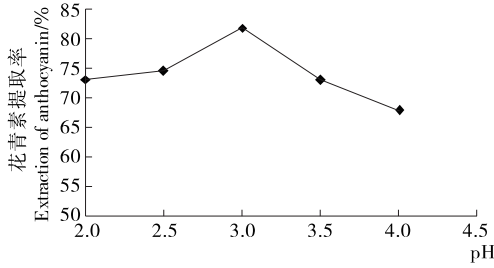


图 2 pH 对蓝莓果渣花青素提取率的影响

Figure 2 Effect of pH on extraction of anthocyanin

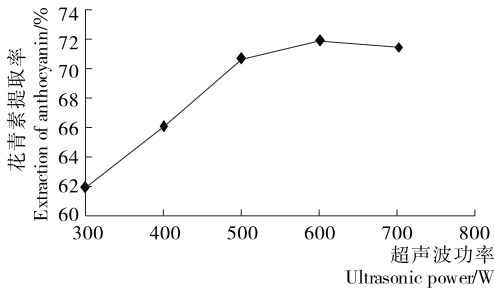


图 3 超声波功率对蓝莓果渣花青素提取率的影响

Figure 3 Effect of ultrasonic power on extraction of anthocyanin

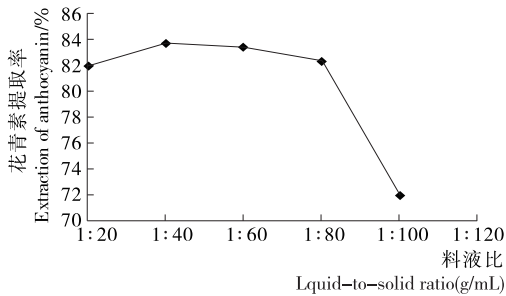


图 4 料液比对蓝莓果渣花青素提取率的影响

Figure 4 Effect of liquid-to-solid ratio on extraction of anthocyanin

取率先增大后减小, 当时间达到 25 min 时蓝莓果渣中花青素基本完全释放, 长时间的超声作用, 会导致花青素降解。

2.2 响应面优化试验结果

2.2.1 试验设计及结果 试验因素水平表见表 1, 试验设计与结果见表 2。

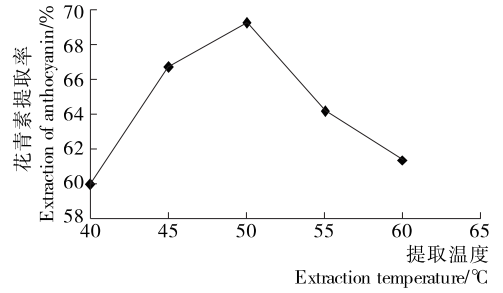


图 5 提取温度对蓝莓果渣花青素提取率的影响

Figure 5 Effect of extraction temperature on extraction of anthocyanin

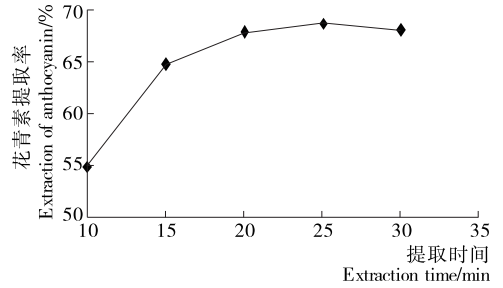


图 6 提取时间对蓝莓果渣花青素提取率的影响

Figure 6 Effect of extraction time on extraction of anthocyanin

表 1 因素水平表

Table 1 Table of factors and levels

水平	A 乙醇浓度/%	B 料液比 (g/mL)	C 超声波功率/W	D 提取时间/min
-2	40	1:20	300	10
-1	50	1:40	400	15
0	60	1:60	500	20
1	70	1:80	600	25
2	80	1:100	700	30

2.2.2 二次回归方程和方差分析 用 Design Expert 8.0.6 软件对表 3 中数据进行回归分析, 得到蓝莓果渣花青素提取率与乙醇浓度、料液比、超声波功率、提取时间之间的二次回归方程为:

$$Y = 84.74 + 1.11A + 1.99B + 0.69C + 0.99D + 0.52AB - 0.41AC + 0.35AD - 1.48BC - 1.91BD + 0.53CD - 1.65A^2 - 2.34B^2 - 3.27C^2 - 3.65D^2. \quad (2)$$

回归模型显著性检验及方差分析结果见表 3, 回归方程的可信度分析见表 4。

由表 3 可知, 该回归模型极显著 ($P < 0.01$), 表明该二次回归方程的因变量与自变量的相关关系显著, A、B、D、BC、BD、A²、B²、C²、D² 对实验结果的影响显著或极显著, 各因素对响应值是二次抛物线关系。失拟项不显著, 表明该方程对试验的拟合程度高, 误差小。

由表 4 可知, R^2 (回归方程决定系数) 为 0.928, 表明该回归方程可以描述每个因素与响应值之间的关系, R^2 越接近 1, 表明该回归方程的可靠性越高。 R^2_{adj} (回归方程的校正决

表2 试验设计与结果

Table 2 Experimental design and results

试验号	A	B	C	D	Y 提取率/%
1	-1	-1	-1	-1	65.676
2	1	-1	-1	-1	65.894
3	-1	1	-1	-1	77.950
4	1	1	-1	-1	78.282
5	-1	-1	1	-1	69.234
6	1	-1	1	-1	71.137
7	-1	1	1	-1	72.069
8	1	1	1	-1	77.017
9	-1	-1	-1	1	68.499
10	1	-1	-1	1	74.147
11	-1	1	-1	1	70.369
12	1	1	-1	1	77.616
13	-1	-1	1	1	76.681
14	1	-1	1	1	74.970
15	-1	1	1	1	72.707
16	1	1	1	1	75.479
17	-2	0	0	0	78.653
18	2	0	0	0	80.819
19	0	-2	0	0	73.596
20	0	2	0	0	80.328
21	0	0	-2	0	71.551
22	0	0	2	-2	74.896
23	0	0	0	2	68.826
24	0	0	0	0	74.599
25	0	0	0	0	83.921
26	0	0	0	0	82.960
27	0	0	0	0	85.719
28	0	0	0	0	86.322
29	0	0	0	0	85.775
30	0	0	0	0	83.767

定系数)为0.860,表明该回归方程经校正后可以解释86.020%的响应值变化。 R_{SN} (信噪比)为11.720,大于4,说明回归方程的拟合度和可信度均很高,可用于模型的预测。 CV (变异系数)为2.870%,表明回归方程的置信度较高,该回归方程可以用于优化蓝莓果渣花青素的超声提取工艺。

2.2.3 两因子间交互作用的响应面分析 以蓝莓果渣花青素提取率为考察量,从4个因素中选择两个为不变量与另外两个因素拟合为三维曲面图,绘制响应曲面和等高线图,见图7~12。

由图7可知,响应面变化明显,当料液比固定在零水平时,随着酸性乙醇浓度的增加花青素提取率变化显著,先升高后降低;当乙醇浓度处于零水平时,改变料液比,花青素提取率呈先上升后下降的趋势。等高线图表明,沿乙醇浓度和

表3 响应面方差分析表[†]

Table 3 Variance analysis of RSM table

方差来源	平方和	自由度	均方	F值	Porb
模型	916.87	14	65.49	13.74	<0.000 1**
A	29.68	1	29.68	6.23	0.024 7*
B	94.86	1	94.86	19.90	0.000 5**
C	11.41	1	11.41	2.39	0.142 6
D	23.51	1	23.51	4.93	0.042 2*
AB	4.24	1	4.24	0.89	0.360 3
AC	2.67	1	2.67	0.56	0.466 0
AD	1.93	1	1.93	0.40	0.534 3
BC	35.26	1	35.26	7.40	0.015 8*
BD	58.15	1	58.15	12.20	0.003 3**
CD	4.57	1	4.57	0.96	0.343 0
A ²	74.30	1	74.30	15.59	0.001 3**
B ²	150.10	1	150.10	31.49	<0.000 1**
C ²	294.00	1	294.00	61.69	<0.000 1**
D ²	365.76	1	365.76	76.74	<0.000 1**
残差	71.49	15	4.77		
失拟差	62.17	10	6.22	3.34	0.097 9
纯误差	9.32	5	1.86		
总变异	988.36	29			

[†] **表示极显著($P<0.01$); *表示显著($0.01<P<0.05$)。

表4 二次回归方程的可信度分析

Table 4 Reliability analysis of regression equation

R^2	R_{Adj}^2	R_{SN}	$CV/\%$
0.928	0.860	11.720	2.870

料液比的轴向等高线分布均匀,等高线呈椭圆形,说明两者交互作用较强,但由方差分析可知,其交互作用对花青素提取率的影响不显著。

由图8可知,响应面变化明显,当超声波功率固定在零水平时,随着乙醇浓度的增加,花青素提取率先增大后趋于平稳;当乙醇浓度处于零水平时,随着超声波功率的增加,花青素提取率呈先上升后下降的趋势。等高线图表明,沿酸性乙醇浓度轴向的等高线变化比较密集,而超声波功率的轴向等高线变化较稀疏,说明乙醇浓度对花青素提取率的影响比超声波功率大,等高线呈椭圆形,说明两者交互作用较强,但由方差分析可知,其交互作用的影响不显著。

由图9可知,响应面变化明显,当提取时间固定在零水平时,乙醇浓度越大花青素提取率先增大后逐渐趋于稳定;当乙醇浓度在零水平时,随着提取时间的增加,花青素提取率呈先上升后下降的趋势。由等高线图可知,提取时间的轴向等高线变化较稀疏,酸性乙醇浓度变化密集,说明乙醇浓度对花青素提取率的影响比提取时间大,等高线呈椭圆形,说明两者交互作用较强,但由方差分析可知,其交互作用对花青素提取率的影响并不显著。

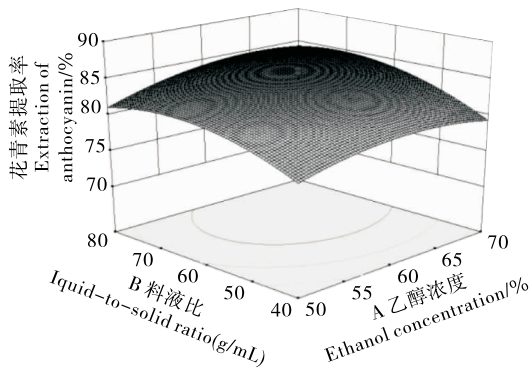


图 7 酸性乙醇浓度和料液比对花青素提取率的交互作用

Figure 7 Interaction effects of ethanol concentration and liquid-to-solid ratio on extraction of anthocyanin

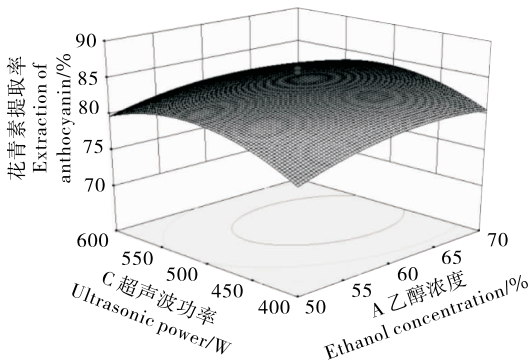
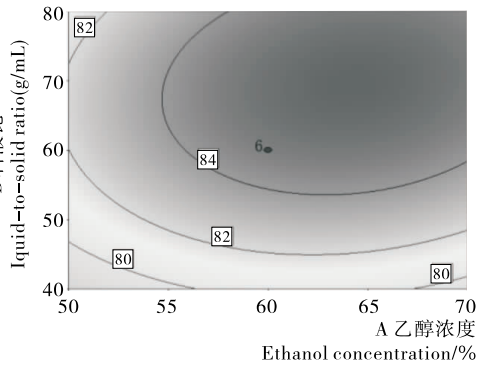


图 8 酸性乙醇浓度和超声波功率对花青素提取率的交互作用

Figure 8 Interaction effects of ethanol concentration and ultrasonic power on extraction of anthocyanin

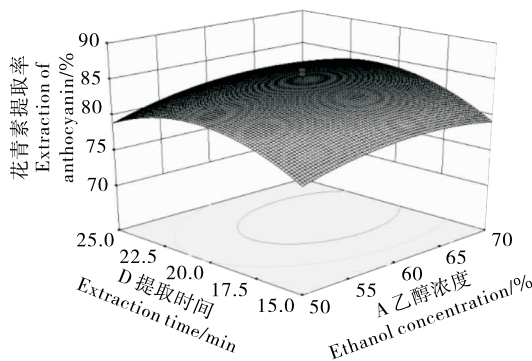
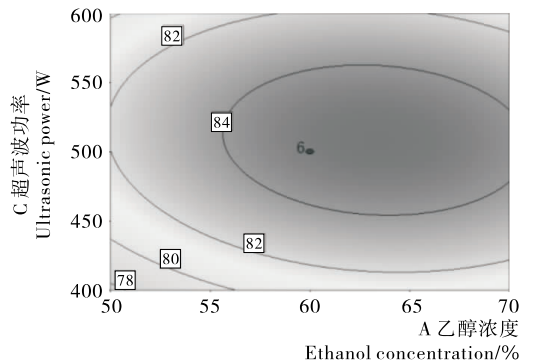


图 9 提取时间与乙醇浓度对花青素提取率的交互作用

Figure 9 Interaction effects of ethanol concentration and time on extraction of anthocyanin

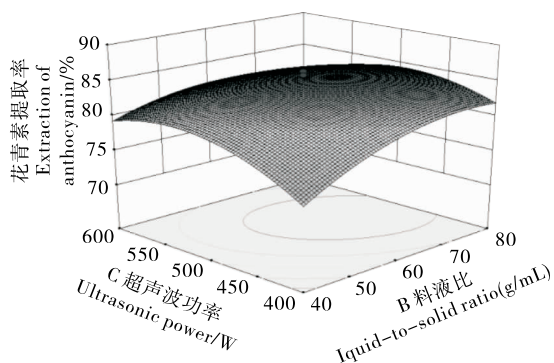
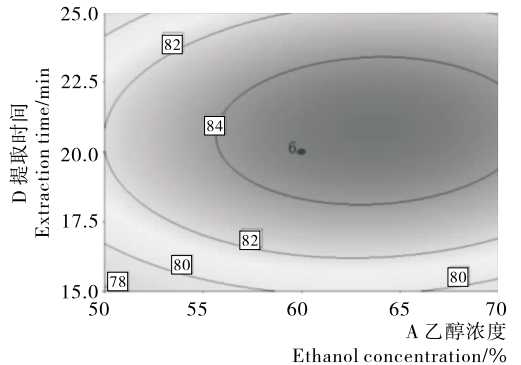
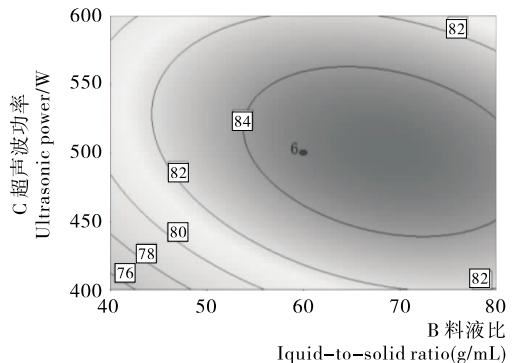


图 10 料液比和超声波功率对花青素提取率的交互作用

Figure 10 Interaction effects of liquid-to-solid ratio and ultrasonic power on extraction of anthocyanin



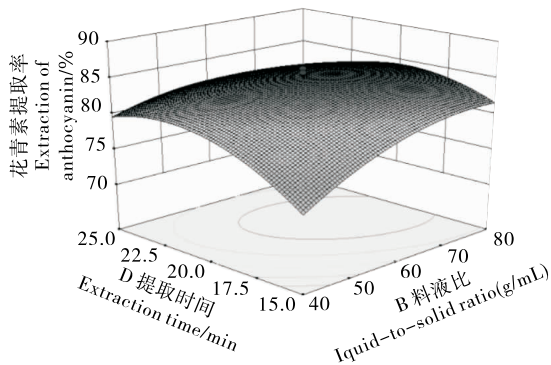


图 11 料液比与提取时间对花青素提取率的交互作用

Figure 11 Interaction effects of liquid-to-solid ratio and time on extraction of anthocyanin

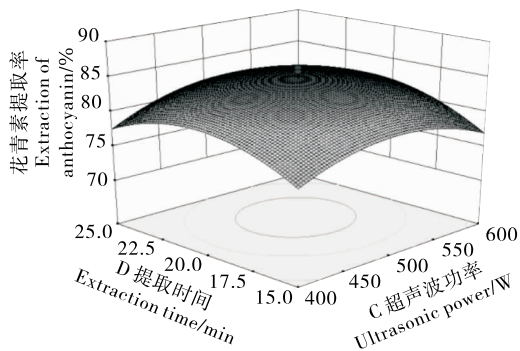
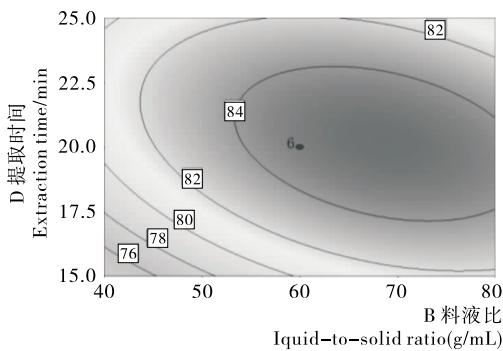
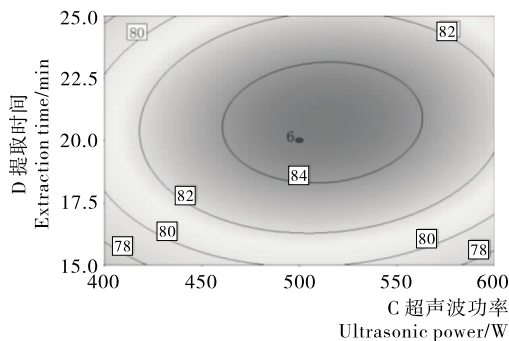


图 12 超声波功率和提取时间对花青素提取率的交互作用

Figure 12 Interaction effects of ultrasonic power and time on extraction of anthocyanin



由图 10 可知,响应面较陡,当超声波功率固定在零水平时,随着料液比的增加,花青素提取率呈先增大后减小的趋势;当料液比处于零水平时,随着超声波功率的增加,花青素提取率呈先上升后下降的趋势。等高线图表明,沿料液比的轴向等高线变化较密集,而超声波功率变化稀疏,说明料液比对蓝莓果渣花青素提取率的影响比超声波功率大,等高线呈椭圆形,说明两者交互作用较强,由方差分析可知,其交互作用影响较显著。

由图 11 可知,响应面变化明显,当提取时间固定在零水平时,随着料液比的增加,花青素提取率呈先增大后减小的趋势;当料液比处于零水平时,随着提取时间的增加,花青素提取率呈先上升后下降的趋势。等高线图表明,沿料液比的轴向等高线变化密集,而超声提取时间较稀疏,说明料液比对蓝莓果渣花青素提取率的影响比超声提取时间的影响大,等高线呈椭圆形,说明两者交互作用较强,由方差分析可知,其交互作用对花青素提取率的影响极显著。

由图 12 可知,响应面变化明显,当提取时间固定在零水平时,花青素提取率随着超声波功率的增加先增大后减小;当超声波功率处于零水平时,随着提取时间的增加,花青素提取率呈先上升后下降的趋势。等高线图表明,沿提取时间的轴向等高线变化密集,超声波提取功率的轴向等高线变化较为稀疏,说明超声提取时间对花青素提取率的影响比超声波功率大,等高线呈椭圆形,但其交互作用对花青素提取率的影响不显著。

2.2.4 最佳提取工艺的验证 由研究结果可知,对蓝莓果渣花青素提取率影响程度大小为:料液比>酸性乙醇浓度>提取时间>超声波功率,最佳提取工艺参数为:乙醇浓度 64.170%,料液比 1:69.320(g/mL),超声波提取功率 497.610 W,提取时间 20.160 min,蓝莓果渣花青素理论最大提取率为 85.442%。考虑到实际操作问题,将结果修正为乙醇浓度 65%,料液比 1:70(g/mL),超声波提取功率为 500 W,提取时间为 20 min,3 次平行实验得到的实际平均值 83.638%,与预测值的偏差为 2.111%,说明该模型能较好地分析和预测蓝莓果渣花青素的提取条件,试验方法可行、可靠。

3 结论

(1) 本试验采用超声波辅助酸性乙醇法提取蓝莓果渣中的花青素,结果表明超声波可以有效缩短提取时间,提高提取效率,弥补了溶剂法提取的不足。

(2) 利用 Design Expert 8.0.6 软件设计响应面实验,优化蓝莓果渣花青素提取工艺,试验表明蓝莓果渣花青素的最佳提取工艺为酸性乙醇浓度 65%,料液比 1:70(g/mL),pH 3.0,超声波提取功率为 500 W,提取时间为 20 min,提取温度 50℃,在此条件下得到的蓝莓果渣花青素提取率为 83.638%。

(3) 本试验只对蓝莓果渣进行了粗提取,提取物中含有大量的可溶性糖、蛋白质、果胶等大分子物质,对粗提物的纯化有待进一步研究。

(下转第 210 页)

- Microbiology Reviews, 1993, 11(4): 339-355.
- [41] AN Bang, LI Bo-qiang, QIN Guo-zheng, et al. Exogenous calcium improves viability of biocontrol yeasts under heat stress by reducing ROS accumulation and oxidative damage of cellular protein[J]. Current Microbiology, 2012, 65(2): 122-127.
- [42] LI Chao-lan, ZHANG Hong-yin, YANG Qi-ya, et al. Ascorbic acid enhances oxidative stress tolerance and biological control efficacy of *Pichia caribbica* against postharvest blue mold decay of apples[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(30): 7 612-7 621.
- [43] LIU Jia, WISNIEWSKI M, DROBY S, et al. Increase in antioxidant gene transcripts, stress tolerance and biocontrol efficacy of *Candida oleophila* following sublethal oxidative stress exposure[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 80(3): 578-590.
- [44] LIU Jia, WISNIEWSKI M, DROBY S, et al. Glycine betaine improves oxidative stress tolerance and biocontrol efficacy of the antagonistic yeast *Cystofilobasidium infirmominatum*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2011, 146(1): 76-83.
- [45] GERVAIS P, MARECHAL P A, MOLIN P. Effects of the kinetics of osmotic pressure variation on yeast viability[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1992, 40(11): 1 435-1 439.
- [46] TEIXIDÓ N, VINAS I, USALL J, et al. Ecophysiological responses of the biocontrol yeast *Candida sake* to water, temperature and pH stress[J]. Journal of Applied Microbiology, 1998, 84(2): 192-200.
- [47] MORGAN C A, HERMAN N, WHITEP A, et al. Preservation of micro-organisms by drying; a review[J]. Journal of microbiological methods, 2006, 66(2): 183-193.
- [48] TEIXIDÓ N, VINAS I, USALL J, et al. Improving ecological fitness and environmental stress tolerance of the biocontrol yeast *Candida sake* by manipulation of intracellular sugar alcohol and sugar content[J]. Mycological Research, 1998, 102(11): 1 409-1 417.
- [49] 王学锋, 苑伟, 刘延琳. 培养基的主要成分对优选酿酒酵母生物量的影响[J]. 中国酿造, 2010, 29(8): 18-21.
- [50] HUBALEK Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms[J]. Cryobiology, 2003, 46(3): 205-229.
- [51] OBUCHI K, IWAHASHI H, LEPOCKJ R, et al. Calorimetric characterization of critical targets for killing and acquired thermotolerance in yeast[J]. Yeast, 2000, 16(2): 111-119.
- [52] 李博强. 海藻糖提高酵母拮抗菌生活力和生防效力的作用机制[D]. 北京: 科学院植物研究所, 中国, 2005: 6-12.
- [53] ELEUTHERIO E C A, ARAUJO P S, PANEKA D. Protective role of trehalose during heat stress in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Cryobiology, 1993, 30(6): 591-596.
- [54] CROWE J H, CARPENTER J F, CROWE L M. The role of vitrification in anhydrobiosis[J]. Annual Review of Physiology, 1998, 60(1): 73-103.
- [55] LESLIE S B, ISRAELI E, LIGHTHART B, et al. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(10): 3 592-3 597.
- [56] BAYROCK D, INGLEDEWW M. Mechanism of viability loss during fluidized bed drying of baker's yeast[J]. Food Research International, 1997, 30(6): 417-425.
- [57] MARECHAL P A, GERVAIS P. Yeast viability related to water potential variation: influence of the transient phase[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1994, 42(4): 617-622.
- [58] BEKER M J, RAPOPORT A I. Conservation of yeasts by dehydration[M]// MARTIN J Beker. Biotechnology Methods. Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1987: 127-171.
- [59] BOYAVAL P, SCHUCK P. Le séchage des microorganismes par atomisation[J]. Industries Alimentaires et Agricoles, 1994, 111(11/12): 807-818.
- [60] POIRIER I, MARÉCHAL P A, RICHARDS, et al. *Saccharomyces cerevisiae* viability is strongly dependant on rehydration kinetics and the temperature of dried cells[J]. Journal of Applied Microbiology, 1999, 86(1): 87-92.
- [61] VAN STEVENINCK J, LEDEBOER A M. Phase transitions in the yeast cell membrane the influence of temperature on the reconstitution of active dry yeast[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1974, 352(1): 64-70.

(上接第 157 页)

参考文献

- [1] 李斌, 雷月, 孟宪军, 等. 蓝莓营养保健功能及其活性成分提取技术研究进展[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 251-254.
- [2] 曹雪丹, 方修贵, 赵凯, 等. 蓝莓花色苷研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(15): 221-226.
- [3] 赵旭彤, 吴都峰, 季中梅, 等. 蓝莓加工的研究动态与应用前景[J]. 农产品加工: 学刊, 2013(14): 52-57.
- [4] 刘华戎, 谷大海. 蓝莓果汁饮料加工工艺研究[J]. 农产品加工: 学刊, 2012(8): 76-78.
- [5] LEE J, DURST R W, WROLSTAD R E. Impact of juice processing on blueberry anthocyanin in sandpolyphenolics: Comparison of two pretreatments[J]. Journal of Food Science, 2002(67): 1 660-1 667.
- [6] 刘玮, 钱慧碧, 辛秀兰, 等. 蓝莓果渣中总黄酮的提取纯化及抗氧化性能的研究[J]. 食品科技, 2011, 36(2): 216-219.
- [7] 王玉洁, 陈敏, 张扬, 等. 蓝莓果渣中熊果苷提取工艺的研究[J]. 中国林副特产, 2012(2): 23-25.
- [8] 陈成花, 张婧, 陈海燕, 等. 蓝莓果渣花色苷超声提取工艺优化及组成分析[J]. 食品科技, 2016, 41(4): 192-199.
- [9] 唐杰, 焦淑清, 温馨, 等. 微波辅助提取蓝莓果渣中花青素的工艺研究[J]. 黑龙江医药科学, 2015, 38(1): 12-14.
- [10] 李金星, 胡志和, 马立志, 等. 超声波辅助提取蓝莓果渣中花色苷的条件研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(20): 255-259.
- [11] 王鸿飞, 程佑声. 蓝莓皮渣花色苷提取及抗氧化活性的研究[J]. 果树学报, 2015, 32(4): 696-704.
- [12] 谢秋涛, 李高阳. 超声波辅助乙醇提取法提取玫瑰色素[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 148-150.
- [13] 吕昱, 严敏. 紫薯花色苷的生理功能及分离纯化研究进展[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 250-253.