

陶融型大曲中产香微生物的筛选及鉴定

陈蒙恩¹, 樊建辉¹, 侯建光¹, 韩素娜¹, 牛姣^{1,2}, 杨方玉¹

(1. 河南仰韶酒业有限公司博士后研发基地, 河南浉池 472000) (2. 江南大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

摘要: 本研究从陶融型大曲微生物资源中筛选产香功能性微生物, 研究其与大曲香味物质之间的联系, 并对产香功能菌株进行分子生物学鉴定。采用传统微生物分离法从不同发酵阶段的陶融型大曲中分离纯化获得细菌 37 株, 酵母 22 株。以小麦固体培养基为底物对各菌株进行单菌产香实验, 经闻香评定, 菌株 YSY04 发酵后能产生浓郁的香味。采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术对该菌株的发酵产物进行挥发性成分检测, 发现该菌株的发酵产物中香味物质种类丰富, 其中吡嗪类物质、苯乙醇、愈创木酚、2,3-丁二醇和萜烯类等香味物质为陶融型大曲的重要香味成分。因此, 可初步认定菌株 YSY04 为陶融型大曲的产香功能菌。经形态学观察和分子生物学鉴定, 菌株 YSY04 为异常威克汉姆酵母 (*Wickerhamomyces anomalus*)。

关键词: 陶融型大曲; 产香功能菌; 挥发性成分; 筛选; 鉴定

文章编号: 1673-9078(2017)9-122-127

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.7.018

Screening and Identification of Aroma-producing Microorganisms in Pottery-flavor Daqu

CHEN Meng-en¹, FAN Jian-hui¹, HOU Jian-guang¹, HAN Su-na¹, NIU Jiao^{1,2}, YANG Fang-yu¹

(1. Postdoctoral Research & Development Base, Yangshao Distillery Co. Ltd., Mianchi 472400, China) (2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Aroma-producing microorganisms were screened from the microbial resources of pottery-flavored daqu. The relationship between aroma-producing microorganisms and flavoring substances in Luzhou-flavored daqu was also investigated. Functional aroma-producing microorganisms were identified using various molecular biology techniques. Multiple strains of bacteria (37) and yeast (22) were isolated and purified from the various fermentation stages of pottery-flavored daqu by traditional microbial separation. Each strain was separately cultured in wheat solid growth medium. The sensory evaluation (smell test) showed that the individual strain YSY04 could produce strong flavors after fermentation. The volatile components present in the fermentation products of the strains were identified by headspace solid-phase micro extraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). This analysis identified a number of flavor substances in the fermentation products of the strain. Among them, pyrazine, phenylethanol, guaiacol, 2,3-butanediol, and terpenes were identified as important flavor substances present in pottery-flavored daqu. Therefore, the strain was primarily identified as the functional aroma-producing microorganism present in pottery-flavored daqu. Morphological observation and molecular biology identification analysis confirmed that the YSY04 strain belonged to the species *Wickerhamomyces anomalus*.

Key words: pottery-flavored daqu; aroma-producing functional bacteria; volatile components; screening; identification

陶融型大曲是一种富含微生物菌群、菌系及复合曲香的微生态制品, 具有糖化、发酵和生香等功能, 其质量优劣直接影响到陶融型白酒的品质和风味特征。仰韶陶融型大曲是指在仰韶地域自然环境、生产原料、酿造工艺等因素的前提下, 制造的陶融型白酒专用大曲^[1]。大曲中所富含的细菌、霉菌和酵母菌等是酿造陶融型白酒所不可缺少的重要微生物资源, 这些微生物能够利用原料中的淀粉、蛋白质等营养物质

进行繁殖代谢, 分泌陶融型白酒酿造过程中所需的糖化酶和淀粉酶等各种酶系。酿酒原料中的淀粉等大分子物质在生物酶和特定条件下, 经过一系列复杂的生化反应而产生种类众多的芳香类物质, 这些芳香类物质对大曲酒特有香味成分起着重要贡献作用^[2,3]。因此, 研究和挖掘名优白酒企业的功能性微生物资源, 对于构建微生物菌种资源库及实现名优酒异地再现具有重要意义^[4]。

目前, 陶融型大曲微生物的研究主要集中在菌种分离、筛选、鉴定, 以及区域微生物种类、数量、分布及变化规律等方面, 对大曲中挥发性风味成分的研

收稿日期: 2017-03-15

作者简介: 陈蒙恩 (1988-), 男, 工程师, 硕士研究生, 主要从事白酒酿造方向研究

究正中逐步开展,但对于微生物与风味物质之间联系的研究还处于起步阶段。本研究以仰韶陶融型白酒酿造用大曲为样本,对不同发酵阶段的大曲微生物进行筛选^[5],同时进行实验室发酵实验,分析鉴定其挥发性代谢产物,探索微生物与陶融型大曲香味成分之间的联系,以期找到产香性能独特突出的菌株,优化陶融型大曲发酵功能菌群,为提高陶融型大曲质量及陶融型白酒风味奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

1.1.1 大曲样品

选取河南仰韶酒业有限公司生物技术公司不同曲房中安曲后第1、3、5、7、9、15、30、60、90、120 d的曲样。采用四点中心法进行取样,样品粉碎后过40目筛,四分法浓缩至150 g,装于无菌袋内,4℃贮存备用。

1.1.2 培养基

细菌与酵母的分离、保藏培养基分别采用北京奥博星生物技术有限责任公司生产的营养琼脂和WL营养琼脂培养基;

细菌种子培养基:葡萄糖15 g/L,胰蛋白胨5 g/L,牛肉膏5 g/L,NaCl 5 g/L,纳他霉素1 g/L,pH 7.0;

酵母种子培养基:酵母粉10 g/L,蛋白胨20 g/L,葡萄糖20 g/L,豆芽200 g/L,氨基青霉素1 g/L,pH 6.0;

小麦固体培养基:取200 g适度粉碎的小麦于500 mL三角瓶中,调节小麦原料含水量至37%左右。

1.1.3 试剂

DNA Ladder 2000、DL 2000 TMDNA Marker,均购自宝生物工程(大连)有限公司;2×Tap PCR Master Mix、BioSpin试剂盒,购自西安热摩尔公司;T-19载体、DH5α感受态细胞,购自TAKARA公司;蛋白酶K、溶菌酶、酵母DNA基因组快速提取试剂盒、溴酚蓝、Tris平衡酚和引物等,均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.1.4 仪器与设备

SF-CT-1A净化工作台,上海三发科学仪器有限公司;VEGA 3 SBU型扫描电子显微镜,德国NETZSCH公司;50 μm/30 μm DVAB/CAR/PDMS固相微萃取头,美国Supelco公司;三合一自动SPME进样器,美国Supelco公司;20 mL带硅橡胶垫的样品瓶,美国Supelco公司;DHP9272电热恒温培养箱,上海一恒科技有限公司;Thermo Fishier 1300-1310气相色谱-质谱联用仪,美国赛默飞公司;K960PCR热循环仪,杭

州晶格科学仪器有限公司;紫外仪:北京六一生物技术有限公司;全温摇瓶柜:苏州培英实验设备有限公司;高速台式离心机:SIGMA公司;立式压力蒸汽灭菌器:上海申安医疗器械厂。

1.2 方法

1.2.1 细菌及酵母的分离、纯化

微生物的分离培养采用稀释平板涂布法。准确称取1 g大曲样品,置入装有99 mL无菌水的三角瓶中,震荡30 min。然后用移液枪吸取100 μL震荡均匀的菌悬液,置入装有900 μL无菌水的离心管中,震荡均匀,以此10倍逐级稀释至 10^{-7} 。取 10^{-5} 、 10^{-6} 和 10^{-7} 三个稀释度的菌悬液分别在营养琼脂和WL营养琼脂培养基上进行平板涂布,细菌于37℃下倒置培养24 h;酵母于28℃下倒置培养48 h。待长出菌落后,选取具有典型酵母菌和细菌特征的菌落进行划线分离、纯化,镜检后编号,接种于斜面试管中保藏。

1.2.2 固态产香实验

分离的各细菌、酵母菌株分别接入对应的种子培养基中,细菌于37℃下培养18 h后,调节种子液浓度至 10^8 个/mL。酵母于28℃下培养36 h后,调节种子液浓度至 10^7 个/mL。然后按5%接种量接种于灭菌处理后的小麦固体培养基中,细菌于37℃培养10 d,酵母于28℃培养10 d。

1.2.3 产香性能测定

对各细菌、酵母菌株的发酵产物跟踪(0~10 d)进行感官评价。其中,发酵产物香味良好的菌株需进一步跟踪(0~10 d),并分析其发酵产物的挥发性成分变化。

1.2.3.1 固态发酵产物感官评价

由5名国家级白酒评委与5名省级白酒评委成评价小组,对各菌株固态发酵后的样品进行外观、气味评价。

1.2.3.2 固态发酵产物的挥发性成分检测

固相微萃取条件:精确称取3.0 g样品放入顶空瓶中,盖上瓶盖,70℃顶空萃取30 min,将萃取头取出插入GC-MS进样口,230℃下解析5 min后进行GC-MS分析。

气相色谱条件:毛细管色谱柱为DB-FFAP,规格为(60 m×250 μm×0.25 μm);250℃条件下自动不分流进样;程序升温:35℃保持10 min,10℃/min到130℃、保持2 min,6℃/min到230℃、保持30 min;载气:高纯度氦气,流速为0.81 mL/min。

质谱条件:EI电离源,电子能量70 eV,扫描范围30~550 u,离子源温度230℃,接口温度250℃。

1.2.4 产香菌株鉴定

对筛选出的产香性能突出的菌株采用电子扫描显微镜进行形态观察, 并进行分子生物学鉴定。酵母采用 18S rDNA 分子生物学鉴定, 引物设计为 NL-1: GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG 和 NL-4: GGTCCGTGTTTCAAGACGG; 细菌采用 16S rDNA 分子生物学鉴定, 引物设计为 799F: AACAGGATTAGATACCCT 和 1492R: GGTTACCTTGTTACGACTT。利用 PCR 扩增技术分别对 18S rDNA 和 16S rDNA 进行扩增后送样测序, 将所得序列提交 GenBank 数据库中进行 BLAST 检索, 将所测序列提交 NCBI, 并索取序列登录号。用 Clusta-X 软件对序列进行比对及人工校正, 利用 Mega5.1 软件构建 N-J 系统发育树^[6]。

2 结果与讨论

2.1 微生物分离结果

将分离到的菌株菌落, 通过多次划线纯化挑取, 并接种于平板培养基中。经过菌落形态特征排重, 结合镜检下细胞形态, 最终从仰韶陶融大曲中分得细菌 37 株(编号 YSB01~YYB37)、酵母菌 22 株(编号 YSY01~YSY22)。

2.2 固态产香结果

2.2.1 固态发酵产物感官评价结果

表 1 各菌株固态发酵产物感官评价

Table 1 Sensory evaluation of solid fermentation products produced by different microbial strains

菌株编号	外观形态	气味评价
YSB01	棕褐色	香味淡薄、有酱味
YSB07	棕黄色	香味淡薄、有甜味
YSB12	深褐色	香味淡薄
YSB13	棕黄色	味淡薄, 略有酱味
YSB14	棕黄色	香味淡薄
YSB20	黄褐色	有焦糊味
YSB25	淡黄色	略有酱味
YSB37	深褐色	略有曲香味
YSY01	白色	略有酒香味
YSY04	保持小麦原色	酒香味浓郁、甜味
YSY12	保持小麦原色	香味淡薄
YSY19	浅白色	有甜味
YSY21	白色	酒香味淡薄

将分离获得的 37 株细菌和 22 株酵母种子液接种至小麦固体培养基中培养, 然后对各菌株发酵产物进

行外观、气味评价, 其中 8 株细菌和 5 株酵母发酵后香气较好, 其发酵 10 d 后的固态产物感官评价结果如表 1 所示。

由表 1 可见, 各菌株发酵小麦固体培养基后所产生的感官特征各异, 发酵后产物有令人愉悦的香味, 可初步确定为具有产香性能的菌株。其中, 酵母菌株 YSY04 经过 28 °C 发酵 10 d 后, 发酵基质保持小麦原色, 酵母菌体在基质上生长十分丰富, 整个基质呈现浅白色。经过品评小组文献鉴定, 其发酵基质带有浓郁的酒香味及甜味。其它菌株发酵后均未产生令人愉悦的香味, 或保持小麦原味、或无味、甚至产生刺鼻怪味。综合来看, 酵母菌株 YSY04 的产香性能较为突出, 可作为下一步挥发性发酵产物研究的菌株。

2.2.2 固态发酵产物挥发性成分测定结果

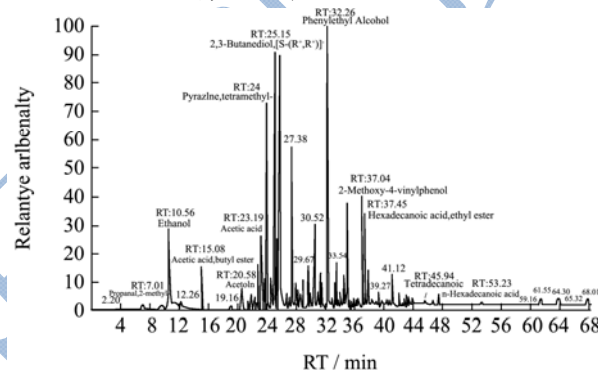


图 1 YSY04 发酵产物挥发性物质 GC-MS 总离子流色谱图

Fig. 1 GC-MS total ion current chromatogram of volatile substances present in the fermentation products of the YSY04 strain

对菌株 YSY04 发酵 10 d 的固态产物采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术^[7,8]测定其中的挥发性物质, 其萃取的挥发性物质的总离子流色谱图如图 1 所示, 分析鉴定出的挥发性物质分别如表 2 所示。

由表 2 可以看出, 酵母菌株 YSY04 发酵小麦固体培养基后共获得 60 种微量挥发性成分。从含量上看, 含量最高的化合物是醇类, 以 2,3-丁二醇为主, 占到 48.07%, 高级醇在白酒中不但呈香呈味, 而且还是醇甜和助香的主要物质来源, 对酒体风味的形成起着重要的作用^[9]。其次是芳香族化合物和酸类化合物, 含量分别为 17.18%和 13.37%。芳香族化合物具有香味突出、阈很低、香势强和味优雅等特点, 主要以苯乙醇为主^[10], 酸是构成白酒口感的重要化合物, 也是白酒中酯类物质的重要来源。

酚类化合物共检测到 3 种, 分别为愈创木酚、4-乙基愈创木酚以及 4 乙基愈创木酚, 这几个酚类虽然含量不高, 但它们的呈香阈值低, 是酒体中水果香、辛香、丁香味的来源之一^[11]。吡嗪类化合物检测到 8

种,占 9.82%,这类化合物香势强、香味阈值低,具有烘焙和坚果的香气,赋予酒体典型、优雅的风格^[12],其中 2,3,5,6-四甲基吡嗪是白酒中的功能成分,具有扩张血管,改善血液循环的作用。杂环类检测出 7 种,其中的呋喃类是白酒中的重要风味化合物,主要贡献甜香、焙烤香和青草香等香气。萜烯类检测出 2 种,占 0.15%,该类物质嗅觉阈值低,一般都具有玫瑰花

香,对酒体芳香风格具有重要贡献作用^[13]。

综上所述,酵母菌株 YAY04 具有产苯乙醇、吡嗪类、酚类、杂环类和萜烯类等多种香味物质的能力,这些物质对陶融型大曲香味成分具有重要贡献作用,其中的部分发酵产物和白酒风味成分之间有着内在联系。因此,可初步认定酵母 YSY04 为陶融型大曲的一株产香功能菌。

表 2 YSY04 发酵产物挥发性物质测定

Table 2 Volatile substances identified in YSY04 fermentation products

化合物名称	保留时间/min	面积	面积百分比/%
十四烷	22.33	28150967.00	0.12
苯乙醇	32.26	3143628555.00	13.69
苯乙酸	43.33	81739912.00	0.36
乙酸苯乙酯	30.52	463944607.00	2.02
甲酸-2-苯乙酯	30.08	26243781.00	0.11
丁酸-β-苯乙酯	31.55	89944810.00	0.39
2-甲基丁酸-2-苯乙酯	33.23	132471474.00	0.58
2-甲基萘	31.44	5430829.00	0.02
4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	37.04	619268183.00	2.70
愈创木酚	31.33	110893194.00	0.48
4-乙基-2-甲氧基苯酚	34.29	23414330.00	0.10
棕榈酸乙酯	37.45	278503238.00	1.21
顺-9-十六碳烯酸乙酯	37.82	15628282.00	0.07
油酸乙酯	41.07	2762047.00	0.01
棕榈酸异丙酯	37.17	21353719.00	0.09
十五酸乙酯	35.83	10579298.00	0.05
13-甲基十四烷酸乙酯	35.32	5831812.00	0.03
辛酸乙酯	22.96	24327152.00	0.11
9-癸烯酸乙酯	27.94	17869254.00	0.08
丁酸乙酯	29.67	140320398.00	0.61
2,3-环氧丙酸乙酯	30.40	32402902.00	0.14
硬脂酸乙酯	40.67	1243959.00	0.01
(2S,3S)-(+)-2,3-丁二醇	25.15	5972183004.00	26.01
(2R,3R)-(+)-2,3-丁二醇	25.85	5065644063.00	22.06
异丁醇	7.01	28561056.00	0.12
异戊醇	9.60	12061399.00	0.05
2,3-丁二酮	12.26	70850457.00	0.31
3-羟基-2-丁酮	20.58	463072536.00	2.02
羟基丙酮	21.09	11945860.00	0.05
2,5-二甲基吡嗪	21.39	49055022.00	0.21
三甲基吡嗪	22.79	248804008.00	1.08
2,3-二甲基-5-乙基吡嗪	23.71	158401246.00	0.69
2,3,5,6-四甲基吡嗪	24.00	1564484878.00	6.81
2,3,5-三甲基-6-乙基吡嗪	24.57	99189619.00	0.43

转下页

接上页

2,5-二甲基-3-甲基丁基吡嗪	28.28	68951088.00	0.30
2,3, 5-甲基-6-异戊基吡嗪	28.62	46382536.00	0.20
2-乙酰基-3-5-二甲基吡嗪	30.28	20189862.00	0.09
乙酸	23.19	515020236.00	2.24
异丁酸	25.38	452090533.00	1.97
异戊酸	27.37	1579179056.00	6.88
L-苹果酸	34.93	490594800.00	2.14
壬酸	36.15	11631883.00	0.05
正癸酸	37.78	17726686.00	0.08
肉豆蔻酸	45.94	1398294.00	0.01
棕榈酸	53.23	1505742.00	0.01
2-乙酰基咪啉	24.68	65740984.00	0.29
1-乙酰-四氢吡啶	30.95	35240744.00	0.15
2-乙酰基吡咯	33.46	100574717.00	0.44
2-甲基-3-羟基-4-吡喃酮	33.55	215602277.00	0.94
2-吡咯甲醛	34.40	71539110.00	0.31
N-氨基四氢吡咯	40.41	9136499.00	0.04
反式-橙花叔醇	34.00	16664012.00	0.07
合金欢醇	37.62	17300662.00	0.08
甲瓦龙酸内酯	43.89	26789065.00	0.12
DL-泛酰内酯	34.58	103545444.00	0.45
N-异丁基乙酰胺	29.03	67777613.00	0.30
甲基十四烷醚	39.33	3904190.00	0.02

2.3 产香菌株鉴定结果

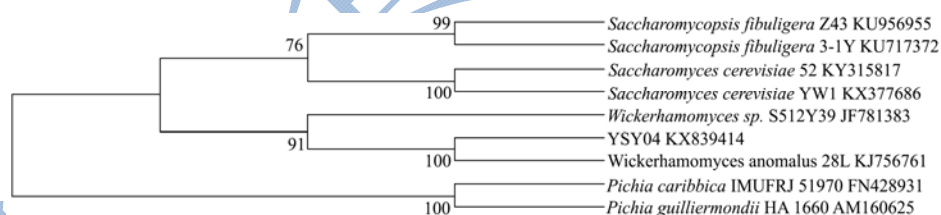


图2 基于 18S rDNA 序列同源性构建的菌株 YSY04 系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of the YSY04 strain, based on 18S rDNA sequence homology

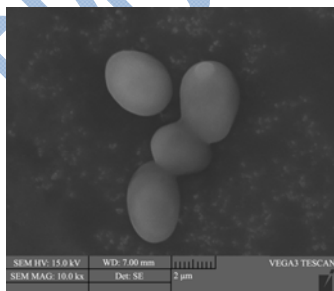


图3 电镜下菌株 YSY04 形态图

Fig.3 Morphology of the YSY04 strain under an electron microscope

经对酵母菌株 YSY04 进行 DNA 提取^[14]、目的片段 PCR 扩增后, 将 PCR 产物送往上海杰里公司测序, 测序结果在 GeneBank 数据库中进行比对。结果表明, 菌株 YSY04 与 *Wickerhamomyces anomalus* strain 28L KJ756761 相似性为 100%。利用 Mega5.1 软件通过 N-J 法对菌株 YSY04 构建系统发育树, 结果如图 2 所示。电镜检测菌株 YSY04 的形态结果见图 3。根据菌株 18S rDNA 相似性、系统发育树及菌体形态分析, 初步鉴定 YSY04 为异常威克汉姆酵母 (*Wickerhamomyces anomalus*)。

3 结论

本研究以陶融型大曲为研究对象,采用传统稀释平板法从不同阶段的发酵大曲中共分离得到细菌 37 株,酵母 22 株。分别接种至小麦固体培养基进行产香实验,经闻香评价发现编号 YSY04 的菌株能产生浓郁的香味。进一步利用 HS-SPME-GC-MS 技术对菌株 YSY04 的发酵产物进行挥发性物质检测,发现该菌株发酵后的香味物质种类丰富,如 2,3-丁二醇、四甲基吡嗪、苯乙醇、三甲基吡嗪、愈创木酚、反式-橙花叔醇和合金欢醇等。这些物质是陶融型大曲香味成分的重要组成部分,因此,可初步判定菌株 YSY04 为陶融型大曲的产香功能菌。经分子生物学鉴定,菌株 YSY04 为异常威克汉姆酵母 (*Wickerhamomyces anomalus*)。从陶融型大曲中筛选获得的产香功能菌,其发酵产生的大曲香味成分各不相同,这可能是陶融型大曲具有复合曲香的原因之一。本研究采用了单菌发酵实验研究产香菌的挥发性成分及其变化,对于产香菌发酵产生大曲重要香味成分的形成机理和影响因素以及多菌共酵的发酵效果,在后续的研究中将持续展开。

参考文献

- [1] 侯建光,郭福祥,樊建辉,等.夏季仰韶陶香型中高温大曲曲表和曲心指标动态演变的研究[J].酿酒科技,2016,3:88-90
HOU Jian-guang, GUO Fu-xiang, FAN Jian-hui, et al. Dynamic change in physiochemical indexes of Daqu surface & daqu core of Yangshao pottery-flavor medium-high-temperature Daqu in summer [J]. Liquor-making Technology, 2016, 3: 88-90
- [2] 张宿义,许德富.泸州酒技艺大全[M].北京:中国轻工业出版社,2011
ZHANG Su-yi, XU De-fu. Luzhou-flavor liquor technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2011
- [3] Chen S, Xu Y. The influence of yeast strains on the volatile flavour compounds of chinese rice wine [J]. J. Inst. Brew., 2010, 116(2): 190-196
- [4] 明红梅,郭志,周健,等.浓香型大曲中产香微生物的筛选及鉴定[J].现代食品科技,2015,31(4):186-191
MING Hong-mei, GUO Zhi, ZHOU Jian, et al. Screening and identification of aroma-producing microorganisms in Luzhou-flavor Daqu [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(4): 186-191
- [5] Sluis C V, Tramper J, Wuffels R H. Enhancing and accelerating flavor formation by salt tolerant yeasts in Japanese soy sauce processes [J]. Trends Food Sci. Tech., 2001, 12(9): 322-327
- [6] 罗惠波,杨晓东,杨跃寰,等.浓香型大曲中可培养真菌的分离鉴定与系统发育学分析[J].现代食品科技,2013, 29(9): 2047-2052
LUO Hui-bo, YANG Xiao-dong, YANG Yue-huan, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of culturable fungi in Luzhou-flavor Daqu [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(9): 2047-2052
- [7] ZHANG Rong, WU Qun, XU Yan. Aroma characteristics of Moutaiflavor liquor produced with *Bacillus licheniformis* by solid state fermentation [J]. Letters in Applied Microbiology, 2013, 57(1): 11-18
- [8] Fan W, Shen H, Xu Y. Quantification of volatile compounds in Chinese soy sauce aroma type liquor by stir bar sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(7): 1187-1198
- [9] Ji X J, Huang H, Ouyang P K. Microbial 2,3-butanediol production: a state-of-the-art review [J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(3): 351-364
- [10] Fan W, Xu Y, Zhang Y. Characterization of pyrazines in some Chinese liquors and their approximate concentrations [J]. J. Agr. Food Chem., 2007, 55(24): 9956-9962
- [11] MO Xin-liang, XU Yan. Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during Chinese rice wine brewing and fermentation [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2010, 116(3): 304-311
- [12] Shu K, Sakai R, Kumazawa K, et al. Key aroma compounds in roasted in-shell peanuts [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2013, 77(7): 1467-1473
- [13] 刘婷婷,马岩石,李娜,等.全果发酵与果渣发酵对欧李果酒香气特征的影响[J].食品科学,2016,37(12):99-104
LIU Ting-ting, MA Yan-shi, LI Na, et al. Comparison of aroma characteristics of *Cerasus humilis* wines fermented from whole fruits and pomace [J]. Food Science, 2016, 37(12): 99-104
- [14] Guangbin Ye, Shufang Wang, Lijing Jiang, et al. Distribution and diversity of bacteria and archaea in marine sediments affected by gas hydrates at Mississippi canyon in the gulf of Mexico [J]. Geomicrobiology Journal, 2009, 26(6): 370-381