

# 米根霉麸曲提高豉香型白酒中乳酸乙酯的含量

郭锦宁<sup>1,2</sup>, 刘幼强<sup>2</sup>, 何松贵<sup>2</sup>, 曹荣冰<sup>2</sup>, 徐学锋<sup>1</sup>

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (2. 广东省九江酒厂有限公司, 广东佛山 528203)

**摘要:** 针对豉香型白酒乳酸乙酯含量容易受生产季节因素的影响, 夏季乳酸乙酯含量偏低问题, 以不同米根霉、华根霉、红曲霉菌株制作麸曲, 添加到白酒主发酵中, 比较不同菌株所制麸曲对基酒中乳酸乙酯含量的影响。结果发现米根霉 RO2 菌株制成的麸曲有效提高了基酒的乳酸乙酯含量。经麸曲水分含量、脂肪酶诱导物添加量、培养温度、培养时间单因素试验及四因素三水平正交试验优化, 确定麸曲制作工艺为 RO2 作为菌种, 麸曲水分含量 60%, 添加 0.25% 大豆油, 33 ℃ 培养 48 h。豉香型白酒主发酵中试验添加 2% 干燥麸曲, 基酒乳酸乙酯含量较空白样 0.08 g/L 提高 2.88 倍, 达 0.31 g/L。研究结果有效解决豉香型白酒乳酸乙酯偏低的问题, 提升了产品香气, 提高了酒体丰满度, 稳定了产品质量, 为产品提档升级奠定了技术基础。

**关键词:** 米根霉; 麸曲; 豉香型白酒; 乳酸乙酯

文章篇号: 1673-9078(2021)08-84-90

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.8.0269

## Application of *Rhizopus oryzae* Bran Koji to Increase Ethyl Lactate Content in Chi-flavor Baijiu

GUO Jin-ning<sup>1,2</sup>, LIU You-qiang<sup>2</sup>, HE Song -gui<sup>2</sup>, CAO Rong-bing<sup>2</sup>, XU Xue-feng<sup>1</sup>

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2. Guangdong Jiujiang Distillery Co. Ltd., Foshan, 528203, China)

**Abstract:** The content of ethyl lactate in Chi-flavor Baijiu is easily affected by the factor of production season. The content of ethyl lactate in summer is low. The bran koji was prepared by different strains of *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus chinensis* and *Monascus*, which were added to the main fermentation of Chi-flavor Baijiu. It was found that the content of ethyl lactate in crude liquor was increased using bran koji made by *Rhizopus oryzae* RO2 strain. Through single factor test of water content of bran koji, amount of lipase inducer, incubate temperature, incubate time, and orthogonal test of four factors and three levels, the optimized production process of bran koji was determined as follows: the strain was RO2, the moisture content of bran koji was 60%, 0.25% soybean oil was added and cultured at 33 ℃ for 48 h. The main fermentation pilot scale test of Chi-flavor Baijiu was added dry bran koji 2%, the ethyl lactate content of crude liquor increased 2.88 times than that of blank sample (0.08 g/L), reaching 0.31 g/L. The research results effectively solved the problems of low content of ethyl lactate in Chi-flavor Baijiu, improved the aroma of the liquor and the fullness of the liquor body, stabilized the product quality, and laid a technical foundation for upgrading the Chi-flavor Baijiu.

**Key words:** *Rhizopus oryzae*; bran koji; chi-flavor baijiu; ethyl lactate

引文格式:

郭锦宁, 刘幼强, 何松贵, 等. 米根霉麸曲提高豉香型白酒中乳酸乙酯的含量[J]. 现代食品科技, 2021, 37(8): 84-90

GUO Jin-ning, LIU You-qiang, HE Song -gui, et al. Application of *Rhizopus oryzae* bran koji to increase ethyl lactate content in chi-flavor Baijiu [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 84-90

豉香型白酒俗称广东米酒, 是以纯大米为原料, 大酒饼为糖化发酵剂, 采用边糖化边发酵的半固态发酵工艺, 经蒸馏、陈肉酝浸, 陈酿勾调而成<sup>[1,2]</sup>, 其酒

收稿日期: 2021-03-14

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2018B020206001); 广东省自然科学基金项目(2015A030313401)

作者简介: 郭锦宁(1991-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 白酒酿造

通讯作者: 徐学锋(1977-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物

体玉洁冰清, 豉香独特, 醇和甘滑, 余味爽净<sup>[3]</sup>, 是中国米酒的典型代表。中国白酒的风味物质主要由酸、酯、醛和醇组成, 其中以乳酸乙酯、乙酸乙酯为主的酯类为第一大类风味物质, 酯的含量和比例影响着白酒的风格和品质<sup>[4,5]</sup>。豉香型白酒采用的是半固态发酵工艺, 容易受季节因素的影响, 发酵醪液产酯不稳定, 总体上酯含量偏低, 进而导致产品香气单薄, 酒体丰满度不足<sup>[6]</sup>, 造成产品质量波动, 不能满足消费者对

豉香型白酒品质更高的要求。

脂肪酶 (Lipase, EC.3.1.1.3) 是催化三酯酰甘油水解的一类酶的总称。脂肪酶除了能够水解脂肪外, 还具有催化酯化反应、酯交换反应、酸解反应、醇解反应以及氨解等反应的性质<sup>[7-9]</sup>。由于微生物来源广泛、生长繁殖快、易发生遗传变异, 且其来源的脂肪酶大部分可分泌到胞外等优点, 微生物产脂肪酶相对容易获得高纯度的样品和大规模工业化生产, 因此, 微生物脂肪酶被广泛应用到生物技术和有机化学改性中<sup>[10-13]</sup>。近年来微生物脂肪酶在酿酒行业中也有一定的研究与应用, 孙海龙<sup>[14]</sup>利用南极假丝酵母脂肪酶 B 对白酒丢糟与食用酒精进行酯化, 得到乳酸乙酯 1.27 g/L 酯化液。郭建华<sup>[15]</sup>通过酒醅发酵过程酯类化合物生成与各种酶的相关性分析发现, 乙酸乙酯的生成与脂肪酶具有显著相关性, 乳酸乙酯的生成与糖化酶和脂肪酶具有显著相关性。颜晨麟<sup>[16]</sup>利用脂肪酶对浓香型白酒副产物黄水与食用酒精进行酯化, 酯化液中乙酸乙酯、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, 白酒风味酯类浓度提升了 31.9 倍。产脂肪酶微生物的种类众多, 霉菌是产脂肪酶微生物的重要分类之一<sup>[17]</sup>。针对豉香型白酒酯含量偏低的问题, 本研究应用不同霉菌菌株制作麸曲, 将麸曲添加到主发酵中, 通过比较基酒中乳酸乙酯的含量来筛选具有较优产乳酸乙酯能力的霉菌菌株, 进而优化麸曲制作工艺, 制作麸曲后添加到豉香型白酒发酵中, 通过强化酯化能力, 达到提高豉香型白酒的乳酸乙酯含量的目的, 为豉香型白酒品质的提升提供有效途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

菌种: 米根霉 (*Rhizopus oryzae*) 2 株, 简称 RO1、RO2, 华根霉 (*Rhizopus chinensis*) 2 株, 简称 RC1、RC2, 红曲霉 (*Monascus*) 2 株, 简称 M1、M2, 由广东省九江酒厂有限公司技术中心保藏。

原辅料及设备: 大米、酒饼、麸皮, 由广东省九江酒厂有限公司提供; 大豆油、橄榄油、玉米油, 市售; PDA 培养基, 北京陆桥技术股份有限公司; 气相色谱仪, 岛津气相色谱仪 GC-2010 Plus; 恒温培养箱, 天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司 SPL-250。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 霉菌菌株的活化

分别从霉菌母种试管中挑起少许孢子, 稀释涂布

于 121 °C 灭菌 20 min 的 PDA 培养基平板上, 30 °C 培养 2 d, 挑取单菌落, 继续在 PDA 培养基上划线, 培养 2 d, 备用。

#### 1.2.2 麸曲的制备

参照纯种麸曲制曲工艺<sup>[18]</sup>, 进行麸曲小样制作。100 g 干麸皮置于用 1 L 广口锥形瓶内, 加入 90 mL 纯水搅拌均匀, 121 °C 灭菌 20 min, 无菌条件下挑 1 环菌丝, 用 10 mL 无菌水稀释摇匀, 倒入灭好菌的麸皮内搅拌均匀, 30 °C 培养 2 d, 40~50 °C 低温烘干。

#### 1.2.3 高酯化力霉菌菌株的筛选

参照豉香型白酒发酵工艺<sup>[19]</sup>, 进行豉香型白酒小样发酵添加麸曲试验。发酵添大米 100 g, 加纯水 100 mL, 蒸煮 40 min, 冷却至常温后, 加入纯水 200 mL, 酒饼 20 g, 分别添加不同菌株的麸曲 5 g, 30 °C 培养 15 d, 蒸馏取馏分 100 mL, 不加麸曲为空白对照, 气相色谱法检测乳酸乙酯含量, 比较不同菌株所制麸曲提高乳酸乙酯含量的能力。

#### 1.2.4 麸曲配方及培养条件的单因素试验

麸曲水比优化: 参考 1.2.2, 分别制备水分含量为 40%、50%、60%、70% 的麸曲, 白酒发酵加入麸曲 (同 1.2.3), 检测乳酸乙酯含量。

麸曲脂肪酶诱导物筛选及其添加量优化: 根据最适水比, 选用橄榄油、大豆油、玉米油, 添加量 (以干麸皮计) 分别为 0.5%、1.0%、2%、5%, 制作麸曲, 设置空白样, 在白酒主发酵中加入麸曲, 检测基酒乳酸乙酯含量。

麸曲培养温度优化: 培养温度分别为 27、30、33、36、39 °C, 制作麸曲, 在白酒主发酵中加入麸曲, 检测基酒乳酸乙酯含量。

麸曲培养时间优化: 培养时间分别为 24、48、72、96、120 h, 制作麸曲, 在白酒主发酵中加入麸曲, 检测基酒乳酸乙酯含量。

#### 1.2.5 麸曲培养正交试验

表 1 麸曲培养条件的正交试验设计

Table 1 Orthogonal design of culture conditions of bran koji

试验号	A 水分	B 诱导物	C 温度	D 时间
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

对麸曲水分含量、诱导物添加量、培养温度、培养时间进行四因素三水平(L9)正交试验,制作麸曲,在白酒主发酵中加入麸曲,检测基酒乳酸乙酯含量,并根据正交试验最优结果进行验证。

### 1.2.6 白酒主发酵中麸曲添加量优化

根据1.2.5麸曲最优制作方法制备麸曲,白酒发酵分别添加1%、2%、3%、4%麸曲,设置空白样,检测基酒中乳酸乙酯含量。

### 1.2.7 中试白酒发酵添加麸曲

按小试发酵投料比例扩大至大米用量为50 kg,试验样按照1.2.6中最优麸曲添加量添加麸曲,设置空白样,发酵15 d,取样220 mL,蒸馏取100 mL馏分,检测基酒乳酸乙酯含量。

### 1.2.8 指标测定方法

乳酸乙酯的测定参照GB/T 10345-2007《白酒分析方法》<sup>[20]</sup>。

### 1.2.9 数据处理

所有实验均设置三次重复,试验结果采用SPSS 20统计软件进行统计分析。图表绘制采用Origin 8.6。

## 2 结果与讨论

### 2.1 高酯化力霉菌菌株筛选

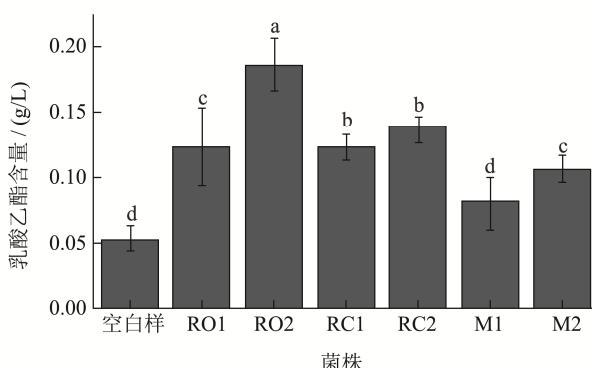


图1 不同菌株制成的麸曲对基酒乳酸乙酯含量的影响

Fig.1 Ethyl lactate content of crude liquor effect by bran koji made from different strains

注:不同字母表示数据间存在显著差异( $p<0.05$ ),下同。

6株菌株分别制成麸曲后,添加麸曲进行白酒发酵,蒸馏后,检测基酒中的乳酸乙酯含量,比较6株菌株的酯化力。结果如图1所示,6株菌株中RO1、RO2、RC1、RC2、M2等5株均对乳酸乙酯含量的提高有显著效果,其中菌株RO2效果最好,试验样乳酸乙酯含量较空白对照0.05 g/L提高2.60倍,达0.18 g/L。米根霉麸曲效果最先显著,原因为米根霉不但能产生脂肪酶,添加发酵中还产生一定的乳酸,对提高乳酸乙酯有一定的促进作用。选用RO2作为后续试验

菌株。

### 2.2 麸曲配方及培养条件优化

#### 2.2.1 麸曲最适水分含量筛选

适量的水分含量对于麸曲的质量影响较大,水分含量过低,不能达到霉菌生长适宜的水分活度,影响霉菌生长,从而影响麸曲质量<sup>[18,21,22]</sup>。水分含量过高则产生杂味,带入白酒中影响白酒质量,且水分含量过高提高了麸曲干燥成本。如图2所示,水分含量不高于50%时,麸曲质量变化不大,随着水分含量增加至60%~70%,麸曲质量显著提高,其中水分含量60%时结果最为显著,乳酸乙酯含量达0.21 g/L。结果与罗惠波<sup>[18]</sup>研究中原料水分对麸曲质量趋势一致。选取水分含量50%、55%、60%进行后续正交试验。

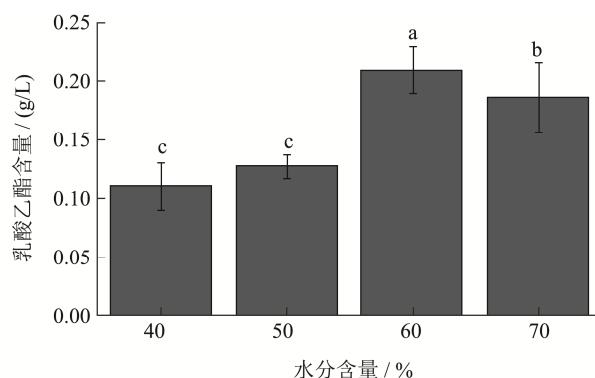


图2 不同含水量所制麸曲对基酒乳酸乙酯含量的影响

Fig.2 Ethyl lactate content of crude liquor effect by bran koji made from different water content

#### 2.2.2 麸曲脂肪酶诱导物筛选及添加量优化

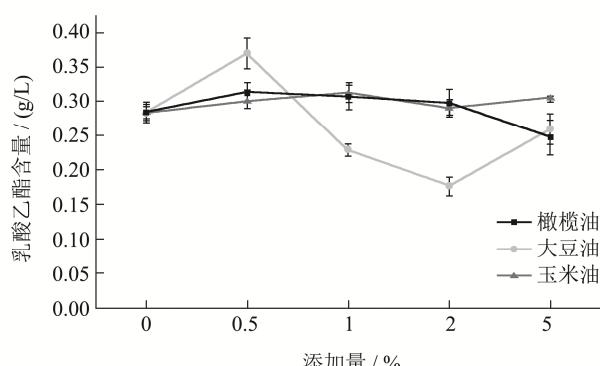


图3 麸曲中不同诱导物及添加量对基酒乳酸乙酯含量的影响

Fig.3 Ethyl lactate content of crude liquor effect by different bran koji added with inducers

添加适量油脂类物质作为诱导物,能促使细胞分泌脂肪酶从而能显著增强脂肪酶的产量<sup>[23-26]</sup>。将诱导物种类、添加量对乳酸乙酯的影响进行双因素分析,双因素均无显著性差异,但进行单因素显著性分析,添加0.5%大豆油样结果与空白样存在显著性差异( $p<0.05$ ),0.5%大豆油样乳酸乙酯含量较空白样提

高33%，从0.27 g/L提高至0.36 g/L。故选取大豆油添加量0%、0.25%、0.50%进行后续正交试验，进一步验证大豆油作为脂肪酶诱导剂对麸曲质量的影响。

### 2.2.3 麸曲培养温度优化

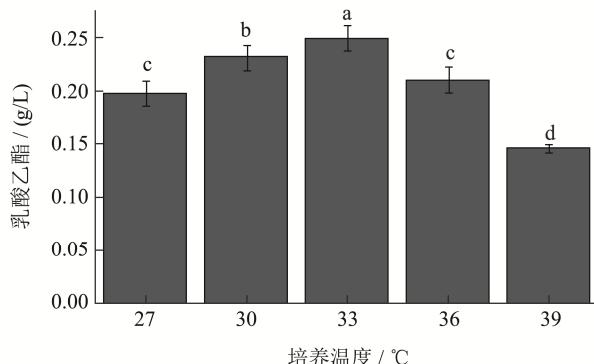


图4 不同麸曲培养温度对基酒乳酸乙酯含量的影响

**Fig.4 Ethyl lactate content of crude liquor effect by bran koji  
incubated on different temperature**

适当培养温度有利于提高根霉在麸曲中的培养速度以及脂肪酶的产出速度，根霉的快速生长有效抑制杂菌。且过高的麸曲培养温度会出现氨味，带来杂味，从而影响白酒质量<sup>[27,28]</sup>，因此麸曲的培养温度对麸曲质量极为重要。对麸曲培养温度单因素进行优化后，从图4所示，培养温度在27~33 °C范围内，随着温度的提高，麸曲提高白酒乳酸乙酯含量效果均显著提高，33 °C时，乳酸乙酯含量达0.25 g/L。麸曲培养温度超过33 °C后，随着温度的提高，麸曲提高白酒乳酸乙酯含量效果显著下降。结果与彭金枝<sup>[28]</sup>等研究结果趋势一致，当曲温过高，麸曲出现杂味及对麸曲质量影响较大。选取温度27、30、33 °C进行后续正交试验。

表2 麸曲培养正交试验结果

**Table 2 Orthogonal test results of bran koji incubated**

试验号	A 水分/%	B 诱导物/%	C 温度/°C	D 时间/h	乳酸乙酯含量/(g/L)
1	50	0	27	24	0.18
2	50	0.25	30	36	0.21
3	50	0.50	33	48	0.33
4	55	0	30	48	0.3
5	55	0.25	33	24	0.27
6	55	0.50	27	36	0.26
7	60	0	33	36	0.31
8	60	0.25	27	48	0.33
9	60	0.50	30	24	0.20
K <sub>1</sub>	0.72	0.79	0.77	0.95	
K <sub>2</sub>	0.83	0.81	0.71	0.78	
K <sub>3</sub>	0.84	0.79	0.91	0.96	
k <sub>1</sub>	0.240	0.263	0.257	0.217	

### 2.2.4 麸曲培养时间优化

麸曲培养时间不足，影响霉菌生长以及脂肪酶的产出，过长则容易老化失活力<sup>[29,30]</sup>，麸曲变黑，产生霉味，从而影响白酒的质量，因此麸曲的培养时间也对麸曲质量极为重要。如图5所示，培养时间超过48 h的试验组，其麸曲效果均显著优于24 h试验组，乳酸乙酯含量均大于0.25 g/L。结果与高林峰<sup>[29]</sup>的结论稍有差异，当培养时间过长时对麸曲质量影响较小，经分析，豉香型白酒发酵强化米根霉后，提高乳酸的产出，对提高乳酸乙酯含量有一定的作用，弱化了培养时间过长，米根霉麸曲中脂肪酶老化的影响。检测不同麸曲脂肪酶活，发酵醪液乳酸含量，验证上述观点。但培养时间超过72 h麸曲杂味变重，证明麸曲培养时间的确不适宜过长。选取培养时间为24 h、36 h、48 h进行后续正交试验。

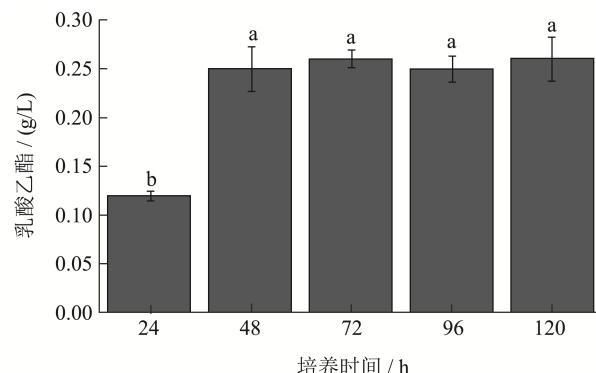


图5 不同麸曲培养时间对基酒乳酸乙酯的影响

**Fig.5 Ethyl lactate content of crude liquor effect by bran koji  
incubated on different length of time**

### 2.2.5 麸曲培养相关条件的正交试验

转下页

接上页					
$k_2$	0.277	0.270	0.237	0.260	
$k_3$	0.280	0.263	0.303	0.320	
极差 R	0.040	0.007	0.066	0.103	
主次关系	D>C>A>B				
优组合	$A_3B_2C_3D_3$				

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance table

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
水分	0.003	2	0.462	3.110	
诱导物	0.000	2	0.000	3.110	
温度	0.007	2	1.077	3.110	
时间	0.016	2	2.462	3.110	
误差	0.03	8			

由单因素优化结果, 确定对麸曲水分含量、诱导物添加量、培养温度、培养时间进行四因素三水平 ( $L_9$ ) 正交试验, 从表 2 可知, 当前试验前提下, 各因素主次关系为: 时间>温度>水分含量>诱导物添加量, 麸曲培养最优方案为麸曲水分含量 60%, 添加大豆油 0.25%, 33 °C 培养 48 h, 经方差分析各因素均无显著性。根据正交试验的出的最优结果, 进行验证试验, 试验样添加优化后的麸曲, 空白对照不添加麸曲。结果如图 6 所示, 试验样结果显著优于空白对照样, 乳酸乙酯含量从 0.06 g/L 提高 4.83 倍, 达 0.35 g/L。

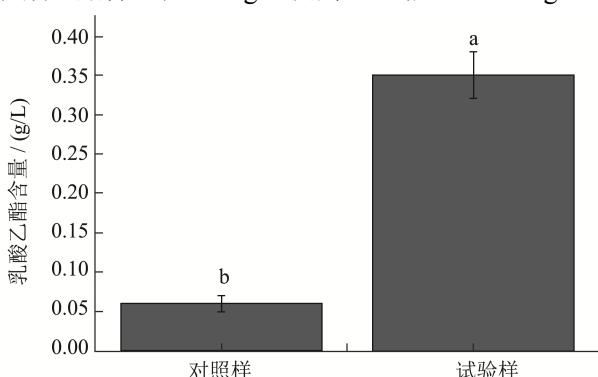


Fig.6 Verification of orthogonal test results

## 2.3 白酒发酵中的应用优化

### 2.3.1 麸曲添加量优化

根据正交试验结果, 优化麸曲培养工艺后, 分别添加 1%、2%、3%、4% 麸曲到白酒主发酵中, 设置空白样对照, 比较基酒的乳酸乙酯含量。结果如图 7 所示, 麸曲添加量 $\geq 2\%$ 时, 白酒的乳酸乙酯含量较空白样显著提高。随着添加量的增加, 乳酸乙酯含量无明显变化。结合麸曲实际效果、应用成本以及过多的

麸曲可能会引入麸皮味, 导致豉香型白酒酒体存在偏格的风险。豉香型白酒主发酵添加麸曲小试暂未研究对出酒率的影响, 但在豉香型白酒碳源利用率极高的情况下, 添加麸曲量过高, 根霉会与产酒酵母争夺有限的碳源, 导致出酒率下降的概率较大。基于上述原因确定麸曲添加量为 2%。

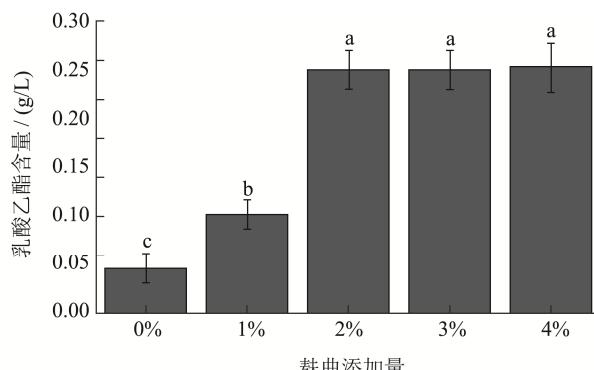


Fig.7 Ethyl lactate content of crude liquor effect by bran koji addition

### 2.3.2 白酒主发酵添加麸曲中试

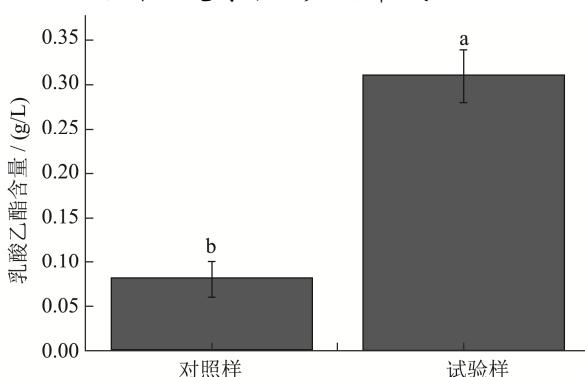


Fig.8 Tracking of ethyl lactate content in pilot-scale fermentation

根据上述优化结果, 白酒发酵添加麸曲试验大米投料量扩至 50 kg, 结果表明, 添加 2% 的米根霉麸曲试验样的乳酸乙酯含量显著高于空白样, 试验样乳酸乙酯含量较空白对照样 0.08 g/L 提高 2.88 倍, 达 0.31 g/L。中试试验结果与前期小试结果一致, 投料量扩大后试验效果稳定性与显著性得到验证。对比 2.3.2 中试试验两组数据与 2.3.1 麸曲添加量优化试验中空白对照与添加 2% 麸曲试验样, 前者乳酸乙酯含量均有所

提高,原因在于乳酸菌为厌氧菌,在锥形瓶中浅层发酵,溶氧较大,乳酸菌产乳酸量酸下降,导致投料量小的样品乳酸乙酯含量较投料量大的样品低,豉香型白酒实际生产中利用50t不锈钢罐发酵,其整体乳酸乙酯含量相对中小样发酵乳酸乙酯含量较高,在0.4~0.8g/L范围内,也验证上述观点。

### 3 结论

利用广东省九江酒厂有限公司技术中心保藏的6株霉菌制麸曲后,添加到豉香型白酒主发酵中以提高基酒的乳酸乙酯含量,发现米根霉菌株RO2的效果最优。进一步优化麸曲的制作工艺中的水分含量、诱导物种类及添加量、培养温度、培养时间进行单因素及正交试验优化。各因素各因素主次关系为:时间>温度>水分含量>诱导物添加量。麸曲培养工艺:水分含量60%,添加0.25%大豆油,33℃培养48h。豉香型白酒主发酵添加麸曲量2%,基酒中乳酸乙酯含量较空白对照0.08g/L提高2.88倍,达到0.31g/L,效果显著( $p<0.05$ )。该研究能在不影响豉香型白酒主发酵的前提下,有效解决发酵醪液酯含量偏低、产酯不稳定的问题,但试验效果显著性仅停留在中试阶段,根霉麸曲的扩大培养,以及根霉在豉香型白酒生产中的应用效果,有待验证及优化。该研究有望提升豉香型白酒的香气,提高酒体丰满度,稳定产品质量,为豉香型产品提档升级奠定了技术基础。

### 参考文献

- [1] 黄清意,李湘銮,费永涛,等.陈肉酝浸对豉香型白酒风味影响的研究进展[J].食品与发酵工业,2020,46(19):284-288  
HUANG Qing-yi, LI Xiang-luan, FEI Yong-tao, et al. Advances on the meat immersion and its effect on chi-flavor baijiu [J]. Food and Fermentation Industrie, 2020, 46(19): 284-288
- [2] 潘丽娟,赖嘉雯,赵文红,等.豉香型白酒研究现状[J].中国酿造,2020,39(10):21-25  
PAN Li-juan, LAI Jia-wen, ZHAO Wen-hong, et al. Research progress of chi-flavor baijiu [J]. China Brewing, 2020, 39(10): 21-25
- [3] 格绒泽仁.豉香型白酒饮后舒适感评价模型的建立及相关研究[D].雅安:四川农业大学,2019  
GERONG Ze-ren. Establishment and related research on comfort evaluation model of soybean flavor liquor after drinking [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2019
- [4] 李大和.试论豉香型白酒独特风格的成因[J].酿酒科技,2004,1:24-25,27  
LI Da-he. Discussion on the formation of the style of soybean-flavor liquor [J]. Liquor-making Science and Technology, 2004, 1: 24-25, 27
- [5] 汤道文,谢玉球,朱法余,等.白酒中的微量成分及与白酒风味技术发展的关系[J].酿酒科技,2010,5:78-81  
TANG Dao-wen, XIE Yu-qiu, ZHU Fa-yu, et al. Relations between microconstituents in liquor and the development of liquor flavor techniques [J]. Liquor-making Science and Technology, 2010, 5: 78-81
- [6] 吴雪梅.豉香型白酒不同季节酒曲微生物的研究[J].酿酒,2013,40(1):63-66  
WU Xue-mei. Soy flavor liquor different seasons koji microorganisms [J]. Liquor Making, 2013, 40(1): 63-66
- [7] Ashok Kumar, Kartik Dhar, Shamsher Singh Kanwar, et al. Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications [J]. Biological Procedures Online, 2016, 18(1): 712-749
- [8] Thomas Shean Yaw Choong, Chiou Moi Yeoh, Eng-Tong Phuah, et al. Kinetic study of lipase-catalyzed glycerolysis of palm olein using lipozyme TLIM in solvent-free system [J]. Plos One, 2018, 13(2): e0192375
- [9] Maho Katayama, Takashi Kuroiwa, Kenya Suzuno, et al. Hydration-aggregation pretreatment for drastically improving esterification activity of commercial lipases in non-aqueous media [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2017, 105: 30-37
- [10] 韦宇拓,滕昆.脂肪酶的分子结构及应用研究进展[J].广西科学,2014,21(2):93-98  
WEI Yu-tuo, TENG Kun. Advance in molecular structue and application of lipases [J]. Guangxi Science, 2014, 21(2): 93-98
- [11] 蔡海莺,王珍珍,张婷,等.微生物脂肪酶资源挖掘研究进展[J].食品科学,2018,39(7):329-337  
CAI Hai-ying, WANG Zhen-zhen, ZHANG Ting, et al. Progress in mining of microbial lipase resources [J]. Food Science, 2018, 39(7): 329-337
- [12] R Gupta N Gupta, P Rathi. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64(6): 763-781
- [13] Fariha Hasan, Aamer Ali Shah, Abdul Hameed. Industrial applications of microbial lipases [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2005, 39(2): 235-251
- [14] 孙海龙,王有旭,朱文众.南极假丝酵母脂肪酶B处理对白酒丢糟中有机酸酯化效果的影响[J].食品科技,2013,38(6):

- 26-30  
SUN Hai-long, WANG You-xu, ZHU Wen-zhong. Effect of *Candida antarctica* lipase B on the esterification of organic acid in distiller's grains [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(6): 26-30
- [15] 郭建华,郭宏文,江成英,等.白酒酒醅发酵过程中酶活与酯类生成的灰色关联度分析[J].食品工业,2014,35(2):236-239  
GUO Jian-hua, GUO Hong-wen, JIANG Cheng-ying, et al. Gray relational grade analysis of enzyme activities and esters production during fermentation of liquor fermented grains [J]. The Food Industry, 2014, 35(2): 236-239
- [16] 颜晨麟,李站胜,张家惠,等.脂肪酶酯化白酒黄水的工艺条件优化[J].现代食品科技,2020,36(1):220-226  
YAN Chen-lin, LI Zhan-sheng, ZHANG Jia-hui, et al. Optimization for esterification liquid preparation of liquor yellow water esterified with lipase [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(1): 220-226
- [17] 谈重芳,王雁萍,陈林海,等.微生物脂肪酶在工业中的应用及研究进展[J].食品工业科技,2006,7:193-195  
TAN Zhong-fang, WANG Yan-ping, CHEN Lin-hai, et al. Study on development and industrial application of microbial lipase [J]. Science and Technology of Food Industry, 2006, 7: 193-195
- [18] 罗惠波,谢军,黄治国,等.纯种根霉麸曲制曲工艺优化研究[J].四川理工学院学报(自然科学版),2015,28(5):7-11  
LUO Hui-bo, XIE Jun, HUANG Zhi-guo, et al. Pure *Rhizopus* bran koji starter-making process optimization research [J]. Journal of Sichuan University of Science & Engineering (Natural Science Edition), 2015, 28(5): 7-11
- [19] 方毅斐.豉香型白酒中二元酸的形成机制研究[D].广州:华南理工大学,2012  
FANG Yi-fei. Study of formation mechanism on dibasic acid in soybean-flavor liquor [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [20] GB/T 10345-2007,白酒分析方法[S]  
GB/T 10345-2007, Method of Analysis for Chinese Spirits [S]
- [21] 严启梅,沈晓波,李燕荣,等.根霉麸曲种曲培养工艺的研究[J].酿酒科技,2017,10:61-64  
YAN Qi-mei, SHEN Xiao-bo, LI Yan-rong, et al. Culture of seed of *Rhizopus* bran starter [J]. Liquor-making Science and Technology, 2017, 10: 61-64
- [22] 刘建波,赵德义,薛德峰.麸曲自动化培养工艺探讨[J].酿酒,2015,42(4):28-30  
LIU Jian-bo, ZHAO De-yi, XUE De-feng. Discussion on the automatic culture technology of bran koji [J]. Liquor Making, 2015, 42(4): 28-30
- [23] 赵伟,王俐琼,郑甲,等.产脂肪酶菌株的分离、鉴定及其产酶条件优化[J].湖南师范大学自然科学学报,2010,33(3):88-92  
ZHAO Wei, WANG Li-qiong, ZHENG Jia, et al. Isolation, identification of lipase production strain and optimization of the fermentation condition [J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2010, 33(3): 88-92
- [24] Ratri Kirana Prabaningtyas, Dwini Normayulisa Putri, Tania Surya Utami, et al. Production of immobilized extracellular lipase from *Aspergillus niger* by solid state fermentation method using palm kernel cake, soybean meal, and coir pith as the substrate [J]. Energy Procedia, 2018, 153: 242-247
- [25] Dwini Normayulisa Putri, Andy Khootama, Meka Saima Perdani, et al. Optimization of *Aspergillus niger* lipase production by solid state fermentation of agro-industrial waste [J]. Energy Reports, 2020, 6(Supl.1): 331-335
- [26] M Suci, R Arbianti, H Hermansyah. Lipase production from *Bacillus subtilis* with submerged fermentation using waste cooking oil [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2018, 105(1): 405-409
- [27] 李晓楼,方奎.提高根霉麸曲质量的措施探讨[J].广西轻工业,2008,12:12-13  
LI Xiao-lou, FANG Kui. Measures to improve the quality of *Rhizopus* bran koji [J]. Guangxi Journal of Light Industry, 2008, 12: 12-13
- [28] 彭金枝,洪静菲.提高麸曲酱香型酒的几项措施[J].酿酒,2001,3:40-41  
PENG Jin-zhi, HONG Jing-fei. Several measures to improve the bran starter maotai-flavor liquor [J]. Liquor Making, 2001, 3: 40-41
- [29] 高林峰,汤庆莉,吴天祥.麸曲制备工艺的优化研究[J].中国酿造,2010,11:62-65  
GAO Lin-feng, TANG Qing-li, WU Tian-xiang. Optimization of bran koji preparation technology [J]. China Brewing, 2010, 11: 62-65
- [30] 张杰,程伟,关玉权,等.高糖化力霉菌Mxzd-001麸曲的培养工艺优化及应用[J].酿酒科技,2021,1:17-23  
ZHANG Jie, CHENG Wei, GUAN Yu-quan, et al. Optimization and application of culture technology of fuqu using mould mxzd-001 with high saccharifying power [J]. Liquor-making Science and Technology, 2021, 1: 17-23