

醋酸菌麸曲制备工艺的优化

Optimization on process conditions for acetic acid bacteria bran-koji

潘婉舒¹ 彭 杨¹ 杜大钊² 吴远明² 刘 芳¹

PAN Wan-shu¹ PENG Yang¹ DU Da-zhao² WU Yuan-ming² LIU Fang¹

王 瑞¹ 敖晓琳^{1,3} 刘书亮^{1,3}

WANG Rui¹ AO Xiao-lin^{1,3} LIU Shu-liang^{1,3}

(1. 四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川保宁醋有限公司, 四川 阆中 637400;

3. 四川农业大学食品加工与安全研究所, 四川 雅安 625014)

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2. Sichuan Baoning Vinegar Co., Ltd., Langzhong, Sichuan 637400, China; 3. Research Institute of Food Processing and Security, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

摘要:以巴氏醋杆菌 C9-4 (*Acetobacter pasteurianum* strain C9-4) 为麸曲发酵菌株, 应用响应面法优化了醋酸菌麸曲的制备工艺条件。结果表明, 其最佳制备条件为: 乙酸添加量 1.03 mL/100 g、乙醇添加量 2.09 mL/100 g、接种量 4.09 mL/100 g, 该条件下醋酸菌菌落总数达到 1.38×10^8 CFU/g。应用该条件, 在食醋企业对醋酸菌麸曲进行逐级扩大培养, 扩培过程中麸曲醋酸菌总数均能达到 10^8 CFU/g 以上。

关键词: 巴氏醋杆菌; 麸曲; 固态发酵

Abstract: *Acetobacter pasteurianum* C9-4 was used as bran fermentation strain, and the preparation conditions of acetic acid bacteria bran koji fermentation were optimized by response surface method. The result showed that the best preparation conditions were: content of acetic acid 1.03 mL/100 g, content of ethanol 2.09 mL/100 g and content of inoculation 4.09 mL/100 g. Under the condition, the production reached 1.38×10^8 CFU/g. The culture was expanded in vinegar factory with the optimized parameter, the total number of acetic acid bacteria could reach 10^8 CFU/g in the process of expanding the culture. This experiment provides a reference for the preparation of acetic acid bacteria bran koji and its bioaugmentation in solid vinegar fermentation.

Keywords: *Acetobacter pasteurianus*; bran koji; solid-state fermentation

基金项目: 四川省重大科技成果转化示范项目 (编号: 18ZHSF0038); 四川农业大学双支计划 (编号: 03572188)

作者简介: 潘婉舒, 女, 四川农业大学在读硕士研究生。

通信作者: 刘书亮 (1968—), 男, 四川农业大学教授, 博士。

E-mail: lsliang999@163.com

收稿日期: 2017-12-30

四川麸醋以麸皮为主要原料, 通过传统固态发酵工艺精酿而成^[1], 尤以保宁醋最为有名, 为中国传统的四大名醋之一。麸醋发酵醋内含较多疏松料, 可容纳一定的空气和水, 固、液、气三相共存, 适合多种微生物生长繁殖。麸曲常用人工培养曲霉菌制得, 作为食醋发酵过程中的糖化剂^[2]。食醋酿造过程中曲的种类与质量影响食醋生产周期、成品醋的品质及出醋率的高低。四川麸醋现在大多是生料固态开放性多种微生物共同发酵, 醋酸菌作为发酵的主要微生物之一, 主要来源于回糟、生产原料及环境, 其丰度较低使醋酸发酵相对较弱, 导致食醋的产率较低^[3-6]; 同时, 食醋中乙酸含量在有机酸组分中相对较低, 保宁醋中乙酸的含量仅占总酸含量的 27.09%^[7], 可能一定程度影响了主体风味形成。因此, 为了利于生产实施, 非常有必要在四川麸醋传统固态发酵中强化优良醋酸菌, 而食醋发酵过程中麸曲的制备和醋酸菌的应用也被越来越多学者关注。

实际生产中, 受到生产成本、原料选择、酿造工艺等因素限制, 菌种种子液的生物量难以达到最适的接种浓度。郭明焱等^[8]通过对醋酸菌培养条件、米酒培养基酒精质量分数、接种量进行优化, 醋酸菌种子液的最大生物量仅达到 10^7 CFU/mL, 种子液的生物量较低。同时, 醋醅中含水量多, 会导致实际生产中食醋成熟期延长, 对企业的经济效益产生影响。李玉斌等^[9]以四川保宁醋为研究对象, 在其发酵过程中添加醋酸菌二级种子液作为生物强化剂, 但是液体种子液的添加影响食醋风味物质产生和食醋成熟期的延长。因此, 这些研究所采用的方法仍未达到较佳的工业利用价值。

为进一步提高醋酸菌种子的生物量、严格把控食醋品

质、控制食醋发酵周期,本研究以前期筛选出的优良巴氏醋杆菌(*Acetobacter pasteurianum*)C9-4^[10]作为固态醋醋发酵的生物强化菌株,拟采用响应面法对醋酸菌制备成麸曲种子进行工艺优化,为解决上述问题和进一步在四川麸醋固态发酵中实现醋酸菌麸曲强化接种提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

巴氏醋杆菌(*Acetobacter pasteurianus*)C9-4:从四川保宁醋醋醅中分离,保存于本实验室;

麸皮:市售;

醋酸菌液体培养基:酵母膏 1 g/100 mL,葡萄糖 1 g/100 mL,121 ℃灭菌 20 min,使用前加入 3 mL/100 mL 无水乙醇;

醋酸菌平板及斜面保藏培养基:醋酸菌液体培养基添加琼脂粉 1.8 g/100 mL, CaCO₃ 1.5 g/100 mL;

麸皮培养基:准确称取麸皮 10 g 于 250 mL 三角瓶中,按麸皮质量的 90 mL/100 g 加入蒸馏水,拌和均匀,煮料灭菌(121 ℃)20 min,灭菌后趁热摇动三角瓶使料块分散、冷却备用。

1.2 仪器与设备

精密电子天平:TE412-L 型,北京赛多利斯仪器系统有限公司;

立式自动电热压力蒸汽灭菌锅:LDZX-40A1 型,上海三电医疗核子仪器厂;

电热恒温培养箱:DHG-9162 型,上海一恒科技有限公司;

电热恒温水浴锅:HWS24 型,上海一恒科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 菌种活化及种子液的制备 取菌株 C9-4 划线于醋酸菌斜面,30 ℃培养 24 h,活化 2 次。取菌株斜面物用 5 mL 无菌生理盐水洗下菌体并调整醋酸菌浓度至 10⁸ CFU/mL,制成一级醋酸菌种子。

将一级醋酸菌种子液按 5 mL/100 g 接种至麸皮培养基中,30 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h,制成二级醋酸菌种子。

1.3.2 三角瓶曲的制作及生长曲线测定 在三角瓶麸皮培养基中加入乙醇 3 mL/100 g,乙酸 2 mL/100 g,接种 5 mL/100 g 的二级醋酸菌种子。置于 30 ℃条件下培养,每 6 h 取样一次测定醋酸菌菌落总数,72 h 后完成生长曲线测定,确定三角瓶曲的最适培养时间。

1.3.3 单因素试验设计 参照 1.3.2 制曲方法,根据文献[9]固定麸皮 10 g,选择乙酸含量、乙醇含量、水分、醋酸菌接种量、氧含量作为影响麸曲醋酸菌菌落总数的主要因素,通过单因素试验结果选取响应面的因素和水平。

(1) 水分对麸曲醋酸菌菌落总数的影响:乙醇 3 mL/100 g,乙酸 2 mL/100 g,接种量 5 mL/100 g,胶塞,麸皮培养基中水分含量分别设为 110 g/100 g·麸皮,100 g/100 g·麸皮,90 g/100 g·麸皮,80 g/100 g·麸皮,70 g/100 g·麸皮,30 ℃发酵 48 h 结束后取样并测定醋酸菌菌落总数。

(2) 乙酸含量对麸曲醋酸菌菌落总数的影响:水分按麸皮质量的 90 g/100 g·麸皮,乙醇 3 mL/100 g,接种量 5 mL/100 g,胶塞,麸皮培养基中乙酸含量分别设为 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mL/100 g,30 ℃发酵 48 h 结束后取样并测定醋酸菌菌落总数。

(3) 乙醇含量对麸曲醋酸菌菌落总数的影响:水分按麸皮质量的 90 g/100 g·麸皮,乙酸 2 mL/100 g,接种量 5 mL/100 g,胶塞,麸皮培养基中乙醇添加量分别设为 1,2,3,4,5 mL/100 g,30 ℃发酵 48 h 结束后取样并测定醋酸菌菌落总数。

(4) 接种量对麸曲醋酸菌菌落总数的影响:水分按麸皮质量的 90 g/100 g·麸皮,乙醇 3 mL/100 g,乙酸 2 mL/100 g,胶塞,麸皮培养基中醋酸菌接种量分别设为 2,4,6,8,10 mL/100 g,30 ℃发酵 48 h 结束后取样并测定醋酸菌菌落总数。

(5) 氧含量对麸曲醋酸菌菌落总数的影响:水分按麸皮质量的 90 g/100 g·麸皮,乙醇 3 mL/100 g,乙酸 2 mL/100 g,接种量 5 mL/100 g,麸皮培养基分别用 4 层纱布、棉塞、硅胶塞控制氧含量,30 ℃发酵 48 h 结束后取样并测定醋酸菌菌落总数。

通过 SPSS 22 显著性分析确定显著影响因素。

1.3.4 响应面 Box-Behnken 设计 根据单因素试验结果,选择显著影响的 3 个因素,用 Design-Expert 8.0 软件进行 Box-Behnken 中心组合设计,以醋酸菌菌落总数为响应值,建立预测模型并进行验证实验,最终确定三角瓶曲最优制备条件。

1.3.5 麸曲制备工艺的应用 应用上述优化的工艺参数,在某食醋生产企业进行麸曲的生产,通过三角瓶、曲盘、种子罐、曲床对醋酸菌进行逐级扩培制备麸曲。

(1) 三角瓶及曲盘的醋酸菌麸曲制备同文中确定的三角瓶麸曲制备工艺。

(2) 醋酸菌种子罐培养条件:采用霉菌种曲机进行制备。60 kg 粗麸皮、水分按麸皮质量的 90 g/100 g·麸皮、接种量 5 mL/100 g,30 ℃下持续通风补湿培养 48 h。

(3) 醋酸菌厚层通风制曲条件:采用厚层通风曲床制备。800 kg 粗麸皮、水分按麸皮质量的 100 g/100 g·麸皮、接种量 3 mL/100 g,风机作用湿度 32 ℃,持续补湿培养 48 h。在麸曲扩培过程中取样测定醋酸菌的菌落总数。

1.4 醋酸菌菌落计数

将样品进行 10 倍梯度稀释,选取适宜稀释度 2~3 个,每个稀释液吸取 1 mL 加入平皿中,每个稀释液重复 2 个平皿,倾注法添加醋酸菌固体培养基,混匀、凝固、倒置于培养箱中,30 ℃培养 48 h 后计数。

2 结果与分析

2.1 醋酸菌在三角瓶麸皮培养基的生长曲线

将巴氏醋杆菌 C9-4 接种至三角瓶麸皮培养基中,测定生长曲线如图 1 所示。由图 1 可知,前 24 h 内醋酸菌处于迟缓期,24~48 h 为对数生长期,48 h 后进入稳定期,确定醋酸菌的培养时间为 48 h。

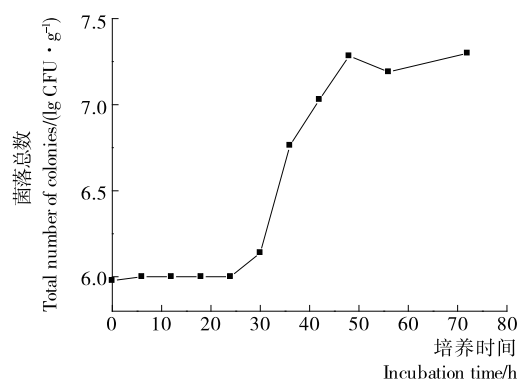
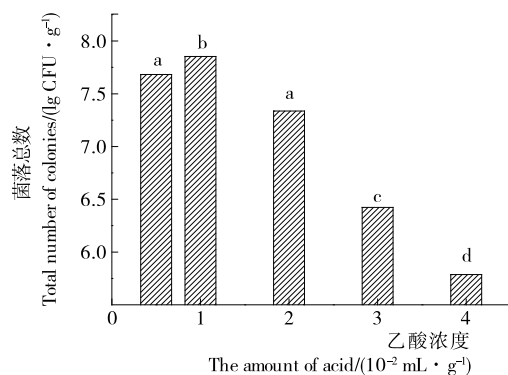


图 1 巴氏醋杆菌 C9-4 在麸皮培养基中的生长曲线

Figure 1 The growth curve of *A. pasteurianum* C9-4 in bran medium ($n=3$)

2.2 单因素试验

2.2.1 乙酸添加量对醋酸菌生长的影响 三角瓶麸曲培养基中醋酸菌初始浓度为 1.15×10^6 CFU/g。由图 2 可知,经过单因素方差分析后显示不同浓度底酸添加量差异显著 ($P<0.05$),随着底酸浓度的增加,醋酸菌数量先增加后减少,底酸添加量 <2 mL/100 g 时醋酸菌数量级 $>10^7$,而添加量为 4 mL/100 g 时数量级仅为 10^5 ,说明低浓度的底酸有利于醋酸菌的生长繁殖,而较高浓度的底酸能明显抑制醋酸菌的生长甚至导致部分醋酸菌细胞死亡,与文献[11]所得结果一致。因此,底酸添加量控制在 1 mL/100 g 左右为宜。

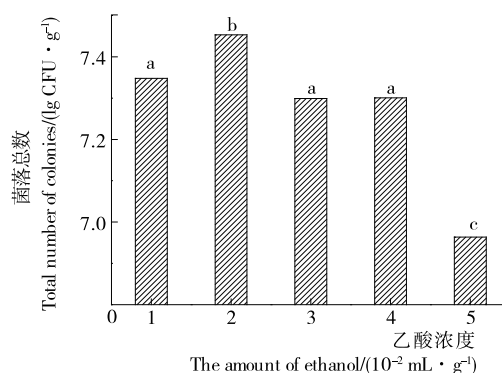


不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)

图 2 乙酸添加量对巴氏醋杆菌 C9-4 生长的影响

Figure 2 The influence of the amount of acid on the growth of *A. pasteurianum* C9-4 ($n=3$)

2.2.2 乙醇添加量对醋酸菌生长的影响 三角瓶麸曲培养基中醋酸菌初始浓度为 1.64×10^6 CFU/g。由图 3 可知,经过单因素方差分析后 2 mL/100 g 梯度与其他组醋酸菌总数差异显著,但多重比较时仅 5 mL/100 g 梯度与其他组差异极显著 ($P<0.01$),1~4 mL/100 g 的乙醇添加量对醋酸菌生长影响不大,都能达到 10^7 数量级,其中 2 mL/100 g 乙醇添加量可使醋酸菌数量达到较大值,可能是在底酸的作用下,醋酸菌可利用适量乙醇产酸后受到一定抑制。因此,乙醇添加量控制在 2 mL/100 g 左右为宜。

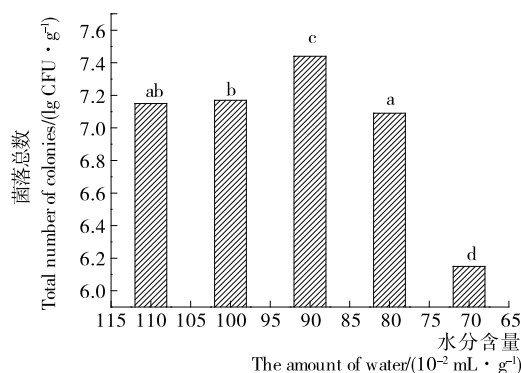


不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)

图 3 乙醇添加量对巴氏醋杆菌 C9-4 生长的影响

Figure 3 The influence of ethanol on the growth of *A. pasteurianum* C9-4 ($n=3$)

2.2.3 水分添加量对醋酸菌生长的影响 三角瓶麸曲培养基中醋酸菌初始浓度为 1.16×10^6 CFU/g。由图 4 可知,经过单因素方差分析后 90 g/100 g · 麸皮梯度与其他组差异显著,醋酸菌在水分含量 >80 g/100 g · 麸皮时生长较为旺盛,数量级均可以达到 10^7 ,在水分添加量为 90 g/100 g · 麸皮时达到最大值,因此选用此条件为后续优化条件。因此,水分添加量控制在 90 g/100 g · 麸皮为宜。



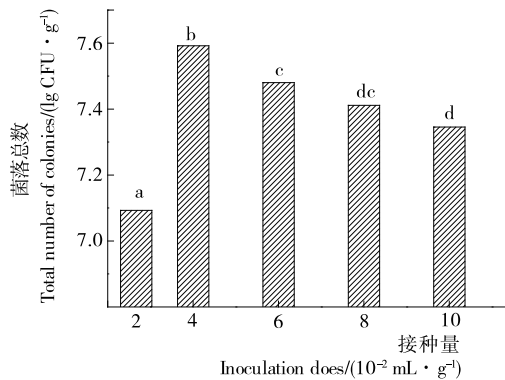
不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)

图 4 水分添加量对巴氏醋杆菌 C9-4 生长的影响

Figure 4 The influence of water on the growth of *A. pasteurianum* C9-4 ($n=3$)

2.2.4 接种量对醋酸菌生长的影响 三角瓶麸曲培养基中醋酸菌初始浓度为 1.66×10^6 CFU/g。由图 5 可知,随着接种量的增加醋酸菌生长呈现先增长后降低的趋势,经过单因素方差分析 4 mL/100 g 梯度与其他组差异显著,但 5 组数据生长均达到 10^7 ,多重比较时 4 mL/100 g 与 6 mL/100 g 2 个梯度与其他组差异极显著 ($P<0.01$),因此响应面选取 2,4,6 mL/100 g 3 个梯度。

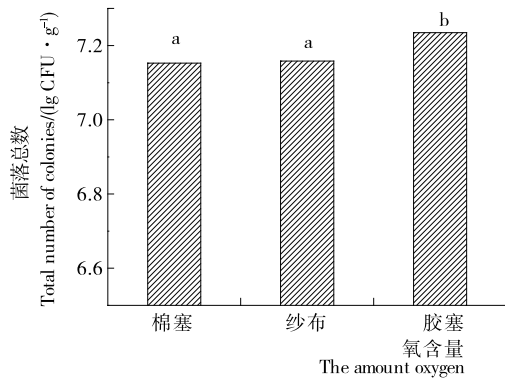
2.2.5 氧含量对醋酸菌生长的影响 三角瓶麸曲培养基中醋酸菌初始浓度为 1.18×10^6 CFU/g。醋酸菌属于好氧菌,但是由于培养时间只有 48 h,三角瓶中有足够的氧气供醋酸菌生长繁殖,因此三角瓶不同的封口方式对其生长繁殖产生影响不明显,见图 6。因此,三角瓶应选取 3 种塞子均可。



不同字母表示差异显著(P<0.05)

图 5 接种量对巴氏醋杆菌 C9-4 生长的影响

Figure 5 The influence of the amount of inoculation on the growth of *A.pasteurianum* C9-4 (n=3)



不同字母表示差异显著(P<0.05)

图 6 氧含量对巴氏醋杆菌 C9-4 生长的影响

Figure 6 The influence of the amount of oxygen component on the growth of *A.pasteurianum* C9-4 (n=3)

2.3 回归模型的建立与检验

2.3.1 因素与水平的选择 根据单因素试验结果,选择变量中对醋酸菌菌落总数影响显著的乙酸、乙醇、接种量作为影响因素,以醋酸菌菌落总数为响应值,设计三因素三水平的响应面试验,因素编码及水平见表 1。

2.3.2 回归模型的建立与检验 响应面设计方案及结果见表 2,每个试验做 3 组平行,取其平均值。采用 Design. Expert 8.0 软件对表 2 中的数据进行多元回归拟合,分析结果见表 3,得到醋酸菌菌落总数对乙酸、乙醇、接种量的二元多项式回归模型为:

$$Y = 3.417\ 33 + 1.882\ 83X_1 + 1.570\ 67X_2 + 1.065\ 08X_3 - 0.002\ 5X_1X_2 - 0.016\ 250X_1X_3 - 0.055\ 625X_2X_3 - 0.875\ 17X_1^2 - 0.320\ 79X_2^2 - 0.113\ 82X_3^2.$$
 (1)

表 1 响应面因素水平表

Table 1 The table of factors and levels for response surface methodology mL/100 g

水平	X ₁ 乙酸	X ₂ 乙醇	X ₃ 接种量
-1	0.5	1	2
0	1.0	2	4
1	1.5	3	6

图 7、8 分别为多因素之间的交互作用对醋酸菌菌落总数影响的响应面图与等高线图。当响应面分析图为山谷曲面,并且特征值均为正值,该响应面有极小值存在;当响应面分析图为山丘曲面,并且特征值为负值,该响应面有极大值存在;当响应面分析图为马鞍曲面,并且特征值有正有负,无极值存在^[12-15]。

由回归模型方差分析的结果可知,模型 P=0.000 9(显著),失拟项 P=0.655 0(不显著),模型的校正系数 R² 为

表 2 Box-Behnken 试验设计结果

Table 2 Results of Box-Behnken experimental design

试验组 序号	X ₁	X ₂	X ₃	醋酸菌菌落总数/ lg (CFU · g ⁻¹)
1	-1	-1	0	7.551
2	-1	1	0	7.660
3	1	-1	0	7.678
4	1	1	0	7.782
5	0	-1	-1	7.217
6	0	-1	1	7.502
7	0	1	-1	7.583
8	0	1	1	7.423
9	-1	0	-1	7.440
10	1	0	-1	7.473
11	-1	0	1	7.626
12	1	0	1	7.594
13	0	0	0	8.117
14	0	0	0	8.234
15	0	0	0	8.271

表 3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance on regression model

系数项	平方和	自由度	均方	F 值	Pr>F	显著性
模型	1.280	9	0.140	27.980	0.000 9	* *
X ₁	0.007	1	0.008	1.540	0.270 3	
X ₂	0.031	1	0.031	6.140	0.056 0	
X ₃	0.023	1	0.023	4.590	0.085 2	
X ₁ X ₂	0.000	1	0.000	0.001	0.973 4	
X ₁ X ₃	0.001	1	0.001	0.210	0.667 7	
X ₂ X ₃	0.050	1	0.050	9.730	0.026 3	*
X ₁ ²	0.180	1	0.180	34.740	0.002 0	* *
X ₂ ²	0.380	1	0.380	74.690	0.000 3	* *
X ₃ ²	0.770	1	0.770	150.440	<0.000 1	* *
残差项	0.025	5	0.005			
失拟项	0.013	3	0.004	0.650	0.655 0	
纯误差项	0.013	2	0.006			
总和	1.310	14				

[†] * *: P<0.01; *: P<0.05; R²=98.05%; 校正 R²=94.55%。

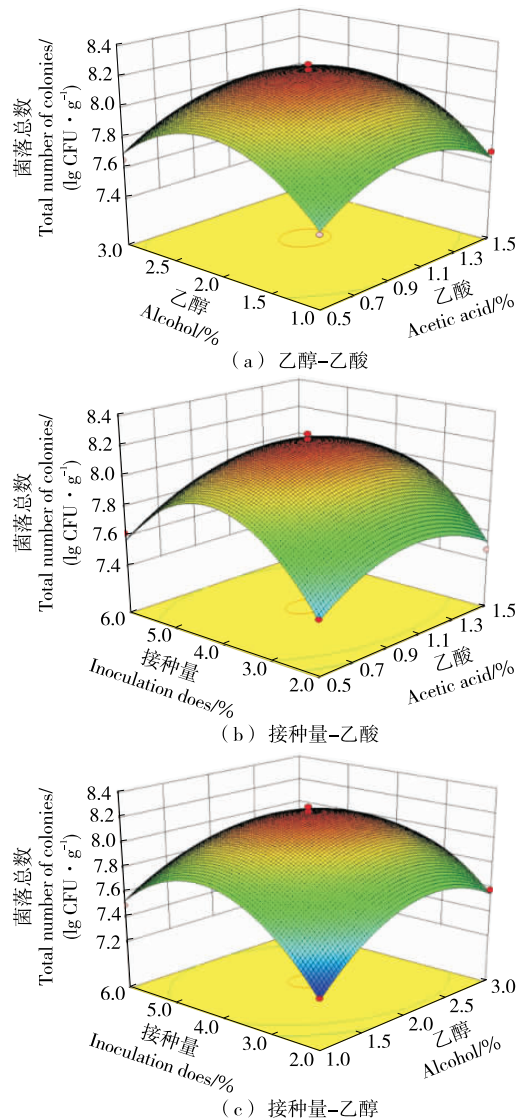


图 7 交互作用对醋酸菌菌落总数影响的响应面图

Figure 7 The influence of ethanol, acetic acid and inoculation dose concentration on the number of acetic acid bacter of response surface

94.55%,说明模型拟合有效,可用来对醋酸菌麸曲制备工艺进行分析和预测,说明模型准确度和精密度都较高,用该模型进行分析和预测是合理的。该回归方差中二次项 X_2X_3 的 P 值 <0.05 ,对醋酸菌菌落总数的影响均达到显著水平,二次项 X_1^2, X_2^2, X_3^2 的 P 值 <0.01 对醋酸菌菌落总数的影响均达到极显著水平,其他各项差异不显著。表明试验因素与响应值不是简单的线性关系。对醋酸菌菌落总数影响较大的因素依次为乙醇添加量 $>$ 接种量 $>$ 乙酸添加量,乙醇添加量和接种量的交互作用显著($P=0.026\ 3$)。三因素对醋酸菌菌落总数交互作用影响不显著。

2.3.3 醋酸菌麸曲制备工艺条件的确定及验证 根据 Box-Behnken 试验所得的结果和二次多项回归方程,利用 Design-Expert 8.0 软件获得了醋酸菌麸曲制备最佳工艺条件为:乙酸添加量 1.03 mL/100 g、乙醇添加量 2.09 mL/100 g、醋酸菌接种量 4.09 mL/100 g,此条件下醋酸菌菌落总数的预测

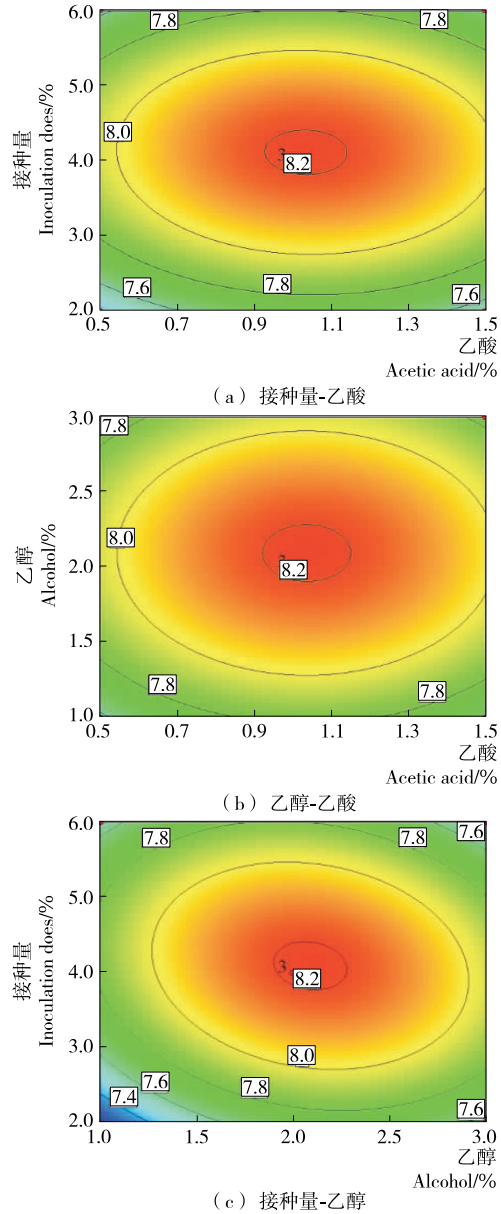


图 8 交互作用对醋酸菌菌落总数影响的等高线图

Figure 8 The influence of ethanol, acetic acid and inoculation dose concentration on the number of acetic acid bacter of contourplots

值为 1.62×10^8 CFU/g($\lg$ 值 8.21)。在以上优化条件进行验证实验,以 2.59×10^7 CFU/g 醋酸菌菌落总数为初始接种量,所得醋酸菌总数可达 1.38×10^8 CFU/g($\lg$ 值 8.14),与预测值较为接近。

2.4 醋酸菌麸曲逐级扩培结果

采用响应面优化的结果对醋酸菌麸曲进行逐级扩大培养,通过三角瓶、曲盘、种子罐、曲床培养出的麸曲,醋酸菌总数分别为 $1.83 \times 10^8, 1.66 \times 10^8, 2.60 \times 10^8, 6.35 \times 10^8$ CFU/g。醋酸菌在扩培过程中菌落总数均能达到 10^8 CFU/g,证明本试验优化的醋酸菌麸曲制备条件可用于实际生产,所得醋酸菌麸曲比液态醋酸菌种子含水量低,醋酸菌数高,可望解决液态发酵剂会增大醋醅含水量和延长醋醅成熟期的问题。

3 结论

(1) 本试验将巴氏醋杆菌(*Acetobacter pasteurianum*) C9-4 作为麸曲发酵菌株,在单因素试验基础上,运用 Box-Behnken 响应面设计,建立了醋酸菌麸曲制备工艺参数的二次多项式数学模型,并得出醋酸菌麸曲制备的最佳工艺条件为乙酸添加量 1.03 mL/100 g、乙醇添加量 2.09 mL/100 g、醋酸菌接种量 4.09 mL/100 g,麸曲醋酸菌菌含量达到 10^8 CFU/g 以上,满足醋酸菌接种要求。

(2) 将优化的醋酸菌麸曲的最佳制备条件应用于实际生产中,通过三角瓶、曲盘、种子罐及曲床逐级扩大培养制备麸曲,扩培过程中醋酸菌总数均能达到 10^8 CFU/g,满足实际应用醋酸菌菌种数量级要求。研究结果对醋酸菌麸曲制备及强化醋酸菌接种发酵、提高四川麸醋的出醋率、增加乙酸含量和改良麸醋主体风味物质具有参考价值。由于大生产试验过程中生产环境不可控因素较多,在后续的研究中,还应该加强试验环境条件等方面的控制。

参考文献

- [1] 杨林娥,李婷,杨宇霞,等.中国食醋的历史、现状与对策[J].中国调味品,2013,38(12):114-117.
- [2] 袁仲,马绮云,杨继远.液液萃取和同时蒸馏萃取与气质联用分析国产食醋香味成分[J].食品科学,2010,31(4):226-229.
- [3] 张锦盛,刘军,朱文优,等.固态发酵酿醋中复合麸曲的应用研究[J].中国酿造,2013,32(1):124-126.
- [4] 张霞,张利.液态高温糖化—固态酒化醋化工艺生产优质香醋[J].中国调味品,2002(10):22-25.
- [5] XU Wei, HUNG Zhi-yong, ZHANG Xiao-juan, et al. Monitoring the microbial community during solid-state acetic acid fermentation of Zhenjiang aromatic vinegar[J]. Food Microbiology, 2011, 28(6): 1 175-1 181.
- [6] PAN Li, FRANCIS W K A, HANG Yu, et al. Characterization of activity and microbial diversity of typical types of Daqu for traditional Chinese vinegar[J]. Annals of Microbiology, 2015, 65(4): 2 019-2 027.
- [7] 余宁华,陆震鸣,许伟,等.基于主成分分析的中国发酵食醋有机酸含量差异性分析[J].食品与发酵工业,2010(10):144-148.
- [8] 郭明烨,刘军,王洋,等.一株醋酸菌液态扩大培养及应用于固态发酵酿醋研究[J].中国调味品,2015(12):1-4.
- [9] 李玉斌,邓静,吴华昌,等.3株功能菌在四川保宁醋强化发酵中的应用[J].食品科学,2017,38(12):75-82.
- [10] 邵向丽,赵爽,刘书亮,等.四川麸醋醋醅中优良醋酸菌的筛选及其产酸特性[J].食品工业科技,2015,36(6):203-207.
- [11] 王丽丽,仪宏,沙惠琴,等.醋酸菌生长的营养需求及产酸的促进作用研究[J].中国调味品,2004(6):3-6.
- [12] GUPTA S, MANOHAR C S. An improved response surface method for the determination of failure probability and importance measures[J]. Structural Safety, 2004, 26(2): 123-139.
- [13] 王建超,王卿,施文昊,等.响应面分析法优化枇杷叶多酚提取工艺[J].热带作物学报,2015,36(2):384-390.
- [14] 徐效圣,潘俨,傅力,等.响应面法优化水酶法提取核桃油的工艺条件[J].食品与机械,2010,26(2):92-96.
- [15] 滕国生,刘勇,武丽达,等.响应面优化L-赖氨酸培养基[J].食品与机械,2015,31(5):256-260.
- (上接第205页)
- [36] ROSA A, MAXIA A, PUTZU D, et al. Chemical composition of *Lycium europaeum*, fruit oil obtained by supercritical CO₂, extraction and evaluation of its antioxidant activity, cytotoxicity and cell absorption[J]. Food Chemistry, 2017, 230: 82-90.
- [37] HAO Shu-xian, WEI Ya, LI Lai-hao, et al. The effects of different extraction methods on composition and storage stability of sturgeon oil[J]. Food Chemistry, 2015, 173: 274-282.
- [38] 陆春霞,廖森泰,祁广军,等.鲜茧缂丝蚕蛹油与新鲜蚕蛹油理化性质及组分分析[J].食品与发酵工业,2015,41(9):188-191.
- [39] KOTAKE-NARA E, YAMAMOTO K, NOZAWA M, et al. Lipid profiles and oxidative stability of silkworm pupal oil[J]. Journal of Oil Chemists Society Japan, 2002, 51(11): 681-690.
- [40] 刘军,郑翠翠,廖森泰,等.精制对蚕蛹油抗氧化活性的影响[J].中国粮油学报,2016,31(4):51-56.
- [41] SAMARAM S, MIRHOSSEINI H, TAN C P, et al. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 7-17.
- [42] OLIVEIRA D A S B D, MINOZZO M G, LICODIEDOFF S, et al. Physicochemical and sensory characterization of refined and deodorized tuna (*Thunnus albacares*) by-product oil obtained by enzymatic hydrolysis [J]. Food Chemistry, 2016, 207: 187-194.
- [43] ZHAO Xue, GONG Guang-yi, WU Shi-min. Effect of storage time and temperature on parent and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in crude and refined vegetable oils[J]. Food Chemistry, 2017, 239: 781-788.
- [44] LI Jun, BI Yan-lan, YANG Hui-fang, et al. Antioxidative properties and interconversion of tert-butylhydroquinone and tert-butylquinone in soybean oils[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2017, 65(48): 10 598-10 603.
- [45] BOWRY V W, STOCKER R. Tocopherol-mediated peroxidation: The prooxidant effect of vitamin E on the radical-initiated oxidation of human low-density lipoprotein[J]. Journal of the American Chemical Society, 1993, 115(14): 6 029-6 044.
- [46] MCCLEMENTS D J, DECKER E. Interfacial antioxidants: a review of natural and synthetic emulsifiers and coemulsifiers that can inhibit lipid oxidation[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2017, 66(1): 20-35.
- [47] PRISCO A D, MAURIELLO G. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 48(1): 27-39.
- [48] 陈晨,李建科,张雅丽.蚕蛹油不饱和脂肪酸微胶囊的制备及其性质研究[J].食品工业科技,2012,33(19):247-251.
- [49] 施英,吴娱明,廖森泰,等.蚕蛹油微胶囊的制备[J].蚕业科学,2010,36(5):875-878.