

# 小麦面筋蛋白活性肽对啤酒超高浓度酿造的影响

赵谋明, 莫芬, 赵海锋, 刘丰源

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 研究了不同分子段小麦面筋蛋白活性肽对啤酒超高浓度酿造的影响, 结果表明: 在超高浓度酿造条件下, 不同分子段的小麦面筋蛋白活性肽对酿酒酵母的促增殖和发酵效果不同, 其中小分子肽段 WGP-III ( $M_w < 3$  ku) 具有更合理的氨基酸组成比例, 表现出最强的促酵母增殖和发酵效果。不同分子小麦面筋活性肽段 WGP-I ( $M_w = 5\sim 10$  ku)、WGP-II ( $M_w = 3\sim 5$  ku)、WGP-III 与 CK 相比, 初始 FAN 含量分别提高了 27%、33% 和 47%。WGP-III 增加了最多的麦汁初始 FAN 水平, 且发酵结束时 FAN 利用率为 58%, 较空白提高了 11%。向 20 °P 麦汁中补充 0.3% ( $m/v$ ) 的小麦面筋蛋白肽 WGP-III, 可使稳定期酵母生物量提高 30%, 乙醇浓度提高 5%, 氨基氮利用率提高 11%, 发酵时间缩短 4 d。同时总醇增加 68%, 总酯降低 17%, 小分子肽段的添加并不影响啤酒的感官品质, 使啤酒风味更加协调。

**关键词:** 小麦面筋蛋白活性肽; 酿酒酵母; 超高浓度酿造

文章编号: 1673-9078(2014)6-36-41

## Effects of Wheat Gluten Protein Peptides on the Fermentation Performance of Yeast under Super High Gravity Brewing

ZHAO Mou-ming, MO Fen, ZHAO Hai-feng, LIU Feng-yuan

(School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Effects of wheat gluten protein peptides with different molecular weights ( $M_w$ s) on propagation and fermentation performance of brewer's yeast were studied. Results showed that peptides with different  $M_w$ s varied in propagation and fermentation-promoting activity for yeast strains under the super high gravity brewing. Peptides WGP-III ( $M_w < 3$  ku) showed the highest propagation-promoting activity and promoted yeast fermentation significantly. The initial free amino nitrogen (FAN) of WGP-I ( $M_w = 5\sim 10$  ku), WGP-II ( $M_w = 3\sim 5$  ku) and WGP-III increased by 27%, 33% and 47% respectively compared with CK. WGP-III increased the maximum FAN level, and at the end of the fermentation, FAN utilization was 58%, which was increased by 11% compared with the CK. Supplement of these peptides during fermentation resulted in the increase of biomass, fermentation ethanol yield and the utilization rate of FAN by 30%, 5% and 11%, respectively. Moreover, the small molecular peptides ( $M_w < 3$  ku) had more reasonable proportion amino acids, and the total alcohols increased by 68%, the total esters decreased by 17%, which made them bring more harmonious taste.

**Key words:** wheat gluten protein peptides; brewer's yeast; super high gravity brewing

啤酒高浓酿造是指在啤酒酿造过程中采用较高的麦芽汁浓度 (15 °P 以上) 进行啤酒酿造, 然后根据现有设备的生产能力, 在发酵后序工艺中加水稀释到正常乙醇浓度 (约 5%,  $V/V$ ) 的酿造技术。对于 18 °P 以上麦汁称为非常高浓麦汁, 即超高浓度麦汁, 相应的酿造技术称为超高浓度酿造技术<sup>[1]</sup>。高浓酿造可

收稿日期: 2013-05-23

基金项目: 粤港关键领域重点突破项目 (2012A080107005); 中央高校基本科研业务费项目 (2012ZM0069)

作者简介: 赵谋明 (1964-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事食品生物技术、蛋白质化学与工程等的研究

通讯作者: 赵海锋 (1977-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事发酵工程方面研究

以在不改变现有设备容量的条件下, 降低成本, 提高乙醇产量及生产效率。与正常浓度 (10~12 °P) 酿造相比, 高浓酿造啤酒具有更加柔和的口感, 更好的生物稳定性<sup>[2-4]</sup>。目前, 高浓酿造技术已为世界各地啤酒厂家广泛使用, 采用高浓酿造方式生产的啤酒已经超过了传统酿造方式。然而, 高浓麦汁使发酵初期发酵液的渗透压升高, 发酵后期产生更高的乙醇浓度, 同时高浓度糖浆的添加也引起麦汁营养物质匮乏。这些环境压力均显著影响酵母的生理代谢特性, 降低了其发酵性能, 延长了发酵周期<sup>[5-6]</sup>。为了提高高浓酿造酵母性能, 通常采用定向诱变或基因工程的手段使酵母获得某些优良的性状, 然而这类方法尚存在一定的局限性和潜在的安全性, 不能完全适应工业化生产的需

要。随着生物活性肽研究技术的发展及其在食品发酵工业中的广泛运用,一些啤酒酿造者早已将目光聚焦于寻找这类促发酵活性肽。本课题组在酵母菌种诱变驯化及促发酵活性肽上均有所研究<sup>[7,13]</sup>,其中万春艳<sup>[7]</sup>通过生物酶解可控技术制备大豆活性肽,并已成功将其作为补充氮源应用于啤酒高浓发酵。前期研究表明,小麦面筋蛋白水解物可以应用于啤酒酿造改善啤酒泡沫稳定性,且高水解度小麦面筋蛋白水解物具有最强的促酵母增殖和发酵效果<sup>[8-9]</sup>。但不同分子肽段小麦面筋蛋白肽对超高浓度酿造的影响目前还是空白。本文在前期探索的基础上,进一步深入研究了不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对啤酒超高浓度酿造的影响,以期阐明啤酒酵母对不同分子段肽的吸收机制,拓展小麦面筋蛋白的应用范围,提高其工业附加值。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要原料

小麦面筋蛋白,蛋白含量71%,河南莲花集团;Pancreatin,酶活力 $1.2 \times 10^5$  U/g,诺维信酶制剂公司;酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)FBY0095,华南理工大学食品生物技术研究室;60 °P高浓麦葡糖浆,广州珠江啤酒有限公司。

### 1.2 主要仪器设备

全自动糖化仪,杭州博日科技有限公司;BSD-150全温振荡培养箱,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;低温培养箱,上海一恒科技有限公司;YX-280高压灭菌锅,江阴滨江医疗设备厂;Vivaflow 200超滤装置,美国Vivascience公司;BT00-300M蠕动泵,保定兰格恒流泵有限公司;3-18K型高速冷冻离心机,德国sigma公司;Waters 600高效液相色谱仪,美国Waters公司;ThermoFinnigan Trace DSQ II气相色谱质谱联用仪,美国Thermo仪器公司;氨基酸分析仪A300,德国membraPure GmbH。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 超滤分离不同分子段小麦面筋蛋白活性肽

实验在前期研究(详见参考文献<sup>[8]</sup>)基础上将促生长效果较好的小麦面筋蛋白深度酶解液(Pancreatin酶解24 h)用超滤膜进行逐级分离。膜的截留分子量分别为10 ku、5 ku和3 ku。控制蠕动泵(BT00-300M)转速为28~34 r/min,超滤膜板出口压力为 $2.0 \times 10^5$  Pa。分别收集所得三个不同分子肽段组分WGP-I(Mw=5~

10 ku)、WGP-II(Mw=3~5 ku)、WGP-III(Mw<3 ku),并将各组分真空冷冻干燥备用。

#### 1.3.2 麦汁制备及发酵条件

麦汁制备:麦芽粉碎,按照常规麦汁制备工艺获得12 °P定型麦汁,同时加入60 °P麦葡糖浆调至麦汁浓度为20 °P(即12+8 °P糖浆麦汁),分装在4个2000 mL圆筒中,装液量为1800 mL,实验组为添加0.3% (mV)不同分子段的小麦面筋蛋白肽WGP-I、WGP-II、WGP-III,对照组为不添加小麦面筋蛋白肽的空白对照CK,调pH至5.0,121 °C灭菌15 min备用。

发酵条件:种子扩培见参考文献<sup>[10]</sup>;2000 mL圆筒用橡皮塞和含有70%乙醇的发酵栓封口,按6.8 g(酵母泥)/L接种量接入酵母,在低温培养箱(12 °C)进行静态厌氧发酵。

### 1.4 分析方法

#### 1.4.1 发酵过程参数测定

发酵液糖度、表观发酵度、生物量、酵母活性及乙醇浓度的测定见参考文献<sup>[10]</sup>。

#### 1.4.2 游离氨基氮(FAN)的测定

采用茚三酮比色法,具体见参考文献<sup>[11]</sup>。

#### 1.4.3 小麦面筋蛋白肽的游离氨基酸组成分析

采用氨基酸分析仪A300测定,iControl and iPeak软件进行氨基酸分析。蛋白肽:水=1:100配成蛋白肽水溶液样品,加入1 mL 10%磺基水杨酸到4 mL样品中,4 °C静置1 h后离心(4 °C,10,000 r/min,15 min)。上清液再次离心后稀释5倍,然后过0.22 μm膜备用。氨基酸通过阳离子交换柱分离,柱后茚三酮衍生可见光于570 nm测定其吸光值(脯氨酸除外,于440 nm处)。通过氨基酸标品进行含量计算,结果以平均值表示。

#### 1.4.4 啤酒风味物质的测定

取5 mL样品于15 mL样品瓶中,加入20 μL 2-甲基-3-庚酮内标和2 g NaCl,样品瓶用聚四氟乙烯-硅胶膜密封。采用顶空固相微萃取法进样<sup>[7]</sup>。

用ThermoFinnigan Trace DSQ II型气质联用仪测定啤酒中的风味物质。色谱柱:ThermoFinnigan TR-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm),载气:氦气,1 mL/min,分流比:20:1。升温程序:40 °C,5 min,以3 °C/min升温至200 °C,保温5 min。采用Thermo Finnigan Xcalibur™ 2.0版软件分析风味物质,结果以平均值表示。

### 1.5 数据分析

所有数据均以平均值±标准差表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对酵母增殖及糖代谢的影响

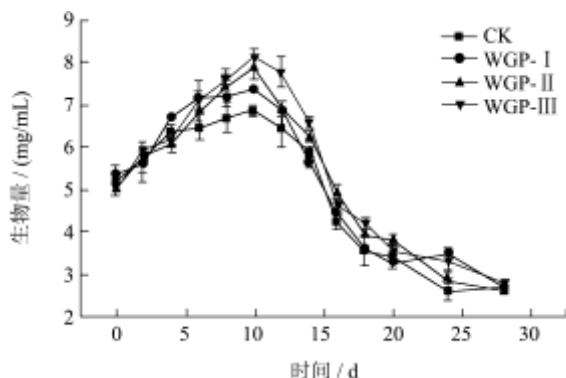


图1 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对酿酒酵母增殖的影响

Fig.1 Effects of wheat gluten protein peptides with different Mw on the propagation of brewer's yeast

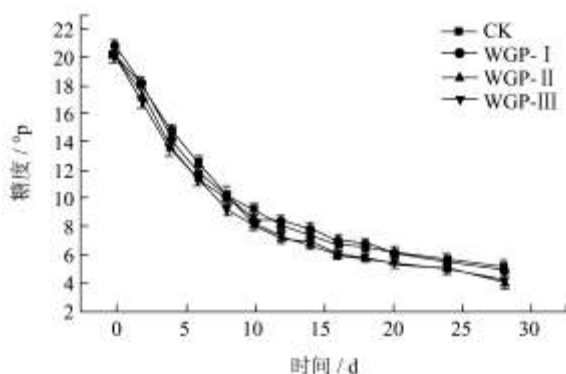


图2 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对酿酒酵母糖代谢的影响

Fig.2 Effects of wheat gluten protein peptides with different Mw on the sugar consumption of brewer's yeast

经超滤膜分离，得到了不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽段 WGP-I、WGP-II、WGP-III。添加 0.3% (mV) 不同分子段的小麦面筋蛋白肽组分到 20 °P 麦汁中进行发酵，酵母细胞生长和发酵液糖度变化曲线如图 1, 2 所示。各组酵母均在前 10 d 迅速生长，在第 10 d 达到了最大的生物量，之后生物量逐渐下降，15 d 左右后保持平缓变化。CK、WGP-I、WGP-II 和 WGP-III 四组发酵液的最大生物量分别为 6.90、7.40、7.91 和 8.16 mg/mL，各自分别增长了 34%、38%、57% 和 64%。添加了 WGP-III 的实验组酵母增殖最高，比空白提高了 30%，表明小分子肽 (Mw<3 ku) 在高浓酿造中促酵母增殖效果最好。已有类似研究表明小分

子大豆肽 (Mw<3 ku) 更能促进酵母增殖<sup>[7]</sup>。生物量的增长促进了降糖，前 10 d 降糖迅速，随着糖浓度下降，酵母生长所需营养匮乏及酒精积累降低了酵母生理活性，发酵变缓。发酵 20 d，四组发酵液的表现发酵度分别为 70%、71%、73% 和 73%。发酵结束 (28 d) 则分别缓慢变为 75%、77%、79% 和 81%。WGP-I 与 CK 相差甚微，WGP-III 比 WGP-II 促发酵效果略佳。WGP-III 与 CK 麦汁相比，发酵时间缩短了约 4 d，促发酵效果最佳。综上，小分子小麦面筋蛋白活性肽 (Mw<3 ku) 具有最佳的促增殖和发酵效果。

### 2.2 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对酵母利用麦汁 FAN 及乙醇生成的影响

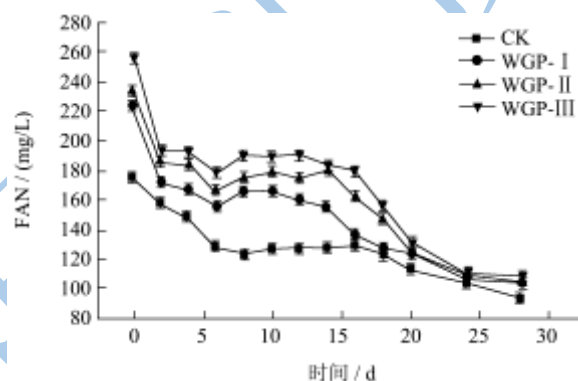


图3 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对酵母利用 FAN 的影响

Fig.3 Effects of wheat gluten protein peptides with different Mw on the FAN utilization rate of brewer's yeast

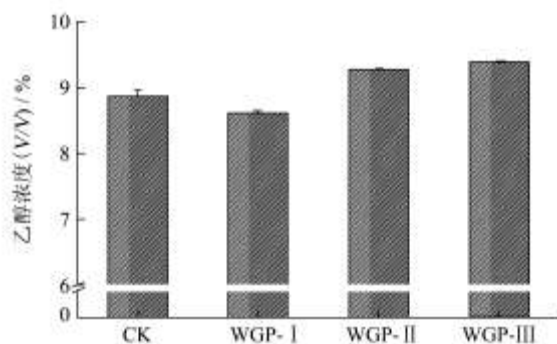


图4 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对酿酒酵母乙醇生成的影响

Fig.4 Effects of wheat gluten protein peptides with different Mw on the ethanol yield of brewer's yeast

麦汁 FAN 水平对酵母细胞的生长和发酵有重要影响。CK、WGP-I、WGP-II 和 WGP-III 四组麦汁的初始 FAN 分别为 176.61、223.85、234.40 和 258.26 mg/L，补充 0.3% (mV) 的不同分子肽组分后，三组试验组与 CK 相比初始 FAN 分别提高了 27%、33% 和 47%。在发酵过程中，四组麦汁 FAN 含量变化如图 3

所示。发酵前 6 d, FAN 急剧下降, 之后趋于平缓, 发酵 15 d 后各组分 FAN 再次下降。发酵 28 d CK、WGP-I、WGP-II 和 WGP-III 麦汁 FAN 分别利用了 82.80、119.50、130.73 和 149.31 mg/L。WGP-III 利用最多, 一方面这可能是由于此组酵母增殖较多, 酵母吸收同化的氮源也越多。另一方面小分子肽 (Mw<3 ku) 更能被吸收利用。目前, 小分子肽对细胞的促进作用已有多篇报道。Proulx 等<sup>[12]</sup>证实了小分子酪蛋白水解物 (Mw<2 ku) 是双歧杆菌的最佳促进氮源。俞等<sup>[13]</sup>发现小分子大豆肽 (Mw<1 kDa) 有显著促进酵母生长作用。四组麦汁 FAN 利用率分别为 47%、53%、56% 和 58%。这和 Lei 等<sup>[6]</sup>研究报道一致, 12+8 °P 麦汁 FAN 利用率为 53% 左右。

发酵结束时添加 WGP-III 发酵液的乙醇含量分别为 9%, 同时 WGP-III 发酵液产生乙醇最多, 与空白相比提高了 6%。小分子面筋蛋白活性肽增加了氮源的复杂性, 促进了酵母对糖的代谢能力, 因而产生了更高的乙醇浓度。

### 2.3 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对嫩啤酒理化指标的影响

表 1 不同分子量的小麦面筋蛋白活性肽对嫩啤酒理化指标的影响

Table 1 Effects of wheat gluten protein peptides with different Mw on quality of green beers

指标	CK	WGP-I	WGP-II	WGP-III
发酵周期/d	32	28	28	28
表观发酵度/%	76	77	79	81
终乙醇浓度(V/V)/%	9±0	9±0	9±0	9±1
终残糖/°P	4.84	4.82	4.21	3.87
终细胞活性/%	89±4	88±3	88±4	91±2
泡沫/s	180	200	240	230
pH	4.33	4.40	4.36	4.34

不同小麦面筋蛋白活性肽对嫩啤酒理化指标的影响见表 1。当表观发酵度接近 80% 时, WGP-III 麦汁发酵周期为 28 d, CK 麦汁为 32 d。WGP-I 和 WGP-II 麦汁发酵 28 d 后, 表观发酵度低于 WGP-III 麦汁。与空白相比, WGP-III 麦汁发酵周期提高了 13%, 显著提高了生产效率。添加小麦面筋蛋白活性肽的嫩啤酒与空白相比, 泡持性显著提高, 这是由于外加氮源丰富了麦汁中蛋白质, 更有利于啤酒泡沫形成。张影陆<sup>[9]</sup>等研究也证实了小麦面筋蛋白水解物可以明显改善纯生啤酒的泡沫稳定性。pH, 终细胞活性无显著差异, 各项理化指标均符合啤酒质量标准 (GB 4927)。

### 2.4 不同分子量小麦面筋蛋白活性肽的游离氨基酸组成分析及对啤酒风味的影响

表 2 不同分子量小麦面筋蛋白活性肽的游离氨基酸组成  
Table 2 Free amino acids composition of wheat gluten protein peptides with different Mw

氨基酸名称	含量/(10 <sup>2</sup> mg/g)		
	WGP-I	WGP-II	WGP-III
天冬酰胺	350.8±0.2	260.2±0.3	316.4±0.4
谷氨酸	674.7±0.3	362.0±0.4	503.3±0.5
苏氨酸	465.5±0.6	426.8±0.2	588.6±0.3
丝氨酸	275.1±0.9	602.1±0.1	784.7±1.0
精氨酸	984.0±0.3	2227.6±1.2	2701.5±0.8
赖氨酸	1357.0±0.4	779.3±0.6	1065.3±0.9
一类总量	4107.1	4658.0	5959.8
异亮氨酸	503.1±0.6	1190.3±0.7	1447.6±1.2
缬氨酸	644.6±1.2	3016.1±1.2	3382.5±1.3
蛋氨酸	231.2±1.3	435.1±1.9	538.4±0.6
亮氨酸	1523.3±0.7	3793.8±0.6	4468.2±0.8
组氨酸	577.4±0.6	783.3±0.6	908.4±1.2
二类总量	3479.6	9218.6	10745.1
苯丙氨酸	761.5±1.4	1807.0±0.8	909.7±1.3
甘氨酸	82.5±0.8	90.8±0.5	114.8±0.3
丙氨酸	433.6±0.4	910.2±0.6	1154.5±1.8
酪氨酸	656.9±0.5	1519.0±1.5	1437.4±1.5
色氨酸	464.9±0.6	484.6±0.5	591.0±0.3
氨	183.2±0.2	333.9±0.6	371.5±0.2
三类总量	2582.6	5145.5	4578.9
脯氨酸(四类)	111.8±0.4	153.0±0.7	70.0±0.2

根据酵母细胞对氨基酸的利用顺序和杂醇的生成, 可将小麦面筋蛋白活性肽中的游离氨基酸分成四类<sup>[14]</sup>, 如表 2 所示。第一类有天冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丝氨酸、精氨酸、赖氨酸。此类氨基酸能被酵母快速利用; 第二类有亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、缬氨酸, 组氨酸 5 种。此类氨基酸酵母同化量大, 麦汁中含量越丰富越好, 可以抑制相应的高级醇产生, 如缺乏则大量合成高级醇, 从而影响啤酒的风味; WGP-II 和 WGP-III 在第一、二类氨基酸总量上相差不多, 同时均比 WGP-I 含量高很多。第三类有甘氨酸, 丙氨酸, 酪氨酸, 色氨酸, 氨等, 此类氨基酸酵母不能自身合成, 同化较慢, 利用较低, 不直接影响啤酒风味, 但会影响酵母氮代谢, 从而间接造成影响; WGP-II 比 WGP-III 有更多的第三类氨基酸, 且均比 WGP-I 含量高很多。第四类脯氨酸是不能被酵母利用

的氨基酸。WGP-I、WGP-II 比 WGP-III 多。WGP-III 中,第一、二、三和四类氨基酸比例分别为 28%、50%、21%、1%。由此可知,WGP-III 具有比 WGP-I、WGP-II 更高含量的第一、二类氨基酸,且具有合理的氨基酸组成比例,理论上是更适合酵母利用的氮源。实验证实,WGP-III 也具有更好的促发酵效果。

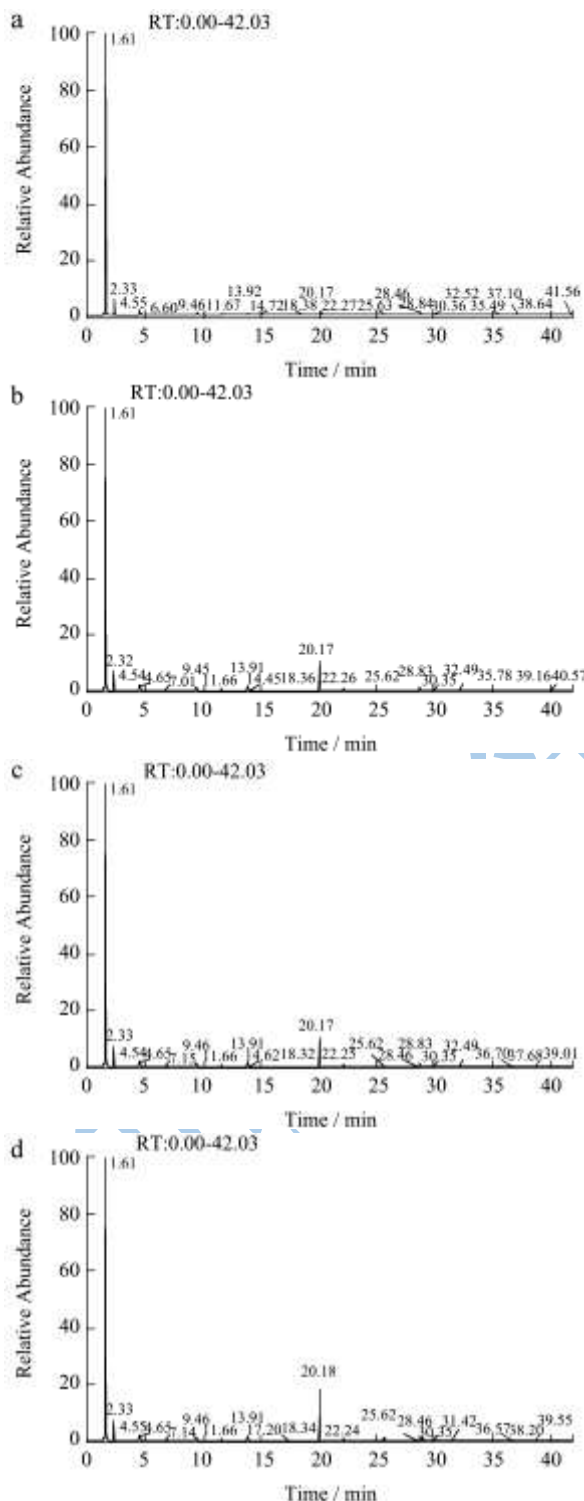


图 5 不同分子量小麦面筋蛋白活性肽的 GC-MS 风味图谱

Fig.5 GC-Ms flavor graph wheat gluten protein peptides with different Mw

表 3 不同分子量小麦面筋蛋白活性肽对超高浓度啤酒风味的影响

Table 3 Effect of wheat gluten protein peptides with different Mws on flavor of super high gravity brewing

风味物质	含量/(mg/L)			
	CK	WGP-I	WGP-II	WGP-III
异丁醇	4.29±0.03	5.50±0.12	6.47±0.03	8.18±0.12
异戊醇	8.20±0.21	9.51±0.03	11.41±0.02	13.18±0.05
苯乙醇	1.90±0.14	2.82±0.01	4.42±0.01	2.75±0.03
总醇	14.40	17.82	22.29	24.12
乙酸乙酯	37.79±0.13	45.47±0.04	42.31±0.12	31.06±0.03
乙酸异戊酯	0.61±0.02	0.77±0.02	0.66±0.02	0.52±0.01
乙酸苯乙酯	0.01±0.01	0.01±0.00	0.02±0.01	0.02±0.00
己酸乙酯	0.07±0.00	0.13±0.01	0.10±0.01	0.10±0.01
辛酸乙酯	0.05±0.01	0.22±0.03	0.18±0.02	0.22±0.03
癸酸乙酯	0.00±0.00	0.01±0.01	0.01±0.00	0.02±0.00
总酯	38.53	46.61	43.28	31.93

啤酒的风味不仅决定啤酒的风格和类型,而且对啤酒质量起着关键的作用,四组啤酒的醇和酯类物质如表 3 所示。各组与 12 P 常浓酿造国标风味相比,麦汁浓度升高使高级醇含量降低,其中异戊醇、苯乙醇含量比正常范围略低。各酯类含量几乎都在正常范围,其中乙酸乙酯升高最为显著。与 Pereira 等<sup>[15]</sup>人的研究一致。与空白相比,小麦面筋蛋白活性肽的添加,使得三组啤酒中各主要醇类物质含量均上升。其中,添加 WGP-III 的啤酒醇含量产生最多。高级醇的适量增加可使酒体丰满、香气协调。含量过低时,啤酒则过于寡淡。酯类主要赋予啤酒芳香、厚实的口感,但酯香太重会形成异香<sup>[16]</sup>。啤酒中最主要的挥发酯是乙酸乙酯,主要形成果味,它在啤酒中含量过高会带来刺激香味,影响啤酒的品质。添加 WGP-I 和 WGP-II 的啤酒乙酸乙酯含量均比空白增加较多,超出正常含量范围,添加 WGP-III 的啤酒则比空白减少了 18%,且在最适含量范围,其他各种酯类含量变化则不显著。总的来说,添加 WGP-III 的啤酒与空白对照相比,总醇增加了 68%,总酯降低了 17%。小分子小麦面筋蛋白活性肽的添加并不影响啤酒的感官品质,高级醇的适量增加使得酒体更加醇厚,使啤酒风味更加协调。啤酒中的高级醇和酯类等风味物质主要形成在主发酵时期,与酵母细胞内氨基酸代谢和糖代谢密切相关<sup>[17]</sup>。小分子面筋蛋白肽的添加改善了发酵环境的氨基酸组成,另一方面也改善了酵母的生理代谢,从而改善了啤酒风味。

### 3 结论

3.1 在超高浓度麦汁发酵过程中,小麦面筋蛋白活性肽的添加能够促进酵母生长和发酵,其中WGP-III使酵母增长最多,稳定期生物量比空白提高了30%,同时发酵时间缩短了4 d,促发酵效果最佳。

3.2 不同分子小麦面筋活性肽段与CK相比,初始FAN含量分别提高了27%、33%和47%。WGP-III增加了最多的麦汁初始FAN水平,且发酵结束时FAN利用率为58%,较空白提高了11%。WGP-III具有比WGP-I、WGP-II更高含量的第一、二类氨基酸,且具有合理的氨基酸组成比例,是优良的酵母可利用氮源。

3.3 添加WGP-III的啤酒与空白对照相比,总醇增加了68%,总酯降低了17%。小分子小麦面筋蛋白活性肽的添加并不影响啤酒的感官品质,使啤酒风味更加协调。

## 参考文献

- [1] 任海波,王德良,杨海燕.超高浓酿造技术的研究及其在啤酒中试生产中的应用[J].酿酒科技,2007,1:59-61  
REN Hai-bo, WANG De-liang, YANG Hai-yan. Research on and application of VHG in 100-L-scale beer brewing [J]. Liquor-making Science and Technology, 2007, 1: 59-61
- [2] 万永泉,于世敏.高浓酿造技术研究进展[J].酿酒科技,2002,1:56-58  
WAN Yong-quan, YU Shi-min. Recent developments in high gravity brewing [J]. Liquor-making Science and Technology, 2002, 1: 56-58
- [3] Mccaig R, Mckee J, Pfisterer E A, et al. Very high gravity brewing laboratory and pilot plant trials [J]. J. Am. Soc. Brew. Chem., 1992, 50: 18-26
- [4] Cooper D J, Stewart G G, Bryce J H. Some reasons why high gravity brewing has a negative effect on head retention [J]. J. Inst. Brew., 1998, 104: 83-87
- [5] Pérez-Carrillo E, Cortés-Callejas L M, Sabillon-Galeas L E, et al. Detrimental effect of increasing sugar concentrations on ethanol production from maize or decorticated sorghum mashes fermented with *Saccharomyces cerevisiae* or *Zymomonas mobilis* [J]. Biotechnol. Lett., 2011, 33: 301-307
- [6] Lei H, Zhao H, Yu Z, et al. Effects of nitrogen level on fermentation performance of brewer's yeast and the formation of flavor volatiles [J]. Appl. Biochem. Biotechnol., 2012, 166: 1562-1574
- [7] 万春艳.大豆活性肽对酵母增殖代谢及啤酒发酵的影响研究[D].广州:华南理工大学,2012  
WAN Chun-yan. Effect of soy active peptides on the proliferation and metabolism of yeast and beer brewing [D]. Guang Zhou: South China University of Technology, 2012
- [8] 莫芬,赵谋明,赵海锋.小麦面筋蛋白水解物对酿酒酵母增殖和发酵性能的影响[J].食品工业科技,2012,22:222-225  
MO Fen, ZHAO Mou-ming, ZHAO Hai-feng. Effects of wheat gluten protein hydrolysates on the propagation and fermentation performance of brewer's yeast [J]. Food Science and Technology, 2012, 22: 222-225
- [9] 张影陆,孙琳琳,陆建等.小麦面筋蛋白质酶解产物用作啤酒发泡蛋白的研究[J].食品与生物技术学报,2009,28(6):823-827  
ZHANG Ying-lu, SUN Lin-lin, LU Jian, et al. Enzymatic hydrolysates of wheat gluten as foaming proteins in beer [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2009, 28(6): 823-827
- [10] 管敦仪.啤酒工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1982  
GUAN Dun-yi. Beer craft manual [M]. Bei Jing: China Light Industry Press, 1982
- [11] 林梅香.浅谈啤酒中 $\alpha$ -氨基氮的测定[J].啤酒科技,2002:37-40  
LIN Mei-xiang. A-amino nitrogen determination [J]. Brewery Technology, 2002: 37-40
- [12] Proulx M, Ward P, Gauthier S F, et al. Comparison of bifidobacterial growth-promoting activity of ultrafiltered casein hydrolyzate fractions [J]. Lait, 1994, 74, 139-152
- [13] 俞志敏.啤酒超高浓度酿造中酵母代谢的分析与调控[D].广州:华南理工大学,2012  
YU Zhi-min. The Metabolic analysis and regulation of brewer's yeast under very high gravity brewing [D]. Guang Zhou: South China University of Technology, 2012
- [14] Jones A M, Ingledew W M. Fuel alcohol production: appraisal of nitrogenous yeast foods for very high gravity wheat mash fermentation [J]. Proc. Biochem., 1994, 29, 483-488
- [15] Pereira F B, Guimarães P M R, Teixeira J A, et al. Selection of *Saccharomyces cerevisiae* strains for efficient very high gravity bio-ethanol fermentation processes [J]. Biotechnol. Lett., 2010, 32: 1655-1661
- [16] Gibson B R, Boulton C A, Box W G, et al. Carbohydrate utilization and the lager yeast transcriptome during brewery fermentation [J]. Yeast, 2008, 25: 549-562
- [17] 刘海冰.高级醇对啤酒风味的影响及其在啤酒生产中的控制措施[J].酿酒,2005,32(1):54-55  
LIU Hai-bing. Effect of higher alcohols on beer flavors and content control during beer brewing [J]. Liquor Making, 2005, 32(1): 54-55

现代食品科技