

# 酒曲中产香微生物的筛选及其生长特性研究

## Study on screening of aroma-producing microbe and growing characters

谢 军<sup>1,2</sup> 罗惠波<sup>1,2</sup> 边名鸿<sup>1,2</sup>

XIE Jun<sup>1,2</sup> LUO Hui-bo<sup>1,2</sup> BIAN Ming-hong<sup>1,2</sup>

杨文斌<sup>1,2</sup> 王大地<sup>1,2</sup> 王 勇<sup>1,2</sup>

YANG Wen-bin<sup>1,2</sup> WANG Da-di<sup>1,2</sup> WANG Yong<sup>1,2</sup>

(1. 四川理工学院, 四川 自贡 643000; 2. 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室, 四川 自贡 643000)

(1. Sichuan University of Science & Engineering, Zigong, Sichuan 643000, China; 2. Liquor Making Bio-Technology & Application of Key Laboratory of Sichuan Province, Zigong, Sichuan 643000, China)

**摘要:** 试验以酯化酶活力、总酯含量和代谢产物丰富度为指标, 于酒曲中分离得到的 62 株真菌中筛选出优良产香微生物。结果表明: 酵母 *Njsys-YT3* 和霉菌 *Njsys-MD45* 都具有较高的酯化酶活力和酯合成能力, 且能产生丰富的代谢产物。*Njsys-YT3* 的酯化酶活力为 16.58 U/mL, 总酯含量为 0.22%; *Njsys-MD45* 的酯化酶活力为 7.18 U/mL, 总酯含量为 0.14%。通过对 *Njsys-YT3* 和 *Njsys-MD45* 生长特性的研究表明: *Njsys-YT3* 和 *Njsys-MD45* 能够在酒精浓度 12.5%, 温度 36 °C, pH 分别为 3.2 和 3.6 的条件下生长, 具有较高的抗逆耐受能力。

**关键词:** 麸曲; 产香微生物; 筛选; GC-MS; 生长特性

**Abstract:** Studied screening of aroma-producing microbe from 62 strains indicated by esterified enzyme activity, total ester content and flavor content. The results showed that: yeast *Njsys-YT3* and *aspergillus Njsys-MD45* had higher esterified enzyme activity and capability of synthesis of the ester, which can produce rich metabolites. The esterified enzyme activity of strains *Njsys-YT3* was 16.58 U/mL and the total ester content was 0.22%, esterified enzyme activities of strains *Njsys-MD45* was 7.18 U/mL and the total ester content was 0.14%. The studies of growing characteristics of strains *Njsys-YT3* and *Njsys-MD45* showed that: Strains *Njsys-YT3* and *Njsys-MD45* had capability of higher stress tolerance, which can grow in alcohol ratio 12.5%, temperature 36 °C, and pH 3.2 and 3.6, reseparatorately.

**Keywords:** bran koji; aroma-producing microbes; screening; GC-MS; growth characteristics

微生物, 在人工控制下经培养、低温烘干而成的散曲<sup>[1]</sup>。麸曲酒具有发酵周期短、资金周转快、出酒率高、粮食利用率高等优点。但因麸曲中微生物含量不足, 只有大曲的百分之几, 并且麸曲酒发酵周期短, 违背了名优白酒发酵“前缓、中挺、后缓落”的温度变化规律, 使得麸曲酒香味淡薄、后味短、酒体欠丰满、口味欠细腻且燥辣、刺激感重<sup>[2]</sup>。

目前中国通常采用菌种改良、改进酿造工艺及应用产香微生物等方法<sup>[3]</sup>, 来增加麸曲酒的香味成分, 提高酒质。20 世纪 60 年代初期, 前沈阳轻院与锦州酒厂曾采用生香酵母来改善麸曲酒的酒质, 随后生香酵母逐渐应用于浓香型和酱香型麸曲白酒的生产, 取得了较好的效果。但由于生香酵母与酒精酵母的生理特性不同, 对培养条件要求严格, 且生长特性不稳定<sup>[4-5]</sup>。因此, 需要重新筛选出适合麸曲酒生产环境且酯化酶活力高、产酯能力强、代谢产物丰富的产香微生物。

酒曲中产香微生物种类十分丰富, 主要包括酵母、细菌和霉菌三大类, 在发酵过程中其通过产生酯化酶来促使酯类化合物等香味物质的合成, 经蒸馏后进入酒体。根据麸曲酒生产的实际情况, 本研究拟从前期分离于酒曲中的 62 株真菌中, 筛选适合麸曲酒生产的产香微生物, 研究其生长特性(酒精耐受性、酸度耐受性及温度耐受性), 旨在得到能够全面改善麸曲酒质量的产香微生物。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

真菌: 23 株酵母和 39 株霉菌, 从各种大曲、小曲中分离得到。

葡萄糖、蔗糖、乙酸乙酯、乳酸乙酯: 分析纯, 科龙化工试剂厂;

酵母膏、琼脂: 生化试剂, 科龙化工试剂厂;

$\alpha$ -淀粉酶: 生化试剂, 3 700 U/g, 北京奥博星生物技术有限责任公司;

麸曲是以麸皮为原料, 经蒸煮灭菌、冷却, 接入纯种酿酒

基金项目: 省部级项目(编号: NJ2013-03)

作者简介: 谢军(1990—), 男, 四川理工学院在读硕士研究生。

E-mail: 839201582@qq.com

通讯作者: 罗惠波

收稿日期: 2015-08-09

糖化酶:生化试剂,10万U/g,上海如吉生物科技发展有限公司;

全自动高压灭菌锅:MLS-3020型,日本三洋公司;

数控恒温摇床培养箱:BS-2F型,常州精成国华仪器有限公司;

pH计:PHJ-02型,上海精密科学仪器有限公司;

气相色谱-质谱联用仪:6890N-5975B型,美国Agilent科技有限公司;

活化培养基:称取马铃薯200g,加水1000mL煮沸30min,纱布过滤,滤液中加25g葡萄糖/蔗糖和20g琼脂,补水至1000mL,pH自然,于121℃灭菌15min备用;

发酵培养基:取150g高粱粉于2L烧杯中,加入少量自来水,搅成糊状,再加热水600mL,搅匀。调pH值为6.0~6.5,按80U/g $\alpha$ -淀粉酶加入高粱粉中,搅匀,置于75℃恒温水浴锅中液化30min,补水至1200mL。将烧杯中的糖化液转移到三角瓶中,高压灭菌,待压力升到0.1MPa后,保压1h,取出冷却至60℃,用硫酸调节pH值4.5,按150U/g糖化酶加入高粱粉中,然后放入60℃恒温水浴锅保温糖化1h,煮沸5min。取出,离心,取上清液备用;

产香初筛培养基:酵母膏10g,溴甲酚紫0.4mg,乙酸乙酯1.0mL,乳酸乙酯1.0mL,琼脂20g,加水至1000mL,121℃灭菌15min。

## 1.2 试验方法

1.2.1 粗酶液的制备 将菌株制成浓度为 $10^7$ CFU/mL的菌悬液,取100 $\mu$ L菌悬液接种于液体发酵培养基中,恒温(110r/min,30℃)培养72h后,以4000r/min离心20min去沉淀,上清液即为粗酶液,用于酯化酶活力测定。

1.2.2 发酵培养基代谢产物提取 以1.2.1发酵条件进行发酵,待发酵结束后,向发酵液中添加2倍95%(V/V)乙醇溶液,在60℃的条件下蒸馏,馏出液供GC-MS分析<sup>[6]</sup>。

1.2.3 酯含量和酯化酶活力的测定 以每分钟消耗1 $\mu$ mol己酸所需的酶量为1个酶活力单位,1U/mL。取10mL环己烷、3.65mL乙醇、6.25mL己酸及0.2mL酶液,酯化反应在密闭的100mL锥形瓶中进行,反应温度为36℃,24h

后,取上清液0.5mL于100mL锥形瓶中,加入5mL水,2滴酚酞,用0.05mol/LNaOH溶液滴定至终点,测定己酸的消耗量<sup>[7-8]</sup>。

### 1.2.4 GC-MS条件

(1) 色谱条件:色谱柱:J&W122-7062,60.0m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 $\mu$ m;载气He;分流比50:1,进样口温度230℃,起始温度60℃,保留1.0min,以5℃/min升温至180℃,保留5min,再以8℃/min升温至230℃,保留4min。

(2) 质谱条件:电离方式EI,电离电压70eV,恒压10Pa,离子源温度230℃,四极杆温度150℃,连接杆温度230℃,全扫描质量范围20.0~550.0<sup>[9]</sup>。

### 1.2.5 产香微生物筛选

(1) 初筛:将菌种接入产香初筛培养基中,30℃倒置培养72h,每隔6h观察一次,测定透明圈( $d_1$ )与菌落( $d_2$ )直径,计算透明圈与菌落直径比( $d_1/d_2$ ),选取 $d_1/d_2$ 较大的作为复筛出发菌株。

(2) 复筛:将初筛菌株接入发酵培养基中,30℃培养144h,发酵结束后按1.2.3测定酯化酶活力和总酯的含量,并按1.2.2对代谢产物进行GC-MS分析,最终筛选出酯化酶活力高、总酯含量高和代谢产物较丰富的产香微生物<sup>[10-12]</sup>。

1.2.6 产香微生物生长特性 研究麸曲环境中的主要因素(高酒精浓度、pH较低以及温度较高的环境)对产香微生物的影响,从而筛选出适于麸曲酒酿造环境的优良菌。每株菌设计4个平行对照组。

## 2 结果与分析

### 2.1 产香酵母筛选

2.1.1 产香酵母初筛 根据产香酵母初筛结果(表1)及相关文献<sup>[13-15]</sup>,以 $d_1/d_2 \geq 3.0$ 作为复筛条件,选择Njsys-YT3、Njsys-YT8、Njsys-YT9、Njsys-YT12和Njsys-YT13作为复筛出发菌株,对其酶学性质和代谢产物进行进一步研究。

表1 产香酵母初筛结果

Table 1 Results of primary screening of aroma-producing yeasts

酵母菌编号	$d_1$ /mm	$d_2$ /mm	$d_1/d_2$	酵母菌编号	$d_1$ /mm	$d_2$ /mm	$d_1/d_2$
Njsys-YT1	7.2	10.3	1.4	Njsys-YT13	5.1	15.9	3.1
Njsys-YT2	5.7	10.5	1.8	Njsys-YT14	3.9	5.2	1.3
Njsys-YT3	4.0	13.2	3.3	Njsys-YT15	4.3	5.3	1.2
Njsys-YT4	3.7	5.0	1.4	Njsys-YT16	3.8	6.0	1.6
Njsys-YT5	4.7	6.7	1.4	Njsys-YT17	4.9	7.2	1.5
Njsys-YT6	5.3	7.1	1.3	Njsys-YT18	5.3	6.3	1.2
Njsys-YT7	4.2	5.0	1.2	Njsys-YT19	4.4	5.4	1.2
Njsys-YT8	5.1	15.8	3.1	Njsys-YT20	4.1	4.8	1.2
Njsys-YT9	4.5	13.9	3.1	Njsys-YT21	3.7	4.4	1.2
Njsys-YT10	4.0	8.1	2.0	Njsys-YT22	5.3	8.6	1.6
Njsys-YT11	3.7	5.7	1.5	Njsys-YT23	4.3	5.7	1.3
Njsys-YT12	4.3	14.1	3.3				

2.1.2 产香酵母复筛 根据产香酵母复筛结果(图 1),菌株 Njsys-YT3 的酯化酶活力 (16.58 U/mL) 和总酯含量 (0.22%) 均为最高,菌株 Njsys-YT3 次之。从复筛菌株代谢产物分析(表 2)来看,Njsys-YT3 (18 种)和 Njsys-YT12 (15 种)的代谢产物最为丰富,且包含其它酵母所能产生的代谢产物。综上所述最终选择 Njsys-YT3 和 Njsys-YT12 作为后续功能麸曲研究中的产香酵母添加菌。

2.2 产香霉菌筛选

2.2.1 产香霉菌初筛 霉菌普遍均能产生一定量的酯化酶,根据产香霉菌初筛结果(表 3)及相关文献<sup>[13-15]</sup>,以  $d_1/d_2 \geq$

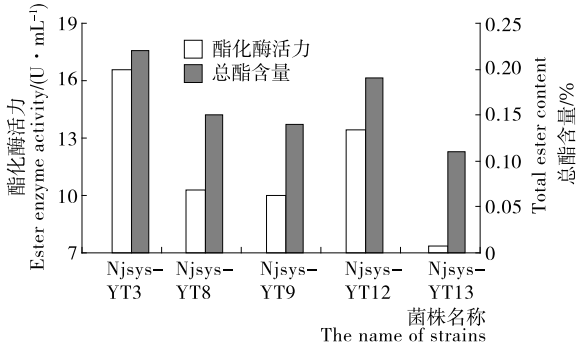


图 1 产香酵母复筛结果

Figure 1 The results of secondary screening of aroma-producing yeasts

1.5 的菌株作为复筛菌株,选择 Njsys-MD6、Njsys-MD15、Njsys-MD26、Njsys-MD31、Njsys-MD45 和 Njsys-MD50 作为复筛出发菌株,对其酶学性质和代谢产物进行进一步研究。

表 2 产香酵母代谢产物分析

Table 2 The analysis of metabolites products of aroma-producing yeasts

酵母菌编号	发酵产物
Njsys-YT3	乙醇、正丙醇、异戊醇、2,3-丁二醇、β-苯乙醇、甲基乙酰甲醇;乙醛、3-羟基-丁酮;乙酸、苯乙酸、十六烷酸;甲酸乙酯、甲酸异戊酯、乙酸乙酯、甲羟戊酸内酯、丁酸乙酯、丁酸内酯、乳酸乙酯
Njsys-YT8	乙醇、异戊醇、2,3-丁二醇、糠醇;乙醛、3-羟基-丁酮;甲酸、苯乙酸;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯
Njsys-YT9	乙醇、异戊醇、糠醇;乙醛、糠醛;甲酸、丁酸、苯乙酸;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、乳酸乙酯
Njsys-YT12	乙醇、正丙醇、异戊醇、2,3-丁二醇、糠醇;乙醛、糠醛、3-羟基-丁酮;甲酸、苯乙酸;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、丁内酯、β-苯乙酸酯
Njsys-YT13	乙醇、正丙醇、2,3-丁二醇、糠醇;乙醛、糠醛、3-羟基-丁酮;甲酸、苯乙酸;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯

表 3 产香霉菌初筛结果

Table 3 Results of primary screening of aroma-producing molds

霉菌编号	$d_1/mm$	$d_2/mm$	$d_1/d_2$	霉菌编号	$d_1/mm$	$d_2/mm$	$d_1/d_2$
Njsys-MD1	5.4	6.5	1.2	Njsys-MD30	12.5	16.9	1.4
Njsys-MD3	9.3	11.9	1.3	Njsys-MD31	13.4	20.1	1.5
Njsys-MD5	11.4	11.9	1.0	Njsys-MD32	15.3	19.3	1.3
Njsys-MD6	9.5	27.9	2.9	Njsys-MD33	14.3	17.1	1.2
Njsys-MD7	7.1	9.9	1.4	Njsys-MD34	11.3	13.7	1.2
Njsys-MD8	12.1	16.2	1.3	Njsys-MD35	5.3	7.0	1.3
Njsys-MD9	8.4	10.4	1.2	Njsys-MD37	9.4	12.9	1.4
Njsys-MD10	14.0	19.8	1.4	Njsys-MD39	8.7	10.5	1.2
Njsys-MD12	12.7	16.3	1.3	Njsys-MD40	12.7	14.4	1.1
Njsys-MD14	8.7	11.7	1.3	Njsys-MD43	8.0	11.3	1.4
Njsys-MD15	6.5	16.3	2.5	Njsys-MD45	14.3	24.5	1.7
Njsys-MD17	17.3	19.5	1.1	Njsys-MD47	15.5	16.8	1.1
Njsys-MD18	12.1	15.2	1.3	Njsys-MD50	14.2	23.2	1.6
Njsys-MD20	16.2	18.6	1.1	Njsys-MD51	3.5	4.7	1.3
Njsys-MD22	6.1	7.4	1.2	Njsys-MD54	6.1	7.9	1.3
Njsys-MD23	10.2	14.1	1.4	Njsys-MD55	8.2	11.3	1.4
Njsys-MD24	8.3	9.9	1.2	Njsys-MD99	7.5	9.7	1.3
Njsys-MD26	9.5	24.1	2.5	Njsys-MD1	14.1	17.2	1.2
Njsys-MD8	11.3	14.3	1.3	Njsys-MD2	12.8	16.9	1.3
Njsys-MD29	15.2	19.5	1.3				

2.2.2 产香霉菌复筛 根据产香霉菌复筛结果(图2),菌株 Njsys-MD45 的酯化酶活力(6.68 U/mL)和总酯含量(0.14%)均为最高,其次是 Njsys-MD6 和 Njsys-MD50。从复筛菌株代谢产物分析(表4)来看,各初筛霉菌的代谢产物均较丰富,其中菌株 Njsys-MD6、Njsys-MD45、Njsys-MD50 最为丰富,且包含其它霉菌菌株所能产生的代谢产物,综上所述最终选择 Njsys-MD6、Njsys-MD45 及 Njsys-MD50 作为后续功能麸曲研究中的产香霉菌添加菌。

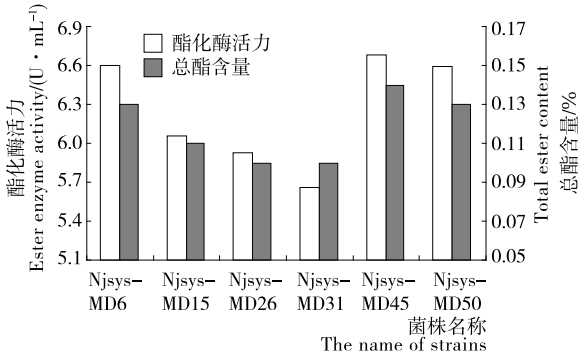


图2 产香霉菌复筛结果

Figure 2 The results of secondary screening of aroma-producing molds

表4 产香霉菌代谢产物分析

Table 4 The analysis of metabolites products of aroma-producing molds

霉菌编号	发酵产物
Njsys-MD6	乙醇、正丁醇、糠醇、异麦芽醇;甲酸、乙酸、丁酸;糠醛、5-羟甲基甘油醛、羟基乙醛、糠醛;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、丁内酯
Njsys-MD15	乙醇、糠醇;甲酸、乙酸;糠醛、甘油醛、羟基乙醛;甲酸乙酯、乙酸乙酯
Njsys-MD26	乙醇、异麦芽醇、糠醇;甲酸、乙酸;羟基乙醛、糠醛;甲酸乙酯、乙酸乙酯
Njsys-MD31	乙醇、糠醇、异麦芽醇;甲酸、乙酸;糠醛、5-羟甲基甘油醛、羟基乙醛、糠醛;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁内酯
Njsys-MD45	乙醇、正丁醇、正丙醇、糠醇、异麦芽醇;甲酸、乙酸、丁酸;糠醛、5-羟甲基甘油醛、羟基乙醛、糠醛;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、丁内酯
Njsys-MD50	乙醇、正丁醇、糠醇、异戊醇、异麦芽醇;甲酸、乙酸、丁酸;糠醛、5-羟甲基甘油醛、羟基乙醛、糠醛;甲酸乙酯、乙酸乙酯、丁酸乙酯、丁内酯

2.3 产香微生物生长特性

为了确保筛选得到的菌株能够满足麸曲酒实际生产环境条件,对复筛确定的酵母 Njsys-YT3、Njsys-YT12 和霉菌 Njsys-MD6、Njsys-MD45、Njsys-MD50 5 株菌株的生长特性(酒精耐受性、酸度耐受性及温度耐受性)进行研究,以进一步筛选出符合麸曲酒实际生产要求的菌株。

2.3.1 酒精度对产香微生物生长的影响 随着发酵时间延

长酒精浓度升高,菌体存活率减少。其中 Njsys-YT3 和 Njsys-MD45 耐酒精能力较高,最高能耐受 12.5% 的酒精浓度(表5),更有利于香味物质的合成。

表5 酒精浓度对产香微生物生长的影响<sup>†</sup>

Table 5 The comparison of alcohol-resistant ability of aroma-producing strains

菌株编号	2.5%	5.0%	7.5%	10.0%	12.5%
Njsys-YT3	+++	+++	+++	++	+
Njsys-YT12	+++	++	++	+	-
Njsys-MD6	+++	++	++	+	-
Njsys-MD45	+++	++	++	+	+
Njsys-MD50	+++	+	-	-	-

<sup>†</sup> “+”表示菌株在培养基上长势强弱;“-”表示无生长。

2.3.2 pH 值对产香微生物生长的影响 麸曲酒发酵周期短,产酸快,pH 较低。因此对微生物的耐酸能力要求严格。pH 4.4 以上时,5 株产香微生物均能生长,随着 pH 值减小,菌株 Njsys-MD50 最先不能生长,其次是 Njsys-MD6 和 Njsys-MD45, Njsys-YT3 和 Njsys-YT12 耐受性最好(表6)。由此可见,Njsys-YT3 和 Njsys-YT12 更适于麸曲酒发酵的环境条件。

表6 pH 值对产香微生物生长的影响<sup>†</sup>

Table 6 The influence of the growth of aroma-producing strains at different pH

菌株编号	pH 2.8	pH 3.2	pH 3.6	pH 4.0	pH 4.4	pH 4.8
Njsys-YT3	-	+	+	++	+++	+++
Njsys-YT12	-	+	+	++	+++	+++
Njsys-MD6	-	-	+	++	++	+++
Njsys-MD45	-	-	+	++	++	++
Njsys-MD50	-	-	-	-	+	++

<sup>†</sup> “+”表示菌株在培养基上长势强弱;“-”表示无生长。

2.3.3 温度对产香微生物生长的影响 麸曲酒发酵周期短,升温幅度较大。因此,耐高温的微生物更有利于代谢产物的积累。5 株产香微生物在 33 ℃ 及以下均能生长,36 ℃ 时只有菌株 Njsys-YT3、Njsys-YT12 和 Njsys-MD45 能生长,39 ℃ 时 5 株菌均不能生长(表7)。可见,Njsys-YT3、Njsys-YT12 和 Njsys-MD45 更适于麸曲酒生产条件。

表7 温度对产香微生物生长的影响<sup>†</sup>

Table 7 The influence of the growth of aroma-producing strains at different temperatures

菌株编号	27 ℃	30 ℃	33 ℃	36 ℃	39 ℃
Njsys-YT3	+++	+++	++	+	-
Njsys-YT12	+++	++	++	+	-
Njsys-MD6	++	++	+	-	-
Njsys-MD45	+++	++	+	+	-
Njsys-MD50	++	++	+	-	-

<sup>†</sup> “+”表示菌株在培养基上长势强弱;“-”表示无生长。

$\omega$ ——搅拌器角速度, rad/s;

$N$ ——搅拌器转数, r/min。

单位体积功率表达式:

$$P_v = \frac{P}{v} \quad (2)$$

式中:

$P_v$ ——单位体积功率, W/m<sup>3</sup>;

$v$ ——搅拌槽内流体体积, m<sup>3</sup>。

由表 1 可知, 当下层浆离底高度  $C_1$  和上层浆浸没深度  $C_3$  一定时, 随着浆间距的增大, 搅拌功率逐渐增加, 单位体积功率逐渐降低。这是因为随着浆间距的增大, 搅拌槽中的流体增多, 搅拌功率必然增加, 但是所增加的流体位于两浆之间, 浆叶对这部分流体的抽吸作用较强, 从而促使单位体积功率降低。

表 1 不同浆间距下搅拌功率、单位体积功率计算结果

Table 1 The results of stirring power, power per unit volume under different blade spacing

浆间距	搅拌功率/W	单位体积功率/(W·m <sup>-3</sup> )
$C_2 = 0.4T$	0.60	5.72
$C_2 = 0.6T$	0.68	5.60
$C_2 = 0.8T$	0.75	5.41

## 4 结论

利用 Fluent 软件对双层 CBY 浆搅拌槽内不同浆间距下流场进行整体数值模拟, 考察了浆间距对流场分布、上下层

浆叶区速度及功率消耗的影响, 主要结论: ① 随着浆间距的增大, 槽内流体流型由“连接流”变为“分散流”, 与试验结果具有较好的一致性, 但是模拟与试验也存在一定的误差, 毕竟模型是基于各向同性求解出来的, 而实际搅拌槽中的流体流动状态为各向异性; ② 浆间距对下层浆叶区速度的影响较大, 对上层浆叶区速度的影响不大; ③ 随着浆间距的增大, 搅拌功率逐渐增加, 单位体积功率逐渐降低。

## 参考文献

- [1] 王凯, 虞军. 搅拌设备[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 1-2.
- [2] 党林贵, 郭淑雪, 王定标, 等. 不同组合浆搅拌器搅拌特性的数值研究[J]. 郑州大学学报: 工学版, 2013, 34(3): 59-62.
- [3] 刘敏珊, 张丽娜, 董其伍. 涡轮浆搅拌槽内混合特性模拟研究[J]. 工程热物理学报, 2009, 30(10): 1700-1702.
- [4] Ochieng A, Onyango M S, Kumar A, et al. Mixing in a tank stirred by a Rushton turbine at a low clearance[J]. Chemical Engineering and Processing, 2008, 47(5): 842-851.
- [5] 郭欣, 李志鹏, 高正明. 双层翼型浆搅拌槽内流动特性的 PIV 研究[J]. 过程工程学报, 2010, 10(4): 632-637.
- [6] 王定标, 杨丽云, 于艳, 等. 双层浆叶搅拌器流场的 CFD 模拟与 PIV 测量[J]. 郑州大学学报: 工学版, 2009, 30(2): 1-5.
- [7] 张少坤, 尹侠. 双层浆搅拌槽内流场的数值模拟[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 71-73.
- [8] 周勇军, 卢源, 陈明濠, 等. 改进型 INTER-MIG 搅拌槽内固液悬浮特性的数值模拟[J]. 过程工程学报, 2014, 14(5): 744-749.
- [9] 傅金泉. 中国酒曲技术的发展和展望[J]. 酿酒, 2002, 29(2): 7-9.
- [10] 沈怡芳. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 104-113.
- [11] 马荣山, 于影. 麸曲酱香型白酒的酿制研究[J]. 中国酿造, 2010(1): 138-140.
- [12] 李运蕾, 姚奎章, 佟兰欣, 等. 生香 ADY 和 TH-AADY 在衡水老白干酒生产中的应用[J]. 酿酒科技, 1998(2): 44-45.
- [13] 王国良, 宋俊梅, 曲静然. 产香微生物的应用现状[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(7): 157-160.
- [14] 秦含章. 国产白酒的工艺技术和实验方法[M]. 北京: 学苑出版社, 2000: 947-979.
- [15] 郭勇. 酶工程原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 8-9.
- [16] 黄丹, 储玉龙, 尚志超, 等. 大曲酯化酶根霉菌的分离及产酶条件研究[J]. 食品与发酵科技, 2010(3): 30-32.
- [17] 张永生, 魏新军, 韩伟元, 等. 白酒中微量成分的气相色谱-质谱分析与鉴定[J]. 酿酒科技, 2011(3): 101-103.
- [18] 罗惠波, 王毅, 王大地, 等. 小曲中产香霉菌的优选及培养条件优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 32-34.
- [19] 张翠英. 优良果酒酵母的分离选育及发酵性能研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2006: 13-19.
- [20] 赵海霞, 华惠敏, 吴桂君. 野生苹果酒产香酵母的分离及筛选[J]. 中国酿造, 2014, 33(6): 119-122.
- [21] 卫春会, 黄治国, 黄丹, 等. 高温大曲高产蛋白酶菌株的分离鉴定及其产酶性能研究[J]. 食品与机械, 2014, 30(4): 24-29.
- [22] 蒋雪薇, 盛灿梅, 周倩, 等. 琼脂块法快速平板初筛米根霉 L-乳酸高产菌株[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 8-10.
- [23] 刘艺文, 刘素纯. 产柚苷酶高产菌株的筛选[J]. 食品与机械, 2013, 29(3): 55-58.

## 参考文献

- [1] 傅金泉. 中国酒曲技术的发展和展望[J]. 酿酒, 2002, 29(2): 7-9.
- [2] 沈怡芳. 白酒生产技术全书[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2009: 104-113.
- [3] 马荣山, 于影. 麸曲酱香型白酒的酿制研究[J]. 中国酿造, 2010