文章编号: 1673-1689(2011) 02-0295-07

制麦白地霉的筛选及其初步应用

乔洪升[1,2], 蔡国林[2], 孙军勇[2], 陆 健*[1,2]
(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 对40 株白地霉产β-葡聚糖酶、木聚糖酶、中性蛋白酶和纤维素酶的酶活情况进行研究, 以加权评分对这些酶活进行分析评价, 从中选出 4 株白地霉菌株(3 号、12 号、18 号和 39 号) 作为制麦用微生物。通过大麦制麦试验证明: 这 4 株白地霉均对麦芽的溶解具有促进作用, 其中 12 号白地霉的效果最好。与空白对照相比, 制得的白地霉麦芽中, β-葡聚糖质量分数降低了 17.8%, 60 min 的滤液体积提高了 35.4%, 糖化力增加了 10.3%, α-氨基氮质量分数增加了 7.3%, 其他理化指标也均符合 QB1686-2008。将 12 号白地霉麦芽与对照麦芽分别进行了啤酒酿造实验, 结果表明: 白地霉麦芽的酿造性能优于空白对照麦芽, 两种麦芽所酿啤酒的理化指标均符合 GB 4927-2008。

关键词: 白地霉; 制麦; 麦芽; 溶解; 啤酒
中图分类号: TQ 920.1 文献标识码: A

Selection of *Geotrichum* and Its Preliminary Application

QIAO Hong-sheng[1,2], CAI Gue-lin[2], SUN Jun-yong[2], LU Jian*[1,2]
(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The activities of β-glucanase, xylanase, protease and cellulase produced by 40 strains of *Geotrichum candidum* were studied in this manuscript. The weighted mark method was used to analyze activities of the above enzymes, and four *G. candidum* strains including No. 3, No. 12, No. 18 and No. 39 were selected as the malting microbial strains. The malting trials indicated that four *G. candidum* strains could improve the modification of malt and No. 12 was the best one. Compared with that of the control, β-glucan content in final malt produced by *G. candidum* No. 12 was decreased by 17.8%, and filtration volume in sixty minutes, diastatic power and free amino nitrogen content increased by 35.4%, 10.3% and 7.3%, respectively. Meanwhile, other characteristics of the final malt met the requirement of QB1686-2008. The results of fermentation experiment shown that the brewing characteristics of microbial malt was better than that of the control malt, and the beer brewed with microbial malts or control malts both met the requirement of GB4927-2008.

Key words: *Geotrichum candidum*, malting, malt, modification, beer

收稿日期: 2010-03-03
基金项目: 国家"十一五"科技支撑计划项目(2007BAK36B01); 国家"十一五"科技支撑重点项目(2008BAI63B06); 江南大学青年科学基金项目(2008LQN016); 江苏省青蓝工程项目。
* 通信作者: 陆健(1968-), 男, 江苏太仓人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事酿酒微生物与酶技术方面的研究。Email: jlu@jiangnan.edu.cn

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

中国是世界上的啤酒大国,产量多年居世界第一,而且产量仍在继续增加。与啤酒工业蓬勃发展形成鲜明对比的是,我国啤酒工业的原料却主要依赖于进口,因此发展优质国产啤酒大麦显得尤为重要。与国外啤酒大麦相比,部分国产啤酒大麦存在着一定的质量缺陷[1],主要表现在大麦蛋白质质量分数高,发芽势和发芽率不均一,胚乳溶解较差,浸出率较低,过滤性能较差。

在制麦过程中添加一些有益的微生物菌株可提高成品麦芽的品质,此研究在国外已有多年历史[2]。德国的乳酸麦芽目前应用比较广泛,比利时的根霉麦芽也已进入了中试生产阶段。有益微生物会在制麦过程中分泌水解酶系或利用自身的菌丝,穿入大麦皮层,协助麦芽的溶解[3]。特别是对于蛋白质和葡聚糖质量分数高的大麦,对成品麦芽品质的改善较为明显。因此,筛选到产水解酶酶活高的安全菌种,是使微生物制麦得以顺利进行的必要前提。

白地霉是绿麦芽及焙燥麦芽中自然菌群的组成之一。毒理学研究表明,白地霉非病原菌,不合成真菌毒素,没有毒素遗传性,被认为是安全的[4]。在以前的研究中,将白地霉菌株添加到微型制麦中可抑制霉菌生长,尤其是制麦过程中的镰刀霉菌,同时,白地霉菌株在生长过程中还会分泌多种水解酶,这些水解酶对大麦胚乳细胞的溶解具有促进作用[5]。

部分国产啤酒大麦在过滤性能方面比较差,影响到啤酒酿造过程以及产品质量。与过滤性能相关的酶系主要是半纤维素酶(β葡聚糖酶和木聚糖酶)、蛋白酶和纤维素酶。半纤维素酶能将大麦胚乳细胞壁的主要组成部分(半纤维素)降解为小分子的糖,改善成品麦芽的过滤性能;蛋白酶影响到麦芽蛋白质的溶解,进而影响麦汁的过滤特性;纤维素酶能降解大麦胚乳细胞壁中含有的少量纤维素,以加速胚乳细胞壁的溶解,是麦芽溶解的先驱者。

作者首先筛选产β葡聚糖酶、木聚糖酶、中性蛋白酶和纤维素酶活性较高的白地霉菌株,然后将筛选得到的白地霉应用到制麦过程中,以考察通过白地霉改善成品麦芽过滤性能的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 白地霉:从大麦、小麦、麦芽等分离源获得,作者所在研究室保藏。

1.1.2 培养基

1) 4 g/dL 麦芽粉培养基:2 g 细粉碎麦芽加 50 mL 蒸馏水,108 ℃灭菌 20 min。

2) PDA 培养基:取去皮马铃薯 200 g,切块,加 1 000 mL 蒸馏水,煮沸 10~20 min。用纱布过滤,补加蒸馏水至 1 000 mL。加入葡萄糖 20 g,分装,121 ℃灭菌 20 min。

3) 5 °P 麦汁培养基:取糖化麦汁,加蒸馏水适量,稀释成 5 °P,分装,108 ℃灭菌 20 min(平板培养基中加入 2 g/dL 琼脂)。

1.1.3 大麦样品 从江苏产 KA-4B 大麦中选取低发芽率的大麦作为实验样品,其理化指标为:水分质量分数 11.4%、千粒重 38.6 g、蛋白质质量分数 13.9%、5 d 发芽率 70%、水敏感性 16%。

1.1.4 主要试剂 3,5-二硝基水杨酸、葡萄糖、木糖、羧甲基纤维素钠、干酪素、酪氨酸、钨酸钠、钼酸钠和碳酸钠:均为分析纯,购自上海国药集团化学试剂有限公司;β葡聚糖、木聚糖:购自 Sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 白地霉菌株培养条件 白地霉菌株 4 ℃保藏,使用前连续 2 次转接到 PDA 培养基进行活化,转接至 5 °P 麦芽汁平板上,28 ℃培养过夜,取一环菌种,加入 25 mL 5 °P 麦芽汁培养基中,于 28 ℃、180 r/min 下摇床培养 48 h。调整菌体浓度为 10^7 cfu/mL,用于实验接种。

1.2.2 白地霉菌株产酶条件 取 250 mL 三角瓶 6 个,每瓶装 50 mL 4 g/dL 麦芽粉悬浮液培养基,108 ℃灭菌 20 min,冷却至室温。每个三角瓶接种白地霉孢子悬浮液 1 mL,168 r/min、28 ℃恒温振荡培养,从第 3 天起,每天取一瓶发酵液,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,适当稀释后测定酶活[6]。

1.2.3 酶活测定

1) β葡聚糖酶[7]:在 50 ℃、pH 5.0 条件下,每分钟水解β葡聚糖产生 1 μmol 葡萄糖的酶量定义为一个酶活单位。

2) 木聚糖酶[8]:在 50 ℃、pH 4.8 条件下,每分钟水解木聚糖产生 1 μmol 木糖的酶量定义为一个酶活单位。

3) 蛋白酶[9]:在 40 ℃、pH 7.2 条件下,每分钟水解干酪素产生 1 μg 酪氨酸的酶量定义为一个酶活单位。

4) 纤维素酶[10]:在 50 ℃、pH 6.0 条件下,每分钟分解羧甲基纤维素生成 1 μg 葡萄糖的酶量定义为一个酶活单位。

1.3 制麦工艺

1.3.1 浸麦 浸水 5 h,断水 14 h,浸水 4 h,断水

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

12 h, 浸水 2 h, 浸麦温度为 15 ℃, 浸麦度 43%。

1.3.2 发芽　15 ℃恒温发芽 5 d, 发芽前 24 h 适当补充水分, 湿度控制在 90%。

1.3.3 焙燥　45 ℃ 1 h、50 ℃ 1 h、55 ℃ 1 h、60 ℃ 4 h、65 ℃ 3~ 6 h、68 ℃ 1 h、70 ℃ 1 h、77 ℃ 1 h、81 ℃ 3 h。白地霉菌液在第一次浸麦时直接加到浸麦水中, 接种浓度为 10^5 cfu/ g 大麦。

1.4 麦芽指标分析

麦芽的指标测定都参照中华人民共和国轻工行业标准[11], 其中, 糖化力、色度和总酸的定义如下。

糖化力/WK: 用麦芽浸出液的糖化酶水解淀粉, 生成含有自由醛基的单糖或双糖, 醛糖在碱性碘液中定量氧化为相应的羧酸。剩余的碘, 酸化后以淀粉作为指示剂, 用硫代硫酸钠标准溶液滴定。麦芽的糖化力(WK)以每百克无水麦芽中的糖化酶水解淀粉生成的麦芽糖克数表示。

色度/EBC: 将麦芽汁注入 25 mm 比色皿中, 然后放到比色盒中, 与标准色盘进行比较, 当两者色调一致时直接读取出麦芽汁的色度, 以 EBC 色度单位表示。

总酸: 吸取试样 50 mL 于烧杯中, 插入电极, 开启电磁搅拌器, 用氢氧化钠标准滴定液滴定至 pH 8.2 为其终点, 记录消耗氢氧化钠标准溶液的体积。试样的总酸含量以 100 mL 试样消耗氢氧化钠标准溶液[$c_{(NaOH)}$ = 1.0 mol/L]的毫升数来表示。

1.5 糖化和发酵工艺

糖化与发酵工艺曲线见图 1。其中糖化配料为 100% 麦芽, 粉碎度为 10 目, 料水比为 1∶5, 投料水 pH 为 5.2。

1.6 啤酒常规理化指标的测定

见文献[12]。

2 结果与讨论

2.1 白地霉产酶情况

对第 3~ 8 天的发酵液测定相关的酶活, 结果见图 2。从图 2 可以看出, 随着培养时间的延长, 各酶活增加。到第 7 天时, 各酶活达到最高峰。从产酶的高低来看, 蛋白酶酶活较其他酶活要低。Michal 等[6] 应用 4 g/ dL 的麦芽粉作为培养基, 对 8 株白地霉的产酶情况做了研究。与纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶等相比, 8 株白地霉菌株所产的蛋白酶活性同样比较低, 介于 0~ 0.02 U/mL, 并且其中的 6 株白地霉所产生的蛋白酶活低于 0.007 U/mL, 而纤维素酶、木聚糖酶和 β-葡聚糖酶的活性在 0.06~ 0.36 U/mL。

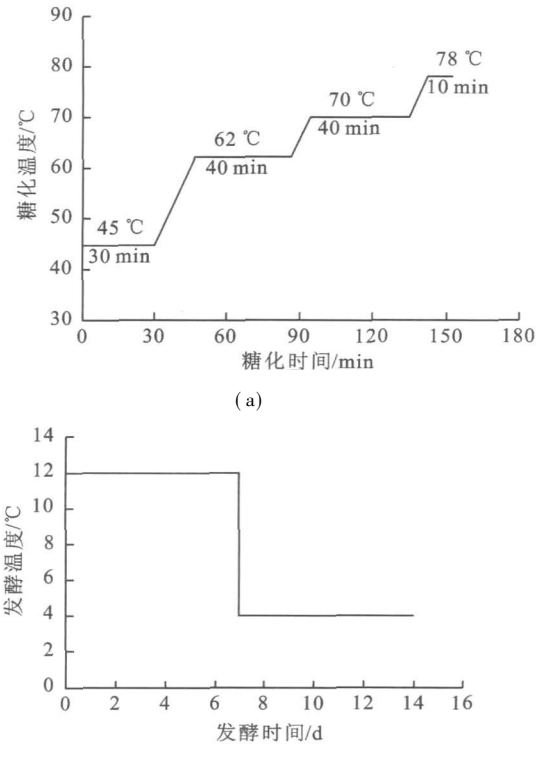


图 1　糖化工艺曲线和发酵工艺曲线

Fig. 1　Profiles of mashing and fermentation process

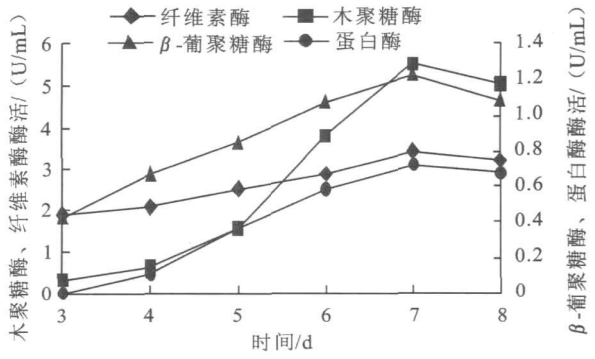


图 2　白地霉产 4 种酶活性变化曲线

Fig. 2　Change curves of *Geotrichum* hydrolytic activity

2.2 白地霉产酶情况分析

按 1.2.2 将本研究室分离、保藏的 40 株白地霉进行液态产酶培养, 对其所产生的蛋白酶、纤维素酶、木聚糖酶和 β-葡聚糖酶酶活进行分析。

2.2.1 纤维素酶　在大麦发芽过程中, 纤维素酶可以加速大麦胚乳细胞壁的溶解, 是麦芽溶解的先驱者[13]。从图 3 可以看出, 并非所有的白地霉菌株都产生纤维素酶。其中, 40 号和 11 号白地霉产酶活最高, 分别达到了 4.1 U/mL 和 4.0 U/mL。造成产酶活较低的原因可能是: 用 4 g/ dL 的麦芽粉作为产酶培养基, 其营养成分比较匮乏, 微生物在此培养基中生长状况较差, 产生的水解酶活较低。但此营养环境与制麦过程中微生物的生长环境具有

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

一定的相似性,因此用此培养基更能反映微生物在制麦过程中的真实产酶情况。

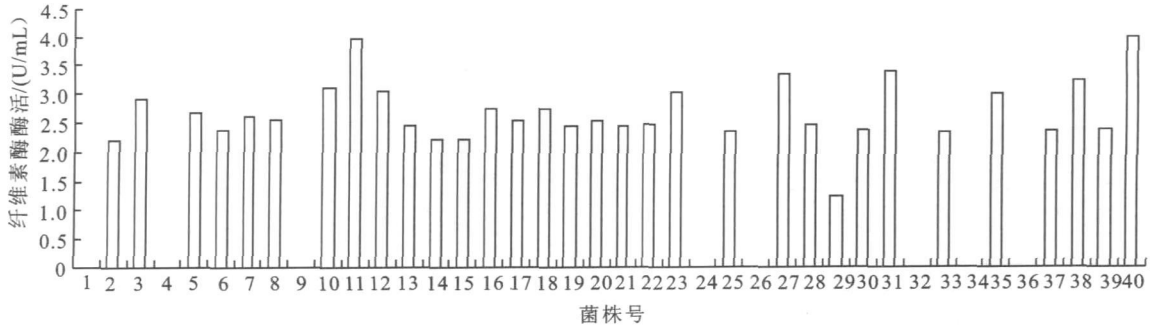


图 3 白地霉产纤维素酶情况

Fig. 3 Cellulase activity produced by *Geotrichum*

2.2.2 β-葡聚糖酶和木聚糖酶 β-葡聚糖酶和木聚糖酶都属于半纤维素酶,它们是制麦过程中非常重要的酶,它们对胚乳细胞壁半纤维素物质充分分解,使蛋白酶和淀粉酶能够进入细胞内,将蛋白质和淀粉进行分解。β-葡聚糖酶和木聚糖酶对麦汁过滤、啤酒过滤和啤酒的非生物稳定性都具有非常重要的作用。

从图 4 可以看出,12 号白地霉所产的 β-葡聚糖酶酶活最高,达到了 7.4 U/mL,3 号白地霉和 18 号白地霉产 β-葡聚糖酶酶活分别达到了 6.1 U/mL 和 4.3 U/mL,39 号、40 号和 35 号白地霉次之。从图 4 中还可以看出,除了上述 6 株白地霉菌株产 β-葡聚糖酶活较高外,其他的白地霉菌株产生的 β-葡聚糖酶活都很低。

图 5 为白地霉菌株产木聚糖酶的情况,可以看出,18 号、11 号和 3 号白地霉产木聚糖酶酶活分别达到了 9.98、9.63、8.94 U/mL。

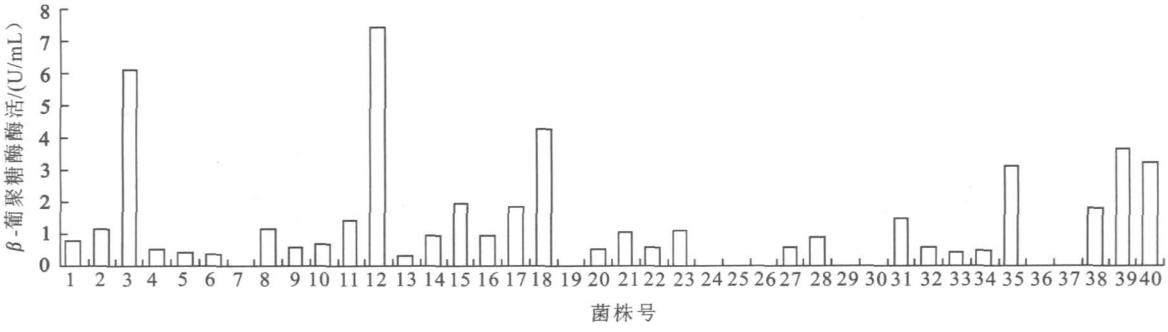


图 4 白地霉产 β-葡聚糖酶情况

Fig. 4 β-Glucanase activity produced by *Geotrichum*

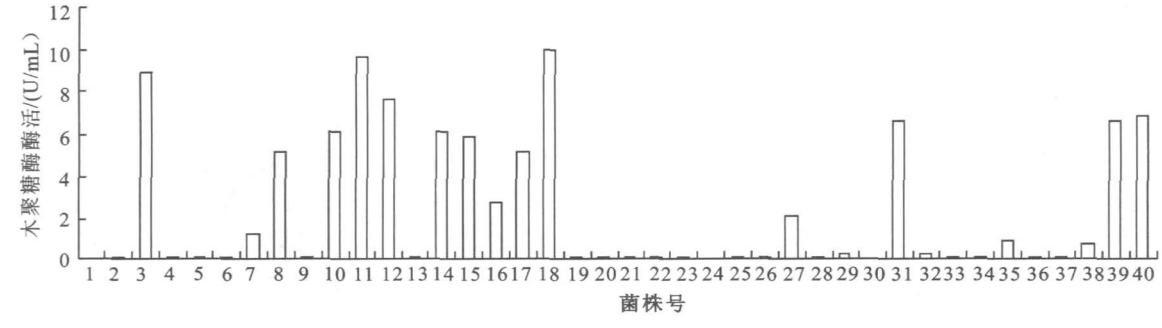


图 5 白地霉产木聚糖酶情况

Fig. 5 Xylanase activity produced by *Geotrichum*

2.2.3 蛋白酶 在大麦的发芽过程中,由糊粉层所分泌的蛋白酶先溶解联结胚乳细胞的蛋白质薄膜,使胚乳细胞分离,并使胚乳细胞壁暴露出来,得以与半纤维素酶接触。在半纤维素酶分解了胚乳细胞壁后,蛋白酶进一步分解包围淀粉颗粒的蛋白质支撑物,使淀粉颗粒与淀粉酶得以接触而被分

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

解。蛋白酶直接影响到麦芽蛋白质的溶解、麦汁的过滤特性、啤酒的发酵和成品啤酒的风味稳定性、非生物稳定性和泡沫稳定性, 是一种非常重要的酶类[14]。从图 6 中可以看出, 12 号、27 号、31 号和 39 号白地霉产蛋白酶酶活明显高于其他菌株, 其中 12 号白地霉产蛋白酶酶活最高, 达到了 12. 71 U/ mL。

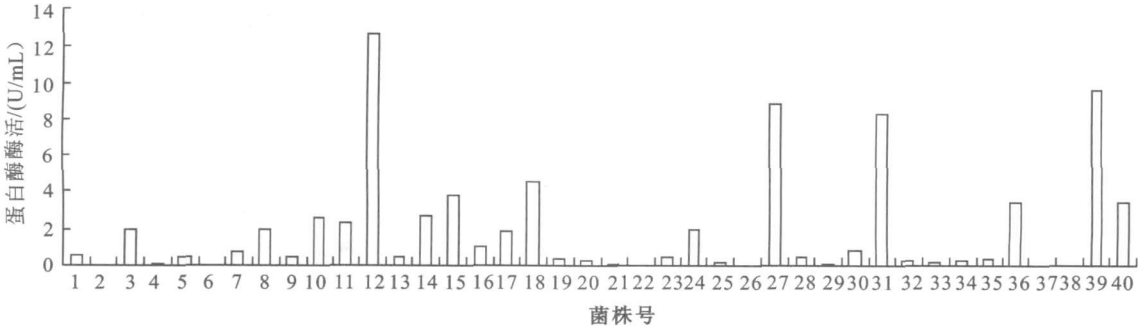


图 6　白地霉产蛋白酶情况

Fig. 6　Protease activity produced by *Geotrichum*

2. 3　白地霉产水解酶活的加权评分分析

根据相对重要性分别给予各类水解酶以权重加权数, 记做 $W_i(i = 1 \sim 4)$。把白地霉产上述酶酶活的测定值(X_i) 除以该酶活的平均数(M_i) 乘以权重后积加, 即得该酶的加权总分数 Y, 可表述为[15]:

$$Y = \sum \frac{W_i X_i}{M_i} \qquad (1)$$

鉴于江苏地产大麦的一些质量缺陷, 如过滤速度慢, 浸出率较低, 蛋白质溶解较差, 尤其是过滤性能的缺陷更加突出。从上述 4 种酶对过滤性能影响的程度来考虑, 给予 β-葡聚糖酶和木聚糖的权重加权数各为 30%, 蛋白酶的权重加权数为 25%, 纤维素酶的权重加权数为 15%, 根据加权总分数的公式(1)进行计算, 得到 40 株白地霉所产酶活的加权评分结果。对 40 株白地霉酶活加权评分并进行频数分析, 结果见图 7。

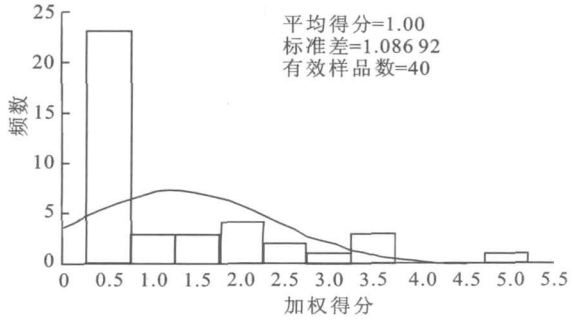


图 7　白地霉产酶活加权得分频数分布图

Fig. 7　Frequency distribution map of weighted scores for *Geotrichum* hydrolytic activity

从图 7 可以看出, 白地霉所产酶活加权得分主要集中在 0. 5 分以下, 共 23 株。以 3 分为分界点, 选取得分大于 3 分的白地霉作为制麦接种微生物, 共 4 株。编号为 12 号、39 号、18 号、3 号, 其加权得分依次为 4. 60, 3. 10, 3. 06 和 3. 03。将此 4 株白地霉作为制麦用微生物, 通过微生物制麦实验进一步验证用此方法筛选获得的微生物菌株是否适合实际制麦过程, 并评价其效果。

2. 4　白地霉对成品麦芽质量的影响

对筛选得到的 3 号, 12 号, 18 号和 39 号白地霉进行微生物制麦试验, 成品麦芽综合指标见表 1, 所有指标均符合 QB1686-2008 啤酒麦芽标准。与空白对照相比, 各白地霉麦芽的浸出物和可溶性氮质量分数都有不同程度的提高, 其中白地霉 12 号的制麦效果改善较为明显。这与 Noots[16] 和 Bo-ivin[17] 的研究结果一致。

表 1　白地霉麦芽的综合指标

Tab. 1　Index of microbial malt

指标	空白	3 号	12 号	18 号	39 号
麦芽					
浸出物质量分数/ %	77. 2	77. 6	77. 8	77. 5	77. 3
粗细粉差/ %	2. 5	2. 0	1. 9	2. 2	2. 2
总蛋白质质量分数/ %	13. 0	13. 4	13. 4	13. 2	13. 2
可溶性蛋白质质量分数/ %	4. 53	4. 61	4. 77	4. 60	4. 66
库值/ %	34. 8	34. 4	35. 6	34. 8	35. 3
糖化力/ WK	232	250	256	248	240
协定麦汁					
pH 值	6. 03	6. 06	6. 05	6. 00	6. 12
总酸/ mL	1. 48	1. 44	1. 44	1. 56	1. 28
色度/ EBC	2. 53	2. 71	2. 63	2. 75	2. 57

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

续表 1

指标	空白	3 号	12 号	18 号	39 号
α-氨基氮质量浓度/(mg/L)	205	210	220	215	217
$V_{60\,min}$/mL	130	151	176	158	165
β-葡聚糖质量浓度/(mg/L)	157	148	129	140	133

从协定麦汁的指标分析中可以看出, 各样品的 pH 值变化不大, 处于 6.00 ~ 6.12 之间, 相应的总酸变化幅度也不明显。白地霉的加入使得麦汁的色度较空白有所增大。从表 1 还可以看出, 白地霉对麦汁的过滤性能、糖化力和 α-氨基氮质量浓度的影响。未添加白地霉的对照麦芽的协定糖化麦汁中 β-葡聚糖质量浓度最高, 为 157 mg/L; 60 min 的滤液体积最小, 为 130 mL; 糖化力和 α-氨基氮质量浓度较低, 分别为 232 WK 和 205 mg/L 糖化麦汁; 加入白地霉后, 各麦芽的过滤性能、糖化力和 α-氨基氮质量浓度均有较明显的改善, β-葡聚糖质量浓度明显降低。白地霉 12 号菌株效果最明显, 与空白相比, 其糖化力增加了 10.3%, α-氨基氮质量浓度增加了 7.3%, 60 min 的滤液体积增加了 35.4%, β-葡聚糖质量浓度降低了 17.8%。这可能是添加的白地霉在制麦过程中所产生的木聚糖酶、β-葡聚糖酶以及蛋白酶所起的作用。Boivin 和 Deirdre[19] 在制麦过程中分别接种白地霉和乳酸菌, 与空白对照相比, 白地霉麦芽的过滤性能都有一定程度的改善, 但是在 β-葡聚糖质量浓度和 α-氨基氮水平上改善效果却不明显。

从改善成品麦芽过滤效果(V_{60min})看, 12 号白地霉的效果最好, 39 号、18 号、3 号的改善效果依次降低, 其协定糖化麦汁中的 β-葡聚糖质量浓度依次升高。作者从微生物产酶角度来筛选制麦用白地霉时, 以过滤性能作为首要目标, 筛选得到的白地霉菌株排名依次为 12 号、39 号、18 号和 3 号。表 1 中各白地霉麦芽的过滤改善情况能够与制麦用白地霉的筛选结果良好对应, 说明所用筛选方法在制麦白地霉的筛选上具有可行性。

2.5 成品麦芽的啤酒酿造实验

将 12 号白地霉制得的成品麦芽与空白对照麦芽按照图 1 中的工艺曲线进行糖化和发酵。发酵结束后, 对两种麦芽所制得的啤酒进行常规理化指标分析, 结果见表 2。

由表 2 可知, 与空白麦芽所酿啤酒相比, 白地霉麦芽所酿啤酒的发酵度和双乙酰质量浓度均稍稍偏高。这可能是由于白地霉麦芽的糖化力较强, 所以发酵过程中酵母代谢旺盛, 导致发酵度和双乙酰质量浓度均偏高。同时, 微生物麦芽啤酒的色度稍偏高, 这是由于微生物麦汁中 α-氨基氮质量浓度的提高易造成美拉德反应, 导致发酵液的色度偏高[18]。另外, 白地霉麦芽所酿啤酒中的木聚糖和 β-葡聚糖质量浓度分别降低了 7.3% 和 14.3%。两种麦芽所酿啤酒的理化指标均符合 GB 4927-2008 的标准。

表 2 两种麦芽所制啤酒的指标分析

Tab. 2 Analysis of index of beer made by common malt and microbial malt

指 标	空白麦芽所酿啤酒	白地霉麦芽所酿啤酒
色度/EBC	7.5~8.0	8.0~8.5
pH 值	4.86	4.80
总酸/mL	2.08	2.12
原麦汁体积分数/°P	11.9	12.0
外观体积分数/%	3.32	3.04
真正体积分数/%	4.20	4.05
实际发酵度/%	64.7	66.2
外观发酵度/%	72.1	74.6
双乙酰质量浓度/(mg/L)	0.13	0.15
酒精体积分数/%	3.97	4.09
木聚糖质量浓度/(mg/L)	1451	1343
β-葡聚糖质量浓度/(mg/L)	126	108

3 结 语

作者通过 4 g/dL 麦芽粉培养基筛选制麦用白地霉, 通过加权评分对白地霉所产生的、主要影响麦芽过滤性能的 4 种水解酶进行分析, 筛选出 4 株白地霉作为制麦微生物。通过小型制麦试验发现, 4 株白地霉对成品麦芽的溶解均具有促进作用, 麦芽的溶解状况得到了改善, 尤其是过滤性能的改善效果明显, 其中以 12 号白地霉的改善效果最好, 与空白对照相比, 60 min 的滤液体积增加了 35.4%。将 12 号白地霉制得的麦芽与空白对照麦芽分别进行啤酒酿造实验, 白地霉麦芽的酿造性能优于空白对照麦芽。下一步将对白地霉 12 号的制麦工艺条件进行优化, 以进一步提高其改善麦芽品质的效果。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参考文献(References) :

[1] 白普一. 中国啤酒大麦的现状及思考 [J]. 中国食品工业, 2008 (02): 20- 21.
BAI Pu-yi. The current situation and thinking of malting barley in China [J]. **China Food Industry,** 2008 (02): 20- 21. (in Chinese)

[2] 朱俊勤. 微生物制麦技术研究进展 [J]. 酿酒科技, 2005, 1: 11- 14.
ZHU Jun-qin. The research progress of microorganism malting technology[J]. 2005, 1: 11- 14. (in Chinese)

[3] Noots I, Derycke V, Michiles C, et al. Improvement of malt modification by *Rhizopus* Ⅶ as starter culture[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** 2001, 49(8): 3718- 3724.

[4] Boivin P, Malanda M, Dumoulin M. Improving the quality of malting barley by employing microbial starter cultures in the field[J]. **Journal of the Institute of Brewing,** 1999, 105(3): 145- 147.

[5] 龙杰, 孙军勇, 陆健. 微生物对麦芽品质的影响[J]. 啤酒科技, 2007 (1): 87- 89.
LONG Jie, SUN Jun-yong, LU Jian. Impact of microorganisms on malt quality[J]. **Beer Science and Technology,** 2007 (1): 87- 89. (in Chinese)

[6] Michal P, Danuta W, Regina S. Geotrichum hydrolytic activity in milled malt and barley medium [J]. **Journal of Biotechnology,** 2005, 8(1): 15- 19.

[7] 贺小贤, 陈合, 齐香君等. 黑曲霉β-葡聚糖酶菌株诱变选育研究 [J]. 食品科技, 2005, 11: 13- 16.
HE Xiao-xian, CHEN He, QI Xiang-jun, et al. Study on the mutation breeding of β-glucanase from *Asp. niger* FH1 [J]. **Food Science and Technology,** 2005, 11: 13- 16. (in Chinese)

[8] 彭林才, 陈元彩, 付时雨, 等. 黑曲霉液体发酵产木聚糖酶条件的研究 [J]. 造纸科学与技术, 2008, 27(3): 81- 84.
PENG Lin-cai, CHEN Yuan-cai, FU Shi-yu, et al. Stydy on liquid fermentation condition of *Aspergillus niger* producing xylanase[J]. **Paper Science and Technology,** 2008, 27(3): 81- 84. (in Chinese)

[9] 李艳丽, 许少春, 许尧兴. 中性蛋白酶高产菌株的筛选及产酶酶系分析 [J]. 生物技术, 2007, 1: 20- 23.
LI Yan-li, XU Shao-chun, XU Yao-xing. Strain screening of neutral proteinase and research on enzyme kinds[J]. **Biotechnology,** 2007, 1: 20- 23. (in Chinese)

[10] QB 2583- 2003. 纤维素酶制剂: 羧甲基纤维素钠(还原糖法)酶活力 (CMCA- DNS)测定方法 [S].

[11] QB/T 1686-2008. 中华人民共和国轻工行业标准: 啤酒麦芽 [S].

[12] GB/T 4928-2008. 中华人民共和国国家标准: 啤酒分析方法 [S].

[13] 董亮, 赵长新, 李峰, 等. 大麦发芽过程中添加金属离子对纤维素酶和蛋白酶活力影响研究 [J]. 2005, 6: 18- 21.
DONG Liang, ZHAO Chang-xin, LI Feng, et al. Study on the effection of atom-metalion on the activity of cellulose and protease in the process of malting barley [J]. 2005, 6: 18- 21. (in Chinese)

[14] 徐凯, 王伟, 郭继强, 等. 不同品种大麦种子萌发过程醇溶蛋白变化 [J]. 食品科技, 2008, 7: 34- 37. (in Chinese)
XU Kai, WANG Wei, GUO Ji-qiang, et al. The diversity of hordein in different varietal malting barley [J]. **Food Science and Tecnology,** 2008, 7: 34- 37. (in Chinese)

[15] 陈禅友, 胡志辉, 赵新春. 植物育种的株选技术方法研究 [J]. 种子, 2002, 2: 7- 9.
CHEN Chan-you, HU Zhi-hui, ZHAO Xin-chun. Studies on the techniques of individual-plant selection of plant breeding [J]. **Seed,** 2002, 2: 7- 9. (in Chinese)

[16] Noots I, Derycke V, Michiles C, et al. Studies on barley starchy endosperm cell wall degradation by *Rhizopus* Ⅶ [J]. **Journal of Cereal Science,** 2003, 37: 81- 90.

[17] Boivin P, Malanda M. Improvement of malt quality and safety by adding starter culture during the malting process [J]. **Technical Quarterty,** 1997, 34(2): 96- 101.

[18] 吴丽云. 影响啤酒色度的因素及控制措施 [J]. 酿酒, 2003, 30(4): 81- 83.
WU Li-yun. The factors and control steps working on the beer color[J]. **Liquor Making,** 2003, 30(4): 81- 83. (in Chinese)

[19] Deirdre P, Elke K, Almudena M, et al. The influence of lactic acid bacteria on the quality of malt [J]. **Journal of the Institute of Brewing,** 2005, 111(1): 42- 50.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net