

一株耐酸性酿酒酵母的筛选鉴定及特性

Screening and identification of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* and its characteristics

向丽萍^{1,2}范斌强^{1,2}杨志龙³伍强^{1,2}余有贵^{1,2}XIANG Li-ping^{1,2} FAN Bin-qiang^{1,2} YANG Zhi-long^{1,2} WU Qiang^{1,2} YU You-gui^{1,2}

(1. 邵阳学院食品与化学工程学院, 湖南 邵阳 422000; 2. 生态酿酒技术与应用湖南省

重点实验室, 湖南 邵阳 422000; 3. 湖南湘窖酒业有限公司, 湖南 邵阳 422000)

(1. College of Food and Chemical Engineering, Shaoyang University, Shaoyang, Hunan 422000,

China; 2. Hunan Key Laboratory of Ecological Brewing Technology and Application, Shaoyang,

Hunan 422000, China; 3. Xiangjiao Distillery Co., Ltd., Shaoyang, Hunan 422000, China)

摘要:基于浓香型白酒回糟酸度高、残糖含量高的生产现状,通过平板划线纯化、WL 培养基形态观察及显微镜观察对中高温大曲中酵母菌进行初步鉴定,再通过 TTC 培养基染色筛选、差异酸度培养基筛选适用于回糟发酵耐酸性产酒精能力强的酵母菌,并进行分子生物学鉴定、生物学特性及回糟发酵小试研究。结果表明:中高温大曲中筛选得到的菌株 dq1 在 pH 3.0 时生长活性较强,产酒精能力为 0.87% vol, 鉴定为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 具有耐受 pH 3.0、高温(48 ℃)、酒精度 6% vol 的酿酒特性,发酵小试中回糟还原糖利用率提高了 14.9%,有效提高了糟醅中酒精含量和回糟出酒率,为浓香型白酒回糟发酵提供优势酵母菌。

关键词:耐酸性;筛选;酿酒酵母;生物学特性;回糟发酵

Abstract: Based on the problems of high acidity and high residual sugar content in the process of strong-flavor liquor production, the yeast in medium and high temperature Daqu was preliminarily identified by plate streaking purification, WL medium morphology observation and microscope observation. Then, the yeasts with strong acid resistance and alcohol production ability were screened by TTC medium staining and differential acidity medium, and the molecular biology identification, biological

characteristics and fermentation test of fermented grains were carried out. The results showed that the strain dq1 screened in medium and high temperature Daqu had strong growth activity at pH 3.0, and the alcohol concentration was 0.87% vol. It was identified as *Saccharomyces cerevisiae* and had the characteristics of tolerance to pH 3.0, high temperature (48 ℃) and alcohol concentration of 6% vol. The utilization rate of reducing sugar in the fermented grains was increased by 14.9% in the fermentation test. The alcohol content in the fermented grains was effectively improved, and the yield of fermented grains was increased. It provided dominant yeast for the fermentation of Luzhou-flavor liquor.

Keywords: acid fastness; screening; *Saccharomyces cerevisiae*; biological characteristics; refermentative dregs fermentation

基金项目:湖南省教育厅科学研究重点项目(编号:18A383);邵阳市科技计划重点项目(编号:2018CG18, 2017NS17);湖南省科技厅重点研发计划项目(编号:2016NK2082, 2018NK2036, 2020SK2140);邵阳学院研究生科研创新项目(编号:CX2019SY046);湖南省大学生创新创业训练计划项目(编号:2019[100]-1886, 2020[191]-3387)

作者简介:向丽萍,女,邵阳学院在读硕士研究生。

通信作者:余有贵(1964—),男,邵阳学院教授,博士。

E-mail: yufly225@163.com

收稿日期:2021-04-27

固态发酵中真菌种群主要来源于大曲^[1],大曲中的微生物主要来自原料、器具、空气、水等^[2],其微生物种类、数量以及群落结构对大曲品质有直接影响^[3]。根据群落结构和功能不同,可以将大曲中的微生物分为霉菌、酵母菌、细菌等^[4]。大曲中酵母优势菌群主要为酿酒酵母和东方伊萨酵母^[5],酵母是白酒酿造过程中主要的功能菌^[6];产酯酵母又叫生香酵母,能促进酯类的生成,形成白酒的特征风味物质^[7]。朱文优^[8]通过比较夏秋两季高温大曲中的真菌群落结构,发现在发酵前期 *Pichia*、*Saccharomycopsis* 和 *Wickerhamomyces* 是夏秋两季大曲中的主要真菌;*Pichia* 是秋季大曲整个生产过程中的主要真菌类群,*Thermoascus* 是夏季大曲发酵后期的优势真菌类群。刘建学等^[9]从浓香型白酒酒醅中筛选出两株高产酯的戴尔有孢圆酵母(*Torulaspora delbrueckii*)。伍强等^[10]从野生猕猴桃中筛选鉴定出一株适于猕猴桃果酒发酵的酿酒酵母,制成的果酒产品具有良好的 ACE 抑制活

性。董琪等^[11]从浓香型大曲中分离得到一株可耐受 42 ℃ 高温且具有一定发酵产酒能力的酵母菌,该菌株经鉴定为 *Zygosaccharomyces cidri*。阳秀莲等^[12]从不同杨梅鲜果及果园环境中筛选得出一株发酵性能好耐受性强的酿酒酵母 RY1。刘延波等^[13]从中高温大曲中分离得到一株名为 *Pichia kudriavzevii* 的酵母菌且具有很好的耐高温耐乙醇性能。应静等^[14]用 5 种不同的商业酵母菌发酵甘蔗酒,确定出两株酵母菌更适宜用于甘蔗酒酿造。

浓香型白酒回糟酸度高,导致酵母菌产酒率低,丢糟残余淀粉含量高,影响企业的经济效益及生态效益。目前,对大曲中酵母菌研究大多集中在分离筛选、鉴定^[15-16]等方面,也有对其耐高温、耐乙醇、耐酸等特性进行研究的^[17-18]。将耐高温、耐酸性等耐受性较好的酵母菌应用于浓香型白酒生产中,对解决浓香型白酒中回糟酸度高、残余淀粉含量高的现状具有重要意义。研究拟以中高温大曲为研究对象,通过平板划线纯化、WL 培养基形态观察及显微镜观察对中高温大曲中酵母菌进行初步鉴定,再通过 TTC 培养基染色筛选、差异酸度培养基筛选适用于回糟发酵耐酸性产酒精能力强的酵母菌,并进行分子生物学鉴定、生物学特性及回糟发酵小试研究,为进一步提高浓香型白酒回糟发酵出酒率提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

中高温大曲:4 个月成品曲,湖南省湘窖酒业有限公司;

黄水:湖南省湘窖酒业有限公司;

蛋白胨、葡萄糖、酵母膏、琼脂等培养基配制试剂:分析纯,北京奥博星生物技术有限责任公司;

美兰染液:青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;

香柏油:上海生物制品研究所有限责任公司;

TTC:化学纯,博立生物制品有限公司。

1.2 培养基

分离培养基:采用 YEPD 培养基,115 ℃ 灭菌 20 min;

形态鉴定培养基:采用 WL 培养基,121 ℃ 灭菌 20 min;

高粱汁培养基:500 g 高粱粉与 4 倍体积蒸馏水充分混合,加入质量分数为 5% 液化酶搅拌均匀,80 ℃ 水浴酶解 2 h,再加入质量分数为 5% 的糖化酶搅拌均匀,60 ℃ 水浴酶解 4 h,离心过滤,加水稀释至糖度为 10~12 °Bx;

TTC 培养基:葡萄糖 10 g,蛋白胨 10 g,酵母膏 5 g,琼脂 7.5 g,水 500 mL,121 ℃ 灭菌 20 min,无菌环境加入 0.25 g TTC。

1.3 仪器与设备

高压蒸汽灭菌锅:G154-DWS 型,致微(厦门)仪器有限公司;

便携式 pH 计:LE438 型,梅特勒—托利多仪器(上

海)有限公司;

紫外分光光度计:UV-3802 型,重庆万达仪器有限公司;

电子式液体密度计:BHOM-SJ04 型,石家庄市百亨通用仪器仪表制造有限公司;

电子显微镜:AE2000+MoticamS3 型,麦克奥迪实业集团有限公司;

单人单面垂直净化工作台:SW-CJ-1FD 型,苏州博莱尔净化设备有限公司;

电热恒温水浴锅:H21-6 型,北京市东霞电子仪表厂;

万能粉碎机:FW-400A 型,北京中兴伟业仪器有限公司;

恒温培养箱:SCIENTZ-18N 型,北京科伟永兴仪器有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 中高温大曲中酵母菌的分离纯化与初筛 无菌条件下称取 25.0 g 成品曲样品至装有 225 mL 无菌水的锥形瓶内,充分摇匀,同时制备 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 倍的稀释样品匀液,吸取 0.1 mL 稀释液涂布至 YEPD 富集培养基中,28 ℃ 恒温培养 48 h。挑选符合酵母形态的单菌落菌株进行平板划线 3 次,获得纯种菌株。采用 TTC 培养基筛选,菌株颜色越深其产酒精能力越好,通过观察菌落颜色筛选产酒精能力较强的纯化菌株。将纯化菌株接种于 WL 培养基中,观察菌落形态,通过显微镜观察确定细胞结构,并对其进行初步分类。将纯化的菌株转移到 YEPD 斜面培养基上培养,待菌株菌落生成后,置于 4 ℃ 冰箱保藏。

1.4.2 耐酸性酵母菌的复筛 将纯化菌株接种于 YEPD 液体培养基中,28 ℃ 恒温培养 1 d,调整种子活化液浓度为 1.0×10^7 CFU/mL,采用富含有机酸的黄水调节 YEPD 液体培养基的 pH,设置差异酸度梯度为 pH 2.5,3.0,3.5,4.0,4.5。以体积分数 2% 的接种量将活化液接种至差异酸度 YEPD 培养基中,同时空白对照,28 ℃ 恒温培养 3 d,利用紫外分光光度计测定 560 nm 下菌液的 OD 值,OD 值越大,酵母菌的生长活性越强,酵母菌的耐酸性越强。

将纯化菌株接种于 YEPD 液体培养基中,28 ℃ 恒温培养 1 d,调整种子活化液浓度为 1.0×10^7 CFU/mL,采用富含有机酸的黄水调节高粱汁培养基的 pH,设置差异酸度梯度为 pH 2.5,3.0,3.5,4.0,模拟真实白酒发酵酸性环境。以体积分数 2% 的接种量将活化液接种至差异酸度高粱汁培养基中,28 ℃ 恒温发酵 9 d,蒸馏后检测酒精度,每组进行 3 次重复。选取酸性环境下产酒精能力较高的酵母菌进行进一步研究。

1.4.3 酵母菌分子生物学鉴定 将筛选得到的酵母菌送至北京六合华大基因有限公司进行基因测序,采用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 进行 PCR 扩增,PCR

扩增体系为: Super Mix 15 μL , Primer F(10p) 1 μL , Primer R(10p) 1 μL , 模板($\text{ng}/\mu\text{L}$) 1 μL , ddH_2O 12 μL 。PCR 扩增条件: 96 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min; 96 $^{\circ}\text{C}$ 、20 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 、20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 、10 min, 对 PCR 产物进行琼脂糖凝胶检测, 纯化后测序。并在 NCBI 数据库中进行同源序列比对, 采用 MEGA.7.0 软件构建系统发育树。

1.4.4 耐酸性酵母菌的生物学特性研究

(1) 耐酸性: 配制 pH 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 的高粱汁培养基, 灭菌后待用。无菌条件下, 以体积分数 2% 的接种量将筛得的酵母菌种子液加入盛有 100 mL 差异酸度高粱汁培养基的锥形瓶中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 2~3 d, 测定 $\text{OD}_{560\text{nm}}$ 值, 每组平行 3 次。

(2) 耐高温性: 无菌条件下, 以体积分数 2% 的接种量分别将筛得酵母菌种子液加入含有 100 mL 的高粱汁培养基的锥形瓶中, 分别置于 36, 40, 44, 48, 52 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 2~3 d, 测定 $\text{OD}_{560\text{nm}}$ 值, 每组平行 3 次。

(3) 耐酒精能力: 无菌条件下, 分别配制 100 mL 酒精度为 2% vol, 4% vol, 6% vol, 8% vol, 10% vol 的高粱汁培养基, 再接种体积分数 2% 的筛得酵母菌种子液, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养 2~3 d。测定 $\text{OD}_{560\text{nm}}$ 值, 每组平行 3 次。

(4) 生长曲线: 无菌条件下, 以体积分数 2% 的接种量将筛得酵母菌种子液加入含有 250 mL 的 YEPD 液体培养基的锥形瓶中, 28 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养, 每隔 2 h 用无菌移液枪吸取 1.00 mL 培养液, 稀释 5 倍后, 利用紫外分光光度计检测 $\text{OD}_{560\text{nm}}$ 值, 以不接种的 YEPD 培养基为对照组, 重复 3 次, 绘制并对比分析酵母菌的生长曲线。

1.4.5 耐酸性酵母菌发酵小试研究 扩大培养筛得酵母菌, 调整种子活化液中酵母菌浓度处于 1×10^7 CFU/mL。参照张海英^[19]的方法, 以湘窖浓香型白酒回糟为原料, 以 4.5% 的回糟曲添加量、0.2% 糖化酶添加量、0.5% 酵母菌液添加量进行混合, 同时以不添加酵母菌菌液为空白组, 以商用安琪酵母菌液为对照组, 每组平行 3 次, 分装至玻璃瓶中, 封口后置于浓香型白酒泥窖窖池上层醅中, 模拟真实回糟发酵环境, 冬季发酵 1 个月。按照 DB34/T 2264—2014《固态发酵酒醅分析方法》检测糟醅残余淀粉含量、还原糖含量及酒精度。

1.4.6 数据处理 试验数据采用 Origin 和 Word 软件进行图表绘制, 通过 SPSS 软件对数据进行显著性分析, 利用 MEGA 7.0 软件对酵母菌测序序列进行系统发育树的建立。

2 结果与分析

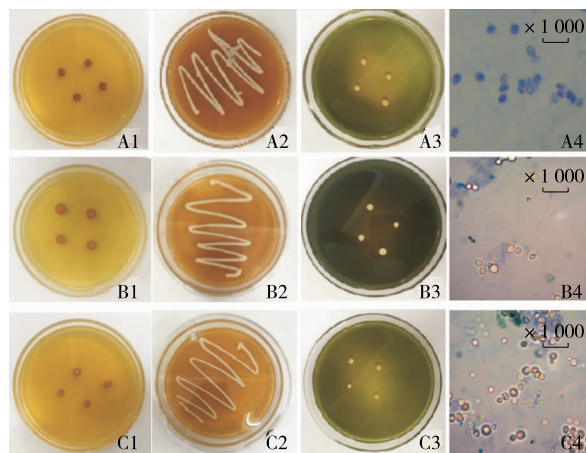
2.1 中高温大曲中酵母菌的分离纯化与初筛

从 YEPD 富集培养基上挑取 25 株菌种作进一步分离纯化, 分别编号为 dq1~dq25, 根据酵母菌的生长情况挑选出 3 株活性较强的酵母菌 dq1、dq4 和 dq9, 其中 3 株酵母菌在 TTC 培养基、YEPD 培养基、WL 培养基的菌落

形态和细胞结构见图 1。菌株 dq1 在 TTC 培养基上显色较深于菌株 dq4 和 dq9, 其发酵能力较优于其他两株菌。3 株菌株菌落皆呈乳白色, 表面光滑湿润, 细胞呈圆形或椭圆形, 符合《真菌手册》中酵母菌的菌落与细胞结构。

2.2 中高温大曲中酵母菌的复筛

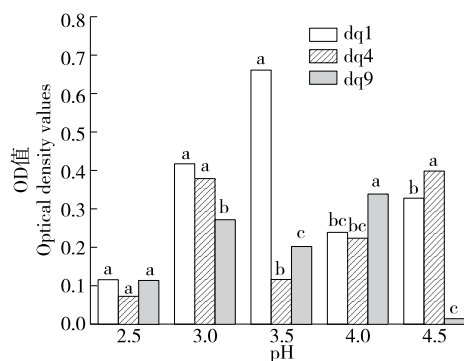
由图 2 可知, 当 $\text{pH} > 2.5$ 时, 不同菌种生长活性存在显著性差异 ($P < 0.05$)。由于不同酵母菌对酸性条件适应能力不同, 酵母菌因生长环境酸度不同其生长活性也不同。当 pH 为 2.5 时, 不同菌株的生长活性不存在显著性差异 ($P > 0.05$); 当 pH 为 3.0 时, 3 株酵母菌的 $\text{OD}_{560\text{nm}}$ 值强于 pH 为 2.5 的, 由于 OD 值越大, 其生长活性越强, 因此当 pH 为 3.0 时, 3 株酵母菌的生长活性强于 pH 为 2.5 的。当 pH 为 3.0 时, 菌株 dq1 和 dq4 的生长活性显著高于菌株 dq9; 当 pH 为 3.5 时, 菌株 dq1 的生长活性显著强于其他两株菌, 说明菌株 dq1 的耐酸性最强, 因



从左至右依次为 TTC 培养基、YEPD 培养基、WL 培养基、细胞形态, 从上至下依次为菌株 dq1、dq4 和 dq9

图 1 酵母菌的初筛与形态鉴定

Figure 1 The Initial screening and morphological identification of yeast



字母不同表示同一 pH 下不同菌株生长活性差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 不同 pH 下酵母菌的生长活性

Figure 2 Growth activity of the yeast under different pH values

此确定以菌株 dq1 和 dq4 进行产酒精能力筛选。

对菌株 dq1 和 dq4 进行差异酸度高粱汁培养基筛选, 其不同 pH 下的高粱汁差异酸度培养基中的产酒精能力见图 3。由图 3 可知, 在 pH 2.5 和 pH 4.0 条件下, 两株菌株的产酒精能力无显著性差异 ($P > 0.05$)。在 pH 3.0 时, 菌株 dq1 的产酒精能力显著大于菌株 dq4 的 ($P < 0.05$); 而 pH 3.5 时, 菌株 dq4 的产酒精能力显著大于菌株 dq1 的 ($P < 0.05$)。

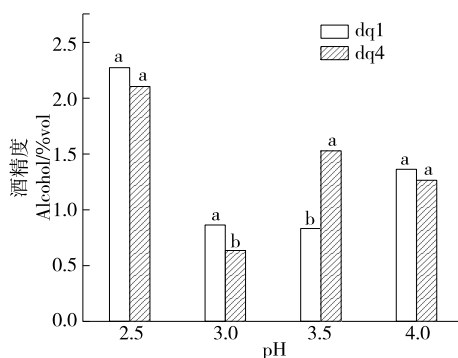
结合差异酸度 YEPD 培养基中酵母菌生长活性筛选和差异酸度高粱汁发酵产酒精能力的筛选, 确定酵母菌 dq1 为耐酸性较强、产酒精能力较优的酵母菌, 因此将酵母菌 dq1 进行分子生物学鉴定。

2.3 耐酸性酵母菌的分子生物学鉴定

根据测序结果, 菌株 dq1 扩增产物的碱基长度约为 750 bp, 将所得序列提交至 NCBI 数据库进行同源性比对并构建系统发育树, 结果见图 4。根据同源性对比发现菌株 dq1 与 *Saccharomyces cerevisiae* (MT322849.1) 序列相似性达 100%; 与酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 聚于一支, 鉴定所筛选的菌株 dq1 为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。酿酒酵母是白酒发酵中至关重要的微生物, 在发酵等行业中具有广阔的应用前景。

2.4 耐酸性酿酒酵母的生物学特性分析

由图 5 可知, 菌株 dq1 在不同 pH、温度、酒精浓度下



字母不同表示同一 pH 下不同菌株产酒精能力差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 不同 pH 下酵母菌的产酒精能力

Figure 3 Alcohol production capacity of fermentation fluid under different pH strains

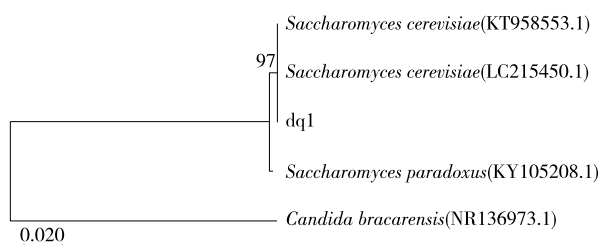
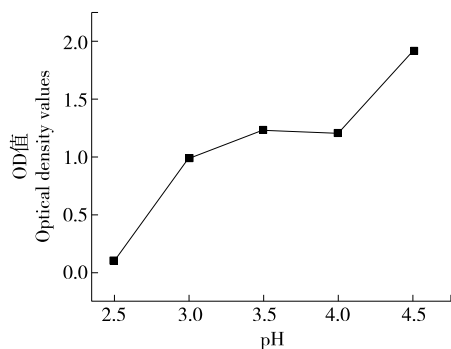
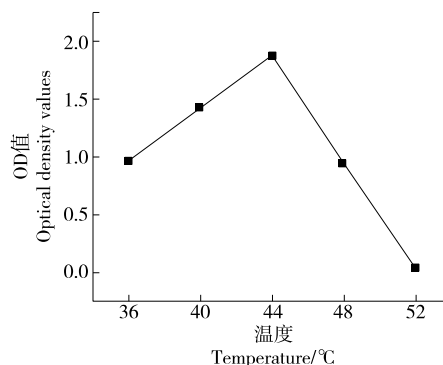


图 4 系统发育树

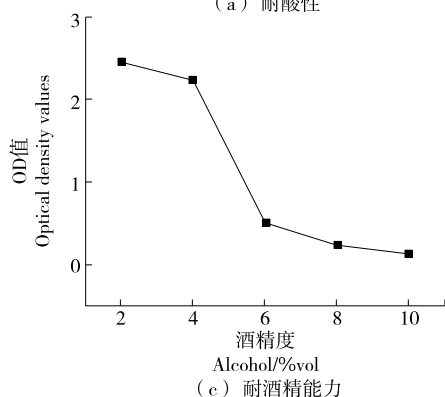
Figure 4 The phylogenetic tree



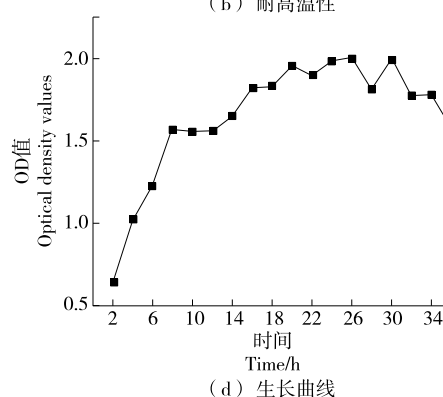
(a) 耐酸性



(b) 耐高温性



(c) 耐酒精能力



(d) 生长曲线

图 5 酿酒酵母 dq1 的生物学特性

Figure 5 Biological characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* dq1

的生长活性存在显著性差异($P<0.05$)。菌株 dq1 在 pH 3.0 时的生长活性显著大于 pH 2.5 时的,故菌株 dq1 能耐受 pH 3.0 的酸性,较葛隐等^[20]研究中的耐酸性酵母菌的耐酸能力(pH 3.5)强,与李彦芹等^[21]从酒醪中分离筛选得到酵母菌耐酸性一致;菌株 dq1 在 48 ℃ 下的生长活性显著大于 52 ℃ 下的,因此菌株 dq1 能耐高温 48 ℃,优于刘延波等^[13]研究中耐高温 45 ℃ 酵母菌;菌株 dq1 在 6% vol 酒精度环境中的生长活性显著大于 8% vol 时的,因此菌株 dq1 能耐酒精度 6% vol,弱于伍强等^[22]从野生猕猴桃中筛选出的酿酒酵母的耐酒精度 12% vol;菌株 dq1 在 2~8 h 时处于对数增长期,适应环境后迅速生长繁殖,14 h 后处于稳定期。

2.5 耐酸性酿酒酵母的发酵小试分析

以浓香型白酒回糟糟醅为发酵原料,对发酵前后糟醅的淀粉及还原糖质量分数进行检测分析,同时对空白组、试验组及对照组的糟醅进行蒸馏测其酒精度,相关结果如表 1 所示。

表 1 优良酵母菌发酵糟醅的理化指标[†]

Table 1 Physical and chemical indexes of fermented grains of excellent yeast

糟醅	淀粉质量 分数/%	还原糖质量 分数/%	酒精度/ %vol
未接种	14.75±0.09 ^a	0.89±0.01 ^a	—
空白组发酵糟醅	9.45±0.39 ^b	0.87±0.01 ^a	0.97±0.06 ^b
酿酒酵母 dq1 试验组	8.45±0.30 ^c	0.74±0.01 ^b	1.27±0.05 ^a
安琪酵母对照组	9.45±0.23 ^b	0.89±0.03 ^a	1.13±0.06 ^b

[†] 小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

由表 1 可知,小试发酵后糟醅中的淀粉及还原糖质量分数显著降低($P<0.05$),主要是依靠回糟曲中霉菌的糖化作用和回糟曲中酵母菌及试验组添加的耐酸性酿酒酵母 dq1 的发酵作用。同时,酿酒酵母 dq1 试验组的糟醅中淀粉和还原糖质量分数显著低于空白组及安琪酵母对照组的($P<0.05$),而酿酒酵母 dq1 试验组的糟醅中酒精含量显著高于空白组及安琪酵母对照组的($P<0.05$),其中淀粉质量分数较空白组降低了 1.0%,残糖质量分数较空白组降低了 1.3%,主要是因为回糟 pH 在 3.0 左右,而酿酒酵母 dq1 能耐酸性为 pH 3.0,且在较低 pH 环境中能一定程度上进行发酵。综上,酵母菌 dq1 在回糟发酵中能够加强残糖利用率,有效提高糟醅中酒精含量,从而提高回糟出酒率。

3 结论

通过对湖南省湘窖酒业有限公司中高温大曲中酵母菌进行分离筛选及分子生物学鉴定,获得一株优良酵母菌 dq1,经鉴定为酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*);特性研究结果表明,酿酒酵母 dq1 可耐受 pH 3.0、48 ℃,其 pH 和高温耐受性具有明显优势;回糟发酵小试研究中,

酿酒酵母 dq1 的添加提高了回糟中 14.9% 的残糖利用率,可作为浓香型白酒回糟发酵的优势酵母菌。研究仅为小试,后续可将优良酵母菌制备强化大曲用于中试试验,进一步探究其对浓香型白酒回糟发酵的影响。

参考文献

- [1] 王雪山. 不同环境清香类型白酒发酵微生物种群结构比较及溯源解析[D]. 无锡: 江南大学, 2018: 61-75.
- [2] 陈蒙恩, 赵聪, 韩素娜, 等. 基于高通量测序的陶融型大曲微生物群落结构分析[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 106-113.
- [3] 黄治国, 刘娜, 卫春会, 等. 高温大曲曲房空气中可培养细菌的分离鉴定及产酶特性研究[J]. 食品与机械, 2021, 37(5): 15-21.
- [4] 吴生文. 大曲微生物在大曲酒生产中的研究开发现状及发展前景[J]. 中国酿造, 2011, 30(5): 8-12.
- [5] 张新红, 张源. 浓香型大曲质量影响因素研究进展[J]. 生物化工, 2020, 6(4): 118-122.
- [6] 田德雨, 闫子茹, 危晶晶, 等. 清香型白酒酿造微生物和风味物质的研究进展[J]. 中国酿造, 2021, 40(4): 20-25.
- [7] 康承霞, 张宿义, 马蓉, 等. 浓香型白酒大曲微生物研究进展[J]. 酿酒科技, 2017(5): 88-92.
- [8] 朱文优, 聂尧, 徐岩. 不同季节大曲生产过程中真菌群落结构的演变[J]. 食品与机械, 2017, 33(10): 16-22.
- [9] 刘建学, 刘金科, 李璇, 等. 白酒酒醅高产酯酵母筛选鉴定及其发酵性能研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(6): 42-49.
- [10] 伍强, 万常, 彭娟娟, 等. 大湘西野生猕猴桃酿酒酵母的分离鉴定及其产物 ACE 抑制活性[J]. 食品与机械, 2018, 34(8): 135-138.
- [11] 董琪, 蒲顺昌, 刘飞翔, 等. 浓香型大曲中功能性酵母菌的筛选、鉴定及发酵特性研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(6): 106-110.
- [12] 阳秀莲, 刘伟, 林树花, 等. 靖州杨梅果酒发酵菌种筛选、鉴定及发酵性能研究[J]. 食品与机械, 2019, 35(3): 41-47, 62.
- [13] 刘延波, 程莉莉, 赵志军, 等. 张弓老酒大曲中耐高温酵母菌的分离鉴定及发酵条件优化[J]. 食品工业科技, 2020, 41(10): 124-130.
- [14] 应静, 游玲, 冯学愚, 等. 甘蔗酒酿造酵母的筛选[J]. 食品与机械, 2019, 35(5): 21-25, 31.
- [15] 关凯乐, 韩培杰, 周森. 低温大曲酵母菌分离和计数培养方法优化[J]. 菌物学报, 2019, 38(7): 1 191-1 201.
- [16] 王彩丽, 曾小涛, 查凡. 白云边大曲中酵母菌的分离、筛选及发酵条件研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(2): 304-307.
- [17] 王珍, 张永利, 孟勤燕, 等. 耐高温高产酒精酵母的筛选及其大曲生产应用研究[J]. 酿酒科技, 2020(1): 107-114.
- [18] 成剑峰, 郭文娟, 胡红娟. 一株耐酸酵母菌的分离及性能测定[J]. 中国酿造, 2013, 32(6): 39-42.
- [19] 张海英, 王涛, 游玲, 等. 5 株酵母菌在浓香型白酒丢糟酒生产中的初步应用[J]. 食品工业, 2017, 38(10): 154-157.
- [20] 李彦芹, 崔海灏, 李春青, 等. 耐酸酵母的分离鉴定及在丢糟发酵中的应用[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2016, 36(5): 517-523.
- [21] 葛隐, 唐胜云, 赵东, 等. 五粮液窖池中耐酸性酿酒酵母菌的分离与筛选[J]. 酿酒, 2010, 37(5): 34-36.
- [22] 伍强, 彭娟娟, 余有贵, 等. 大湘西野生猕猴桃果肉中酵母菌的分离鉴定及其耐受性研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(9): 83-87.