

# 脂肪氧合酶及其对啤酒风味稳定性的影响

刘明丽<sup>1</sup>, 余俊红<sup>2</sup>, 娄晓红<sup>1</sup>, 黄淑霞<sup>2</sup>, 傅相焘<sup>1</sup>, 王云岭<sup>1</sup>

(1.青岛啤酒二厂, 山东 青岛 266100; 2.青岛啤酒酒厂, 山东 青岛 266061)

**摘要:** 以脂肪氧合酶(EC1.13.11.12)为核心的脂质降解途径是影响啤酒风味的一项重要因素。从脂肪氧合酶的基本性质、脂肪氧合酶的测定方法、原料及酿造工艺参数(制麦、糖化)对脂肪氧合酶活力及啤酒风味稳定性的影响等方面进行了综述。

**关键词:** 啤酒; 脂肪氧合酶; 反-2-壬烯醛; 风味稳定性

中图分类号: TS262.5; TS261.4; TS261.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-9286(2011)05-0098-05

## Effects of Lipoxygenase on Beer Flavor Stability

LIU Mingli<sup>1</sup>, YU Junhong<sup>2</sup>, LOU Xiaohong<sup>1</sup>, HUANG Shuxia<sup>2</sup>, FU Xiangtao<sup>1</sup> and WANG Yunling<sup>1</sup>

(1. Tsingtao Brewery No.2, Qingdao, Shandong 266100; 2. Scientific Research Center of

Tsingtao Brewery Co.Ltd., Qingdao, Shandong 266061, China)

**Abstract:** Lipid metabolic pathway with lipoxygenase (EC1.13.11.12) as the core is an important factor influencing beer flavor. In this paper, the basic properties and the measuring methods of lipoxygenase were introduced, the effects of raw materials and brewing technical parameters (malt-ing and mashing) on the activities of lipoxygenase were studied, and the effects of lipoxygenase on beer flavor stability were reviewed.

**Key words:** beer; lipoxygenase; trans-2-nonenal; flavor stability

啤酒的风味是其质量的重要标志。风味稳定性是指在一定货架期内风味保持新鲜的能力。影响啤酒风味稳定性的因素很多,比较复杂,其中脂质降解途径是酿造过程产生不良风味的一个重要原因。反-2-壬烯醛(T2N)是由脂质降解产生的一种典型的风味老化物质,对啤酒风味稳定性的影响较大,被认为是老化的指示剂。Meilgaard(1975)<sup>[1]</sup>认为, T2N在啤酒中不足  $0.1 \times 10^{-3}$  mg/L 也会给酒液带来纸板味,而且随着保存期的延长对啤酒风味的恶化会更为严重。日本 Sapporo 研究中心的 Kuroda 等人(2004)<sup>[2]</sup>研究了麦芽脂肪氧合酶(LOX)活力与啤酒中的 T2N 含量的关系,使用高 LOX 活力麦芽酿造的啤酒 T2N 含量高,两者呈正相关性。因此,研究以 LOX 为核心的相关因素对啤酒风味稳定性的影响具有重要意义。

图 1 显示了影响啤酒老化的两条重要途径,第一条途径是脂质降解途径,脂质通过自氧化或者在 LOX 的作用下生成氢过氧化物,氢过氧化物进一步反应生成 T2N、己醛、辛醛等物质;另一条途径是氨基酸引起的羰氨反应,生成 streck 醛等物质。

### 1 LOX

#### 1.1 LOX 酶学特性

收稿日期: 2010-12-03

作者简介: 刘明丽(1982-),女,硕士,青岛啤酒二厂工艺员,主要从事与啤酒酿造相关的质量控制工作。

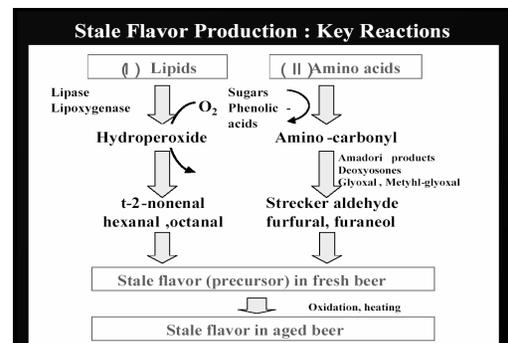


图 1 啤酒老化途径<sup>[3]</sup>

LOX (Lipoxygenase, LOX, EC1.13.11.12) 又称脂肪氧化酶,属于氧化还原酶,是一类含非血红素铁的蛋白质,能专一催化具有顺,顺-戊二烯结构的多不饱和脂肪酸,通过分子内加氧,形成具有共轭双键的氢过氧化衍生物。LOX 在动植物界广泛存在, Franke 和 Freshe<sup>[4]</sup>在 1953 年首次研究了大麦中的 LOX。此后,关于 LOX 的大部分研究都是关于 LOX 同工酶 LOX1 的研究,直到 1976 年, Yabuuchi<sup>[5]</sup>报道了在大麦发芽后会产生 LOX 的同工酶 LOX2。

荷兰 Doderer(1992)<sup>[6]</sup>认为,大麦麦芽中存在 LOX1 和 LOX2 两种同工酶, LOX1 主要存在于大麦的胚芽中,

而 LOX2 是在大麦发芽后产生的。当麦芽中的 LOX1 与亚油酸作用时,催化生成 9-脂肪酸氢过氧化物 (9-HPOD),9-HPOD 在裂解酶的作用下生成 T2N,同时 9-HPOD 在环化酶的作用下又生成具有涩味的三羟基十八碳烯酸 (THOD),THOD 这种物质既不利于啤酒泡沫的稳定性又不利于啤酒的风味;当麦芽中的 LOX2 作用亚油酸时,催化生成 13-脂肪酸氢过氧化物 (13-HPOD),13-HPOD 进一步反应生成己醛等物质。日本的 Araki (2006)<sup>[7]</sup>还认为,麦芽中至少存在 3 种同工酶,即 LOX1、LOX2 和 LOX3,对于 LOX1 和 LOX2 与上述研究观点相同,但是对于 LOX3 还没有确切的解释。

美国北达科他大学 Yang(1993 年)<sup>[8]</sup>从发芽 5 d 的麦芽中提取了 LOX,通过羟磷灰石柱分离,得到了 LOX 的同工酶 LOX1 和 LOX2,并且研究了 LOX1 和 LOX2 两种同工酶的贮藏稳定性,结果表明,两种同工酶在 -20 °C 贮存时,酶活力损失较小,相对较稳定。在 25 °C 和 4 °C 时,LOX2 比 LOX1 稳定,LOX2 在 4 °C 时贮存 7 d,还有 80 % 的酶活力,而 LOX1 在相同条件下贮存其酶活力只有 50 %。荷兰 Doderer (1992)<sup>[6]</sup>研究了麦芽 LOX1 和 LOX2 两种同工酶的最适 pH 值,均为 6.5,只是 LOX2 与 LOX1 相比较,其 pH 的有效范围较小,当 pH 小于 5.0,或者大于 8.0 时,其活力就相对较低,只有 pH6.5 时酶活力的 5 % 左右。芬兰 Norja(1998)<sup>[9]</sup>研究了麦芽中的 LOX 在 pH4.5~10.0 时的酶活力,结果表明,当 pH 为 7.0 时,LOX 活力最高。由此可见,LOX 反应的最适 pH 值并不是恒定的,它也是随着麦芽品种、生长环境、制麦工艺的不同而有所变化。

## 1.2 LOX 的底物特性

含有顺,顺-戊二烯结构的不饱和脂肪酸、脂肪酸酯都可以作为 LOX 的底物。在植物中其天然底物主要是亚油酸(Linoleic acid)和亚麻酸(Linolenic acid),在动物体内其天然底物主要是花生四烯酸 (Arachidonic acid)<sup>[10]</sup>。LOX 的 3 种底物分子结构式见图 2。

## 1.3 LOX 酶活力测定方法

### 1.3.1 量压法<sup>[11]</sup> (Warburg 呼吸仪法, AACC 方法)

测定原理与氧电极法相似,主要是 LOX 催化底物亚油酸与氧结合形成氢过氧化物,使得一定体积的密闭体系内氧气的量减少,根据耗氧量计算出酶活力。该法的主要优点是测定参数与反应体系浊度无关,因而既适用于纯酶也适用于粗酶酶活力的测定,但由于测定时需不断振动反应瓶以保持底物的乳化和温度的恒定,酶活力会因振动而部分损失。

### 1.3.2 分光光度法<sup>[12]</sup>

分光光度法测定的是酶催化反应的初期产物。LOX

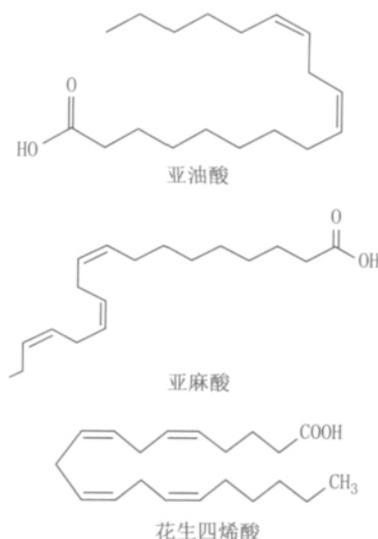


图 2 LOX 3 种底物分子结构式

催化底物亚油酸反应生成的初期产物具有共轭二烯的结构,而共轭双键在 234 nm 处有特征吸收,通过测定反应体系在 234 nm 处的吸光度可以定量生成的共轭二烯量,并推算出酶活力。该法的显著优点是方法简单快速,仪器易得,但受分光光度法测定体系的要求,不适用于浊度较高的粗酶液酶活力的测定。

### 1.3.3 KI-淀粉法<sup>[13]</sup>

与 Fe (CNS) 显色法类似,测定的基本原理是基于 LOX 催化亚油酸反应形成的氢过氧化物在酸性条件下可氧化 I<sup>-</sup>形成 I<sub>2</sub>,根据吸光度的大小直接反映生成的 I<sub>2</sub>量,可以间接定量 LOX 酶活力的大小。该法与上述分光光度法一样,KI<sub>2</sub>淀粉法的测定同样受到酶液浊度的制约,且显色是在酸性条件下进行的,酶液中存在的蛋白质和脂肪在酸性条件下会絮凝,若采用离心方法虽能除去絮凝但同时会使部分有色物质沉淀,从而影响测定结果的可靠性。该法不适合于测定粗酶提取液的酶活。

对于上述 3 种方法,分光光度法灵敏度较高。如果从工业化的角度出发,KI 淀粉法的测定是在可见光范围内进行的,当有 LOX 酶活力存在时,测定体系就会呈现肉眼可辨的特征颜色,因而该法特别适用于灭酶时鉴定是否存在 LOX 的残余酶活力,即 LOX 的定性分析。

## 2 T2N

### 2.1 T2N 的性质及形成途径

T2N 又称反-3-己基-2-丙烯醛或反-3-己基丙烯醛,是一种无色至淡黄色油状液体,沸点是 88 °C,不溶于水。分子结构式见图 3。

日本 Sapporo 啤酒公司 Kuroda(2007)<sup>[14]</sup>研究了糖化过程 T2N 的生成途径,主要是 LOX1 与含有顺-戊二烯结构的亚油酸等不饱和脂肪酸作用生成 9-HPOD,其在

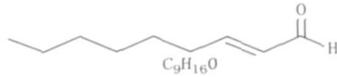
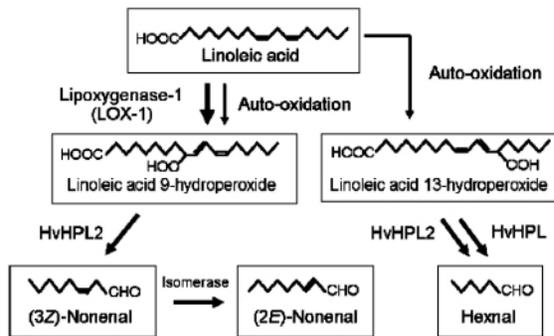


图3 反-2-壬烯醛分子结构式

裂解酶 HvHPL2 的作用下生成(3Z)-Nonenal, 其在同工酶的作用下生成(2E)-Nonenal。同时, 脂肪酸自氧化也会生成 9-HPOD 和 13-HPOD, 13HPOD 在 HvHPL2 或者 HvHPL 的作用下生成己醛。T2N 产生途径见图 4。

图4 酶促反应途径生成反-2-壬烯醛<sup>[14]</sup>

由图 4 可知, T2N 的生成不仅与 LOX 活力有关, 而且与脂肪酸氢过氧化物裂解酶(HPL)活力也有关系。HPL 存在很广泛, 分布于很多植物中, 它可以催化脂肪酸氢过氧化物形成氧酸和醛, 包括反-2-壬烯醛。

日本 Sapporo 公司 Kuroda (2005)<sup>[15]</sup> 研究了麦芽 LOX 活力、HPL 活力与麦汁 T2N 的关系。首先, 测定了欧洲、澳洲 20 种不同产地麦芽的 LOX 活力、HPL 活力。并将以上 20 种麦芽分别进行中式试验制成麦汁, 将两种酶活力分别与相应麦汁中 T2N 含量作对比。试验结果表明, 与 LOX 活力相比较, 虽然 HPL 的活力相对较小, 但它与麦汁中 T2N 含量的相关性较高。

## 2.2 T2N 检测方法

目前, 醛类的检测方法已较成熟, Larsen(2001)<sup>[16]</sup> 通过 GC-MS 测定了啤酒中的 T2N。武千钧(2007)<sup>[17]</sup> 采用邻-五氟苯甲基羟胺(PFBOA)衍生, 顶空固相微萃取(HS-SPME)和气相色谱质谱(GC-MS)测定啤酒中 T2N 等 8 种老化醛类化合物, 结果表明, 8 种羰基化合物在 0.2~500 μg/L 范围内线性关系良好, 相关系数在 0.990 以上, 检测样品的相对标准偏差为 1.0%~15.7%, 回收率为 88%~103%。王憬(2009)<sup>[18]</sup> 以顶空固相微萃取吸附, 通过 GC-MS 实现定性和定量的测定方法, 结果表明, 可以检测 T2N 等 13 种醛类化合物, 而且分析周期短、重复性较好。

## 3 原料及酿造工艺对 LOX 及啤酒风味稳定性的影响

原料及酿造工艺对于 LOX 活力的影响也是非常明

显的, 包括原料的选择、制麦过程的工艺参数, 如浸麦时间、发芽温度、发芽时间、水分含量、干燥条件、麦芽贮存条件等, 糖化过程的工艺条件, 如氧的影响、料水比例、糖化 pH 值等都会影响 LOX 活力, 进而影响啤酒的风味稳定性。

### 3.1 原料大麦对 LOX 及风味稳定性的影响

Schwarz(1984)<sup>[19]</sup> 研究了 10 种大麦及相应发芽 5 d 后绿麦芽的 LOX 活力, 结果表明, 大麦和麦芽中的 LOX 活力与其等级相关性很小, 与大麦的种类和生长环境有关。即使同一种大麦, 不同的地域、生长环境、生长年限, 其 LOX 活力都是不同的。因此, 选择、培育合适的大麦品种对于减少 LOX 活力, 从源头上控制啤酒风味具有重要意义。

日本 Sapporo 公司的 Kuroda (2004)<sup>[20]</sup> 和 Shirai (2008)<sup>[21]</sup> 对原料大麦中 LOX 基因进行了分析研究, 一种方法是直接去除大麦中的 LOX 基因; 另一种方法是将大麦 LOX 结构中的腺嘌呤改为鸟嘌呤, 使基因无序失效, 导致 LOX 失活。试验结果表明, 大麦经过基因处理后酿造的啤酒, 其 T2N 含量相对较低, 啤酒泡沫稳定性较好, 新鲜度和风味稳定性较好。

丹麦嘉士伯公司 Kazuyoshi(2009)<sup>[22]</sup> 申请的国际专利《低 LOX1 大麦》, 主要是通过基因突变方式, 培育出低 LOX-1 活力的大麦品种, 使用该突变型 LOX-1 基因的大麦, 进行中试酿造试验。并由专业品评评委对成品酒进行品尝。与对照相比, 试验明显降低了 T2N 含量, 改善了啤酒的风味稳定性, 提高了啤酒的质量, 延长了货架期。

### 3.2 制麦工艺 LOX 及风味稳定性的影响

美国北达科他大学 Yang (1995)<sup>[23]</sup> 研究了 Harrington、Robust、Morex 等 3 种不同品种麦芽的 LOX 活力, 结果表明, Harrington、Morex 两种麦芽在浸麦、发芽过程中 LOX 活力呈不断上升的趋势, 而 Robust 麦芽在浸麦时 LOX 活力减少, 然后随着发芽时间的延长, LOX 活力逐渐上升。不同品种麦芽在浸麦、发芽过程中 LOX 活力的变化可能与大麦的品种、生长环境等因素有关系。另外, 研究了在浸麦过程添加赤霉素对绿麦芽 LOX 活力的影响, 发现在制麦过程添加赤霉素对 LOX 活力并没有影响。

美国北达科他大学 Schwarz(1984)<sup>[19]</sup> 研究了大麦发芽过程 LOX 活力的变化情况, 通过研究, 发现发芽过程麦芽 LOX 活力逐渐升高, 发芽 9 d 后保持恒定; 波兰 Kubicka(2000)<sup>[24]</sup> 研究了小麦发芽过程 LOX 活力的变化情况, 发现小麦在发芽过程中 LOX 活力也是逐步上升的, 发芽 4 d 时 LOX 活力最高, 继续延长发芽时间, 小麦芽 LOX 活力没有明显变化。美国北达科他大学 Yang

(1995)<sup>[23]</sup>研究了发芽温度对 LOX 活力的影响,浸麦温度为 16 °C,分别研究发芽温度为 16 °C 和 21 °C 时大麦发芽 4 d 后的 LOX 活力。试验结果表明,低温发芽有利于降低麦芽 LOX 活力,可能是高温加速发芽的同时也导致 LOX 活力上升。

Araki(2006)<sup>[7]</sup>研究了干燥工艺对 LOX 活力的影响。首先,将大麦按照不同的浸麦、发芽工艺制得 4 种绿麦芽(湿度为 45%)。将这 4 种绿麦芽的干燥过程分为起始低温-结束低温、起始低温-结束高温和起始高温-结束低温 3 种不同干燥工艺参数,分别研究了 4 种绿麦芽在不同干燥条件下的 LOX 活力,结果表明,在起始低温-结束高温这一干燥工艺条件下,4 种绿麦芽的 LOX 活力均较低;在起始高温-结束低温这一干燥工艺条件下,麦芽的 LOX 活力最高。因为在干燥初期,麦芽中还含有较高的水分,在适合的温湿度条件下会促使 LOX 的活性增加,所以干燥初期的干燥温度不易过高。

芬兰 Wilhelmson (2007)<sup>[25]</sup>研究了在制麦过程使用 N<sub>2</sub> 对麦芽质量的影响,通过在干燥初期使用 N<sub>2</sub>,可以减少麦芽 LOX 活力,而且提高了极限糊精酶和肽链内切酶活力,并且对 α-淀粉酶和 β-淀粉酶等其他指标没有影响。

日本 Suntory 啤酒研发中心 Sawada(2006)<sup>[26]</sup>对成品麦芽进行各种不同条件的热处理,经研究发现,温度对 LOX 活力的影响较大,成品麦芽经过 55 °C 处理 3 d 后,LOX 活力明显降低,如果是在隔氧的条件下 LOX 活力及反 2 壬烯醛潜力(T2NP)会继续降低,并且结果表明,经过热处理后的麦芽,对 α-淀粉酶、β-淀粉酶、蛋白酶等酶活力影响较小。

另外,日本 Suntory 公司 Kageyama(2008)<sup>[3]</sup>通过对麦芽抛光处理获得低老化前体的麦芽(LPM),对试验前后的麦芽进行 100 L 中式试验,结果表明,抛光后麦芽与对照相比,麦汁浓度与酒精度都没有变化,而且酒液新鲜度品评得分较高,酒体更加柔和、干净。

### 3.3 糖化工艺

在绿麦芽干燥过程中,LOX 不会全部失活,成品麦芽中的 LOX 会继续进入到糖化过程,那么,如何控制糖化过程的 LOX 反应就非常重要。目前,有研究表明,糖化过程蛋白休止温度、糖化醪液 pH 值、氧气、糖化料水比例等均对 LOX 活力有影响。

Yang(1995)<sup>[23]</sup>研究了糖化温度对 LOX 活力的影响,研究发现,麦芽中约有 30% LOX 析出进入麦汁中,其余的 LOX 仍存在于麦糟中。当蛋白休止温度为 45 °C,休止 30 min 后,麦汁和麦糟中约有 35% 的 LOX 失活。此后,温度每升高 1 °C,LOX 的活性就急剧下降。当糖化温度

为 70 °C 时,糖化 15 min 后,麦汁中残留的 LOX 即失去活力,但麦糟中的 LOX 具有较强的耐热性,糖化 20 min 后,还有约 10% 的 LOX 存在活性,当延长糖化时间至 30 min 时,麦糟中 LOX 完全失活。

日本 Kirin 啤酒公司 Morikawa(2003)<sup>[27]</sup>研究了糖化醪液 pH 值对啤酒 T2NP 的影响,试验中用乳酸调节煮沸麦汁的 pH 值,发现降低糖化醪液的 pH 值,可以减少 T2NP,同时引起了麦汁色度下降,麦汁热负荷(TBZ)增加。瑞典的 Francisco(2009)<sup>[28]</sup>用磷酸调节了糖化醪液 pH 值,发现降低糖化醪液 pH 值有利于降低麦汁中的 T2N 及 T2NP。

日本 Asahi 啤酒公司 Tsutomu(2001)<sup>[29]</sup>研究发现,通过控制糖化水中的溶解氧及在糖化过程中通入二氧化碳或者氮气等可以减少脂肪的酶促氧化,降低反 2 壬烯醛的含量,提高啤酒的风味稳定性。

## 4 小结

研究 LOX 对啤酒的风味稳定性具有重要意义,通过选择优良的原料,控制酿造过程工艺参数等方法来降低 LOX 活力及相应中间产物、终产物含量,提高啤酒的新鲜度和风味稳定性,最终提高啤酒质量。

### 参考文献:

- [1] Meilgaard, M C. Flavor chemistry of beer: Part: Flavor and threshold of 239 aroma volatiles [J]. MBAA Tech.Q.,1975(12): 151-168.
- [2] Hisao Kuroda, Naohiko Hirota, et al. Lipid oxidation during mashing and its impact on beer quality-recent progress [J]. WBC Congress, 2004.
- [3] Norihiko Kageyama. Newest and breakthrough technologies on malt processing for improvement of beer quality[J]. World Brewing Congress, 2008.
- [4] Franke, W and Freshe, H. Autoxidation and unsaturated fatty acids. VI. The lipoxidase of cereals, in particular barley. Hoppe-seyler's Z [J]. Physiol.Chem, 1953(295): 333-349.
- [5] Yabuuchi, S. Occurrence of a new lipoyxygenase in germinating barley embryos [J]. Agric.Biol.Chem, 1976(40): 1987-1992.
- [6] Albert Doderer, Ingrid Kokkelink. Purification and characterization of two lipoyxygenase isoenzymes from germinating barley [J]. Biochim Biophys Acta., 1992, 1120(1): 97-104.
- [7] Osamu Araki, Cathy Gibson, et al. Malting parameters that influence lipoyxygenase activity[J]. Proc.Conv. Inst.Brew. Distill.(Asia Pacific Sect.),Hobart,2006(29): 36.
- [8] Yang Guoshen, Schewarz Paul. Brady Vick. Purification and characterization of lipoyxygenase isoenzymes in germinating barley[J]. Cereal Chem, 1993, 70(5): 589-595.
- [9] Kaukovirta-Norja, A, Reinikainen, P. J. Influence of barley and malt storage on lipoyxygenase reaction [J]. American Association

- of Cereal Chemists, Inc, 1998(5): 742-746.
- [10] 何婷, 赵谋明, 崔春. LOX 的酶学特性及其活性抑制机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2008, 29 (2): 292.
- [11] 钟芳, 王璋, 许时婴. 三种 LOX 酶活力测定方法[J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(1): 77-80.
- [12] Al-obaidyhm, Siddiqiam. Properties of broad bean lipoxygenase [J]. Food Sci, 1981(46): 622-629.
- [13] Hisateru Mitsuda, Kyoden Yasumoto, Aijiro Yamamoto. Study on soybean lipoxygenase [J]. Agr Biol Chem, 1967(31): 115-120.
- [14] Hisao Kuroda, Kazuhiro Sato. Oxylipin cascade enzymes and their impact on beer quality [M]. EBC Congress 2007: 39-43.
- [15] Hisao Kuroda, Hidetoshi Kojima, et al. 'Fatty acid hydroperoxide lyase' as a key enzyme for the production of trans-2-nonenal during mashing [M]. EBC Congress, 2005: 750-756.
- [16] Olav Vind Larsen, Sten Aastrup, et al. Improvement of flavour stability by reduction of trans-2-nonenal—a case study [M]. EBC Congress, 2001: 533-539.
- [17] 武千钧, 陈华磊, 杨朝霞. 自动顶空衍生化固相微萃取法测定啤酒中的老化醛类化合物[J]. 分析试验, 2007, 26(4): 38-40.
- [18] 王憬, 林智平. 啤酒醛类化合物的测定及其在老化味研究中的应用[J]. 啤酒科技, 2009, 12(44): 29-35.
- [19] Schwarz, P B. and Pyler, R E. Lipoxygenase and hydroperoxide isomerase activity of malting barley [J]. ASBC Journal. 1984(42): 47-53.
- [20] Hisao Kuroda et al. Lipid oxidation during mashing and its impact on beer quality [M]. WBC Congress 2004.
- [21] Masanori Shirai. The development and practical use of lipoxygenase-1-less malting barley with good brewing performance [M]. WBC Congress 2008.
- [22] Takeda Kazuyoshi, Kuroda Hisao, et al. Barley lipoxygenase-1 gene, selection method for barley. Material for malt alcoholic beverages and method for production of malt alcoholic beverages [P]. Austrial, AU 2009202975 A1, 2009.
- [23] Yang Guoshen and Schwarz Paul B. Activity of lipoxygenase isoenzymes during malting and mashing [J]. ASBC Journal. 1995, 53(2): 45-49.
- [24] Ewa Kubicka, Jadwiga Grabska, et al. Changes of specific activity of lipase and lipoxygenase during germination of wheat and barley [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2000, 51(4): 301-304.
- [25] A Wihelmsen, A Laitila, et al. The effects of modified atmosphere in malting [M]. EBC Congress, 2007: 158-163.
- [26] Masako Sawada, et al. Control of LOX activity in malt for improvement of beer flavor stability [J]. ASBC Journal, 2006.
- [27] Massatoshi Morikawa, Tetsuji Yasui, et al. Influence of wort boiling and wort clarification conditions on cardboard flavour in beer [M]. EBC Congress 2003: 775-782.
- [28] Jose da Cruz Francisco and Estera Szwajczer Dey. Trans-2-nonenal during model mashing [J]. Pure and Applied Biochemistry, 2009(37): 389-394.
- [29] Tsutomu Ueda, Kumiko Inomoto, et al. Development of a novel mashing-in technology for improving beer flavor stability [M]. EBC Congress 2001: 524-532.

## 恭贺熊子书同志九十华诞

最近在网上看到纪念熊老九十华诞文章,才知道熊老的出生年月。虽然晚了点,觉得还是要写点东西,作为小字辈,向昔日参加金陵试点的老大哥,以示祝贺。恭祝熊老福如东海,健康长寿,老当益壮,继续为我国酿酒事业的发展贡献力量!

建国六十年来,熊老为我国白酒生产技术进步作出重要贡献。特别在总结我国传统白酒工艺——如四川小曲酒酿造工艺、茅台酒和汾酒酿造工艺方面,功不可没;在新工艺白酒和大型贮酒容器等研究方面,做了大量工作。他著有《四川糯高粱小曲酒操作法》一书,我参加茅台试点时得到一本《茅台酒酿造工艺》,署名为贵州茅台酒厂。后来得知是熊老在茅台蹲点后编写的,该书纸质粗糙,但工艺叙述极为详细,并附有插图。目前在学术届出现抄袭、浮躁之风盛行之时,熊老一生低调做人,踏实做事,不慕虚荣,一心为事业的精神,是我们学习的榜样!

我和熊老一同参加了1956年南京金陵试点,他负责生香酵母在白酒中应用研究,单独有一小试验室。我在工作之余,喜欣到他试验室和搞酒糟利用研究的试验室串门。熊老给人的印象是不善言谈,总在忙试验,这是我第一次接触到熊老。第二次接触已经是十多年以后的事了,大概在1970年前后,我在天津酿酒厂生产办公室工作,一天接到熊老打来电话,说要我厂调研新法白酒生产情况。他和崔伯森工程师来厂后由我接待。我向他们作了详细汇报,并请他们品评了产品。最后我说我厂新法白酒搞得不好,请他们提意见。熊工很直率,提出酒过于爽口,宜降点酸度,崔工程师发言表示:你们不是科研单位,作为工厂,你们已经做得很不错了。对我厂新法白酒给予肯定和鼓励。他们没有吃午饭,匆匆忙忙离开,我一直把他们送到离厂一里多路远的丁字沽五路车站,等他上车后才分手。熊老给我的印象是极平易近人的一位长者,多少年了,他的音容笑貌,仍历历在目。参加金陵试点的彭华秀、龚文昌等老同志,早已驾鹤西去!衷心祝愿熊老健康长寿、享百年之福,为我国白酒事业发展继续做出贡献!(钟国辉)