

茶叶籽酵母的分离鉴定 及其发酵特性研究

姜金仲^{1,2}, 杨鹏鸣³, 王兴春², 穆安德², 郑寨生⁴

(1. 贵州师范学院, 贵州贵阳 550018;

2. 贵州元亨山茶叶籽生物科技有限公司, 贵州贵阳 550018;

3. 河南科技学院园艺园林学院, 河南新乡 453003;

4. 金华市农业科学研究院, 浙江金华 321017)

摘要:为了阐明酵母菌在茶叶籽水浆发酵分层过程中的作用,从发酵5 h的发酵液分离、纯化出一株酵母菌(编号: JJZ11)。通过形态观察、ITS rDNA及26S rDNA基因测序与比对,以及系统发育树的构建与分析,确定JJZ11为 *Meyerozyma caribbica* 的一个菌株,命名为茶叶籽酵母(*Meyerozyma caribbica* JJZ11),菌种保藏号为 CCTCC M 2016470。在茶叶籽水浆发酵过程中:茶叶籽水浆发酵液中茶叶籽酵母数量随发酵时间延长逐渐减少,进行到10 h时,降低为零;发酵液 pH 随着时间的延长由开始时的6.2逐渐降低,10 h时为3.73。当培养基 pH 小于4.3时,茶叶籽酵母的菌落数量均为零。茶叶籽水浆发酵分层过程与茶叶籽酵母的数量变化具有同步性,所以,茶叶籽酵母是引起茶叶籽水浆发酵分层的主要微生物之一。

关键词: 茶叶籽酵母, *Meyerozyma caribbica* JJZ11, 茶叶籽水浆, 发酵分层, 茶叶籽

Studies on identification and fermentation characteristics of tea seed yeast

JIANG Jin-zhong^{1,2}, YANG Peng-ming³, WANG Xing-chun², MU An-de², ZHENG Zhai-sheng⁴

(1. Guizhou Education University, Guiyang 550018, China;

2. Guizhou Yuanheng Mountain Tea Seed Biological Technology Co., Ltd., Guiyang 550018, China;

3. School of Horticulture Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;

4. Jinhua Agricultural Science Institute, Jinhua 321017, China)

Abstract: To illuminate function of yeast on the fermentation-layering of tea-seed-water-milk (TSWM), a strain of yeast (NO.JJZ9911) was isolated and purified from 5 h-fermented TSWM. By mean of morphological observation, ITS rDNA and (26S rDNA gene sequencing and comparison, and building and analysis of a phylogenetic tree, it was determined that JJZ9911 was one strain of *Meyerozyma caribbica*. Therefore the strain was named as tea seed yeast (*Meyerozyma caribbica* JJZ11), and its preservation number was CCTCC M 2016470. In the fermentation-layering process of TSWM, the number of tea seed yeast in fermented liquid gradually reduced with the extension of fermentation time and reduced to zero when fermentation reached to 10 h. The pH of fermented liquor gradually reduced from 6.2 to 3.73 till fermentation reached to 10 h. The number of tea seed yeast colony was zero while the medium pH was less than 4.3. The fermentation-layering process of TSWM was synchronic with the number change of tea seed yeast, therefore, the tea seed yeast was one of the main microbial that caused fermentation-layering of TSWM.

Key words: tea seed yeast; *Meyerozyma caribbica* JJZ11; tea seed water milk; fermentation-layering; tea seed

中图分类号: TS222

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)22-0105-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.021

茶叶籽油是以茶叶树(*Camellia sinensis*)的种子为原料生产的食用油,因其富含多种生物活性成分而被誉为东方橄榄油^[1-2]。我国有茶园面积约120万公顷,按每公顷产茶叶籽37.5 kg计算,年产茶籽约4.5亿千克;利用这些茶籽可以生产茶叶籽油45000 t、

茶叶籽淀粉27000 t。但是,由于传统茶叶籽油生产工艺还存在产率低、产品单一、茶叶籽组成成分相互污染以及毛油味道“戟喉”苦等问题,这些茶叶籽资源目前仅有不到百分之十得到了利用,其余大部分被自然腐烂在茶园里。为了解决茶叶籽油传统生产

收稿日期: 2017-02-07

作者简介: 姜金仲(1958-),男,博士,教授,主要从事茶叶籽综合开发利用方面的研究, E-mail: jjz9911@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460405);贵州省科技计划项目(黔科合成果[2017]4127)。

工艺存在的问题,姜金仲报道了一种茶叶籽油生产新工艺-茶叶籽油生物发酵生产工艺^[3-4],该工艺的核心是“茶叶籽水浆发酵分层现象”,即通过生物发酵将茶叶籽水浆分为三层,然后取出上层加热生产茶叶籽油;该工艺的最大优点是在生产茶叶籽油的过程中有效避免了茶叶籽其他构成成分对茶叶籽油的污染,同时又能生产茶叶籽淀粉,提高了茶叶籽油的产率及茶叶籽资源利用率^[4]。既然发酵分层是由发酵引起的,发酵液中就必然存在发酵微生物。因此,本文对发酵液中的一种微生物(茶叶籽酵母)进行了分离鉴定,并对其发酵特性进行了研究,以期对茶叶籽酵母的进一步利用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

茶叶籽仁 土炕烘干带内种皮茶叶籽仁,种子主要采摘自湖北省随州市广水市福建大白茶品种,茶叶籽仁含水率8.4%、含油率(索氏抽提法)26.2%;MRS固体培养基 按照文献[5]方法配制;石油醚 德州润昕实验仪器有限公司;蛋白胨 安琪酵母有限公司;牛肉膏 德州润昕实验仪器有限公司;酵母膏 广州市昕迪实验器材有限公司;K₂HPO₄ 佛山市顺德区魏玛化工有限公司;NaOAc 北京迪马欧泰科技发展有限公司;琼脂 安琪酵母股份有限公司。

XSP-9CA 光学显微镜 上海光学仪器一厂;PHSJ-4A pH计 西安禾普生物科技有限公司;GL124-1SCN 电子天平 季尔国际贸易(上海)有限公司;TG16-WS 高速离心机 济南来宝医疗器械有限公司;ET-7 打浆机 湖北武汉宏旭机械设备责任有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茶叶籽水浆发酵液的制备 称取茶叶籽仁100 g,加清水300 g于35℃条件下浸泡16 h,将浸泡好的茶叶籽清洗后加水300 g进行2轮打浆、过滤得滤液(茶叶籽水浆),将滤液置于35℃恒温发酵,约5 h左右,滤液开始明显分为上、中、下三层,备用。

1.2.2 酵母的分离纯化 在茶叶籽水浆发酵进行到5 h时,从发酵液中层取样,在固体培养基上进行划线培养,培养温度25℃;长出菌落后,挑选独立的菌落,用接种针挑取样本放在载玻片上,用美蓝染色^[6],观察是否是类似酵母菌的细胞,如果是类似酵母菌的细胞,接种扩大繁殖该菌落,再进行鉴定繁殖,反复4次,得到一株类似酵母的细胞纯种,编号为JJZ11。

1.2.3 JJZ11菌株的鉴定 按照鉴定手册^[7]中的方法对JJZ11菌株进行形态学观察及鉴定。包括:菌落形态及细胞形态的观察;繁殖特性及假菌丝的观察等;显微镜60倍镜下观察拍照。

ITS rDNA及26S rDNA序列测定、分析及系统发育树的构建^[8];ITS rDNA及26S rDNA的序列测定、分析及系统发育树绘制由中国食品发酵工业研究院微生物检测中心完成;测序结果利用GenBank数据库进行Blast同源序列检索,然后采用MEGA5.0软件进行同源性分析,1000次相似度重复计算,构建以置信度为依据的系统发育树。

1.2.4 发酵液茶叶籽酵母数量镜检测定 按照1.2.1

的方法制取发酵液,从茶叶籽水浆放入水浴锅内开始,每隔1 h从发酵分层的中层液中取5 mL样液放于试管中,在80℃下水浴加热5 min后,用胶头滴管取一滴于载玻片中央,用美蓝染色^[6],盖上盖玻片,在显微镜60倍镜下观察,取分别位于盖玻片四角及中央的5个视野观察,并记录视野下的似酵母菌细胞数量。

1.2.5 茶叶籽水浆发酵液pH的测定 从发酵开始,每隔1 h取出发酵液50 mL,过滤,4000 r/min离心10 min,用pH计测定pH。

1.2.6 培养基pH对茶叶籽酵母生长的影响 以MRS固体培养基为基础,用稀酸及稀碱调节pH,使培养基pH分别为4.3、5.3、6.3、7.3及8.3。然后灭菌、常规涂布法接种,恒温箱中25℃进行培养,每3 h观察一次生长现象及培养皿中的菌落数。

1.3 数据处理

实验数据用SSPS 17.0及Excel处理。

2 结果与分析

2.1 JJZ11菌株的菌落及个体形态

JJZ11菌株28℃培养7 d的菌落如图1所示,由图1可以看出:JJZ11菌株的菌落呈奶油状,乳白色,表面平伏,光滑反光。茶叶籽酵母28℃培养72 h的个体形态如图2所示,细胞近球形、椭圆形或棒状,大小1.3~2.0 μm×2.0~5.5 μm,有假菌丝,出芽繁殖。



图1 JJZ11菌株的菌落

Fig.1 Colony of JJZ11



图2 JJZ11菌株细胞及出芽

Fig.2 Cell and gemmation of JJZ11

2.2 JJZ11菌株系统发育树的建立与分析

JJZ11菌株的ITS rDNA序列全长为516 bp,26S rDNA序列全长为533 bp。利用Blast进行序列同源检索,与Meyerozyma caribbica的相似度为100%。以ITS rDNA及26S rDNA的同源性为基础,用MEGA 5.0软件进行系统进化分析,得到系统发育树如图3。系统

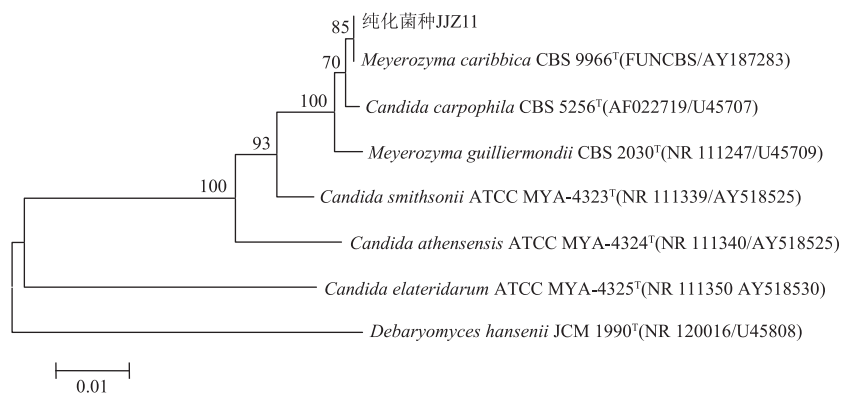


图3 JJZ1 的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of JJZ1

发育学分析结果表明,该系统树中 *Meyerozyma caribbica* CBS9966^T (FUNCBS/AY187283) 是一个单独的外群种, JJZ1 菌株与该种单独构成一个分支;二者序列的相似性最大,遗传距离最小, JJZ1 菌株与该种的亲缘关系最近;因此,中国食品发酵工业研究院微生物检测中心将 JJZ1 菌株鉴定为: *Meyerozyma caribbica* 的一个菌株,将该菌株命名为茶叶籽酵母 (*Meyerozyma caribbica* JJZ11)。菌种已于2016年9月9日保藏在中国典型培养物保藏中心(CCTCC),保藏号为 CCTCC M 2016470。

2.3 茶叶籽酵母细胞在茶叶籽水浆发酵过程中的数量动态

为了确定茶叶籽酵母 (*Meyerozyma caribbica* JJZ9911) 在茶叶籽水浆发酵中的作用,测定了茶叶籽水浆发酵过程中不同时段发酵液中茶叶籽酵母细胞的数量,检测结果见图4。由图4可以看出,茶叶籽酵母细胞的数量随着发酵时间的延长呈现整体下降趋势,发酵进行到10 h时,茶叶籽酵母细胞的数量已经降为零。这说明发酵开始时茶叶籽酵母细胞的数量最多,随着发酵时间的延长,中层液茶叶籽酵母的数量会逐渐减少。其可能的原因是:随着发酵时间的延长,发酵液已逐渐不适合茶叶籽酵母的生长;到10 h时,发酵液已完全不适合茶叶籽酵母的生长。

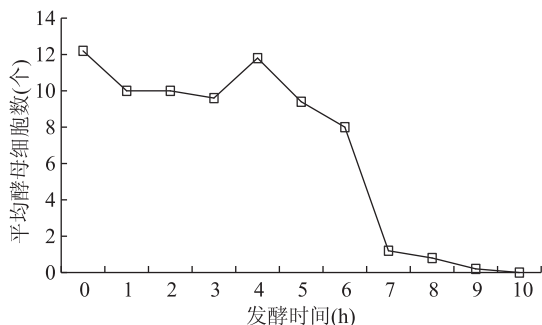


图4 发酵液中茶叶籽酵母细胞数量的动态

Fig.4 Cell number dynamic of *M.caribbica* JJZ11 in fermented liquid

由图4还可以看出,虽然发酵5 h以前,茶叶籽酵母细胞的数量有所减少,但减少幅度较小,最低点比最高点只降低了21.3%;但是,5 h之后降低幅度迅速增大,直至细胞数量为零。

2.4 茶叶籽水浆发酵液的 pH 变化趋势

由2.3可知,茶叶籽水浆发酵进行到10 h时,在茶叶籽水浆发酵中层液内已不存在茶叶籽酵母。为了解释这种现象发生的原因,对茶叶籽水浆发酵液的pH进行了跟踪测定,结果如图5。发酵液pH随时间的延长由开始时的6.2逐渐降低,10 h时为3.73,到13 h时达到最低点3.39,以后又呈现出小幅度振荡走高趋势。

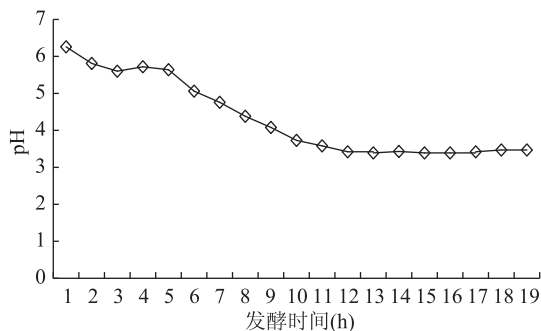


图5 发酵液 pH 随发酵时间的变化

Fig.5 pH of fermented liquid changed with fermentation time

2.5 培养基 pH 对茶叶籽酵母生长的影响

由上述茶叶籽水浆发酵液 pH 变化趋势可以看出,茶叶籽水浆发酵液中茶叶籽酵母的数量与发酵液的 pH 变化趋势有一定的对应关系,为了验证发酵液 pH 变化是否为影响茶叶籽水浆发酵液中茶叶籽酵母数量的因素,对茶叶籽酵母进行了培养基模拟培养实验,结果如图6。由图6可以看出,在给出的5个培养观测时间点(36、39、42、45、48 h)数量变化曲线中,当培养基 pH 为4.3时,培养基上的酵母菌落数量均为零,这说明在培养基 pH 等于4.3时,茶叶籽酵母已不能正常生长。

3 讨论

3.1 关于茶叶籽酵母的鉴定

茶叶籽酵母为 *Meyerozyma caribbica* 酵母的一个菌株,具有茶叶籽水浆发酵分层作用,目前未见国内有关 *Meyerozyma caribbica* 的研究报道。国外最早报道 *Meyerozyma caribbica* 是 Kurtzman CP 等^[9]。 *Meyerozyma caribbica* 虽然有自己的属名及种名,但它却是发酵假丝酵母 (*Candida fermentati*) 的无性型,所以,又称为无性型发酵假丝酵母 (anamorph *Candida fermentati*)^[10],

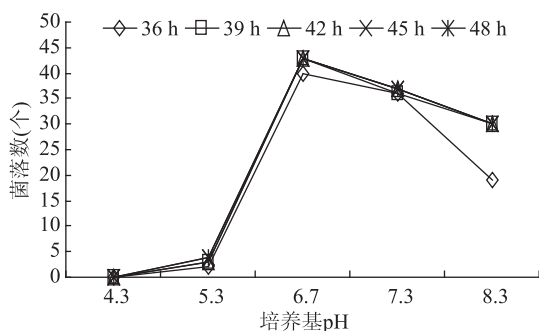


图6 不同培养基 pH 条件下菌落数的变化

Fig.6 The changes of colony number on different culture medium pH

可见它的有性菌株属于另外一个属。Kim^[11]报道过 *Meyerozyma caribbica* 的一个菌株: *Meyerozyma caribbica* MG20W, 认为 MG20W 的基因组 (complete genome sequence) 与 *Meyerozyma guilliermondii* ATCC 6260^T 的亲缘关系最近, 且该菌株具有嗜盐的特性; 而茶叶籽酵母却与 *Meyerozyma caribbica* CBS9966^T (FUNCBS/AY187283) 的亲缘关系最近; 这说明利用全基因组序列 (complete genome sequence) 进行亲缘关系比对时, 其比对结果与 ITS rDNA 及 26S rDNA 的比对结果有所差异。

茶叶籽水浆含有大量的茶皂素, 茶皂素对多种酵母菌具有显著的抑制作用^[12], 但作为酵母的 *Meyerozyma caribbica* JJZ11 菌株却能在茶叶籽水浆发酵过程中繁殖生长, 结合 Kim^[11]报道的 MG20W 嗜盐特性, 说明 *Meyerozyma caribbica* 酵母具有适应不同生长环境的能力, 因而具有广阔的开发利用潜力。

3.2 茶叶籽水浆发酵液中茶叶籽酵母菌数量变化与茶叶籽水浆发酵分层的关系

茶叶籽水浆发酵分层现象是“茶叶籽油生物发酵生产工艺”的核心, 该现象的具体发生过程为: 茶叶籽水浆发酵液开始时上下是浑然一体的, 呈乳白色, 随着发酵时间的延长, 发酵液分层逐渐由模糊变为清晰, 发酵进行到 4.5 h 左右, 发酵液明显分为 3 层, 乳白色顶层、淡棕色中层及灰白色底层^[13]。由图 4 可知, 从发酵开始到发酵 5 h 这段时间, 发酵液中茶叶籽酵母的数量是最多的阶段, 由图 5 可知, 这段时间也处在整个发酵液 pH 逐渐降低的时段; 酵母菌有氧代谢过程的主要产物为丙酮酸^[14] 和二氧化碳, 从而导致发酵物 pH 降低; 因此, 可以判断主要是茶叶籽酵母的发酵作用导致了茶叶籽水浆发酵液 pH 在这段时间的降低; 发酵液的 pH 降低破坏了茶叶籽水浆胶体的平衡状态, 导致茶叶籽水浆胶体内比较轻的悬浮物上浮而分层。

综合以上分析, 可以初步认为, 茶叶籽酵母是引起茶叶籽水浆早期发酵并导致发酵液分层的主要微生物之一。

3.3 茶叶籽酵母数量的变化与茶叶籽水浆发酵液 pH 之间的关系

由图 4 可知, 茶叶籽水浆发酵液中茶叶籽酵母数量随发酵时间延长逐渐减少, 进行到 10 h 时, 降低为零; 由图 5 可知, 发酵液 pH 随时间的延长由开始时的

6.2 逐渐降低, 10 h 时为 3.73; 由图 6 可知, 当培养基 pH 为 4.3 时, 培养基上的酵母菌落数量均为零。

综合分析上述结果可以看出, 茶叶籽水浆开始时 pH 较高, 比较适合茶叶籽酵母的生长, 随着发酵液时间延长及发酵液 pH 的逐渐降低, 茶叶籽酵母的适生条件逐渐变差, 到 10 h 时发酵液 pH (3.73) 已远低于培养基模拟培养的最低 pH, 茶叶籽酵母失去了适宜的生存条件, 所以, 发酵进行到 10 h 时在发酵液中已找不到茶叶籽酵母。李剑芳等^[15]指出, 葡萄酒产香酵母 E-45, 最适生长 pH 为 5.4, 最低和最高分别为 1.6 和 9.5; 于洋等^[16]指出, 发酵毕赤酵母 YF-19 的适宜 pH 为 2.95; 由此可见, 酵母的 pH 适应范围是很广的, 茶叶籽酵母的适宜 pH 及极端不适宜 pH 是在这些资料范围内的。

4 结论

JJZ11 菌株是从茶叶籽水浆发酵液中分离出的酵母菌株, 通过分离提纯、形态观察、ITS rDNA 及 26S rDNA 基因测序与比对, 以及系统发育树的构建与分析, 确定 JJZ11 菌株为 *Meyerozyma caribbica* 酵母的一个菌株; 并将该菌株初步命名为: 茶叶籽酵母 (*Meyerozyma caribbica* JJZ11); 菌种保藏号为 CCTCC M 2016470。

在茶叶籽水浆发酵过程中: 茶叶籽水浆发酵液中茶叶籽酵母数量随发酵时间延长逐渐减少, 进行到 10 h 时, 降低为零; 发酵液 pH 随时间的延长由开始时的 6.2 逐渐降低, 10 h 时为 3.73。用培养基培养茶叶籽酵母, 当培养基 pH 小于 4.3 时, 无论培养时间长短, 茶叶籽酵母的菌落数量均为零。

发酵液中茶叶籽酵母细胞的数量 5 h 之前居最高位, 5 h 之后迅速下降, 到 10 h 时降低到零, 而茶叶籽水浆发酵分层现象恰好发生在 5~7 h 之前^[13], 所以, 茶叶籽酵母是引起茶叶籽水浆发酵分层的主要微生物之一。

参考文献

- [1] 梁杏秋, 王晓琴, 黄兵兵. 茶叶籽油组成分析及其抗氧化机理研究进展[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(11): 131-134.
- [2] 孙达, 凌益春, 王岳飞, 等. 茶叶籽油的加工工艺及其保健功效研究进展[J]. 茶叶, 2010, 36(3): 144-147.
- [3] Jinzhong JIANG, Cuijuan REN, Zibu WANG. New Process for Extracting Oil and Starch from Tea Seed [J]. Journal of Food Science and Engineering, 2013, 3(12): 699-703.
- [4] 姜金仲, 王超英, 韩晗, 等. 茶叶籽仁水浆静置发酵分层生产茶叶籽油及淀粉[J]. 中国油脂, 2015, 40(3): 74-78.
- [5] 张颖, 张萍. 用改良 MRS 培养基检测啤酒中乳酸菌的方法[J]. 安徽大学学报(自然科学版), 1999, 23(4): 104-106.
- [6] 孔祥诚, 陈江, 李晓聪, 等. 美兰染色法检测酵母活性的优化实验[J]. 啤酒科技, 2006(12): 50-52.
- [7] 巴尼特. 酵母菌的特征与鉴定手册[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1991.
- [8] 宋亚娜, 陈瑞庆, 周莉娟, 等. 福建橄榄 18S-26S rRNA 及其 ITS 片段的克隆与序列分析[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(4):

(下转第 113 页)

- [9] Sugumaran K R, Jothi P, Ponnusami V. Bioconversion of industrial solid waste-Cassava bagasse for pullulan production in solid state fermentation[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 99(1): 22-30.
- [10] 韩鹏, 周鹏, 闫巧娟, 等. 嗜热枯草芽孢杆菌普鲁兰酶基因的表达与重组酶的性质[J]. 微生物学通报, 2011, 38(12): 1755-1761.
- [11] Wang H K, Sun Y, Chen C, et al. Genome shuffling of *Lactobacillus plantarum*, for improving antifungal activity[J]. Food Control, 2013, 32(2): 341-347.
- [12] 王雪松, 王莹, 于晓迪, 等. 茁芽短梗霉原生质体激光诱变及高产菌株筛选[J]. 生物技术, 2005, 15(1): 29-31.
- [13] 靳建忠, 王慧娟, 孔维甲, 等. 紫外诱变选育出芽短梗霉高产普鲁兰糖白化突变菌株[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 187-191.
- [14] 万翠香, 王贤卓, 郭建军, 等. 高产无色普鲁兰糖突变菌株 P1012 的选育及发酵性能研究[J]. 现代食品科技, 2015(1): 101-106.
- [15] Stephanopoulos G. Metabolic engineering by genome shuffling[J]. Nat Biotechnol, 2002, 20(7): 666-668.
- [16] Zhang Y X, Perry K, Vinci V A, et al. Genome shuffling leads to rapid phenotypic improvement in bacteria[J]. Nature, 2002, 415(6872): 644.
- [17] 冯印, 苏安祥, 王玉华. 复合诱变选育茁霉多糖高产菌株[J]. 中国酿造, 2011(8): 84-86.
- [18] Kang J X, Chen X J, Chen W R, et al. Enhanced production of pullulan in *Aureobasidium pullulans* by a new process of genome shuffling[J]. Process Biochemistry, 2011, 46(3): 792-795.
- [19] 张晶, 王丹, 张静, 等. 基因组改组选育低色素高产茁霉多糖生产菌株[J]. 食品科技, 2012(7): 16-21.
- [20] Zeng W, Chen G, Wu H, et al. Improvement of *Bacillus subtilis* for poly- γ -glutamic acid production by genome shuffling[J]. Microbial Biotechnology, 2016, 9(6): 824-833.
- [21] Tu G, Wang Y, Ji Y, et al. The effect of Tween 80 on the polymeric acid and pullulan production by *Aureobasidium pullulans* CCTCC M2012223[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(1): 219.
- [22] Chen Y, Guo J, Li F, et al. Production of pullulan from xylose and hemicellulose hydrolysate by *Aureobasidium pullulans*, AY82 with pH control and DL-dithiothreitol addition[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2014, 19(2): 282-288.
- [23] Zhou Y P, Ren X D, Wang L, et al. Enhancement of ϵ -polylysine production in ϵ -polylysine-tolerant *Streptomyces* sp. by genome shuffling[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2015, 38(9): 1705-1713.
- [24] 陈岩, 吴天祥. 复合诱变红曲霉选育高产壳聚糖菌株及培养基优化[J]. 中国酿造, 2009, 28(3): 43-46.
- [25] Li B X, Zhang N, Peng Q, et al. Production of pigment-free pullulan by swollen cell in *Aureobasidium pullulans*, NG which cell differentiation was affected by pH and nutrition[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 84(2): 293-300.
- [26] 马向东, 柯涛, 熊兰, 等. 一种鉴定多糖水解酶类及其产生菌的新方法[J]. 微生物学报, 2007, 47(6): 1102-1104.
- [27] Žmitić, Nikolić G S, Cakić M, et al. FTIR spectroscopic characterization of Cu(II) coordination compounds with exopolysaccharide pullulan and its derivatives[J]. Journal of Molecular Structure, 2009, s 924-926: 264-273.
- [28] Chan G F, Bamadhaj H M, Han M G, et al. Genome sequence of *Aureobasidium pullulans* AY4, an emerging opportunistic fungal pathogen with diverse biotechnological potential[J]. Eukaryotic Cell, 2012, 11(11): 1419.
- [29] 郝瑞颖, 王肇悦, 张博润, 等. 葡萄酒中酿酒酵母产生的重要香气化合物及其代谢调控[J]. 中国食品学报, 2012(11): 121-127.
- [30] 李婧, 罗苏苏, 张晓旭. 葡萄相关酵母多样性及其菌种鉴定的研究进展[J]. 食品工业科技, 2016(24): 391-394.

(上接第 104 页)

331-371.

[27] 王凤梅, 马利兵, 潘建刚. 分子生物学技术在酵母菌鉴定中的应用[J]. 综述与述评, 2009(10): 1-4.

[28] 杨静静, 孟镇, 钟其顶, 等. 分子生物学技术在酵母菌多相分类鉴定中的应用[J]. 中国酿造, 2011(4): 16-20.

(上接第 108 页)

5-9.

[9] Kurtzman C P, Suzuki M. Phylogenetic analysis of ascomycete yeasts that form coenzyme Q₉ and the proposal of the new genera *Babjeviella*, *Meyerozyma*, *Milleroyzyma*, *Priceomyces* and *Scheffersomyces*[J]. Mycoscience, 2010, 51(1): 2-14.

[10] Wahengbam Romi, Santosh Keisam, Giasuddin Ahmed. Reliable differentiation of *Meyerozyma guilliermondii* from *Meyerozyma caribbica* by internal transcribed spacer restriction fingerprinting[J]. BMC Microbiology, 2014(14): 52-62.

[11] Kim J S, Baek J H, Park N H, et al. Complete genome sequence of halophilic yeast *Meyerozyma caribbica* MG20W isolated from rhizosphere soil[J]. Genome Announce, 2015, 3

(2): e0012715.

[12] 江和源, 张建勇, 高晴晴. 茶皂素的性质、制备与应用[J]. 中国茶叶, 2007(3): 14-15.

[13] 姜金仲, 杨鹏鸣, 王超英, 等. 茶叶籽水浆发酵分层过程及其间总质量动态研究[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(2): 104-108.

[14] 毛青钟. 论黄酒发酵过程酵母和乳酸杆菌协同作用关系[J]. 山东食品发酵, 2006(1): 29-31.

[15] 李剑芳, 张灏. 发酵猕猴桃汁中产香酵母的分离鉴定及生长特性的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(9): 19-22.

[16] 于洋, 粟春燕, 陈晶瑜. 3 株葡萄酒非酿酒酵母的生长与发酵特性[J]. 食品科学, 2015, 36(19): 106-110.