

利用代谢组学方法分析不同糖化条件对酿酒酵母代谢途径以及啤酒中风味物质形成的分析

郭永昊, 李惊霆, 孙珍, 唐文竹*

(大连工业大学生物工程学院, 辽宁大连 116034)

摘要: 在啤酒发酵过程中, 麦汁的好坏会直接影响啤酒的品质。为了探究不同的糖化工艺对发酵后酒品质的影响, 运用代谢组学的方法, 分析了不同糖化条件对麦汁成分造成的差异, 从代谢水平上解释了啤酒发酵过程中不同糖化工艺产生的麦汁对酿酒酵母代谢途径的影响。通过对质谱检测后所得的数据经过进行主成分分析和偏最小二乘判别分析, 确定了不同糖化工艺产生的麦汁会影响酿酒酵母的氨基酸代谢、有机酸代谢以及脂质和脂肪酸代谢等代谢途径; 主要涉及精氨酸的生物合成, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢, D-氨基酸的代谢, 赖氨酸降解, 以及脂肪酸生物合成等途径, 这些途径对啤酒风味有较大影响, 研究结果为啤酒中风味物质的调控提供了一定的理论指导。

关键词: 代谢组学; 糖化; 啤酒风味; 通路分析; 多元分析

文章编号: 1673-9078(2023)11-235-241

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.11.1526

Metabolomics Analysis of Metabolic Pathways of *Saccharomyces cerevisiae* and Formation of Flavor Substances in Beer under Different Saccharification Conditions

GUO Yonghao, LI Jingting, SUN Zhen, TANG Wenzhu*

(School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China)

Abstract: The quality of wort used in beer fermentation directly influences beer quality. A metabolomics approach was adopted to investigate how different saccharification processes affect fermented beer quality. By analyzing the differences in wort composition under different saccharification conditions, the impact of wort from these processes on the metabolic pathways of *Saccharomyces cerevisiae* was elucidated. Principal component analysis and partial least squares discriminant analysis of the data from mass spectrometry revealed that wort from different saccharification processes affected the metabolism of amino acids, organic acids, lipids, and fatty acids in *S. cerevisiae*. This mainly involves arginine biosynthesis; biosynthesis of phenylalanine, tyrosine, and tryptophan; biosynthesis of valine, leucine, and isoleucine; metabolism of glycine, serine, and threonine; D-amino acid metabolism; lysine degradation; and fatty acid biosynthesis. These pathways significantly influence beer flavor, offering theoretical insights for regulating flavor compounds in beer.

Key words: metabolomics; saccharification; beer flavor; path analysis; multivariate analysis

引文格式:

郭永昊, 李惊霆, 孙珍, 等. 利用代谢组学方法分析不同糖化条件对酿酒酵母代谢途径以及啤酒中风味物质形成的分析[J]. 现代食品科技, 2023, 39(11): 235-241

GUO Yonghao, LI Jingting, SUN Zhen, et al. Metabolomics analysis of metabolic pathways of *Saccharomyces cerevisiae* and formation of flavor substances in beer under different saccharification conditions [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(11): 235-241

收稿日期: 2022-11-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31601458)

作者简介: 郭永昊 (1997-), 男, 硕士, 研究方向: 啤酒代谢组学, E-mail: 1174352907@qq.com; 共同第一作者: 李惊霆 (1999-), 男, 硕士, 研究方向: 啤酒代谢组学, E-mail: 809378971@qq.com

通讯作者: 唐文竹 (1983-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 生物工程, E-mail: tangwenzhu2000@163.com

啤酒主要是由麦芽为主要原料添加大米、玉米等辅料酿造的一种富含二氧化碳的低酒精饮料。与啤酒产品风味相关联的风味物质有千种之多,包括醇类、酯类、羰基类、有机酸类、硫化物等,它们之间微妙的平衡关系,构成了啤酒特有的风味。而啤酒品质在生产过程中受到诸多因素影响,制麦、糖化、发酵、后熟等阶段都对啤酒中的风味物质的形成产生深远影响^[1,2]。麦汁的糖化是啤酒发酵过程中的关键一步,是将麦芽及其添加的辅料中的不溶性高分子物质或大分子物质(淀粉、蛋白质、半纤维素等大分子物质)通过利用糖化过程中浸出的各种水解酶在适宜的温度、pH 值、时间等条件下,逐步分解为可溶性的低分子物质的分解过程,这个过程称为麦汁的糖化。在这个过程中糖化液的物质成分发生了复杂多样的变化,主要包括:淀粉的分解、蛋白质的分解、 β -葡聚糖的分解、酸的分解、脂肪的分解和多酚物质的变化^[3-5]。

糖化后麦汁的品质将会直接影响麦汁发酵后啤酒品质,迄今为止,已知对啤酒品质产生影响的物质主要有醇类、醛类、酸类、酯类和酮类等,这些物质是评价啤酒品质的一个重要指标^[6,7],它们共同影响着啤酒的质量。因此,糖化后得到的麦汁成分对酵母的发酵和啤酒的口感、非生物稳定性和风味稳定性均有深远的影响。除此之外,啤酒的风味与酵母的发酵也有着密切相关,其中,据文献报道,影响啤酒风味的高级醇主要来自酵母代谢的两个途径,一种是通过氨基酸的异化经 Ehrlich 机制形成,另一种是先经过糖代谢途径,经氨基酸的合成途径后形成高级醇^[13]。

本文通过应用代谢组学技术结合多远分析以及通路分析的方法对不同糖化条件下得到的麦汁和发酵后酒的代谢谱进行了分析,从代谢水平上研究糖化条件对酵母代谢的影响,从而确定不同糖化条件对啤酒风味的影响。

1 材料和方法

1.1 主要仪器与装置

Agilent UPLC 1290 液相色谱仪、G6545B 四级杆-飞行时间质谱、G2630A Agilent 气相色谱,美国安捷伦。

1.2 主要材料与试剂

国产大麦,产自中国河南;西楚酒花, hBC 公司产品;艾尔啤酒酵母 S-04, 本实验室冷冻管;乙腈、甲酸,均为色谱级,产自默克公司产品。

1.3 分析方法

1.3.1 液相方法

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μ m); 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L; 流速: 0.3 mL/min; 正/负离子模式 A 相: 1% 甲酸水/1 mmol/L 氟化铵溶液, B 相 1% 甲酸乙腈/乙腈; 梯度洗脱: 初始流动相为 95% A, 0~2 min, 95% A; 2~20 min, 95%~0% A; 20~25 min, 0% A。

1.3.2 质谱条件

正/负离子模式; 离子源: AJS; 干燥气流速: (11 L/min)/(7 L/min); 干燥气体: 350 $^{\circ}$ C/325 $^{\circ}$ C; 雾化器: 35 psi/32 psi; 鞘气: 10 L/min; 鞘气温度: 350 $^{\circ}$ C; 毛细管电压: 3.5 kV; 参比离子 (m/z): 121.0509、922.0098; 1112.9855、1033.9881

1.3.3 气相色谱条件

检测器和进样口温度均为 260 $^{\circ}$ C; 柱箱升温: 初始温度 50 $^{\circ}$ C (2 min), 以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 70 $^{\circ}$ C (2 min), 以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 110 $^{\circ}$ C, 以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C (2 min); 氮气、氢气、空气流量为 4.2 mL/min、45 mL/min、450 mL/min; 气相色谱柱: HP-FFAP (50 mm $\times$ 0.32 mm $\times$ 1.00 μ m)。

1.3.4 制麦方法

将大麦在 16 $^{\circ}$ C 湿浸 6 h; 干浸 16 h; 湿浸 5 h; 发芽 2~3 d; 焙焦 50 $^{\circ}$ C 干燥 16 h; 60 $^{\circ}$ C 干燥 1 h; 70 $^{\circ}$ C 干燥 1 h; 80 $^{\circ}$ C 干燥 5.5 h。

1.3.5 糖化方法

方法 1: 35 $^{\circ}$ C (25 min), 50 $^{\circ}$ C (50 min), 62 $^{\circ}$ C (40 min), 72 $^{\circ}$ C (20 min), 78 $^{\circ}$ C (20 min); 方法 2: 45 $^{\circ}$ C (25 min), 55 $^{\circ}$ C (30 min), 65 $^{\circ}$ C (30 min), 70 $^{\circ}$ C (30 min), 78 $^{\circ}$ C (20 min); 方法 3: 45 $^{\circ}$ C (30 min), 63 $^{\circ}$ C (60 min), 72 $^{\circ}$ C (30 min), 78 $^{\circ}$ C (15 min)。

1.3.6 发酵条件

焙焦完成后按上述三种方法糖化, 糖化后加入质量分数 2% 的西楚酒花煮沸 1 h, 调制糖度为 9 $^{\circ}$, 加入艾尔 S-04 酵母至浓度为每毫升 10⁶ 个, 20 $^{\circ}$ C 发酵 7 d。每种糖化方法糖化后的麦汁命名为麦汁 1、麦汁 2 和麦汁 3; 发酵后的酒命名为酒 1、酒 2 和酒 3。每种酒分别有 12 个生物重复, 发酵结束后取发酵液经醇沉后稀释进行液质分析。

1.3.7 数据分析

本实验通过气相色谱结合标准品的方法对酒中的乙醇、正丙醇、乙醛、乙酸乙酯和异丁醇等挥发性物质进行了测定; 通过液质联用技术对麦汁和酒的其他代谢物质进行了检测。将质谱所得原始数据经过峰对齐, 降噪, 峰过滤, 提取特征值, 在提取的数据中选取含有 CAS Number 或 KEGG ID 的物质进行缺失值

补充等处理;缺失的值用同组数据的平均值进行补充,且当一物质在同组中占比超过 80%认为该物质存在。酒和麦汁筛选和补缺后的数据经过无监督的主成分分析 (PCA) 用来分析样本差异,判断样品是否有分类现象。通过有监督偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA) 选取 VIP 值>1 的物质进行通路富集,确定影响较大的代谢通路,以此来确定不同的糖化方法对酿酒酵母代谢产生的影响。

2 结果与分析

2.1 麦汁成分分析

将糖化获取的麦汁经 UPLC-Q-TOF-MS 分析后,

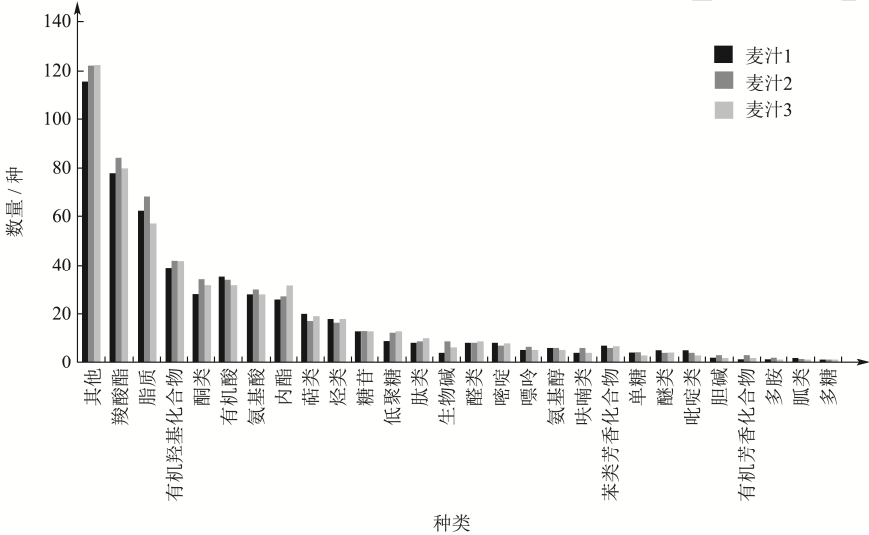


图1 麦汁中物质种类数量分类柱状图

Fig.1 Histogram of classification of substance types and quantities in wort

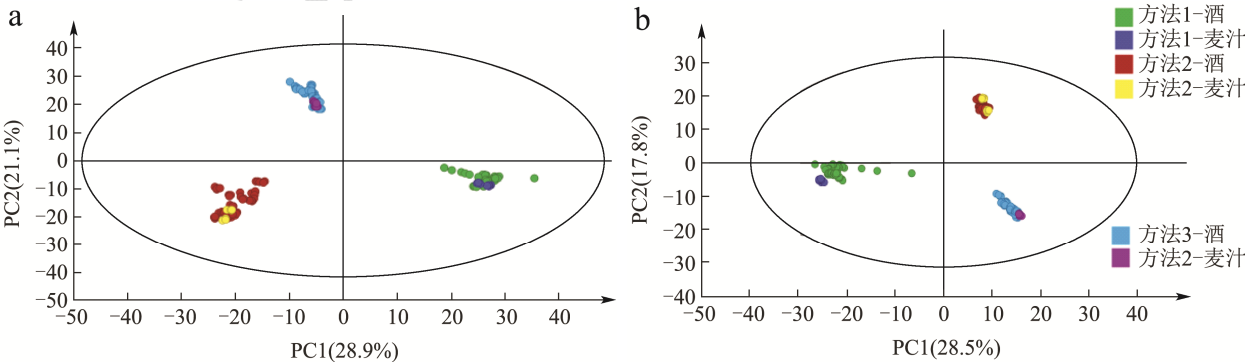


图2 正电模式下不同糖化方法糖化麦汁和发酵后酒的 PCA 得分图

Fig.2 PCA score diagram of saccharified wort and fermented wine in different saccharification methods under positive mode

注: (a) 正电模式; (b) 负电模式下。

2.2 主成分分析

主成分分析 (PCA) 是利用矩阵的线性转换从原始多个变量中选出较少个数的能解释大部分数据的重要变量,即通过数据降维的方法,用几个主成分来体

所获取的物质按 ChBI (Chemical Entities of Biological Interest) 分类原则将代谢物分成 35 类包括羧酸酯、脂质、醇类、核苷、酮类、氨基酸、醛类、烃类、核苷、低聚糖、糖苷、多糖、单糖、多元醇、醚类、氨基醇、胆碱、肽类、呋喃类、脂肪酸、有机芳香化合物、生物碱、有机酸、吡啶类、酚类、嘧啶、吡喃、有机羟基化合物、内酯、嘌呤、胍类、多胺、苯类芳香化合物和其他类。所分类结果如图 1 所示。

糖化方法 1 中有机酸和核苷物质种类最多;糖化方法 2 中羧酸酯、脂质、酮类、氨基酸、嘌呤和生物碱的种类最多;糖化方法 3 中内酯、低聚糖、肽类和有机芳香化合物的种类最多。

现代组学多维数据下的特征^[8-10]。PCA 得分图 (Score Plot) 表示样本数据的分类信息,数据越相似的样本在得分图上距离越近。

从图 2 PCA 分析的结果中可以看出,正负电荷模式下不同糖化方法制备的麦汁之间有明显的分离,而

同种方法的麦汁和发酵后的酒之间有明显的聚集。因此可以判定不同方法酒之间的分离主要是由于使用了不同糖化方法麦汁发酵造成的。所以不同的糖化方法会对发酵后的酒的品质有一定影响。

2.3 物质筛选

为了准确研究代谢物与酒之间的相关性，进一步进行了 Biplot 分析。Biplot 图是由 PCA 经过坐标变换能够得到样品和物质之间关系的一种可视化方法，在

对应样品点周围的代谢物在该样品中的含量最高，反之，与该样品点相反方向的代谢物在该样品中的含量最低。图 3 是发酵后酒可视化的 Biplot 图。

选取图 3 中黄色样品点周围以及外侧的绿色物质点进行分析，正电选取 407 种代谢物，负电选取了 311 种代谢物。将选取得到的 716 种差异代谢物按 ChBI (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/init.do>) 分类后结果如图 4 所示。

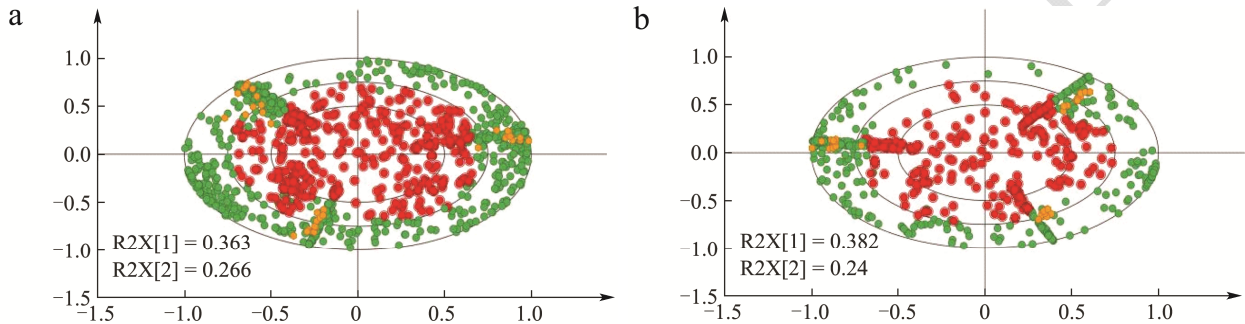


图 3 正负电模式下 PCA 的 biplot 图

Fig.3 Biplot diagram of PCA in positive and negative mode

注：（a）正电模式；（b）负电模式下。图中绿色（选取的代谢物）和红色（弃选的代谢物）点代表代谢物，黄色点代表样品点。

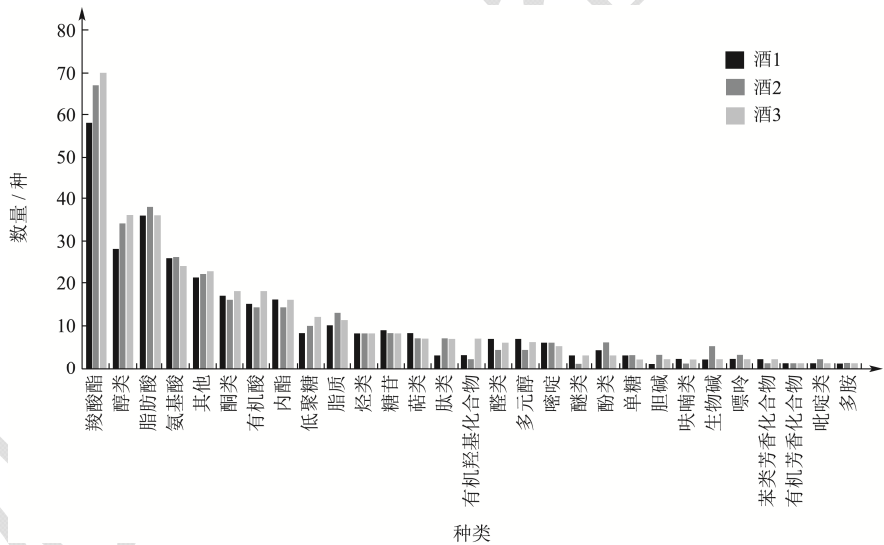


图 4 Biplot 分析后选取物质分类结果

Fig.4 Select material classification results after Biplot analysis

结果表明不同糖化条件得到的麦汁经过酿酒酵母发酵后羧酸酯、醇类、氨基酸、有机酸、内酯以及酮类等物质在啤酒中的含量变化较大。其中酯类醇类和有机酸等物质能够直接影响啤酒的风味，尤其是酯类物质对啤酒风味特别是果香味的形成起到关键作用。氨基酸和脂肪酸等物质是风味物质形成的中间体或前体物质；亮氨酸是异戊醇的前体物，异亮氨酸是活性戊醇的前体物，酪氨酸可转化成对氨基苯乙醇(酪醇)，色氨酸转化为色醇等^[11,12]。

2.4 偏最小二乘判别分析

为了进一步分析不同糖化方法得到的麦汁对酿酒酵母的代谢产生的影响。将选取的差异代谢物进行 PLS-DA 分析，不同糖化条件得到的麦汁进一步进行发酵后的酒样本在评分图（图 5a）上也能有效分离，为了确保模型的准确性对模型进行了 100 次置换检验（图 5b）其中 $R^2=0.0363$, $Q^2=-0.302$, 符合 $R^2<0.4$, $Q^2<0.05$ 的标准，确保了模型的准确性。而要寻找糖

化条件对酵母发酵影响较大的关键代谢节点就必须量化每个变量(代谢物), 本文采用 VIP 值 (Variable Importance Plot, 变量投影重要性值) 来实现量化。VIP 值反应了每个变量对模型的贡献率, 其值越大表

明对应变量对模型的贡献度越大, 即在样本组之间所表现的差异越明显, 一般选取 VIP 值 >1 的代谢物作为标志性代谢物^[13,14]。

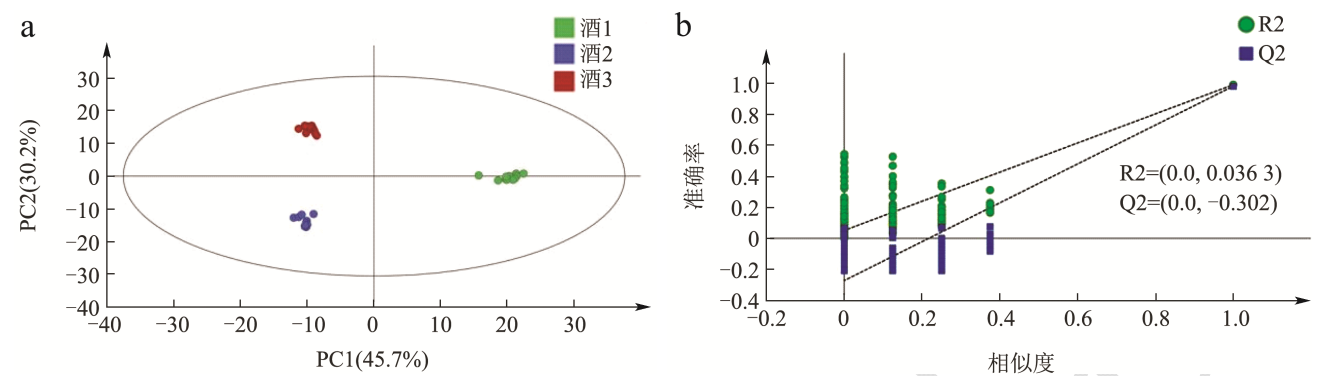


图 5 (a) 差异代谢物 PLS-DA 评分图, (b) PLS-DA 模型验证图

Fig.5 (a) PLS-DA score chart for differential metabolism, (b) PLS-DA model validation chart

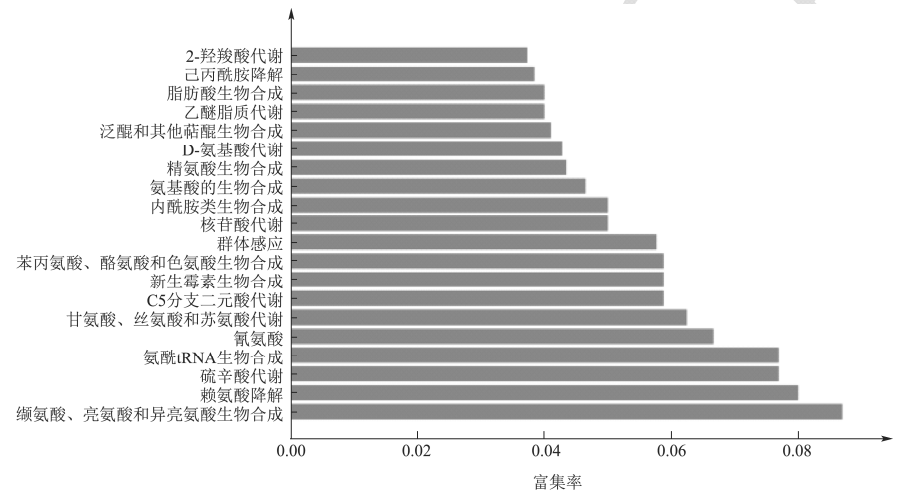


图 6 VIP>1 代谢物在酿酒酵母前 20 条通路富集图

Fig.6 Enrichment of VIP>1 metabolites in the first 20 pathways of *Saccharomyces cerevisiae*

表 1 酒中的氨基酸及脂肪酸代谢途径中代谢物 VIP>1 代谢物

Table 1 Metabolite VIP>1 in a mino acid and fatty acid metabolism pathway			
代谢物	VIP	代谢物	VIP
2-氧代丁酸	1.26	酪氨酸	1.02
十八烷酸	1.20	二十碳二烯酸	1.02
十六烷酸	1.14	(2R,3S)-3 苹果酸甲酯	1.02
十四烷酸	1.10	甘油酸酯	1.01
精氨酸	1.05	色氨酸	1.00
脯氨酸	1.04	(S)-2-羟基戊二酸盐	1.00
5-乙酰氨基戊酸酯	1.02		

根据模型的结果, 选取 VIP>1 的代谢物在酿酒酵母代谢通路上进行通路富集, 共富集到了 51 条代谢通路, 选取排名靠前的 20 条代谢通路如图 6 所示。从富集的通路结果上发现改变糖化条件之后主要影响酿酒酵母的氨基酸代谢、有机酸代谢以及脂质和脂肪酸

代谢等代谢途径; 主要涉及到一些基本氨基酸和脂肪酸的代谢通路, 如: 亮氨酸、苯丙氨酸、精氨酸、酪氨酸、缬氨酸、脂肪酸、色氨酸、异亮氨酸生物合成途径; 甘氨酸、丝氨酸、D-氨基酸、苏氨酸的降解代谢途径。

经过 PLS-DA 分析后共选取了 VIP>1 的物质共有 250 种, 含有 KEGG ID 的物质有 191 种, 其中能够富集到酵母代谢通路上的共有 38 种。其中能够富集在氨基酸代谢、有机酸代谢和脂肪酸代谢途径中的物质有 13 种, 如表 1 所示。

酒中的氨基酸及脂肪酸代谢途径中代谢物 VIP>1 代谢物的含量如图 7 所示, 酒 1 中精氨酸、脯氨酸、5-乙酰氨基戊酸酯、二十碳二烯酸、色氨酸的含量最高; 十八烷酸、十六烷酸、十四烷酸、(2R,3S)-3 苹果酸甲酯、甘油酸酯、(S)-2-羟基戊二酸盐酒 2 中的含量最多; 2-氧代丁酸、酪氨酸在酒 3 中最多。

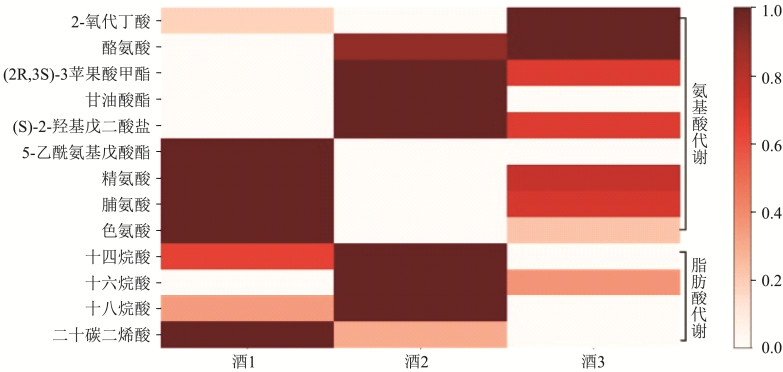


图 7 酒中氨基酸及脂肪酸代谢途径中代谢物 VIP>1 代谢物含量热图

Fig.7 Heat diagram of metabolite VIP>1 in a mino acid and fatty acid metabolic pathway in wine

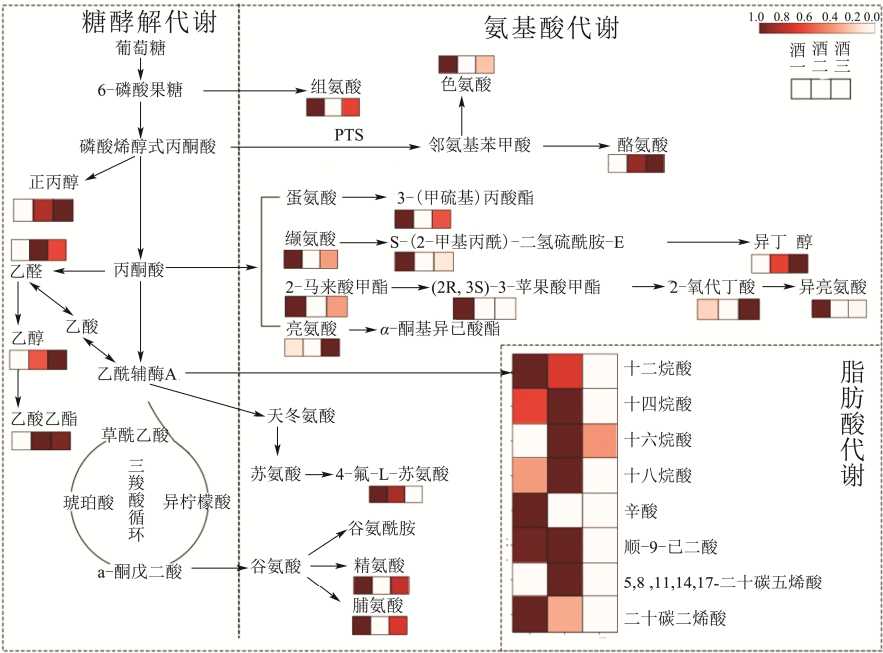


图 8 啤酒发酵过程中代谢网络

Fig.8 Metabolic network during beer fermentation

2.5 代谢网络分析

代谢途径分析是将数据分析得到的结果结合具体的生物代谢系统进行生物学意义的解释。将差异代谢物分析得到的关键代谢节点结合酵母代谢网络分析胞内代谢物与胞外风味物质的对应关系，如图 8。

啤酒发酵过程中影响啤酒风味的高级醇形成有两条途径：一条是依靠氨基酸的异化作用，通过 Ehrlich 机制形成高级醇；另一条途径是通过糖代谢途径，经由氨基酸的合成途径生成。异丁醇、异戊醇和活性戊醇的前体物质分别为：缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸，这些高级醇的生成和这些对应的氨基酸的代谢密切相关并互相影响^[15-17]。

图 8 表明异丁醇的代谢与缬氨酸的代谢有密切关系，当缬氨酸的含量高时，异丁醇的含量下降与 Chen 等^[15]的研究结论相符。脯氨酸并没有直接参与酵母醇

酯代谢，但脯氨酸代谢会影响谷氨酰胺合成，生成的谷氨酰胺在酵母生长时会被利用。酪氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等氨基酸类物质在代谢过程中也会生成有机酸或酯类等物质来影响啤酒的风味。酯类特别是乙酸乙酯的合成与相应醇类相关联，这在图 8 中的糖酵解途径中也有所表明。啤酒中的脂肪酸形成一部分来自于酵母代谢的产生，啤酒在发酵过程时丙酮酸能够经过辅酶 A 的催化生成脂肪酸。由图 8 可以看出用不同糖化工艺制备的麦汁发酵成的酒，脂肪酸的含量上也有较明显的差异；例如：十二烷酸、辛酸和二十二碳二烯酸在酒 1 中的麦汁含量高；十四烷酸、十六烷酸和十八烷酸在酒 2 中的含量最高。

啤酒成分中的酯类风味物质主要是由酰基辅酶 A 通过醇乙酰转移酶的作用下与醇类物质发生缩合反应生成相应的酯类风味物质。而酯类物质代谢与脂肪酸代谢对酰基辅酶 A 存在竞争关系，而麦汁中脂质在发

酵过程中会水解产生的脂肪酸,如果代谢流偏向于脂肪酸代谢,必然会影响酯类物质生成^[18-20]。如图4中选取酒中差异物质中方法3中酯类的种类最多,因此麦汁中的脂质会影响酒中酯类的生成^[21]。

3 结论

本实验通过对不同糖化条获得的麦汁发酵酒进行分析,研究糖化条件对酿酒酵母代谢物的影响。发现改变麦汁的糖化条件以后对麦汁本身的酯类和脂质的种类变化较大,主要体现在羧酸酯、脂质和内酯类物质上。发酵后酒的代谢物通过物质筛选和通路富集分析找出关键的代谢物。通过 Biplot 分析结果可知,氨基酸类和脂肪酸类物质的变化明显,经过通路富集可知,改变糖化条件以后能够直接在根本上影响糖酵解途径,进而对酿酒酵母的氨基酸代谢、脂肪酸代谢以及乙酸乙酯、异丁醇等风味物质的生成产生一定的影响。改变糖化方法以后,酒1中精氨酸、脯氨酸、5-乙酰氨基戊酸酯、二十碳二烯酸、色氨酸的含量最高;十八烷酸、十六烷酸、十四烷酸、(2R,3S)-3 苹果酸甲酯、甘油酸酯、(S)-2-羟基戊二酸盐酒2中的含量最多;2-氧代丁酸、酪氨酸在酒3中最多。利用本研究得到的关键代谢通路,解析其分子机制,挖掘更多的与风味物质形成有关的关键基因和调控因子,将有助于通过分子手段调控啤酒酿造中风味物质的产量。

参考文献

- [1] Laus Andreas, Endres Frank, Mathias Hutzler, et al. Isothermal mashing of barley malt: new insights into wort composition and enzyme temperature ranges [J]. Food and Bioprocess Technology, 2022, 15(10): 2294-2312.
- [2] Michae Rittenauerl, Gladisl Stefan, Gastl Martina, et al. Gelatinization or pasting? The impact of different temperature levels on the saccharification efficiency of barley malt starch [J]. Foods, 2021, 10(8): 1733-1733.
- [3] 管敦仪.啤酒工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1999.
- [4] 陈华磊,徐楠,杨朝霞,等.啤酒中麦芽风味的研究进展[J].中外酒业,2021,17:9-16.
- [5] 杜波涛,庄永森.啤酒菌种、原浓与发酵工艺对啤酒风味的影响[J].中外酒业,2021,7:1-9.
- [6] 陈华磊,黄克兴,郑敏,等.基于非靶向风味组学分析 3 种品牌啤酒的风味差异[J].食品科学,2021,42(6):223-228.
- [7] 崔云前,成冬冬,任辉.比利时/德国小麦啤酒风味物质差异研究[J].中国酿造,2017,36(7):105-109.
- [8] 王越,张俊鹏,张雪,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析不同品牌啤酒中非挥发性化学成分的差异[J].食品研究与开发,2022,43(1):173-179.
- [9] Loh Lixuan, Ng Daniel H J, Toh Mingzhan, et al. Targeted and nontargeted metabolomics of a mino acids and bioactive metabolites in probiotic-fermented unhopped beers using liquid chromatography high-resolution mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(46): 14024-14036.
- [10] Wang Limin, Kai Hong, Agbaka Johnpaul I, et al. Application of UhPLC-Q/TOF-MS-based metabolomics analysis for the evaluation of bitter-tasting Krausen metabolites during beer fermentation [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2021, 99(6): 1-8.
- [11] 余晓红,陈洪兴,汪志君,等.啤酒酵母代谢副产物高级醇的影响因素研究进展[J].酿酒科技,2006,10:78-81.
- [12] Styger Gustav, Dan Jacobson, Prior Bernard A, et al. Genetic analysis of the metabolic pathways responsible for aroma metabolite production by *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(10): 4429-4442.
- [13] 钟成,刘伶普,李清亮,等.采用代谢组学分析技术分析工业啤酒发酵过程中风味物质生成规律[J].中国生物工程杂志, 2016,36(12):49-58.
- [14] 吴卓凡,呼子暄,王金晶,等.多组学分析揭示拉格酵母应答高浓度麦汁机制[J].食品与发酵工业,2021,47(9):76-83.
- [15] 宋含,王家林.啤酒中高级醇的形成与控制[J].啤酒科技, 2013,3:42-45.
- [16] 顾国贤,李崎,郑飞云.啤酒风味物质代谢与控制[J].啤酒科技,2009,5:17-23.
- [17] DING Mingzhu, CHEN Jingsheng, XIAO Wenhai, et al. Comparative metabolomic analysis on industrial continuous and batch ethanol fermentation processes by GC-TOF-MS [J]. Metabolomics, 2009, 5(2): 229-238.
- [18] R Stevens. Beer flavour: I. volatile products of fermentation: A review [J]. Journal of the Institute of Brewing, 1960, 66(6): 453-471.
- [19] 陆家声,章晓宇,蒋羽佳,等.短链脂肪酸酯生物合成研究进展[J].生物学杂志,2021,38(4):1-11.
- [20] Giovanna Lomolino, Anna Lante, Rizzi Corrado, et al. Comparison of esterase patterns of three yeast strains as obtained with different synthetic substrates [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2005, 111(2): 234-236.
- [21] Krista M Sumby, Paul R Grbin, Vladimir Jiranek. Microbial modulation of aromatic esters in wine: Current knowledge and future prospects [J]. Food Chemistry, 2009, 121(1): 1-16.