

源于中高温大曲的米根霉制备米曲 工艺优化及应用

Optimization and application of Miqu prepared by *Rhizopus oryzae*
from medium-high temperature Daqu

黄科屹¹ 邓 杰^{1,2} 卫春会^{1,2}

HUANG Ke-yi¹ DENG Jie^{1,2} WEI Chun-hui^{1,2}

黄治国^{1,2} 石选超^{1,2} 任志强^{1,2}

HUANG Zhi-guo^{1,2} SHI Xuan-chao^{1,2} REN Zhi-qiang^{1,2}

(1. 四川轻化工大学酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川 宜宾 644000;

2. 中国轻工业酿酒生物技术及智能制造重点实验室, 四川 宜宾 644000)

(1. Sichuan University of Science & Engineering, Liquor Brewing Biotechnology and Application Key Laboratory of Sichuan Province, Yibin, Sichuan 644000, China; 2. Liquor Brewing Biotechnology and Intelligent Manufacturing Key Laboratory of China Light Industry, Yibin, Sichuan 644000, China)

摘要:目的:提高大曲白酒的出酒率。方法:从中高温大曲中筛选出高产糖化酶的菌株,将该菌株制作成米曲并应用至大曲白酒的酿造中,测定出酒率。结果:分离得到一株高产糖化酶菌株 M-1,鉴定结果为米根霉(*Rhizopus oryzae*)。用该菌株制备成米曲的最优工艺条件为 $m_{\text{麸皮}}:m_{\text{米粉}}$ 为 2:8、米曲含水量 45%、培养时间 72 h、干燥温度 40 ℃,此时米曲糖化酶活力高达 864.50 U/g。当 M-1 米曲添加量为粮食质量的 2% 时,白酒出酒率提高至 43.17%。结论:建立了一种将米根霉制备成米曲来提高中高温大曲糖化酶活力的方法。

关键词:米根霉;大曲;白酒;米曲;糖化酶活力

Abstract: Objective: A microbial enhancer with high-yield glucoamylase was developed from medium-high temperature Daqu and applied to the brewing of Daqu Baijiu for the yield increasing.

Methods: Strains with high yield of glucoamylase was isolated from medium-high temperature Daqu and used to make Miqu. Miqu was employed as an enhanced starter in the brewing of Daqu Baijiu, and the yield of Baijiu were tested. **Results:** A strain M-1 with higher glucoamylase production was isolated and identified

as *Rhizopus oryzae*. The results of the optimized conditions for Miqu making was as follows: bran and rice (2:8), moisture content 45%, incubation time 72 h, drying temperature 40 ℃. Under the control of these conditions, the glucoamylase activity of Miqu is as high as 864.50 U/g. When applying the Miqu to the brewing of Daqu Baijiu, the results showed that when the addition amount of by, and the yield increased to 43.17% with the addition of 2% (weight of grain) M-1 Miqu. **Conclusion:** This study established a method for preparing Miqu from *Rhizopus oryzae* to improve the glucoamylase activity of medium-high temperature Daqu.

Keywords: *Rhizopus oryzae*; Daqu; Baijiu; Miqu; glucoamylase activity

浓香型白酒是近几个世纪以来最受欢迎的酒精饮料之一,是采用中高温大曲作为糖化发酵剂进行泥窖固态发酵、固态蒸馏、陈酿、勾调而成的^[1-2]。糖化发酵是中高温大曲发酵生产浓香型白酒的一道重要工序,即淀粉水解为葡萄糖。其关键为中高温大曲中丰富多样的微生物(如霉菌、细菌等)分泌的糖化酶、淀粉酶、液化酶等各类水解酶系的相互作用^[3-4]。糖化酶是发酵过程中淀粉转化为葡萄糖的重要酶系之一,通常分布在米曲霉、根霉、黑曲霉等霉菌微生物中^[5-7]。张杰等^[8]从中温大曲中筛选出一株高产糖化酶的霉菌 Mxzd-001 并制备成霉菌麸曲,优化麸曲工艺后麸曲糖化酶活力为 1 032 U/g;

基金项目:酿酒生物技术及应用四川省重点实验室开放基金项目(编号:NJ2018-02)

作者简介:黄科屹,男,四川轻工业大学在读硕士研究生。

通信作者:任志强(1985—),男,四川轻工业大学讲师,博士。

E-mail: zhiqren@foxmail.com

收稿日期:2021-12-02 **改回日期:**2022-03-11

将该麸曲应用至浓香型白酒酿造生产中,平均可提高出酒率 4.9% 左右。宋克伟等^[9]从清香型大曲中筛选出一株高产糖化酶的米根霉 9#,并添加至牛栏山清香大曲白酒的酿造环境中,提高了优质酒的出酒率。大曲白酒相较于小曲白酒具有醇香浓郁、回味悠长的特点^[10-11],但也存在出酒率低、成本高的缺陷,这与大曲白酒体系中的糖化酶活力较小曲白酒体系低下具有一定的相关性。因此以添加高产糖化酶的微生物强化剂为试验组,探究高产糖化酶的微生物强化剂对大曲白酒出酒率的影响,对大曲白酒的出酒率提升具有重要意义。

研究拟从中高温大曲中分离出 10 株根霉并选出产糖化酶活力最高的一株,通过形态学鉴定方法以及分子生物学鉴定方法确定该根霉至种水平。将该根霉制作成米曲,从制曲原料、培养时间、加水量、干燥温度 4 个条件优化根霉米曲的糖化酶活力,并将优化后的米曲作为微生物强化剂添加至中高温大曲的酿造环境中,以期提高大曲白酒的出酒率。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

中高温大曲:取自川南某浓香型酒厂,4℃冰箱贮藏用于筛选根霉菌;

蛋白酶 K、DNA 琼脂糖凝胶回收试剂盒:日本 Takara 公司;

可溶性淀粉培养基、马铃薯葡萄糖琼脂培养基:广东环凯微生物科技有限公司。

1.2 仪器和设备

显微镜:DM3000 型,德国 Leica 公司;

高速冷冻离心机:5430R 型,德国 Eppendorf 公司;

PCR 仪:C1000Touch 型,美国 Bio-Rad 公司;

酒精度测试仪:Super Alcoma 型,德国 Julabo 公司。

1.3 菌株的筛选及鉴定

1.3.1 霉菌的分离纯化 称取 10 g 大曲样品,经研钵研磨后(无菌条件下)加 90 mL 蒸馏水,150 r/min 振荡 30 min,取上清液,得到 10^{-1} 的稀释液,依次稀释至 $10^{-2} \sim 10^{-6}$,使用 PDA 固体培养基进行平板涂布培养,挑取少量各霉菌孢子点接入 PDA 斜面培养基,低温保存^[12]。

1.3.2 形态学鉴定 将纯化菌株点植入选择培养基,30℃恒温培养 72 h 后,滴入 3 mL 碘液并使碘液均匀铺满整个平板。检测透明圈直径 D ,菌落直径 d ,计算 D/d

值,选择 D/d 值最大的菌株作为出发菌株;将纯化菌株点植入 PDA 固体培养基,28℃恒温培养 72 h,观察菌落形态,挑取菌丝,染色后于显微镜下观察菌株形态特征,对菌株进行形态学鉴定^[13]。

1.3.3 分子生物学鉴定 采用真菌基因组 DNA 试剂盒提取 M-1 菌株的 DNA,以 ITS1: 5'-TCCGTAG-GT-GAACCTGCGG-3' 和 ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATT-GATATGC-3' 为引物扩增 ITS 序列。PCR 反应体系:引物 ITS1、ITS4 各 1 μ L;模板(基因组)0.5 μ L;Taq PCR Master Mix 25 μ L;超纯水 22.5 μ L;PCR 反应条件:94℃预变性 3 min;94℃变性 30 s;55℃退火 30 s;72℃延伸 45 s;循环 30 次;72℃总延伸 10 min。用 DNA 琼脂糖凝胶回收试剂盒回收扩增出的糖化酶基因产物并送至上海生物工程公司测序,测序结果于 NCBI 数据库比较分析,利用 MEGA7.0 软件构建发育树。

1.3.4 酒精度、糖化酶活力测定方法

(1) 霉菌米曲糖化酶活力:参照 QB/T 4257—2011《酿酒大曲通用分析方法》。

(2) 酒精度:参照 QB/T 4257—2011《酿酒大曲通用分析方法》。

1.4 米曲的制作及应用

1.4.1 米曲制作工艺

(1) 纯种霉菌麸曲的制作:称取 50.0 g 麸皮加入 50 mL 去离子水,充分搅拌,121℃灭菌 20 min,冷却。向无菌麸皮接种 5×10^6 的孢子悬浮液(用无菌水将试管斜面上的霉菌孢子洗下,150 r/min 振荡 10 min,25 $\times$ 16 型血球计数板计数),28℃培养 5 d。控温烘干,贮藏,制得霉菌的一级扩大培养产物——霉菌麸曲。

(2) 霉菌的二级扩大培养产物——纯种霉菌米曲的制作:工艺流程见图 1^[14]。以糖化酶活力为指标,考察 $m_{\text{麸皮}}:m_{\text{米粉}}$ 、培养时间、米曲含水量和干燥温度对米曲糖化酶活力的影响。

1.4.2 米曲在大曲白酒酿造中的应用 将米曲应用至中高温大曲酿造中,以添加米曲为试验组,等质量的米粉、麸皮的混合物为对照组(见表 1),探究米曲对固态酿造出酒率的影响^[15]。

综合考虑生产成本、出酒率来选定酿造用曲,随后扩大酿造规模进行验证实验。如图 2 所示,以 100 kg 梗高粱为原料,M-1 米曲 2 kg,大曲 20 kg,放入发酵罐中发酵 60 d,待发酵完成后取出糟醅蒸酒,测定出酒率。

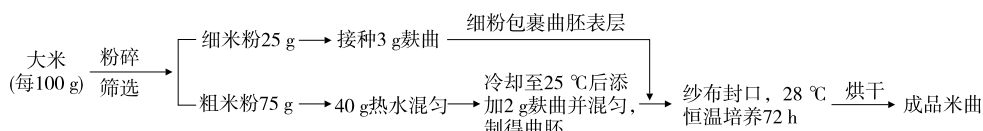


图 1 纯种霉菌米曲工艺流程图

Figure 1 Process flow chart of pure mold Miqu

表 1 酿造用曲配比表(100 g 粮食计)

Table 1 *Quyao* table for brewing(100 grams of grain)

试验号	大曲	M-1 米曲	麸皮米粉混合的粮谷粉
1	20	1	5
2	20	2	4
3	20	3	3
4	20	4	2
5	20	5	1
6	20	6	0
对照组	20	0	6

1.5 数据处理

试验数据用“平均值±标准差”表示,运用 SPSS 16.0 软件对试验结果进行多重比较和显著性分析,每组试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 菌株筛选及鉴定

由表 1 可知,从中高温大曲中共筛选出 10 株根霉,将 *D/d* 最高的菌株 M-1 作为米曲的出发菌株^[16]。

将菌株 M-1 接入 PDA 固体培养基中,发现菌落呈白色,孢子多为黑色,菌丝密集,呈网状,生长迅速。镜检下观察到菌落孢子梗不分枝,从假根处长出。由图 3 可知,

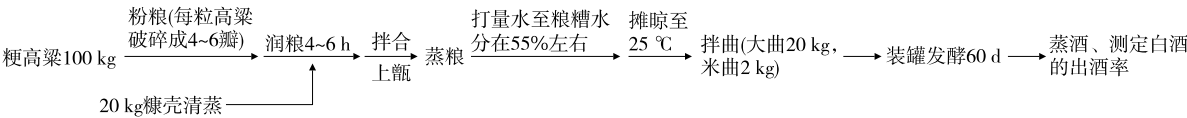


图 2 固态发酵酿造工艺图

Figure 2 Solid state fermentation brewing process diagram

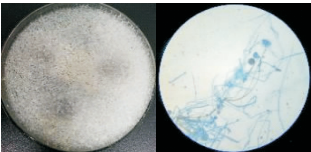
表 2 高产糖化酶菌株筛选结果

Table 2 The results of high yield glycosylase strain

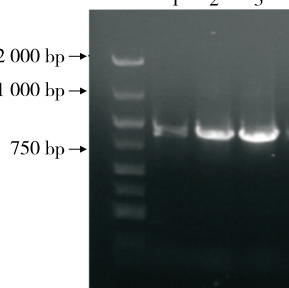
霉菌编号	透明圈直径	菌落直径	<i>D/d</i>
M-1	21.00	12.00	1.75
M-2	7.20	5.50	1.31
M-3	9.00	7.60	1.18
M-4	16.50	12.00	1.38
M-5	14.00	9.80	1.43
M-6	18.00	16.40	1.10
M-7	14.00	10.00	1.40
M-8	5.30	4.50	1.18
M-9	19.30	14.00	1.38
M-10	13.00	8.50	1.53

菌株 M-1 的 rDNA-ITS 序列基因片段全长约 850 bp,其序列与 *Rhizopus oryzae* strain FSU 6160 的同源性达 99.75%,与米根霉菌株 (*Rhizopus oryzae*) (序列号 EU484234.1)相似度为 100%。

综合形态学鉴定和分子生物学结果,将 M-1 菌株鉴定为接合菌纲 (*Zygomycetes*)、毛霉目 (*Mucorales*)、毛霉科 (*Mucoraceae*)、根霉属 (*Rhizopus*)、米根霉 (*Rhizopus oryzae*)。Xiang 等^[16] 将印度毛霉 (*Mucor indicus* XH025)与米根霉 (*Rhizopus oryzae* XH028)应用至米酒酿造中,获得的米酒相较于工业规模生产的米酒香气更浓郁、口感更和谐^[17];米根霉能产生 2-甲基-1-丁醇、3-甲基-1-丁醇等挥发性化合物,因此也常被用于米酒及黄酒酿造中^[18-19]。米根霉 M-1 来源于中高温大曲,具有制备成适于大曲白酒酿造的微生物强化剂的潜能。

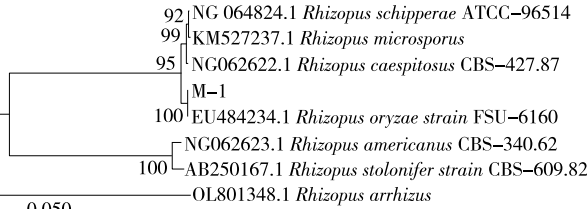


(a) 菌落形态图



1. M-1-I 2. M-1-II 3. M-1-III

(b) rDNA-ITS的PCR扩增图谱



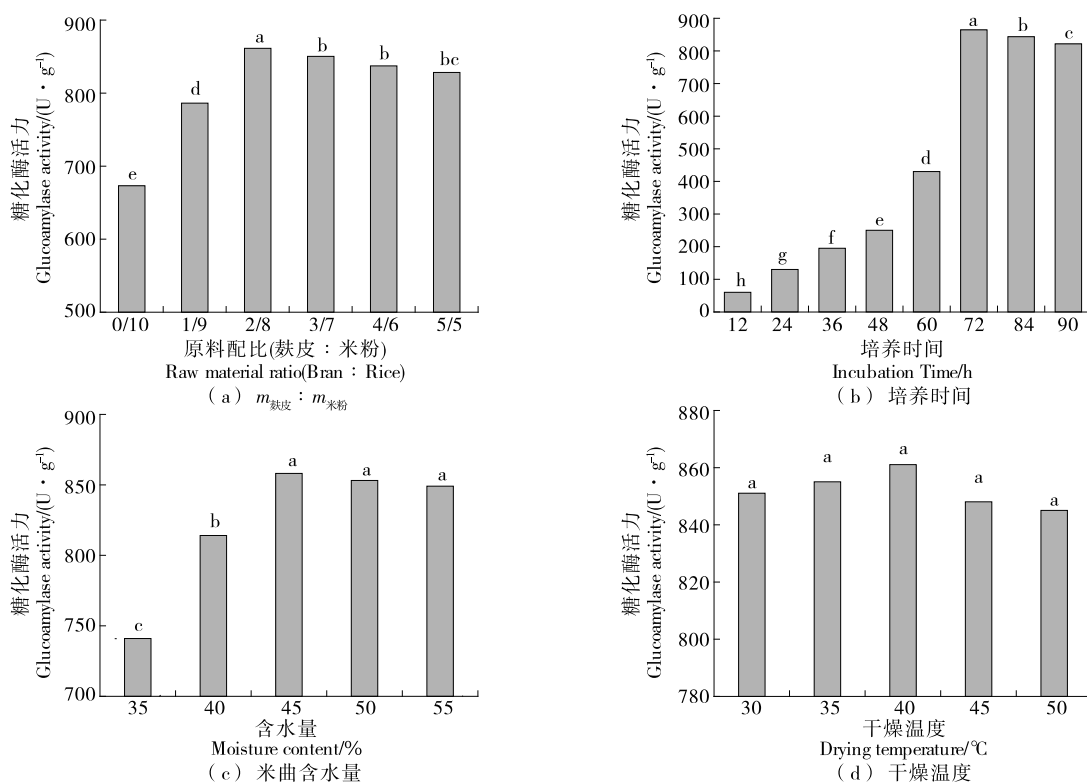
(c) 基于rDNA-ITS基因序列构建的系统发育树

图 3 菌株的筛选与鉴定

Figure 3 Screening and identification of strains

2.2 制曲条件优化

2.2.1 制作 M-1 米曲条件优化 糖化酶是参与淀粉转化为葡萄糖的关键酶系之一^[20]。添加麸皮可以提高原料的疏松度,有利于微生物的生长繁殖。但麸皮也会给酒体带来杂味,影响酒质^[21]。由图4(a)可知,随着麸皮的增



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 各因素对 M-1 米曲糖化酶活力的影响

Figure 4 Effects of different raw material ratio, incubation time, moisture content and drying temperature on the activity of M-1 Miqu glucoamylase

加,该米曲的糖化酶活力呈先增后降的趋势,当 $m_{\text{麸皮}} : m_{\text{米粉}}$ 为 2 : 8 时,糖化酶活力最高为 861 U/g。随后糖化酶活力呈下降趋势,是因为增加麸皮的同时,米粉的含量相应减少,供微生物利用的营养物质也相应缩减。故最终确定 $m_{\text{麸皮}} : m_{\text{米粉}}$ 为 2 : 8。

由图 4(b)可知,随着培养时间的延长,M-1 米曲的糖化酶活力先迅速增加后缓慢下降。当培养时间为 72 h 时,微生物的代谢活动最为活跃,糖化酶活力也达到峰值,为 863 U/g,显著高于 72 h 前的 ($P < 0.05$),72 h 后糖化酶活力有所下降。考虑到培养时间过长容易滋生杂菌,确定培养时间为 72 h。

水分是米曲培养阶段微生物生长繁殖的基本营养物质之一。含水量低容易引起曲药通气性差、氧气缺乏;含水量高容易延滞菌株的生长,生成孢子^[22]。由图 4(c)可知,随着米曲含水量的增加,糖化酶活力呈先上升后略微下降的趋势。当米曲含水量为 45% 时,糖化酶活力达到峰值 858 U/g。考虑到含水量过高不仅需要更长的时间来干燥米曲,而且染菌的风险也会增加。故确定米曲含水量为 45%。

为使 M-1 米曲具有较长的保质期,培育完成的米曲需进行干燥处理。由图 4(d)可知,随着干燥温度的增加,

米曲的糖化酶活力变化不明显。考虑到米曲的干燥时间与干燥温度呈负相关,从节约能源、时间的角度出发,确定干燥温度为 40 °C。

2.2.2 成品米曲检测 综合制曲条件优化结果,最终确定 M-1 米曲的制作工艺条件为 $m_{\text{麸皮}} : m_{\text{米粉}}$ 为 2 : 8,培养时间 72 h,米曲含水量 45%,干燥温度 40 °C。此条件下制作的米曲有利于米根霉 M-1 糖化酶活力的保持。

由表 3 可知,M-1 成品米曲的酸度、淀粉、水分处于正常范围,糖化酶活力达 864.50 U/g。相较于 1# 米曲 (1 150 U/g) 和 M1 米曲 (1 246.9 U/g) 的还存在差距^[23-24]。然而米根霉 M-1 是直接从中高温大曲中筛选获得的,相较于原中高温大曲,M-1 成品米曲的糖化酶活力提升显著 ($P < 0.05$),应用该米曲至大曲白酒酿造中能较好地发挥糖化性能。

2.3 M-1 米曲的应用

2.3.1 对大曲白酒出酒率的影响 由图 5 可知,随着 M-1 米曲的增加,大曲白酒的出酒率先快速上升后趋于平稳的趋势。酿造用曲配方为试验号 2 时,出酒率达 43.17%,显著高于对照组 (38.13%)。随后大曲白酒的出酒率变化不明显,说明添加该米曲能一定程度上提高大曲白酒的出酒率。从节约成本的角度考虑,选择粮食质

表 3 成品米曲的理化检测结果[†]

Table 3 The physical and chemical test results of manufactured Miqu

米曲	水分/%	酸度/(10 ⁻² mmol · g ⁻¹)	淀粉/%	糖化酶活力/(U · g ⁻¹)
M-1 米曲	10.47±0.19	6.13±0.25	62.78±0.27	864.50±15.00 ^a
原中高温大曲	9.62±0.23	10.30±0.18	61.54±0.21	158.92±12.50 ^b

[†] 字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

量的 2%为该米曲的添加量。

2.3.2 验证实验 为验证实验结果,将原料由 5 kg 扩大至 100 kg,按图 2 的酿造工艺,以添加 2 kg M-1 米曲,20 kg 大曲为试验组;2 kg 麸皮米粉($m_{\text{麸皮}}:m_{\text{米粉}}$ 为 2:8)混合的粮谷粉,20 kg 大曲为对照组进行验证实验。

由图 6 可知,试验组的出酒率(44.61%)显著高于对照组(38.64%)($P<0.05$),提高了 5.91%,与图 5 的结果一致,证明了大曲白酒的出酒率与大曲体系的糖化酶活力呈正相关^[25]。

3 结论

从中高温大曲中筛选出一株产糖化酶能力较强的根霉 M-1,通过形态学及分子生物学方法鉴定其为米根霉。

将该菌株制作成米曲,其糖化酶活力为 864.50 U/g。添加米曲至大曲白酒酿造中,馏出酒的出酒率提升明显,说明出酒率与大曲体系的糖化酶活力呈正相关。米根霉 M-1 是从大曲中筛选获得的,应用该菌株制作的米曲(微生物强化剂)于大曲白酒的酿造中能更好的兼容,产糖化酶能力受环境的影响较小。然而该米曲对出酒率的提升存在限制性,其糖化酶活力尚未达到 1 000 U/g,从中高温大曲中还能筛选出产糖化酶能力更强的微生物,应用该微生物的强化剂至大曲白酒酿造中,出酒率可能进一步提高。后续将从扩大试验规模、酒体风味等方向解决问题,以进一步完善理论支撑数据。

参考文献

- [1] ZOU W, ZHAO C Q, LUO H B. Diversity and function of microbial community in Chinese strong-flavor Baijiu ecosystem: A review[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9(4): 671.
- [2] 刘建学, 刘金科, 李璇, 等. 白酒酒醅高产酯酵母筛选鉴定及其发酵性能研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(6): 42-49.
- [3] 徐军. 浓香型枝江白酒香味成分的分析研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019: 1-2.
- [4] 张芸翌. 中高温大曲主发酵期微生物群落与环境因子及理化性质的关联性研究[D]. 宜宾: 四川轻化工大学, 2019: 1-3.
- [5] 李智琪, 史瑛, 王萌萌, 等. 清香型白酒酒醅乳酸菌分离鉴定及其自溶特性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(3): 14-18.
- [6] 俞剑荣, 杨映津, 夏永军, 等. 黄酒酒曲中霉菌筛选及其制曲研究[J]. 江西农业学报, 2016, 28(5): 79-82.

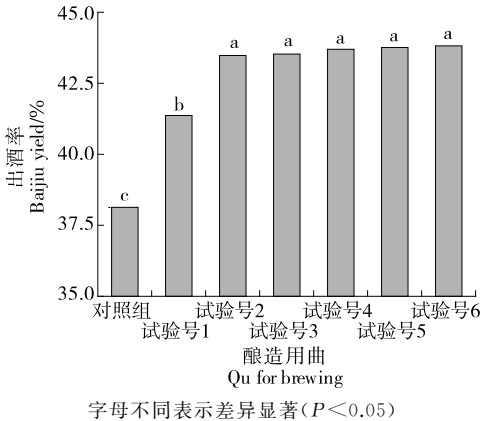


图 5 添加 M-1 米曲对大曲白酒出酒率的影响

Figure 5 The effect of adding M-1 Miqu on the liquor yield of Daqu Baijiu

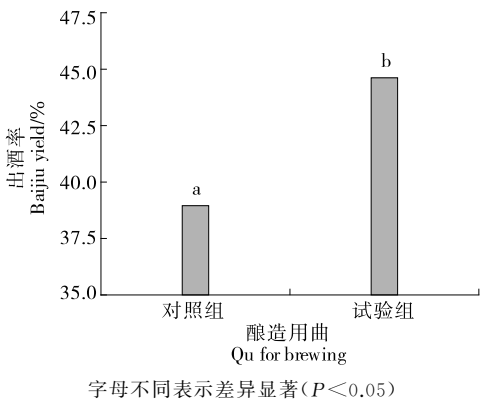


图 6 100 kg 规模的验证实验

Figure 6 The verification experiment of 100 kg scale

- from Koji for Chinese rice wine and Koji-making[J]. Journal of Jiangxi Agriculture, 2016, 28(5): 79-82.
- [7] LIU H L, SUN B G. Effect of fermentation processing on the flavor of Baijiu[J]. Agric Food Chem, 2018, 66(22): 5 425-5 432.
- [8] 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 J, CHENG W, GUAN Y Q, et al. Optimization and application of culture technology of Fuqu using mould Mxzd-001 with high saccharifying power[J]. Brewing Technology, 2021(1): 17-23.
- [9] 宋克伟, 胡建华, 魏金旺, 等. 米根霉在牛栏山基酒生产中的应用[J]. 酿酒科技, 2015(2): 73-75.
- SONG K W, HU J H, WEI J W, et al. Application of Rhizopus oryzae in the production of Niulanshan base liquor[J]. Brewing Technology, 2015(2): 73-75.
- [10] 张宿义. 泸型酒技艺大全[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2011: 224-226.
- ZHANG S Y. The brewing technique pandect of Lu-type liquor[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2011: 224-226.
- [11] FAN W L. Headspace solid phase microextraction and gas chromatography-olfactometry dilution analysis of young and aged Chinese "Yanghe Daqu" liquors[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53: 7 931-7 938.
- [12] 张旭姣, 闫裕峰, 周景丽, 等. 强化多微麸曲制备工艺优化及其在陈醋酒精发酵阶段的应用[J]. 中国酿造, 2020, 39(2): 129-134.
- ZHANG X J, YAN Y F, ZHOU J L, et al. Optimization of preparation technology of fortified Fuqu with multi-microorganisms and its application in alcohol fermentation of aged vinegar[J]. Brewing in China, 2020, 39(2): 129-134.
- [13] HUANG Y G, WU Q, XU Y. Isolation and identification of a black Aspergillus strain and the effect of its novel protease on the aroma of Moutai-flavoured liquor[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2014, 120(3): 268-276.
- [14] 沈怡方. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 96-103.
- SHEN Y F. Baijiu production technology[M]. Beijing: China Light Industry Press, 1998: 96-103.
- [15] 郭燕, 钟迟迪, 董晓山, 等. 中高温大曲中酵母菌的分离及其在小曲酒中发酵性能初探[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(8): 78-84.
- GUO Y, ZHONG C D, DONG X S, et al. Isolation and identification of yeast strains from near high temperature Daqu and characterization of their fermentation performance via brewing Baijiu by purebred rice Qu[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(8): 78-84.
- [16] 刘茗铭, 周阳子, 袁乐梅, 等. 酒曲中高产糖化酶霉菌的筛选及其固态发酵产酶条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(10): 118-123.
- LIU M M, ZHOU Y Z, YUAN L M, et al. The selection of high yield glucoamylase starter and the optimization of its solid fermentation production enzyme[J]. Food and Fermentation Industry, 2018, 44(10): 118-123.
- [17] XIANG W L, XU Q, ZHANG N D, et al. *Mucor indicus* and *Rhizopus oryzae* co-culture to improve the flavor of Chinese turbid rice wine[J]. Research Article, 2019, 99(12): 5 577-5 585.
- [18] 曹钰, 陆健, 方华, 等. 绍兴黄酒麦曲中真菌多样性的研究[J]. 食品科学, 2008(3): 277-282.
- CAO Y, LU J, FANG H, et al. Fungal diversity of wheat Qu of Shaoxing rice wine[J]. Journal of Future Foods, 2008(3): 277-282.
- [19] FENG X M, THOMAS O L, JOHAN S. Production of volatile compounds by *Rhizopus oligosporus* during soybean and barley tempeh fermentation [J]. International Journal of Food Microbiology, 2007, 113(2): 133-141.
- [20] WANG C, YANG L L, LUO L N, et al. Purification and characterization of glucoamylase of *Aspergillus oryzae* from Luzhou-flavour Daqu[J]. Biotechnol Lett, 2020, 42(11): 2 345-2 355.
- [21] 余有贵, 罗俊, 熊翔, 等. 小麦品种对偏高温大曲发酵动态影响的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 405-408.
- YU Y G, LUO J, XIONG X, et al. Effects of wheat varieties on fermentation dynamics of Daqu at higher temperature[J]. Food Science, 2007, 28(10): 405-408.
- [22] 余有贵. 泸州和邵阳大曲培养过程中微生物的比较研究[J]. 酿酒, 2005, 32(2): 23-25.
- YU Y G. Comparative study of microorganisms in culture of Luzhou Daqu and Shaoyang Daqu[J]. Liquor Making, 2005, 32(2): 23-25.
- [23] 周立平, 陈旭峰, 孙佰申. 日本米曲霉菌菌株特性及通风制曲工艺[J]. 酿酒科技, 2004(4): 23-24, 26.
- ZHOU L P, CHEN X F, SUN B S. Japanese *Aspergillus oryzae* strain properties & ventilated starter-making technology [J]. Liquor-making Science & Technology, 2004(4): 23-24, 26.
- [24] 袁亦舟, 张伟国, 徐建中. 青稞酒曲微生物多样性分析及米根霉制曲条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(5): 39-45.
- YUAN Y Z, ZHANG W G, XU J Z. Investigation of the microbial diversity in Highland barley Qu and optimization of the Koji-making condition with *Rhizopus oryzae*[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(5): 39-45.
- [25] 张东平. 根霉酵母麸曲在牛栏山基酒生产中的应用[J]. 酿酒, 2011, 38(4): 29-31.
- ZHANG D P. Application of rhizopus and yeast bran Koji in the production of the basic liquor of Niulanshan distillery[J]. Brewing, 2011, 38(4): 29-31.