

工业化酿造过程中酵母分泌蛋白酶A的规律及影响因素的研究

董倩倩^{1,2},张彦青^{2,3},李惠萍²,李红^{1,3},房慧婧²,杜金华^{1,*}

(1.山东农业大学食品科学与工程学院,山东泰安 271018;

2.广州珠江啤酒股份有限公司,广东广州 510308;

3.中国食品发酵工业研究院,北京 100027)

摘要:对啤酒工业化规模发酵过程中酵母分泌蛋白酶A的规律进行了探讨,对酵母代数及酵母贮存条件等因素对酵母分泌蛋白酶A的影响进行了研究,并对蛋白酶A活性不同的成品纯生啤酒的泡持值、泡沫活性蛋白含量及蛋白酶A活性进行了跟踪分析。结果表明:发酵过程中,蛋白酶A的活性呈上升趋势且接种酵母的蛋白酶A活性越高,与其对应的发酵液中蛋白酶A的活性越高,成品酒的泡沫稳定性越差。另外,随着酵母代数及贮存时间的增加,酵母分泌蛋白酶A的量增加。当酵母蛋白酶A活性控制在0.015U/mL以下且成品酒的初始蛋白酶A活性在 15×10^{-5} U/mL以下时,储存4个月的成品纯生啤酒的泡沫稳定性较好。

关键词:啤酒,蛋白酶A,泡沫,酵母,酿造

Study on the rules and influencing factors of yeast proteinase A secretory under industrial scale brewing

DONG Qian-qian^{1,2}, ZHANG Yan-qing^{2,3}, LI Hui-ping², LI Hong^{1,3}, FANG Hui-jing², DU Jin-hua^{1,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China;

2. Guangzhou Zhujiang Brewery Co., Ltd., Guangzhou 510308, China;

3. China National Research Institute of Food & Fermentation Industries, Beijing 100027, China)

Abstract: The secretory regularity of proteinase A from yeast was investigated in industrial scale fermentation. The factors such as yeast generation and storage conditions were studied to achieve their influencing extent of yeast proteinase A excretory, and the change of proteinase A activity, foam protein and head retention of draft beer with different initial proteinase A level during storage were tested in this study. The results showed that the activity of proteinase A would increase during fermentation, and the tendency was pronounced for fermenting worts while the generation of yeasts was increased. In addition, with the increase of storage period, the concentration of proteinase A excreted from yeast cells also increased. When the activity of proteinase A by yeast was below 0.015U/mL and the initial proteinase A activity in final product was less than 15×10^{-5} U/mL, the foam stability of draft beer would be better than others after 4 months.

Key words: beer; proteinase A; foam; yeast; brewing

中图分类号:TS261.1

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2015)12-0157-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.12.024

啤酒是一种以麦芽、水为主要原料,加啤酒花(包括酒花制品),经酵母发酵酿制而成的、含有二氧化碳的、起泡的、低酒精度的发酵酒。纯生啤酒则是应用微孔膜过滤及无菌罐装技术得到的新鲜、爽口、口感纯正的啤酒。自推出后,以其独有的新鲜口感赢得了各国消费者的青睐。随着纯生啤酒产量的迅速增长,我国纯生啤酒的质量在不断地提高,但作为评

判纯生啤酒品质之一的泡沫稳定性却一直困扰着啤酒酿造者们,即随着货架期的延长,纯生啤酒的泡沫稳定性逐渐降低。

国内外研究表明^[1-6],纯生啤酒中含有大量有助于泡沫稳定性的组分:泡沫活性蛋白或多肽、二氧化碳、非淀粉多糖、金属离子、异- α -酸等。其中,泡沫活性蛋白和多肽对泡沫稳定性具有重要作用,主要包

收稿日期:2014-09-10

作者简介:董倩倩(1989-),女,硕士研究生,研究方向:食品科学。

* 通讯作者:杜金华(1963-),女,博士,教授,研究方向:食品微生物与酿酒技术。

基金项目:广州市海珠区科技计划项目(2013-ZD-01);国家国际科技合作专项(2014DFG31770)。

括蛋白质Z和脂转运蛋白LTP1^[7]。而酵母在发酵过程中产生的蛋白酶A则是作用于蛋白质Z和脂肪转运蛋白(LTP1)的主要蛋白酶类^[8]。它在发酵阶段和酒体成熟阶段被释放到酒液中，消化有助于啤酒泡沫稳定性蛋白质，改变蛋白质Z和脂肪转运蛋白LTP1的疏水性能^[9~10]。另外，由于纯生啤酒未经巴氏杀菌，残留在成品纯生啤酒中的蛋白酶A会继续破坏这些蛋白质和多肽^[11]，使处于贮存或货架期的纯生啤酒的泡沫稳定性降低，影响纯生啤酒的品质。因此，控制好酿造过程中酵母蛋白酶A的分泌对提高纯生啤酒的品质至关重要。

在啤酒生产过程中，影响酵母分泌蛋白酶A的因素主要有酵母活力、酵母接种量、氮源、辅料及原麦汁浓度等。其中辅料的增加^[12]、原麦汁浓度的增加^[13]、氮源缺乏^[14~15]以及过高酵母接种量^[16]均会导致发酵液中蛋白酶A活性的增加。研究表明：在这些因素中，酵母菌株的活力对蛋白酶A活性的影响更大一些^[17]。因此，本实验对酵母及纯生啤酒生产过程中的蛋白酶A活性及发酵过程和成品纯生的泡持值、泡沫活性蛋白含量及蛋白酶A活性进行了跟踪分析。旨在明确酵母分泌蛋白酶A的规律及影响其分泌的主要因素，为工业化啤酒生产过程中的酵母菌种管理及发酵过程控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

P酵母(啤酒酵母)由国内某大型啤酒集团公司提供；考马斯亮蓝G-250 国药集团化学试剂有限公司；牛血清蛋白(含氮量≥13.5%) 上海伯奥生物科技有限公司；无水乙醇 安徽安特食品股份有限公司；磷酸 广州市东红化工厂；Na₂HPO₄·12H₂O、柠檬酸 广州化学试剂厂；二甲基亚砜(DMSO) FARCO 化学试剂公司；蛋白酶K Sigma公司；荧光底物MOCAC-Ala-Pro-Ala-Lys-Phe-Phe-Arg-Leu-Lys(Dnp)-NH₂ 日本多肽研究所。

Nibem-T Haffman泡沫测定仪 荷兰Haffmans公司；LRH-250A 生化培养箱 广东省医疗器械厂；V3140型紫外分光光度计 澳大利亚GBC公司；RF-5301PC 荧光分光光度计 日本东京岛津公司；HHW21-420 XMTB 数显调节恒温水浴锅 余姚市东方电工仪器厂；HI8417pH计 Hanna公司；MEDIFRIGER-BL型冷冻离心机 西班牙J P SELECTA公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 冷麦汁用单层滤纸过滤后备用；酵母泥及发酵液样品离心(5℃, 5000r/min, 20min)取上清液备用；成品纯生啤酒样品振荡(240r/min, 30min)除气备用。

1.2.2 蛋白酶A活性检测 见参考文献[18~20]。

1.2.3 泡沫活性蛋白的检测 见参考文献[20~21]。

1.2.4 泡持性的测定 参照国标GB/T 4928-2008中的仪器法测定啤酒泡持性。每次各取两瓶测定，取其平均值。

1.2.5 酵母泥检测 对纯生啤酒酿造时常用的1~3代P酵母分泌蛋白酶A的情况进行跟踪分析。实验取

1~3代酵母各5株，并对各代酵母编号为1#~5#(即1代酵母1#~5#, 2代酵母1#~5#, 3代酵母1#~5#)，检测它们的蛋白酶A活性，探索酵母分泌蛋白酶A的规律。

1.2.6 发酵过程及成品纯生啤酒分析 本实验跟踪检测了28个发酵罐(500t, 13℃发酵液)所用酵母泥及发酵液的蛋白酶A活性和泡沫活性蛋白含量，并对其所得成品纯生啤酒(10℃)4个月内的泡持值、泡沫活性蛋白含量及蛋白酶A活性进行了跟踪分析。通过分析，本文选取了6个具有代表性的发酵罐(罐号为09#、14#、28#、29#、45#、45')，对其检测数据进行分析以阐明纯生啤酒发酵过程中蛋白酶A的分泌规律及不同蛋白酶A活性对啤酒泡沫稳定性的影响。

2 结果与分析

2.1 酵母代数与蛋白酶A分泌量的关系

酵母菌的生长繁殖过程遵循幼-壮-老-衰-死的生长规律，不同代数的酵母菌株所处的生理状态不同，对啤酒的发酵也会有不同的影响^[22]。啤酒工业化生产过程中，同一品种的纯生啤酒所使用的酿造工艺和酵母菌种是相同的，但是由于酵母代数不同，会影响啤酒泡沫稳定性，最终导致不同批次的成品啤酒质量千差万别^[23]。

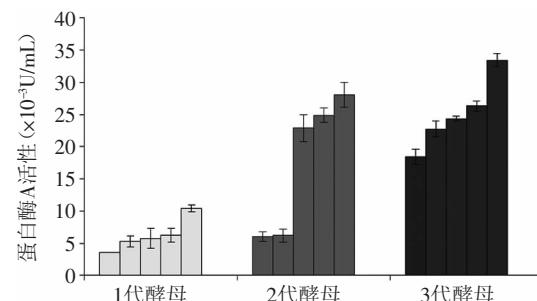


图1 同种酵母不同代数酵母泥上清液的蛋白酶A活性

Fig.1 Proteinase A activity from generations of brewer's yeast

注：所得数据为3次独立实验的平均值±SD值，图2、图4、图6同；各代酵母柱形图从左到右依次为1#~5#。

本实验对工业酿造纯生啤酒常用的1~3代P酵母分泌蛋白酶A的情况进行了跟踪分析。图1为不同代数酵母泥的上清液蛋白酶A活性。由图1可以看出：随着酵母代数的增加，其分泌的蛋白酶A量增加，5株1代P酵母的蛋白酶A活性均在0.015U/mL以下，5株3代P酵母的蛋白酶A活性均较高，而2代酵母的蛋白酶A活性则有高有低。

通过对蛋白酶A活性变化较大的5株2代P酵母的发酵参数(表1)分析可知：这5株酵母的存活率及发酵液的酵母接种量差别不大，因此其中3#的蛋白酶A的活性较高是由于酵母回收时间及酵母来源所致。分析原因因为在啤酒酿造后期，酵母自然沉降到罐底，此时发酵液中营养物质耗尽，酵母发酵结束，而且发酵罐底部降温困难，温度升高，因此延长酵母在大罐内的贮存时间将会导致酵母老化自溶，酵母细胞膜损伤，蛋白酶A被释放进入酒液^[24~25]。另外，2代酵母的4#和5#酵母均来自高浓发酵，由于酵母在接种前处于高渗透压和高酒精度的环境中，导致酵母褶皱、内

陷,在接种时酵母泥本身的蛋白酶A活性较高以至于在后续发酵过程中蛋白酶A活性始终处于较高水平。因此,在进行酵母接种前,除了考虑酵母的存活率外也应该检测酵母泥的上清液蛋白酶A活性,而且对于已经用于高浓发酵或回收较晚的酵母(即使为1~3代酵母)以及酵母的蛋白酶A活性超过0.015U/mL时应不予以考虑进行纯生啤酒的酿造。

表1 2代酵母的发酵参数

Table 1 Parameters of fermentation used
second-generation yeast

2代P酵母 编号	接种酵母 存活率(%)	酵母添加 (干酵母重,t)	酵母回收 时间(d)	酵母来源
1#	95.3	3.83	10.66	13°P发酵液
2#	96.8	3.77	10.93	13°P发酵液
3#	94.4	3.87	20.91	13°P发酵液
4#	94.5	3.86	11.02	18°P发酵液
5#	94.5	3.86	11.93	18°P发酵液

注:表中列举了与酵母分泌蛋白酶A相关的发酵参数,其中酵母来源是指所检测的酵母来自于13°P或18°P发酵液中回收的酵母,13°P表示原麦汁浓度。

2.2 酵母贮存时间对其分泌蛋白酶A的影响

酵母的贮存条件,如贮存周期、压力、温度都会对酵母的活性产生不同程度的影响,特别是蛋白酶A的分泌。本实验的酵母贮存温度及压力基本一致(数据未显示),因此只跟踪了酵母在贮罐内的贮存情况(见图2)。

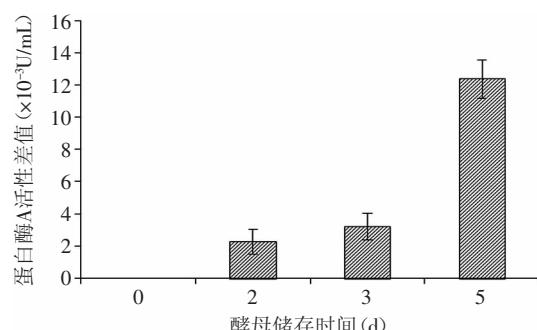


图2 不同酵母贮存时间下酵母蛋白酶A的分泌增加量

Fig.2 Increasing proteinase A activity by yeast in different storage period

由此发现:随着酵母贮存周期的延长,蛋白酶A的分泌量呈上升趋势。酵母在贮存2~3d后,其蛋白酶A活性增加量在0.004U/mL以下。但是贮存5d后,酵母蛋白酶A活性急剧增加,达到0.012U/mL,比刚回收到酵母贮罐的酵母的蛋白酶A活性增加了2倍多。这表明即使在低温下贮存酵母,酵母分泌蛋白酶A的量仍然会发生很大变化。因此,在实际生产中,要加强对接种酵母的检测和管理,在使用较低代数酵母的同时尽可能保证酵母回收后的尽快使用。

2.3 发酵过程中蛋白酶A活性及泡沫活性蛋白含量的变化

对6罐由不同代数酵母所酿造的纯生啤酒各阶

段(酵母泥上清液、回收酵母后的发酵液、成熟发酵液、生啤、成品纯生啤酒)蛋白酶A活性及泡沫活性蛋白含量进行了跟踪检测。

表2 各发酵罐所接种酵母的代数

Table 2 Generation of yeast in fermenter

发酵罐号	14#	45#	09#	28#	29#	45'#
接种酵母代数	1	1	2	2	2	3

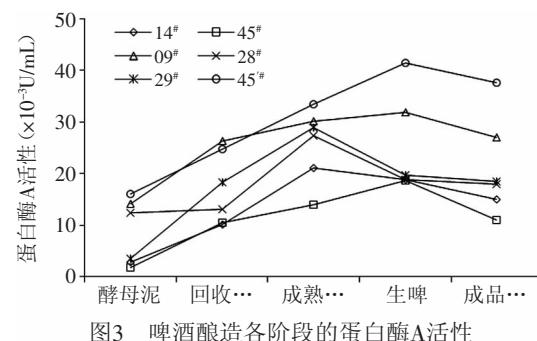


Fig.3 Proteinase A activity during fermentation

结合表2和图3发现:当酵母代数较高(45')或酵母泥的蛋白酶A活性较高(09#)时,整个发酵过程中蛋白酶A活性呈现先上升后下降趋势。另外,即使酵母泥的蛋白酶A活性相差不多(图3中14#、29#),其发酵过程中的蛋白酶A活性变化也会因酵母代数的不同而不同。

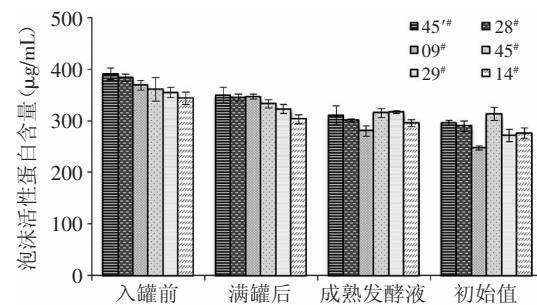


图4 酿造过程中泡沫活性蛋白含量变化

Fig.4 Changes of foam protein content during fermentation

图4则是不同代数酵母所酿造啤酒的各阶段泡沫活性蛋白含量的变化趋势,其中45'#、28#和09#发酵罐的麦汁泡沫活性蛋白含量较高,其次为45#、29#、14#。但是在发酵结束后,28#、09#发酵罐的泡沫活性蛋白含量较低,结合图3能够看出28#和09#发酵过程中的蛋白酶A活性较高,在整个发酵过程中降解泡沫活性蛋白较多,所以它们的泡沫活性蛋白含量偏低。

2.4 蛋白酶A活性与啤酒泡沫稳定性之间的关系(成品跟踪情况)

为了探究蛋白酶A活性与啤酒泡沫稳定性的关系,对蛋白酶A活性不同的成品纯生啤酒进行室温贮存并跟踪它们在4个月内泡持值、泡沫活性蛋白含量及蛋白酶A活性的变化规律(见表3,图5~图7)。

由图5可知,虽然这些成品啤酒泡持初始值相差不大,均在235S左右,但是常温贮存半月后,每个罐

表3 各罐发酵参数

Table 3 Parameters of fermentation

发酵罐编号	14#	28#	09#	45#	29#	45'#
接种酵母贮存时间(d)	5.9	5.9	1.6		4.6	
酵母代数	1	2	2	2	1	3
接种酵母存活率(%)	96.5	94.5	94.5	95.3	99	96
双乙酰达标时间(d)	8.66	7.66	8.25	7.43	7.55	/
酵母回收时间(d)	15.29	11.02	11.93	10.66	11.94	16.89
接种酵母的浓度(%)	66.7	76.7	76.7	58.3	70	70

的泡持值存在明显的区别,且在2个月后它们的泡持值大部分低于200S。

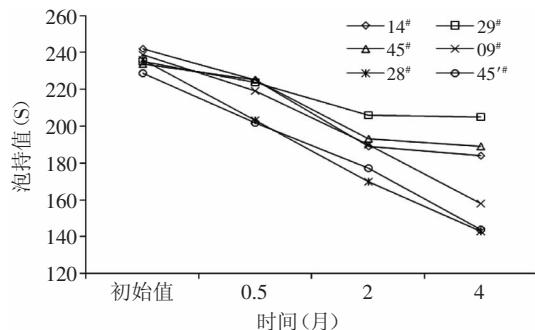


图5 4个月内成品纯生啤酒的泡持值

Fig.5 Changes of foam stability in 4 months

图6中成品纯生啤酒贮存4个月后,泡持值低的45'#和28#罐的泡沫活性蛋白含量下降了40%~50%,而泡持值高的29#和14#罐则下降了30%左右,其他发酵罐下降30%~40%。

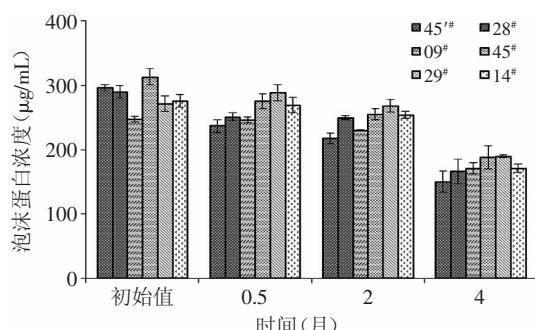


图6 成品贮存过程中泡沫蛋白的变化

Fig.6 Changes of foam protein content during draft beer storage period

图7中,发酵罐45'#的成品啤酒蛋白酶A活性最高,在贮存期的前半月呈上升趋势,随后不断下降;而28#在贮存过程中始终呈现上升趋势;其他成品蛋白酶A活性则随着贮存期的延长而不断减弱,衰减主要发生在前2个月。根据Kondo等^[18]的研究结果推断:这一现象与蛋白酶A的动力学特性及蛋白酶A前驱物有关,即酵母胞外渗出的蛋白酶A最初在酒液中是以无活性的蛋白酶A前驱物存在。由于纯生啤酒的酸性环境^[18]及常温贮存(接近蛋白酶A的最适温度)非常适宜蛋白酶A由无活性的前驱物向有活性的蛋白

酶A转化,因此在贮酒阶段会出现蛋白酶A活性升高或泡持性持续衰减的现象。但是对于这种转化机理只处于猜测阶段,目前并无文献证明这一推断,还需要进一步探究。

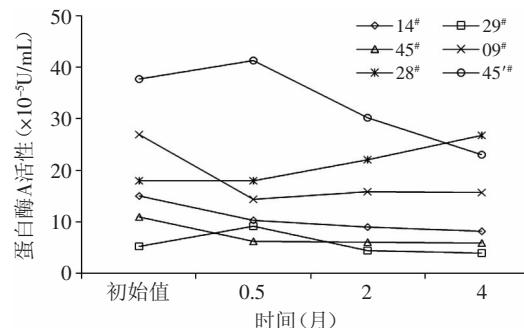


图7 4个月内成品纯生啤酒的蛋白酶A活性

Fig.7 Changes of the proteinase A activity of draft beer in 4 months

综上所述,纯生啤酒泡持值的衰减存在一定规律性:在贮存的前2个月,泡持衰减的速度最快,而且此阶段酒体中蛋白酶A的活性较高;2个月后,泡沫稳定性衰减的速度趋于平缓,甚至消失。另外,每个发酵罐所接种酵母的代数及其蛋白酶A活性不同,其发酵得到的纯生啤酒中蛋白酶A活性也不同。由于蛋白酶A对泡沫活性蛋白的降解作用,导致了贮存期间泡沫活性蛋白含量的下降,而且蛋白酶A活性越高,成品啤酒的泡沫活性蛋白含量的下降趋势越明显,从而导致其泡持值较快的衰减速率而且在4个月内一直维持这种趋势。

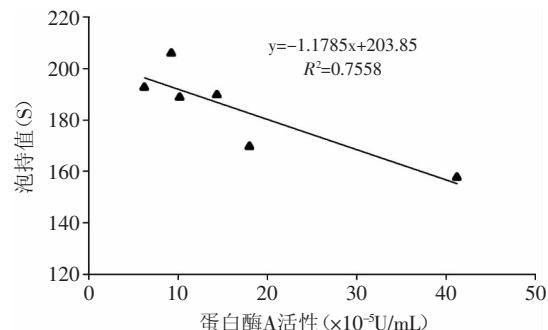


图8 纯生啤酒蛋白酶A活性与泡沫稳定性之间的关系

Fig.8 Correlation between the amount of proteinase A in beer and foam stability

根据上述结论,本实验跟踪检测了不同蛋白酶A酶活($0\sim50\times10^{-5}\text{U/mL}$)的纯生啤酒在室温贮存2个月后的泡持值如图8所示,检测结果表明:泡持值的减少与初始蛋白酶A含量的多少成一定比例。蛋白酶A的酶活越高(当超过 $15\times10^{-5}\text{U/mL}$ 时),这种趋势就越明显。因此,如果降低成熟发酵液的蛋白酶A酶活($\leqslant25\times10^{-5}\text{U/mL}$),并控制成品初始蛋白酶A活性低于 $15\times10^{-5}\text{U/mL}$,纯生啤酒的泡沫稳定性将会得到改善。

3 结论

对酵母分泌蛋白酶A的规律及其影响因素进行

了探讨,分别从酵母代数、酵母贮存时间、发酵过程中蛋白酶A活性变化规律及蛋白酶A含量不同的纯生啤酒贮存期变化趋势等四个方面分析了蛋白酶A对纯生啤酒泡沫稳定性的影响。结果表明:使用1~2代的酵母并将接种酵母、成熟发酵液及成品纯生初始的蛋白酶A活性分别控制在 0.015 、 25×10^{-5} 、 15×10^{-5} U/mL时,纯生啤酒的泡沫稳定性可以得到明显的改善。

参考文献

- [1] Asano K, Hashimoto N. Isolation and characterization of foaming proteins of beer[J]. J Am Soc Brew Chem, 1980(38): 129–137.
 - [2] Bamforth C W. Biochemical approaches to beer quality[J]. J Inst Brew, 1985(91): 154–160.
 - [3] Simpson W J, Hughes P S. Stabilization of foams by hop-derived bitter acids: chemical interaction in beer foam[J]. Cerevis Biotechnol, 1994(19): 39–44.
 - [4] Lusk L T, Goldstein H, Ryde D. Independent role of beer proteins, melanoidins and polysaccharides in foam formation[J]. J Am Soc Brew Chem, 1995(53): 93–103.
 - [5] 叶俊华, 顾国贤, 陆建. 啤酒及其泡沫中蛋白组分的比较分析[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(6): 46–49.
 - [6] Bamforth C W. The foaming properties of beer[J]. J Inst Brew, 1985, 91: 370–383.
 - [7] Sorensen S B, Bech L M, Muldbjerg M, et al. Barley lipid transfer protein 1 is involved in beer foam formation[J]. Tech Q Mast Brew Assoc Am, 1993, 30: 136–145.
 - [8] Chen Q H, Liu X J, Fu M L, et al. Effect of PrA encoding gene -PEP4 deletion in industrial *S.cerevisiae* WZ65 on key enzymes in relation to the glycolytic pathway[J]. Eur Food Res Technol, 2012, 231: 943–950.
 - [9] 王德良, 杨毅, 贾凤超, 等. 蛋白酶A与啤酒泡沫稳定性(二)[J]. 啤酒科技, 2004(5): 11–15.
 - [10] Shimizu C, Yokoi S, Koshino S. The mechanism controlling the decrease in beer foam stability using proteinase A[J]. EBC

(上接第156页)

- 了探讨,分别从酵母代数、酵母贮存时间、发酵过程中蛋白酶A活性变化规律及蛋白酶A含量不同的纯生啤酒贮存期变化趋势等四个方面分析了蛋白酶A对纯生啤酒泡沫稳定性的影响。结果表明:使用1~2代的酵母并将接种酵母、成熟发酵液及成品纯生初始的蛋白酶A活性分别控制在 0.015 、 25×10^{-5} 、 15×10^{-5} U/mL时,纯生啤酒的泡沫稳定性可以得到明显的改善。

参考文献

 - [1] Asano K, Hashimoto N. Isolation and characterization of foaming proteins of beer[J]. J Am Soc Brew Chem, 1980(38): 129~137.
 - [2] Bamforth C W. Biochemical approaches to beer quality[J]. J Inst Brew, 1985(91): 154~160.
 - [3] Simpson W J, Hughes P S. Stabilization of foams by hop-derived bitter acids chemical interaction in beer foam[J]. Cerevis Biotechnol, 1994(19): 39~44.
 - [4] Lusk L T, Goldstein H, Ryde D. Independent role of beer proteins, melanoidins and polysaccharides in foam formation[J]. J Am Soc Brew Chem, 1995(53): 93~103.
 - [5] 叶俊华,顾国贤,陆建.啤酒及其泡沫中蛋白组分的比较分析[J].无锡轻工大学学报,2003,22(6):46~49.
 - [6] Bamforth C W. The foaming properties of beer[J]. J Inst Brew, 1985, 91: 370~383.
 - [7] Sorensen S B, Bech L M, Muldbjerg M, et al. Barley lipid transfer protein 1 is involved in beer foam formation[J]. Tech Q Mast Brew Assoc Am, 1993, 30: 136~145.
 - [8] Chen Q H, Liu X J, Fu M L, et al. Effect of PrA encoding gene -PEP4 deletion in industrial *S.cerevisiae* WZ65 on key enzymes in relation to the glycolytic pathway[J]. Eur Food Res Technol, 2012, 231: 943~950.
 - [9] 王德良,杨毅,贾凤超,等.蛋白酶A与啤酒泡沫稳定性(二)[J].啤酒科技,2004(5):11~15.
 - [10] Shimizu C, Yokoi S, Koshino S. The mechanism controlling the decrease in beer foam stability using proteinase A[J]. EBC Congress, 1995: 569~576.
 - [11] 黄亚东.温瓶处理对纯生啤酒泡沫稳定性的影响研究[J].中国酿造,2005(8):28~30.
 - [12] Stephan E, Brey, Samodh de Costa, et al. The effect of froteinase A on foam-active polypeptides during high and low gravity fermentation[J]. J Inst Brew, 2003, 9(23): 194~202.
 - [13] Dreyer T, Biedermann K, Ottesen M. Yeast proteinase in beer[J]. Carlsberg Res Commun, 1983, 48(3): 249~253.
 - [14] Maddox I S, Hough J S. Proteolytic enzymes of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. J Biochem, 1970, 117: 843~852.
 - [15] 郝秋娟,李琦,顾国贤.啤酒酵母的自溶及对啤酒质量的影响[J].啤酒科技,2005(1):33~34.
 - [16] Stewart G G, Mader A, Chlup P, et al. The influence of process parameters on beer foam stability[J]. MBAA TQ, 2006, 43(1): 47~51.
 - [17] 张俊炎,田亚平,陆建,等.啤酒泡沫稳定性和蛋白酶的关系[J].食品与发酵工业,2002,28(9):51~56.
 - [18] Hiroto K, Hideko Y, Susumu F, et al. Advanced method for measuring proteinase A in beer and application to brewing[J]. J Inst Brew, 1999, 105(5): 293~300.
 - [19] Cooper D J, Stewart G G, Bryce J H. Yeast proteolytic activity during high and low gravity wort fermentations and its effect on head retention[J]. J Inst Brew, 2000, 106(4): 197~201.
 - [20] 姜珊,张彦青,杜金华,等.高分子蛋白和蛋白酶A对纯生啤酒泡沫稳定性的影响[J].酿酒科技,2014(11).
 - [21] 杜芳,王君高,李红,等.考马斯亮蓝法在啤酒泡沫蛋白测定中的应用[J].酿酒科技,2013,5:69~72.
 - [22] 于娟婷,王国川,贾士儒.不同代数啤酒酵母对啤酒风味的影响[J].酿酒,2006(5):78~81.
 - [23] 郑昕,张彦青.酵母代数对啤酒发酵过程中挥发性风味物质的影响[J].酿酒,2011,38(9):48~50.
 - [24] 余俊红.高浓酿造工艺对啤酒酵母的影响[J].啤酒科技,2002(11):59~61.
 - [25] Brey S E, Bryce J H, Stewart G G. The loss of hydrophobic polypeptides during fermentation and conditioning of high gravity and low gravity brewed beer[J]. J Inst Brew, 2002, 108: 424~433.

(上接第156页)

esters and methylacetals from lipids with boron fluoride-methanol [J]. Journal of Lipid Research, 1964, 5(4): 600~608.

[18] Bernardeau M, Guguen M, Vernoux J P. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30(4): 487~513.

[19] Sriphochanart W, Skolpap W. Characterization of proteolytic effect of lactic acid bacteria starter cultures on Thai fermented sausages[J]. Food Biotechnology, 2010, 24(4): 293~311.

[20] Toldrá F, Flores M. The role of muscle proteases and lipases in flavor development during the processing of dry-cured ham[J]. Critical Reviews in Food Science, 1998, 38(4): 331~352.

[21] Mottram D S. Flavour formation in meat and products[J]. Food Chemistry, 1998, 2(4): 415~424.

[22] 马长伟,张松山,刘欢,等.对反应腊肉制品脂肪氧化酸败程度指标的探讨[J].肉类研究,2007,21(6):4.

[23] 王永丽,章建浩,靳国锋,等.风干成熟工艺对风鸭脂质分解氧化影响的研究[J].食品科学,2009(14):81~86.

[24] 刘小艳,白卫东,庄晓琪.加工过程中广式腊肠脂肪降解对风味的影响[J].中国调味品,2009,8(34):60~63.

[25] 傅樱花,马长伟.腊肉加工过程中脂质分解及氧化的研究[J].食品科技,2004(1):42~44.

[26] Beltran E, Pla R, Yuste J, et al. Use of antioxidants to minimize rancidity in pressurized and cooked chicken slurries[J]. Meat science, 2004, 66(3): 719~725.

[27] Timon M L, Ventanas J, Carrapiso A I, et al. Subcutaneous and intermuscular fat characterization of dry-cures Iberian hams [J]. Meat Science, 2001, 51: 85~91.

[28] 陆瑞琪,邹延军,孙敬,等.金华火腿现代化生产过程中脂质及内源酶的变化特点[J].食品机械,2008,24(5):17~20.