

脂肪酶处理白酒丢糟提升复糟酒的品质

李站胜, 颜晨麟, 江宁, 吴璇, 林影, 韩双艳

(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: 本项目以浓香型白酒丢糟为研究对象, 研究巴氏灭菌、反应温度、食用酒精添加量、南极假丝酵母脂肪酶 B(*Candida antarctica* lipase B, CALB)及反应时间等工艺条件对复糟酒酯化效果的影响。实验结果表明, 经巴氏灭菌处理后, 在食用酒精(95%, V/V)用量为 20 mL/100 g 丢糟、CALB 酶添加量 1.5%(W/W)、20 °C 下反应 3 d, 增酯增香的效果最好, 乙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯及总酯含量依次为 3.17 g/L、0.59 g/L、0.76 g/L、4.53 g/L。在此基础上进行 1 kg 酒糟处理量小试实验, 得乙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯及总酯含量依次为 3.44 g/L、0.85 g/L、0.70 g/L 和 4.98 g/L, 其中浓香型白酒的主要呈香物质乙酸乙酯和己酸乙酯分别较无 CALB 酶处理实验组提高了 16.38 倍和 16.67 倍, 且放大前后各酯含量基本保持稳定。本研究为进一步放大实验提供了依据, 对脂肪酶催化白酒丢糟资源化再生利用具有重要意义。

关键词: 丢糟; 南极假丝酵母脂肪酶 B; 正交实验

文章编号: 1673-9078(2019)05-191-197

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.027

Lipase Treatment of Distiller's Grains Wine to Promote Its Quality

LI Zhan-sheng, YAN Chen-lin, JIANG Ning, WU Xuan, LIN Ying, HAN Shuang-yan

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

Abstract: In this study, distiller's grains of Luzhou-flavor liquor were used as the research object, and the effects of processing conditions such as pasteurization, reaction temperature, edible alcohol addition, *Candida antarctica* lipase B (CALB) and reaction time on alcohol esterification were studied. The experimental results showed that the greatest enhancement on ester content and flavor occurred after pasteurization and reactions under the following conditions: Dose of edible alcohol (95%, V/V), 20 mL/100 g; amount of CALB enzyme, 1.5 % (W/W), reaction temperature and time, 20 °C and 3 days. Under which, the contents of ethyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl lactate and total ester were 3.17 g/L, 0.59 g/L, 0.76 g/L and 4.53 g/L in the product, respectively. Accordingly, further experiments using 1 kg of distiller's grains were carried out, and the contents of ethyl acetate, ethyl hexanoate, ethyl lactate and total ester were 3.44 g/L, 0.85 g/L, 0.70 g/L and 4.98 g/L, respectively. The amounts of the main aroma substances of Luzhou-flavor liquor, ethyl acetate and ethyl hexanoate, in the CALB-treated sample were increased by 16.38 times and 16.67 times, respectively, compared to those without CALB enzyme treatment, and the contents of individual esters remained constant after amplification. This study provides a basis for further amplification experiments, and is of great significance to lipase-catalyzed recycling of distiller's grains.

Key words: distiller's grains; *Candida antarctica* lipase B; orthogonal experiment

我国作为白酒生产大国, 每年均会生产大量白酒, 其中 2017 年浓香型白酒销售额高达约 2821 亿元。据调查, 各种酒糟年产量近 3000 万 t, 且在逐年增长^[1]。酿酒的主要原料为高粱、小麦等粮食, 故丢糟中富含未能完全利用的淀粉、蛋白质、纤维素、氨基酸和维

收稿日期: 2018-08-29

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)

作者简介: 李站胜 (1993-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 酶催化、无细胞合成

通讯作者: 韩双艳 (1976-), 女, 教授, 研究方向: 生物催化、酶工程、发酵工程

生素等^[2]。同时因为酿造工艺的特殊性, 白酒丢糟富含水、有机酸和腐殖质等, 堆积存放极易霉变腐烂^[3,4]。如若丢弃焚烧不仅造成资源的浪费, 更会造成严重的环境污染^[5]。充分而有效地对酒糟加以综合利用, 不仅可以节约粮食、降低生产成本、提高经济效益, 也可以减轻环境污染^[6]。

目前丢糟多用来做饲料或肥料^[7], 也被应用于制取甘油^[8]、培养食用菌^[9]、提取蛋白质^[10]和酿醋^[11]等。虽然上述利用方式可在一定程度上解决当前酒糟处理的困境, 但对于白酒生产企业而言, 生产丢糟酒会创造更大的经济价值。以往处理丢糟方式主要是酵母加糖化酶、纤维素酶等工艺^[12-14], 这种方法虽能够很好

地利用丢糟中残留的淀粉类物质,保证出酒率,但该工艺酒体相对单薄,香气不足^[15]。事实上,丢糟的化学成分非常复杂,相当大的部分是在白酒固态发酵阶段产生的^[16],若能将这些成分充分利用或转化成更多的香味物质,使其得以进入串蒸白酒中,不仅为白酒的综合利用拓宽了道路,更能提高白酒的品质,创造出更大的经济价值。

目前,脂肪酶已被证实可合成一系列芳香酯^[17]。利用这一性质,将丢糟中的酸类、醇类香味物质转化为酯类,然后通过简单蒸馏方式获得呈香味物质的丰富的丢糟基酒,从而不仅解决丢糟中酸性大、还原物质多等问题,也将有效利用丢糟,并大幅度提高基酒的品质。据报道,目前脂肪酶多用于白酒增香或强化发酵复糟酒,应用较多的是红曲霉酯酶^[18],但是红曲霉酯酶生成的酯类物质较为单一^[19],其应用存在很大的局限性。此外,华根霉脂肪酶也被报道可用于酿酒发酵过程。在白酒发酵过程中,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,研究者们尝试在通过添加黄水、酒头和酒糟等物质配置成酯化液,经酯化 60 d 左右,达到了丰富其它微量物质、避免口感单一的良好效果^[20,21]。有文献表明,华根霉全细胞脂肪酶在正庚烷体系中表现出良好的稳定性,半衰期长,能连续多批次催化酯合成反应,且在该体系下催化己酸乙酯合成的转化率较高,适用于催化其它短链芳香酯的合成,其对辛酸乙酯和癸酸乙酯的转化率可高达 95%^[22-24]。本文选用的南极假丝酵母脂肪酶 B,据报道对非水溶性和水溶性物质都表现出出色的催化活性,其催化合成己酸乙酯,产率高达 98.0%^[25,26]。另有报道表明,毕赤酵母表面展示 CALB 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^[27-29]。

本论文通过利用本实验室研制的毕赤酵母表面展示 CALB 对丢糟进行酶法处理,从而提高丢糟中呈香物质的比例,最终获得香味丰富的丢糟基酒^[30]。我们选取浓香型白酒丢糟为研究对象,外加的乙醇和丢糟中的乙酸、己酸和乳酸等有机酸发生酯化反应,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 CALB 酶用量、食用酒精添加量、温度及时间等工艺条件对酯化效果的影响,并通过小试实验进行验证。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用丢糟取自某知名浓香型白酒厂、食用酒精(95%, V/V)取自本地区白酒企业;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、乳酸乙酯及正丁烷等均均为色谱纯,购于天津市光复精细化工研究所。

1.2 实验方法

称取 200 g 丢糟,依照实验设计方案决定是否进行巴氏灭菌,加入不同量的食用酒精(浓度)和 CALB,混匀,移入烧杯中,压实后用无菌封口膜封口。在不同温度条件下,反应一段时间后,进行蒸酒,利用气相色谱仪定量检测不同反应条件下所蒸酒中的各酯含量。

1.2.1 灭菌对各酯合成的影响

取丢糟,设置 CALB 酶添加量为 0.2% (W/W),酒精添加量为 25% (V/W, 25 mL/100 g 丢糟,下同),温度为 35 °C,反应时间为 7 d (定义各物质添加完成时为 0 d, 24 h 后为 1 d,以此类推,下同),控制是否灭菌进行研究。

1.2.2 食用酒精添加量对各酯合成的影响

取丢糟进行巴氏灭菌,加入 CALB 酶 0.2% (W/W),酒精量添加量分别控制为 0%、10%、20%、25%、30%、35% (V/W),在 35 °C 下,反应 7 d。并设置无 CALB 酶、酒精添加量为 25% (W/W) 的对照组。

1.2.3 CALB 酶添加量对各酯合成的影响

取丢糟进行巴氏灭菌,加入 CALB 酶 0、0.05%、0.1%、0.15%、0.2%、0.25% (W/W),分别加入酒精量为 25% (V/W),在 35 °C 下,反应 7 d。

1.2.4 温度对各酯合成的影响

取丢糟进行巴氏灭菌,加入 CALB 酶 0.1% (W/W),酒精量 20% (V/W),分别在 15 °C、25 °C、35 °C、45 °C 下,反应 7 d。并设置 15 °C 下无 CALB 酶的对照组。

1.2.5 反应时间各酯含量的影响

取丢糟进行巴氏灭菌,食用酒精添加量为 20% (V/W),加入 CALB 酶 0.1% (W/W),在 25 °C 下分别反应 0 d、1 d、3 d、5 d、6 d、7 d、8 d,并设置反应时间为 7 d 的无 CALB 酶对照组。

1.3 正交实验

选取反应温度 15、20、25 (°C) 三个水平、食用酒精添加量为 17.5%、20%、22.5% (V/W) 三个水平、CALB 酶添加量为 0.1%、0.125%、0.15% (W/W) 三

个水平、反应时间为3、4、5 d, 进行 $L_9(3^4)$ 正交实验。

1.4 小试实验

在正交实验中最优条件下, 进行反应体系的初步放大实验。也即: 取酒糟 1000 g, 进行巴氏灭菌, CALB 酶添加量为 0.15%, 食用酒精添加量为 20% (V/W), 在 20 °C 下, 反应 3 d。

1.5 分析检测方法

样品经蒸馏后, 取馏分进行气相色谱检测。用外标法分别计算出馏分中乙酸乙酯、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 蒸酒方法

对于 200 g 酒糟的反应体系: 在反应完成后, 取样品加水质量为丢糟质量的 125%, 常规蒸馏, 固定收集馏出酒样体积 80 mL。

1.5.2 气相色谱分析方法

采用安捷伦 7820 气相色谱仪 (氢火焰离子检测器, 0.25 mm×30 m DB-FFAP 毛细管柱), 尾吹气 (N_2) 流速 20 mL/min, 干燥空气流速 400 mL/min, 氢气流速 30 mL/min。柱温设定采用程序升温: 60 °C 维持 8 min, 然后以 10 °C/min 升温至 150 °C 维持 8 min。进样器与检测器温度都设为 230 °C。进样量 1 μ L。

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 灭菌对各酯合成的影响

通过控制灭菌、添加 CALB 酶两个实验条件, 本文研究了经巴氏灭菌消除杂菌后是否能提高酯的合成。实验结果如图 1 所示。

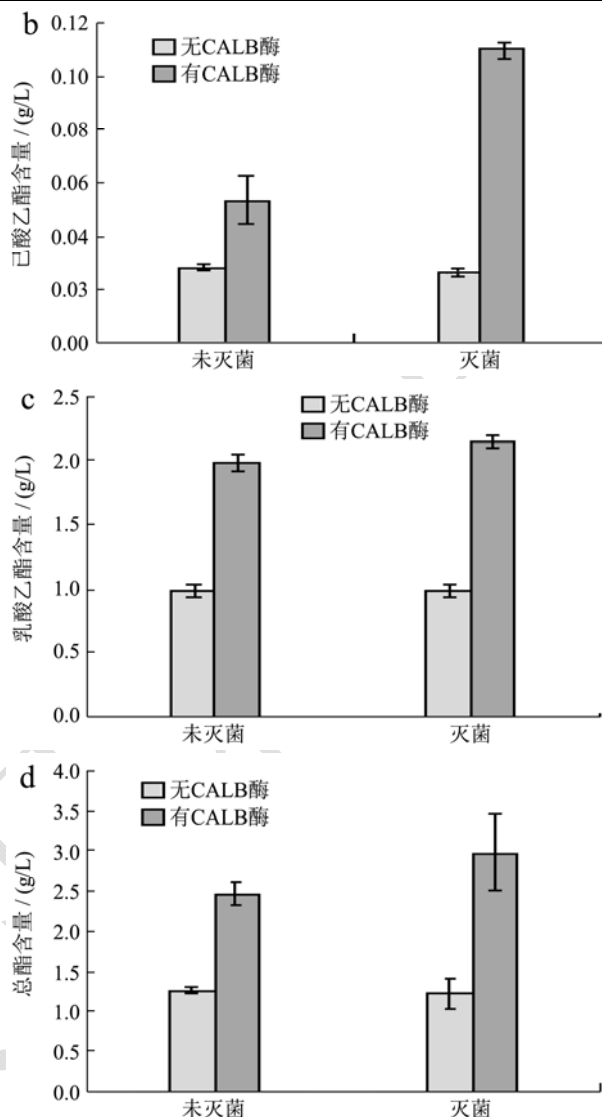
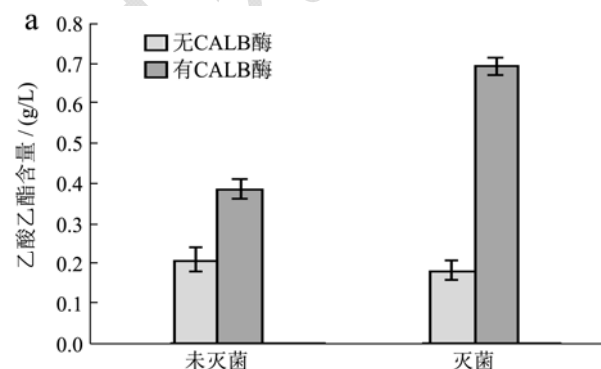


图 1 巴氏灭菌处理对各酯含量的影响

Fig.1 The effect of pasteurization on ethyl acetate

注: a、b、c、d 分别为巴氏灭菌处理对乙酸乙酯、己酸乙酯、乳酸乙酯、总酯合成的影响。

由图 1 可知, 在未添加 CALB 酶的情况下, 未灭菌与灭菌对照, 灭菌实验组乙酸乙酯和己酸乙酯含量分别为 0.21 g/L 和 0.029 g/L, 而灭菌组相应酯含量为 0.18 g/L 和 0.026 g/L, 这一方面是因为经巴氏灭菌处理后, 酒糟中存在的一些利于合成酯的菌种会被杀死; 另一方面, 高温使丢糟内的乙酸、己酸等底物蒸发造成损失。经添加 CALB 酶处理后, 灭菌实验组的乙酸乙酯和己酸乙酯含量分别提升至 0.69 g/L 和 0.11 g/L, 而未灭菌实验组酯含量的提升效果较灭菌组略弱。这是因为灭菌可有效避免杂菌将底物转化为非目的酯类, 而经巴氏灭菌处理可有效消除杂菌的不利影响。

2.2 食用酒精添加量对各酯合成的影响

本文考察了食用酒精添加量对 CALB 酶处理白葡萄酒酯化效果的影响, 不同食用酒精添加量对各酯合成的影响如图 2 所示。

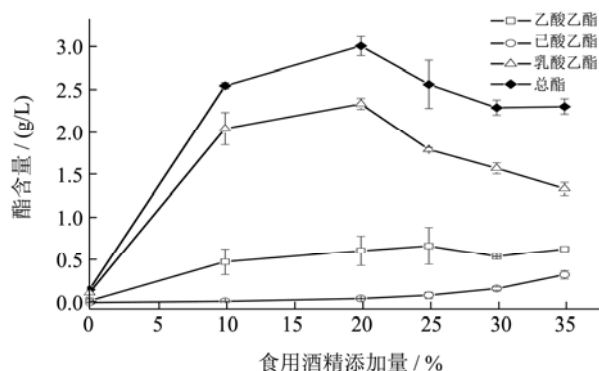


图 2 食用酒精添加量对各酯含量的影响

Fig.2 The effect of edible alcohol addition on the content of esters

由图 2 可知, 各酯的生成量与食用酒精的添加量密切相关。当酒精添加量为 25% 时, 乙酸乙酯浓度最高, 为 0.67 g/L; 当酒精添加量为 35% 时, 己酸乙酯浓度最高, 为 0.33 g/L; 当酒精添加量为 20% 时, 乳酸乙酯和总酯浓度最高, 为 2.35 g/L。不同的反应其热力学和动力学性质不同, 当酒精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, 不仅会对 CALB 酶造成一定的损伤, 致使酶活下降, 也会影响酸与酶的有效结合, 从而降低转化效率, 使得酯含量有所下降。

2.3 CALB 酶添加量对各酯合成的影响

在酯化的过程中, 起着催化作用的 CALB 酶极其重要。实验通过控制 CALB 酶的添加量, 研究了其对各酯合成的影响, 结果如图 3 所示。

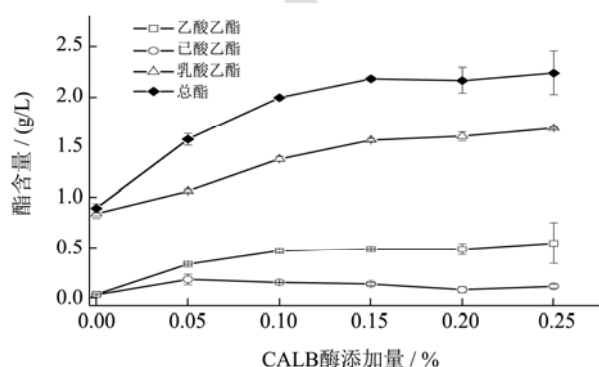


图 3 CALB 酶添加量对各酯含量的影响

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

图 3 表明, CALB 酶添加量对各酯的生成有很大的影响。随着 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 0.1% (W/W) 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; 当酶添加量超过 0.15% (W/W) 时, 各酯含量均趋于平稳, 总酯含量维持在 2.2 g/L。这是因为, 当 CALB 含量较低时, 催化剂作为反应的主要限制性因素, 阻碍了酯的合成; 随着 CALB 酶添加量的增加, 催化剂的量在逐渐满足反应需求。结合上述实验结果, 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, 酶添加量定位 0.1% (W/W)。

2.4 温度对各酯合成的影响

在酶催化的过程中, 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、动力学过程产生有很大的变化。实验探究了温度对各酯合成的影响, 实验结果如图 4 所示。

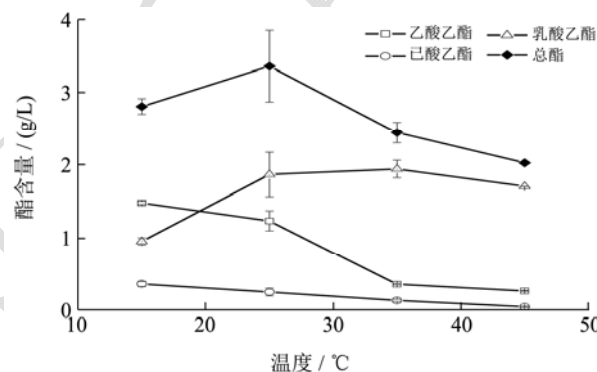


图 4 反应温度对各酯含量的影响

Fig.4 The effect of reaction temperature on the content of esters

图 4 可知, 当温度由 15 °C 升至 25 °C 时, 仅乳酸乙酯含量由 0.96 g/L 升至 1.87 g/L, 乙酸乙酯和己酸乙酯含量分别由 1.48 g/L、0.37 g/L 降至 1.24 g/L、0.25 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酒糟中酯的酶促合成反应, 常温对酒糟中酯的合成有利。常温下即可完成酒糟基酒的制作, 这降低了能源消耗, 减少了换热成本, 成为 CALB 酶催化酒糟制作基酒的一大优势。

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 Kirchoff 定律:

$$\left(\frac{\partial \ln K^\theta}{\partial \ln K^\theta}\right)_P = \frac{\Delta_r H_m^\theta}{RT^2};$$

标准摩尔反应焓变 $\Delta_r H_m^\theta = \text{常数} < 0$

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, 而丢糟中含有大量的水, 不利于反应的正向进行, 因此平衡常数对酒糟中酯合成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。故酒糟中的酯合成最适温度较 CALB 酶的最

适温度有所降低。

2.5 反应时间对各酯合成的影响

在反应的进程中，酯的生成量和反应时间密切相关。本文考察了反应时间对酯含量的影响，结果如图5所示。

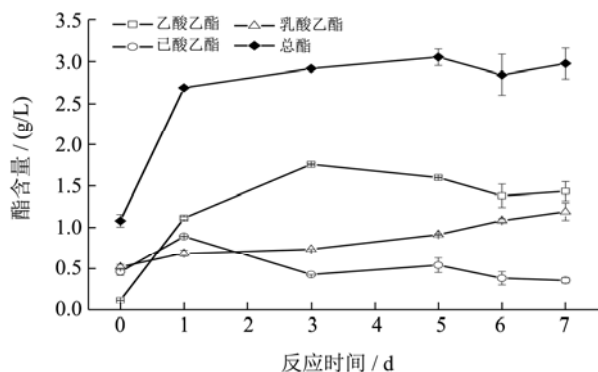


图5 反应时间对各酯含量的影响

Fig.5 The effect of reaction time on the content of esters

由图5可知，乙酸乙酯及总酯含量在反应的第一

天增加迅速，而后趋于平缓，增加缓慢，在第三天时乙酸乙酯达到峰值 (1.76 g/L)，在第五天时总酯达到峰值 (3.05 g/L)；己酸乙酯在反应第一天达到峰值 (0.89 g/L)，而后随反应时间的增加而略有减少并趋于稳定；乳酸乙酯含量随反应时间的增加而缓慢增加，在第七天后趋于平缓(1.08 g/L)。

通过探究反应时间和各酯含量的关系，可清晰各酯的积累情况。在 CALB 酶的催化下，乙酸乙酯、己酸乙酯及总酯浓度在反应初期便已大量生成，而乳酸乙酯积累较缓慢。利用这个特点，不仅在很大程度上缩短了时间成本，还可通过调整反应时间来获取不同类型的基酒。

2.6 正交实验

考虑到影响酒糟酶促反应的各主要条件相互之间存在较大影响，故设计反应正交实验，以期寻找更好反应条件，获得更好的效益。结果如表1和图6所示。

表1 正交实验直观表 $L_9(3^4)$

Table 1 The result of orthogonal experiment

水平因素	反应温度 A/ $^{\circ}\text{C}$	酒精添加量 B/(V/W , %)	CALB 酶添加量 C/(W/W , %)	反应时间 D/d	实验结果/(g/L)
1	15	17.5	1	3	3.07
2	15	20	1.25	4	3.49
3	15	22.5	1.5	5	3.57
4	20	17.5	1.25	5	4.28
5	20	20	1.5	3	4.53
6	20	22.5	1	4	4.04
7	25	17.5	1.5	4	3.95
8	25	20	1	5	3.48
9	25	22.5	1.25	3	4.05
K_1	3.38	3.77	3.53	3.88	
K_2	4.28	3.83	3.94	3.83	
K_3	3.83	3.88	4.01	3.78	
极差	0.91	0.12	0.49	0.11	

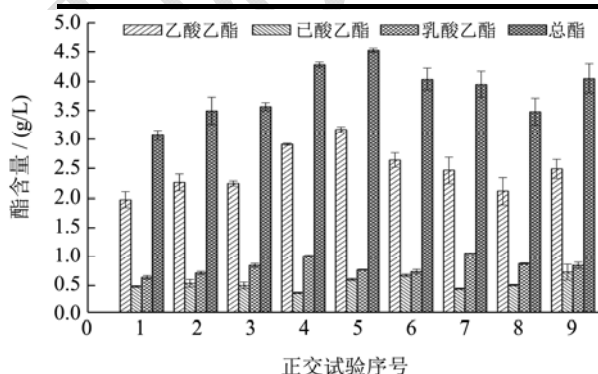


图6 正交实验中各组酯含量

Fig.6 The result of orthogonal experiment

正交试验表明，酒精添加量为 20% (V/W)、CALB 酶添加量为 0.15% (W/W)、20 $^{\circ}\text{C}$ 反应 3 d 后，得到总酯含量最高，为 4.53 g/L，其中，乙酸乙酯 3.17 g/L，己酸乙酯 0.59 g/L，乳酸乙酯 0.76 g/L。各因素对实验结果的影响大小为：反应温度>CALB 酶的添加量>酒精添加量>反应时间。

2.7 小试实验

为满足工业化、大批量处理白酒丢糟的需求，在上述研究的基础上，选定在最优反应条件下，进行小试实验，实现了 1 kg 酒糟反应体系的初步放大实验。

小试实验得乙酸乙酯 3.44 g/L, 己酸乙酯 0.85 g/L, 乳酸乙酯 0.70 g/L, 总酯 4.98 g/L。与 2.6 实验结果相比较, 乙酸乙酯增加 0.27 g/L, 己酸乙酯增加 0.26 g/L, 乳酸乙酯降低 0.06 g/L, 总酯增加 0.45 g/L。结果表明, 经放大实验后各酯含量略有增加, 考虑这是由于丢糟体系放大后微环境有所变化所致, 相对而言各酯及总酯含量依然基本保持稳定, 提示确定的工艺条件有可能可以进一步实现放大。

3 结论

通过对用 CALB 处理白酒丢糟促进丢糟中有机酸酯化的工艺条件的研究, 主要得到以下结论:

3.1 通过对巴氏灭菌、CALB 添加量、食用酒精添加量、反应温度以及时间等进行考察, 得到最佳工艺为丢糟经巴氏灭菌后, 酒精添加量为 20% (*V/W*)、CALB 酶添加量为 0.15% (*W/W*)、20 °C 下反应时间为 3 d 后, 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 0.21 g/L 提升至 3.44 g/L, 己酸乙酯含量由 0.03 g/L 提升至 0.50 g/L, 总酯含量由 1.28 g/L 提升至 4.98 g/L, 反应时间由 7 d 减至 3 d。

3.3 进一步进行放大实验表明, 用所优化的工艺处理白酒丢糟能够稳定提高丢糟中各酯的含量, 为进一步放大奠定了基础。

3.4 经优化后的工艺耗时短、能耗小且酯含量提升明显, 具有很大的继续研究价值。若能进一步进行放大实验, 不仅能大幅提高丢糟基酒的品质, 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] 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
- [2] 李芳香, 张稳, 郁建平, 等. 茅台酱香型酒糟基本成分的测定与分析[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(9): 114-116
LI Fang-xiang, ZHANG Wen, YU Jian-ping, et al. Determination and analysis of basic components of vinasse with moutai-flavor type [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2016, 44(9): 114-116
- [3] 方晓璞, 张文学, 张其圣, 等. 丢糟酿酒复合发酵剂的应用开发研究[J]. 中国酿造, 2007, 2007(4): 55-57

- FANG Xiao-pu, ZHANG Wen-xue, ZHANG Qi-sheng, et al. Application and development of compound starters for liquor fermentation from waste lees [J]. China Brewing, 2007, 2007(4): 55-57
- [4] 张丽华, 王小媛, 李昌文, 等. 酒糟再利用的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(11): 250-256
ZHANG Li-hua, WANG Xiao-yuan, LI Chang-wen, et al. Recent advances in comprehensive utilization of grain stillage [J]. Food and Fermentation Industries, 2007, 43(11): 250-256
 - [5] 李政一, 周定, 侯文华. 酒糟资源化研究[J]. 环境科学学报, 2000, s1: 145-149
LI Zheng-yi, ZHOU Ding, HOU Wen-hua. Studies on the resource recovery technique of distillers grain [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2000, s1: 145-149
 - [6] 袁颀, 邱树毅, 彭正东, 等. 固态白酒生产酒糟的资源化利用研究进展[J]. 酿酒科技, 2012, 5: 88-91
YUAN Jie, QIU Shu-yi, PENG Zheng-dong, et al. Research advance in the reclamation of distiller's grains in liquor production by solid fermentation [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2012, 5: 88-91
 - [7] 高路. 酒糟的综合利用[J]. 酿酒科技, 2004, 5: 101-102
GAO Lu. Comprehensive utilization of distiller's grains [J]. Liquor-making Science & Technology, 2004, 5: 101-102
 - [8] 张敏. 酒糟制甘油的生产工艺及研究进展[J]. 湖南科技学院学报, 2001, 22(3): 47-49
ZHANG Min. Production of glycerol with distillers, grains and research progress [J]. Journal of Hunan University of Science and Engineering, 2001, 22(3): 47-49
 - [9] 任羽, 王松, 王涛. 酒糟栽培食用菌研究现状[J]. 中国酿造, 2017, 36(3): 5-9
REN Yu, WANG Song, WANG Tao. Research status of edible fungi cultivated by distillers' grains [J]. China Brewing, 2017, 36(3): 5-9
 - [10] 陈佳兴, 邱树毅, 王雪邴. 醇碱法提取酱香型白酒酒糟中蛋白质的工艺研究[J]. 食品工业, 2018, 39(2): 37-40
CHEN Jia-xing, QIU Shu-yi, WANG Xue-li. Study on the extraction of protein from wine lees of maotai-flavor liquor by alcohol-alkali method [J]. Food Industry, 2018, 39(2): 37-40
 - [11] 范文权, 高洪涛. 鲜酒糟加工食醋工艺研究[J]. 酿酒科技, 2000, 5: 89-89
FAN Wen-quan, GAO Hong-tao. Technological research on the production of vinegar with fresh distiller's grains [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2000, 5: 89-89

- [12] 马文鹏,裴芳霞,任海伟,等.双酶复合水解酒糟制备可发酵糖的工艺研究[J].酿酒科技,2016,4:89-92
MA Wen-peng, PEI Fang-xia, REN Hai-wei, et al. The preparation of fermentable sugar through the hydrolysis of distillers grains by two enzymes [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2016, 4: 89-92
- [13] 刘高梅,陈海秀,任海伟.酒糟酶解糖化条件的研究[J].食品工业科技,2012,33(15):138-140
LIU Gao-mei, CHEN Hai-xiu, REN Hai-wei. Distiller's grains pretreatment enzymatic saccharification reducing sugar [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(15): 138-140
- [14] 任海伟,徐娜,李金平,等.化学预处理提高酒糟生物质酶解糖化效果[J].农业工程学报,2014,30(16):239-246
REN Hai-wei, XU Na, LI Jin-ping, et al. Chemical pretreatment improving effect of enzymatic saccharification of distillers grains biomass [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, 30(16): 239-246
- [15] Bi D X, Chu D Q, Zhu P, et al. Utilization of dry distiller's grain and solubles as nutrient supplement in the simultaneous saccharification and ethanol fermentation at high solids loading of corn stover [J]. Biotechnology Letters, 2011, 33(2): 273-276
- [16] 王月梅,赵迎路.清香型白酒发酵中的酯化研究[J].酿酒科技,2003,1:47-49
WANG Yue-mei, ZHAO Ying-lu. Study on the esterification in the fermentation of fen-flavor liquors [J]. Liquor-making Science & Technology, 2003, 1: 47-49
- [17] 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
- [18] 赵东,彭志云,牛广杰,等.强化发酵丢糟再生产白酒的研究[J].中国酿造,2011,30(2):147-149
ZHAO Dong, PENG Zhi-yun, NIU Guang-jie, et al. Recycle and utilization of distiller's grains for Chinese liquor production by fortified fermentation [J]. China Brewing, 2011, 30(2): 147-149
- [19] 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, et al. Research on the kinetics of esterifying enzyme [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2006, 6: 39-40
- [20] 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, YAN XU. Producing flavoring liquid by using rhizopus Chinese R92 to improve new type liquor quality [J]. Liquor Making, 2007, 34(1): 27-31
- [21] 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 chinensis* in liquor-making [J]. Food & Fermentation Industries, 2015, 41(4): 246-250
- [22] 颜兴和,王栋,徐岩.华根霉脂肪酶有机相合成酶活的研究[J].工业微生物,2005,35(2):24-28
YAN Xing-He, WANG Dong, XU Yan. Synthetic activity of *Rhizopus chinensis* lipase in organic media [J]. Industrial Microbiology, 2005, 35(2): 24-28
- [23] Xu Y, Wang D, Mu X Q, et al. Biosynthesis of ethyl esters of short-chain fatty acids using whole-cell lipase from *Rhizopus chinensis*, CCTCC M201021 in non-aqueous phase [J]. Journal of Molecular Catalysis B Enzymatic, 2002, 18(1): 29-37
- [24] Sun S Y, Xu Y. Solid-state fermentation for 'whole-cell synthetic lipase' production from *Rhizopus chinensis* and identification of the functional enzyme [J]. Process Biochemistry, 2008, 43(2): 219-224
- [25] 潘志友,韩双艳,林影,等.南极假丝酵母脂肪酶 B 的酿酒酵母表面展示及其催化己酸乙酯的合成[J].生物工程学报,2008,24(4):673-678
PAN Zhi-you, HAN Shuang-yan, LIN Ying, et al. Expression of *Candida antarctica* lipase B on yeast surface and synthesis of ethyl hexanoate catalyzed by CALB [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2008, 24(4): 673-678
- [26] 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,2005,9(2):155-160
ZHAO Tian-tao, GAO Jing, LI Wei-jie, et al. The catalytic mechanism and application of *Candida antarctica* lipase B [J]. Journal of Molecular Catalysis, 2005, 19(2): 155-160
- [27] 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

(下转第 123 页)