

酿造过程对麦汁蛋白及其氧化特性的影响

常斌¹, 蔡琳飞², 赵海锋²

(1. 广东省微生物研究所, 广东广州 510070) (2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文研究了啤酒酿造过程尤其是糖化工艺对麦汁蛋白质含量、游离巯基含量和抗氧化活性的影响。研究表明: 糖化过程伴随着大分子蛋白质的降解和小分子蛋白质的形成, 蛋白质和游离巯基含量均呈现先上升后下降的规律; 经历糖化阶段, 蛋白质含量从 310.63 $\mu\text{g/mL}$ 降至 229.18 $\mu\text{g/mL}$, 游离巯基含量则从 0.61 $\mu\text{mol/g}$ 降至 0.04 $\mu\text{mol/g}$, 分别下降了 26.22% 和 93.44%, 这说明糖化是蛋白质和游离巯基发生关键变化的重要阶段。麦汁的蛋白质含量、游离巯基含量与 ABTS 自由基清除活性间呈极显著的正相关 ($p < 0.01$), 适当延长糖化时间和提高糖化温度有利于麦汁蛋白及其它具有抗氧化活性物质的溶出与积累, 从而显著提高了麦汁的 ABTS 自由基清除活性。因此, 麦汁蛋白尤其是具有抗氧化活性的脂转移蛋白 1 (LTP1) 对麦汁的氧化稳定性具有重要贡献。

关键词: 麦汁; 蛋白; 氧化稳定性; 脂转移蛋白 1; 酿造过程

文章编号: 1673-9078(2019)12-145-150

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.019

Effect of Brewing Process on Wort Protein and Its Oxidative Characteristics

CHANG Bin¹, CAI Lin-fei², ZHAO Hai-feng²

(1. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China)

(2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The effects of beer brewing process, especially mashing process on protein content, free thiol groups content and antioxidant activity of wort were examined. The results showed that the degradation of macromolecular proteins was accompanied by the formation of protein with low molecular weight during mashing. Protein and free thiol groups contents showed a pattern of increasing first and then decreasing, and both of them decreased from 310.63 $\mu\text{g/mL}$ to 229.18 $\mu\text{g/mL}$, and from 0.61 $\mu\text{mol/g}$ to 0.04 $\mu\text{mol/g}$, with the reduction of 26.22% and 93.44%, respectively after mashing, which indicated that mashing was an important stage in the key changes of protein and thiol groups. There were significant ($p < 0.01$) positive correlations among protein content, free thiol groups content and ABTS free radical scavenging activity. Extension of the mashing time and increase of mashing temperature were beneficial to the dissolution and accumulation of protein in wort, which significantly improved the ABTS free radical scavenging activity, and increased the color and TBA of wort. Therefore, the protein in wort, especially lipid transfer protein 1 (LTP1) with antioxidant activity, had a positive effect on the oxidative stability of wort.

Key words: wort; protein; oxidative stability; lipid transfer protein 1 (LTP1); brewing process

啤酒的酿造工艺主要包括制麦、糖化、煮沸、发酵、包装等一系列流程, 每一个环节都对成品啤酒的品质有着至关重要的影响^[1]。其中, 制麦和糖化被认为是整个酿造过程中对啤酒氧化稳定性具有重要影响的关键工序。提高麦芽和麦汁的抗氧化力被认为可以有效抑制啤酒中老化前驱物的生成, 从而提高啤酒的氧化稳定性^[2]。而糖化不仅会释放麦芽中的内源性抗氧化物质, 而且是活性氧形成的重要阶段, 其与成品

收稿日期: 2019-07-16

基金项目: 广东省科技计划项目 (2018A050506008; 2016A010105003); 广州市科技计划项目 (201903010056)

作者简介: 常斌 (1981-), 男, 硕士, 研究方向: 生物化学与分子生物学

通讯作者: 赵海锋 (1977-), 男, 研究员, 研究方向: 食品生物技术

啤酒的氧化稳定性之间有着紧密的联系^[3,4]。李会品等^[5]在研究中发现, 糖化工艺对麦汁的总酚含量、还原力以及 DPPH 自由基清除活性都有较大的影响, 直接决定了麦汁的抗氧化能力。

蛋白质是麦芽和啤酒的重要成分之一, 蛋白质尤其是含巯基的化合物则可以通过氧化还原反应来减少活性氧的积累, 从而有利于啤酒的氧化稳定性^[6-8]。Almeida 等^[9]发现啤酒的氧化稳定性与啤酒中的含巯基肽和蛋白质的浓度有关, 其含量越高, 啤酒的氧化稳定性越强。吴晓英^[10]发现, 酿造过程中蛋白的分子量主要集中在 16.8~23.7 ku, 高温会导致蛋白含量的减少。张吉磊^[11]指出蛋白质在啤酒酿造过程中总体含量降低, 其中分子量在 53 ku 以及 20~40 ku 左右的蛋

白质会发生分解。但啤酒酿造过程中蛋白质含量与结构的变化规律尚不清晰,其与啤酒氧化稳定性间关系也尚未阐明。

因此,为明确酿造过程对麦汁蛋白及其氧化特性的影响,本文分析了啤酒酿造过程中蛋白含量、游离巯基含量和抗氧化活性的变化规律,确定了蛋白发生变化的关键工序,并通过优化糖化工艺参数提高麦汁的抗氧化能力,以期通过调整蛋白组分或保护其抗氧化活性而改善啤酒的氧化稳定性提供理论和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

大麦芽,由广州珠江啤酒股份有限公司提供;酿酒酵母 FBY0095,由华南理工大学食品生物技术研究室提供。

分析纯牛血清白蛋白(BSA)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、硫代巴比妥酸(TBA)均购于美国Sigma-Aldrich公司;其他分析纯试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器设备

多功能酶标仪,美国BioTek仪器有限公司;BIO-RAD Mini 电泳仪,美国BIO-RAD生命医学产品有限公司;BSD-150 全温振荡培养箱,上海博讯实业有限公司;全自动糖化仪,杭州博日科技有限公司;低温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;UV2100 紫外可见分光光度计上海尤尼柯仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 麦汁的制备

参考雷宏杰^[12]的方法,先称取1 kg的麦芽,粉碎后与4 L去离子水搅拌均匀,充分混合后45 °C下加热30 min,63 °C下加热60 min,72 °C下加热20 min,最后78 °C下加热10 min,升温速度控制在1 °C/min。糖化完成后用纱布过滤,随后将所得的滤液煮沸90 min,在此过程中分3次加入酒花(添加量为麦芽质量的0.2%),煮沸完成后用滤布进行过滤,测定澄清麦汁的糖度,通过添加去离子水使其糖度保持在12°P,最后在121 °C下灭菌15 min,保存备用。

1.3.2 酵母扩培与麦汁发酵

参考雷宏杰^[12]的方法对啤酒酵母进行扩大培养。扩培完毕后离心收集酵母泥,接种于麦汁中,每

升麦汁的接种量为6.8 g酵母泥,随后在12 °C下发酵7 d。

1.3.3 酿造过程中的取样点

在上述操作过程中,分别设置以下取样点:(1)料液混合物(2)45 °C加热30 min后(3)糖化阶段I(63 °C保温结束)(4)糖化阶段II(糖化73 °C保温结束)(5)78 °C保温结束(6)煮沸前麦汁(7)加酒花后麦汁(8)煮沸后麦汁(9)过滤后冷麦汁。同时发酵过程中每天进行取样。取样后离心以除去样品中的固体,上清液保存待测。

1.3.4 糖化工艺的优化

考察糖化温度对麦汁的影响时,分别在糖化阶段I选取60 °C、63 °C和66 °C糖化60 min,随后进行糖化阶段II即73 °C糖化20 min(同时以不进行该环节作为对照),对制得的麦汁进行后续指标的测定^[13]。

考察糖化时间对麦汁的影响时,糖化阶段I时,在63 °C下分别糖化40 min、60 min和80 min,随后进行糖化阶段II即73 °C下糖化20 min(同时以不进行该环节作为对照),对制得的麦汁进行后续指标的测定^[13]。

1.3.5 蛋白含量的测定

采用Bradford法对啤酒中的蛋白含量进行测定^[14]。取1 mL经4倍稀释后的酒样,与5 mL的考马斯亮蓝G-250充分混合,在室温下反应10 min后,于595 nm下进行比色,并通过BSA标准曲线计算其蛋白含量。

1.3.6 游离巯基(SH)含量的测定

使用Ellman法并参考Zhou等^[15]的方法对其略作修改来进行测定。通过加入DTNB来测定样品中的游离巯基含量,计算公式如下:

$$\text{SH 含量}(\mu\text{mol/g})=73.53 \times A_{412} \times D/C$$

其中:A₄₁₂是样品加入DTNB前后在412 nm处的吸光值之差;D是稀释倍数;C是样品中的蛋白浓度(mg/mL)。

1.3.7 抗氧化能力的测定

参考Zhao等^[16]的测定方法,分别对稀释4倍的酒样和1 mg/mL的LTP1的DPPH自由基清除活性、ABTS自由基清除活性进行测定。

1.3.8 SDS-PAGE

参考Kanerva等^[17]的方法进行SDS-PAGE凝胶电泳。取40 μL的样品与10 μL的上样缓冲液充分混合,在沸水浴中加热10 min。使用5%的浓缩胶和12%的分离胶进行电泳,上样量为10 μL。电泳结束后在摇床上使用0.25%的考马斯亮蓝R-250染色液染色30 min,最后进行脱色,照胶。

1.3.9 色度、TBA值的测定

在 420 nm 波长下测定啤酒样品的吸光值，其色度以 EBC 值表示： $EBC=10 \times 1.27 \times A_{420} - 1.2$ ^[18]。

使用硫代巴比妥酸测定啤酒的 TBA 值^[19]。取 5 mL 除气后的啤酒与 2 mL 0.33%的硫代巴比妥酸的 50%乙酸溶液充分混合，放置于 60 °C 水浴锅中加热 60 min，同样条件下加入 2 mL 蒸馏水的样品作为空白，于 530 nm 下测定吸光值，以吸光值来表示样品的 TBA 值。

1.4 数据统计与分析

采用 SPSS 23 对数据进行处理，所有数据结果均以平均值±标准差表示，并用 Origin 8.0 作图。

2 结果与讨论

2.1 酿造过程中蛋白含量的变化

酿造过程中蛋白含量的变化如图 1 所示。在麦汁制备过程中，初始醪液的蛋白含量为 310.63 μg/mL，于糖化 63 °C 保温结束时升至峰值，为 416.73 μg/mL，增幅达到 34.16%，随后开始下降，最终麦汁中的蛋白含量为 229.18 μg/mL，较最初下降了 26.22%。在这个过程中，蛋白含量呈现出先上升后下降的趋势。但是随着糖化温度的升高，一方面一些对热敏感的蛋白质不稳定性增加，容易产生絮凝析出现象，另一方面温度的升高导致酶活降低，使蛋白溶出速度减缓，从而导致后期蛋白含量的降低^[10,13]。此外，在煮沸过程中，蛋白质的含量未发生明显改变，该结果与 Jin 等^[20]得出的结论相符合。因此，糖化是蛋白质发生关键变化的重要阶段。

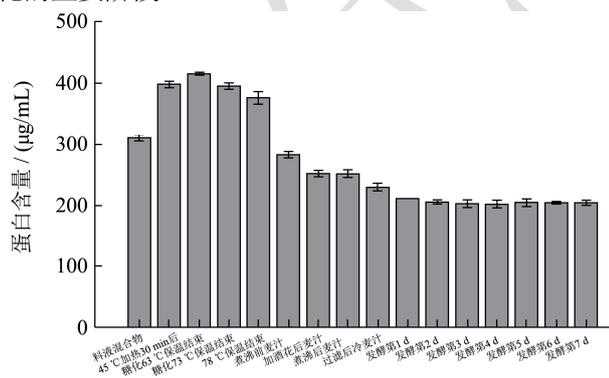


图 1 麦汁制备和发酵过程中蛋白含量的变化

Fig.1 Evolution of total protein concentration during mashing and fermentation

在发酵过程中，前期蛋白质含量有所下降，后期则逐渐趋于平稳。这主要是因为啤酒酵母在发酵初期需要利用麦汁中的氮源进行繁殖和生长，从而使麦汁中的蛋白含量降低。但与麦汁制备过程相比较，蛋白

质在发酵过程中的变化并不明显。

2.2 酿造过程中游离巯基含量的变化

酿造过程中的游离巯基含量的变化如图 2 所示。在麦汁的制备过程中，游离巯基含量与其蛋白含量变化趋势相吻合。料液混合物游离巯基含量为 0.61 μmol/g，经 45 °C 加热 30 min 后升至峰值，为 0.72 μmol/g，增幅为 18.03%，随后开始下降，最终麦汁中游离巯基含量仅为 0.04 μmol/g。在整个酿造过程中，糖化和煮沸是游离巯基含量变化最为明显的两个阶段。一方面，随着温度的升高和加热时间的延长，麦汁中的富含巯基的蛋白结构发生变化，巯基基团被包埋，导致游离巯基含量下降。另一方面，有研究指出糖化阶段中巯基会向二硫键发生转化从而使蛋白发生聚合，导致游离巯基含量下降^[21]。而且糖化过程又是活性氧形成的重要阶段，游离巯基也会因为清除此过程中产生的氧自由基而发生消耗。

发酵过程中，第一天发酵液的游离巯基含量为 0.42 μmol/g，明显高于麦汁中的含量。这主要是因为酵母会分泌带有巯基的谷胱甘肽，从而导致发酵液中游离巯基含量的上升^[22]。但随着发酵的进行，发酵液中的游离巯基含量不断减少，这主要是因为酿造过程中暴露出来的巯基极易被环境中存在的氧气氧化，从而导致巯基的减少^[23]。因此，麦汁制备尤其是糖化和煮沸这两个环节是巯基变化最为明显的阶段。

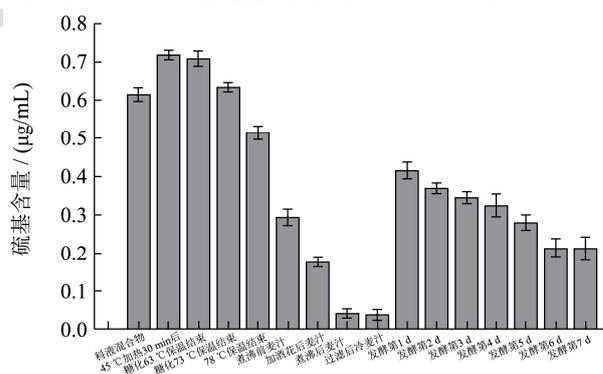


图 2 麦汁制备和发酵过程中游离巯基含量的变化

Fig.2 Evolution of free thiol groups during mashing and fermentation

2.3 程中蛋白质 SDS-PAGE 分析

通过 SDS-PAGE 电泳进一步分析酿造过程中蛋白的变化，结果如图 3 和 4 所示。在麦汁制备过程中（图 3），料液混合物中含有丰富的蛋白质条带，且经蛋白休止阶段后，各个蛋白条带的强度增加，即麦汁中的蛋白溶出增多，糖化结束后，分子量在 75~100 ku、55~75 ku 的蛋白条带强度逐渐减弱直至消失，其他条

带的强度也都有所下降,即蛋白在糖化过程中发生了降解,这也与图1的结果一致。煮沸前的麦汁在分子量为55 ku附近出现了一条较弱的蛋白条带,这可能是因为在煮沸前的麦汁在过滤时部分蛋白通过二硫键或疏水相互作用形成了不稳定的聚集体,在随后的煮沸过程中又遭到破坏,导致该条带消失。分子量在35~55 ku之间的蛋白条带对应的是蛋白质Z^[24],与啤酒的泡沫有关,它在麦汁制备过程中能够抵抗热变性和酶解作用,因此其电泳条带表现较为稳定^[23,25]。分子量为10 ku的蛋白条带对应的是富含巯基的LTP1,经糖化煮沸后,其条带强度变得十分微弱,说明在此过程中巯基含量大幅降低,这也与图2的结果相吻合。

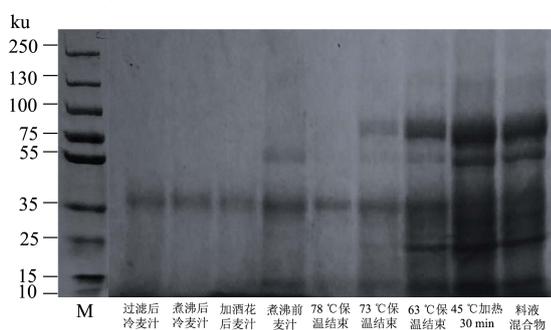


图3 麦汁制备过程中的蛋白电泳分析 (M: Marker)

Fig.3 SDS-PAGE of proteins during mashing (M for marker)

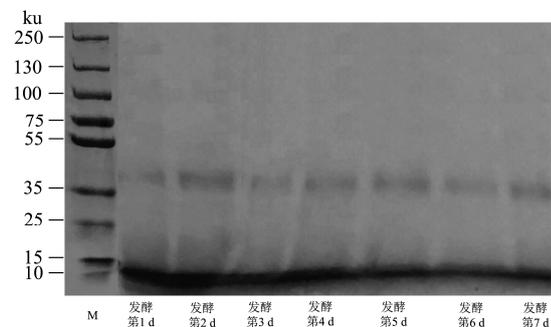


图4 发酵过程中的蛋白电泳分析 (M:Marker)

Fig.4 SDS-PAGE of proteins during fermentation (M for marker)

在发酵过程中(图4),发酵液的蛋白条带变化并不明显,其蛋白分子量主要集中在10~15 ku和35~55 ku两个部分,与麦汁和成品啤酒中的蛋白电泳条带相似^[26]。但是在发酵过程中,分子量为10~15 ku的蛋白条带强度有所下降,即LTP1在此过程中被消耗,也反映出发酵过程中游离巯基含量不断减少,进一步验证了2.2中所得到的结果。

2.4 糖化工艺参数对麦汁蛋白、游离巯基含量和抗氧化活性的影响

2.4.1 糖化温度对麦汁蛋白及其氧化特性的影

响

糖化温度对麦汁蛋白质、游离巯基含量以及抗氧化力的影响结果如表1所示。随着糖化阶段I温度的上升,麦汁中的蛋白含量由307.57 $\mu\text{g/mL}$ 逐渐升至416.73 $\mu\text{g/mL}$,增幅为35.49%,随后降至338.60 $\mu\text{g/mL}$,降幅为18.75%,这说明适当升高温度,有利于蛋白质的溶出及积累,但过高的温度会使醪液的热负荷变大,蛋白质在溶出的同时发生氧化降解,从而导致其含量下降^[27]。此外,当糖化阶段I的温度达66 $^{\circ}\text{C}$ 时,经历糖化阶段II后,麦汁蛋白含量下降幅度增加,这可能是由于高温下生成的蛋白产物稳定性较差,在煮沸阶段更易沉淀析出,导致最终麦汁蛋白含量较少,这也与梁若楠^[13]的研究发现相吻合。

麦汁游离巯基含量的变化基本与蛋白质的变化趋势一致,呈现先上升后下降的规律。其中,相同的糖化温度下,经历过糖化阶段II的麦汁其巯基含量均发生一定程度的下降,主要是因为温度的升高不仅使蛋白结构发生变化,巯基基团被包埋,同时还会使样品体系中氧自由基的含量增加,使巯基的消耗加剧,导致游离巯基含量下降。

当糖化温度升高时,麦汁的色度和TBA值均有所上升,说明羰基化合物积累增多,热负荷增加。在对它们的抗氧化力进行考察时发现,ABTS自由基清除活性的大小与其蛋白和巯基含量的多少有着密切的关系。在63 $^{\circ}\text{C}$ 下加热60 min后得到的麦汁,其蛋白和巯基含量均为最高,与之相对应的ABTS自由基清除活性也最大,高达84.75%。但是DPPH自由基清除活性的变化波动不大,这可能是由于DPPH自由基清除活性主要对酚类物质的变化较为敏感^[5,28]。

2.4.2 糖化时间对麦汁蛋白及其氧化特性的影响

糖化时间对麦汁蛋白质、游离巯基含量及抗氧化力的影响如表1所示。随着糖化阶段I时间的增加,麦汁蛋白含量由274.40 $\mu\text{g/mL}$ 升至416.73 $\mu\text{g/mL}$,增幅为51.87%,当时间延长到80 min时蛋白含量降至300.12 $\mu\text{g/mL}$,降幅为27.98%。在通过与表1比较后发现,即在糖化阶段I,糖化时间对麦汁蛋白质的影响比糖化温度更为剧烈。这说明延长糖化时间可以进一步增加蛋白溶出量,但不可忽视的是,加热时间过长又会使蛋白因热负荷加剧而受到氧化分解,导致其含量下降。另外,对比经历糖化阶段II后的麦汁蛋白含量变化,可以看出糖化温度在此过程中对蛋白的影响比糖化时间更为强烈。在这个过程中,游离巯基含量的变化基本与蛋白质的变化趋势一致,糖化时间与糖化温度对游离巯基的影响程度相仿。

表1 糖化工艺参数对麦汁的蛋白质、游离巯基含量及抗氧化活性的影响

Table 1 Effect of mashing process on total protein concentration, free thiol groups concentration and antioxidant activity of wort

糖化温度/℃	糖化时间/min	是否经历糖化II	蛋白含量/(μg/mL)	巯基含量/(μmol/g)	色度/EBC	TBA值/A530	ABTS清除活性/%	DPPH清除活性/%
60	60	否	307.57±1.50	0.52±0.02	2.35±0.16	0.21±0.02	62.55±2.52	47.31±1.10
60	60	是	308.59±2.68	0.52±0.04	2.90±0.13	0.21±0.04	62.51±1.83	47.50±1.22
63	40	否	274.40±3.54	0.47±0.07	2.21±0.20	0.21±0.02	60.15±1.79	45.21±1.25
63	40	是	310.32±1.72	0.53±0.07	2.65±0.18	0.21±0.07	65.42±1.56	46.72±1.28
63	60	否	416.73±3.22	0.71±0.03	2.98±0.25	0.24±0.05	84.75±2.04	48.76±1.15
63	60	是	395.60±1.25	0.63±0.01	3.16±0.15	0.26±0.08	81.46±2.11	48.65±1.18
63	80	否	300.12±3.36	0.51±0.02	3.41±0.32	0.36±0.05	84.69±2.00	49.93±1.13
63	80	是	297.46±3.81	0.52±0.05	3.40±0.24	0.36±0.03	82.79±1.32	48.70±1.20
66	60	否	338.60±2.45	0.58±0.06	3.18±0.21	0.29±0.03	69.96±1.47	48.43±1.14
66	60	是	238.88±4.10	0.40±0.03	3.20±0.12	0.33±0.01	69.90±1.16	48.40±1.16

随着糖化时间的延长,麦汁的色度和TBA值均有所上升,增幅大于糖化温度所带来的影响,因此,糖化时间对麦汁质量的影响更为强烈。对它们的抗氧化活性进行考察时发现,ABTS自由基清除活性与麦汁的蛋白和巯基含量之间存在着明显的联系。与糖化温度略有不同的是,延长糖化时间还能小幅提高麦汁的DPPH自由基清除活性。出现这种现象的原因可能是由于加热时间的延长,使蛋白的溶出更为彻底,同时也促进麦汁中的其他活性物质如黄酮类、酚酸类等溶出积累,一起协同发挥抗氧化作用。

2.4.3 麦汁蛋白含量与其氧化特性间的相关性

表2 不同糖化工艺下麦汁蛋白质、游离巯基含量与抗氧化力评价指标之间的相关性

Table 2 Correlations among total protein concentration, free thiol groups concentration and antioxidant activity of wort affected by mashing process

项目	Pr	SH	EBC	TBA	ASA	DSA
Pr	1	0.924**	-0.108	-0.027	0.766**	0.112
SH		1	-0.202	0.038	0.685**	-0.021
EBC			1	0.773**	0.236	0.836**
TBA				1	0.213	0.536**
ASA					1	0.438*
DSA						1

注: Pr, 蛋白质含量; SH, 巯基含量; EBC, 色度; TBA, 热负荷; ASA, ABTS 自由基清除活性; DSA, DPPH 自由基清除活性; *为在 $p<0.05$ 显著; **为在 $p<0.01$ 显著。

通过 person 相关性分析糖化工艺参数对麦汁蛋白及其氧化特性的影响,结果如表2所示。麦汁中蛋白质含量和巯基含量呈现出极显著的正相关 ($p<0.01$),说明麦汁中蛋白质含量越高,其含有的游离巯基也越

多。此外,麦汁中蛋白质含量和巯基含量均与 ABTS 自由基清除活性呈极显著正相关 ($p<0.01$),这说明了麦汁中蛋白质对抗氧化活性的重要作用,即麦汁中蛋白质含量的多少能够直接决定麦汁抗氧化活性的高低。由此可以看出,在进行糖化时,选择合适的糖化温度并适当延长糖化时间有利于麦汁中蛋白质及其它具有抗氧化活性的物质的溶出与积累,从而提高麦汁的抗氧化活性。而麦汁中蛋白含量高的样品无一例外的均表现出了较高的 ABTS 自由基清除活性。因此,麦汁中的蛋白尤其是具有抗氧化活性的 LTP1 的含量对麦汁的抗氧化力具有重要贡献,从而进一步影响成品啤酒的氧化稳定性。

3 结论

在麦汁制备过程中,蛋白和巯基含量变化一致,均表现为先上升后下降的趋势,糖化过程是它们变化最为剧烈的阶段。不同的糖化工艺可以改变麦汁中的蛋白和巯基含量,在糖化阶段 I,糖化时间对麦汁蛋白和巯基的变化起主导作用,在糖化阶段 II,糖化温度对麦汁蛋白和巯基的影响比糖化时间更为强烈。适当延长糖化时间有利于麦汁中蛋白及其它具有抗氧化活性的物质的溶出与积累,从而提高麦汁的 ABTS 自由基清除活性。因此,麦汁中的蛋白尤其是具有抗氧化活性的 LTP1 的含量,可以作为衡量麦汁乃至成品啤酒氧化稳定性的一个重要指标。

参考文献

- [1] 程康.啤酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,2013
CHENG Kang. Beer Technology [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2013
- [2] Guido L F, Boivin P, Benismail N, et al. An early

- development of the nonenal potential in the malting process [J]. *European Food Research & Technology*, 2005, 220(2): 200-206
- [3] Clarkson S P, Large P J, Bamforth C W. Oxygen-scavenging enzymes in barley and malt and their effects during mashing [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 1992, 98(2): 111-115
- [4] 顾国贤. 酿造工艺学(第二版)[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996
- GU Guo-xian. *Brewing Technology (Second Edition)* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1996
- [5] 李会品, 赵谋明, 赵海锋. 糖化工艺对麦汁总酚含量和抗氧化力的影响[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(8): 136-140
- LI Hui-pin, ZHAO Mou-ming, ZHAO Hai-feng. Effects of mashing process on the total phenolic content and antioxidant activity of wort [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2015, 15(8): 136-140
- [6] Wu M J, Rogers P J, Clarke F M. 125th Anniversary review: The role of proteins in beer redox stability: the role of proteins in beer redox stability [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2012, 118(1): 1-11
- [7] Čemažar M, Gruber C W, Craik D J. Oxidative folding of cyclic cystine knot proteins [J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2008, 10(1): 103-112
- [8] Houée-Levin C, Bergès J. Conformational stability of disulfide bonds in redox processes [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2008, 77(10-12): 1286-1289
- [9] de Almeida N E C, Lund M N, Andersen M L, et al. Beer thiol-containing compounds and redox stability: kinetic study of 1-hydroxyethyl radical scavenging ability [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(39): 9444-9452
- [10] 吴晓英. 浑浊小麦啤酒中的蛋白质、多糖分布研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015
- WU Xiao-ying. Research on protein and polysaccharide distribution of cloudy wheat beer [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2015
- [11] 张吉磊. 啤酒泡沫蛋白质的研究-蛋白质Z和LTP的初步研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010
- ZHANG Ji-lei. Research on beer foam proteins-primary study on protein Z and LTP [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2010
- [12] 雷宏杰. 高浓麦汁氮源组成对酵母氨基酸同化及发酵调控影响的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014
- LEI Hong-jie. Study on the effects of nitrogen composition in high gravity wort on the assimilation of amino acids by lager yeast and fermentation control [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014
- [13] 梁若楠. 高耐性啤酒酵母选育及高浓度特种啤酒酿造工艺优化[D]. 广州: 华南理工大学, 2018
- LIANG Ruo-nan. Selection of high tolerance brewer's yeast and optimization of high gravity specially beer brewing [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1): 248-254
- [15] Zhou F, Zhao M, Zhao H, et al. Effects of oxidative modification on gel properties of isolated porcine myofibrillar protein by peroxy radicals [J]. *Meat Science*, 2014, 96(4): 1432-1439
- [16] Zhao H, Li H, Sun G, et al. Assessment of endogenous antioxidative compounds and antioxidant activities of lager beers: Assessment of antioxidants of lager beers [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93(4): 910-917
- [17] Kanerva P, Sontag-Strohm T, Lehtonen P. Determination of prolamins in beers by ELISA and SDS-PAGE [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2005, 111(1): 61-64
- [18] 李剑华. 简述啤酒色度的测定方法[J]. *啤酒科技*, 1999, 1: 27-30
- LI Jian-hua. Brief description of the method for determining the color of beer [J]. *Beer Science and Technology*, 1999, 1: 27-30
- [19] 李会品. 啤酒抗氧化力评价及其与老化物质关系的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013
- LI Hui-pin. Study on evaluation of antioxidant activity and its relation with ageing compounds in beer [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013
- [20] Bei J, Lin L, Guo Qin L, et al. Structural changes of malt proteins during boiling [J]. *Molecules*, 2009, 14(3): 1081
- [21] Celus I, Brijs K, Delcour J A. The effects of malting and mashing on barley protein extractability [J]. *Journal of Cereal Science*, 2006, 44(2): 203-211
- [22] Lin J, Liao X, Du G, et al. Enhancement of glutathione production in a coupled system of adenosine deaminase-deficient recombinant *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Enzyme & Microbial Technology*, 2009, 44(5): 269-273

(下转第 40 页)