

产阿魏酸酯酶菌株的筛选及其酚酸释放研究

胡博涵¹, 吴晖¹, 赖富饶¹, 尹志娜¹, 雷灼贵¹, 陈彩薇¹, 周福珍², 陈华敏², 陈国枝²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 广东省微生物研究所, 广东广州 510070)

摘要: 本文采用平板筛菌和牛津杯透明圈试验法筛选具有产阿魏酸酯酶的菌株, 将其接种于麸皮中进行固态发酵, 采用分光光度法和 HPLC 法分析发酵麸皮其阿魏酸酯酶活力、总酚酸以及阿魏酸的释放量, 并进行个体形态、菌落特征和 TIS 测序鉴定, 结果表明: 筛选出一株菌株的阿魏酸酯酶酶活力优于其他菌株, 在发酵第 4 d 该菌株的阿魏酸酯酶酶活达最高为 163.5 mU/g; 而且发酵麸皮释放总酚酸的能力较高, 将麸皮的总酚酸量提高 6.6 倍, 其中阿魏酸的量达到 0.697%, 比没有发酵的麸皮阿魏酸的含量增加了 0.22%。对其进行分子鉴定, 该菌株与烟曲霉 (*Aspergillus clavatus*) 同源性达 100%, 确认为烟曲霉命名为烟青。将该菌应用于麸皮发酵提高阿魏酸含量, 是农副产品增值利用以及药用功能开发的主要研究方向。

关键词: 麦麸; 阿魏酸酯酶; 酚酸; 阿魏酸; 烟曲霉; 鉴定

文章编号: 1673-9078(2015)7-92-98

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.016

Selection of Feruloyl Esterase-producing Strains and Estimation of Phenolic Acid Production

HU Bo-han¹, WU Hui¹, LAI Fu-rao¹, YIN Zhi-na², LEI Zhuo-gui², CHEN Cai-wei², ZHOU Fu-zhen², CHEN Hua-min², CHEN Guo-zhi²

(1. South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, China)

Abstract: The agar plate screening and Oxford cup testing methods were used to select microorganisms that could produce feruloyl esterase. The isolated strains were inoculated into wheat bran for solid-phase fermentation. Spectrophotometry and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) were used to analyze the activity of feruloyl esterase as well as the quantity of total phenolic acid and ferulic acid released in the fermented wheat bran. The individual morphology, colony characteristics, and internally transcribed spacer (ITS) sequencing analysis, and identification of the strains was performed. The results identified one screened strain with highest feruloyl esterase activity, with a peak value of 163.5 mU/g on the 4th day. In addition, this strain yielded higher amounts of total phenolic acids, with 6.6× increase in fermented wheat bran. Among the total phenolic acids, ferulic acid accounted for 0.697% and its production was enhanced by 0.22% compared to that in unfermented wheat bran. Molecular identification revealed 100% homology of this strain with *Aspergillus clavatus*, and it was named Yanqing. This strain has potential applications in improving ferulic acid content during wheat bran fermentation in the fields of agriculture, value-adding utilization of sideline products, and medicine.

Key words: wheat bran; feruloyl esterase; phenolic acid; ferulic acid; *Aspergillus clavatus*; identification

麦麸作为小麦加工的副产品, 每年其产量达 2000 万 t 以上, 对于麸皮的开发利用较少, 仅以作为饲料原料而加以利用。小麦麸皮中主要含有淀粉、脂肪、蛋白质、木质素、非淀粉多糖、维生素和酚类物质等多种成分, 其中以阿拉伯木聚糖为主的非淀粉多糖含 46%, 是小麦细胞壁的主要成分。麸皮中还含有一定

收稿日期: 2014-12-30

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资助项目 (2013ZM0065)

作者简介: 胡博涵 (1990-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为食品质量与安全

通讯作者: 吴晖 (1968-) 男, 博士, 教授, 研究方向为食品质量与安全

数量的酚酸类物质, 如阿魏酸 (ferulic acid)、P-香豆酸 (p-coumaric acid)、咖啡酸 (caffeic acid)、芥子酸 (sinapic acid) 和丁香酸 (syringic acid) 等成分, 其中以阿魏酸为主要成分, 约为麸皮质量的 0.4%~0.7%^[1]。阿魏酸主要通过酯键与细胞壁多糖和木质素交链, 或自身酯化或醚化形成二阿魏酸释放出来^[2]。

研究表明酚类物质主要以游离型、结合型和束缚型等几种形式存在于植物体内^[3-5], 麦麸中的阿魏酸基本是以束缚型的形态存在的, 其游离型结合型: 结合型: 束缚型的比例为 0.1:1:100^[2]。目前从麦麸中获得阿魏酸的方式主要为酶法。一般采用有机溶剂为媒介,

辅以超声^[6]、微波^[7]、亚临界^[8]等方法进行。由于束缚型酚类物质一般与其他物质以不同的键型相连接,传统的提取方法不足以将酯键、糖苷键或醚键断裂,因此对束缚型酚类物质的提取主要采用强酸强碱^[9]或生物方法(酶法和发酵法^[10]),其主要目的都是破坏细胞壁纤维成分致密的结构,以使束缚型酚类物质释放出来。尽管化学方法操作简单、效率高,但是后续需要处理提取废液,不利于可持续性发展。因此相比较而言,采用生物方法更符合绿色、环保的发展要求。

对于利用麦麸进行发酵的研究多集中在低聚木糖生产^[11-12]和产酶活性^[13-14]等领域,对于利用产阿魏酸酯酶的微生物提高麸皮酚酸的含量的报道鲜见。本研究拟筛选产阿魏酸酯酶活性较强的微生物,利用麦麸作为其发酵底物产生阿魏酸酯酶,断裂麦麸中植物细胞多糖及木质素和阿魏酸之间的酯键,研究获得束缚型释放酚酸的方法,并结合微生物本身产生的多种酶系共同作用获取小麦麸皮中的阿魏酸,克服化学方法污染性,利用微生物生长周期短,不受气候限制,易于大规模发酵生产获取阿魏酸酯酶,为农副产品增值利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 泥土

本研究采用的筛选材料从华南理工大学、华南农业大学、华南植物园采集到得土壤样品。

1.1.2 培养基与试剂

初筛培养基: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, NaNO_3 2.0 g, KCl 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, K_2HPO_4 1.0 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 值自然; 121 °C 灭菌 20 min。灭菌后培养基冷到 60 °C 左右添加无菌的 10% 阿魏酸乙酯的二甲基甲酰胺溶液 100 mL, 摇匀至均匀的乳白色倒平板。

种子培养基: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, NaNO_3 2.0 g, KCl 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, K_2HPO_4 1.0 g, 麸皮 1000 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 值自然。

PDA 培养基: 马铃薯(去皮) 200 g, 葡萄糖(或蔗糖) 20 g, 琼脂 20 g, 定容至 1 L, pH 自然。121 °C 保温灭菌 20 min。

察氏培养基: NaNO_3 3 g, K_2HPO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, KCl 0.5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, 蔗糖 30 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1000 mL。pH 值自然。121 °C 保温灭菌 20 min。

麦芽汁琼脂: 麦芽汁 150 mL, 琼脂 3 g, pH 自然

(约 6.4), 121 °C 保温灭菌 20 min。

察氏酵母膏琼脂: NaNO_3 3 g, K_2HPO_4 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, KCl 0.5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, 蔗糖 30 g, 酵母膏 5 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1000 mL。pH 值自然。121 °C 保温灭菌 20 min。

发酵培养基: 麦麸:水为重量比 1:1, pH 值自然。

1.2 方法

1.2.1 产阿魏酸酯酶菌株的筛选

初筛采用稀释平板法将样品稀释液接种到 PDA 培养基中于 28 °C 倒置培养 72 h, 将培养基上单个的菌落转接到斜面 PDA 培养基上 28 °C 培养 72 h, 再转入含阿魏酸乙酯的初筛培养基 28 °C 培养 60 h, 观察是否有透明圈形成的平板, 确定为产阿魏酸酯的菌株, 备用;

复筛用平皿牛津杯透明圈实验将其产阿魏酸酯菌株比较酶活大小。将初筛分离获得的产阿魏酸酯的菌株在发酵培养基中 28 °C 培养 2 d, 取 30 g 发酵麸皮用 90 mL 的去离子水于 40 °C 浸提 1 h, 将浸提液 12000 r/min 离心 15 min, 获得上清液。取 200 μL 上清液, 放到初筛培养基上牛津杯中, 置于 37 °C 培养箱中保温 5~24 h 观察透明圈。发酵液消解底物而形成无色透明圈, 透明圈的大小说明产阿魏酸酯酶活性的高低, 透明圈大的即为高产阿魏酸酯酶的菌株。以此方法初步筛选高产阿魏酸酯酶的菌株。

1.2.2 产阿魏酸酯酶菌株固态发酵麸皮阿魏酸酯酶活力测定

产阿魏酸酯酶样品制备: 将产阿魏酸酯酶能力较强的菌株分别接种到 25 g 的无菌麸皮发酵培养基 500 mL 三角瓶中, 置温度为 28 °C 培养一定时间。分别对培养 2 d、3 d、4 d、5 d、6 d、7 d 的麸皮进行粗酶液的提取。

阿魏酸酯酶粗酶液的制备: 称取固态发酵的麸皮样品 10 g 于小烧杯中, 加入 50 mL 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠-柠檬酸缓冲液 (pH 值 6.2), 在磁力搅拌器上匀质 15 min, 并于 12000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 即为待测粗酶液。

在 1.9 mL 1 mmol/L 阿魏酸甲酯溶液 (pH 6.0) 中加入 0.2 mL 稀释的酶液, 于 50 °C 反应 10 min 后, 加入 900 μL 冰乙酸终止反应, 再加入 5 mL 蒸馏水, 混匀后以对照组为空白测定 320 nm 处的吸光值 A。

酶活定义: 1 mL 酶液在 50 °C、pH 6.0 条件下, 每分钟酯解阿魏酸甲酯, 生成 1 μmol 阿魏酸所需酶量定义为 1 个酶活力单位(U)。

1.2.3 产阿魏酸酯酶菌株固态发酵麸皮总酚含

量的测定

总酚含量测定参考韩富根^[15]的方法,略有改动。

样品处理:取发酵麸皮 0.5 g,加 3 mL 95%乙醇研磨成匀浆状,再加 5 mL 95%乙醇过滤,用 95%乙醇定容至 25 mL。以儿茶酚作标准曲线。

样品测定:取 2 mL 待测液于 10 mL 离心管中,再加入 2 mL 福林试剂,摇匀,3 min 后加入 10%碳酸钠 2 mL 振荡。静置 1 h 后 700 nm 处比色测定,以 2 mL 蒸馏水代替待测液作为空白。根据标准曲线计算总酚含量。

1.2.4 菌种鉴定

1.2.4.1 形态特征观察

将酶活较高的菌株在察氏培养基、麦芽汁琼脂、查氏酵母膏琼脂上生长培养,进行菌落特征和显微镜下其个体形态特征观察。

1.2.4.2 ITS 测序

通过 PCR 获得 ITS 扩增片段进行鉴定,所得结果在 Genbank 上进行同源性比对分析,并利用 MEGA3.1 构建系统发育树,确定菌种。

1.2.5 烟青固态发酵麸皮阿魏酸含量的测定

称 200 g 麸皮加水 200 g 混合后灭菌,置瓷盘冷却,麦麸厚度控制在 2.5 cm 内,烟青种子接种量为 0.5%(含菌量为 $1\sim 2\times 10^9$ 个/g),培养温度为 28 °C,发酵时间为 48 h。将固态发酵麸皮,按 15g 加 90mL 水比例在 40 °C 水浴锅中浸提 1 h,于 4 °C,12000 r/min 离心 15 min,取上清液酶液置于冰箱中保存取上清液 3 mL 入 10 mL 离心管加 3 mL 100% 甲醇混合,12000 r/min 离心 15 min,取上清液用 0.45 μm 膜过滤入进样瓶冰箱保存,作为液相测定用。样品做空白对照即麸皮培养基不发酵的按此方法处理即得。

HPLC 测定条件:采用 Venusil XBP C18(L)(4.6 mm×250 mm, 5 μm),10 μL 进样量,流动相为 1% 冰乙酸:乙腈 (4:1),波长 320 nm,柱温 20 °C,流速为 0.9 mL/min。取 1.0 mg 阿魏酸标准品,用 100% 甲醇定容至 10 mL,分别配制成浓度为 40、60、80、100、120、140 μg/mL 的溶液,制标准曲线。

1.3 统计性分析

采用 SPSS 17.0 系统进行数据的统计性分析,显著性差异采用 Duncan 分析。

2 结果与讨论

2.1 产阿魏酸酯酶菌株的筛选

从土壤中筛选出 54 株,对其进行平板透明圈初

步试验,获得 8 株产阿魏酸酯酶的菌株,对 8 株菌进行液体发酵麸皮,将其发酵液进行牛津杯透明圈试验测定透明圈大小(见图 1、2),由图 2 可知,菌株 6 号的透明圈直径最大,其次是菌株 1 和菌株 8。透明圈大小与酶活大小成正相关,根据透明圈的大小,说明 6 号菌株的阿魏酸酯酶酶活较其他菌株高,将其命名为烟青。这与王洪川^[6]的研究黑曲霉发酵麸皮产阿魏酸酯酶酶活结论相同。

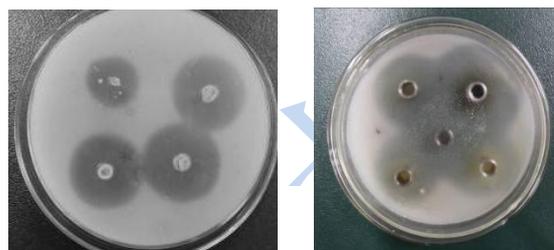


图 1 烟青在初筛培养基中平板透明圈(左图)和牛津杯透明圈(右图)

Fig.1 Yanqing during preliminary screening: transparent circles in agar culture (left) and transparent circles in Oxford cup method (right)

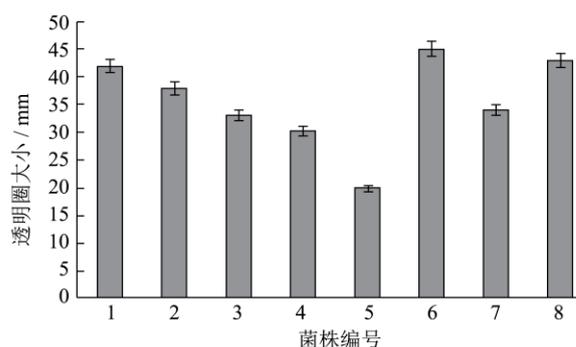


图 2 8 株菌牛津杯试验透明圈大小结果

Fig.2 The size of transparent circles produced by 8 isolated strains in Oxford cup test

2.2 产阿魏酸酯酶活力比较

根据透明圈试验结果,选择 1、2、6、8 号菌株进行不同时间发酵麸皮阿魏酸酯酶活力测定,其结果见图 3。从图 3 可以看出,随着时间的延长,所有菌株酶活先提高随后降低;除 8 号菌株第 2 d 高于其他菌株外其他时间 6 号菌株阿魏酸酯酶活力高于其他 3 株的酶活力,而且在发酵第 4 d 麦麸发酵液中阿魏酸酯酶酶活水平为最高为 32.7 mU/mL,则发酵麸皮固体中阿魏酸酯酶酶活为 163.5 mU/g,随着时间的延长酶活逐渐下降,且有显著性差异 ($p<0.05$)。产生此现象的原因可能是发酵初期营养丰富,氧气充足,菌丝生长不断增加,分泌出来的胞外酶也不断增加,随着时间延长通气量不足,营养物质减少,不能充分满足菌丝

继续生长的需求,菌丝随之进入繁殖阶段,分泌出来的胞外酶减少,从而酶活在某一时间内开始降低。

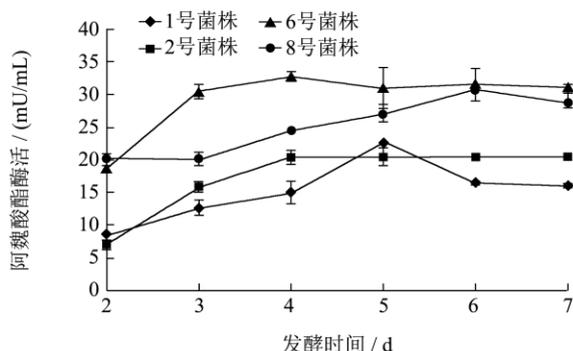


图3 不同菌株不同发酵时间阿魏酸酯酶活力

Fig.3 Feruloyl esterase activity of various strains at different fermentation periods

2.3 产阿魏酸酯酶菌株固态发酵麸皮总酚含量比较

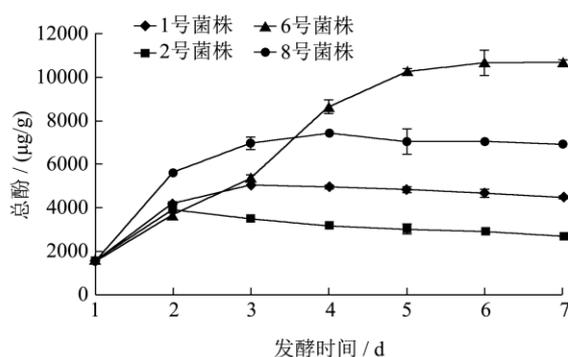


图4 不同菌株不同发酵时间总酚释放量

Fig.4 Total quantity of phenolic acids released by different strains at different fermentation periods

选择 1、2、6、8 号菌株进行不同时间固态发酵麸皮,测定发酵麸皮中的总酚酸含量结果见图 4。从图中可以看出,随着时间的延长,除 6 号菌株外其他菌株发酵麸皮的总酚酸含量先升高然后降低;6 号菌株在发酵到第 4 d 起麸皮的总酚酸含量一直高于其他菌株发酵的。6 号菌株随发酵时间的延长呈麸皮中的总酚酸呈上升趋势,但上升幅度逐渐减少。谷物麸皮中的酚酸绝大多数以束缚型酚酸的形式存在,在总酚酸含量中束缚型酚酸占总量的 80%~90%^[17]。通过上述 4 株菌株发酵谷物麸皮其总酚酸含量得到大大地提高,而且菌株酶活不同其酚酸释放出的量不同,6 号菌株酶活高其麸皮中的酚酸释放量高。束缚型酚酸的释放一般利用超声辅助酸碱作用或者酶反应来实现进行酚酸成分的释放^[18-20],郝杰等^[18]在经过超声辅助碱解释放之后,麦麸中游离的总酚含量提高了 7.23 倍,本研

究采用微生物发酵方法,发现麸皮通过 6 号菌株初步发酵,总酚酸比没发酵的麸皮量提高了 6.6 倍。如果通过发酵工艺条件的优化,总酚酸的释放量会提高更多,这对谷物麸皮的利用价值提升提供了理论依据,因此将 6 号菌株烟青进行菌种鉴定。

2.4 产阿魏酸酯酶菌种鉴定

2.4.1 烟青形态鉴定

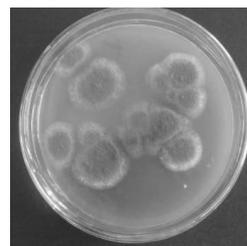


图5 烟青菌落形态图

Fig.5 Yanqing colony morphology

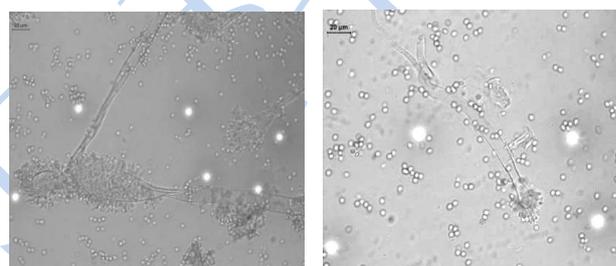


图6 个体形态图(放大倍数 400 倍)

Fig.6 Cellular morphology (400× magnification)

6 号菌株烟青在察氏培养基上菌落生长速度较慢,培养 7 d 直径 30 mm;质地丝绒状至粉粒状,菌丝体白色,分生孢子结构呈暗蓝绿色,无渗出液(图 5)。在麦芽汁琼脂上菌落生长速度较快,培养 7 d 直径 45 mm,平坦,质地粉粒状,分生孢子结构多,灰绿色,菌落反面红褐色。在查氏酵母膏琼脂上菌落培养 7 d 直径 40 mm,质地丝绒状;分生孢子结构多,呈灰蓝色,边缘较稀,呈白色,无渗出液。

从图 6 可知,显微镜下可以观察到分生孢子头幼时为棒形,分生孢子梗发生于基质,孢梗茎长短不一;顶囊由孢梗顶端逐渐膨大成为棍棒形,直径 50~100 μm,产孢子结构单层,瓶梗密集这生于顶囊的全部表面,瓶梗大小 8~12 μm×2~3 μm;分生孢子为椭圆形,孢子大小 4~5 μm×3 μm,壁光滑。

2.4.2 烟青 ITS 扩增测序

烟青通过 26S rDNA PCR 产物电泳图如下(图 7),经纯化获得 ITS 扩增片段,通过测序得到一个长度为 654 bp 的 rDNAITS 序列如下:

TTTCCGTAGG TGAACCTGCG GAAGGATCAT
TACCGAGTGC GGGCCCTCTG GGTCCAACCT 60

CCCACCCGTG TTTATCGTAC CTTGTTGCTT
 CGGCGGGCCC GCCGTCTTCG GACGGCCGCC 120
 GGGGAGGCCT CCGCGCCCC GGGCCC GC
 CCGCGAAGA CCACAACATG AACTCTGTTC 180
 TGAAGTTTTG CAGTCTGAGT TGATTATCAT
 AATCAGTTAA AACTTTCAAC AACGGATCTC 240
 TTGGTCCCG CATCGATGAA GAACGCAGCG
 AAATGCGATA ACTAATGTGA ATTGCAGAAT 360
 TCAGTGAATC ATCGAGTCTT TGAACGCACA
 TTGCGCCCC TGGTATTCCG GGGGGCATGC 420
 CTGTCCGAGC GTCATTGCTG CCCTCAAGCA
 CGGCTTGTGT GTTGGGCCCC CGTCCCCGGT 480
 TTCCCGGGGA CGGGCCCGAA AGGCAGCGGC
 GGCACCGCGT CCGGTCCTCG AGCGTATGGG 540
 GCTTTGTCAC CCGCTCTTGT AGGGCCGGCC
 GCGCCTGTC GACACCAACC CAATTTTTCT 600
 AAGGTTGACC TCGGATCAGG TAGGGATACC
 CGCTGAACTT AAGCATATCA ATAA 654

将该序列提交至 GenBank 进行同源性比较, 结果

表明菌株烟青与烟曲霉 (*Aspergillus clavatus*) 比对相似度为 100%。

内转录间隔区 ITS 进行 PCR 扩增, 测序后, 将结果再进一步与 NCBI 数据库进行比对并构建系统发育树。

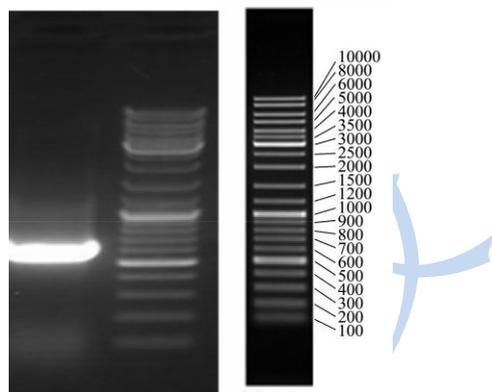


图 7 PCR 产物电泳图

Fig.7 The electrophoresis pattern of polymerase chain reaction products

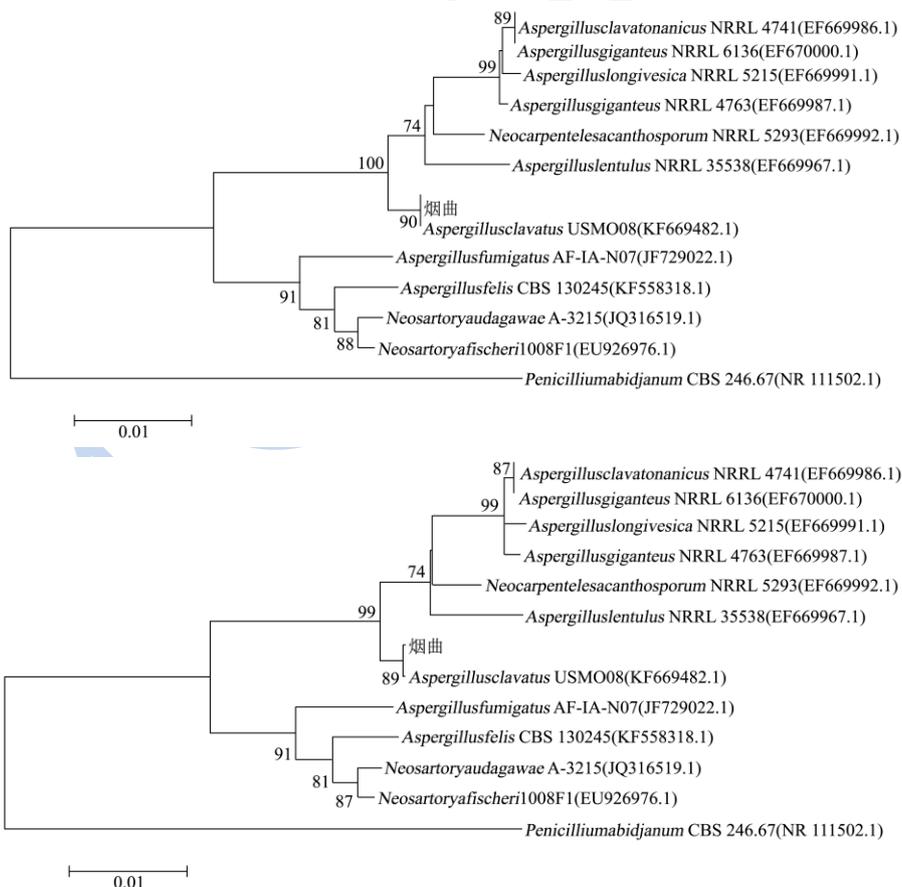


图 8 系统进化树

Fig.8 Phylogenetic tree

2.4.3 烟青系统发育树

将菌株 ITS 基因序列与 GenBank 中的已知序列进

行了分析比对, 从 GenBank 中取得相关序列作为参考菌株序列, 首先使用 ClustalX 将序列进行完全比对,

然后使用程序 Mega 的 Neighbor-joining 法、Minimum evolution 法对其作系统进化树。数据自展重抽样次数 1000 次。经测序得出烟青的 ITS 所得结果在 Genbank 上进行同源性比对分析, 并利用 MEGA3.1 构建系统发育树(如图 8), 从图 8 中可以看出, 供试菌株烟青与 *Aspergillus clavatus* 处于同一分支, 进化上的距离最近。与烟曲霉 (*Aspergillus clavatus*) 同源性达 100%。根据上述烟青的形态特征、菌落特征和 ITS 序列分析, 故烟青为烟曲霉 (*Aspergillus clavatus*)。

对 6 号菌株烟青提取基因组 DNA, 并以其为模板对

2.5 烟青固态发酵麸皮阿魏酸含量的测定

将烟青发酵第 4 d 的麦麸进行 HPLC 测定阿魏酸含量。阿魏酸标样标准曲线见图 9, 标准曲线为 $y=311134x+202717$, $R^2=0.9969$, 通过 HPLC 测定其发酵的麦麸中阿魏酸为 0.697%, 没有发酵的麸皮阿魏酸含量为 0.467%, 发酵提高了 0.22%, 在小麦麸皮中阿魏酸的含量一般为 0.4~0.7%^[1], 该菌株发酵麸皮产生阿魏酸酯酶, 能将麦麸中阿魏酸游离出来^[21], 从而提高了麦麸中阿魏酸的含量, 说明该菌株发酵是提高麦麸阿魏酸含量的一种有效的途径。阿魏酸的 HPLC 测定图谱见图 10。

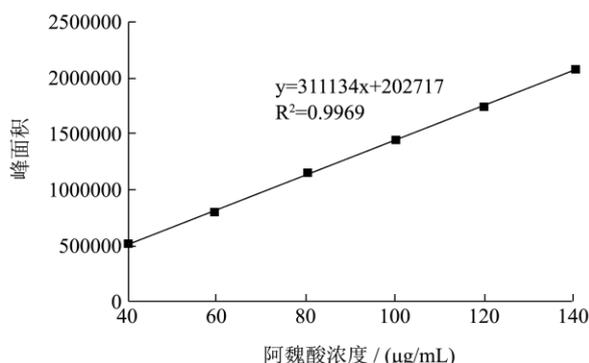


图 9 阿魏酸标准曲线

Fig.9 Ferulic acid standard curve

3 结论

本研究对华南地区土壤进行微生物的富集、分离纯化筛选产阿魏酸酯酶菌株, 建立了一个 54 株菌的菌种库, 得到了具有较高产阿魏酸酯酶的 8 株菌, 其中 6 号菌株的阿魏酸酯酶活力优于其他菌株在第 4 d 的时候, 该菌株的阿魏酸酯酶活力达最高; 而且发酵麸皮释放总酚酸的能力较高, 将麸皮的总酚酸量提高 6.6 倍, 其中阿魏酸的量达到 0.697%, 较未发酵的提高了 0.22%。对其进行分子鉴定, 得出该菌株与烟曲霉 (*Aspergillus clavatus*) 同源性达 100%, 该菌株为烟

曲霉 (*Aspergillus clavatus*) 命名为烟青。利用烟青发酵麸皮进行生物法获取更大的总酚酸及阿魏酸, 该法操作简单, 发酵时间短, 易于控制不需要额外添加其他营养物质, 对提高麸皮的利用价值提供了理论依据。

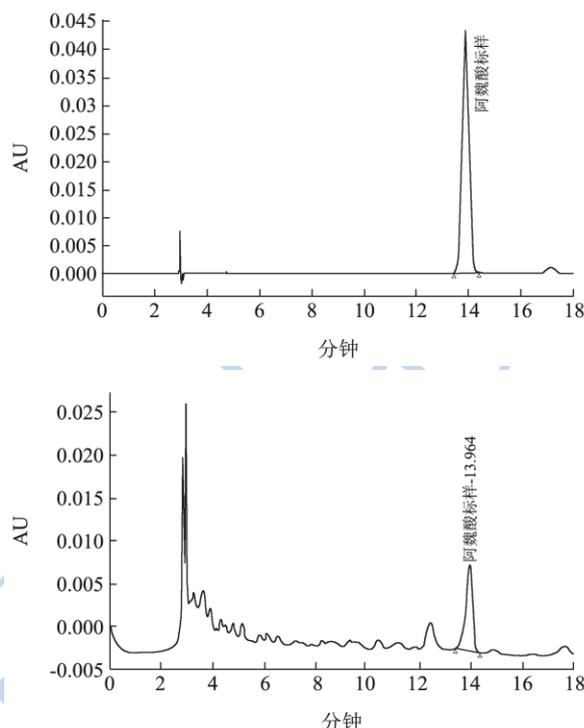


图 10 阿魏酸标样色谱图和烟青发酵麸皮样品中阿魏酸色谱图

Fig.10 Chromatograms of standard Ferulic acidsample and that from Yanqing-fermented bran sample

参考文献

- [1] 张伟,耿欣.不同食品中阿魏酸含量的分析[J].食品研究与开发,2012,33(8):126-128
ZHANG Wei, GENG Xin. Analysis On Content Of Ferulic In Different Food [J]. Food Research and Development. 2012, 33(8): 126-128
- [2] YU Pei-qiang, David D Maenz, John J McKinnon, et al. Release of ferulic acid from oat hulls by aspergillus ferulic acid esterase and trichoderma xylanase [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(6): 1625-1630
- [3] LIU R H. Whole Grain Phytochemicals and Health [J]. Journal of Cereal Science,2007,46(3):207-219
- [4] Krygier K, Sosulski F, Lawrence H. Free, Esterified and Insolublebound Phenolic Acids. II :Composition of Phenolic Acids in Rapeseed Flour and Hulls [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1982, 30(2): 334-336
- [5] WANG Bini, LIU Hai-feng, ZHENG Jian-bin, et al. Distribution of Phenolic Acids in Different Tissues of Jujube and Their Antioxidant Acitivity [J]. Journal of Agricultural

- and Food Chemistry, 2011, 59(4): 1288-1292
- [6] WANG Jing, SUN Bao-guo, CAO Yan-ping, et al. Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds From Wheat Bran [J]. Food Chemistry, 2008, 106:804-810
- [7] Wataniyakul P, Pavasant P Goto, et al. Microwave Pretreatment of Defatted Rice Bran for Enhanced Recovery of Total Phenolic Compounds Extracted by Subcritical Water [J]. Bioresource Technology, 2012, 124: 18-22
- [8] Liyana-Pathirana C M, Shahidi F. Importance of Insoluble-Bound Phenolics to Antioxidant Properties of Wheat [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4): 1256-1264
- [9] Verma B, Hucl P, Chibbar R N. Phenolic Acid Composition and Antioxidant Capacity of Acid and Alkali Hydrolysed Wheat Bran Fractions [J]. Food Chemistry, 2009, 116: 947-954
- [10] Hegde S, Kavitha S, Varadaraj MC, et al. Degradation of Cereal Bran Polysaccharide-Phenolic Acid Complexes by *Aspergillus* CFR1105 [J]. Food Chemistry, 2006, 96: 14-19
- [11] WANG Jing, SUN Bao-guo, CAO Yan Ping, et al. In Vitro Fermentation of Xylooligosaccharides From Wheat Bran Insoluble Dietary Fiber by *Bifidobacteria* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(2): 227-538
- [12] Manisseri Chitsseri, Gudipati, Muuralishna. Bioactive xylo-oligosaccharides from wheat bran soluble polysaccharides [J]. LWT-Food Science and Technology, 2010, 43(3): 421-430
- [13] Mathew S, Abraham T E. Studies on the Production of Feruloyl Esterase from Cereal Brans and Sugar Cane Bagasse by Microbial Fermentation [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2005, 36(4): 565-570
- [14] Aikat K, Bhattacharyya B C. Protease Extraction in Solid State Fermentation of Wheat Bran by a Local Strain of *Rhizopus Oryzae* and Growth Studies by the Soft Gel Technique [J]. Process Biochemistry, 2000, 35(9):907-914
- [15] 韩富根, 刘学芝, 焦桂珍. 用福林法测定烟叶中总酚含量的探讨[J]. 河南农业大学学报, 1993, 1(27):95-98
- HAN Fu-gen, LIU Xue, JIAO Gui-zhen. The Use of Folin Method for Determining the Total Phenols Content in Tobacco Leaves [J]. Acta Agriculturae Universitatis Hermnensis, 1993, 1(27):95-98
- [16] 王洪川, 陈洪章. 高产阿魏酸酯酶菌株的筛选及其固态发酵的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4):11-15
- WANG Hong-chuang, Chen Hong-gao. Screening of High Producing Feruloyl Esterases Strain and Study on Its Solid State Fermentation Conditions [J]. Food And Fermentation Industry, 2007, 33(4): 11-15
- [17] 郝杰, 张长虹, 曹学丽. 七种谷物麸皮中的酚酸类成分分析[J]. 食品科学, 2010, 10(30):263-268
- HAO Jie, ZHANG Chang-hong, CAO Xue-li. RP-HPLC Analysis of Phenolic Acids in Different Varieties of Cereal Bran [J]. Food Science, 2010, 10(30): 263-268
- [18] 郝杰, 曹学丽. 小麦麸皮中束缚型酚酸的化学法释放工艺[J]. 食品科学, 2010, 18(31):130-135
- HAO Jie, CAO Xue li. Optimization of Chemical Release of Bound Phenolic Acids From Wheat Bran [J]. Food Science, 2010, 18(31):130-135
- [19] 欧仕益, 张颖, 张璟, 等. 碱解麦麸制备阿魏酸的研究[J]. 食品科学, 2002, 8(23):162-165
- [20] 张璟, 欧仕益, 张宁, 等. 酶解麦麸制备阿魏酸和低聚糖的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(11):63-68
- ZHANG Jing, OU Shi-yi, ZHANG Ning, et al. Processing Study on Ferulic Acid and Oligosaccharides Prepared From Enzymatic Hydrolysis of Destorched Wheat Bran [J]. Food Science, 2003, 24(11):63-68
- [21] Sindhu Mathew, T Emilia Abraham. Ferulic acid: an Antioxidant Found Naturally in Plant Cell Walls and Feruloyl Esterases Involved in Its Release and Their Applications [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2004, 24(2-3): 59-83