

3 株酿酒酵母发酵过程中有机酸含量变化分析

Analysis of organic acid contents in three kind of *Saccharomyces cerevisiae*

裴芳艺 姜 明 马岩石 陈 雪

PEI Fang-yi JIANG Ming MA Yan-shi CHEN Xue

刘振艳 刘 溪 陈晓婷

LIU Zhen-yan LIU Xi CHEN Xiao-ting

(齐齐哈尔医学院科研处卫生检验中心, 黑龙江 齐齐哈尔 161000)

(Sanitary Inspection Center, Research Office, Qiqihar Medical University,
Qiqihar, Heilongjiang 161000, China)

摘要:通过高效液相色谱法对 3 株酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 发酵过程中葡萄糖、甘油、乙醇及有机酸含量进行测定分析。结果表明: *S. cerevisiae* 1946 发酵体系中甘油和乙醇的含量显著高于 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 发酵体系 ($P < 0.05$); 3 株酿酒酵母发酵液中 7 种有机酸存在明显的差异性和规律性; *S. cerevisiae* 1946 发酵体系中有机酸的含量低于 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 发酵体系, *S. cerevisiae* 的产酸水平与产乙醇能力呈负相关关系。

关键词:酿酒酵母; 有机酸; 含量分析; 高效液相色谱法

Abstract: In this study, the contents of glucose, glycerol, ethanol and organic acids in the fermentation process of three *Saccharomyces cerevisiae* were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the content of glycerol and ethanol in *S. cerevisiae* 1946 was significantly higher than that in *S. cerevisiae* P1 and *S. cerevisiae* 32788 ($P < 0.05$). The seven organic acids in the three kinds of *S. cerevisiae* fermentation broth have obvious differences and regularity. The content of organic acids in *S. cerevisiae* 1946 was lower than that in *S. cerevisiae* P1 and *S. cerevisiae* 32788. The acid production level of *S. cerevisiae* was negatively correlated with ethanol production capacity.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*; organic acids; contents; high performance liquid chromatography

酵母菌是人类文明史上利用最早的微生物, 为兼性厌氧菌, 其中属酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 利用得最为普遍^[1]。 *S. cerevisiae* 又称面包酵母或者出芽酵母, 是一种公认的与人类关系最广泛的 GRAS (Generally Regarded As Safe) 微生物, 广泛用于制作面包和馒头等食品, 在工业生产中, 主要应用于发酵谷类酿造酒类^[2-4]。

不同的 *S. cerevisiae* 种因其独特的代谢方式直接影响发酵过程中有机酸的分泌, 而有机酸是发酵食品中酸味的重要组成部分, 与发酵食品的质量评价和品质管理有着密切的关系^[5-6]。对酸味起主要作用的有机酸为柠檬酸、乳酸、乙酸等^[7], 其中柠檬酸有清爽宜人的味道, 给人一种持续的味觉刺激, 柠檬酸含量越高, 风味越好^[8]。总酸含量偏高, 会出现口感粗糙、不协调; 总酸含量偏低则会出现口感黏稠、不爽口; 适宜的总酸, 能够赋予酿造食品尤其是酒精饮料的平衡协调、柔和清爽、活泼的口感^[9-10]。由于有机酸种类、含量及其比例关系对酿造食品的风味、pH 值等都有重要的影响^[11]。目前对于发酵食品中有机酸的研究主要集中在乳酸菌等益生菌上^[12], 并未对 *S. cerevisiae* 发酵过程中有机酸含量变化进行研究。此外, 当前的研究焦点是利用基因工程手段提高乙醇^[13]、2,3-丁二醇等醇类物质产量^[14], 忽略了酵母菌有机酸代谢途径的研究, 及其在食品、酒精饮料中的作用。

有机酸及代谢产物的分析方法有气相色谱法 (Gas chromatography, GC)、高效液相色谱法 (High performance liquid chromatography, HPLC) 及核磁共振法 (Nuclear magnetic resonance, NMR)。其中, GC 法在挥发性代谢产物的研究方面具有一定的优势, 然而操作过程中需要对样品进行衍生化处理, 使得产物大量损失。

基金项目: 黑龙江省教育厅项目 (编号: 2017-KYYWF-0699)

作者简介: 裴芳艺 (1990—), 女, 齐齐哈尔医学院研究实习生, 硕士。E-mail: fangyipei@126.com

收稿日期: 2019-05-14

NMR 由于价格昂贵,分析较复杂,在常规检测中应用较少。HPLC 因其操作简便,检测灵敏,是目前有机酸及食品风味物质研究的主要手段。因此,试验拟利用 HPLC 对 3 株 *S. cerevisiae* 发酵过程中葡萄糖、甘油、乙醇及有机酸含量进行测定分析,力求找寻能够提高食品、酒类产

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌株

S. cerevisiae 1946(CICC 1946)、*S. cerevisiae* 32788 (CICC 32788): 中国工业微生物菌种保藏管理中心(CICC);

S. cerevisiae P1:实验室自行分离。

1.1.2 试剂

硫酸:色谱纯,天津科密欧有限公司;

无水柠檬酸、 α -酮戊二酸、琥珀酸、L-乳酸、甲酸、乙酸标准品:色谱纯,上海源叶生物科技有限公司。

1.1.3 培养基

酵母浸出粉胨葡萄糖琼脂培养基(YPD)(货号 HB5193)、YPD 液体培养基(货号 HB5193-1):青岛海博生物技术有限公司。

葡萄糖单碳源发酵培养基:葡萄糖 80 g,酵母提取物 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.5 g, KH_2PO_4 2.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g,无水 CaCl_2 0.25 g,蒸馏水 1 L,调 pH 至 5.0,108 $^\circ\text{C}$ 高压湿热灭菌 20 min,用于 *S. cerevisiae* 发酵培养。

1.1.4 仪器与设备

高效液相色谱仪:WatersTMe2695 型,美国 Waters 公司;

高速离心机:5804R 型,上海艾研生物科技有限公司;

生化培养箱:BSP-400 型,上海博讯有限公司;

往复式恒温振荡水域培养摇床:SPH-110X12 型,上海世平实验设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株活化 将甘油管保藏的菌株 *S. cerevisiae* 1946、*S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* P1 分别接种于 20 mL YPD 液体培养基中,30 $^\circ\text{C}$ 、140 r/min 振荡培养 24 h,活化菌株。将活化后的菌液分别三区划线于 YPD 固体平板上,30 $^\circ\text{C}$ 、静置培养 48 h。连续传代培养 3 代后,挑取生长状况优良的单菌落分别接种于 100 mL/250 mL YPD 液体培养基中,制备种子液。

1.2.2 制备发酵液 将种子液以 5 mL/100 mL 的接种量接种于葡萄糖单碳源发酵培养基中,30 $^\circ\text{C}$ 、200 r/min 培养 60 h,每隔 6 h 取适量发酵液,待测。

1.2.3 高效液相色谱分析 AminexHPX-87H 有机酸分析柱(300 mm $\times$ 7.8 mm; Bio-Rad; Hercules)。流动相:0.005 mol/L H_2SO_4 ,流速 0.6 mL/min,进样量 20 μL ,柱温 35 $^\circ\text{C}$,检测波长 210 nm。配置不同浓度标准品(0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 g/L),取稀释后标准品 1 mL,13 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,过 0.22 μm 滤膜后进样,进样量 20 μL /针,测定得到相应浓度的峰面积与出峰时间,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。取发酵液 1 mL 进行梯度稀释 100 倍,13 000 r/min 离心 10 min 后取上清液,过 0.22 μm 滤膜后进样,进样量 20 μL /针,根据各组分出峰面积和标准曲线,计算各组分含量。

1.3 数据处理

每个试验重复 3 次,结果以(均值 $\pm$ 标准差)表示,统计检验的显著水平设定为 0.05。利用 JMP (Version 9.0.2,SAS,Inc)软件进行方差分析及多重比较,并用 Sigmaplot (Version 10.0,Systat Software,Inc)软件绘图。

2 结果与分析

2.1 标准溶液的色谱分析及回归方程

通过 HPLC 色谱图可知标准品出峰效果良好,按照出峰时间顺序依次为柠檬酸(7.6 min)、 α -酮戊二酸(8.0 min)、葡萄糖(8.6 min)、丙酮酸(9.0 min)、苹果酸(10.9 min)、琥珀酸(11.4 min)、L-乳酸(12.0 min)、甘油(12.9 min)、甲酸(13.4 min)、乙酸(14.6 min)、乙醇(21.4 min)。以进样量(mg/mL)为横坐标,峰面积(mAU $\cdot$ min)为纵坐标,绘制标准曲线,进行线性回归,建立回归方程,如表 1 所示。由表 1 可知,相关系数符合试验预期要求($R^2 > 0.99$),表明该色谱工作条件测定性能稳定、重现性高。

表 1 各种试剂的回归方程及相关系数

Table 1 Regression equation and correlation coefficient of reagent

试剂	回归方程	相关系数(R^2)
柠檬酸	$y=2\ 614\ 290.0x-10\ 730.0$	0.999 8
α -酮戊二酸	$y=3\ 585\ 990.0x-10\ 372.8$	0.999 9
葡萄糖	$y=1\ 999\ 371.7x+26\ 317.8$	0.993 6
丙酮酸	$y=3\ 914\ 825.0x-10\ 007.9$	0.999 9
苹果酸	$y=2\ 648\ 420.0x-19\ 548.0$	0.999 3
琥珀酸	$y=1\ 690\ 980.0x-16\ 363.2$	0.999 0
L-乳酸	$y=1\ 448\ 280.0x-10\ 355.0$	0.999 2
甘油	$y=1\ 614\ 676.1x-22\ 870.1$	0.994 2
甲酸	$y=2\ 632\ 740.0x-17\ 202.8$	1.000 0
乙酸	$y=1\ 582\ 025.0x-12\ 635.3$	0.999 0
乙醇	$y=765\ 441.4x-26\ 047.0$	0.990 3

2.2 葡萄糖、甘油和乙醇含量变化

2.2.1 葡萄糖 由图 1 可知,随着发酵的进行葡萄糖被不断消耗,在发酵 12 h 时,葡萄糖均被消耗殆尽。在发酵 6 h 时,3 种发酵体系中葡萄糖的剩余量分别为 (10.01 ± 2.50) (*S. cerevisiae* P1), (5.73 ± 0.71) (*S. cerevisiae* 1946), (8.54 ± 0.93) (*S. cerevisiae* 32788) g/L,*S. cerevisiae* 1946 对葡萄糖的利用速度大于 *S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* P1。

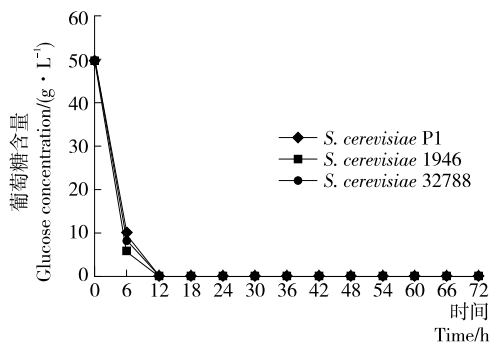


图 1 3 株 *S. cerevisiae* 发酵体系中葡萄糖含量变化曲线

Figure 1 Glucose change curve of 3 kinds of *S. cerevisiae*

2.2.2 甘油 由图 2 可知,随着葡萄糖的不断消耗,菌株大量繁殖,甘油呈现先急速上升后保持稳定的趋势。在整个发酵过程中(除发酵 24 h 外),*S. cerevisiae* 1946 发酵体系中甘油的含量显著高于 *S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* P1 发酵体系($P < 0.05$),而 *S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* P1 发酵体系中甘油的含量无显著差异($P > 0.05$)。在发酵末期,3 种发酵体系中甘油的含量分别为 (3.25 ± 0.14) (*S. cerevisiae* P1), (3.51 ± 0.03) (*S. cerevisiae* 1946), (3.30 ± 0.10) (*S. cerevisiae* 32788) g/L。甘油作为中性代谢物质在维持细胞内外渗透压均衡的基础上,起到调节氧化还原的作用^[15-16]。

2.2.3 乙醇 由图 3 可知,随着发酵的进行乙醇的含量呈现先急速上升后略有下降最后保持平稳的趋势。在发

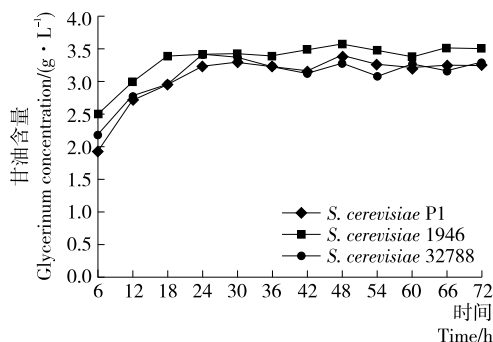


图 2 3 株 *S. cerevisiae* 发酵体系中甘油含量变化曲线

Figure 2 Glycerol change curve of 3 kinds of *S. cerevisiae*

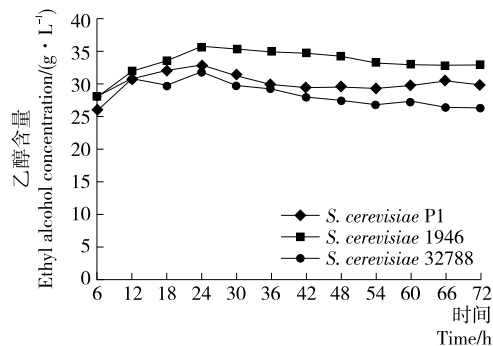


图 3 3 株 *S. cerevisiae* 发酵体系中乙醇含量变化曲线

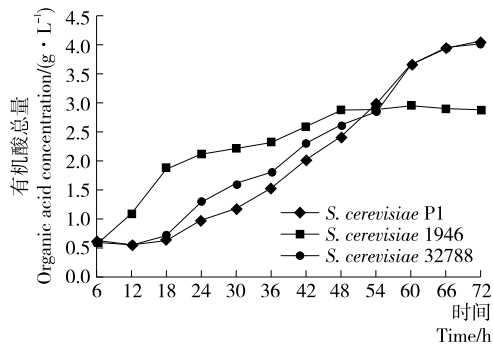
Figure 3 Ethanol change curve of 3 kinds of *S. cerevisiae*

酵 24 h 时,乙醇含量最高,在 3 个发酵体系中分别为 (32.85 ± 0.54) (*S. cerevisiae* P1), (35.82 ± 0.67) (*S. cerevisiae* 1946), (32.00 ± 2.64) (*S. cerevisiae* 32788) g/L。从整个发酵过程来看,在 *S. cerevisiae* 1946 发酵体系中,乙醇的含量始终高于 *S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* 1946 发酵体系。在发酵末期,*S. cerevisiae* 1946 发酵体系中乙醇的含量最高,为 (29.88 ± 1.28) g/L。相较于 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788,*S. cerevisiae* 1946 可以有效地将葡萄糖转化成乙醇。

综上所述,酵母菌在发酵过程中将 α -酮戊二酸、丙酮酸和乳酸逐渐转化为乙醇代谢中间产物,随着发酵时间的延长,乙醇和甘油的浓度逐渐增加。在发酵后期,由于营养物质消耗殆尽,酵母菌生长代谢活性降低,导致甘油含量稳定,乙醇含量略有减少^[17],与试验结果相符。然而,随着乙醇发酵的进行,发酵液中酒精度不断增加,较高的酒精度会抑制酵母细胞的生长^[18]。因此 *S. cerevisiae* 1946 虽然可以有效地代谢葡萄糖产生乙醇,但其生长状况不如 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788。

2.3 有机酸含量变化

2.3.1 有机酸总量 由图 4 可知,随着发酵的进行有机酸含量呈现先升高后保持平稳的趋势,而在 *S. cerevisiae* 1946 发酵体系中,有机酸的含量上升较快,在前 48 h 时,始终高于 *S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* P1 发酵体系。发酵 48 h 后,*S. cerevisiae* 1946 体系中有有机酸含量保持稳定,而 *S. cerevisiae* 32788 和 *S. cerevisiae* P1 体系中有有机酸含量继续快速升高,在 66 h 时趋于稳定。在发酵末期,3 种发酵体系中有有机酸的含量分别为 (4.05 ± 0.02) (*S. cerevisiae* P1), (2.88 ± 0.04) (*S. cerevisiae* 1946), (4.02 ± 0.03) (*S. cerevisiae* 32788) g/L。*S. cerevisiae* 1946 中有有机酸的含量积累的速度大于 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 发酵体系,但在发酵末期有机酸含量较低。因此可以看出,*S. cerevisiae* P1 可以快速地利用葡萄糖产生甘油、有机酸,但与 *S. cere-*



有机酸总量为每一发酵体系中各种有机酸的总量

图4 3株 *S. cerevisiae* 发酵体系中有机酸总量变化曲线

Figure 4 Total organic acid change curve of 3 kinds of *S. cerevisiae*

visiae 32788 和 *S. cerevisiae* P1 相比, *S. cerevisiae* 1946 转化率较低,可能是菌株在生长代谢过程中,利用葡萄糖产生其他代谢产物。酸类物质是酒精饮料中重要的风味物质,在酒精饮料中有增加浓厚感和减少甜味的作用,但酸含量要适中,否则会影响酒精饮料的口感和风味^[19]。

2.3.2 各有机酸含量 由图5可知,在整个发酵过程中,共检测到7种有机酸。随着发酵的进行各有机酸含量不断升高。发酵12 h时,在 *S. cerevisiae* P1 中,琥珀酸含量最高,为 (0.18 ± 0.05) g/L,其次为丙酮酸 $[(0.15 \pm 0.04)$ g/L];在 *S. cerevisiae* 1946 中,乙酸的含量最高,为 (0.52 ± 0.01) g/L,其次为丙酮酸 $[(0.37 \pm 0.08)$ g/L];在 *S. cerevisiae* 32788 中,丙酮酸的含量最高,为 (0.19 ± 0.01) g/L,其次为琥珀酸 $[(0.14 \pm 0.03)$ g/L]。此时, *S. cerevisiae* 1946 发酵体系中,无论是有机酸种类还是有机酸含量均与 *S. cerevisiae* 32788、*S. cerevisiae* P1 发酵体系不同。随着发酵时间的延长, *S. cerevisiae* 1946 体系中有机酸种类减少,但有机酸含量逐渐升高。在 *S. cerevisiae* P1 体系中,乙酸、丙酮酸、琥珀酸的含量显著增加($P < 0.05$),柠檬酸、甲酸含量不断减少。而在 *S. cerevisiae* 32788 体系中,除 L-乳酸含量减少外,其余有机酸均呈不断增长的趋势。发酵72 h时,3个发酵体系中,乙酸含量最高,其次为丙酮酸;而在 *S. cerevisiae* 1946 发酵体系中未检测到 L-乳酸,故 *S. cerevisiae* 32788 与 *S. cerevisiae* P1 的代谢过程较为相似,不同于 *S. cerevisiae* 1946。琥珀酸是糖类和大部分氨基酸代谢过程中的重要中间产物^[20]。在3个发酵体系中,琥珀酸的含量逐渐增加,发酵末期,仍保持较高水平。在 *S. cerevisiae* P1 发酵前12 h检测到微量柠檬酸,其余发酵体系均未检测到柠檬酸,是由于 *S. cerevisiae* 在三羧酸循环中产生的柠檬酸较少,且会被 *S. cerevisiae* 利用^[21]。

综上所述, *S. cerevisiae* 32788 与 *S. cerevisiae* P1 能

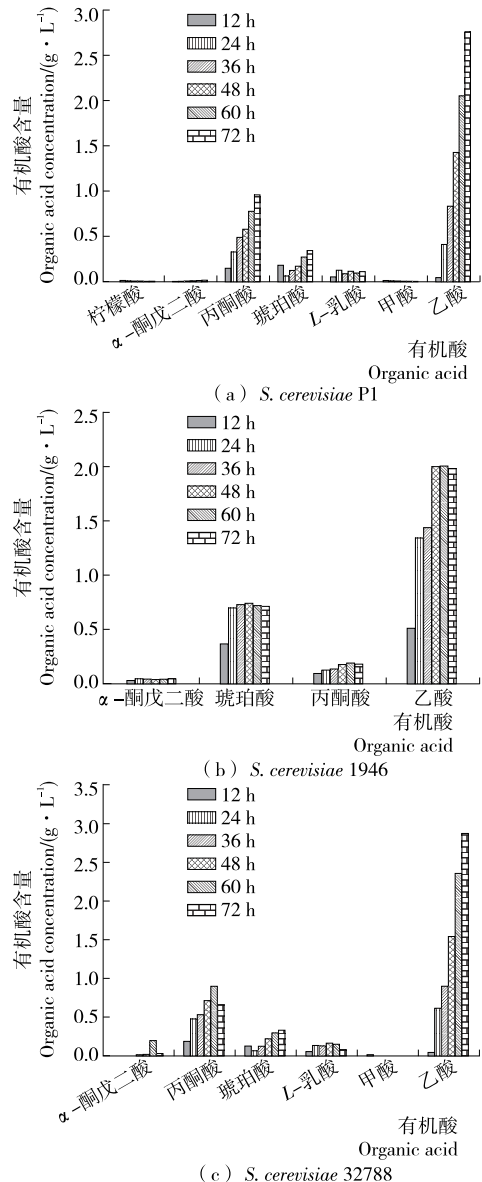


图5 3株酿酒酵母发酵过程中不同有机酸的含量变化

Figure 5 Contents of different organic acid of *S. cerevisiae*

将丙酮酸转换成乙酸,同时伴有 L-乳酸的生成,而 *S. cerevisiae* 1946 则将丙酮酸转换成乙酸,并不产生乳酸。低产酸水平的酵母可促使更多的葡萄糖转化成乙酸,减少乙醇产量,酵母菌的产酸水平与产乙醇能力呈负相关关系^[18]。袁文杰等^[17]研究发现,发酵的主要产物为乙醇,主要副产物为乙酸、甘油和琥珀酸。乙酸是酵母菌发酵产乙醇过程中的伴生产物,其变化趋势及含量与乙醇呈正向耦合。梁璋成等^[22]研究结果表明,乳酸、乙酸和琥珀酸是发酵的主要产物,其含量均随酒精发酵的进行而增加。故3株 *S. cerevisiae* 的产酸能力与产乙醇能力一一对应。

3 结论

利用 HPLC 对 3 株 *S. cerevisiae* 发酵过程中葡萄糖、甘油、乙醇及有机酸含量进行测定分析。结果表明：*S. cerevisiae* 1946 发酵体系中甘油、乙醇的含量显著高于 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 发酵体系 ($P < 0.05$)；*S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 发酵体系中有机的含量显著高于 *S. cerevisiae* 1946 发酵体系 ($P < 0.05$)；3 个发酵体系中，乙酸的含量最高，其次为丙酮酸，*S. cerevisiae* 的产酸水平与产乙醇能力呈负相关。故菌株 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 具有应用于工业生产的潜力。下一步应重点研究 *S. cerevisiae* P1 和 *S. cerevisiae* 32788 在发酵过程中氨基酸及其他重要代谢产物的变化情况，并将菌株应用于食品或酿酒发酵，探究其发酵功能。

参考文献

- [1] LEVISSON M, PATINIOS C, HEIN S, et al. Engineering de novo anthocyanin production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microbial Cell Factories, 2018, 17(1): 103.
- [2] PÉREZ-TORRADO R, BARRIO E, QUEROL A. Alternative yeasts for winemaking; *Saccharomyces* non-*cerevisiae* and its hybrids[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(11): 1 780-1 790.
- [3] VALERA M J, MORCILLO-PARRA M Á, ZAGÓRSKA I, et al. Effects of melatonin and tryptophol addition on fermentations carried out by *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces* yeast species under different nitrogen conditions[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 289: 174-181.
- [4] LAI H, CHIOU J G, ZHURIKHINA A, et al. Temporal regulation of morphogenetic events in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Molecular Biology of the Cell, 2018, 29(17): 2 069-2 083.
- [5] 王志坚. 啤酒中有机酸及其对啤酒风味的影响[J]. 酿酒科技, 2006(9): 121-122.
- [6] SU Xue-qian, WU Feng-feng, ZHANG Yu-qing, et al. Effect of organic acids on bread quality improvement[J]. Food Chemistry, 2019, 278: 267-275.
- [7] 贾洪峰. 发酵辣椒中风味物质的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007: 5-6.
- [8] 杨春霞, 刘元柏, 葛谦. 贺兰山东麓酿酒葡萄中有机酸含量分析[J]. 食品科技, 2016, 41(11): 244-247.
- [9] SAMARASEKARA D, HILL C, MLSNA D. Analysis and identification of major organic acids in wine and fruit juices by paper chromatography[J]. Journal of Chemical Education, 2018, 95(9): 1 621-1 625.
- [10] 史春云, 田晶, 马延和, 等. 反相高效液相色谱法测定嗜碱微生物发酵液中的有机酸[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4): 116-118.
- [11] 王刚, 王涛, 潘德林, 等. 不同品种猕猴桃果实有机酸组分及含量分析[J]. 农学学报, 2017, 7(12): 81-84.
- [12] ZHAO Dan, DU Ren-peng, GE Jing-ping, et al. Impact of *Lactobacillus paracasei* HD1.7 as a starter culture on characteristics of fermented Chinese cabbage (*Brassica rapa* var. *pekinensis*) [J]. Food Science and Technology Research, 2016, 22(3): 325-330.
- [13] 杜仁鹏, 赵丹, 宋刚, 等. 高产乙醇酵母菌株的筛选及产醇发酵条件研究[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2017, 34(5): 575-583.
- [14] 黄守锋, 裴芳艺, 王长丽, 等. 利用酿酒酵母工程菌株生产 2,3-丁二醇的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015(10): 3 928-3 934.
- [15] GONZÁLEZ E, FERNÁNDEZ M R, MARCO D, et al. Role of *Saccharomyces cerevisiae* oxidoreductases Bdh1p and Ara1p in the metabolism of acetoin and 2, 3-butanediol[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(3): 670-679.
- [16] JIANG Chun-mei, CHEN Xian-qing, LEI Shu-zhen, et al. Fungal spores promote the glycerol production of *Saccharomyces cerevisiae* by upregulating the oxidative balance pathway[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(12): 3 188-3 198.
- [17] 袁文杰, 孔亮, 孜力汗, 等. 高效液相色谱法测定克鲁维酵母菊芋发酵液中的乙醇、糖和有机酸类代谢成分[J]. 分析化学, 2009, 37(6): 850-854.
- [18] 张秋美, 赵心清, 姜如娇, 等. 酿酒酵母乙醇耐性的分子机制及基因工程改造[J]. 生物工程学报, 2009, 25(4): 481-487.
- [19] 黄媛媛. 酿酒酵母的筛选及发酵性能的比较[J]. 酿酒科技, 2019(2): 40-43, 48.
- [20] 罗凤莲, 夏延斌, 文新昱. 不同发酵条件对剁辣椒中有机酸种类及含量的影响[J]. 食品科技, 2015, 40(11): 48-52.
- [21] 张利, 成建国, 张善飞, 等. 不同代数酿酒酵母对有机酸代谢的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(9): 202-204, 208.
- [22] 梁璋成, 何志刚, 林晓婕, 等. 黄酒酿造酵母菌发酵过程的有机酸代谢研究[J]. 福建农业学报, 2016, 31(3): 289-292.