

# 去除豆腥味的酵母菌筛选

唐巧<sup>1</sup>, 胡茂丰<sup>2</sup>, 刘素纯<sup>1,3</sup>

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128) (2. 湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南长沙 410128)

(3. 食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 为降低大豆粉生产加工过程中产生的豆腥味, 探索安全有效去除豆腥的新方法, 本试验对老面、葡萄表皮、酒曲等材料中分离的酵母菌进行研究, 筛选得到了一株能有效去除大豆粉豆腥味的酵母菌 Y03。经感官评价分析及顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法 (SPME-GC-MS) 分析发现该菌株能在发酵大豆粉 2 h 后将豆腥味降到了人基本感知不到的程度成分且该菌株发酵大豆粉后能完全去除挥发性豆腥味成分中的主要致腥成分“己醛”及其他多种致腥如(E)-2-己烯醛、二甲胺、3-己醇、己酮等, 同时生成苯乙醇、松茸醇、辛酸乙酯、月桂酸乙酯等多种芳香醇、芳香酯类香气物质, 在去腥的同时改善大豆粉的风味。采用 26S rDNA D1/D2 区序列分析进行分子生物学鉴定并构建系统发育树可确定 Y03 为酿酒酵母。

**关键词:** 酿酒酵母; 大豆豆腥味; 筛选; 鉴定

文章编号: 1673-9078(2014)6-116-120

## Screening of Beany-flavor Removal Yeast from Fermented Soybean Meal

TANG Qiao<sup>1</sup>, HU Mao-feng<sup>2</sup>, LIU Su-chun<sup>1,3</sup>

(1. College of Food Science and Technology Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(2. College of Bioscience and Biotechnology Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

(3. Key Laboratories of Food Science and Biotechnology of Hunan Province, Changsha 410128, China)

**Abstract:** A new method for removing beany-flavor effectively and safely during the process of soybean powder was developed in this research. A yeast Y03 was screened from the fermented dough, grape skin and wine yeast, which can remove beany-flavor effectively. By SPME-GC-MS analysis and sensory evaluation, the result showed that hexanal, the main components of volatile beany-flavor, and a variety of ingredients causing beany-flavor such as (E)-2-hexenal, dimethylamine, 3-hexanol, cyclohexanone were removed completely after 2 h fermentation by Y03, meanwhile a multiple aromatic alcohols, aromatic esters, such as phenylethanol, matsutake alcohol, ethyl octanoate, and ethyl laurate were generated. This strain was identified as *Saccharomyces cerevisiae* by 26S rDNA sequence analysis.

**Key words:** *Saccharomyces cerevisiae*; beany-flavor; screen; identification

大豆是高营养的植物性食品, 大约含有 40% 蛋白质、18% 脂肪、17% 碳水化合物及丰富的维生素<sup>[1]</sup>。大豆蛋白中含有多种氨基酸, 尤其是人体必需氨基酸, 组成完全, 比例平衡合理, 且谷类所缺乏的赖氨酸含量也较多, 可协调中国人偏好谷类的膳食习惯所造成的缺陷。大豆脂肪中 85% 为不饱和脂肪酸, 以亚麻酸含量最为丰富, 不含胆固醇, 且富含磷、铁、钙、B 族维生素及生理活性物质, 因此被誉为人体健康食品, 其具有防治冠心病、高血压、粥样动脉硬化、抗衰老、

收稿日期: 2013-12-23

基金项目: 湖南省科技计划项目 (2012NK3072)

作者简介: 唐巧 (1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为营养与食品卫生学

通讯作者: 刘素纯 (1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向为营养与食品卫生学

治疗妇女跟年期综合症、防止骨质疏松、美容等保健作用<sup>[1-2]</sup>。大豆是植物蛋白的主要且廉价的来源, 被广泛用于食品工业如豆粉、豆奶、豆浆等蛋白制品, 豆酱、腐乳、豆豉等豆制品, 蛋白粉等添加剂, 然而大豆食品中往往有不同程度的许多人难以接受的豆腥味, 严重地影响了它在食品工业中的发展和推广。

大豆食品豆腥味的产生主要是由于在大豆粉碎时大豆中的脂肪氧化酶被氧气和水激活, 其中的亚油酸、亚麻酸等多价不饱和脂肪酸被氧化, 生成氢过氧化物, 再降解成多种具有不同程度异味的小分子醇、醛、酮、酸和胺等挥发性化合物, 从而形成了大豆腥味, 豆腥味一旦形成, 很难去除<sup>[3-6]</sup>。目前去除豆腥味的方法主要有通过酸碱处理、添加还原剂、氧化剂等物理化学方法, 或通过基因工程技术培育脂肪氧化酶

缺失的大豆新品种,但这些处理往往会引起人们对食品安全性的担忧;而采用微生物法处理大豆食品如一些发酵食品腐乳、豆酱等不仅无豆腥味,还提高了营养价值,具有较强的保健作用。因此筛选出能去除大豆腥味的菌种,对大豆食品的发展和广泛食用有积极的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、培养基

豆粉(非转基因大豆磨粉,过80目筛)、老面、葡萄、酒曲、PDA培养基、YPD培养基。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 酵母菌分离纯化

将老面、葡萄表皮、酒曲等材料采用稀释平板法,在PDA平板培养基中静置培养,待长出菌落后,将具有酵母菌菌落特征的单菌落挑选出,显微镜观察个体形态。将纯种酵母菌接种到YPD斜面培养基上4℃低温保藏。

#### 1.2.2 去除豆腥味酵母菌的初步筛选

用YPD培养基对分离纯化的酵母进行扩大培养,各取1 mL含菌数为 $10^6$ 个/mL菌液分别接种于大豆粉5 g加无菌水10 mL(混匀)的三角瓶中,并作空白对照组,放置于28℃恒温培养箱。将腥程度划分为6个等级标准,分别为:0-无;1-轻微;2-弱;3-温和;4-略强;5-强烈;6-非常强烈。从接种混合开始至4个小时,每间隔0.5h根据腥程度等级标准请5个评议员分别对N个样品作出感官评价。评价结果按每个时间点5个评议员对N个样品腥程度的不同评分进行分组统计,8个时间点即得到8组数据。将数据输入SPSS 18.0的页面,在主菜单中选择“分析”,展开下拉菜单,点击“比较均值”中的“单因素ANOVA”命令,在命令对话框中选择方差齐次性检验和“两两比较”中的“S-N-K”多重比较方法,点击“确定”查看分析结果<sup>[7]</sup>。同时取每个时间点的腥程度等级平均值运用EXCEL作图,结合多重比较的分析结果选取去腥味快、去腥力度大的酵母菌。

#### 1.2.3 酵母菌发酵豆粉前后挥发性的成分

固相微萃取法(SPME)萃取样品中挥发性物质后,采用GCMS-QP2010气相色谱-质谱联用仪分析样品中挥发性各组成成分。

##### 1.2.3.1 SPME法提取样品挥发性物质

大豆粉5 g与无菌水10 mL置三角瓶混匀加菌液1 mL(含菌数 $10^6$ 个/mL)28℃培养2 h后,取5 mL

发酵液置于15 mL的顶空样品瓶中密封,同时做空白对照。于50℃恒温磁力搅拌器水浴加热,插入已老化好的100 μm PDMS萃取头,吸附40 min,再通过气相色谱仪进行解析,解析时间5 min<sup>[8]</sup>。

##### 1.2.3.2 仪器分析条件

气相色谱条件:柱型:DB-5ms毛细管柱(30.0 m×0.25 mm, 0.25 μm);柱温:升温程序为初始温度50℃保持1 min,然后以10℃/min升至150℃,保持3 min,接着以8℃/min升至290℃,保持2 min;进样口温度250℃,不分流进样,载气为高纯He,流速为1.0 mL/min;

质谱条件:电离方式EI,电离电压70 eV,离子源温度200℃,灯丝电流150 μA,扫描质量范围(m/z)45~500,扫描方式为scan;

挥发性物质各组分的相对含量计算:将样品的总离子色谱图经质谱扫描所得的质谱图经仪器自配的NIST05和NIST05s谱库进行检索,选择匹配度大于80%的成分结构信息并结合相关文献资料确定各色谱峰对应的化学成分,采用面积归一化法计算样品中各组分的相对含量<sup>[8~10]</sup>。

#### 1.2.4 26S rDNA序列分析鉴定菌种

采用26S rDNA D1/D2区序列分析法鉴定酵母菌,DNA提取按照生工SK1375真菌基因组DNA抽提试剂盒说明书操作。

26S rDNA D1/D2区引物由华大基因公司合成:

正向引物 NL-1: 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3';反向引物 NL-4: 5'-GGTCCGTGTTTC AAGACGG-3'。

PCR反应体系(20 μL): ddH<sub>2</sub>O, 14.5 μL; 10×Taq reaction buffer (Mg<sup>+</sup>), 2 μL; dNTP mix (10 Mm each), 1 μL; Primer NL-1 (10 μM), 1 μL; Primer NL-4 (10 μM), 1 μL; Template, 0.2 μL; Taq (5 U/μL), 0.3 μL; 离心混匀。

反应条件:预变性94℃ for 7 min;循环94℃ for 35 s, 58℃ for 30 s, 72℃ for 1 min, 35个循环;延伸72℃ for 5 min。

PCR产物经过纯化后送上海铂尚生物技术有限公司进行测序,将测序结果用Blast软件与GenBank核酸序列数据库中已知酵母菌相应序列进行同源性分析比对,采用MEGA 5.0软件建立系统发育树<sup>[11~12]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 去豆腥味酵母菌的筛选

2.1.1 酵母菌分离纯化及初步筛选

从老面、葡萄表皮、酒曲材料中通过稀释平板法得到 17 株酵母菌发酵豆粉,其中有 6 株菌能不同程度地去除豆腥味,其编号为 Y01、Y02、Y03、Y04、Y05、Y06。将 6 株酵母菌感官评价结果按时间点统计后得到 8 组数据运行 SPSS18.0 进行单因素方差分析, P 值均小于 0.05, 说明每个时间点的组内 6 个样品总体均值之间存在显著性差异, 但若明确各个均值间差异的显著性则需用多重比较来实现。

表 1 为 S-N-K 方法的多重比较齐次性均衡子集, 属同一齐次性均衡子集的样品不存在显著性差异。由表 1 可知, 在 5% 的显著性水平下, 0.5 h 时, Y03 腥程度较低, Y01、Y02、Y04、Y05、Y06 腥程度较高且腥程度接近; 1 h 时, Y03、Y04 腥程度较低, Y06 腥程度中等,

Y01、Y02、Y05 腥程度相对较高且接近; 1.5 h 时, Y03 腥程度较低, Y01、Y02、Y04、Y05、Y06 腥程度较高且腥程度接近; 2 h 时, Y03 腥程度较低, Y01、Y04 腥程度中等, Y02、Y05、Y06 腥程度相对较高; 2.5 h 时, Y01、Y03、Y04 腥程度较低, Y02、Y05、Y06 腥程度相对较高; 3 h 时, Y01、Y03、Y04 腥程度较低, Y05、Y06 腥程度中等, Y02 腥程度最高; 3.5 h 时, Y01、Y03、Y04 腥程度较低, Y06 腥程度中等, Y02、Y05 腥程度最高; 4 h 时结果与 3.5 h 基本一致, 说明腥程度已基本稳定。综上所述, Y01 样品在整个时间段中, 腥程度一直处于相对较低的水平, 从 2.5 h 开始 Y01、Y03、Y04 三个样品也一直稳定在第 1 子集即相对最低的水平, 而 Y02、Y05、Y06 则处于中等或较高水平, 从未落入过第 1 子集。

表 1 多重比较齐次性均衡子集 (S-N-K)

Table 1 Multiple comparisons homogeneous subset equilibrium

样品	Subset for alpha=0.05																								
	0.5 h			1 h			1.5 h			2 h			2.5 h			3 h			3.5 h			4 h			
	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	子集 1	子集 2	子集 3	
Y01	5	5.20		4.80	4.80		3.00			1.40			1.00	1.00					0.20					0.20	
Y02	5	5.80		5.20			4.00			4.00			3.20			3.40			3.00					3.00	
Y03	5	4.00	2.80			2.20	2.20	0.20		0.20			0.20	0.20		0.00			0.00					0.00	
Y04	5	5.00	3.20			2.00			1.40			1.00			0.60				0.80					0.60	
Y05	5	5.80		5.40			4.40			4.00			3.20			3.20	3.20		3.20					3.20	
Y06	5	5.60	4.40				4.40			3.20			2.80			2.40			2.00					1.8	
Sig.	1.00	0.19	0.20	0.20	0.14	0.61	0.05	0.57	1.00	1.00	0.09	0.07	0.49	0.12	0.05	0.61	0.05	1.00	0.54	0.14	1.00	0.51			

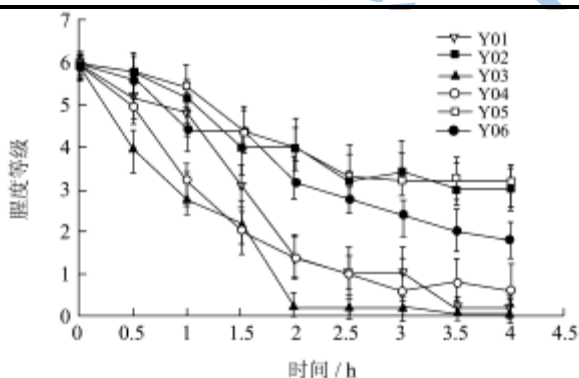


图 1 6 株酵母菌去腥能力感观评价图

Fig.1 Sensory evaluation of six yeast fermented soybean meal

根据腥程度等级平均值运用 EXCEL 作图见图 1。由图可知, Y02、Y05 和 Y06 曲线相对平缓, 腥程度降低相对较慢, 而 Y01 和 Y03 分别在发酵豆粉 3.5 h 和 2 h 后将豆腥味降到了人基本感知不到的程度, Y04 在 2 h 时将豆腥味降到了轻微水平, 结合 SPSS 方差分析结果可初步确定 Y01、Y03、Y04 3 株为较快地去豆腥味能力较强的酵母菌。

2.1.2 酵母菌处理豆粉前后挥发性成分分析

表 2 为 Y01、Y03、Y04 发酵豆粉后的 3 个样品及对照组通过固相微萃取萃取并经 GC-MS 分析后得到的总离子流色谱图所分析出来的各组分的鉴定结果。

从表 2 可看出, 4 个样品中共分离出 25 种气味成分, 编号 1~15 为致腥类物质, 17~25 为芳香类物质。

豆粉中鉴定出 11 种挥发性成分, 包括醇类化合物 3 种, 醛类化合物 4 种, 酮类化合物 1 种, 酸类化合物 2 种, 胺类化合物 1 种。检出量最高的物质为正己醛, 占总组分的 23.16%。

豆粉经酵母菌处理后, 经 Y01 发酵的样品检出 9 种挥发性成分, 包括醇类化合物 5 种, 酯类化合物 4 种, 其中致腥类物质为正己醇、正戊醇; 经 Y03 发酵的样品检出 12 种挥发性成分, 包括醇类化合物 6 种, 酯类化合物 6 种, 其中致腥类物质为正己醇、1-丁醇、2, 3-丁二醇; 经 Y04 发酵的样品检出 9 种挥发性成分, 包括酸类化合物 1 种, 醇类化合物 6 种, 酮类化合物

1 种, 酯类化合物 1 种, 其中致腥类物质为乙酸、正己醇、2, 3-丁二醇、R-(R\*,R\*)-2, 3-丁二醇。

表 2 豆粉及酵母菌发酵后的豆粉气味中的主要挥发性成分

Table 2 The main volatile components of soybean meal flavor and fermented soybean meal flavor

序号	保留时间 /min	化合物名称	相对含量/%			
			CK	Y01	Y03	Y04
1	2.797	乙酸	4.89	-	-	0.54
2	3.644	正己醛	23.16	-	-	-
3	4.467	(E)-2-己烯醛	1.33	-	-	-
4	4.545	正己醇	3.59	2.95	2.30	2.38
5	6.273	1-辛烯-3-醇	21.27	-	-	-
6	8.317	正壬醛	1.91	-	-	-
7	9.133	(E)-2-壬烯醛	1.83	-	-	-
8	4.852	二甲胺	0.91	-	-	-
9	10.883	3-己醇	1.12	-	-	-
10	14.019	1-(2, 2-二甲基)-己酮	1.43	-	-	-
11	22.208	6-甲基辛酸	1.22	-	-	-
12	3.079	正戊醇	-	4.20	-	-
13	3.058	1-丁醇	-	-	2.89	-
14	3.619	2,3-丁二醇	-	-	0.44	1.69
15	4.031	R-(R*,R*)-2, 3-丁二醇	-	-	-	0.40
16	1.800	乙醇	-	77.62	85.30	88.44
17	6.475	3-辛酮	-	-	-	0.40
18	8.545	苯乙醇	-	1.12	0.77	0.50
19	6.363	松茸醇	-	1.44	0.78	0.91
20	6.876	乙酸己酯	-	0.40	0.25	-
21	9.685	辛酸乙酯	-	0.63	0.36	0.16
22	16.901	月桂酸乙酯	-	0.44	0.20	-
23	18.862	棕榈酸乙酯	-	0.37	0.21	-
24	11.103	壬酸乙酯	-	-	0.28	-
25	12.721	癸酸乙酯	-	-	0.79	-

经酵母菌发酵的 3 个样品中检出量最高的物质均为乙醇, 与此同时, 酵母菌处理后的大豆粉样品中共检测出 9 种芳香类物质, 包括苯乙醇、松茸醇、3-辛酮、乙酸己酯、辛酸乙酯、月桂酸乙酯、棕榈酸乙酯、壬酸乙酯和癸酸乙酯。

在本试验条件下, 从豆粉中鉴定出 11 种挥发性成分, 除乙酸和甲基辛酸外, 其余 9 种成分均与 Boue 等<sup>[9]</sup>鉴定结果相同。正己醛是检出量最高的物质, 占到了总组分的 23.16%, 与前人研究结果保持一致<sup>[10, 13]</sup>。

由于引起豆腥味的物质的多样性, 常常难以评价豆腥味效果的高低。麻浩等<sup>[4]</sup>对己醛生成量与挥发性气味物质总量、豆腥味物质质量、己醇生成量作了相关性分析, 表明用己醛含量作为豆腥味效果的衡量指标是可行的。由表 1 可看出, 豆粉经 3 株酵母菌处理

后, 未处理的豆粉中含量最高的正己醛均未被检出, (E)-2-己烯醛、二甲胺、3-己醇、己酮等致腥物质亦未被检出, 表明 3 株酵母菌皆能有效去除大豆豆腥味。与此同时, 检测到多种芳香醇、芳香酯类物质, 这些芳香类物质的生成能帮助进一步改善大豆粉风味。

由表 2 得出 Y01、Y03、Y04 处理豆粉后挥发性成分中致腥物质和芳香类物质的含量(以占挥发性成分总量的百分比表示)见表 3。

由表 3 可知, 经 Y01 发酵的样品检出致腥物质最少, 然而其含量最高; 经 Y04 发酵的样品致腥物质含量最低, 但是总类最多, 且其生成的芳香类物质少, 含量低; 经 Y03 发酵的样品致腥物质种类较少、含量低, 生成的芳香类物质种类最多, 含量也较高, 结合感官评价分析结果, Y03 发酵豆粉 2 h 即将豆腥味降到人感知不到的水平; 所以综合考虑, 以 Y03 菌株去



豆腥味效果最好, 不仅能大幅度降低豆腥味物质, 同时生成多种芳香醇、芳香酯改善豆粉风味。

表 3 不同酵母菌发酵大豆粉后挥发性成分含量

Table 3 The volatile components content of soybean meal

	fermented by different yeasts			
	致腥类物质		芳香类物质	
	种类	含量/%	种类	含量/%
Y01	2	7.15	6	4.40
Y03	3	5.63	8	3.64
Y04	4	5.01	4	1.97

## 2.2 去豆腥味酵母菌鉴定

对去豆腥味酵母菌 Y03 的 26S rDNA PCR 产物做琼脂糖凝胶电泳, 电泳图如图 2 所示。

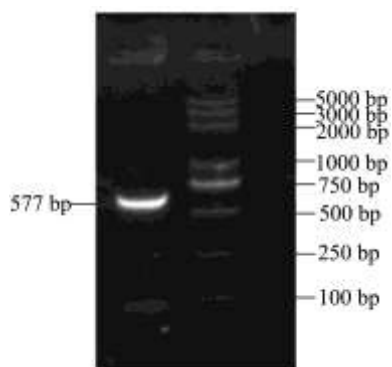


图 2 酵母 Y03 的 26S PCR 产物电泳图

Fig.2 The electrophoretogram of Y03's 26s PCR products

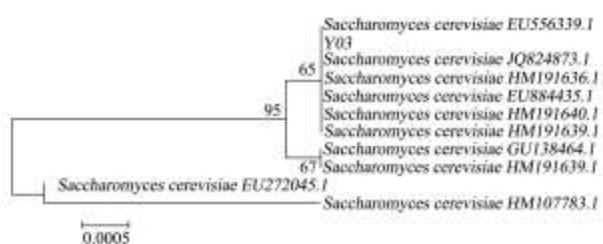


图 3 Y03 与参比菌株的系统发育树

Fig.3 The phylogenetic tree of Y03 and reference bacteria

经测定, Y03 的 26S rDNA D1/D2 区序列扩增片段长度为 577 bp, 将这组序列应用 BLAST 程序与 NCBI-Gen Bank 数据库中的已知酵母菌序列进行同源性比对分析, 选取同源性≥99% 的相关菌株的 26S rDNA 序列构建系统发育树如图 3。

数据库中与 Y03 菌株同源性≥99% 的绝大部分为酿酒酵母。由图 3 可看出, Y03 与酿酒酵母 (EU556339.1) 等具有 100% 的序列同源性, 分子鉴定结果可判断 Y03 为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。

## 3 结论

从老面、葡萄表皮、酒曲中分离筛选得到一株能有效去除大豆豆腥味的酵母 Y03, 经 26S rDNA D1/D2 区序列分析鉴定其为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。该菌株处理大豆粉后能完全去除挥发性豆腥味成分中的主要成分己醛及多种致腥成分, 同时生成多种芳香醇、芳香酯类物质更好地改善豆粉风味。用酵母菌去除豆腥味在大豆去腥技术方面尚未见报道, 其去豆腥味机理还有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 江浩,王文侠,栾广忠,等.大豆深加工[M].北京:中国轻工业出版社,2004  
JIANG Hao, WANG Wen-xia, LUAN Guang-zhong, et al. The deep processing of soybean [M]. Bei Jing: China Light Industry Press, 2004
- [2] 池玉杰,朱秀清,李文滨,等.大豆蛋白质加工新技术[M].北京:科学出版社,2008  
CHI Yu-jie, ZHU Xiu-qing, LI Wen-bin, et al. New processing technology of soybean protein [M]. Bei Jing: Science Press, 2008
- [3] 代养勇,曹健,董海洲,等.大豆食品豆腥味研究进展[J].中国粮油学报,2007,22(4):50-53  
DAI Yang-yong, CAO Jian, DONG Hai-zhou, et al. Review of research on beany flavour of soy foods [J]. Journal of The Chinese Cereals and Oils Association, 2007, 22(4): 50-53
- [4] 王晗,徐世芳,陈爱瑛,等.大豆制品中豆腥味及其他异味物质的化学组成及检测[J].浙江省医学科学院学报,2007,68: 36-39  
WANG Han, XU Shi-fang, CHEN Ai-ying, et al. Chemical composition and testing of beany flavour and other odor substances [J]. Acta Academiae Medicinae Zhejiang, 2007, 68: 36-39
- [5] Joseph A Maga. A review of flavor investigations associated with the soy products raw soybeans, defatted flakes and flours, and isolates [J]. Food Chemistry, 1973, 21 (5): 864-868
- [6] M D Aaslyng, L M Larsen, P M Nielsen. Development of chemical and sensory characteristics during enzymatic hydrolysis of soy [J]. European Food Research and Technology, 1999, 208(1): 50-55
- [7] 马蕊,张爱霞,生庆海.SPSS 软件在食品感官评分结果分析中的应用[J].乳业科学与技术,2007,1:12-14  
MA Rui, ZHANG Ai-xia, SHENG Qing-hai. The application of SPSS in analyzing the result of food sensory scoring [J]. Dairy Science and Technology, 2007, 1: 12-14

- [8] D F Steenson, J H Lee, D B Min. Solid Phase Microextraction of Volatile Soybean Oil and Corn Oil Compounds [J]. *Journal of Food Science*, 2002, 67(1): 71-76
- [9] Stephen M Boue, Betty Y Shih, Carol H Carter Wientjes, et al. Identification of volatile compounds in soybean at various developmental stages using solid phase microextraction [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51: 4873-4876
- [10] Stephen M Boue, Betty Y Shih, Carol H Carter Wientjes, et al. Effect of soybean lipoxygenase on volatile generation and inhibition of *Aspergillus flavus* mycelial growth [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(12): 4778-4781
- [11] 李金霞,刘光全,程池.酿酒酵母 26S rDNA D1/D2 区域序列分析及其系统发育研究[J].*酿酒科技*,2007,34(1):37-39  
LI Jin-xia, LIU Guang-quan, CHENG Chi. The identification of *Saccharomyces cerevisiae* by sequence analysis of 26S rDNA D1/D2 domain gene [J]. *Liquor-Making Science and Technology*, 2007, 34(1): 37-39
- [12] 王庆国,刘天明.酵母菌分类学方法研究进展[J].*微生物学杂志*,2007,27(3):97-98  
WANG Qin-guo, LIU Tian-ming. Advanced in yeast taxonomical methods [J]. *Journal of Microbiology*, 2007, 27(3):97-98
- [13] Yoichi Nishiba, Shu Furuta, Makita Hajika, et al. Hexanal accumulation and DETBA value in homogenate of soybean seeds lacking two or three lipoxygenase isoenzymes [J]. *Agricultural Food Chemistry*, 1995, 43(3): 738-741
- [14] 麻浩,官春云,何小玲,等.大豆种子脂肪氧化酶缺失基因控制豆腥味效果的研究[J].*中国农业科学*,2011,34(4):367-372  
MA Hao, GUAN Chun-yun, HE Xiao-ling, et al. Studies on the different effects of soybean null lipoxygenase genes on beany-flavor [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 34(4): 367-372