脂肪酶酯化白酒黄水的工艺条件优化

颜晨麟，李站胜，张家惠，黎冰倩，林影

（华南理工大学生物科学与工程学院，广东省发酵与酶工程重点实验室，广东广州 510006）

摘要：本研究以浓香型白酒副产物黄水为研究对象，研究食用酒精（95%，*V/V*）添加量、反应温度及南极假丝酵母展示脂肪酶B(*Candida antarctica Lipase* B，CALB)添加量等工艺条件对黄水酯化效果的影响，并对产物的精制工艺进行探讨。单因素实验及响应面优化结果表明，在食用酒精用量为 52.5%（*V/V*）、CALB 酶添加量 5.32%（*W/V*）、31.5 ℃下反应 48 h，增酯增香的效果最佳，乙酸乙酯、乳酸乙酯、己酸乙酯及总酯含量依次为 1.81 g/L、6.09 g/L、14.49 g/L、22.39 g/L，白酒风味酯浓度提升了 31.9 倍；且酵母展示 CALB 酶重复使用 10 次转化率保持不变。黄水酯化反应产物蒸馏、萃取可得白酒呈香物质混合液，总酯回收率为 76.56%。本研究可利用黄水生产天然等同香料及白酒调酒液等功能性酯化液，经优化后的工艺条件温和、反应周期短且酯含量提升明显，易于放大和工业化生产，对黄水资源再生利用具有重大意义。

关键词：黄水；南极假丝酵母脂肪酶 B；响应面实验

文章篇号：1673-9078(2020)01-220-226 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.031

Optimization for Esterification Liquid Preparation of Liquor Yellow Water Esterified with Lipase

YAN Chen-lin, LI Zhan-sheng, ZHANG Jia-hui, LI Bing-qian, LIN Ying

(Guangdong Key Laboratory of Fermentation and Enzyme Engineering, School of Biology and Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: In this study, yellow water, a by-product of Luzhou-flavor liquor, was used as the research material to investigate the influence of processing conditions including the amount of edible alcohol (95%, *V/V*) for addition, reaction temperature and the amount of *Candida antarctica Lipase* B (CALB) on the esterification of yellow water. The product refining process was also discussed. The results of single factor experiment and response surface optimization showed that the increases in ester content and aroma were the greatest under the optimum conditions (amount of edible alcohol, 52.5% (*V/V*); amount of CALB enzyme, 5.32% (*W/V*); 31.5 ℃ for 48 h), with the contents of ethyl acetate, ethyl lactate, ethyl hexanoate and total ester being 1.81 g/L, 6.09 g/L, 14.49 g/L and 22.39 g/L, respectively, and the concentration of liquor flavor increased by 31.9 times. The conversion rate of the CALB enzyme remained unchanged after it was used repeatedly (10 times). A mixture of liquor aroma-active substances were obtained after distillation and extraction of the esterification reaction product of yellow water, with the total ester recovery rate being 76.56%. This study has shown that yellow water can be used to produce functional esterification liquids such as natural equivalent flavors and liquor-blending liquid. The optimized process required mild conditions and a short reaction cycle and is industrial scalable, leading to a significantly increased ester content. This study is of great significance for the recycling of liquor yellow water resources.

Key words: yellow water; Candida antarctica Lipase B; response surface experiment

黄水是白酒酿造过程的副产物，呈棕褐色、粘稠、流体状液体。黄水的成分很复杂，主要成分有醇、酯、酸、醛等四类，还含有糖类、含氮化合物以及各种微生物等[1,2]。在黄水的众多组成部分中，乳酸乙酯、己酸乙酯和乙酸乙酯是白酒的风味特征物质，能够提高白酒的质量和口感[3]。在白酒生产过程中，一般情况下，每生产 1000 kg 大曲酒，大约产生黄水 300~400 kg。年产万吨规模的大曲酒厂要产生黄水 3000~4000 t，日产量 10 t 左右，具有极大的处理压力[4]。

黄水虽然产量很大，但是利用率很低。绝大多数的企业将其同废水一样直接排出，部分企业将黄水废物再利用，在配制窖泥，养护[5,6]等方面让黄水发挥作用，还有一些企业将黄水进行酯化反应，提高黄水中

收稿日期：2018-11-14

基金项目：中国轻工业浓香型白酒固态发酵重点实验室开放基金项目（2017JJ015）；九江酒厂校外教学实习基地（华南理工大学教务[2016]97号）

作者简介：颜晨麟（1994-），男，硕士研究生，研究方向：酶催化

通讯作者：林影（1962-），女，博士，教授，研究方向：微生物组学、发酵工程、酶工程及其在食品、医药、化工及环境等领域的应用

的酯含量[7]。黄水中含有丰富的有机物，若对其加以利用，不仅可以降低白酒厂家的生产成本，还能减少对环境的污染，达到科学生产与环境保护协调发展。

利用黄水制备酯化液从而提高低档白酒的质量，提高出酒率是一种较为常见的黄水再利用方法[8,9]。目前使用较多的酯化剂为生物制剂[10]，其中酵母菌和红曲霉菌使用最多[11]。同时，存在反应周期较长，所得黄水酯化液总酯含量较低[12-14]等问题。目前，脂肪酶已被证实可合成一系列芳香酯[15]。利用这一性质，将黄水中的酸类、醇类香味物质转化为酯类，得到黄水酯化液，然后通过蒸馏萃取等方式获得呈香物质混合液。从而不仅解决黄水酸性强、还原物质多等问题，也将有效利用黄水，提升品质[16,17]。据报道，目前脂肪酶多用于白酒增香，其中多是红曲霉酯酶[18,19]，但反应时间最长达 20 d 左右[20]，且红曲霉酯酶生成的酯类物质较为单一[21]，其在黄水酯化应用上存在一定的局限性。华根霉脂肪酶合成乙酯类香味物质特别是己酸乙酯的能力较强，因此也有报道将其用于酿酒发酵过程。经添加黄水、酒头和酒糟等物质复配酯化，经 60 d 左右研究者们也获得了微量物质丰富、口感效果良好的酯化液[22,23]。此外，南极假丝酵母脂肪酶 B（*Candida antarctica Lipase* B）用途广泛，对非水溶性和水溶性物质都用很强的催化活性[24]。毕赤酵母表面展示的 CALB（CALB-displaying *P. pastoris*，Pp-CALB）酶既具有固定化酶的优点，又有制备简单、成本较低的特点，同时保有很强的催化特性，在酶催化方面具有极大的优势[25]。华南理工大学林影团队将毕赤酵母全细胞表面展示CALB全细胞催化剂用于非水相中催化合成短链芳香酯，结果表明该全细胞催化剂可催化C10以下的酸和醇直接酯化合成多种短链芳香酯，酸的转化率达到90%以上，且己酸和乙醇为酶的最适底物。该团队也证实其在合成己二酸二异辛酯、香叶基丁酸、肉桂醇酯、萜烯醇芳香酯等系列的酯类物质具有极强的催化能力[26-28]。这些报道表明，毕赤酵母表面展示CALB酶在催化多种短链脂肪酸和醇进行酯化反应方面具有显著效果，其在黄水制备酯化液具有极大的利用潜力。

本论文以浓香型白酒副产物黄水为研究对象，添加食用酒精（95%，*V/V*）与黄水中有机酸发生酯化反应，通过利用本实验室研制的酵母展示 CALB 酶对黄水进行酶法催化，从而提高黄水中呈香物质的含量，获得香味丰富的黄水酯化反应产物，以乙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯及总酯（定义总酯包含乙酸乙酯、己酸乙酯和乳酸乙酯）的产量为考察指标，重点考察了食用酒精添加量、反应温度及酵母展示 CALB 酶用量等工艺条件对黄水酯化效果的影响，并对黄水酯化反应产物加以精制，通过蒸馏萃取等方式，制备天然等同香料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用黄水取自某浓香型白酒厂、食用酒精(95%，*V/V*)取自该地区白酒企业（木薯发酵所得）；毕赤酵母表面展示南极假丝酵母脂肪酶 B（*Candida antarctica lipase* B，CALB）全细胞催化剂（Pp-CALB）为本实验室自制保存；乙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯、乙醇及正丁烷等均为色谱纯，购于天津市光复精细化工研究所。

1.2 单因素实验方法

量取 20 mL 黄水于三角瓶中，依照实验设计方案加入不同量的食用酒精（95%，*V/V*）和酵母展示 CALB 酶。在不同温度条件下反应后，利用气相色谱仪定量检测不同条件下黄水酯化反应产物中特征酯含量[12]。

1.2.1 食用酒精（95%，*V/V*）添加量对黄水酯化合成的影响

取黄水，设置酵母展示 CALB 酶添加量为 2%（*W/V*），食用酒精添加量分别控制为 20%、30%、40%、50%、60%（*V/V*），在 40 ℃下，反应 48 h。并设置未添加酵母展示 CALB 酶且酒精添加量为 30%（*V/V*）的对照组。

1.2.2 反应温度对黄水酯化合成的影响

取黄水，酵母展示 CALB 酶添加量为 2%（*W/V*），食用酒精添加量为 50%（*V/V*），分别在 20 ℃、25 ℃、30 ℃、35 ℃及 40 ℃下，200 r/min 条件下反应 48 h。并设置 30 ℃下无酵母展示 CALB 酶的对照组。

1.2.3 酵母展示CALB酶添加量对黄水酯化合成的影响

取黄水，添加食用酒精量 50%（*V/V*），酵母展示 CALB 酶添加量分别为 0、1%、2%、3%、4%、5%、6%（*W/V*），在 30 ℃，200 r/min 条件下反应 48 h。

1.3 响应面实验

控制食用酒精添加量分别为 40%、50%和 60%（*V/V*），反应温度为 20 ℃、30 ℃及 40 ℃，CALB 酶添加量为 4%、5%及 6%（*W/V*），进行响应面优化实验。

1.4 酵母展示 CALB 酶稳定性分析

在响应面实验中最优条件下，进行 CALB 酶稳定性分析实验。也即：食用酒精用量为 52.5%（*V/V*）、酵母展示 CALB 酶添加量 5.32%（*W/V*）、31.5 ℃下反应 48 h。每次反应结束后离心分离酶粉，重复进行下一轮实验。

1.5 分析检测方法

取黄水酯化反应产物样品进行气相色谱检测。用外标法分别计算出乙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯的浓度，并计算出总酯浓度，单位为 g/L。

1.5.1 气相色谱分析方法

采用安捷伦 7820A 气相色谱仪（氢火焰离子检测器，0.25 mm×30 m 的 DB-FFAP 毛细管柱）。分析条件：载气（氮气）流速 20 mL/min，干燥空气流速 300 mL/min，氢气流速 30 mL/min，分流比为 1:30。柱温设定采用程序升温：60 ℃维持 8 min，然后以 10 ℃/min 的速度升温至 150 ℃，维持 10 min，再以 10 ℃/min 的速度升温至 200 ℃，维持 1 min。进样器温度设置为 300 ℃，检测器温度设置为 320 ℃，进样量为 1 μL[23]。

1.5.2 黄水酯化反应产物精制

取黄水酯化反应产物进行真空减压蒸馏除去部分杂质后，以饱和 Na_2CO_3 溶液作萃取剂进行萃取分离，得到呈香物质丰富混合溶液 [22]。

1.6 数据统计分析

数据结果以平均值±标准方差表示，数据处理，结果采用统计分析软件 SPSS 19.0 与 Origin 8.5 进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 食用酒精（95%，*V/V*）添加量、反应温度及酵母展示 CALB 酶添加量对黄水酯化合成的影响

2.1.1 食用酒精（95%，*V/V*）添加量对黄水酯化合成的影响

本文研究了食用酒精添加量对酵母展示 CALB 酶催化黄水酯化效果的影响，不同食用酒精添加量对黄水酯化合成的影响如图 1 所示。

由图 1 可知，各酯的生成量与食用酒精的添加量密切相关。随着食用酒精添加量的增加，乙酸乙酯、己酸乙酯以及乳酸乙酯的产量均有所增加，在食用酒精添加量为 50%时，3 种酯含量均达到最大值，总浓度达到 17.17 g/L。食用酒精添加量大于 50%时，酯含量有所下降。因此当酒精含量为反应限制性因素时，通过添加食用酒精可显著提高酯含量；但当食用酒精浓度过高时，会产生底物抑制作用，不仅会对酵母展示 CALB 酶造成一定的损伤，致使酶活下降，也会影响酸与醇的有效结合，从而降低转化效率，使得酯含量有所下降。

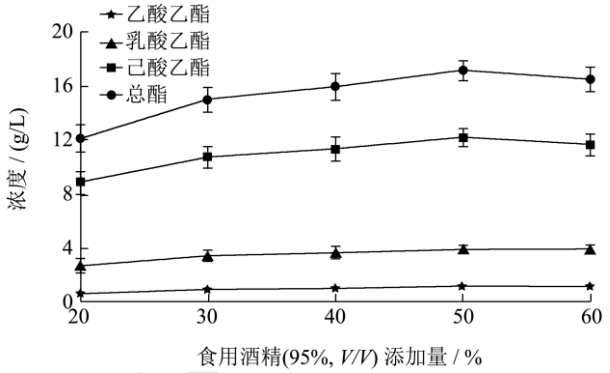


图 1 食用酒精添加量对各酯含量的影响

Fig.1 The effect of edible alcohol addition on the content of esters

2.1.2 反应温度对黄水酯化合成的影响

在酶催化反应的过程中，温度的变化不仅对酶的活性有很大的影响，还会致使反应的热力学、动力学过程产生很大的变化。本实验探究了反应温度对黄水酯化合成的影响，实验结果如图 2。

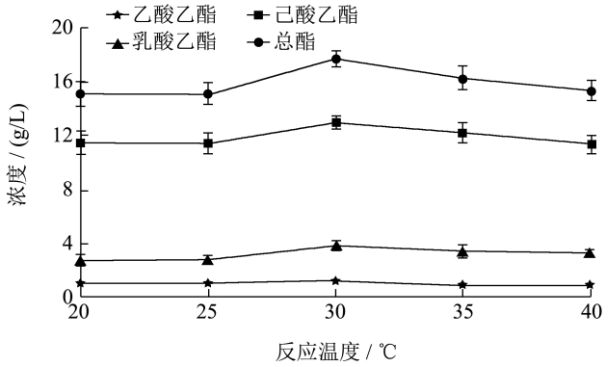


图 2 反应温度对各酯含量的影响

Fig.2 The effect of reaction temperature on the content of esters

由图 2 可知，当温度由 20 ℃升至 30 ℃时，乙酸乙酯、己酸乙酯和乳酸乙酯含量均达到最大值，总浓度为 17.68 g/L。若继续升高温度，则会对各酯及总酯含量造成不利影响。这表明高温并不适合黄水酯化的酶促合成反应，常温对黄水酯化更有利。在常温下即可完成反应的进程，这不仅降低了能源消耗，减少了换热成本，也能减少设备投资，对反应环境及设施的要求更加宽松。温和的反应条件成为 CALB 酶催化黄水酯化的一大优势。

但需指出的是，此温度并非 CALB 酶的最适酶活温度。基于 Van't Hoff 方程及 Kirchhoff 定律：

$$\left(\frac{\partial \ln K^{\theta}}{\partial T}\right)_{P}=\frac{\Delta_{r} H_{m}^{\theta}}{RT^{2}}$$

标准摩尔反应焓变 $V_rH_m^0$=常数<0。若温度 T 升高，则反应平衡常数 K^{θ} 下降，不利于向反应的酯合成方向进行。其次，因酯化反应中水是产物之一，而黄水中含有大量的水，不利于反应的正向进行，因此平衡常数对黄水酯化反应的影响程度进一步加强，而 CALB 酶的催化活性对反应的影响减弱。故黄水酯化最适温度较 CALB 酶的最适温度有所降低。

2.1.3 酵母展示 CALB 酶添加量对黄水酯化合成的影响

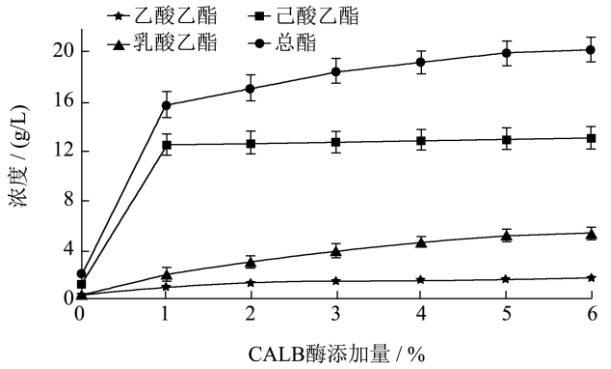


图 3 酵母展示 CALB 酶添加量对各酯含量的影响

Fig.3 The effect of CALB addition on the content of esters

在黄水酯化的过程中，起着催化作用的酵母展示 CALB 酶极其重要。本实验通过控制酵母展示 CALB 酶的添加量，研究了其对黄水酯化合成的影响，结果如图 3 所示。

由图 3 可知，催化剂作为反应的主要限制性因素，酵母展示 CALB 酶添加量对各酯的生成有很大的影响。随着酵母展示 CALB 酶添加量的增加，各酯含量先增加再趋于平稳。当酶添加量超过 5%（*W/V*）时，作为白酒中主要香味物质的乙酸乙酯与己酸乙酯的含量已不再显著增加，乳酸乙酯含量略有增加，并逐渐趋于平稳，总酯含量达到 20.17 g/L。考虑到研究对象为浓香型白酒，乙酸乙酯和己酸乙酯是最重要的呈香成分，而且综合考虑酶的成本，因此后续实验，酵母展示 CALB 酶添加量定为 5%（*W/V*）。

2.2 响应面实验

考虑到影响黄水酯化酶促反应的各主要条件相互之间存在较大影响，故设计反应响应面实验，以期找到更好反应条件，获得更好的效益。结果如表 1~2 所示。

响应面优化实验结果表明，食用酒精添加量为 52.5%(*V/V*)、酵母展示 CALB 酶添加量为 5.32%(*W/V*)、31.5 ℃反应 48 h 后，得到总酯含量最高，为 22.39 g/L，相较于单因素实验提高了约 8%。其中，乙酸乙酯 1.81 g/L，己酸乙酯 14.49 g/L，乳酸乙酯 6.09 g/L。

表 1 响应面实验因素与水平

Table 1 The factors and levels of the response surface methodology

实验因素	因素水平		
	-1	0	1
A：CALB 添加量/%	4	5	6
B：反应温度/℃	20	30	40
C：食用酒精添加量/%	40	50	60

表 2 分析方案及实验结果

Table 2 The analytical program and results

试验号	因素			酯含量/(g/L)		
	A	B	C	实际值	预测值	残差
1	0	0	0	20.75	20.73	0.016
2	1	-1	0	17.15	16.99	0.16
3	0	0	0	20.86	20.73	0.13
4	-1	1	0	15.96	16.12	-0.16
5	0	1	-1	16.57	16.50	0.074
6	0	-1	1	16.83	16.90	-0.074
7	0	0	0	20.63	20.73	-0.10
8	0	0	0	20.71	20.73	-0.024
9	1	0	-1	18.87	19.11	-0.24
10	0	0	0	20.72	20.73	-0.014
11	1	1	0	17.46	17.29	0.17
12	-1	0	1	18.89	18.65	0.24
13	-1	-1	0	15.49	15.66	-0.17
14	0	1	1	17.21	17.29	-0.084
15	0	-1	-1	16.21	16.13	0.084
16	-1	0	-1	18.02	17.94	0.085
17	1	0	1	19.89	19.98	-0.085

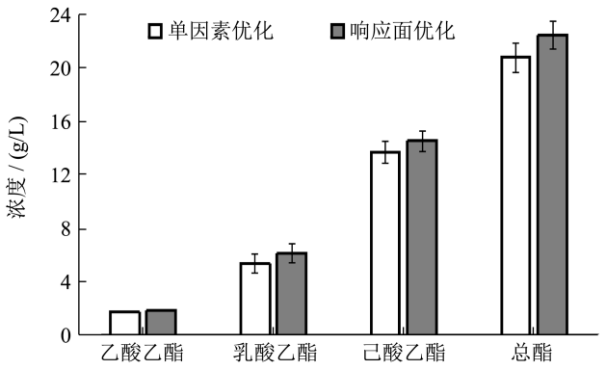


图 4 响应面实验各组酯含量与单因素实验对比

Fig.4 The comparison between the response surface methodology and single factor experiment

而当前研究中，普遍存在如使用者含量较高，而浓香型白酒主要香味物质提升效果不明显、总酯含量较低、处理成本高的现状[29,30]。酵母展示 CALB 酶处理工艺表现出了很大的应用潜力。

2.3 酵母展示 CALB 酶稳定性分析

考虑到酶的使用成本及工业化应用，对其稳定性进行考察，结果如图 5 所示。

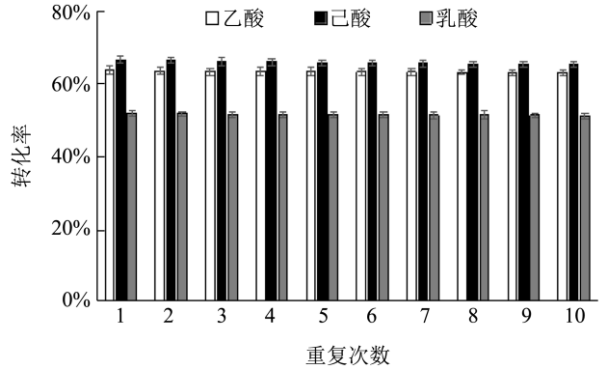


图 5 酵母展示 CALB 酶稳定性

Fig.5 The stability of CALB

由图 5 可知，在酶催化黄水制备黄水酯化液反应中，CALB 酶重复反应 10 次后，乙酸，己酸和乳酸的转化率相对保持稳定，CALB 酶依然较好地保持了原始活力，说明毕赤酵母展示 CALB 催化黄水进行酯化具有很好的稳定性。这将为毕赤酵母展示 CALB 完成批次催化后可回收利用提供可靠的依据。由于毕赤酵母的亲水性，使得酵母展示 CALB 酶在水相体系中相较于疏水材质为载体的固定化商品酶具有更高的稳定性，重复使用十次，转化率保持不变。通过简单的固液分离回收酵母展示 CALB 酶即可得到黄水反应产物。毕赤酵母展示 CALB 酶的回收利用极大地节约了酶制剂的使用量，从而进一步大幅降低成本，极大满足工业化需求。

2.4 黄水酯化反应产物精制

为提升黄水酯化反应产物品质，得到呈香物质，从而作为香精香料。对其进行蒸馏及萃取等操作，其状态及酯和酸的变化如图 6、7 所示。

黄水酯化反应产物经蒸馏操作后，由褐色粘稠状液体转为略带浅黄色的澄清液体，其焦糊香味明显减少，酯香增加，但略有黄水的不愉快气味。经萃取操作后，其酸味减少，酯香更加突出。贮存一段时间后，黄水味变得不明显。

对黄水酯化反应产物进行蒸馏及萃取等操作后，除去杂质及大量酸类物质，得到呈香物质混合液。酯类回收率 76.56%，总酯含量为 11.74 g/L，占混合液总体系 90%以上。其中乙酸乙酯、己酸乙酯及乳酸乙酯含量分别为 0.64 g/L、8.92 g/L 及 2.18 g/L，此混合液品质更高，香气更醇厚，可作天然等同香料或白酒调酒液等功能性酯化液。

经本工艺酵母展示 CALB 酶处理黄水，大幅缩短反应时间，产物中作为浓香型白酒的主要酯香风味物质乙酸乙酯和己酸乙酯含量大幅提高，酒香醇厚、色泽清亮。该工艺极大克服了当前黄水处理研究中耗时长、酒味轻薄、酸性强且香味单一的研究难点，避免了馏出液的酸涩感、口味不佳只能用于勾调低档白酒的应用困境，对浓香型白酒生产过程中黄水的资源化再利用具有一定的应用价值[12,13,16,17,20,22,23,29]。

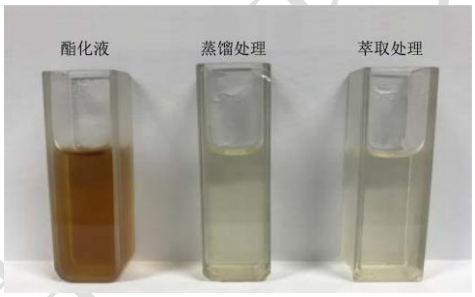


图 6 蒸馏及萃取对黄水酯化反应产物性状的影响

Fig.6 The effect of distillation and extraction on traits of yellow water esterified liquid

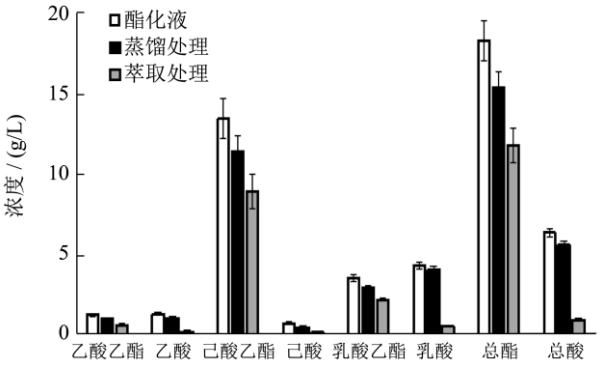


图 7 蒸馏及萃取对黄水酯化反应产物酯和酸含量的影响

Fig.7 The effect of distillation and extraction on ester and acid of yellow water esterified liquid

3 结论

3.1 通过对 CALB 添加量、食用酒精添加量、反应温度等进行考察，得到黄水酯化合成最佳工艺条件为在食用酒精（95%，*V/V*）添加量为 52.5%（*V/V*）、CALB 酶添加量为 5.32%（*W/V*）、31.5 ℃下反应 48 h，黄水酯化效果最好。

3.2 经研究，各酯及总酯含量大幅提高，反应时间大幅减少。其中，乙酸乙酯含量由 0.03 g/L 提升至 1.81 g/L，己酸乙酯含量由 0.44 g/L 提升至 14.49 g/L，总酯含量由 0.71 g/L 提升至 22.39 g/L，反应时间仅需 48 h。

3.3 酵母展示 CALB 酶在水相体系中相较于疏水材质为载体的固定化商品酶具有更高的稳定性，重复使用十次，转化率保持不变。

3.4 固液分离后的反应产物经蒸馏萃取后色泽清亮、香气更加醇厚饱满，可满足制备天然等同香料、酯化液等需求。

3.5 相对于当前黄水利用工艺，经优化后的酵母展示 CALB 处理工艺反应温度更加温和、反应周期大幅短且酯含量提升明显。该工艺可为企业大幅降低时间成本及设备成本，这为后续的放大和工业化生产提供了可靠的依据。利用黄水酶法酯化制备天然等同香料及酯化液等，不仅能大幅提高黄水利用效率，带来丰厚的经济利益，更能对我国的环保、能源行业起到很好的促进作用。

参考文献

[1] 谭光迅,李净.黄水的组分分析及应用研究进展[J].酿酒科技,2010, 10:90-92
TAN Guang-xun, LI Jing. Analysis of the compositions of yellow water & research advance in its application [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2010(10): 90-92

[2] 刘琼,张跃廷.酿酒副产物黄水的综合利用[J].酿酒,2001, 4:39-42
LIU Qiong, ZHANG Yue-ting. The comprehensive utilization of yellow fermenting liguor in by-products of liguor-making [J]. Liquor Making, 2001, 4: 39-42

[3] 彭佑信.论浓香型白酒生产中的黄水[J].酿酒,2009,1:37-39
PENG You-xin. Review on the yellow fermentation liquid in the Luzhou-flavor style liquor making [J]. Liquor Making, 2009, 1: 37-39

[4] 赫江华.黄水调味液在新型白酒中的应用[J].酿酒科技,2005,1:52-53
HE Jiang-hua. Application of yellow water flavoring liquid in new type liquor [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2005, 1: 52-53

[5] 杨瑞,周江.白酒生产副产物黄水及其开发利用现状[J].酿酒科技,2008,3:90-92
YANG Rui, ZHOU Jiang. Byproduct in liquor production-yellow water & its development and utilization status [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2008, 3: 90-92

[6] 姚琪,涂向勇,姚继承.酿酒副产物的综合利用新途径[J].酿酒,2009,36(6):69-72
YAO Qi, TU Xiang-yong, YAO Ji-cheng. A new approach to by-products in liquor-making utilization [J]. Liquor Making, 2009, 36(6): 69-72

[7] 曹新莉,王明山.白酒生产中黄水和酒尾的应用[J].酿酒科技,2008, 2008,10,96-99
CAO Xin-li, WANG Ming-shan. Application of yellow water and ending water in liquor production [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2008, 2008, 10: 96-99

[8] 蒋学剑,王志强,汤井立,等.黄浆水酯化串蒸提升白酒品质的研究[J].酿酒,2017,44(2):60-64
JIANG Xue-jian, WANG Zhi-qiang, TANG Jing-li, et al. Study on the improvement of liquor quality by esterifying and cross steaming of the yellow water [J]. Liquor Making, 2017, 44(2): 60-64

[9] 唐丽云,李国红,王步利,等.利用黄水酯化液提高浓香型白酒质量[J].食品与发酵科技,2013,3:50-51
TANG Li-yun, LI Guo-hong, WANG Bu-li, et al. Improve the quality of luzhou-flavor liquor by using yellow water esterified liquid [J]. Food & Fermentation Technology, 2013, 3: 50-51

[10] 胡沂淮,贾亚伟,戴源,等.酯化红曲的筛选和酯化酶酶学性质研究[J].酿酒科技,2013,8:23-27
HU Yi-huai, JIA Ya-wei, DAI Yuan, et al. Screening of a monascus strain with strong esterifying capability and study of its esterase properties [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2013, 8: 23-27

[11] 刘义刚,周治全,周超,等.全细胞酯化曲(酶)在生物酯化液中的应用[J].酿酒科技,2016,2:72-76
LIU Yi-gang, ZHOU Zhi-quan, ZHOU Chao, et al. The application of whole-cell esterifying enzyme in bio-esterifying liquid [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2016, 2: 72-76

[12] 刘宾,陈义伦,于忠良.黄水酯化液酶法制备技术研究[J].中国食品学报,2009,9(2):116-121
LIU Bin, CHEN Yi-lun, YU Zhong-liang. Research on the preparation technology of esterifying liquid from yellow water [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science & Technology, 2009, 9(2): 116-121

[13] 尹晓丽,欧雪,杨滨菱,等.基于白酒酿造废物资源化利用的研究开发[J].现代食品,2018,5:169-171
YIN Xiao-li, OU Xue, YANG Bin-ling, et al. Research and development of resource utilization based on liquor making waste [J]. Modern Food, 2018, 5: 169-171

[14] 镇达,万朕,汪江波,等.黄水及其含量对酯化酶酯化效果的影响[J].酿酒科技,2010,9:28-29
ZHEN Da, WAN Zhen, WANG Jiang-bo, et al. Effects of yellow water and its content on the esterification of esterase

[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2010, 9: 28-29

[15] Larios A, García H S, Oliart R M, et al. Synthesis of flavor and fragrance esters using candida *Antarctica*, lipase [J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2004, 65(4): 373-376

[16] 杨泉,杜鹏程,邓宏,等.利用黄水酯化萃取液提高浓香型白酒质量的应用[J].食品与发酵科技,2017,53(3):92-97
YANG Quan, DU Peng-cheng, DENG Hong, et al. The application of improving the quality of luzhou flavor liquor by yellow water esterified extract [J]. Food & Fermentation Technology, 2017, 53(3): 92-97

[17] 朱开宪,张华知,胡春玲.基于超临界 CO_2 萃取技术提取黄水中风味物质的研究[J].山东化工,2015,22:35-37
ZHU Kai-xian, ZHANG Hua-zhi, HU Chun-ling. Study on the extraction of aroma & flavor-producing substances from the by -products in liquor-making by supercritical CO_2 extraction technique [J]. Shandong Chemical Industry, 2015, 22: 35-37

[18] 陈帅,赵金松,郑佳,等.红曲与产酯酵母酯化黄水代谢物的特征[J].食品科学,2013,34(7):1-5
CHEN Shuai, ZHAO Jin-song, ZHENG Jia, et al. Microbial esterification of organic acids in yellow water by *Monascus purpureus* and yeasts: A comparative study [J]. Food Science, 2013, 34(7): 1-5

[19] 张丹,陈雪玲,付瑜,等.复合生物制剂在浓香型白酒黄水酯化中的应用[J].酿酒科技,2016,9:71-75
ZHANG Dan, CHEN Xue-ling, FU Yu, et al. Application of a compound biological agent in the esterification of yellow water of nongxiang baijiu [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2016, 9: 71-75

[20] 陈帅,刘琨毅,郑佳,等.基于响应面法优化酿酒黄水酶促酯化条件的研究[J].食品工业科技,2012,33(12):205-209
CHEN Shuai, LIU Kun-yi, ZHENG Jia. Study on enzymatic esterification conditions of yellow water optimized by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(12): 205-209

[21] 任道群,唐玉明,姚万春,等.酯化酶动力学研究[J].酿酒科技,2006,6:39-40
REN Dao-qun, TANG Yu-ming, YAO Wan-chun. Research on the kinetics of esterifying enzyme [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2006, 6: 39-40

[22] 崔如生,徐岩.应用 R92 华根霉生产调味酒提高新型白酒质量[J].酿酒,2007,34(1):27-31
CUI Ru-sheng, XU YAN. Producing flavoring liquid by using rhizopus Chinese R92 to improve new type liquor quality [J]. Liquor Making, 2007, 34(1): 27-31

[23] 窦晓,杨建刚,马莹莹,等.华根霉在酿酒中的研究进展[J].食品与发酵工业,2015,41(4):246-250
DOU Xiao, YANG Jian-gang, MA Ying-ying, et al. The research progress about *Rhizopus chinonsis* in liquor-making [J]. Food & Fermentation Industries, 2015, 41(4): 246-250

[24] 赵天涛,高静,李伟杰.南极假丝酵母脂肪酶 B 的催化机理及应用前景[J].分子催化,2005,19(2):155-160
ZHAO Tian-tao, GAO Jing, LI Wei-jie, et al. The catalytic mechanism and application of candida antarctic lipase B [J]. Journal of Molecular Catalysis, 2005, 19(2): 155-160

[25] 金子,林影,黄登峰,等.展示南极假丝酵母脂肪酶 B 的毕赤酵母全细胞催化合成短链芳香酯[J].生物工程学报,2009,25(12):1927-1932
JIN Zi, LIN Ying, HUANG Deng-feng, et al. Synthesis of flavor esters catalyzed by calb-displaying *Pichia pastoris* whole-cells in non-aqueous phase [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2009, 25(12): 1927-1932

[26] 张娜,金子,林影,等.酵母表面展示脂肪酶合成己二酸二异辛酯[J].生物工程学报,2013,29(7):1027-1031
ZHANG Na, JIN Zi, LIN Ying, et al. Synthesis of diisooctyl adipate catalyzed by lipase-displaying *Pichia pastoris* whole-cell biocatalysts [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2013, 29(7): 1027-1031

[27] JIN Zi, Janvier Ntwali, LIN Ying, et al. Geranyl Butyrate Production by Candida Antarctica, Lipase B-Displaying Pichia Pastoris [M] Advances in Applied Biotechnology. Springer Berlin Heidelberg, 2015: 361-373

[28] 张锟.毕赤酵母表面展示南极假丝酵母脂肪酶催化体系及其应用[D].广州:华南理工大学,2018
ZHANG Kun. Candida Antarctic lipase displaying on *Pichia pastoris* catalytic reaction system and application [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018

[29] 王传荣,沈洪涛.黄水在新型白酒生产中的应用[J].中国酿造,2005,24(2):26-28
WANG Chuan-rong, SHEN Hong-tao. Application of yellow water in a novel liquor [J]. China Brewing, 2005, 24(2): 26-28

[30] 冯兴垚,邓杰,谢军,等.白酒酿造副产物黄水综合利用现状浅析[J].中国酿造,2017,2:6-9
FENG Xing-yao, DENG Jie, XIE Jun, et al. Brief analysis on current situation of comprehensive utilization of by-products yellow water from Baijiu-making [J]. China Brewing, 2017, 2: 6-9

现代食品科技