

白酒酿造中酿酒酵母与巴氏醋杆菌相互作用的研究

吴轩德¹, 李洲², 周世水¹

(1. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510006)

(2. 广东金牌生物科技股份有限公司, 广东陆丰 516600)

摘要: 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和巴氏醋杆菌(*Acetobacter pasteurianus*)是白酒酿造过程中重要的发酵微生物, 其对乙酸乙酯的生成有很大影响。本文采用酵母和醋酸菌同步接种和顺序接种方式, 以酵母单独接种发酵作对照, 研究了酿酒酵母与巴氏醋杆菌的相互作用及其对乙酸乙酯生成的影响。结果表明, 采用同步接种方式, 在发酵前期, 醋酸菌对酵母的生长和代谢影响较小, 酵母酒精发酵对醋酸菌的生长有抑制作用, 混菌发酵乙酸乙酯的合成也受到一定抑制; 在发酵后期, 醋酸菌的生长和产酸将加快酵母衰亡, 但有利于乙酸乙酯的合成, 其最高达(595.72±5.01) mg/L, 是酵母单菌发酵的 10.1 倍。采用顺序接种方式, 在酵母发酵 24 h 后接种醋酸菌对酵母酒精发酵影响最大, 其酒精度比对照低 22.98±1.77%, 乙酸乙酯含量都低于同步接种方式。此外, 酵母代谢产生的某些物质会抑制醋酸菌合成乙酸乙酯, 而当发酵体系中存在活酵母时, 该抑制将解除。

关键词: 酿酒酵母; 巴氏醋杆菌; 乙酸乙酯; 相互作用

文章编号: 1673-9078(2017)12-61-67

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.12.010

Interaction of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Acetobacter Pasteurianus* in Liquor Brewing

WU Xuan-de¹, LI Zhou², ZHOU Shi-shui¹

(1.School of Biology and Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

(2.Guangdong Gold Medal Biotechnology Co. Ltd, Lufeng 516600, China)

Abstract: *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter pasteurianus* were important fermentation microorganisms in the production of liquor brewing, which had a significant effect on the generation of ethyl acetate. The interaction of *S.cerevisiae* and *A.pasteurianus* and its effect on the generation of ethyl acetate were investigated in this paper by using synchronized and sequential modes, and taking the *S.cerevisiae* inoculation as a control. The results indicated that *A.pasteurianus* had little impact on the growth and metabolism of *S.cerevisiae* in the early fermentation stage by using synchronized inoculation, and the *S.cerevisiae* alcoholic fermentation inhibited the growth of *A.pasteurianus* and the synthesis of ethyl acetate in the mixed fermentation. In the late fermentation stage, the growth and acid production of *A.pasteurianus* accelerated the decline of *S.cerevisiae* and the synthesis of ethyl acetate. The highest content of ethyl acetate was 595.72±5.01 mg/L, which was 10.1 times than that of *S.cerevisiae* fermentation. The *A. pasteurianus*, inoculated with yeast for 24 h, had the greatest impact on *S.cerevisiae* alcoholic fermentation by using sequential inoculation. The alcohol content was lower 22.98±1.77% than that of the control, and the content of ethyl acetate in sequential inoculation mode was lower than that in synchronous inoculation mode. In addition, some substances produced by *S.cerevisiae* metabolism inhibited the synthesis of ethyl acetate by *A.pasteurianus*, which could be relieved with the presence of living *S.cerevisiae* in fermentation system.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*; *Acetobacter pasteurianus*; ethyl acetate; interaction

中国白酒酿造是一个复杂的多种微生物生物转化的过程, 酿酒微生物主要包括酵母、霉菌和细菌三大类^[1], 酵母和细菌对白酒呈香物质的形成具有重要

收稿日期: 2017-07-09

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目 (2011B090400496)

作者简介: 吴轩德 (1991-), 男, 硕士生, 研究方向: 酿酒工程

通讯作者: 周世水 (1971-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 发酵工程与酿酒

作用^[2,3]。根据酵母的作用来划分, 其包括酿酒酵母 (*S.cerevisiae*) 和非酿酒酵母 (non-*Saccharomyces*) 两大类。醋酸菌 (Acetic acid bacteria) 能将乙醇氧化成乙酸, 主要包括醋杆菌属 (*Acetobacter*)、酸单胞菌属 (*Acidomonas*) 和葡糖杆菌属 (*Gluconobacter*) 等^[4]。

乙酸乙酯是白酒重要的呈香物质之一。乙酸乙酯主要由非酿酒酵母 (汉逊酵母属、假丝酵母属和球拟酵母属等) 合成, 而酿酒酵母主要完成酒精发酵, 其

酯类合成能力较低。国内学者对非酿酒酵母的研究主要是针对单菌种的发酵工艺优化,多菌种混合发酵产酯的研究主要集中在非酿酒酵母与酿酒酵母之间^[2,5,6],酵母与细菌混合发酵产酯的研究很少^[3,8]。

白酒酿造是一个多种微生物共同发酵的过程,研究微生物之间的相互作用对于白酒酿造机制的认识,以及酿造技术发展具有重要作用^[9]。国内外学者研究了乳制品、肉制品和葡萄酒等发酵过程中微生物间的相互作用^[10-12];白酒酿造微生物之间的相互作用研究较少,仅有少部分微生物之间的相互作用机制得以初步解析^[3,13,14]。此外,国外学者研究了醋酸菌对葡萄酒酿造的影响,发现醋酸菌可以产酯化酶,导致乙酸乙酯产量增加^[15],但还未见醋酸菌对白酒酿造的影响研究。因此,本研究通过酿酒酵母与巴氏醋杆菌的混合液态发酵,实现酵母和细菌的组合发酵,初步解析酿酒酵母与巴氏醋杆菌的相互作用,并探究酿酒酵母与巴氏醋杆菌对乙酸乙酯生成的影响,为白酒酿造中醋酸菌的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 菌种

低异戊醇酿酒酵母(*S.cerevisiae*)和巴氏醋杆菌(*A.pasteurianus*)均为本实验室保存。

1.1.2 培养基与试剂

YPD 培养基:葡萄糖 20 g/L,酵母浸膏 10 g/L,蛋白胨 20 g/L。

巴氏醋杆菌种子培养基:酵母浸膏 10 g/L、葡萄糖 10 g/L,待灭菌后温度降至 70 °C 以下时加入 3%

(V/V)无水乙醇。发酵培养基:麦芽汁培养基^[16]。

乙酸乙酯、乙酸丁酯、乙酸和乙醇等均为色谱纯。

1.1.3 主要仪器与设备

YQ-PJ-6B 型自动糖化器:轻工业部西安轻机所光电公司;UV-2700 型可见分光光度计:日本岛津公司;安捷伦 7890A 气相色谱仪:安捷伦科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 液态发酵接种方式

(1) 同步接种:酿酒酵母按 1×10^6 CFU/mL 的接种量接入 12 °P 麦芽汁培养基,再分别接种 0.5×10^5 、 1×10^5 、 2×10^5 、 4×10^5 CFU/mL 的巴氏醋杆菌,然后置于 30 °C 培养箱中恒温静置培养 6 d,每隔 24 h 取样,测定发酵液的总酸和还原糖含量,跟踪发酵过程中酿酒酵母和巴氏醋杆菌数量变化趋势,同时按 50% 体积蒸馏样液。

(2) 顺序接种:制备 6 份 12 °P 麦芽汁,按 1×10^6 CFU/mL 的量接入酿酒酵母,然后在 0、24、48、72、96 h 按 1×10^5 CFU/mL 的量加入巴氏醋杆菌,其中 1 份不接种巴氏醋杆菌作为对照。置于 30 °C 静置发酵 6 d,每隔 24 h 取样,测定发酵液的总酸和还原糖含量,发酵结束后按 50% 体积蒸馏发酵液。

1.2.2 酿酒酵母发酵性能测定

采用 CO₂ 失重法测定酿酒酵母的发酵性能,每隔 24 h 称重一次,一直到发酵结束。

1.2.3 酿酒酵母与巴氏醋杆菌对乙酸乙酯生成影响的实验

酿酒酵母接种于 12 °P 麦芽汁发酵 4 d,用以制备酵母发酵液,然后按表 1 组合进行 3 d 发酵,再按 50% 体积蒸馏后测定乙酸乙酯。

表 1 酿酒酵母与巴氏醋杆菌不同发酵组合的实验

Table 1 Different fermentation combinations of *S.cerevisiae* and *A.pasteurianus*

序号	发酵组合
①	12 °P 麦芽汁+5%乙醇+按 5×10^5 CFU/mL 的量接种巴氏醋杆菌
②	12 °P 麦芽汁+酵母发酵液(过滤除菌体)+按 5×10^5 CFU/mL 的量接种巴氏醋杆菌
③	12 °P 麦芽汁+按 1×10^6 CFU/mL 的量接种酵母+5 g/L 乙酸
④	12 °P 麦芽汁+酵母发酵液(含菌体)+按 5×10^5 CFU/mL 的量接种巴氏醋杆菌
⑤	12 °P 麦芽汁+酵母发酵液巴氏灭菌+按 5×10^5 CFU/mL 的量接种巴氏醋杆菌
⑥	12 °P 麦芽汁+酵母发酵液

1.2.4 分析方法

(1) 酿酒酵母和巴氏醋杆菌计数:酿酒酵母采用麦芽汁琼脂培养基平板计数;巴氏醋杆菌采用酵母浸膏(1%)、无水乙醇 4% (V/V)、MgSO₄·7H₂O (0.02%)、K₂HPO₄ (0.1%)、溴甲酚绿(0.1%)琼脂培养基平板计数。

(2) 还原糖的测定:DNS 法测定发酵液的还原糖^[17]。

(3) 酒精度的测定:酒精计法^[18]。

(4) 总酸测定:酸碱滴定法测定发酵液的总酸^[18]。

(5) 乙酸乙酯、乙酸和高级醇测定:通过内标

法测定蒸馏液中的乙酸乙酯、乙酸和高级醇含量。色谱条件: 色谱柱为 Agilent DB-WAX 122-7032: 250 °C、30 m×0.25 μm×0.25 mm; 起始柱温为 50 °C 保持 2 min, 以 15 °C/min 升至 200 °C 保持 3 min; 载气为高纯氮气 (纯度为 99.999%); 检测器温度为 250 °C, 氢气流速为 30 mL/min, 空气流速为 350 mL/min, 尾吹速度为 30 mL/min, 分流比为 30:1; 进样量为 1 μL。

1.2.5 数据处理

采用 origin 8.5 软件对实验数据进行作图分析, 结果以平均值±标准偏差表示, 显著性差异采用 SPSS 19.0 软件中的 Duncan 新复极差法进行分析($p < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 同步接种方式对发酵的影响

2.1.1 酵母和醋酸菌数量及理化指标的动态变化

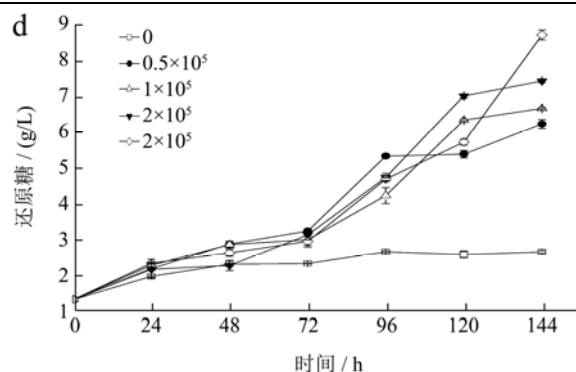
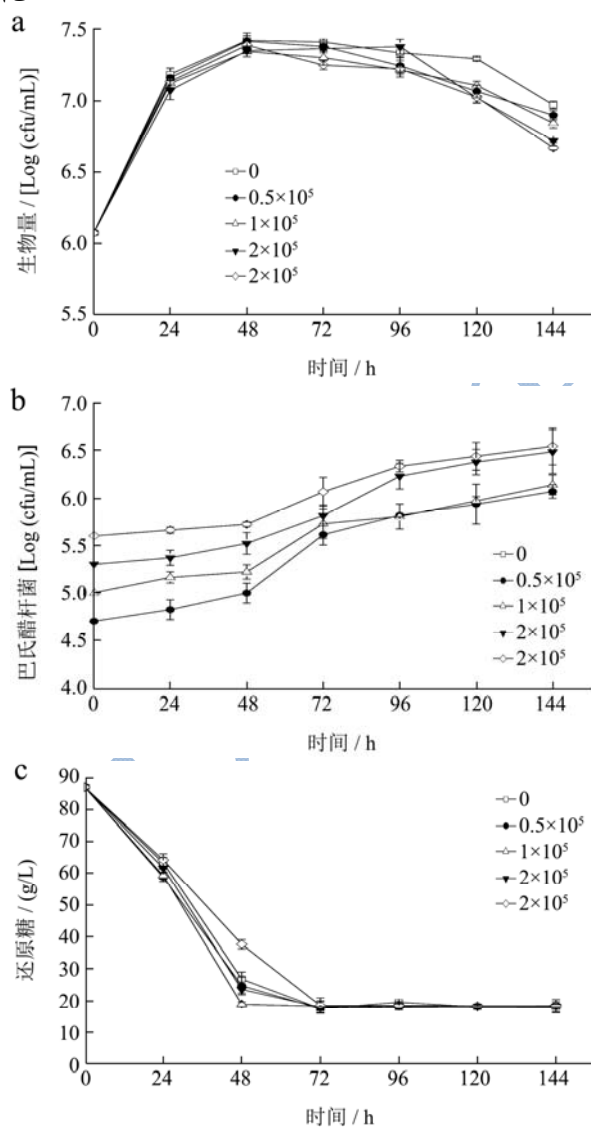


图1 酿酒酵母与巴氏醋杆菌在单菌发酵与混菌发酵中生物量、糖耗和总酸曲线

Fig.1 Biomass, sugar consumption and total acids in single fermentation and mixed fermentation of *S. cerevisiae* and *A. pasteurianus*

发酵过程中酿酒酵母和巴氏醋杆菌的动态变化见图 1a 和图 1b。由图 1a 可知, 不同巴氏醋杆菌接种量下, 酵母的数量都在 48 h 时达到最大, 为 $2 \sim 3 \times 10^7$ CFU/mL, 48 h 后, 酵母数量逐渐减少, 且混菌发酵体系中酵母减少的更快, 这可能是由于醋酸菌产酸增加, 导致发酵液酸度过大, 使酵母加快衰亡^[15]。由图 1b 可知, 发酵前 48 h, 巴氏醋杆菌数量增长缓慢, 这被认为是酵母在发酵过程中产生大量 CO_2 , 使发酵液形成了厌氧的环境, 而缺氧状态下不利于醋酸菌的生长^[19]; 48 h 后, 随着酵母停止增长, 醋酸菌开始快速生长, 从图 1d 也可以看出, 总酸在 48 h 后快速增加。由图 1c 可知, 醋酸菌对酵母酒精发酵的影响较小, 72 h 时, 还原糖含量都降至 18 g/L 左右, 随后, 酵母的数量开始减少, 还原糖含量趋于稳定。

混菌发酵时, 醋酸菌降低了酵母的发酵速度。如图 2 所示, 单菌发酵比混菌发酵速度快, 同时, 单菌发酵能力与混菌发酵相近, CO_2 减少量相差都不超过 2 g/L。

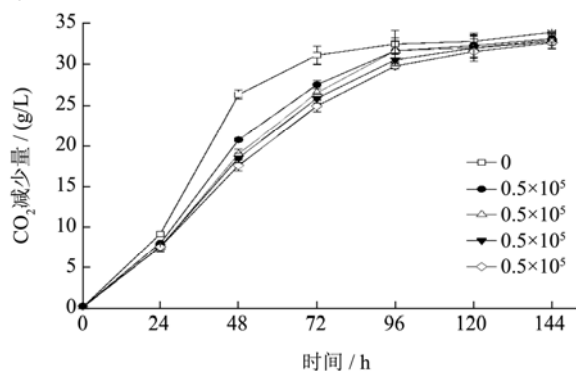


图2 不同醋酸菌接种量酵母发酵曲线

Fig.2 Curves of yeast fermentation with different inoculum of *A. pasteurianus*

2.1.2 发酵产物相关指标分析

无论是单菌发酵还是混菌发酵，酵母都能进行完全的酒精发酵，但在混菌发酵体系中，由于醋酸菌的存在，使乙醇的终产量下降，结果见图3。

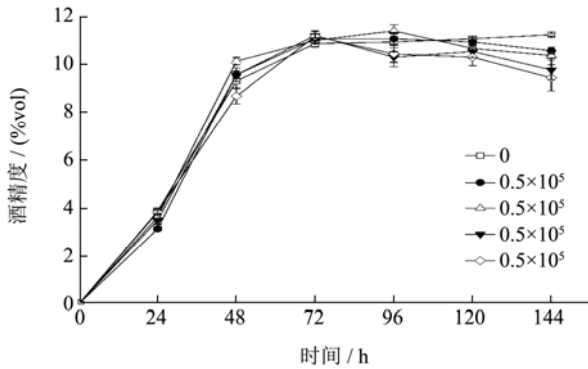


图3 不同醋酸菌接种量酒精度变化

Fig.3 Curves of alcoholicity with different inoculums of *A.pasteurianus*

由图3可知，发酵72h后，各体系酒精度达到最大，都为11%vol左右，此后，混菌发酵体系酒精度开始下降，而单菌发酵体系酒精度趋于稳定；发酵6d后，单菌发酵体系酒精度为(11.2±0.1)%vol，混菌发酵体系酒精度都低于单菌发酵体系，而且其酒精度随着醋酸菌接种量的增加而减少，这是因为醋酸菌将一部分乙醇氧化成乙酸，致使酒精度降低。

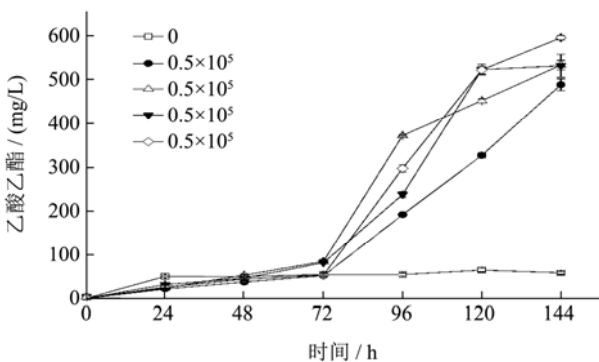


图4 单菌发酵与混菌发酵体系乙酸乙酯含量变化

Fig.4 Change of ethyl acetate in single and mixed cultures

单菌发酵与混菌发酵体系乙酸乙酯含量的变化规

表2 不同醋酸菌接种量高级醇变化结果

Table 2 Change of higher alcohols with different inoculums of *A.pasteurianus*

高级醇/(mg/L)	巴氏醋杆菌接种量/(CFU/mL)				
	0	0.5×10 ⁵	1×10 ⁵	2×10 ⁵	4×10 ⁵
异戊醇	159.23±1.81 ^c	155.25±3.55 ^c	203.69±4.40 ^a	205.00±8.23 ^a	180.22±1.72 ^b
正丙醇	110.93±2.51 ^a	110.53±1.46 ^a	73.96±3.57 ^c	80.91±5.26 ^c	101.25±2.69 ^b
异丁醇	74.96±4.15 ^a	63.53±6.55 ^b	71.15±2.79 ^{ab}	71.42±6.94 ^{ab}	61.70±4.58 ^b
苯乙醇	80.51±1.76 ^{ab}	76.46±2.94 ^b	79.58±0.57 ^{ab}	81.43±0.94 ^{ab}	83.60±3.73 ^a
总和	425.63±4.67 ^{ab}	405.77±6.95 ^b	428.39±6.47 ^{ab}	438.76±18.42 ^a	426.78±4.32 ^{ab}

律见图4。由图4可知，在前72h，混菌发酵体系乙酸乙酯含量增加缓慢，72h后，乙酸乙酯含量迅速增加；而单菌发酵体系乙酸乙酯含量在24h后已达到(50.30±2.18) mg/L，此后，其含量基本维持不变。这与产酯酵母和酿酒酵母混合发酵时乙酸乙酯含量先增后减的规律存在很大不同^[14]。

发酵结束后，比较了单菌发酵与混菌发酵时乙酸乙酯和乙酸含量的差异，结果见图5。

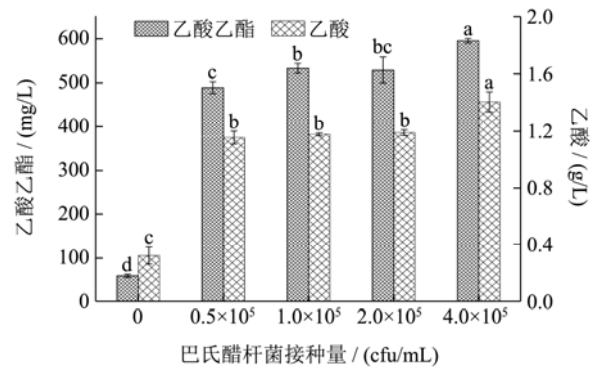


图5 不同醋酸菌接种量乙酸乙酯和乙酸的终产量

Fig.5 Concentration of ethyl acetate and acetic acid with different inoculums of *A.pasteurianus*

注：不同醋酸菌接种量差异显著性以不同字母a、b、c、d和e表示(p<0.05)，具有相同字母表示差异不显著，下同。

由图5可知，混菌发酵时，乙酸乙酯和乙酸的终产量显著高于单菌发酵(p<0.05)，随着醋酸菌接种量的增加，乙酸乙酯和乙酸含量也随之增加，接种量为4×10⁵ CFU/mL时，乙酸乙酯含量最高，为(595.72±5.01) mg/L，是单菌发酵的10.1倍。从表2可以看出，随着醋酸菌接种量的增加，异戊醇含量先减后增而后又减，而正丙醇含量先减后增；苯乙醇含量基本没有差异，其含量都在80 mg/L左右，异丁醇含量差异也不明显。除接种量为0.5×10⁵ CFU/mL外，其它接种量的高级醇总量差异不显著(p<0.05)。

2.2 顺序接种方式对发酵的影响

2.2.1 发酵过程理化指标的动态变化

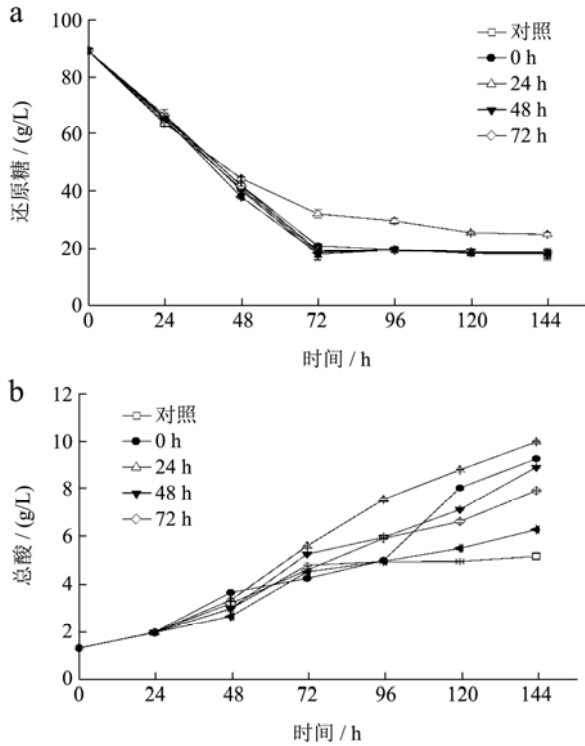


图6 顺序接种方式总酸和糖耗曲线

Fig.6 Curves of sugar consumption and total acids by sequential inoculation

根据巴氏醋杆菌的生长特点，其能将乙醇氧化成乙酸，所以先让酵母进行酒精发酵，然后选择不同时间点接种巴氏醋杆菌，发酵液总酸和还原糖含量变化见图6。由图6可知，在酵母发酵24h后接种醋酸菌时，总酸最高，发酵结束时达到(9.96±0.04)g/L，但还原糖含量只能降到24g/L左右，这说明在酵母发酵24h后接种醋酸菌对酵母酒精发酵影响最大，其造成酒精发酵不完全。而在其它时间点接种醋酸菌时，总酸虽存在一定差异，但还原糖含量都降到了18g/L左右。

2.2.2 发酵主成分的变化结果

发酵6d后，各接种时间点的酒精度见图7。由图7可知，在酵母发酵24h后接种醋酸菌时，其酒精度比对照低22.98±1.77%，从图6b糖耗曲线也可看出，在24h接种醋酸菌对酵母酒精发酵的影响最大。

表3 顺序接种方式高级醇变化结果

Table 3 Change of higher alcohols by sequential inoculation

高级醇/(mg/L)	巴氏醋杆菌接种时间					
	对照	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
异戊醇	155.99±3.67 ^a	151.87±2.18 ^{ab}	120.33±5.76 ^a	140.46±0.64 ^c	144.38±3.63 ^{ac}	155.89±4.85 ^a
正丙醇	41.16±0.93 ^b	48.74±2.46 ^b	32.36±4.90 ^c	44.77±1.83 ^b	46.57±3.30 ^b	58.25±3.11 ^a
异丁醇	76.20±2.70 ^a	74.14±3.23 ^{ab}	54.28±4.06 ^d	64.31±3.47 ^c	66.53±2.41 ^{bc}	72.84±3.74 ^{abc}
苯乙醇	77.18±1.49 ^{bc}	81.20±0.98 ^b	75.65±1.59 ^c	79.10±1.38 ^{bc}	80.79±0.50 ^b	86.88±2.55 ^a
总和	350.97±8.03 ^{ab}	355.95±5.34 ^{ab}	282.62±15.60 ^c	328.64±5.46 ^b	338.27±9.01 ^b	373.86±13.46 ^a

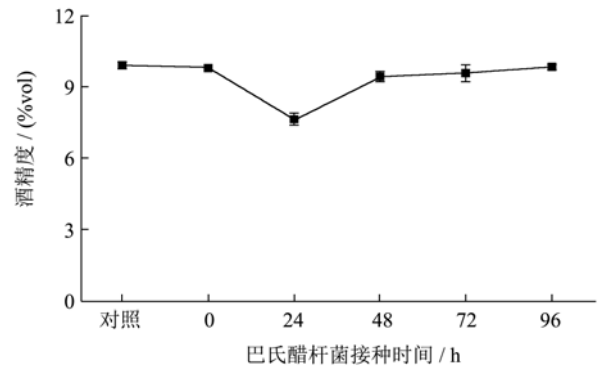


图7 顺序接种方式酒精度

Fig.7 Curves of alcoholicity by sequential inoculation

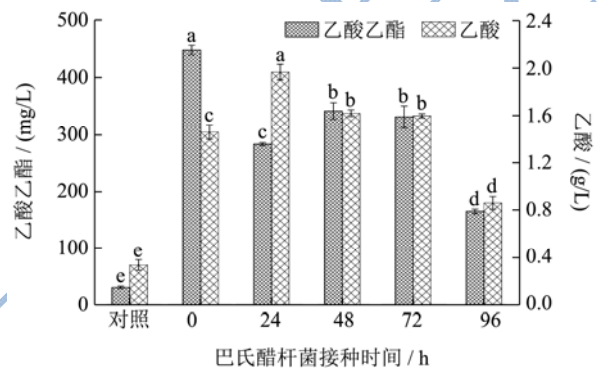


图8 顺序接种方式乙酸乙酯和乙酸的终产量

Fig.8 Concentration of ethyl acetate and acetic acid by sequential inoculation

发酵结束后，不同接种时间点下乙酸乙酯和乙酸含量的差异见图8。由图8可知，混菌发酵体系乙酸乙酯和乙酸含量都显著高于对照组($p < 0.05$)。在0h(同步接种)接种醋酸菌时，乙酸乙酯含量最高，而在0h以后接种时，乙酸乙酯含量先增后减，但都低于同步接种方式。在24h接种时，乙酸含量最高，但乙酸乙酯含量却比48h和72h的低，这可能是醋酸菌主要在氧化乙醇，或者是受酵母的影响较大，醋酸菌产生的酯化酶较少。由表3可知，正丙醇和苯乙醇含量差异不明显，异戊醇和异丁醇含量随接种时间的延长而先减后增。在24h接种时，由于酵母酒精发酵受醋酸菌的影响较大，导致其高级醇总量低于其它接种时间点。

2.3 酵母与醋酸菌对乙酸乙酯生成的影响

根据国外学者的研究,发现醋酸菌可以合成乙酸乙酯^[15]。为了探究混菌发酵体系中酵母与醋酸菌对乙酸乙酯生成的影响,按 1.2.2 法进行实验,结果见表 4。

表 4 酿酒酵母与巴氏醋杆菌对乙酸乙酯生成的影响结果

Table 4 Effects of *S.cerevisiae* and *A.pasteurianus* on the generation of ethyl acetate

序号	乙酸乙酯/(mg/L)
①	1304.65±65.66 ^a
②	28.61±2.02 ^c
③	16.46±2.07 ^c
④	976.27±64.94 ^b
⑤	27.36±2.10 ^c
⑥	18.38±1.44 ^c

由表 4 可知,与酵母单菌发酵相比,醋酸菌在含乙醇的麦芽汁培养基和含活酵母的酵母发酵液中可以高产乙酸乙酯,在不含酵母的酵母发酵液和经巴氏灭菌的酵母发酵液中几乎不产乙酸乙酯,酵母在含乙醇的麦芽汁培养基中生成的乙酸乙酯也很少,以上结果说明酵母代谢产生的某些物质会抑制醋酸菌生成乙酸乙酯,而当发酵体系中存在活酵母时,该抑制将解除。结合 2.1 的实验结果可知,酵母与醋酸菌混合发酵时,在发酵前期,由于醋酸菌的生长受到一定抑制,导致酵母和醋酸菌合成乙酸乙酯的能力受到一定抑制,乙酸乙酯生成量较少,在发酵中后期,醋酸菌生长良好,乙酸乙酯的生成量迅速增加。

3 结论

3.1 本实验以麦芽汁为培养基,采用酿酒酵母与巴氏醋杆菌的混合发酵,分析其对乙酸乙酯和发酵效率的影响。采用同步接种方式,酿酒酵母生长旺盛时,其形成的厌氧环境对巴氏醋杆菌的生长有一定的抑制作用,乙酸乙酯的合成也受到一定抑制,当酵母酒精发酵减弱时,巴氏醋杆菌将快速增长,乙酸乙酯和乙酸也将加速生成,乙酸乙酯最高可达(595.72±5.01) mg/L,是单菌发酵的 10.1 倍。采用顺序接种方式,在酵母发酵 24 h 后接种醋酸菌对酵母酒精发酵的影响最大,其酒精度比对照低 22.98±1.77%,产酸量最高,但乙酸乙酯的产量却降低了。无论是同步接种还是顺序接种醋酸菌,乙酸乙酯和乙酸含量都显著增加,但顺序接种方式乙酸乙酯含量低于同步接种方式,这为提高白酒中乙酸乙酯和乙酸含量提供了理论依据。单菌发酵与混菌发酵结束时,其高级醇含量总体差异不大。

3.2 在探究酿酒酵母与巴氏醋杆菌对乙酸乙酯生成的影响过程中,发现乙酸乙酯主要由醋酸菌合成,但酵母代谢产生的某些物质会抑制醋酸菌生成乙酸乙酯,而当发酵体系中存在活酵母时,该抑制将解除,该抑制物的成分及抑制机制还有待研究。

参考文献

- [1] Zheng X W, Tabrizi M R, Nout M J, et al. Daqu-a traditional Chinese liquor fermentation starter [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2011, 117(1): 82-90
- [2] 蒲春,胡沂淮,贾亚伟,等.产酯酵母的筛选及其发酵特性研究[J].酿酒科技,2013,3:47-49
PU Chun, HU Yi-huai, JIA Ya-wei, et al. Screening of ester-producing yeast strains and study on its fermenting properties [J]. Liquor-making Science & Technology, 2013, 3: 47-49
- [3] Meng X, Wu Q, Wang L, et al. Improving flavor metabolism of *Saccharomyces cerevisiae* by mixed culture with *Bacillus licheniformis* for Chinese Maotai-flavor liquor making [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2015, 42(12): 1601-1608
- [4] Ruiz A, Poblet M, Mas A, et al. Identification of acetic acid bacteria by RFLP of PCR-amplified 16S rDNA and 16S-23S rDNA intergenic spacer [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50(6): 1981-1987
- [5] 胡铁功,张煜行.香活性干酵母在老白干香型白酒中的应用[J].酿酒科技,2011,2011(2):67-68
HU Tie-gong, ZHANG Yu-hang. Application of aroma-producing active dry yeast in the production of Laobaigan liquor [J]. Liquor-making Science & Technology, 2011, 2011(2): 67-68
- [6] 钟姝霞,万世旅,边名鸿,等.一株高产乙酸乙酯酵母的鉴定及产酯条件的研究[J].中国酿造,2017,36(2):75-79
ZHONG Shu-xia, WAN Shi-lv, BIAN Ming-hong, et al. Identification and ester-producing conditions of a high ethyl acetate-producing yeast [J]. China Brewing, 2017, 36(2): 75-79
- [7] 胡建华,王旭亮,盛力,等.一株高产乙酸乙酯酵母的筛选及其在牛栏山白酒酿造中的应用[J].酿酒科技,2013,1:69-70
HU Jian-hua, WANG Xu-liang, SHENG Li, et al. Screening of a yeast strain with high-yield of ethyl acetate and its application in the production of Niulanshan liquor [J]. Liquor-making Science & Technology, 2013, 1: 69-70
- [8] 刘彩霞,郭学武,李玲玲,等.高产酯酿酒酵母与乳酸菌共发

- 醇过程中相互作用的研究[J].现代食品科技,2017,33(7):1-6
- LIU Cai-xia, GUO Xue-wu, LI Ling-ling, et al. Interaction of *Saccharomyces cerevisiae* with higher esters and Lactic acid bacteria in co-fermentation [J]. Modern Food Science & Technology, 2017, 33(7): 1-6
- [9] 邱并生.混菌发酵对白酒液态发酵效率和风味物质的影响[J].微生物学通报,2014,41(7):1477-1478
- QIU Bing-sheng. Effect of mixed culture on fermentation efficiency and flavor compounds in Chinese liquor [J]. Microbiology China, 2014, 41(7): 1477-1478
- [10] Comitini F, Gobbi M, Domizio P, et al. Selected non-*Saccharomyces* wine yeasts in controlled multistarter fermentations with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Food Microbiology, 2011, 28(5): 873-882
- [11] Horiuchi H, Sasaki Y. Short communication: Effect of oxygen on symbiosis between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* [J]. Journal of Dairy Science, 2012, 95(6): 2904-2909
- [12] 蒋云升,于海,汪志君,等.多菌发酵对如式香肠营养与风味的影响[J].食品科学,2009,30(23):301-305
- JIANG Yun-sheng, YU Hai, WANG Zhi-jun, et al. Effects of multi-strain microbial fermentation on nutrition and flavor of rugao fermented sausage [J]. Food Science, 2009, 30(23): 301-305
- [13] Zhou J M, Ge X Y, Zhang W G. Improvement of polygalacturonase production at high temperature by mixed culture of *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(21): 10085-10088
- [14] 唐洁,王海燕,徐岩.酿酒酵母和异常毕赤酵母混菌发酵对白酒液态发酵效率和风味物质的影响[J].微生物学通报,2012,39(7):921-930
- TANG Jie, WANG Hai-yan, XU Yan. Effect of mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia anomala* on fermentation efficiency and flavor compounds in Chinese liquor [J]. Microbiology, 2012, 39(7): 921-930
- [15] Du Toit W J, Pretorius I S. The occurrence, control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking [J]. Annals of Microbiology, 2002, 52(2): 155-179
- [16] 孙婷婷,李洲,周世水.一种新型麦芽酒的快速发酵工艺研究[J].安徽农业科学,2017,45(2):108-110
- SUN Ting-ting, LI Zhou, ZHOU Shi-shui. Research on a rapid fermentation process of a new-type malt wine [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(2): 108-110
- [17] 赵凯,许鹏举,谷广焯.3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J].食品科学,2008,29(8):534-536
- ZHAO Kai, XUE Peng-ju, GU Guang-ye. Study on determination of reducing sugar content using 3,5-dinitrosalicylic acid method [J]. Food Science, 2008, 29(8): 534-536
- [18] 沈怡方.白酒生产技术全书[M].北京:中国轻工业出版社,2016
- SHEN Yi-fang. Liquor production technology encyclopedia [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2016
- [19] Drysdale G S, Fleet G H. Acetic acid bacteria in winemaking: a review [J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1988, 39(2): 143-154