

烘焙温度对小球藻脂肪酸、色素及乙醇 提取物抗氧化活性的影响

Effects of roasting temperature on the fatty acid, pigment and ethanol-extracts
and their antioxidant activities in *Chlorella pyrenoidosa*

王宝贝^{1,2} 加晶³ 孙辉¹ 刘磊¹ 蔡舒琳¹ 李丽婷¹

WANG Bao-bei^{1,2} JIA Jing³ SUN Hui¹ LIU Lei¹ CAI Shu-lin¹ LI Li-ting¹

(1. 泉州师范学院海洋与食品学院, 福建 泉州 362000; 2. 福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室, 福建 泉州 362000; 3. 国投开发投资公司国投生物科技投资有限公司国投微藻生物科技公司, 北京 100034)

(1. College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362000, China; 2. Fujian Province Key Laboratory for the Development of Bioactive Material from Marine Algae, Quanzhou, Fujian 362000, China; 3. SDIC Microalgae Biotechnology Center, SDIC Biotechnology Investment Co., Ltd., State Development and Investment Corporation, Beijing 100034, China)

摘要:探讨烘焙温度对小球藻脂肪酸组成、色素成分及乙醇提取物抗氧化活性的影响。结果表明:小球藻的脂肪酸以多不饱和脂肪酸为主,其含量达到细胞总脂的 76.69%。其中,亚油酸(C_{18:2})含量最高,亚麻酸(C_{18:3,n3})次之。温度不高于 150 °C 时,烘焙处理对小球藻的脂肪酸含量及组成无明显影响;但当温度达到 200 °C 时,烘焙处理会显著降低多不饱和脂肪酸的含量。小球藻的色素成分及乙醇提取物的抗氧化活性对烘焙温度很敏感。当烘焙温度高于 100 °C 时,小球藻的叶绿素和类胡萝卜素降解严重;当烘焙温度高于 150 °C 时,小球藻的抗氧化活性也明显减弱。

关键词:小球藻;烘焙;脂肪酸;色素;抗氧化

Abstract: Effects of roasting temperature and duration on the composition fatty acid and pigment and antioxidant attribute of *Chlorella pyrenoidosa* were studied. The results showed that oleic acid (C_{18:2}) and linolenic acid (C_{18:3,n3}) were the predominant fatty acids species, and poly unsaturated fatty acid (PUFA) accounted for ca. 76.69% of total fatty acids in *Chlorella*. Roasting treatment had little effect on fatty acid content and composition when the temperature no higher than 150 °C. However, remarkably decrease of PUFA content was found with 200 °C. Both pigments and the antioxidant activity of ethanol extracts (scavenging DPPH) from *C. pyrenoidosa* were sensitive to roasting temperature. Obviously degradation of chlorophyll

and carotenoids were found when roasting temperature was higher than 100 °C, while the antioxidant activity of ethanol extracts from *chlorella* decreased dramatically with roasting treatment over 150 °C.

Keywords: *Chlorella pyrenoidosa*; roasting; fatty acid; pigment; antioxidant activity

小球藻属于绿藻门、绿藻纲、小球藻属,被广泛应用于食品及医药保健等领域^[1]。它含有丰富的多不饱和脂肪酸和多种抗氧化活性物质,比如:叶绿素 a、叶绿素 b 以及叶黄素、β-胡萝卜素等类胡萝卜素^[2]。研究^[3-5]表明,小球藻能有效提高肌体免疫力,在抗肿瘤、降血糖和血脂等方面具有显著的效果。然而,当前的小球藻保健食品以片剂、粉剂、胶囊等形式为主^[6-7]。产品种类单一,且未经处理的小球藻藻粉或者藻片具有藻腥味^[8],消费者对其食用的总体接受水平不高,市场容量有限。若能将小球藻加工成形味百态的保健食品,将有利于小球藻在食品行业的推广应用。本研究前期试验发现,经烘焙处理后,小球藻具有海藻烘焙香味,原有的藻腥味消失。但热处理很可能对小球藻的脂肪酸^[9]、叶绿素、类胡萝卜素等营养成分产生一定影响^[10-11],进而降低其抗氧化活性。现有文献^[8]大多是针对未经烘焙处理的小球藻展开的研究,讨论其营养价值或其各种食品中的应用。尚未见有关于烘焙等热处理对小球藻营养价值影响的相关报道。本研究通过对比烘焙温度对小球藻的脂肪酸、叶绿素、类胡萝卜素等营养成分及乙醇提取物抗氧化活性的差异,探究烘焙对小球藻营养价值的影响,以期今后小球藻在食品中的开发利用提供参考。

基金项目:国家自然科学基金(编号:41606177);福建省高校产学研合作项目(编号:2015N5006)

作者简介:王宝贝(1982—),女,泉州师范学院副教授,博士。

E-mail: 81404152@qq.com

收稿日期:2018-01-31

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

DPPH: 色谱纯, 美国阿拉丁工业公司;

考马斯亮蓝 G250: 分析纯, 上海蓝季科技发展有限公司;

无水乙醇: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

脂肪酸甲酯标准品: 色谱纯, 美国西格玛奥德里奇公司;

电热食品烘炉: YXD-90C 型, 广州市赛思达机械设备有限公司;

数显恒温水浴锅: HH-4A 型, 常州国华电器有限公司;

气相色谱仪: Agilent GC7890 型, 美国安捷伦科技有限公司;

高效液相色谱仪: Waters 2695_2489 型, 美国沃特世有限公司。

1.2 小球藻烘焙

蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*): 福建省海洋藻类活性物质制备与功能开发重点实验室提供。小球藻培养液经离心、洗涤、冷冻干燥后备用。烤箱预热至指定温度 (50, 100, 150, 200 °C), 将预先准备好的若干份小球藻粉置入烤箱内烘焙, 得到不同烘焙时间的藻粉样品。

1.3 脂肪酸的提取及分析

粗油脂的提取参考 Gwak 等^[12]的方法。采用液氮研磨破壁, 以氯仿: 甲醇 (2: 1, 体积比) 溶液为溶剂, 在室温内振荡提取 1 h; 离心弃去沉淀, 有机相用氮气吹干即得粗油脂样品。所得粗脂肪加入 0.5 mol/L KOH-甲醇溶液, 于 65 °C 水浴 10 min 后; 再加入 5 mL 30% 三氟化硼乙酯于 65 °C 水浴 30 min, 催化制备脂肪酸甲酯, 然后样品转移浓缩至正己烷溶液中以备上机检测^[13]。

脂肪酸分析采用安捷伦气相色谱仪 (Agilent GC7890), 色谱柱为 DB-23 (60 m, 0.25 mm ID, 0.15 μm film); 进样温度 250 °C, 分流比 20: 1; 以氮气为载气 (流速: 20 cm/s); 柱温从 50 °C 开始保持 1 min, 然后以 25 °C/min 升温至 220 °C, 并保持 1 min。检测器温度保持在 250 °C^[14]。

1.4 色素提取及检测

根据文献^[15]的方法提取和分析小球藻中的叶绿素、类胡萝卜素。通过液氮研磨破碎细胞壁, 以甲醇: 二氯甲烷溶液 (3: 1, 体积比) 为萃取溶剂, 在室温下振荡萃取多次, 直到藻体为白色。将多次萃取的上清转移到同一个玻璃瓶中定容, 此为待测色素样品。

色素采用高效液相色谱分析 (Waters 2695_2489), 色谱柱为 Beckman C₁₈ 柱 (4.6 mm × 25 cm, ultrasphere), 流速 1 mL/min, 检测波长 200~720 nm, 柱温 25 °C。以二氯甲烷、甲醇、乙腈、水为流动相, 进行梯度洗脱。

1.5 乙醇提取物制备及 DPPH 自由基清除试验

冷冻干燥的小球藻粉经液氮研磨破壁后, 用无水乙醇洗涤到具塞玻璃管中, 于 50 °C 振荡提取 1 h, 离心, 收集上清液。余下藻渣用无水乙醇, 按上述步骤重复提取 3 次。将多次提取的上清液转移到同一个玻璃瓶中定容, 此为乙醇提取

物样品。

DPPH 自由基清除试验参照张玲等^[16]的方法进行。用乙醇配置 0.1 mmol/L DPPH 溶液, 避光保存。取适量的待测样品、待测样品溶剂 (乙醇) 与等体积的 DPPH 溶液摇匀, 避光反应 30 min 后, 于 517 nm 处测吸光值 A_x 、 A_0 (以乙醇作为空白)。按式 (1) 计算 DPPH 自由基清除率。

$$Y = \left(1 - \frac{A_x}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y——DPPH 自由基清除率, %;

A_x ——待测样品与 DPPH 溶液反应后, 在 517 nm 处的吸光值;

A_0 ——乙醇与 DPPH 溶液反应后, 在 517 nm 处的吸光值。

2 结果与分析

2.1 烘焙温度对小球藻粗油脂及脂肪酸组成的影响

2.1.1 对小球藻粗油脂的影响 蛋白核小球藻中总脂肪酸含量达到细胞干重的 11.55% (图 1)。经过不同温度烘焙处理 1.5 h 后, 小球藻粉的总脂肪酸含量基本保持恒定 (11.55%~11.89%)。然而, 当温度升至 200 °C 时, 总脂肪酸含量显著下降至烘焙前的 72.1% ($P < 0.05$)。说明温度太高会加速小球藻内脂肪酸的氧化、降解。

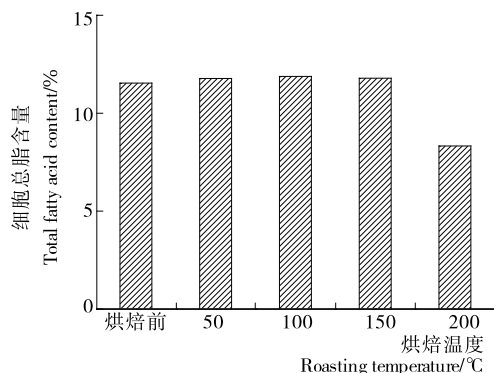


图 1 不同烘焙温度下小球藻总脂含量

Figure 1 The content of total fatty acid in *Chlorella* treated with different roasting temperatures

2.1.2 对小球藻脂肪酸组成的影响 为了进一步了解烘焙温度对小球藻各种脂肪酸组成的影响, 本研究通过气相色谱对上述粗油脂进行分析检测。结果表明, 小球藻的脂肪酸主要包括肉豆蔻酸 ($C_{14:0}$)、棕榈酸 ($C_{16:0}$)、棕榈油酸 ($C_{16:1}$)、 $C_{16:2}$ 、 $C_{16:3}$ 、硬脂酸 ($C_{18:0}$)、油酸 ($C_{18:1}$)、亚油酸 ($C_{18:2}$)、亚麻酸 ($C_{18:3,n3}$) 9 种。其中, 亚油酸 ($C_{18:2}$) 含量最高 (40.45 mg/g · DCW), 亚麻酸 ($C_{18:3,n3}$) 次之 (25.52 mg/g · DCW), 棕榈酸第 3 (19.57 mg/g · DCW), 分别占总脂肪酸含量的 35.5%, 22.10%, 16.95% (表 1)。将上述脂肪酸按不饱和度分为饱和脂肪酸 (saturated fatty acid, SFA; $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$)、单不饱和脂肪酸 (mono unsaturated fatty acid, MUFA; $C_{16:1}$, $C_{18:1}$)、多不饱和脂肪酸 (poly unsaturated fatty acid, PUFA; $C_{16:2}$, $C_{16:3}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$) 三类, 各类脂肪

表 1 不同烘焙温度下小球藻脂肪酸成分及含量[†]Table 1 Fatty acid composition and contents in *Chlorella* treated with different roasting temperatures

烘焙温度/℃	脂肪酸含量/(mg·g ⁻¹ ·DCW)								
	C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{16:2}	C _{16:3}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3,n3}
烘焙前	0.11±0.01	19.57±0.06	1.79±0.02	12.45±0.06	10.13±0.03	0.35±0.01	5.09±0.05	40.45±0.12	25.51±0.06
50	0.12±0.00	19.93±0.10*	1.82±0.00	12.70±0.12	10.31±0.08*	0.38±0.01	5.27±0.07*	41.27±0.44	26.00±0.23
100	0.12±0.02	20.16±0.05*	1.86±0.01	12.79±0.00*	10.40±0.03*	0.39±0.01*	5.25±0.04	41.61±0.15*	26.25±0.13*
150	0.13±0.01	20.40±0.04*	1.86±0.02	12.69±0.02*	10.22±0.08	0.38±0.01	5.30±0.05	41.26±0.06*	25.68±0.08
200	0.10±0.03	19.40±0.18	1.54±0.02*	8.71±0.11*	5.34±0.06*	0.38±0.01	4.51±0.09*	29.14±0.35*	14.09±0.22*

† * 表示与烘焙前含量相比,差异显著(P<0.05)。

酸占总油脂比例见图 2。小球藻的脂肪酸以多不饱和脂肪酸为主,其含量达到细胞总脂的 76.69%;饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸分别占总脂的 17.35%和 5.96%。

经过不同温度烘焙处理后,大部分脂肪酸的含量均随着烘焙温度的升高而略微上升(表 1),但其在总油脂中所占比例保持恒定(图 2)。当烘焙温度为 100℃时,C_{16:0}、C_{16:1}、C_{18:2}、C_{18:3}等脂肪酸的含量达到最大。当烘焙温度达到 200℃时,多不饱和脂肪酸的含量显著降低(P<0.05),单不饱和脂肪酸含量略有下降,而饱和脂肪酸含量则基本不变。其中,C_{16:2}、C_{16:3}、C_{18:2}、C_{18:3}等多不饱和脂肪酸的含量仅为 8.71,5.34,29.14,14.09 mg/g·DCW,分别比烘焙前下降了 30.02%,47.26%,27.96%,44.77%。由图 2 可见,虽然 C_{16:0}等饱和脂肪酸含量基本不变,但由于多不饱和脂肪酸含量显著降低了,因此其在总脂肪酸中的比例由烘焙前的 17.35%升至 23.89%;而多不饱和脂肪酸的含量则由原来的 76.69%降至 68.84%。

综上,当温度不超过 150℃时,烘焙处理对小球藻的脂肪酸含量及组成无明显影响;但当温度达到 200℃时,多不饱和脂肪酸含量显著降低。由于多不饱和脂肪酸含有多个 C=C 双键,容易与空气中的氧气反应而被氧化降解,高温条件促进了该反应的进行,进而使多不饱和脂肪酸含量降低。Lin 等^[9]研究发现当烘焙温度超过 200℃时,*Prunus dulcis* 的脂肪酸尤其是不饱和脂肪酸受到严重破坏,含量显著降低。由于亚麻酸等多不饱和脂肪酸是小球藻的主要营养成分,因此在烘焙处理过程必须严格控制温度,以避免多

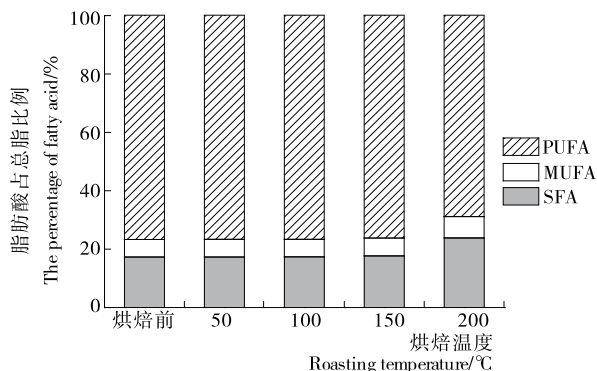


图 2 SFA、MUFA 和 PUFA 在总脂肪酸中的比例

Figure 2 The percentage of SFA, MUFA and PUFA in total fatty acid

不饱和脂肪酸损失。

2.2 烘焙温度对小球藻色素的影响

由图 3 可见,当烘焙温度为 50℃时,烘焙 1.5 h 后,小球藻粉颜色与烘焙前差异不大,藻粉依然带有海藻的藻腥味。100℃时,小球藻粉的色泽随着烘焙时间的延长而加略有加深,藻腥味与 50℃相比,明显变淡。温度上升至 150℃以上时,小球藻粉的颜色开始变黄,随着烘焙时间的延长进一步变成褐色,同时伴有浓郁的烤海苔香味。

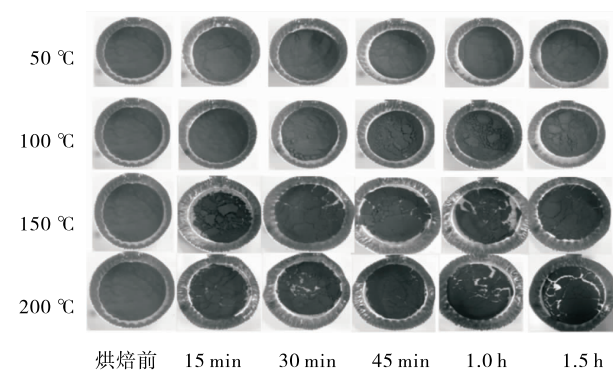


图 3 不同温度烘焙后的小球藻

Figure 3 *Chlorella* treated with different roasting temperatures

叶绿素、类胡萝卜素等生物活性物质均具有较强的抗氧化活性,其在一定程度上反映了产品的营养价值^[17-19]。通过对各烘焙温度下小球藻色素成分的分析可知,小球藻中叶绿素 a、叶绿素 b 含量最多,分别为 17.287,7.096 mg/g·DCW,占总色素的 59.9%和 24.6%。类胡萝卜素中,叶黄素的含量最高(3.362 mg/g·DCW),β-胡萝卜素次之(0.810 mg/g·DCW),玉米黄质最少(0.317 mg/g·DCW)(图 4~6)。

2.2.1 对小球藻叶绿素的影响 当烘焙温度为 50℃时,烘焙 1.5 h 后,小球藻中的叶绿素 a、叶绿素 b 均略有下降。其中,叶绿素 a、叶绿素 b 分别下降了 12.4%,2.3%(图 5)。当烘焙温度升至 100℃时,2 种叶绿素的降幅增至 17.1%,26.6%;烘焙温度超过 150℃时,小球藻中已经检测不到叶绿素。可见,叶绿素对温度很敏感,随着烘焙温度的提高,叶绿素不断降解,且降解速度加快,尤其是当烘焙温度达到 100℃时,降解迅速,因此,将温度控制在 100℃以下有利于保持小球藻产品的绿色外观。

2.2.2 对小球藻类胡萝卜素的影响 相比之下,类胡萝卜素

更为稳定一些,50℃的烘焙对其含量影响不大(图6)。当烘焙温度升至100℃时,3种类胡萝卜素的含量均有所下降,其中玉米黄质下降幅度最大。150℃时, β -胡萝卜素和叶黄素快速降解,分别只有烘焙前的9.5%和50.0%;而玉米黄质已检测不到。可见,3种类胡萝卜素中,玉米黄质的热稳定性最差,在温度超过50℃时就容易被氧化降解,而 β -胡萝卜素和叶黄素相对较为稳定。

因此,蒸煮、烘焙等热处理会使部分叶绿素a和叶绿素b形成叶绿素异构体、脱镁叶绿素(pheophytin)等叶绿素衍生

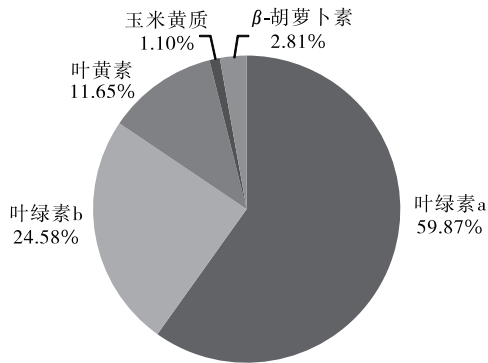


图4 烘焙前小球藻中各种色素的比例

Figure 4 Pigment composition in *Chlorella* without roasting treatment

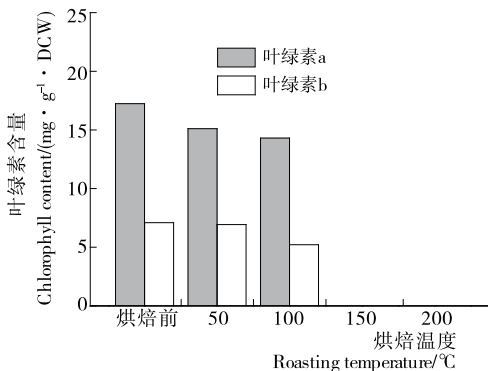


图5 烘焙温度对小球藻叶绿素成分及含量的影响

Figure 5 Effects of roasting temperature on chlorophyll content in *Chlorella*

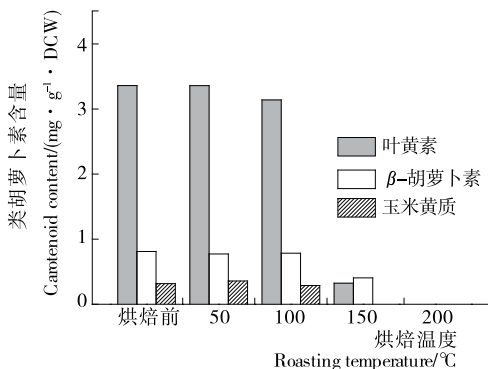


图6 烘焙温度对小球藻类胡萝卜素含量的影响

Figure 6 Effects of roasting temperature on carotenoid content in *Chlorella*

物^[11]。当热处理时间较长或者温度较高时,叶绿素将会进一步形成黄褐色的叶褐素(pyrochlorophylls)。本研究中,小球藻的色泽随烘焙温度的升高而由鲜绿色变成黄绿色,进而变成黄褐色,主要是高温处理过程使叶绿素生成叶褐素等黄褐色的衍生物。Pumilia等^[10]在研究烘焙温度对开心果中叶绿素的影响时,也发现了类似的情况,试验发现,当开心果在138℃烤箱内烘焙60min后,开心果表面由绿色变褐色;同时,开心果的叶褐素含量伴随着叶绿素的降低而增加。

2.3 烘焙温度对小球藻乙醇提取物清除DPPH自由基能力的影响

由图7可知,各烘焙温度下的小球藻乙醇提取物清除DPPH自由基能力由大至小依次为:100,50,150,200℃。150℃以上的热处理明显降低了乙醇提取物清除自由基的能力。未经烘焙的小球藻乙醇提取物能有效清除DPPH自由基,当浓度为0.83mg/mL时,其对DPPH自由基的清除率为62.21%。50~100℃时,烘焙温度对小球藻乙醇提取物清除DPPH自由基能力影响较小。30min以内,小球藻乙醇提取物清除DPPH自由基能力略有提升;此后,DPPH自由基的清除率维持在65%左右。当烘焙温度达到150℃时,小球藻乙醇提取物的DPPH自由基清除率明显下降,并且随烘焙时间的延长,下降得越多。烘焙1.5h时,DPPH自由基清除率降至42.24%,仅为烘焙前的67.9%。200℃烘焙处理的趋势与150℃相似,烘焙1.5h后,清除率仅为36.78%。可见,当烘焙温度不高于100℃时,热处理对小球藻乙醇提取物清除DPPH自由基能力略有促进;当烘焙温度高于150℃时,小球藻的抗氧化活性(清除DPPH自由基能力)受到较大的负面影响。因此,在对小球藻进行热处理时应严格把控处理温度及时间,尽量控制在100℃以下为宜,蒸煮类食品能较好地保持小球藻原有的抗氧化活性;而对于焙烤类食品,当烘焙温度高于150℃时,应尽量缩短处理时间,避免其抗氧化能力进一步降低。

3 结论

本试验探讨了不同烘焙温度对小球藻的脂肪酸、色素成分及乙醇提取物抗氧化活性的影响。结果表明,小球藻的脂肪酸以多不饱和脂肪酸为主,其含量达到细胞总脂的

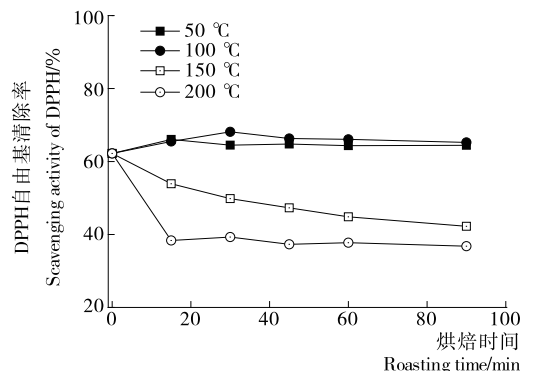


图7 小球藻乙醇提取物清除DPPH自由基的能力

Figure 7 The DPPH scavenging activity of ethanol extracts from *Chlorella*

76.69%;其中,亚油酸(C_{18:2})含量最高,亚麻酸(C_{18:3,n3})次之。当温度不超过 100 °C 时,烘焙处理虽然会对小球藻的色素产生一定影响,但对脂肪酸成分及乙醇提取物抗氧化能力影响不大。当温度达到 150 °C 时,小球藻乙醇提取物的抗氧化活性明显降低;温度进一步提高至 200 °C 时,多不饱和脂肪酸也受到严重破坏。烘焙处理可以有效去除小球藻的藻腥味,有助于提高小球藻在食品市场中的应用。本试验仅研究了小球藻单独烘焙时营养成分的变化,如将其添加到面包、饼干等食品中其营养成分在烘焙过程中的变化可能不同,后续将对此作进一步研究。

参考文献

[1] POSTEN C, CHEN Feng. Microalgae Biotechnology[M]. New York: Springer International Publishing, 2016; 1-35.

[2] CHA K H, LEE H J, KOO S Y, et al. Optimization of pressurized liquid extraction of carotenoids and chlorophylls from *Chlorella vulgaris*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(2): 793-797.

[3] GOJKOVIC Z, GARBAY-NORES I, GOMEZ-JACINTO V, et al. Continuous production of selenomethionine-enriched *Chlorella sorokiniana* biomass in a photobioreactor[J]. Process Biochemistry, 2013, 48(8): 1 235-1 241.

[4] PANASHI Y, DARVISHI B, JOWZI N, et al. *Chlorella vulgaris*: A multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties[J]. Current Pharmaceutical Design, 2016, 22(2): 164-173.

[5] CHEN Yi-xuan, LIU Xiao-yan, XIAO Zheng, et al. Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91: 505-509.

[6] CHAMPENOIS J, MARFAING Hélène, PIERRE R. Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe[J]. Journal of Applied Phycology, 2015, 27(5): 1 845-1 851.

[7] SAFI C, ZEBIB B, MERAH O, et al. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review[J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2014, 35(1): 265-278.

[8] 王宝贝,蔡舒琳,李丽婷,等.小球藻在食品中的应用研究进展[J].食品工业科技,2017,38(17):341-346.

[9] LIN Jau-tien, LIU Shih-chun, HU Chao-chin, et al. Effects of roasting temperature and duration on fatty acid composition, phenolic composition, Maillard reaction degree and antioxidant attribute of almond (*Prunus dulcis*) kernel [J]. Food Chemistry, 2016, 190: 520-528.

[10] PUMILIA G, CICHON M J, COOPERSTONE J L, et al. Changes in chlorophylls, chlorophyll degradation products and lutein in pistachio kernels (*Pistacia vera* L.) during roasting[J]. Food Research International, 2014, 65: 193-198.

[11] TENG S-s, CHEN Bing-huei. Formation of pyrochlorophylls and their derivatives in spinach leaves during heating[J]. Food Chemistry, 1999, 65(3): 367-373.

[12] GWAK Y, HWANG Y S, Wang B, et al. Comparative analyses of lipidomes and transcriptomes reveal a concerted action of multiple defensive systems against photooxidative stress in *Haematococcus pluvialis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2014, 65(15): 4 317-4 334.

[13] LING Xue-ping, GUO Jin, LIU Xiao-ting, et al. Impact of carbon and nitrogen feeding strategy on high production of biomass and docosahexaenoic acid (DHA) by *Schizochytrium* sp. LU310[J]. Bioresource Technology, 2015, 184: 139-147.

[14] LING Xue-ping, GUO Jing, ZHENG Chu-qiang, et al. Simple, effective protein extraction method and proteomics analysis from polyunsaturated fatty acids-producing micro-organisms[J]. Bioprocess & Biosystems Engineering, 2015, 38(12): 2 331-2 341.

[15] WANG Bao-bei, ZHANG Zhen, HU Qiang, et al. Cellular capacities for high-light acclimation and changing lipid profiles across life cycle stages of the green alga *Haematococcus pluvialis*[J]. PLOS One, 2014, 9(9): e106 679.

[16] 张玲. 小球藻(*Chlorella sorokiniana* C74)的培养及活性物质的研究[D].海口:海南大学,2015:13.

[17] 马杰,孙勃,薛生玲,等.豌豆尖主要营养成分、生物活性物质及抗氧化能力分析[J].食品与机械,2016,32(4):47-51.

[18] 曲云卿,张同刚,刘敦华.不同产地枸杞中主要类胡萝卜素的聚类分析[J].食品与机械,2015,31(2):76-79.

[19] VOLDEN J, BENGTTSSON U B, WICKLUND T. Ulucosinoides, L-ascorbic acid, total phenols, anthocyanins, antioxidant capacities and colour in cauliflower (*Brassica oleracea* L. ssp. *botrytis*) effects of long-term freezer storage[J]. Food Chemistry, 2009, 112(4): 967-976.

(上接第 28 页)

[14] 刘思雨,肖菁,索化夷.传统泡菜中抗性乳酸菌的筛选及鉴定[J].食品与机械,2017,33(7):26-30.

[15] OZGUN D, VURAL H C. Identification of Lactobacillus strains isolated from faecal specimens of babies and human milk colostrum by API 50 CHL system[J]. Journal of Medical Genetics & Genomics, 2011, 3(3): 46-49.

[16] 徐杰.青海部分地区自然发酵牦牛奶的化学与微生物组成分析及乳酸菌的分离鉴定[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2006:17-33.

[17] MACORI G, COTTER P D. Novel insights into the microbiology of fermented dairy foods[J]. Curr Opin Biotechnol, 2017, 49: 172-178.

[18] 胡爱华,敖晓琳,陈岑,等.乳酸菌耐酸耐胆盐机制的研究进展[J].食品工业科技,2015,36(8):380-383.

[19] 王玉华,高晶,冯印,等.鼠李糖乳杆菌耐酸及胆盐能力研究[J].食品科学,2008,29(12):449-451.

[20] 周先容,兰凌霞,汤艳燕,等.泡菜中乳酸菌的分离鉴定及体外抗性筛选[J].食品与机械,2017,33(10):7-9.

[21] 崔美岩.青藏高原不同材料来源乳酸菌极端环境耐受性及优良菌株益生性的初步研究[D].郑州:郑州大学,2017:19-32.

[22] COTTER P D, HILL C. Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH[J]. Microbiology & Molecular Biology Reviews Mmbr, 2003, 67(3): 429-435.

[23] 包秋华.甘肃和四川省牦牛奶制品中乳酸菌的多样性研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2012:55-59.