

DOI:10.3969/j.issn.1000-1298.2010.10.033

梨酒专用酵母发酵工艺优化^{*}

张大为^{1,2} 董文宾¹ 张洁² 王能强²

(1. 陕西科技大学化学与化工学院, 西安 710021; 2. 湖南科技大学生命科学学院, 湘潭 411201)

【摘要】 为提高梨酒专用酵母 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的出酒率, 通过单因素试验初步确定 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的发酵条件为: 装液量 80 mL、接种量(体积分数)11%、初始 pH 值 5.5、培养温度 20℃、发酵时间 8 d。探讨了陈皮等 20 种中药作为刺激因子对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的出酒率的影响, 得出砂仁等 6 种中药对该菌体出酒率有显著的影响。采用 Plackett-Burman 试验和响应面分析法进一步优化了发酵条件及中药的添加量, 得出最佳值为: 培养温度 22℃、装液量 75.0 mL、初始 pH 值 5.71、发酵时间 8 d 和砂仁体积分数 1.0%, 此时出酒率为 16.92%, 比优化前提高了 23.7%。

关键词: 梨酒 发酵 酵母 优化 响应面分析 中药

中图分类号: TS261.4⁺3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2010)10-0159-06

Optimization of Perry Fermentation Technology Conditions

Zhang Dawei^{1,2} Dong Wenbin¹ Zhang Jie² Wang Nengqiang²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China

2. School of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract

In order to enhance the alcohol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02, the preliminary fermentation conditions were optimized by single factor test. The results indicated that the fermentation conditions were: agar volume 80 mL, inoculum concentration 11%, initial pH value 5.5, temperature 20℃, fermentation time 8 d. The influence of twenty kinds of Chinese herbs, such as *Pericarpium citri reticulatae*, as promoting factors on the alcohol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 was investigated. The influence of six kinds of Chinese herbs including *Amomum villosum* Lour on the alcohol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 were significant. The optimum fermentation conditions were determined by plackett-Burman design and response surface analysis. The optimum level of these fermentation conditions were: temperature 22℃, culture volume 75.0 mL, pH value 5.71, fermentation time 8 d, *Amomum villosum* Lour concentration 1.0%. The alcohol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 was 16.92%, which was enhanced 23.7%.

Key words Perry, Fermentation, Yeast, Optimization, Response surface, Chinese herbs

引言

为了提高发酵果酒的品质和出酒率, 应使用优良的人工酵母, 然而目前很少见到有关梨酒专用酵母, 生产中大多以葡萄酒酵母取代^[1-3]。由于梨汁与葡萄汁之间成分差别很大, 所以用葡萄酒酵母生

产梨酒口味欠佳, 不能突出梨所特有的香气^[4-6]。因此, 利用梨酒专用酵母生产梨酒是得到优质产品的必要条件。另外, 由于果酒的很多香气成分的前体物质是乙醇, 所以提高酒精度也是提高果酒品质的重要方面^[7-8]。

本文旨在利用中药作为刺激因子来增加梨酒专

收稿日期: 2009-11-17 修回日期: 2009-12-28

* “十一五”国家科技支撑计划资助项目(2006BAD04A11-04)

作者简介: 张大为, 博士生, 湖南科技大学讲师, 主要从事应用微生物研究, E-mail: z david_77@163.com

用酵母 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的出酒率,并对发酵条件进行优化,进一步增加该酵母的产酒精能力。

1 试验材料、仪器和方法

1.1 试验材料

菌种 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02(从自然发酵的梨酒中分离后经过原生质体融合得到),由湖南科技大学生命科学学院微生物实验室保存。

发酵培养基 20°Be 梨汁。

1.2 主要仪器

SPX-300BS-II 型生化培养箱,上海新苗医疗器械制造有限公司;HZQ-F100 型全温振荡培养箱,太仓市华美生化仪器厂;AIR TECH 型洁净工作台,苏净集团安泰公司;DN-3A 型显微镜图象分析系统 2.0,宁波永新光学股份有限公司。

1.3 培养方法

采用摇瓶培养,摇瓶体积为 100 mL,静止培养,培养温度为 25℃,时间为 10 d。

1.4 分析方法

参考 GB/T15038—2005 中酒精度的测定^[9]。

1.5 试验方法

1.5.1 单因素试验

分别对发酵条件的装液量(在 100 mL 摇瓶中装培养基的体积)、接种量(加入酵母液体种子的体积分数)、培养温度、初始 pH 值、发酵时间进行优化,确定上述因素的最佳值。

1.5.2 刺激因子优化

分别将 20 味中药:陈皮、肉桂、小茴香、五加皮、甘草、枸杞、杜仲、黄芪、藿香、当归、厚朴、丁香、麻黄、桂皮、栀子、苦参、砂仁、白扣、山萘、丹皮,制成中药药液(制备方法:将 20 味中药各取 3 g,分别加 60 mL 蒸馏水,用文火熬制 1 h 后,三层纱布过滤,最后用蒸馏水定容至 10 mL,制成中药药液)。制得的药液按发酵培养基体积的 0.3%、0.6%、0.9%、1.2% 添加到发酵培养基中,选出最佳刺激因子。作为对照组(空白对照)的培养基是相同体积的发酵培养基,不添加上述中药药液。

1.5.3 用 Plackett-Burman 试验筛选培养条件

选用试验次数 $N = 12$ 的 Plackett-Burman 试验设计,考察了 11 个因素:培养温度 x_1 、装液量 x_2 、初始 pH 值 x_3 、接种量 x_4 、发酵时间 x_5 、苦参 x_6 、砂仁 x_7 、杜仲 x_8 、陈皮 x_9 、厚朴 x_{10} 、枸杞 x_{11} ,每个因素取两水平,以发酵液出酒率为响应值。

1.5.4 响应面分析法优化培养条件

通过 Plackett-Burman 试验,确定了 5 个对菌体

积累影响显著的因素,以这 5 个因素为研究对象,进一步考察它们对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的影响,并对培养条件进一步优化^[10]。

2 结果与分析

2.1 发酵条件的优化

2.1.1 装液量

图 1 为装液量与出酒率的关系曲线。由图可见,装液量对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率影响很大,随着装液量的增加,出酒率不断增加,当装液量为 80 mL(发酵容器为 100 mL)时,菌体出酒率达到最大。当装液量继续增加时氧的含量减少,从而使酵母的生长数量受到影响,因此出酒率呈下降的趋势。所以,装液量以 80 mL 为宜。

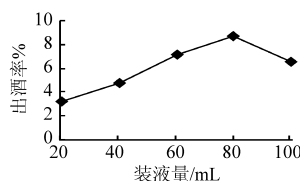


图 1 装液量与 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的关系曲线

Fig. 1 Effect of volume of liquid on ethanol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02

2.1.2 接种量

图 2 为接种量与出酒率的关系曲线。由图可见,接种量对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的影响不大,接种量体积分数为 1% 时,其出酒率不到 2%,随着接种量不断增加,出酒率呈上升趋势,接种量体积分数达到 7% 以后,基本趋于稳定,出酒率在 8% 左右,其中接种量体积分数为 11% 时,出酒率达到最大,故在此条件下接种量以体积分数 11% 为佳。在一定范围内较大的接种量有利于菌体生长。

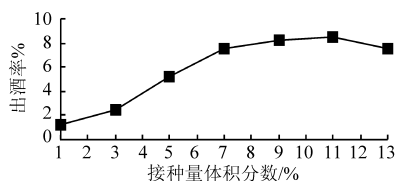


图 2 接种量与 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的关系曲线

Fig. 2 Effect of inoculum on ethanol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02

2.1.3 培养温度

图 3 为培养温度与出酒率的关系曲线。由图可见,培养温度对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的影响很大。当培养温度为 18~24℃ 时均适宜该菌的发酵,但 24℃ 后发酵能力显著下降。当温度为 20℃ 时出酒率达到最大,故培养温度选 20℃ 为宜。

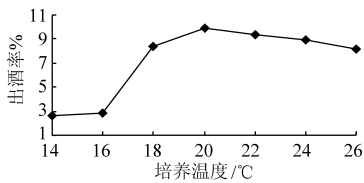


图 3 培养温度与 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的关系曲线

Fig. 3 Effect of incubation temperature on ethanol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02

2.1.4 初始 pH 值

图 4 为初始 pH 值与出酒率的关系曲线。从图可看出, pH 值为 4.0 ~ 4.6 时, 不适宜菌体产酒精, 出酒率不到 2%; 当初始 pH 值为 4.6 ~ 4.9 时, 出酒率迅速增大, 接近最大值; 而 pH 值为 5.5 ~ 6.5 条件下适宜酒精的产生, pH 值为 5.5 时出酒率最大。随着 pH 值继续增大, 将不利于菌体生长及酒精的产生。故确定最佳 pH 值为 5.5。

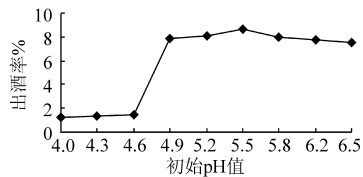


图 4 初始 pH 值与 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的关系曲线

Fig. 4 Effect of initial pH value on ethanol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02

2.1.5 发酵时间

图 5 为发酵时间与出酒率的关系曲线。由图可见, 从发酵开始, 出酒率呈缓慢上升的趋势, 8 d 以后出酒率趋于稳定, 故发酵时间对发酵的影响不大。最佳发酵时间为 8 d。

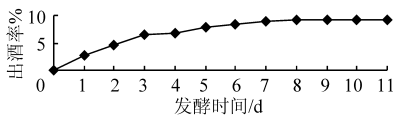


图 5 发酵时间与 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 出酒率的关系曲线

Fig. 5 Effect of fermentation time on ethanol yield of *Saccharomyces cerevisiae* DJ02

2.1.6 刺激因子的优化

不同种类中药对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的刺激效果如表 1 所示。

由表可以看出, 枸杞、杜仲、苦参、厚朴、陈皮和砂仁 6 味中药对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的出酒率均具有增加的作用, 其中杜仲、陈皮、砂仁对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的出酒率增加效果显著; 其中添加砂仁时, 对该菌的出酒率增加作用最显著, 随着添加的体积分数增加, 出酒率也逐渐增大,

当体积分数为 0.9% 时, 达到最大为 13.68%。对照组出酒率为 8.87%。

表 1 刺激因子对出酒率的影响

Tab. 1 Effect of stimulating factor on ethanol yield

名称	中药药液体积分数/%			
	0.3	0.6	0.9	1.2
山萘	7.84	7.54	7.86	7.97
肉桂	7.81	8.16	7.82	7.96
小茴香	8.09	7.96	7.86	7.78
五加皮	8.02	7.74	7.68	7.52
甘草	7.96	7.82	7.75	7.85
黄芪	7.97	7.70	8.13	8.11
苦参	13.21	13.22	13.31	13.10
枸杞	13.16	13.32	13.21	13.15
藿香	7.69	7.91	8.19	8.24
当归	13.06	12.77	12.75	13.60
杜仲	13.35	13.36	13.25	12.94
丁香	7.58	7.60	7.97	8.00
麻黄	7.66	7.71	7.76	7.88
桂皮	7.89	7.70	7.73	8.04
栀子	7.81	7.94	8.10	7.48
厚朴	13.11	13.16	13.39	13.40
陈皮	13.16	13.54	13.56	13.53
白扣	7.64	7.89	7.92	7.88
砂仁	13.21	13.38	13.68	13.10
丹皮	7.86	7.60	7.61	7.62

2.2 Plackett-Burman 试验筛选显著因素

Plackett-Burman 试验的安排如表 2、3 所示。借助 SPSS 软件对试验结果进行统计分析, 并且通过 *t*-检验从 11 个因素中选出了 5 个对 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02 的出酒率影响明显的因素为: 培养温度、装液量、初始 pH 值、发酵时间、砂仁。

2.3 响应面分析法优化培养条件

2.3.1 试验安排及试验结果

通过 Plackett-Burman 试验, 确定了 5 个对菌体积累影响显著的因素, 以这 5 个因素为研究对象, 进一步考察它们对菌体积累的影响, 并对培养基条件进行优化。设 5 个因素: 培养温度、装液量、初始 pH 值、发酵时间、砂仁体积分数为自变量, 出酒率为响应值, 利用响应面分析法和 Design Expert 软件设计试验 (表 4), 并对试验结果进行分析 (表 5)。

2.3.2 出酒率模型的建立及显著性检验

应用 Design Expert 软件对表 5 的数据进行了多元回归拟合, 可得培养温度 x_1 、装液量 x_2 、初始 pH

表 2 Plackett-Burman 试验设计及响应值

Tab.2 Design and response value of Plackett-Burman experiment

序号	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}	出酒率/%
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	14.36
2	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	12.17
3	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	13.28
4	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	13.01
5	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	15.63
6	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	14.78
7	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	13.95
8	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	13.64
9	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	11.11
10	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	13.69
11	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	12.88
12	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	10.95

表 3 以 Plackett-Burman 试验设计各因素、水平及影响效果

Tab.3 Factors, levels and effect results of Plackett-Burman experiment design

因素	水平编码		t-检验	次序
	-1	1		
培养温度 $x_1/^\circ\text{C}$	18	22	5.11	2
装液量 x_2/mL	75	85	3.87	4
初始 pH 值 x_3	5.2	5.8	4.30	3
接种量 $x_4/\%$	9	13	-0.06	11
发酵时间 x_5/d	6	8	3.14	5
苦参体积分数 $x_6/\%$	0.8	1.0	-0.09	10
砂仁体积分数 $x_7/\%$	0.8	1.0	5.77	1
陈皮体积分数 $x_8/\%$	0.8	1.0	-0.23	8
杜仲体积分数 $x_9/\%$	0.8	1.0	-0.34	6
厚朴体积分数 $x_{10}/\%$	1.1	1.3	-0.30	7
枸杞体积分数 $x_{11}/\%$	0.5	0.7	0.16	9

表 4 五因素五水平试验设计

Tab.4 Experiment design of five factors and five levels

水平编码	因素				
	温度 $x_1/^\circ\text{C}$	装液量 x_2/mL	pH 值 x_3	发酵时间 x_5/d	砂仁体积分数 $x_7/\%$
-2	16	70	4.9	5	0.7
-1	18	75	5.2	6	0.8
0	20	80	5.5	7	0.9
1	22	85	5.8	8	1.0
2	24	90	6.1	9	1.1

表 5 响应面分析试验结果

Tab.5 Results of response surface analysis experiment

序号	X_1	X_2	X_3	X_5	X_7	出酒率 $R_1/\%$
1	-1	-1	-1	-1	1	11.58
2	-1	-1	-1	1	-1	11.15
3	-1	-1	1	1	1	13.00
4	-1	-1	1	-1	-1	12.66
5	-1	1	1	-1	1	9.28
6	-1	1	-1	-1	-1	8.39
7	-1	1	-1	1	1	7.57
8	-1	1	1	1	-1	8.99
9	1	-1	1	-1	1	16.03
10	1	-1	1	1	-1	14.84
11	1	-1	-1	1	1	16.83
12	1	-1	-1	-1	-1	10.23
13	1	1	1	-1	-1	14.48
14	1	1	1	1	1	13.74
15	1	1	-1	-1	1	12.23
16	1	1	-1	1	-1	11.03
17	0	0	0	0	0	14.35
18	0	0	0	0	0	14.48
19	0	0	0	0	0	14.31
20	0	0	0	0	0	14.07
21	0	0	0	0	0	15.26
22	0	0	0	0	0	13.94
23	2	0	0	0	0	14.78
24	-2	0	0	0	0	7.67
25	0	2	0	0	0	13.42
26	0	-2	0	0	0	11.04
27	0	0	2	0	0	14.37
28	0	0	-2	0	0	10.43
29	0	0	0	2	0	12.96
30	0	0	0	-2	0	12.43
31	0	0	0	0	2	12.89
32	0	0	0	0	-2	11.16

值 x_3 、发酵时间 x_5 、砂仁 x_7 5 个因素编码值与出酒率 R_1 二次多项回归方程为

$$R_1 = -464.36694 + 1.25271X_1 + 4.21075X_2 + 34.07083X_3 + 21.67708X_5 + 248.40000X_7 + 0.021500X_1X_2 + 0.81250X_1X_3 + 0.012500X_1X_5 + 1.16875X_1X_7 + 0.20000X_2X_3 - 0.15800X_2X_5 - 1.61250X_2X_7 - 0.36667X_3X_5 - 4.29167X_3X_7 - 1.56250X_5X_7 - 0.19094X_1^2 - 0.020500X_2^2 - 5.22222X_3^2 - 0.39625X_5^2 - 56.37500X_7^2$$

所拟合的全变量二次回归方程的决定系数 $R^2 = 0.9729$, 说明回归方程的拟合程度较好。由表 6 方差分析可知, 回归模型的 F -检验显著, 说明所拟合的二次回归方程合适, 能正确反应出酒率与 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_5 及 X_7 之间的关系, 模型可以较好地体系的各各种试验结果进行预测。

表 6 模型方差分析

Tab. 6 Analysis of variance of model

模拟项	系数估计	标准差	平方和	F 值	P 值(Prob > F)
截距	14.39	0.50	180.11	5.76	0.0024
X_1	1.89	0.26	85.43	54.65	<0.0001
X_2	-0.48	0.26	5.59	3.57	0.0853
X_3	0.73	0.26	12.94	8.28	0.0151
X_5	0.32	0.26	2.41	1.54	0.2405
X_7	0.68	0.26	10.96	7.01	0.0227
X_1X_2	0.22	0.31	0.74	0.47	0.5058
X_1X_3	0.49	0.31	3.80	2.43	0.1471
X_1X_5	0.025	0.31	0.01	0.01	0.9377
X_1X_7	0.23	0.31	0.87	0.56	0.4702
X_2X_3	0.30	0.31	1.44	0.92	0.3578
X_2X_5	-0.79	0.31	9.99	6.39	0.0281
X_2X_7	-0.81	0.31	10.40	6.65	0.0256
X_3X_5	-0.11	0.31	0.19	0.12	0.7315
X_3X_7	-0.13	0.31	0.27	0.17	0.6883
X_5X_7	-0.16	0.31	0.39	0.25	0.6270
X_1^2	-0.76	0.23	17.11	10.95	0.0070
X_2^2	-0.51	0.23	7.70	4.93	0.0484
X_3^2	-0.47	0.23	6.48	4.15	0.0666
X_5^2	-0.40	0.23	4.61	2.95	0.1141
X_7^2	-0.56	0.23	9.32	5.96	0.0327

2.3.3 响应面分析及最佳条件的确立

借助 Design Expert 软件依据回归方程来绘制响应面立体分析图,考察所拟合的相应曲面形状如图 6 所示。

由图 6 可知,培养温度是影响出酒率的主要因素,其次是 pH 值、砂仁体积分数、装液量和发酵时间。砂仁体积分数、pH 值以及发酵时间之间的交互作用对出酒率有较显著的影响。由此可见,砂仁等

中药对出酒率的作用与众多因素有关,另外几种有良好刺激作用的中药对该菌出酒率的影响不是很显著。

对回归方程进行岭脊分析,得到响应面最佳条件及出酒率的预测值。本次试验中,得到最佳理论条件为:培养温度 22℃、装液量 75.0 mL、初始 pH 值 5.71、发酵时间 8.0 d、砂仁体积分数为 1.0%。在该条件下预测出酒率可达到 17.24%。

2.3.4 方程的验证

由于最佳条件未包括在响应面优化的 32 组试验中,需要进一步确认计算结果。采用上述最佳条件发酵 *Saccharomyces cerevisiae* DJ02,发现菌株在此条件下出酒率为 16.92%,与试验预测值 17.24% 接近,比响应面优化前提高了 23.7%。

3 结论

(1) 通过单因素试验确定了基本发酵条件为:装液量 80 mL、接种体积分数 11%、初始 pH 值 5.5、培养温度 20℃、发酵时间 8 d。

(2) 通过添加中药刺激因子,发现砂仁、枸杞、杜仲、苦参、厚朴和陈皮 6 种中药对该菌体出酒率有显著的影响,其中砂仁的刺激作用最为明显,出酒率达到了 13.68%。

(3) 通过 Plackett-Burman 试验发现,在安排的 11 个试验因素中 5 个影响显著的因素为:培养温度、装液量、初始 pH 值、发酵时间以及砂仁体积分数。

(4) 通过 Box-Behnken 中心组合设计对影响出酒率显著的 5 个因素进一步优化。采用响应面方法对试验结果进行分析,得到优化条件为:培养温度 22℃、装液量 75.0 mL、初始 pH 值 5.71、发酵时间 8 d 和砂仁体积分数 1.0%,此时出酒率为 16.92%,比优化前提高了 23.7%。

参 考 文 献

- Rainier S, Pretorius I S. Selection and improment of wine yeasts[J]. Annals of Microbiology, 2000, 50 (1):15 ~ 31.
- Uthurry C A. Ethyl carbamate production by selected yeasts and lactic acid bacteria in red wine[J]. Food Chemistry, 2006, 94(2):262 ~ 270.
- Audery Serra, Influence of temperature and pH on Saceharomyces bayanus var. uvarum growth, impact of a wine yeast interspecific hybridization on these parameters[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 104(3):257 ~ 265.
- Fleet H, Heard G M. Yeast-growth during fermentation [M] // Fleet H. Wine Microbiology and Biotechnology. Chur: Harwood Academic Publishers, 1993.
- Chalier Pascale, Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains [J]. Food Chemistry, 2007, 100(1):22 ~ 34.
- Palomo Sanchez E. Aroma enhancement in wines from different grape varieties using exogenous glycosidases [J]. Food Chemistry, 2005, 10, 92(4):627 ~ 635.

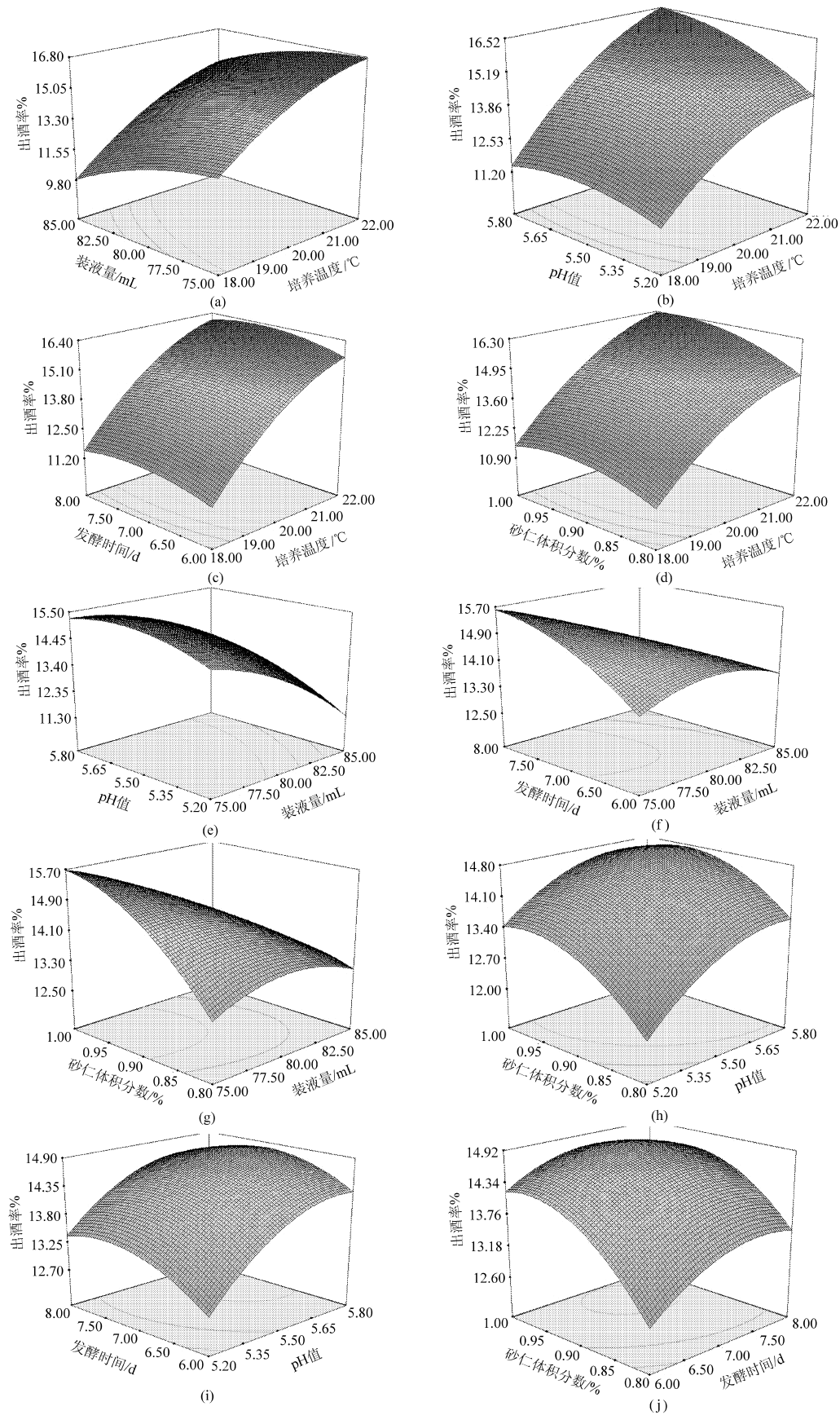


图6 培养温度、装液量、pH值、发酵时间和砂仁体积分数交互作用的响应面

Fig.6 Response surface of temperature, volume of liquid, pH value, fermentation time and *Amomum villosum* Lour interaction

(a) 培养温度与装液量 (b) 培养温度与pH值 (c) 培养温度和发酵时间 (d) 培养温度和砂仁体积分数 (e) 装液量和pH值 (f) 装液量和发酵时间 (g) 装液量和砂仁体积分数 (h) pH值和砂仁体积分数 (i) pH值和发酵时间 (j) 发酵时间和砂仁体积分数

- 2 袁国富, 罗毅, 孙晓敏, 等. 作物冠层表面温度诊断冬小麦水分胁迫的试验研究[J]. 农业工程学报, 2002, 18(6): 13~17.
Yuan Guofu, Luo Yi, Sun Xiaomin, et al. Winter wheat water stress detection based on canopy surface temperature[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2002, 18(6): 13~17. (in Chinese)
- 3 Maleki M R, Mouazen A M, Ketelaere B De, et al. On-the-go variable-rate phosphorus fertilization based on a visible and near-infrared soil sensor[J]. Biosystem Engineering, 2008, 99(1): 35~46.
- 4 Corwin D L, Lesch S M. Apparent soil electrical conductivity measurements in agriculture[J]. Computers and Electronics in Agriculture, 2005, 46(1~3): 11~43.
- 5 杨敏华, 刘良云, 刘团结, 等. 小麦冠层理化参量的高光谱遥感反演试验研究[J]. 测绘学报, 2002, 31(4): 316~321.
Yang Minhua, Liu Liangyun, Liu Tuanjie, et al. Research on a method to retrieve biophysical and biochemical parameters of wheat canopy with hyperspectral remote sensing[J]. Acta Geodaetica et Cartographica Sinica, 2002, 31(4): 316~321. (in Chinese)
- 6 Han Shufeng, He Yong. Remote sensing of crop nitrogen needs and variable-rate nitrogen application technology[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2002, 18(5): 28~33.
- 7 赵春江, 黄文江, 王纪华, 等. 用多角度光谱信息反演冬小麦叶绿素含量垂直分布[J]. 农业工程学报, 2006, 22(6): 104~109.
Zhao Chunjiang, Huang Wenjiang, Wang Jihua, et al. Extracting winter wheat chlorophyll concentration vertical distribution based on bidirectional canopy reflected spectrum[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(6): 104~109. (in Chinese)
- 8 冯雷, 方慧, 周伟军, 等. 基于多光谱视觉传感技术的油菜氮含量诊断方法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(9): 1749~1752.
Feng Lei, Fang Hui, Zhou Weijun, et al. Nitrogen stress measurement of canola based on multi-spectral charged coupled device imaging sensor[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2006, 26(9): 1749~1752. (in Chinese)
- 9 黄木易, 黄文江, 刘良云, 等. 冬小麦锈病单叶光谱特征及严重度反演[J]. 农业工程学报, 2004, 20(1): 176~180.
Huang Muyi, Huang Wenjiang, Liu Liangyun, et al. Spectral reflectance feature of winter wheat single leaf infected with stripe rust and severity level inversion[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2004, 20(1): 176~180. (in Chinese)
- 10 蔡成静, 马占鸿, 王海光, 等. 小麦条锈病高光谱近地与高空遥感监测比较研究[J]. 植物病理学报, 2007, 37(1): 77~82.
Cai Chengjing, Ma Zhanhong, Wang Haiguang, et al. Comparison research of hyperspectral properties between near-ground and high altitude of wheat stripe rust[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2007, 37(1): 77~82. (in Chinese)
- 11 Fukatsu T, Hirafuji M. Field monitoring using sensor-nodes with a web server[J]. Journal of Robotics and Mechatronics, 2005, 17(2): 164~172.
- 12 郭志伟, 张云伟, 李霜, 等. 基于 GSM 的农田气象信息远程监控系统设计[J]. 农业机械学报, 2009, 40(3): 161~166.
Guo Zhiwei, Zhang Yunwei, Li Shuang, et al. GSM-based remote monitoring system of farm field meteorological information [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(3): 161~166. (in Chinese)

(上接第 164 页)

- 7 Cavazza A, Versini G. Characterization of six *Saccharomyces cerevisiae* strains on the basis of their volatile composition production, as found in wine of different aroma profiles[J]. Yeast, 1989, 5(2): 163~167.
- 8 Gil J V, Mateo J J. Aroma compounds in wine as influenced by apiculate yeasts[J]. Journal Food Science, 1996, 61(6): 1247~1249.
- 9 GB/T 15038—2006 葡萄酒、果酒通用分析方法[S].
GB/T 15038—2006 Analytical methods of wine and fruit wine[S]. (in Chinese)
- 10 Sanket Joshi, Sanjay Yadav. Application of response-surface methodology to evaluate the optimum medium components for the enhanced production of lichenysin by *Bacillus Licheniformis* R2[J]. Biochemical Engineering Journal, 2008, 41(2): 122~127.