(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101730735 B
(45)授权公告日 2012.12.19

(21)申请号 200880004838.0
(22)申请日 2008.02.14
(30)优先权数据
0702844.2 2007.02.14 GB
60/901,482 2007.02.15 US
(85)PCT申请进入国家阶段日
2009.08.13
(86)PCT申请的申请数据
PCT/BE2008/000011 2008.02.14
(87)PCT申请的公布数据
WO2008/098320 EN 2008.08.21
(73)专利权人 福杰依阿股份有限公司
地址 比利时海弗莱
(72)发明人 G·阿尔茨 W·布鲁克特
C·库尔坦 J·德尔库
(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
代理人 陈文青
(51)Int.Cl.
C12C 5/00(2006.01)
C12C 12/02(2006.01)
C12C 12/04(2006.01)
C12N 9/24(2006.01)
(56)对比文件
US 20050095315 A1,2005.05.05, 全文.
CN 1230225 A,1999.09.29, 全文.
审查员 曹赞华

权利要求书 2 页 说明书 26 页 附图 1 页

(54)发明名称

啤酒中的阿糖基木寡糖

(57)摘要

本发明涉及提高啤酒中可溶性阿糖基木寡糖水平的方法,以便改善这种啤酒的口味和/或口感。

CN 101730735 B

1. 一种啤酒，它含有低于 3.5％ (v/v) 乙醇或低于 3g/100ml 实际提取物的啤酒，所述啤酒含有高于 1.2 克 / 升且最高达 20 克 / 升啤酒的平均聚合度 (DP) 低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖。

2. 一种下层发酵啤酒，其包含 3.5 至 6％ (v/v) 的乙醇水平和 3-5 克 /100 毫升的实际提取物，所述啤酒包含超过 3.5 克且最高达 25 克 / 升啤酒的平均聚合度 (DP) 低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖。

3. 一种啤酒，其包含高于 6％ (v/v) 醇和至少 5 克 /100 毫升的实际提取物，所述啤酒包含至少 2.4 克且最高达 30 克 / 升啤酒的平均聚合度 (DP) 低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖。

4. 一种通过酿造过程制造啤酒的方法，所述方法包括发芽步骤、调制麦芽浆步骤、澄清步骤、麦芽汁煮沸步骤、麦芽汁冷却和接种步骤以及发酵步骤，所述酿造过程还包括使所述啤酒富含可溶性阿糖基木寡糖的富集步骤，其中所述富集导致含有低于 3.5％ (v/v) 乙醇或低于 3g/100ml 实际提取物的下层发酵啤酒中平均聚合度 (DP) 低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖的终浓度为高于 1.2 克 / 升且最高达 20 克 / 升。

5. 如权利要求 4 所述的方法，其特征在于，所述啤酒含有低于 3.5％ (v/v) 乙醇或低于 3g/100ml 实际提取物，以及低于 15 克麦芽糊精 / 升啤酒。

6. 如权利要求 4 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤包括在啤酒制造过程的调制麦芽浆步骤期间加入一种或多种木聚糖内切酶以使麦芽汁中可溶性阿糖基木寡糖含量比未加入任何木聚糖内切酶制备的相同麦芽汁高至少 30％，所述酶的酶活为 20-5000 单位 / 升。

7. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述一种或多种木聚糖内切酶中的至少一种是非抑制性木聚糖内切酶。

8. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述一种或多种木聚糖内切酶中的至少一种是糖苷水解酶家族 11- 木聚糖内切酶。

9. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤还包括加入含有至少 15 重量％的水不可提取的阿糖基木聚糖的材料作为所述方法的酿造过程中的一种成分。

10. 如权利要求 9 所述的方法，其特征在于，所述含水不可提取的阿糖基木聚糖的材料选自小麦麸、黑麦麸、大麦麸、燕麦麸、黑小麦麸、大米麸、小米麸、高粱麸或玉米麸。

11. 如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤包括加入含有至少 20 重量％的平均聚合度低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖的谷物衍生材料作为在所述方法的酿造过程的调制麦芽浆步骤、麦芽汁煮沸步骤、麦芽汁冷却步骤和发酵步骤的任一步骤期间的一种成分。

12. 一种通过酿造过程制造啤酒的方法，所述方法包括发芽步骤、调制麦芽浆步骤、澄清步骤、麦芽汁煮沸步骤、麦芽汁冷却和接种步骤以及发酵步骤，所述酿造过程还包括使所述啤酒富含可溶性阿糖基木寡糖的富集步骤，其中所述富集导致含有 3.5-6％ (v/v) 的乙醇水平和 3-5 克 /100 毫升实际提取物的下层发酵啤酒中平均聚合度 (DP) 低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖的终浓度高于 3.5 克且最高达 25 克 / 升。

13. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤包括在啤酒制造过程的调制麦芽浆步骤期间加入一种或多种木聚糖内切酶以使麦芽汁中可溶性阿糖基木寡糖含量

比未加入任何木聚糖内切酶制备的相同麦芽汁高至少 30%，所述酶的酶活为 20-5000 单位 / 升。

14. 如权利要求 13 所述的方法，其特征在于，所述一种或多种木聚糖内切酶中至少一种是非抑制型木聚糖内切酶或热稳定性木聚糖内切酶。

15. 如权利要求 13 所述的方法，其特征在于，所述一种或多种木聚糖内切酶中至少一种是糖苷水解酶家族 11- 木聚糖内切酶。

16. 如权利要求 13 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤还包括加入含有至少 15% 重量的水不可提取的阿糖基木聚糖的材料作为所述方法的酿造过程中的一种成分。

17. 如权利要求 16 所述的方法，其特征在于，所述含有水不可提取的阿糖基木聚糖的材料选自小麦麸、黑麦麸、大麦麸、燕麦麸、黑小麦麸、大米麸、小米麸、高粱麸或玉米麸。

18. 如权利要求 12 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤包括加入含有至少 20 重量%的平均聚合度低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖的谷物衍生材料作为在所述方法的酿造过程的调制麦芽浆步骤、麦芽汁煮沸步骤、麦芽汁冷却步骤和发酵步骤的任一步骤期间的一种成分。

19. 一种通过酿造过程制造啤酒的方法，所述方法包括发芽步骤、调制麦芽浆步骤、澄清步骤、麦芽汁煮沸步骤、麦芽汁冷却和接种步骤以及发酵步骤，所述酿造过程还包括使所述啤酒富含可溶性阿糖基木寡糖的富集步骤，其中所述富集导致含有高于 6% (v/v) 的乙醇水平和高于 5 克 /100 毫升实际提取物的啤酒中平均聚合度 (DP) 低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖的终浓度为至少 2.1 克且最高达 30 克 / 升。

20. 如权利要求 19 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤包括在啤酒制造过程的调制麦芽浆步骤期间加入一种或多种木聚糖内切酶以使麦芽汁中可溶性阿糖基木寡糖含量比未加入任何木聚糖内切酶制备的相同麦芽汁高至少 30%，所述酶的酶活为 20-5000 单位。

21. 如权利要求 20 所述的方法，其特征在于，所述一种或多种木聚糖内切酶中至少一种是非抑制型木聚糖内切酶或热稳定性木聚糖内切酶。

22. 如权利要求 20 所述的方法，其特征在于，所述一种或多种木聚糖内切酶中至少一种是糖苷水解酶家族 11- 木聚糖内切酶。

23. 如权利要求 20 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤还包括加入含有至少 15% 重量的水不可提取的阿糖基木聚糖的材料作为所述方法的酿造过程中的一种成分。

24. 如权利要求 23 所述的方法，其特征在于，所述含有水不可提取的阿糖基木聚糖的材料选自小麦麸、黑麦麸、大麦麸、燕麦麸、黑小麦麸、大米麸、小米麸、高粱麸或玉米麸。

25. 如权利要求 19 所述的方法，其特征在于，所述富集步骤包括加入含有至少 20 重量%的平均聚合度低于 50 的可溶性阿糖基木寡糖的谷物衍生材料作为在所述方法的酿造过程的调制麦芽浆步骤、麦芽汁煮沸步骤、麦芽汁冷却步骤和发酵步骤的任一步骤期间的一种成分。

啤酒中的阿糖基木寡糖

发明领域

[0001] 本发明涉及提高啤酒中可溶性阿糖基木寡糖 (arabinoxylo-oligosaccharide) 水平的方法，以便改善这种啤酒的口味和 / 或口感。此外，本发明涉及富含可溶性阿糖基木寡糖的啤酒。

[0002] 发明背景

[0003] 由于啤酒中乙醇和可消化碳水化合物，尤其是麦芽糊精、麦芽糖和葡萄糖的含量相对较高因此富含卡路里。淀粉不完全降解成麦芽糖和葡萄糖和 / 或麦芽糖和葡萄糖不完全发酵成乙醇导致啤酒中存在可消化碳水化合物。无论是通过降低乙醇含量和 / 或可消化碳水化合物的含量，降低啤酒的卡路里含量通常导致口味和 / 或口感受损，这是大多数消费者不愿意接受的。在制造低卡路里啤酒和低乙醇啤酒时遇到的挑战是找到降低可消化碳水化合物水平和维持足以接受的口味和 / 或口感（这通常归功于这些碳水化合物）之间的平衡。本领域需要找到一种以相对适中的制造成本以及，如果可能的话，不显著改变标准酿造过程的解决该问题的方法。

[0004] 本发明基于以下发现，即可溶性低分子量阿糖基木聚糖的浓度升高超过它们在啤酒中的天然浓度能增强所述啤酒的口味和 / 或口感。表 1 给出了不同市售啤酒中可溶性阿糖基木聚糖含量的概况，显示大多数啤酒含有限量的可溶性阿糖基木聚糖，通常低于约 2.0g/l。此外，所述低分子量可溶性阿糖基木聚糖的浓度随啤酒类型改变。Schwarz 和 Han 在 1995 年采用一种测定啤酒中阿糖基木聚糖含量的非验证方法已经发现了可溶性阿糖基木聚糖随啤酒类型有类似程度的改变。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明基于以下发现，即可溶性阿糖基木聚糖，主要是低分子量阿糖基木寡糖的浓度决定了啤酒，尤其是下层发酵啤酒的口味和 / 或口感。此外，还发现通过将所述啤酒中平均聚合度低于 50 的阿糖基木寡糖（以后称为 AXOS，结构示于 EP-1.418.819-B1 的图 1）的浓度提高到高于特定水平能改善啤酒的口味和 / 或口感。AXOS 通常作为 β-1,4- 木糖 - 主链的聚合度（下文称为 DP）和 β-1,4- 木糖 - 主链被阿拉伯糖单元的取代程度 (DS) 相互不同的相关寡糖的非均匀混合物存在。AXOS 的木糖或阿拉伯糖单元也可被残基取代，如被 4-O- 甲基葡糖醛酸、乙酸、阿魏酸或 p- 香豆酸取代。AXOS 可通过部分水解，如采用酸或木聚糖内切酶的部分水解，由阿糖基木聚糖产生。阿糖基木聚糖，也称为戊聚糖（由于它由戊糖型单糖木糖和阿拉伯糖构成），具有与 AXOS 相同的组成，但多糖链更长，DP 通常为 5,000 或更高。阿糖基木聚糖和 AXOS 是不可消化的碳水化合物。完整的大麦或小麦颗粒（制造啤酒的传统原料）尤其富含阿糖基木聚糖，可含有多达 6-10％的这种多糖。在传统啤酒酿造过程中，大部分阿糖基木聚糖未从谷粒中提取出来并在澄清 (lautering) 后留在废弃的谷粒残渣中。已知可溶性阿糖基木聚糖在啤酒酿造中会造成各种严重问题，包括降低麦芽汁分离率、降低麦芽提取物回收率、缩短滤器寿命、以及降低啤酒滤出率。

[0007] 本发明涉及一种使啤酒中可溶性阿糖基木寡糖的含量提高至少约 5％，优选至少 20％，更优选至少 30％，最优选至少 40％，例如至少 50％的方法，例如在啤酒制造期间通过

外部加入的酶使谷物中的阿糖基木聚糖降解或者通过给麦芽汁或啤酒补充外部制造的阿糖基木寡糖。在本发明的一个实施方式中，在啤酒制造期间使用的外部加入的酶是木聚糖内切酶。在本发明的另一个实施方式中，所述外部制造的阿糖基木寡糖衍生自诸如植物材料等天然来源，更优选来自谷物。本发明所述阿糖基木寡糖水平提高的啤酒具有改善的口味和口感。

[0008] 附图简述

[0009] 图 1 显示了在其中添加了 2g/l 或 10g/l AXOS 的市售啤酒 (Bud Light) 的感官分析结果。柱表示平均评分，误差棒表示标准差。根据弗里德曼 ANOVA 检验，$p < 0.05$ 时不同字母表示的柱相互之间显著不同。

[0010] 图 2 显示了从相同麦芽汁酿造的两种实验啤酒在 AXOS 富集前后的感官分析结果。柱表示平均评分，误差棒表示标准差。根据威尔科克森符号秩次检验，$p < 0.05$ 时用星号表示的柱与对应值显著不同。

[0011] 发明详述

[0012] 对不同市售啤酒中可溶性阿糖基木聚糖含量的分析显示，大多数啤酒含有限量的可溶性阿糖基木聚糖，通常低于约 2.0g/l。如下表 1 所示，所述可溶性阿糖基木聚糖的浓度随啤酒类型改变，然而，基于它们可溶性阿糖基木聚糖含量，目前的市售啤酒可分成两组。

[0013] 第一组包括通常通过下层发酵低比重麦芽汁或稀释的麦芽汁，或者通过稀释下层发酵麦芽汁制得的啤酒，其含有低于 0.75g 可溶性阿糖基木聚糖 / 升。在所述第一组中可区分出两种不同啤酒类型 :

[0014] (i) 含有低于 3.5％ (v/v) 乙醇，优选低于 1.5％ (v/v) 的啤酒，通常称为低乙醇啤酒或“无乙醇”啤酒 ;这种啤酒类型的麦芽糊精含量可能非常高，通常至少 30g/ 升

[0015] (ii) 含有高于 3.5％ (v/v) 乙醇但含有低于 3g 实际提取物 /100ml，优选低于 2.5g/100ml 的啤酒，通常称为低卡路里啤酒或“轻”啤酒 ;通常，这种啤酒类型的麦芽糊精含量低于约 15g/ 升。

[0016] 第二组包括乙醇含量高于 3.5％ (v/v) 并含有高于约 3g 实际提取物 /100ml 的啤酒。该第二组中包含的啤酒通常含有约 0.7 至约 2.0g 可溶性阿糖基木聚糖 / 升，且所述组内中可区分出两种主要啤酒类型 :

[0017] (i) 通过下层发酵制造的储藏啤酒，如比尔森 (Pilsner) 型啤酒。这些啤酒中的大多数含有 3.5-6％ (v/v) 乙醇以及 3.0-5.0g 实际提取物 /100ml。然而，含有高于 6％ (v/v) 乙醇和 / 或高于 5.0g 实际提取物 /100ml 的储藏啤酒也有出售。

[0018] (iii) 含有高于 3.5％ (v/v) 乙醇和高于 3.0g 实际提取物 /100ml 的上层发酵啤酒。它们可含有最高达约 12.0％ (v/v) 乙醇和 / 或最高达 9.0g 实际提取物 /100ml。

[0019] 本发明基于以下发现，即啤酒中可溶性阿糖基木聚糖的浓度提高至少约 5％能增强所述啤酒的口味和 / 或口感。因此，在本发明的第一个目的中，提供了一种改善啤酒口味和 / 或口感的方法，该方法通过提高可溶性阿糖基木聚糖的浓度，使其超过本领域目前已知常规酿造过程所得浓度至少约 5％，例如至少约 30％，如至少 40％或至少 50％，最高达约 150％或更高。当可溶性阿糖基木聚糖的平均聚合度 (DP) 低于 50 时，麦芽汁或啤酒中这种可溶性阿糖基木聚糖水平的提高不会对酿造过程产生负面影响。此外，对富含这种 DP 低于 50 的可溶性阿糖基木聚糖的啤酒进行的感官分析未揭示觉察到啤酒的粘度有任何不需要

的提高。因此，本发明提供了使啤酒富含平均DP低于50，优选DP介于3和40，更优选介于3和30，例如介于5和20之间的可溶性阿糖基木聚糖。

[0020] 在第一个实施方式中，本发明涉及一种改善下层发酵所得啤酒的口味和/或口感的方法，这种啤酒含有的乙醇水平低于3.5％(v/v)或实际提取物低于3.0g/100ml，所述方法通过使所述啤酒富含如上文所述的可溶性阿糖基木聚糖，从而导致每升啤酒中平均DP低于50的可溶性阿糖基木聚糖的浓度高于1.2g/升，优选介于3和40g/升之间，更优选介于3和30g/升之间，例如介于5和20g/升啤酒之间，例如高于1.4g/升，优选高于1.6g/升，更优选高于1.8g/升，最优选高于2.0g/升，如例如高于3.0g/升或者甚至高于4.0g/升，且最高达约20g/升。在本发明的一个实施方式中，所述啤酒是所谓的低乙醇或“无乙醇”啤酒，其含有低于3.5％(v/v)乙醇，优选低于1.5％(v/v)乙醇，更优选低于1.0％(v/v)乙醇。在本发明的另一个优选实施方式中，所述啤酒是所谓的低卡路里或“轻”啤酒，其含有低于3.0g实际提取物/100ml，更优选低于2.0g/100ml。

[0021] 在本发明的第二个实施方式中，涉及一种改善乙醇水平介于3.5和6％(v/v)之间且实际提取物介于约3.0和5.0g/100ml之间的啤酒口味和/或口感的方法，包括用上述方式使所述啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖，从而导致平均DP低于50的可溶性阿糖基木聚糖的浓度高于约2.0g/升，优选介于3和40g/升之间，更优选介于3和30g/升之间，例如介于5和20g/升啤酒之间，例如高于2.5g/升，优选高于3.0g/升，更优选高于3.5g/升，最优选高于4.0g/升，例如高于4.5g/升或者高于5.0或6.0g/升，且最高达约25g/升。在本发明的一个实施方式中，所述啤酒是采用本领域熟知的下层发酵法制造的。优选地，用上述方式使这种通过下层发酵获得的啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖，从而导致平均DP低于50的可溶性阿糖基木聚糖的浓度高于约2.0g/升，优选介于3和40g/升之间，更优选介于3和30g/升之间，例如介于5和20g/升啤酒之间，例如高于2.5g/升，优选高于3.0g/升，更优选高于3.5g/升，最优选高于4.0g/升，如例如高于4.5g/升或者高于5.0或6.0g/升，且最高达约25g/升。

[0022] 在本发明的另一个实施方式中，所述啤酒是采用本领域熟知的上层发酵过程制造的。优选地，用上述方式使这种通过上层发酵获得的啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖，从而导致平均DP低于50的可溶性阿糖基木聚糖的浓度高于约2.0g/升，优选介于3和40g/升之间，更优选介于3和30g/升之间，例如介于5和20g/升啤酒之间，例如高于2.5g/升，优选高于3.0g/升，更优选高于3.5g/升，最优选高于4.0g/升，如例如高于4.5g/升或者高于5.0或6.0g/升，且最高达约25g/升。在一个具体实施方式中，使这种通过上层发酵获得的啤酒富含所述可溶性阿糖基木聚糖，从而导致所述可溶性阿糖基木聚糖的浓度为高于约7.0g/升，更优选高于8.0g/升和最高达约25g/升。

[0023] 在本发明的再一个实施方式中，涉及一种改善乙醇水平高于6％(v/v)和实际提取物高于5.0g/100ml的啤酒的口味和/或口感的方法，包括用上述方式使所述啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖，从而导致平均DP低于50的可溶性阿糖基木聚糖的浓度高于2.4g/升，优选介于3和40g/升之间，更优选介于3和30g/升，例如介于5和20g/升啤酒之间，优选高于3.0g/升，更优选高于4.0g/升，如例如高于5.0g/升或高于6.0g/升，且最高达约30g/升。在一个优选实施方式中，所述啤酒是采用本领域熟知的下层发酵过程制造的。在另一个优选实施方式中，所述啤酒是采用本领域熟知的上层发酵过程制造的。

[0024] 啤酒样品的可溶性阿糖基木聚糖浓度优选如下测定。啤酒样品首先通过超声 10 分钟除去碳酸，然后通过标准纸膜过滤。将 2.5ml 所述除去碳酸的啤酒样品与 2.5ml 4.0M 三氟乙酸（终浓度 2.0M）混合并在 110℃培育 60 分钟。水解之后将混合物过滤，取 3.0ml 滤液加入 1.0ml 内标溶液（100mg β-D-阿洛糖，溶于 100ml 50％饱和苯甲酸溶液）、1.0ml 氨溶液（25％ v/v）和 3 滴 2-辛醇作进一步处理。加入 200μl 硼氢化钠溶液（200mg 硼氢化钠溶于 1.0ml 2M 氨水）并将样品在 40℃培育 30 分钟以将单糖还原成糖醇。加入 400μl 冰醋酸终止反应。为进行乙酰化反应，将 500μl 含有糖醇的样品加入 5.0ml 乙酸酐和 500μl 1-甲基-咪唑中。10 分钟后在样品中加入 900μl 乙醇以除去过量乙酸酐。然后加入水（10ml）和氢氧化钾溶液（2 次，5.0ml 7.5M 溶液，间隔数分钟）将糖醇乙酸酯浓缩于有机相。加入溴酚蓝溶液（500μl，0.04％ w/v）作为水相指示剂。在装配有火焰离子化检测器的色谱仪（例如安捷伦 (Agilent)6890 系列，美国特拉华州惠明顿 (Wilmington,DE,USA)）上通过在合适的极性柱（例如，Supelco SP-2380 柱，30m X 0.32mm I.D. ；0.2μm 膜厚度，美国宾西法尼亚州贝拉法特休科公司 (Supelco,Bellefonte,PA,USA)）上进行气相色谱来分离含上述糖醇乙酸酯的 1μl 有机相等份样品。出于校准目的，用各组样品平行处理纯化的单糖 D-木糖、L-阿拉伯糖和任选的 D-半乳糖。

[0025] 出于本发明的目的，啤酒样品中可溶性阿糖基木聚糖的含量优选采用以下公式计算：

[0026] 可溶性阿糖基木聚糖含量＝ 0.88×（％阿拉伯糖 +％木糖）(1)。

[0027] 然而，本领域技术人员将了解，在现有技术中，阿糖基木聚糖含量有时是采用下述公式用阿拉伯半乳聚糖含量的修正值计算的：

[0028] 可溶性阿糖基木聚糖含量 $_{corr}$ ＝ 0.88×（％阿拉伯糖 -0.7×％半乳糖 +％木糖）(2)。

[0029] 可采用，即加入含有可溶性阿糖基木聚糖的制品作为酿造过程的一种成分使啤酒中具有所需 DP 的可溶性阿糖基木聚糖富集至少 5％，优选至少 20％，更优选至少 30％，最优选至少 40％，例如至少 50％。优选含有所述阿糖基木聚糖的制品衍生自谷物，如例如小麦、黑麦、大麦、燕麦、黑小麦、大米、小米、高粱或玉米，并且所述制品可含有高于约 15％ (w/w) 的平均 DP 低于 50、优选 DP 介于 3 和 40 之间、更优选介于 3 和 30 之间、例如介于 5 和 20 之间的阿糖基木聚糖，所述制品中这种可溶性阿糖基木聚糖的含量优选高于 30％ (w/w)，更优选高于 40％ (w/w)，例如高于 50％。在合适的实施方式中，本发明方法包括在啤酒酿造过程的调制麦芽浆 (mashing)、麦芽汁煮沸、麦芽汁冷却、发酵或发酵后步骤中的任何一个步骤期间加入含所述可溶性阿糖基木聚糖的制品作为附加物或添加物。如果含所述可溶性阿糖基木聚糖的制品被用作在制造低乙醇或低卡路里啤酒时提供本发明口味和 / 或口感成分的添加物，则所有制品不含显著的或高水平的可发酵或可代谢的碳水化合物较为有利。

[0030] 或者，使啤酒中具有所需 DP 的可溶性阿糖基木聚糖富集至少 5％，优选至少 20％，更优选至少 30％，最优选至少 40％，例如至少 50％可在酿造过程中采用含有单一木聚糖内切酶或不同类型木聚糖内切酶的组合的木聚糖内切酶制品来实现。优选地，对所述木聚糖内切酶或木聚糖内切酶的组合进行选择，例如，以促进含阿糖基木聚糖的酿造成分如发芽的谷粒、未发芽的谷粒或谷粒衍生成分中水可提取的和水不可提取的阿糖基木聚糖溶解。优选地，添加给定量的木聚糖内切酶制品应导致麦芽汁中可溶性阿糖基木聚糖的含量比未

添加任何木聚糖内切酶制得的麦芽汁高30％，更优选40％，例如50％。根据本发明，为使啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖，给定浓度的木聚糖内切酶或木聚糖内切酶组合的适用性可如下测定：

[0031] 在45℃制备含每升水含200g谷粉的麦芽浆，所述谷粉可包括，例如100％大麦麦芽或者80％大麦麦芽和20％小麦麦芽；

[0032] 加入给定浓度的所述木聚糖内切酶制品；

[0033] 将麦芽浆在45℃培育2小时；

[0034] 以1℃分钟的速率将麦芽浆加热至70℃并将麦芽浆在70℃维持60分钟；

[0035] 过滤澄清麦芽汁，然后将液体组分煮沸30分钟；

[0036] 将煮沸的麦芽汁以10,000g离心15分钟除去悬浮颗粒后获得进行可溶性阿糖基木聚糖分析的样品；

[0037] 测定所述麦芽汁样品中的可溶性阿糖基木聚糖，并将所述样品的可溶性阿糖基木聚糖含量与按照上述制备但未加入任何木聚糖内切酶的对照麦芽汁样品的可溶性阿糖基木聚糖含量进行比较。当含木聚糖内切酶或木聚糖内切酶组合的样品中可溶性阿糖基木聚糖的浓度比对照样品高出25％以上，更优选高30％以上，最优选高40％以上，例如高50％以上时可以断定，测试浓度的木聚糖内切酶或木聚糖内切酶组合适合根据本发明使啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖。

[0038] 一种或多种木聚糖内切酶优选在调制麦芽浆期间加入，然而，在酿造过程的任何其他步骤中，如麦芽汁煮沸、麦芽汁冷却、发酵和发酵后加入木聚糖内切酶也是有利的。如果在酿造过程中使用一种以上的木聚糖内切酶，则不同类型的木聚糖内切酶可同时加入，或者可在酿造过程的不同步骤中加入各种类型的木聚糖内切酶。由于为提高啤酒中可溶性阿糖基木聚糖的总浓度，使发芽谷粒中所含水不可提取的阿糖基木聚糖溶解尤其重要，所以在酿造过程的调制麦芽浆步骤中加入至少一种能够方便水不可提取的阿糖基木聚糖溶解的木聚糖内切酶，如糖苷水解酶家族11-木聚糖内切酶是有利的。此外，发现由于谷物中存在的木聚糖内切酶抑制剂，所以一些木聚糖内切酶，包括家族11木聚糖内切酶不能有效地溶解相关量的阿糖基木聚糖。因此，优选一种或多种加入的木聚糖内切酶比较不容易被谷物中通常存在的木聚糖内切酶抑制剂类型所抑制。

[0039] 此外，当所述一种或多种木聚糖内切酶中的至少一种木聚糖内切酶在调制麦芽浆步骤和澄清步骤期间采用的完整温度范围内保持活性时，发芽谷粒中所含阿糖基木聚糖的水解和/或溶解通常被增强，所述温度通常从约40℃至约80℃，优选介于45℃和78℃之间，例如介于60℃和72℃之间。此外，所述一种或多种木聚糖内切酶中的至少一种木聚糖内切酶在72℃时显示出的酶活性不低于所述酶在谷物基麦芽浆中最佳温度范围时酶活性的20％是有利的。

[0040] 在本发明的具体实施方式中，适合溶解水不可提取的阿糖基木聚糖的木聚糖内切酶的加入或使用可与含相关量水不可提取的阿糖基木聚糖，如种壳、种麸或麦麸-衍生材料组合加入酿造成分。例如，所述种壳、麦麸或麦麸-衍生材料可作为谷粒如小麦、黑麦、大麦、燕麦、黑小麦、大米、小米、高粱或玉米的研磨成分获得。谷粉中的麦麸或麦麸-衍生材料与发芽或未发芽谷粒的重量比优选高于约1：30，更优选高于约1：20，例如高于约1：15。在本发明的该实施方式中，发芽谷粒中所含阿糖基木聚糖溶解和片段化和加入含

阿糖基木聚糖的材料导致啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖。

[0041] 本发明所述的使啤酒富含可溶性阿糖基木聚糖的过程也可通过使用除木聚糖内切酶活性外具有选自下组的一种或多种额外酶活性的酶混合物来实现：α-L-阿拉伯呋喃糖酶（从阿糖基木聚糖上切下阿拉伯糖侧链）、甲基葡糖醛酸糖苷酶（除去其甲基葡糖醛酸侧链）、阿魏酸酯酶（水解阿魏酸和阿糖基木聚糖之间的酯键）、β-葡聚糖酶（水解可能与阿糖基木聚糖相连的 β-葡聚糖）和纤维素酶（水解可能与阿糖基木聚糖相连的纤维素）。

[0042] 一般已知黑麦和黑麦麦芽包含相对高含量的阿糖基木聚糖。因此，可考虑组合使用用于制造本发明所述啤酒的木聚糖内切酶和包含黑麦或黑麦麦芽的谷粉。然而，观察到使用黑麦或黑麦麦芽会在下游酿造步骤如澄清和过滤中造成问题，尤其是与本发明的木聚糖内切酶制品组合使用时。因此，优选按照本发明制备的啤酒谷粉不含或仅含有限量的黑麦、黑麦麦芽或黑麦-衍生的谷粉，例如低于 25%，更优选低于 15%如低于 10%。

[0043] 本发明的第二个目的是提供按照本发明获得的啤酒。

[0044] 相比使用包括菊糖、乳糖、乳果糖、棉子糖、水苏糖、阿拉伯半乳聚糖、抗性淀粉(resistant starch)、异麦芽糖和塔格糖在内的其他碳水化合物，本发明方法的一个显著优点在于，聚合度低于50的可溶性阿糖基木聚糖(AXOS)在许多（如果不是所有的话）啤酒中已经以可检测水平天然存在。这意味着本发明方法不会引入常规啤酒中不含的化合物，但仅是增加其含量指导获得独特口感和/或口味效果。由于 AXOS 已经存在于啤酒中并且可从小麦或大麦（即通常用于制造啤酒的成分）中提取，因此本发明方法满足大多数（如果不是所有）国家对于啤酒酿造的所有原则性要求，并且尤其符合德国“纯净法(purity law)”。

[0045] 与使用XOS作为啤酒添加物相比，本发明方法的另一个优点在于，AXOS相比XOS不甜，因此能更好地适合啤酒的口味要求。已证实 XOS 的甜度为蔗糖的约 30%，而 AXOS 低于蔗糖甜度的 10%。此外，XOS 价格非常昂贵，因此难以用于大体积产品如啤酒中，而 AXOS 可通过添加合适的酶或作为非常便宜的产品如麦麸提取物或作为工业淀粉/谷蛋白分离的副产物加入产品，从而在酿造期间原地制造。

[0046] 与提高啤酒中不可消化的碳水化合物含量的已知方法相比，本发明方法的另一个优点是，所需酿造过程没有显著改变，仅是在调制麦芽浆、煮沸、冷却、发酵和/或发酵后步骤中加入了一种或多种合适的木聚糖内切酶，或者仅是加入了合适剂量的富含 AXOS 的成分。此外，与本领域已知的某些方法相比，本发明方法不会必然提高可消化碳水化合物含量。

[0047] 在本发明中，术语“啤酒”是指用谷粒，优选大麦、小麦、黑小麦、燕麦、黑麦、玉米、高粱、小米或大米以及研磨的谷物或者这种谷粒的芽制造任何发酵饮料，制造时添加或未添加芳香植物如酒花、芫荽、杜松、月桂、迷迭香、姜、薄荷、干草、洋蓍草、茴香或柑橘的部分或提取物，并且添加或未添加果实或果实提取物。术语啤酒在文中的含义包括，但不限于：淡色啤酒、烈性麦芽酒、中等麦芽酒、苦麦芽酒、英国黄啤酒、酸麦芽酒、烈性啤酒、烈黑啤酒、窖藏啤酒、麦芽酒、大麦酒、发泡酒(happoushu)、烈性黑啤酒、杜特勃克啤酒(doppelbock)、科隆啤酒（Kölsch beer)、德国棕色啤酒(Münchenerbeer)、多特蒙德啤酒、杜丝多佛阿特啤酒(Düsseldorfer alt beer)、比尔森啤酒、玛森啤酒（märzen beer)、德国

韦森啤酒 (German weizenbier)、柏林啤酒 (Berlinerweisse)、塞森啤酒 (Saisons beer)、修道院啤酒 (abbey beer)、泰皮斯特啤酒 (Trappist beer)、古泽啤酒 (gueuze)、兰比克啤酒 (lambic beer)、果味啤酒 (fruitbeer)、比利时白啤酒、高乙醇啤酒、低乙醇啤酒、无乙醇啤酒、低卡路里啤酒、淡味啤酒等等。

[0048] 根据啤酒类型，啤酒酿造步骤在一定程度上可能有所不同，但通常由以下主要步骤构成：

[0049] “发芽”涉及将谷粒浸泡在水中使其发芽。在发芽期间会产生几种类型的酶，包括催化淀粉转变成简单的可发酵糖的酶。发芽的谷粒然后被干燥和烘焙（该过程称为“窑烧”）以杀死萌芽以及为谷粒提供经过焙烧的谷粒味道和色泽。用这种方式处理的谷粒被称为发芽谷粒或简称为“麦芽”。研磨麦芽以使谷粒破碎和除去萌芽，这样可使发芽谷粒的内容物在调制麦芽浆和煮沸期间更好地接触水。

[0050] “调制麦芽浆”涉及将含或不含附加物的谷粉（即研磨过的发芽谷粒）与水一起研磨以获得所谓的“麦芽浆”。附加物是除了研磨的发芽谷粒之外被加入谷粉中的富含碳水化合物的成分。将麦芽浆加热至麦芽酶或外源酶的最佳酶活性温度。调制麦芽浆通常在约45℃至约75℃进行。在调制麦芽浆期间，复杂碳水化合物（主要是淀粉）酶断裂产生寡糖、二糖和单糖。这种简单糖形成发酵期间微生物的碳源和能源。

[0051] “澄清”涉及将麦芽浆分离成称为“麦芽汁”的液体提取物和称为“酒糟”的不溶性物质。澄清通常在约78℃时进行。

[0052] “麦芽汁煮沸”涉及在水沸腾温度下加热麦芽汁。煮沸的关键目的是：(i) 杀死微生物以消除与发酵微生物的竞争，(ii) 使蛋白质或可能造成啤酒混浊的其他固体凝结和沉淀，和 (iii) 除去和化学修饰在麦芽汁煮沸之前或期间加入的草本或草本提取物中的苦味、芳香和调味化合物。

[0053] “冷却和接种”涉及将煮沸的麦芽汁冷却至发酵微生物的最佳温度。这些发酵微生物，例如啤酒酵母（酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)）被故意加入麦芽汁（称为“投掷 (pitching)”）或通过自发接种加入。

[0054] “发酵”涉及培育接种有发酵微生物的麦芽汁。在发酵期间，简单糖被这些微生物转变成二氧化碳、乙醇和许多其他副产物。

[0055] “发酵后处理”是从主发酵后直到制造和包装完成的啤酒的步骤。根据啤酒类型和使用的方法，这种发酵后处理可涉及以下一步或多步：对啤酒进行调理以进一步产生所需味道和香味和 / 或降低不需要味道和香味的水平；可将啤酒过滤以除去残余的酵母和其他造成混浊的物质；可用吸附剂处理啤酒以除去特定化合物，如亲水性蛋白质或多酚；可再对啤酒进行发酵（添加或不添加额外碳源）；可加入草本或草本提取物；可加入水果或水果提取物；可在啤酒中充碳酸气以增加啤酒的泡沫；可对啤酒进行巴氏灭菌或微过滤以增强微生物稳定性；以及可将啤酒包装，如装瓶、装罐或装桶。

[0056] 术语“实际提取物”在本发明内容中被定义为将啤酒的液体和气体成分（水、乙醇、溶解气体）蒸发后获得的每100毫升啤酒中干物质克数。

[0057] 在本发明内容中，术语“木聚糖内切酶”指能够水解含木糖的多糖中连接木糖残基的糖基键的酶。木聚糖内切酶可衍生自各种生物体，包括植物、真菌（如曲霉属 (Aspergillus)、青霉属 (Penicillium)、双孢霉属 (Disporotrichum)、脉孢菌属

(Neurospora)、镰刀霉 (Fusarium)、腐质霉属 (Humicola)、木霉属 (Trichoderma)) 或细菌种类 (如杆菌属 (Bacillus)、气单胞菌属 (Aeromonas)、链霉属 (Streptomyces)、诺卡土壤菌属 (Nocardiopsis)、嗜热丝孢菌 (Thermomyces))。适用于本发明的市售的纯化或部分纯化的木聚糖内切酶制品包括,但不限于 :Shearzyme™(诺佛酶制品公司 (Novozymes))、Biofeed Wheat™(诺佛酶制品公司)、Pentopan™ Mono(诺佛酶制品公司)、Pulpzyme™(诺佛酶制品公司)、Ecopulp™(AB 酶制品公司 (AB Enzymes))、Veron™191(AB 酶制品公司)、Veron™ Special(AB 酶制品公司)、Multifect™ 木聚糖酶 (吉尼科公司 (Genencor)/ 戴尼斯科公司 (Danisco))、Multifect™ 720(吉尼科公司 / 戴尼斯科公司)、Spezyme™ CP(吉尼科公司 / 戴尼斯科公司)、Grindamyl™ H640(戴尼斯科公司)、和 Grindamyl™ Powerbake™(戴尼斯科公司)。

[0058] 术语“非抑制性木聚糖内切酶”指在存在蛋白质性木聚糖内切酶抑制剂 (其浓度为原始比重范围为约 7-25g/100ml 的常规谷物基麦芽浆中的典型浓度) 时培育 1 小时后酶活性被抑制 20％以下的木聚糖内切酶。适用于本发明的市售的非抑制性木聚糖内切酶的非限制性例子是 Grindamyl™ Powerbake™(戴尼斯科公司)。这种属于家族 11 木聚糖内切酶的被较少抑制的酶的其他例子披露于 WO2001066711。

[0059] 术语“耐热性木聚糖内切酶”指在 72℃培育 1 小时后,与最佳温度下原始比重范围为约 7-25g/100ml 的常规谷物基麦芽浆中发生的情况相比,酶活性降低少于 80％的酶。适用于本发明的市售的耐热性木聚糖内切酶的非限制性例子是 Ecopulp™ TX200A(AB 酶制品公司)。

[0060] 术语“耐热性非抑制性木聚糖内切酶”指结合了非抑制性木聚糖内切酶和耐热性木聚糖内切酶的特性的木聚糖内切酶。这种耐热性非抑制性木聚糖内切酶家族 11 木聚糖内切酶的例子描述于 WO200302923。

[0061] 术语“口感”用来描述啤酒的碳酸化程度、丰满度和后味,其中的这些描述词被用来描绘负责在口腔表面产生特征性触觉感受的质地属性。

[0062] 术语“麦麸”在本发明内容中表示衍生自谷粒的种子衍生的研磨部分,与对应的完整种子相比,它富含任一或所有选自下组的组织 :糊粉、果皮、种皮、萼片和花瓣。

[0063] 如果需要对制造方法进行质控,本发明可包括在酿造过程的一个或多个步骤上对啤酒中 AXOS 的浓度进行测量和 / 或分析。所述方法包括本发明实施例 1 中描述的分析技术。

[0064] 将通过下述非限制性实施方式进一步阐述本发明。

[0065] 实施例 1 :不同啤酒类型的 AXOS 含量

[0066] 分析技术 . 已经采用不同分析技术来充分表征市售啤酒。

[0067] 啤酒样品的乙醇含量是通过近红外光谱测定的 (Alcolyzer Plus,安东帕公司 (Anton Paar),格拉茨,奥地利),表观提取物的溶液密度用摆动 U 形管密度计测量 (Alcolyzer Plus,安东帕公司),实际提取物和原始提取物 (originalextract)(原始麦芽汁比重) 根据测得的乙醇和密度计算,都按照 Analytica EBC(1998) 中列出的标准方法进行。

[0068] 用基于 Courtin 等 2000(Journal of ChromatographyA,866,97-104) 的方法测量啤酒中的总糖和还原糖含量。首先将啤酒样品超声 10 分钟以除去碳酸,然后通过标准

纸膜过滤。为测定 AXOS 和麦芽糊精含量，将 2.5ml 啤酒与 2.5ml4.0M 三氟乙酸（终浓度 2.0M）混合并在 110℃培育 60 分钟。水解之后将混合物过滤，取 3.0ml 滤液加入 1.0ml 内标溶液（100mg β-D-阿洛糖，溶于 100ml 50％饱和苯甲酸溶液）、1.0ml 氨溶液（25％ v/v）和 3 滴 2- 辛醇作进一步处理。加入 200μl 硼氢化钠溶液（200mg 硼氢化钠溶于 1.0ml 2M 氨水）并将样品在 40℃培育 30 分钟以将单糖还原成糖醇。加入 400μl 冰醋酸终止反应。为进行乙酰化反应，将 500μl 含有糖醇的样品加入 5.0ml 乙酸酐和 500μl1- 甲基 - 咪唑中。10 分钟后在样品中加入 900μl 乙醇以除去过量乙酸酐。然后加入水（10ml）和氢氧化钾溶液（2 次，5.0ml 7.5M 溶液，间隔数分钟）将糖醇乙酸酯浓缩于有机相。加入溴酚蓝溶液（500μl，0.04％ w/v）作为水相指示剂。在装配有自动进样器、分流器注射口（分流比 1 ： 20）和火焰离子化检测器的安捷伦色谱仪（安捷伦 6890 系列，美国特拉华州惠明顿）上通过在 Supelco SP-2380 极性柱（30m X 0.32mmI.D. ；0.2μm 膜厚度）（美国宾西法尼亚州贝拉法特休科公司）上进行气相色谱来分离含上述糖醇乙酸酯的 1μl 有机相等份样品。出于校准目的，用各组样品平行处理纯化的单糖 D- 半乳糖、D- 木糖、D- 葡萄糖和 L- 阿拉伯糖。

[0069] 为测定啤酒中 AXOS 的平均 DP，在 2.5ml 啤酒中加入 500μl 内标（100mgβ-D- 阿洛糖，溶于 100ml 50％饱和苯甲酸溶液）、50μl 氨溶液（25％ v/v）和 9 滴 2- 辛醇。加入 200μl 硼氢化钠溶液（200mg 硼氢化钠溶于 1.0ml 2M 氨水）并将样品在 40℃培育 30 分钟以将糖还原成糖醇。加入 400μl 冰醋酸终止反应。在 2.5ml 含还原糖的等份样品中加入 500μl 三氟乙酸（99％）并将样品在 110℃培育 60 分钟以进行水解。水解之后如上所述进行乙酰化和气相色谱分析。出于校准目的，用各组样品平行处理纯化的单糖 D- 木糖、D- 葡萄糖和 L- 阿拉伯糖。

[0070] 啤酒样品的 AXOS，以后也称为可溶性阿糖基木聚糖的含量（C-AXOS）是用公式（1）计算的。用阿拉伯半乳聚糖含量修正的 AXOS 含量（$AXOS_{cor}$）是用公式（2）计算的。AXOS 的阿拉伯糖与木糖之比（A/XAXOS）是用公式（3）计算的。用阿拉伯半乳聚糖含量修正的 AXOS 的阿拉伯糖与木糖之比（$A/X_{cor}AXOS$）是用公式（4）计算的。AXOS 的平均聚合度（avDP）（avDPAXOS），以后也称为可溶性阿糖基木聚糖的平均聚合度，是用公式（5）计算的。AXOS 木聚糖主链的平均聚合度（avDP 木聚糖）是用公式（6）计算的。麦芽糊精浓度是用公式（7）计算的。

[0071] （1）C-AXOS ＝ 0.88×（％阿拉伯糖 +％木糖）

[0072] （2）$C\text{-}AXOS_{cor}$ ＝ 0.88×（％阿拉伯糖 -0.7×％半乳糖 +％木糖）

[0073] （3）A/X AXOS ＝％阿拉伯糖 /％木糖。

[0074] （4）$A/X_{cor}AXOS$ ＝（％阿拉伯糖 -0.7×％半乳糖）/％木糖。

[0075] （5）avDP AXOS ＝（％阿拉伯糖 -0.7×％半乳糖 +％木糖）/％还原端木糖

[0076] （6）avDP 木聚糖＝％木糖 /％还原端木糖

[0077] （7）麦芽糊精＝ 0.9×（％葡萄糖）

[0078] 公式（2）、（4）和（5）中减去％半乳糖表示对啤酒或麦芽汁中阿拉伯半乳聚糖含量的修正（Van den Bulck 等 2005）。应注意的是，在公式（6）中，avDP 专门应用于 AXOS 的 β-1,4-D- 吡喃木糖基主链，不考虑阿拉伯糖侧链。

[0079] 收集了一系列代表各种不同啤酒类型的市售啤酒，其中包括无乙醇啤酒、比尔森

型啤酒、美国淡味啤酒、淡色啤酒、酸麦芽酒、比利时白啤酒、德国韦森啤酒（小麦啤酒）、金色烈性麦芽酒（其中包括比利时啤酒、修道院啤酒和曲培啤酒 (tripel))、黑色烈性麦芽酒、以及古泽啤酒和兰比克啤酒。分析每种啤酒的乙醇含量、实际提取物、原始提取物（原始麦芽汁比重）、麦芽糊精含量、阿糖基木寡糖 (AXOS) 含量、以及平均阿拉伯糖 / 木糖比 (A/X) 和 AXOS 的平均聚合度 (avDP)，结果示于表 1。

[0080] 美国淡味啤酒的 AXOS 含量最低，其 AXOS 含量介于 0.58g/l（“NaturalLight”）和 0.68g/l（“Bud Light”）之间。烈性麦芽酒的 AXOS 含量最高，其范围介于 1.44g/l（“Westmalle Tripel”）和 2.14g/l（“Kasteelbier bruin”）之间。通常，AXOS 含量和原始提取物之间有良好的相关性，这点并不奇怪，因为较高的麦芽汁比重将导致包括阿糖基木聚糖在内的碳水化合物溶解得更多。

[0081] 啤酒中 AXOS 的平均聚合度 (avDP AXOS) 范围从金色烈性麦芽酒“TripelKarmeliet”的 8 到德国韦森啤酒“Paulaner Hefe-Weissbier”的 25。AXOS 的平均聚合度和啤酒的实际或原始提取物水平之间不存在已知的相关性。发现低平均聚合度表明来自谷物的内源木聚糖内切酶在麦芽制造期间和 / 或调制麦芽浆期间具有活性。AXOS 的平均 A/X 比在 0.66 到 0.80 的相对狭窄范围内波动（对阿拉伯半乳聚糖修正后介于 0.55 和 0.67 之间）。

[0082] Schwarz 和 Han(1995) 之前采用测定啤酒中阿糖基木聚糖含量的非验证方法已经观察到可溶性阿糖基木聚糖含量随啤酒类型的类似变化程度。然而，Schwarz 和 Han 报道的值系统性高于本研究测得的可溶性阿糖基木聚糖水平。这种差异可能是由于 Schwarz 和 Han 的研究 (1995) 过高估计了阿糖基木聚糖水平。例如，Schwarz 和 Han 的研究 (1995) 报道小麦麦芽的阿糖基木聚糖含量为 12.6%，而通常情况下小麦的阿糖基木聚糖含量为 6-7% (Egi 等，2004，MBAATQ 卷 41(3))，且预计麦芽制造过程不会对小麦的总阿糖基木聚糖含量造成显著影响。

[0083] 实施例 2- 用木聚糖内切酶提高啤酒的 AXOS

[0084] 材料 . Grindamyl® H640 是一种购自戴尼斯科公司（哥本哈根，丹麦）的食品级木聚糖内切酶制品，它是通过在枯草芽孢杆菌 (Bacillus subtilis) 中表达枯草芽孢杆菌糖苷水解酶家族 (GHF)11 木聚糖内切酶基因制造的。Grindamyl® H190 是一种购自戴尼斯科公司（哥本哈根，丹麦）的食品级木聚糖内切酶制品，由黑曲霉 (Aspergillus niger) 制造。Grindamyl® Powerbake® 是一种购自戴尼斯科公司（哥本哈根，丹麦）的食品级木聚糖内切酶制品，它是通过在枯草芽孢杆菌中表达枯草芽孢杆菌 GHF 11 木聚糖内切酶基因非抑制性变体制造的。Ecopulp® TX200A (ECOP) 是一种购自 AB 酶制品公司（达姆施塔特，德国）的工业级木聚糖内切酶制品，通过重组表达木霉 (Trichoderma longibrachiatum) GHF11 木聚糖内切酶基因制造。Shearzyme® 500L 是一种购自诺佛酶制品公司 (Bagsvaerd，丹麦）的食品级木聚糖内切酶制品，通过在米曲霉 (Aspergillusoryzae) 中重组表达米曲霉 GHF10 木聚糖内切酶基因制造。小麦木聚糖内切酶抑制剂 TAXI I 按照文献的描述纯化 (Gebruers 等 2001，Biochem. J. 353 :239-244)。大麦麦芽和小麦获自比利时嘉吉公司 (Cargill，Herent，Belgium)，小麦麦麸是获自比利时 MB 公司 (Mills & Bakery，Deinze，Belgium) 的 Dossche，黑麦麦麸获自比利时 MG 公司 (Molens Goethals，Ghent，Belgium)。

[0085] 分析方法 . 为计算平行实验中不同麦芽汁或啤酒制品的 AXOS 含量，用平行测得的

所有实验样品的平均甘露糖浓度除以各个实验样品的甘露糖浓度得到的因子对碳水化合物提取效率作数据标准化。

[0086] 测量木聚糖分解酶(xylanolytic enzyme)活性.如麦格酶制品公司数据表9/95(Megazyme Data Sheet 9/95)所述,用可可碱醋酸钠交联的阿糖基木聚糖(Xylazyme AX片,爱尔兰麦格酶制品公司(Megazyme,Bray,Ireland))作为不可溶底物,用25mM乙酸钠(pH 4.7)作为缓冲液并在40℃培育10分钟,通过比色法测定木聚糖内切酶的酶活性。一个单位被定义为在测试条件下590nm的消光系数(extinction)改变1.0所需的酶量。

[0087] 在第一个实验中,检测了不同类型的木聚糖内切酶、底物和培育条件以寻找导致调制麦芽浆处理期间麦芽汁中AXOS水平升高的条件。当AXOS是在调制麦芽浆期间产生时,它们将出现在最终的啤酒产品中,这是因为AXOS对热非常稳定不会在煮沸期间被破坏,并且因为它们不会被用作酿酒酵母的碳源,原因是这种微生物甚至不含编码木聚糖内切酶或阿拉伯呋喃糖苷酶的基因。Grindamyl Powerbake(一种来自枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)的糖苷水解酶家族11木聚糖内切酶)被工程构造成能降低来自谷物的木聚糖内切酶抑制剂如TAXI和相关蛋白质对木聚糖内切酶活性的抑制作用。麦芽浆由200g/l比尔森型大麦麦芽构成,另一种麦芽浆由140g/l比尔森型大麦麦芽和60g/l小麦麦麸的混合物构成。将麦芽浆悬浮于45℃的水中并在开始加工时加入酶。首先将麦芽浆在45℃培育90分钟或150分钟,然后以1℃/分钟升至70℃,并保持70℃60分钟。通过过滤澄清之后将麦芽汁煮沸60分钟。冷却后将麦芽汁在-20℃冷冻直至进行碳水化合物分析。进行碳水化合物分析之前,将麦芽汁离心(10,000g,15分钟,18℃)以除去颗粒物质。

[0088] 如表2所示,以20单位/升或100单位/升的酶活性加入的非抑制性酶Grindamyl Powerbake造成AXOS水平显著升高。当剂量为100单位/升且培育时间为150分钟时,Grindamyl Powerbake使大麦麦芽麦芽浆的AXOS含量相对于未加入酶的基础处理麦芽浆升高47%。

[0089] 在第二个实验中,分析了加入不同类型木聚糖内切酶对麦芽汁释放AXOS的影响,所述麦芽汁是将比尔森型大麦麦芽以200g/l悬浮于麦芽浆制备的。温度方案为45℃120分钟,60℃30分钟,和72℃60分钟。测试的不同的酶是:Grindamyl H640,一种被谷物中的木聚糖内切酶抑制剂抑制的来自枯草芽孢杆菌的GHF11-木聚糖内切酶;Grindamyl H190,一种被谷物中的木聚糖内切酶抑制剂抑制的来自黑曲霉的GHF 11-木聚糖内切酶;Grindamyl Powerbake,一种被工程构造成能降低来自谷物的木聚糖内切酶抑制剂对木聚糖内切酶活性的抑制作用的来自枯草芽孢杆菌的GHF 11木聚糖内切酶;Shearzyme 500L,一种来自皮刺曲霉(Aspergillus aculeatus)的GHF 10-木聚糖内切酶,其活性不被谷物木聚糖内切酶抑制剂抑制。

[0090] 在相等木聚糖内切酶活性时(250单位/升),Grindamyl Powerbake释放的AXOS远多于Grindamyl H640或Grindamyl H190,证明非抑制性木聚糖内切酶在啤酒释放AXOS方面比抑制性木聚糖内切酶更加有效(表3)。同时,在相等酶活性时(250单位/升),Grindamyl Powerbake比Shearzyme 500L释放更多AXOS,表明就AXOS在麦芽汁中溶解而言糖苷水解酶家族11-木聚糖内切酶的性能优于糖苷水解酶家族10-木聚糖内切酶。另一方面,Shearzyme 500L造成AXOS avDP的降低最高,使麦芽汁的avDP从13降至6,而Grindamyl H640和Grindamyl Powerbake对该参数影响甚微或没有影响。这与糖苷水解酶

家族 11 木聚糖内切酶有利于不可溶阿糖基木聚糖底物释放 AXOS，而糖苷水解酶家族 10 木聚糖内切酶优先切割可溶性 AXOS 的催化特性的观点一致。

[0091] 在之前的实验中，调制麦芽浆的温度保持在相对较低 (45℃)。对于大多数啤酒类型而言，使用较高的调制麦芽浆温度比较理想，因为这能降低氧化反应并避免不良的变味和口味不稳定性。在第三个实验中，检测了加入 EcopulpTX200A 的功效，Ecopulp TX200A 是一种经工程构造热稳定性提高的来自木霉 (Trichoderma longibrachiatum)(以前称为 Trichoderma reesei) 的 GHF 11 木聚糖内切酶。温度方案为 60℃ 30 分钟，72℃ 60 分钟，和 78℃ 120 分钟。

[0092] 以 2,500 木聚糖内切酶单位 / 升和 5,000 木聚糖内切酶单位 / 升的剂量加入 Ecopulp TX200A 使 AXOS 水平相比未加入酶的对照酿造过程分别提高 129％ (约 2.3 倍) 和 140％ (约 2.4 倍)(表 4)。加入 Ecopulp TX200A 使麦芽汁的 AXOS 水平最高达 3.7g/L。Ecopulp TX200A 和 Shearzyme 500L 的组合导致 AXOS 溶解更多同时使 AXOS 的 avDP 从相对应对照麦芽汁的 16 降至 8。由这些实验可知，当在高调制麦芽浆温度下工作时优选使用耐热性酶来使啤酒富含 AXOS。

[0093] 如下评价小麦木聚糖内切酶抑制剂 TAXI I 对 Ecopulp TX200A 木聚糖内切酶活性的抑制作用。在不存在或存在 65μg 纯化的 TAXII 时将 2 木聚糖内切酶单位的 Ecopulp TX200A 在 0.5ml 磷酸钠缓冲液 (25mM，pH 6.0) 中室温预培育 30 分钟。之后在 70℃通过比色法用 Xylazyme(爱尔兰麦格酶制品公司) 作为底物按照制造商的说明测定溶液的木聚糖内切酶活性。Ecopulp TX200A 和 TAXII 混合物的活性为不存在 TAXI 时 Ecopulp TX200A 的 104％。因此可认为 EcopulpTX200A 在其最佳温度 70℃时不被存在的谷物木聚糖内切酶抑制剂如 TAXI 显著抑制，这使得该酶在调制麦芽浆操作中溶解 AXOS 的效率较高。

[0094] 在第四个实验中，检测了在三种不同谷粉中加入 Ecopulp TX200A 的作用，Ecopulp TX200A 是一种来自木霉 (Trichoderma longibrachiatum)(以前称为 Trichoderma reesei) 的耐热性非抑制性糖苷水解酶家族 11- 木聚糖内切酶 ：第一种谷粉由 100％的 200g/l 的比尔森型大麦麦芽构成，第二种由 90％ 180g/l 的比尔森型大麦麦芽和 10％ 20g/l 的小麦麦麸构成，第三种由 90％ 180g/l 的比尔森型大麦麦芽和 10％ 20g/l 的黑麦麦麸构成。温度方案为 62℃ 60 分钟，72℃ 30 分钟，和 78℃ 60 分钟，Ecopulp TX200A 木聚糖内切酶的加入剂量为 4,000 单位 / 升。

[0095] 如表 5 所示，加入 Ecopulp TX200A 木聚糖内切酶使得用 100％比尔森大麦麦芽制造的麦芽汁的 AXOS 含量从 1.6g/l 升至 2.2g/l，用麦芽 / 小麦麦麸混合物制造的麦芽汁的 AXOS 含量从 1.7g/l 升至 4.0g/l，用麦芽 / 黑麦麦麸混合物制造的麦芽汁的 AXOS 含量从 2.0 升至 3.6g/l。

[0096] 按照以下方法以中试规模制造两种啤酒。啤酒 A 的麦芽浆是将 10kg 比尔森麦芽与 50 升酿造用水混合制备的。啤酒 B 的麦芽浆是将 9kg 比尔森麦芽、1kg 黑麦麦麸、10ml Ecopulp TX200A(15000 单位 /ml ；AB 酶制品公司)、5mlShearzyme 500L(2500 单位 /ml ；诺佛酶制品公司) 以及 50 升水混合制备的。酿造用水由通过反渗透纯化的水构成并向其中加入终浓度为 40mg/l 的 Ca^{2+}。调制麦芽浆的温度方案如下 ：63℃ (45 分钟)，72℃ (45 分钟)，78℃ (1 分钟)。麦芽浆的 pH 为 5.6。当温度达到 78℃时在两种酿造麦芽浆中各加入 7.5ml α- 淀粉酶制品 Termamyl(Termamyl 120L，购自诺佛酶制品公司)。在温度为 78℃时用滤桶

澄清 60 分钟。将过滤后的麦芽汁煮沸 60 分钟，并在煮沸结束前 5 分钟时加入 Zn^{2+} 至终浓度为 0.2mg/l。用涡旋澄清煮沸的麦芽汁。一份澄清的麦芽汁用无氧水 1 ： 1(v ： v) 稀释以制造淡味储藏啤酒。另一份澄清的麦芽汁不稀释并用来制造常规比尔森型储藏啤酒。以 10^7 细胞 / 毫升向冷却的澄清麦芽汁中投入窖藏啤酒酵母 (Saflager 3470，购自 Lesaffre)，然后在 12℃发酵 8 天并在 0℃窖藏 7 天。加入异构化的酒花酸提取物 (20％异构化酸 w/v，英格兰波坦尼克公司 (Botanix Ltd.，Paddock Wood，England)) 至终浓度为 25mg/l 异构化酸来调节稀释啤酒的苦味。将啤酒通过硅藻土 / 纤维素层 (1μm) 过滤，最后用具有双重预排空功能的等压填装机 (America monobloc，购自意大利思米克公司 (Cimec，Italy)) 装瓶并密封在 25cl 标准棕色瓶中 (O_2 含量＜ 80ppb)。

[0097] 啤酒 B 的 AXOS 水平为 3.53g/l，而对照啤酒 A 为 0.95g/l(表 6)。因此，用黑麦麦麸代替 10％的麦芽并在调制麦芽浆处理期间加入溶解阿糖基木聚糖的木聚糖内切酶导致 AXOS 含量升高到 3.7 倍 (即提高 272％)。麦芽汁的 AXOS 含量与与相对应啤酒类似，表明测量麦芽汁的 AXOS 含量能高度预言最终啤酒的 AXOS 含量。啤酒 B 的 AXOS 含量甚至略高于麦芽汁 B，主要在麦芽汁煮沸期间发生的蒸发导致啤酒浓缩可解释这一点。淡味啤酒 B 的 AXOS 水平为 1.93g/l，对比对照淡味啤酒 A 为 0.88g/l，因此导致 AXOS 含量是对照淡味啤酒的约 2.2 倍 (即增加 119％)。啤酒 B 和淡味啤酒 B 的乙醇含量没有分别低于对照啤酒 A 和对照淡味啤酒 A 可以证明麦芽汁的 AXOS 含量提高显然没有抑制发酵过程 (表 6)。

[0098] 本领域技术人员还将理解，除 Ecopulp TX200A 之外的其他改进的耐热性和非抑制性酶也可用于上述实验。可用于改进酶的方法包括，例如，提高木聚糖内切酶热稳定性的定向改进法，该方法通过基因位点饱和诱变和基因重新装配技术制造酶变体文库，然后在高温下筛选木聚糖分解活性。酶的改进也可通过合理位点定向工程构建以引入能产生在高温下具有改进的催化活性的酶的经过选择的密码子取代来实现。或者，可从相关的嗜热性或超嗜热性 (hyperthermophilic) 微生物中分离目前使用的细菌或真菌木聚糖内切酶基因的直向同源基因并通过在异源宿主生物中表达来制造耐热性酶。

[0099] 除木聚糖内切酶之外的其他酶可与木聚糖内切酶一起使用以进一步增加啤酒制造的调制麦芽浆步骤或其他步骤期间 AXOS 的释放，如阿拉伯呋喃糖水解酶 (arabinofuranohydrolase)、阿魏酸酯酶、甲基葡糖醛酸糖苷酶、β－葡聚糖酶或纤维素酶。这些酶能除去阿糖基木聚糖的侧链或降解阿糖基木聚糖中的其他基质，从而帮助阿糖基木聚糖接近木聚糖内切酶。

[0100] 本领域技术人员还将理解，木聚糖内切酶可与诸如淀粉葡萄糖苷酶和 / 或支链淀粉酶等酶组合使用，加入这些酶的目的是降低最终啤酒中可发酵糖类的含量。淀粉葡萄糖苷酶、支链淀粉酶或其他所谓的衰减酶 (attenuation enzyme) 通常用于制造残留的可发酵麦芽糊精水平降低的淡味啤酒和 / 或低糖啤酒。因此，在啤酒制造的调制麦芽浆或其他步骤期间加入木聚糖内切酶和衰减酶的组合可用来制造 AXOS 含量提高的淡味啤酒。

[0101] 实施例 3- 在发酵后加入富含 AXOS 的制品来提高啤酒中的 AXOS

[0102] 从麦麸制备 AXOS(AXOS-18-0.31). 将市售小麦麦麸 (Dossche，购自比利时 MB 公司 (Mills & Bakery，Deinze，Belgium)) 用作制备 AXOS-18-0.31 的原料。将小麦麦麸与水 (1 ： 7w/v) 的悬浮液先用耐热性 α－淀粉酶 (Termamyl 120LS，购自丹麦诺佛酶制品公司；1μl/g 小麦麦麸) 在 90℃处理 90 分钟以将淀粉水解。冷却至 50℃后，用浓 HCl 将悬浮液

的 pH 调至 6.0 并将悬浮液与蛋白酶 (Neutrase0.8L,丹麦诺佛酶制品公司 ;40μl/g 小麦麦麸) 一起在 50℃培育 4 小时以水解残余的蛋白质。之后,将悬浮液煮沸 20 分钟,过滤并弃去滤液。残余物用水洗涤并重悬于去离子水 (1 ： 14w/v)。悬浮液在连续搅拌条件下与每克脱浆并去蛋白的小麦麦麸 1.4 单位的木聚糖内切酶 Grindamyl H640(戴尼斯科公司,哥本哈根,丹麦) 一起在 50℃培育 10 小时,以每克脱浆并去蛋白的小麦麦麸 1.1 单位加入第二剂量的 Grindamyl H640 后再在 50℃培育 10 小时。通过煮沸 (30 分钟) 将酶灭活后浓缩溶液直到降膜蒸发器上留下 20％干物质并在旋转干燥器内干燥。将旋转干燥的材料溶于水 (1 ： 25w/v) 并用活性碳处理以除去制造过程中可能产生的怪味。将 AXOS 和活性碳 (0.75g/g AXOS) 的悬浮液在 18℃搅拌 1 小时。倾析之后离心 (10,000g,30 分钟,18℃) 除去活性碳并将上清液冻干。制品的 AXOS 含量 (表示为干物质中的阿糖基木聚糖％) 为 78.8％,AXOS 中阿拉伯糖与木糖之比为 0.31,avDP 为 18。

[0103] 制备含 AXOS 的啤酒 . 用市售淡味啤酒 (Bud light,由美国圣路易斯的 AB 公司 (Anheuser-Bush,St Louis,USA) 发酵) 作为制备含 AXOS 啤酒的基础。通过搅拌将 25.4g/l AXOS-18-0.31(78.8％纯) 溶于啤酒,然后将该溶液 1 ： 10(v/v) 稀释于啤酒,从而制得含 2g/l 纯 AXOS-18-0.31 的啤酒。通过搅拌将 127g/lAXOS-18-0.31(78.8％纯) 溶于啤酒,然后将该溶液 1 ： 10(v/v) 稀释于啤酒,从而制得含 10g/l 纯 AXOS-18-0.31 的啤酒。相应的对照啤酒是将搅拌的啤酒 1 ： 10 稀释于啤酒制备的。

[0104] 感官分析 . 感官分析是在一个安静的会议室内由最多 10 名志愿者立即进行的。首先使受试者熟悉生产过程,然后让他们品尝编号的具有不同 AXOS 浓度的啤酒样品。在品尝期间蒙上受试者的眼睛,由助手单独帮助他们递送样品和记录反应。样品的出现顺序是随机的。让受试者按照口感提升的顺序对样品进行排序。采用 Analyse-it 软件 (版本 1.71) 通过弗里德曼秩和检验进行统汁分析。

[0105] 在市售淡味啤酒 (Bud light,由美国 AB 公司酿造) 中添加 2g/l 或 10g/l 富含 AXOS 的制品 (称为 AXOS-18-0.31,采用包含木聚糖内切酶的方法从小麦麦麸分离)。进行感官分析以确定加入 AXOS 对淡味啤酒口感的影响。如图 1 所示,加入 2g/l 和 10g/l AXOS-18-0.31 都改善了淡味啤酒的口感,而在 10g/l 时与对照啤酒的区别是显著的。

[0106] 由该实验可知,AXOS 是从富含阿糖基木聚糖的来源外部制造的,可加入啤酒,并且在啤酒中加入 AXOS 可改善啤酒的口感。添加 AXOS 的啤酒均未显示出粘度有显著升高。

[0107] 本领域技术人员将理解,富含 AXOS 的制品可在啤酒制造过程的不同步骤中加入,所述步骤包括但不限于调制麦芽浆、麦芽汁煮沸、麦芽汁冷却、麦芽汁发酵、啤酒调理或啤酒完成。

[0108] 实施例 4- 在发酵前加入富含 AXOS 的制品来提高啤酒中的 AXOS

[0109] 从淀粉 / 谷蛋白分离的支流制备 AXOS(AXOS-5-0.5)。

[0110] 小麦戊聚糖浓缩物 (WPC,购自德国 PL 公司 (Pfeifer & Langen, Dormagen, Germany)) 衍生自将小麦粉加工成淀粉和谷蛋白的支流,其化学组成已由 Courtin 和 Delcour 详细描述 (1998,J.Agric.Food Chem.,46 :4066-4073)。WPC 富含水可提取的阿糖基木聚糖 (约 43％) 和蛋白质材料 (约 30％)。其余部分主要由阿拉伯半乳聚糖肽 (约 14％) 以及更少的聚合葡萄糖 (6％) 构成。WPC 中的阿糖基木聚糖的阿拉伯糖与木糖之比为 0.58,avDP 为 58。将 WPC 溶于去离子水 (1 ： 10w/v) 并加入二氧化硅形成水性悬浮液

(20% w/v) 直到二氧化硅 / 蛋白质之比为 7 ： 1。用 0.1M HCl 将混合物的 pH 调至 4.8 以获得蛋白质在二氧化硅上的最大吸附。搅拌 30 分钟后通过布氏漏斗过滤悬浮液。弃去含二氧化硅 / 蛋白质的残余物，将滤液再在 30℃与 29 单位 / 克 WPC 的 Shearzyme 500L（诺佛酶制品公司，Bagsvaerd，丹麦）一起培育 24 小时。通过煮沸 (30 分钟）将酶灭活之后将所得溶液冷却并进行乙醇沉淀。边连续搅拌边加入乙醇 (95% v/v) 直到终浓度为 80% (v/v)，再搅拌 30 分钟，静置 (24 小时，4℃）并过滤，将所得残余物溶于去离子水并再次进行乙醇沉淀。边连续搅拌边加入乙醇 (95% v/v) 直到终浓度为 65% (v/v)，再搅拌 30 分钟，静置 (24 小时，4℃）并过滤，除去沉淀物。对所得上清液进行旋转蒸发以除去乙醇，将其溶于去离子水并冻干。将所得物质均质并通过 250μm 筛筛分。制品的 AXOS 含量（表示为干物质中的阿糖基木聚糖%）为 78.5%，AXOS 中阿拉伯糖与木糖之比为 0.5，avDP 为 5。

[0111] 制备含 AXOS 的啤酒．如下所述以中试规模制造实验啤酒。将 33.33kg 比尔森麦芽（用双辊粉碎机粗磨）、2.83kg 葡萄糖和 120l 酿造用水（加入 Ca2+ 至终浓度为 40mg/l 来反渗透）混合来调制麦芽浆。调制麦芽浆的温度方案如下：63℃ (35 分钟)，72℃ (20 分钟)，78℃ (1 分钟)。加入乳酸来控制麦芽浆的 pH 为 5.2。在 78℃的滤桶中澄清 90 分钟。将过滤的麦芽汁分成两份：第一份 10l（对照啤酒)，第二份 10l（富含 AXOS 的啤酒)。将两部分麦芽汁分别煮沸 60 分钟。煮沸结束前 5 分钟时在麦芽汁中加入异构化的酒花酸提取物 (20%异 - α - 酸 w/v，购自英格兰波坦尼克公司）至终浓度为 25mg/l 异 - α - 酸，从而使麦芽汁含啤酒花。在煮沸结束前 5 分钟加入 Zn2+ 至终浓度为 0.2mg/l。在煮沸结束前 5 分钟时在第二份 10l 麦芽汁部分中加入 76.4g AXOS-5-0.5 来制造富含 AXOS 的啤酒。加入之前 AXOS-5-0.5 用水 1 ： 10(w/v) 稀释，并搅拌 30 分钟。

[0112] 煮沸的麦芽汁用涡漩澄清。澄清的麦芽汁用无氧水 1 ： 1(v ： v) 稀释。

[0113] 以 10^7 细胞 / 毫升向冷却的澄清麦芽汁中投入窖藏啤酒酵母 (Saflager 3470，购自 Lesaffre)，然后在 12℃发酵 8 天并在 0℃窖藏 7 天。

[0114] 加入异构化的酒花酸提取物 (20%异 - α - 酸 w/v，英格兰波坦尼克公司）至终浓度为 25mg/l 异 - α - 酸来调节稀释啤酒的苦味。将啤酒通过硅藻土 / 纤维素层 (1μm) 过滤。用具有双重预排空功能的等压填装机 (America monobloc，购自意大利思米克公司）装瓶和密封在 25cl 标准棕色瓶中 (O_2 含量＜ 80ppb)。

[0115] 感官分析．感官分析是在一个安静的会议室中由经过训练的评判小组进行的。样品的出现顺序是随机的。用 0（未觉察）到 8（非常强烈）给甜味、酸味、苦味、涩味和口感（丰满度）这些感官特性评分。感官特性苦味品质用 0（非常不愉快）到 8（非常愉快）评分。评分采用 Analyse-it 软件（版本 1.71) 通过成对 t 检验进行统计分析。让受试者指出对两种啤酒中一种的偏爱。偏爱数据采用 Analyse-it 软件（版本 1.73) 通过麦氏变化检验 (McNemar's change test) 进行统计分析。

[0116] 从相同的麦芽汁开始以中试规模制造两种实验性低乙醇淡味啤酒，一种加入 AXOS，而另一种不加 AXOS。AXOS 制品的平均 DP 为 5，A/X 之比为 0.5，称为 AXOS-5-0.5，分离自工业小麦加工的支流（见材料和方法)，在麦芽汁煮沸结束时将其加入两种酿造物中的一种。两种啤酒的特性示于表 7。这两种啤酒有非常类似的乙醇含量（约 2.7% v/v)，类似的实际提取物（约 2.3g/100ml) 和原始提取物（约 6.7g/100ml)，但富含 AXOS 啤酒的麦芽糊精含量略低，而其 AXOS 含量为对照啤酒的约 2.5 倍（高 151%）（富含 AXOS 的啤酒和

对照啤酒的 AXOS 含量分别为 2.78g/l 和 1.09g/l)。

[0117] 进行感官分析以确定加入 AXOS 制品对啤酒口味和口感的影响 (图 2)。在啤酒中加入 AXOS-5-0.5 导致酸味和苦味显著 ($p < 0.05$) 降低,而苦味的品质以及口感显著提升。在 13 名测试人员中,有 12 人相比对照啤酒比较偏爱富含 AXOS 的啤酒 (根据麦氏检验,精确 p 值 = 0.0034)。这些数据再次清楚表明,AXOS 对啤酒口味和口感有积极影响。

[0118] 实施例 5- 提高含约 7% 乙醇和 5.8g/100ml 实际提取物的啤酒中的 AXOS

[0119] 如下制备另一种富含 axos 的烈性啤酒 :谷粉 : 细磨的比尔森麦芽 (28kg),来自小麦麦麸的富含 AXOS 的制品称为 AXOS-18-0.31(见实施例 3 的材料和方法)(6g/l) ;酿造用水 :加入 Ca^{2+}(40mg/l) 反渗透 (1001) ;酿造方案 :63℃ (30 分钟),72℃ (45 分钟),78℃ (120 分钟,包括用滤桶进行麦芽汁过滤) ;麦芽浆的 pH 控制在 pH 5.6 ;麦芽汁煮沸 :75 分钟 ;麦芽汁澄清 :涡旋 ;在澄清的麦芽汁中加入 Zn^{2+}(0.2mg/l) ;加入啤酒花 (hopping) :在麦芽汁煮沸结束时加入异构化的酒花酸提取物 (20% 异 - α - 酸 w/v,英格兰波坦尼克公司) ;酵母投入率 :$5x10^6$ 上层发酵酵母细胞 / 毫升 ;发酵 :22-25℃ 9 天 ;成熟 : 木桶中 (2℃ 10 天) ;啤酒过滤 : 硅藻土 / 纤维素层 (1μm)。富含 axos 的烈性麦芽酒的乙醇含量约 7%,实际提取物含量约 5.8g/100ml,AXOS 含量约 5g/l。

[0120] 参考资料

[0121] Analytica EBC(1998)Fachverlag Hans Carl,Nürnberg,德国,第 5 版 .

[0122] AOAC(1995)Official Methods of Analysis(正式分析方法),第 16 版 . 方法 990.03.Association ofOfficial Analytical Chemists(分析化学家协会),华盛顿特区,美国

[0123] Adams,M.W.(1993)Enzymes and proteins from organisms that grow near and above 100℃ (在 100℃ 附近或以上生长的生物体的酶和蛋白质).Annu.Rev.Microbiol.47 :627-658.

[0124] Adams,M.W. 和 Kelly,R.M.(1998)Finding and using hyperthermophilic enzymes(寻找和使用超嗜热性酶).Trends Biotechnol.16 :329-332

[0125] Biely,P.,Vrsanska,M.,Tenkanen,M.,Kluepfel,D.(1997)J Biotechnol,57 :151-166

[0126] Bouhnik Y,Vahedi K,Achour L,Attar A,Salfati J,Pochart P,Marteau P,FlouriéB,Bornet F,RambaudJ-C,(1999)Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecalBifidobacteria in healthy humans(在健康人中给予短链果寡糖以剂量依赖性方式提高粪便双歧杆菌)J.Nutr.129 :113-116

[0127] Buddington KK,Donahoo JB,Buddington RK(2002)Dietary oligofructose and inulin protect mice fromenteric and systemic pathogens and tumor inducers(膳食寡果糖和菊糖保护小鼠免于肠道和系统性病原体和肿瘤诱导物的侵害)J.Nutr.132 :472-477.

[0128] Cach N.C.,Annemüller G.(1995)Ein beitrag über die Pentosane im Prozess der Bierherstellung-sind siewichtig oder technologisch unbedeutend ? Monatsschrift für Brauwissenschaft 48 :232-241.

[0129] Campbell J.M.，Fahey，G.C.，Wolf，B.W.Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass，cecal and fecal short-chain fatty acids，pH and micorflora in rats(影响大鼠大肠物质、盲肠和粪便短链脂肪酸、pH 和微生物菌丛的精选的不可消化的寡糖)(1997)，J.Nutr.127 :130-136.

[0130] Courtin，C.M.，Van den Broeck，H. 和 Delcour，J.A.(2000).Determination of reducing end sugarresidues in oligo-and polysaccharides by gas liquid chromatography(通过气液色谱确定寡糖和多糖中糖残基的还原端).Journal of Chromatography A，866，97-104.

[0131] Courtin，C.M. 和 Delcour，J.A.(1998).Physicochemical and bread-making properties of low molecularweight wheat-derived arabinoxylans(低分子量小麦衍生阿糖基木聚糖的理化特性和面包制造特性).J.Agric.Food Chem.，46 :4066-4073.

[0132] Debyser W.，Derdelinckx G.，Delcour J.A.(1997)Arabinoxylan solubilisation and inhibition of the barleymalt xylanolytic system by wheat during brewing with wheat wholemeal adjunct :evidence for a new classof enzyme inhibitors(用小麦全麦添加物酿造期间阿糖基木聚糖溶解和小麦抑制大麦麦芽木聚糖分解系统：一类新的酶抑制剂的证据).Journal of American Society of Brewing Chemists，55 :153-156.

[0133] Debyser，W.，Peumans，W.J.，Van Damme，E.J.M.，Delcour，J.A.，(1999)Triticum aestivum xylanaseinhibitor(Taxi)，a new class of enzyme inhibitor affecting breadmaking performance(小麦木聚糖酶抑制剂(Taxi)，一类新的影响面包制造性能的酶抑制剂).Journal of Cereal Science，30 :39-43.

[0134] Egi A，Speers RA，Schwarz PB(2004)Arabinoxylans and their behaviour during malting and brewing(阿糖基木聚糖及其在麦芽制造和酿造期间的行为).Master Brewers Association of the Americas TechnicalQuarterly 41 :248-267.

[0135] Farinas，E.T.，Bulter，T. 和Arnold，F.H.(2001)Directed enzyme evolution(定向酶演化).Curr.Opin.Biotechnol 12 :545-551

[0136] Femia AP，Luceri C，Dolara P，Giannini A，Biggeri A，Salvadori M，Clune Y，Collins KJ，Paglierani M，Caderni G(2002)Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose incombination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis onazoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats(富含寡果糖的益生元菊糖与益生元乳杆菌和乳酸双歧杆菌的组合对大鼠中氧化偶氮甲烷诱导的结肠癌发生的抗肿瘤发生活性).Carcinogenesis.23 :1953-1960.

[0137] Flatman R等(2002)Interactions defining the specificity between fungal xylanases and thexylanase-inhibiting protein XIP-I from wheat(定义真菌木聚糖酶和小麦木聚糖酶抑制蛋白 XIP-I 的特异性的相互作用)Biochem.J.365 :773-781.

[0138] Gebruers K，Debyser W，Goesaert H，Proost P，Van Damme J，Delcour JA(2001) Triticum aestivum L.endoxylanase inhibitor(TAXI)consists of two inhibitors，TAXI I and TAXI II，with differentspecificities(小麦木聚糖内切酶抑制剂(TAXI)由

具有不同特异性的两种抑制剂 TAXI I 和 TAXI II 构成）. Biochem. J. 353 :239-244.

[0139] Gibson, G. R. 和 Roberfroid M. B. (1995)Dietary modulation of the human colonic microbiota :introducingthe concept of prebiotics（膳食调节人结肠微生物丛 :引入益生元概念）. J. Nutr. 125 :1401-1412.

[0140] Goesaert, H., Debyser, W., Gebruers, K., Proost, P., Van Damme, J., Delcour, J. A. (2001)Purification andpartial characterization of an endoxylanase inhibitor from barley（来自大麦的木聚糖内切酶抑制剂的纯化和部分表征）. Cereal Chemistry. 78 :453-457.

[0141] Goldammer T(2000)The brewer's handbook（啤酒酿造者手册）. The complete book to brewing beer（酿造啤酒完全手册）. Apex 出版社 . ISBN :0-967512-0-3.

[0142] Hsu C-K, Liao, J-W, Chung, Y-C, Hsieh, C-P, Chan, Y-C(2004) Xylooligosaccharides andfructooligosaccharides affect the intestinal microbiota and precancerous colonic lesions development inrats（木寡糖和果寡糖影响大鼠肠道微生物丛和癌前期结肠损伤发展）. J. Nutr. 134 :1523-1528.

[0143] Ladenstein, R. 和 Antranikian, G. (1998)Proteins from hyperthermophiles : Stability and enzymatic catalysisclose to the boiling point of water（超嗜热菌蛋白质 :在接近水沸点时的稳定性和酶催化）. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 61 :37-85

[0144] Langstaff S. A., Lewis M. J. (1993)Mouthfeel of beer :a review（啤酒口感回顾）. Journal of the Institute ofBrewing, 99 :31-37.

[0145] McLauchlan 等 (2000) 选自 Simoinen, T. 和 Tenkanen, M. 编的《第二届欧洲谷物加工用酶讨论会会刊》(Proceedings of the 2nd European Symposium on Enzymes in Grain Processing), 芬兰技术研究中心 (Technical Research Center of Finland), 赫尔辛基, 芬兰, 第 55-61 页 .

[0146] Moers K, Celus I, Brijs K, Courtin CM, Delcour JA(2005)Endoxylanase substrate selectivity determinesdegradation of wheat water-extractable and water-unextractable arabinoxylan（木聚糖内切酶底物选择性决定小麦水可提取的和水不可提取的阿糖基木聚糖的降解）. Carbohydr Res. 340 :1319-1327.

[0147] Okazaki M., Fujikawa, S., Matsumoto, N. (1990)Effect of xylooligosaccharides on the growth ofbifidobacteria（木寡糖对双歧杆菌生长的影响）. Bifidobacteria Microflora 9 :77-86

[0148] Palackal N, Brennan Y, Callen WN, Dupree P, Frey G, Goubet F, Hazlewood GP, Healey S, Kang YE, Kretz KA, Edd Lee E, Tan X, Tomlinson GL, Verruto J, Wong VWK, Mathur EJ, Short JM, Robertson DE 和 Steer BA(2004)An evolutionary route to xylanase process fitness（木聚糖酶加工合适度的演化路径）. Protein Science 13 : 494-503

[0149] Roberfroid, M. B. (1998)Prebiotics and synbiotics :concepts and nutritional properties（益生元和合益素 : 概念和营养特性）. Brit. J. Nutr. 80 : S197-S202.

[0150] Sadosky P, Schwarz PB, Horsley RD(2002)Effect of arabinoxylans,

beta-glucans and dextrins on theviscosity and membrane filterability of a beer model solution(阿糖基木聚糖、β-葡聚糖和糊精对啤酒模型溶液粘度和膜过滤性的影响).J.Am.Soc.Brew.Chem.60:153:162.

[0151] Schwarz PB,Han J-H(1995)Arabinoxylan content of commercial beers(市售啤酒的阿糖基木聚糖含量).J.Am.Soc.Brew.Chem.53:157-159.

[0152] Teitelbaum,J.E.,Walker,W.A.(2002)Nutritional impact of pre-and probiotics as protectivegastrointestinal organisms(益生元和益生菌作为胃肠保护生物的营养价值).Annual Review of Nutrition22:107-38.

[0153] Tomomatsu H(1994)Health effects of oligosaccharides(寡糖的健康价值).Food Tech.48:61-65.

[0154] Topping DL和Clifton PM(2001)Short-chain fatty acids and human colonic function:roles of resistantstarch and nonstarch polysaccharides(短链脂肪酸和人结肠功能:耐淀粉和非淀粉多糖的作用).PhysiolRev 81:1031-1064.

[0155] Toyoda,Y.,Hatakana,Y.,Suwa,Y.,(1993)Effect of xylooligosaccharides on calcium absorption(木寡糖对钙吸收的影响).选自《第47届日本社会营养食物科学年会会刊》(Proc.of 47th Annual Meeting ofJpn Soc Nutr Food Sci),东京,第109页.

[0156] Van den Bulck,K.,Swennen,K.,Loosveld,A.M.A.,Courtin,C.M.,Brijs,K.,Proost,P.,Van Damme,J.,Van Campenhout,S.,Mort,A.和Delcour,J.A.(2005)Isolation of cereal arabinogalactan-peptides andstructural comparison of their carbohydrate and peptide moieties(谷物阿拉伯半乳聚糖-肽的分离以及它们碳水化合物和肽部分的结构比较).J.Cereal.Sci.41:59-67.

[0157] Van Loo,J.A.E.(2004)Prebiotics promote good health.The basis,the potential,and the emergingevidence(益生元促进健康,基础、潜力和新兴证据).J Clin Gastroenterol 38:S70-S75.

[0158] Xiao z,Trincado CA,Murtaugh MP.(2004)Beta-glucan enhancement of T cell IFN gamma response inswine(β-葡聚糖促进猪T细胞IFNγ应答).Vet Immunol Immunopathol 102:315-320.

[0159] Yamada H.,Itoh,K.,Morishita,Y.,Taniguchi,H.(1993)Structure and properties of oligosaccharides fromwheat bran(来自小麦麦麸的寡糖的结构和特性).Cereal Foods World 38:490-492.

[0160] Zafar TA,Weaver CM,Zhao Y,Martin BR,Wastney ME(2004)Nondigestible oligosaccharides increasecalcium absorption and suppress bone resorption in ovariectomized rats(不可消化的寡糖在卵巢切除大鼠中提高钙吸收和抑制骨再吸收).J.Nutr.134:399-402.

[0161]

表1：不同市售啤酒的分析。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正；avDP AXOS：AXOS的平均聚合度；avDP木聚糖：AXOS木聚糖主链的平均聚合度。

啤酒品牌	酿酒厂	国家	啤酒类型	发酵类型	乙醇 (%-V/V)	实际提取物 (g/100 ml)	原始比重 (g/100 ml)	麦芽糊精 (g/l)	C-AXOS (g/l)	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS	avDP AXOS	avDP木聚糖
Jupiler N.A.®	Interbrew Belgium	比利时	无酒精啤酒	下层发酵	0.52	6.25	7.08	35.38	0.59	0.55	0.78	0.64	11	7
Tourtel Malt®	Alken-Maes	比利时	无酒精啤酒	下层发酵	0.31	5.72	6.21	41.03	0.80	0.74	0.74	0.61	17	11
Bud Light®	Anheuser-Busch	美国	美国淡味啤酒	下层发酵	4.11	2.28	8.94	12.57	0.68	0.63	0.68	0.56	9	6
Coors Light®	Coors Brewing Co.	美国	美国淡味啤酒	下层发酵	4.15	1.53	8.26	5.87	0.58	0.54	0.69	0.58	12	8
Miller Lite®	Miller Brewing Co.	美国	美国淡味啤酒	下层发酵	4.04	1.19	7.74	4.89	0.59	0.55	0.66	0.55	12	8
Natural Light®	Anheuser-Busch	美国	美国淡味啤酒	下层发酵	4.08	1.29	7.9	4.74	0.58	0.53	0.68	0.55	12	8
Budweiser®	Anheuser-Busch	美国	比尔森啤酒	下层发酵	4.89	3.5	11.41	20.71	0.85	0.79	0.68	0.57	10	6
Busch Beer®	Anheuser-Busch	美国	比尔森啤酒	下层发酵	4.58	3.25	10.65	20.00	0.82	0.76	0.68	0.56	11	7
Carlsberg Beer®	Carlsberg Breweries	丹麦	比尔森啤酒	下层发酵	5.50	4.12	13	23.04	1.54	1.47	0.71	0.63	11	7
Coors®	Coors Brewing Co.	美国	比尔森啤酒	下层发酵	4.92	3.72	11.67	19.66	0.77	0.72	0.70	0.59	12	8
Jupiler®	Interbrew Belgium	比利时	比尔森啤酒	下层发酵	5.21	3.84	12.26	22.22	1.27	1.20	0.76	0.66	13	8
Maes®	Alken-Maes	比利时	比尔森啤酒	下层发酵	4.88	3.38	11.26	20.60	0.92	0.86	0.74	0.63	16	10
Miller High Life®	Miller Brewing Co.	美国	比尔森啤酒	下层发酵	4.57	3.83	11.21	25.19	0.74	0.70	0.68	0.58	11	7
Stella Artois®	Interbrew Belgium	比利时	比尔森啤酒	下层发酵	5.16	3.9	12.24	22.99	1.15	1.07	0.78	0.66	13	8
Duvel®	Moortgat	比利时	金色烈性麦芽酒	下层发酵	8.59	3.97	17.81	20.82	1.37	1.29	0.72	0.61	9	5
Palm®	Palm	比利时	麦芽酒	上层发酵	5.48	4.61	13.45	29.43	0.92	0.85	0.75	0.60	17	11
Rodenbach®	Rodenbach (Palm)	比利时	佛兰德酸麦芽酒	上层发酵	5.30	4.55	13.11	21.50	1.12	1.05	0.69	0.58	15	10
Brugs WitBier®	Alken-Maes	比利时	比利时白啤酒	上层发酵	4.52	4.76	12.06	29.89	0.93	0.77	0.84	0.52	17	11
Hoegaarden®	Hoegaarden	比利时	比利时白啤酒	上层发酵	4.92	4.55	12.48	28.22	1.33	1.15	0.75	0.52	12	8
Erdinger Weissbier®	Erdinger Weissbräu	德国	德国韦森啤酒	上层发酵	5.5	4.57	13.44	26.01	1.86	1.72	0.71	0.58	20	16
Paulaner Hefe-Weissbier®	Paulaner Brauerei	德国	德国韦森啤酒	上层发酵	5.31	4.48	13.05	25.29	2.00	1.84	0.66	0.53	25	17
Gordon Finest Platinum®	Anthony Martin	比利时	金色烈性麦芽酒	上层发酵	11.99	3.21	22.47	9.84	1.85	1.73	0.72	0.62	12	8
Leffe Blond®	Interbrew Belgium	比利时	金色烈性麦芽酒	上层发酵	6.61	5.8	16.43	33.85	1.51	1.40	0.75	0.63	13	8
Tripel Karmeliet®	Bosteels	比利时	金色烈性麦芽酒	上层发酵	7.52	6.4	18.48	33.96	1.84	1.69	0.71	0.57	8	5
Westmalle Tripel®	Abdij Westmalle	比利时	金色烈性麦芽酒	上层发酵	9.58	5.96	21.33	30.67	1.44	1.33	0.71	0.58	21	14
Kasteelbier Bruin®	Van Honsebrouck	比利时	黑色烈性麦芽酒	上层发酵	11.61	8.77	27.28	36.49	2.14	2.03	0.76	0.67	10	6
Leffe Bruin®	Interbrew Belgium	比利时	黑色烈性麦芽酒	上层发酵	6.56	5.64	16.2	33.66	1.48	1.38	0.76	0.63	14	9
Gueuze Cuvee Rene®	Lindemans	比利时	兰比克-古泽啤酒	自然	6.91	2.77	13.92	5.60	1.71	1.59	0.80	0.66	23	14

[0162]

表2：在存在不同浓度来自枯草芽孢杆菌的非抑制性木聚糖内切酶制品Grindamyl Powerbake时制得的大麦麦芽麦芽汁的分析。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正；avDP AXOS：AXOS的平均聚合度；avDP木聚糖：AXOS木聚糖主链的平均聚合度。

酶	酶剂量（单位/l）	45℃培育时间	C-AXOS (g/l)	C-AXOS的升高%	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS	avDP AXOS	avDP木聚糖
无	0	30 min	1.87	0%	1.75	0.72	0.61	14	9
无	0	90 min	2.01	7%	1.87	0.72	0.60	15	10
Grindamyl Powerbake	20	90 min	2.16	16%	2.03	0.70	0.60	17	10
Grindamyl Powerbake	100	90 min	2.37	27%	2.24	0.68	0.59	15	10
Grindamyl Powerbake	100	150 min	2.74	47%	2.58	0.68	0.58	13	8

[0163]

表3：在存在不同木聚糖内切酶制品时制得的大麦麦芽麦芽汁的分析。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正；avDP AXOS：AXOS的平均聚合度；avDP木聚糖：AXOS木聚糖主链的平均聚合度。

酶	酶剂量(单位/l)	C-AXOS (g/l)	C-AXOS的升高%	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS	avDP AXOS	avDP木聚糖
无	0	2.00	0%	1.89	0.85	0.75	13	7
Grindamyl H640	250	2.09	4%	2.00	0.80	0.71	13	7
Grindamyl H640	500	2.13	6%	2.04	0.80	0.73	13	7
Grindamyl H190	500	2.07	3%	1.95	0.82	0.74	13	7
Grindamyl Powerbake	250	2.66	33%	2.57	0.75	0.69	12	7
Shearzyme 500L	250	2.37	19%	2.29	0.86	0.80	6	3
Grindamyl Powerbake + Shearzyme 500L	250 + 62	2.83	42%	2.75	0.76	0.71	6	4

[0164]

表4：在存在不同剂量的来自木霉(*Trichoderma longibrachiatum*)的耐热性木聚糖内切酶制品Ecopulp TX 200A时制得的大麦麦芽麦芽汁的分析。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正；avDP AXOS：AXOS的平均聚合度；avDP木聚糖：AXOS木聚糖主链的平均聚合度。

酶	酶剂量 (单位/升)	C-AXOS (g/l)	C-AXOS的升高%	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS	avDP AXOS	avDP木聚糖
无	0	1.54	0%	1.48	0.83	0.76	16	9
Ecopulp TX200A	400	2.55	66%	2.48	0.67	0.63	13	8
Ecopulp TX200A	600	2.78	81%	2.71	0.64	0.60	11	7
Ecopulp TX200A	2500	3.52	129%	3.45	0.58	0.55	9	6
Ecopulp TX200A	5000	3.69	140%	3.61	0.58	0.55	10	6
Ecopulp TX200A + Shearzyme 500L	2500 + 62	3.63	136%	3.56	0.60	0.57	8	5

[0165]

表5：在存在或不存在来自木霉(*Trichoderma longibrachiatum*)的耐热性木聚糖内切酶制品Ecopulp TX 200A时添加或未添加小麦麦麸或黑麦麦麸的大麦麦芽麦芽汁的分析。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正；avDP AXOS：AXOS的平均聚合度；avDP木聚糖：AXOS木聚糖主链的平均聚合度。

酶	酶剂量(单位/升)	麦芽浆组成	C-AXOS (g/l)	C-AXOS的升高%	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS	avDP AXOS	avDP木聚糖
无	0	麦芽	1.61	0%	1.50	0.81	0.69	11	6
Ecopulp TX200A	4000	麦芽	2.16	34%	2.06	0.58	0.51	7	5
无	0	麦芽 + 小麦麦麸	1.68	0%	1.50	0.82	0.63	19	10
Ecopulp TX200A	4000	麦芽 + 小麦麦麸	4.02	139%	3.63	0.55	0.40	6	4
无	0	麦芽 + 黑麦麦麸	2.02	0%	1.71	0.62	0.54	23	14
Ecopulp TX200A	4000	麦芽 + 黑麦麦麸	3.59	78%	3.34	0.59	0.50	6	4

[0166]

表6：麦芽汁A和B以及相应啤酒A和B的分析。麦芽汁A基于100%大麦麦芽制造，未添加木聚糖内切酶，而麦芽汁B基于90%大麦麦芽和10%黑麦麦麸制造，存在来自木霉(*Trichoderma longibrachiatum*)的耐热性木聚糖内切酶制品Ecopulp TX 200A。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正；avDP AXOS：AXOS的平均聚合度；avDP木聚糖：AXOS木聚糖主链的平均聚合度。

	乙醇 (% v/v)	实际提取物 (g/100 ml)	原始提取物 (g/100 ml)	麦芽糊精 (g/l)	C-AXOS (g/l)	C-AXOS的升高%	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS	avDP AXOS	avDP木聚糖
麦芽汁A	N.D.	N.D.	N.D.	94	1.06	0%	0.98	0.76	0.63	N.D.	N.D.
麦芽汁B	N.D.	N.D.	N.D.	95	3.40	221%	3.29	0.50	0.45	N.D.	N.D.
啤酒A	4.3	3.9	10.8	26	0.95	0%	0.88	0.76	0.64	15	8
啤酒B	5.1	4.2	12.5	24	3.53	272%	3.34	0.47	0.43	6	4
淡味啤酒A	2.3	2.1	5.9	12	0.88	0%	0.84	0.53	0.47	11	7
淡味啤酒B	2.6	2.1	6.3	13	1.93	119%	1.87	0.47	0.43	6	4

[0167]

表7：对照啤酒和添加AXOS-5-0.5的实验啤酒的分析。C-AXOS：AXOS含量，表示为g/l；$AXOS_{cor}$：用阿拉伯半乳聚糖修正的AXOS含量，表示为g/l；A/X AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比；A/X_{cor} AXOS：AXOS中阿拉伯糖与木糖之比，用阿拉伯半乳聚糖修正。

	乙醇 (% v/v)	实际提取物 (g/100 ml)	原始提取物 (g/100 ml)	麦芽糊精 (g/l)	C-AXOS (g/l)	C-AXOS的升高%	$C\text{-}AXOS_{cor}$ (g/l)	A/X AXOS	A/X_{cor} AXOS
对照啤酒	2.77	2.23	6.72	17.05	1.12	0%	1.09	0.65	0.57
实验啤酒	2.69	2.39	6.75	15.40	2.81	151%	2.78	0.52	0.50

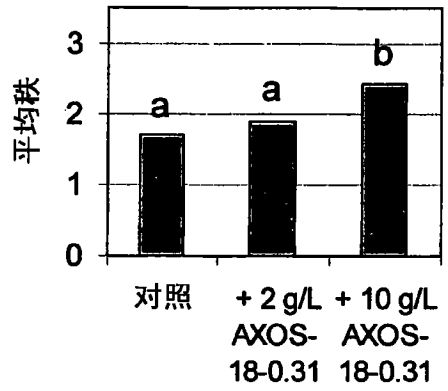

平均秩
3
2
1
0
a
a
b
对照
+ 2 g/L AXOS-18-0.31
+ 10 g/L AXOS-18-0.31

图 1

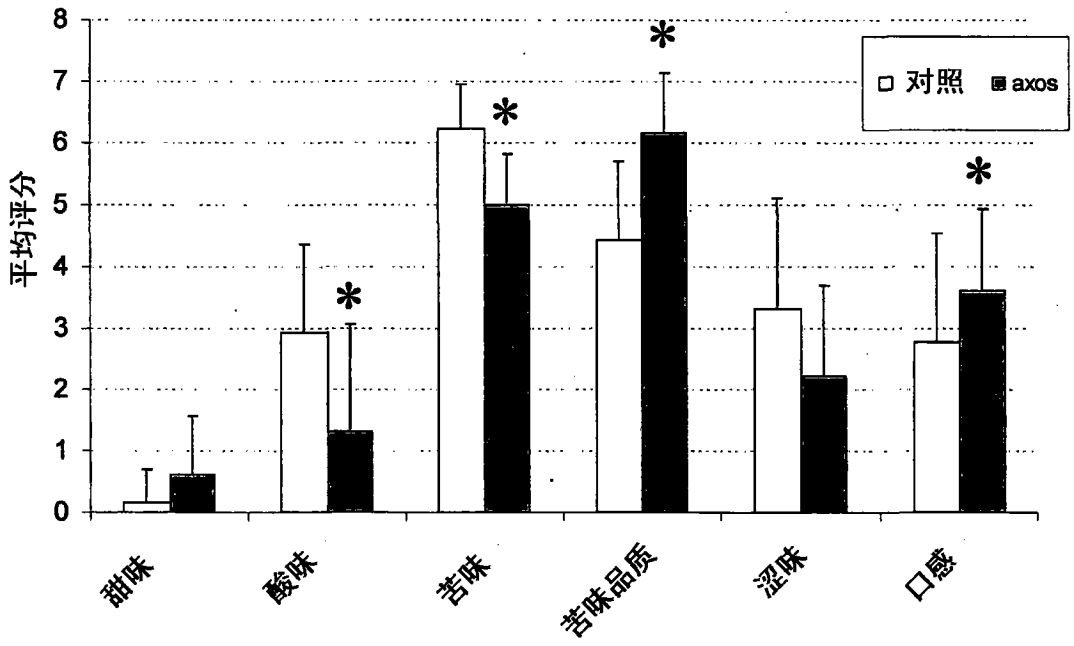

平均评分
8
7
6
5
4
3
2
1
0
对照
axos
甜味
酸味
苦味
苦味品质
涩味
口感

图 2