

# 两种丝状真菌发酵小麦麸皮中酚酸的释放及与阿魏酸酯酶和木聚糖酶的关系

尹志娜<sup>1</sup>, 吴晖<sup>1</sup>, 赖富饶<sup>1</sup>, 雷灼贵<sup>1</sup>, 武文佳<sup>1</sup>, 闵甜<sup>1</sup>, 胡博涵<sup>1</sup>, 杜小燕<sup>1</sup>, 张晓元<sup>1,2</sup>

(1. 华南理工大学食品工程与科学学院, 广东广州 510640)

(2. 韶关市华工高新技术产业研究院, 广东韶关 512027)

**摘要:** 为了评价两种丝状真菌对小麦麸皮降解能力, 以及对酚酸释放能力的差异, 本实验在不同时间进行总酚和9种酚酸组分的变化监测并且结合阿魏酸酯酶和木聚糖酶活性, 电镜观察小麦麸皮表面结构对黑曲霉和棒曲霉进行综合评估。黑曲霉发酵7d阿魏酸含量达到416.56 μg/g 麦麸。次之是没食子酸, 从7.71 μg/g 麦麸增加到105.77 μg/g 麦麸。棒曲霉阿魏酸含量达到200.81 μg/g 麦麸。次之是丁香酸, 没食子酸, 对羟基苯甲酸和香豆酸, 从分别原麦麸中含量14.7 μg/g 麦麸、7.71 μg/g 麦麸、8.57 μg/g 麦麸和5.62 μg/g 麦麸增长至88.4 μg/g 麦麸, 60.38 μg/g 麦麸, 55.56 μg/g 麦麸, 52.93 μg/g 麦麸。黑曲霉对麦麸的降解能力及对阿魏酸和没食子酸的释放能力都显著优于棒曲霉, 而对丁香酸的释放能力略差于棒曲霉。电镜结果显示, 黑曲霉降解能力优于棒曲霉。

**关键字:** 黑曲霉; 棒曲霉; 酚酸; 阿魏酸酯酶; 木聚糖酶

文章编号: 1673-9078(2017)3-81-87

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.3.013

## Release of Phenolic Acid by two Filamentous Fungi during the Fermentation of Wheat Bran with Ferulic Acid Esterase and Xylanase

YIN Zhi-na<sup>1</sup>, WU Hui<sup>1</sup>, LAI Fu-rao<sup>1</sup>, LEI Zhuo-gui<sup>1</sup>, WU Wen-jia<sup>1</sup>, MIN Tian<sup>1</sup>, HU Bo-han<sup>1</sup>, DU Xiao-yan<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-yuan<sup>1,2</sup>

(1. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Shaoguan SCUT Institute of High-tech Industry, Shaoguan 512027, China)

**Abstract:** In order to evaluate the degradation abilities of two filamentous fungi on wheat bran and the difference in their abilities to release phenolic acid, the changes in the contents of total phenols and nine phenolic acid components were monitored at different time. Based on the activities of ferulic acid esterase and xylanase, the surface structure of wheat bran was examined via electron microscopy, and *Aspergillus niger* and *Aspergillus clavatus* were comprehensively evaluated. After seven days of fermentation with *Aspergillus niger*, the ferulic acid content reached 416.56 μg/g wheat bran, and the gallic acid content increased from 7.71 μg/g wheat bran to 105.77 μg/g wheat bran. The ferulic acid content in the fermentation by *Aspergillus clavatus* increased to 200.81 μg/g wheat bran. The malic acid, gallic acid, p-hydroxybenzoic acid, and coumaric acid contents increased to 88.4 μg/g wheat bran, 60.38 μg/g wheat bran, 55.56 μg/g wheat bran, and 52.93 μg/g wheat bran from 14.74 μg/g wheat bran, 7.71 μg/g wheat bran, 8.57 μg/g wheat bran, and 5.62 μg/g wheat bran, respectively. Compared with *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger* exhibited significantly higher abilities to degrade wheat bran and release ferulic acid and gallic acid, but a slightly weaker ability to release malic acid. The electron microscopy results showed that the degradation ability of *Aspergillus niger* was better than that of *Aspergillus clavatus*.

**Key words:** *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*, phenolic acid, ferulic acid esterase, xylanase

收稿日期: 2017-01-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资助项目(2013ZM0065); 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室开放基金资助项目(201304); 广东省高等学校科技创新重点项目(2012CXZD0009); 国家自然科学基金项目(31201330); 广州市科技攻关项目(20130000202); 广东省科技项目(2016A040402020); 广东省科技项目(2016B010121014); 韶关市科技项目(2014CX/N310)

作者简介: 尹志娜(1983-), 女, 博士研究生, 研究方向: 食品安全与天然产物化学

通讯作者: 吴晖(1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全与天然产物化学; 赖富饶(1981-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物化学

小麦中的酚酸以三种形式存在：可溶性游离态，可溶性结合态和不溶性束缚态。通常人们以强酸强碱分解提取小麦麸皮中束缚型酚酸。然而以微生物发酵降解麦麸释放的酚类具有更高的生物活性<sup>[1]</sup>，且可以避免给环境带来的巨大压力<sup>[2,3]</sup>。微生物降解麦麸的过程中会分泌多种酶来水解作用，是多种酶共同作用的结果<sup>[4-6]</sup>。有研究报告指出阿魏酸酯酶作用于植物性的原材料中，能破坏细胞壁的骨架结构，从而将阿魏酸从植物细胞壁的结构中游离出来<sup>[7-9]</sup>。随之研究者以酚酯酶和木聚糖内切酶结合共同作用小麦麸皮释放酚酸<sup>[10]</sup>。然而，受制于大规模酶制剂生产的成本越来越多的人研究微生物直接发酵小麦麸皮对酚酸的释放。菌种的筛选和优化则成为研究者的研究热点，我课题组胡博涵<sup>[11]</sup>从土壤中筛选出几株优势菌种，我们取其中两株酚酸释放能力相对较强的菌种进行考察，期望能对小麦麸皮的利用能力的提高有所贡献。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

小麦麦麸（南方面粉厂）；黑曲霉菌筛选自土壤；PDA 培养基保藏（青岛高科园海博生物技术有限公司）；磷酸二氢钠、磷酸氢二钠（天津市福晨化学试剂厂）；甲醇、乙腈（色谱纯，欧普森，Oceanpak）；冰乙酸（色谱纯，天津市科密欧化学试剂有限公司）；没食子酸、对羟基苯甲酸、龙胆酸、绿原酸、香草酸、咖啡酸、丁香酸、4-香豆酸、阿魏酸（色谱纯，阿拉丁）；木聚糖、木糖，分析纯，上海源聚生物科技有限公司；阿魏酸甲酯，色谱纯，阿法埃莎（天津）化学有限公司。

### 1.2 仪 器 与 设 备

SW-CJ-2F 洁净工作台（苏州安泰空气技术有限公司）；LRH-150-S 恒温恒湿培养箱（广东省医疗器械厂）；XW-80A 旋涡振荡器（上海精科实业有限公司）；DLSB-5L125 低温冷却液循环泵（巩义市予华仪器有限公司）JW-3021HR 高速冷冻离心机（安徽嘉文仪器装备有限公司）；HH-2 数显恒温水浴锅（金坛市富华仪器有限公司）；Spectrumlab 752S 型紫外可见分光光度计（上海棱光技术有限公司）；6CE-60F-717P 型高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）。

### 1.3 方 法

#### 1.3.1 小麦麸皮真菌降解

以脱脂小麦麸皮为培养基，接种黑曲霉和棒曲霉两种丝状真菌，进行固态发酵。分别测定为未发酵和培养 2、3、4、5、6、7 d 的麦麸降解过程中，酚酸的组成和释放量与阿魏酸酯酶和木聚糖酶活力。

#### 1.3.2 醇溶性酚酸测定

将发酵和未发酵的小麦麸皮，以无水甲醇提取。在温度 30 °C，功率 30 W 下超声 30 min。12000 r/min 离心 10 min。合并上清液，于 50 mL 容量瓶中定容。0.45 μm 微孔滤膜过滤，上样。

根据我课题组成员杜小燕<sup>[12]</sup>摸索的实验方法得到：HPLC 测定各酚酸含量色谱柱为 Venusil XBP C18(L) (4.6×250 mm)，流动相：A 为乙腈，B 为 2% 冰乙酸水溶液，洗脱程序：0~30 min，100%B~85%B，30~50 min，85%B~50%B，50~55 min，50%B~0%B，55~60 min，0%B~100%B，流速为 1 mL/min，进样量为 10 μL，柱温为室温，检测波长 280 nm。

#### 1.3.3 粗酶液制备

将发酵后样品捣碎，全部转移至 50 mL 试管中。将样品分成两组，一组加入 PBS 缓冲液提取酶液。置于 200 r/min、4 °C 下摇床 1 h，12000 r/min 离心 10 min。合并上清液，于 50 mL 容量瓶中定容。冷藏待测。

#### 1.3.4 木聚糖酶活力

参考 GB/T 23874-2009<sup>[13]</sup>的方法，对木聚糖酶进行的测定。

木聚糖酶活力单位定义：在 37 °C、pH 5.5 的条件下，每小时从浓度为 100 mg/mL 木聚糖溶液中降解释放 1 μmol 木糖所需的酶量为一个酶活力单位（U）。

#### 1.3.5 阿魏酸酯酶活力

参考 Xie Chun-yan<sup>[14]</sup>的方法，测定酶液的阿魏酸酯酶活力。

(1) 阿魏酸酯酶活力单位的定义：在 pH 6.0、40 °C 条件下，每小时酶解阿魏酸甲酯生成 1 μmol 阿魏酸所需的酶量为一个酶活力单位（U）。

(3) 高效液相色谱条件<sup>[15]</sup>：色谱柱为 Venusil XBP C18(L) (4.6×250 mm)，流动相为乙腈：体积分数 1% 冰乙酸（20:80，V/V），流速为 1.0 mL/min，检测波长 320 nm，柱温为室温，进样量 10 μL。

## 2 结果与分析

### 2.1 小麦麸皮的营养成分测定结果

为了更好的研究小麦麸皮，我们对原料进行了基本营养成分的测定结果如表 1 所示（测定方法参考<sup>[16-21]</sup>）：

表1 小麦麸皮中主要的营养成分及含量

Table 1 Major components and content of nutrients in wheat bran

成分	蛋白质	脂肪	淀粉	纤维素	灰分	水分
小麦麸皮/%	12.76±0.43	4.43±0.15	12.11±1.04	30.83±0.97	4.48±0.32	16.23±0.39

2.2 小麦麸皮酚酸混和标准曲线

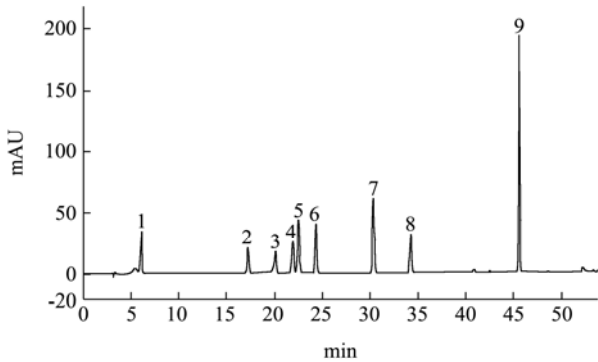


图1 标准混合样品液相色谱图

Fig.1 Liquid chromatogram of mixed standards

注: 1, 没食子酸(6.146 min); 2, 对羟基苯甲酸(17.250 min); 3, 绿原酸(20.129 min); 4, 香草酸(21.917 min); 5, 咖啡酸(22.517 min); 6, 丁香酸(24.342 min); 7, p-香豆酸(30.362 min); 8, 阿魏酸(34.254 min); 9, 肉桂酸(45.558 min)。

2.3 小麦麸皮降解过程中酚类组成与含量变化

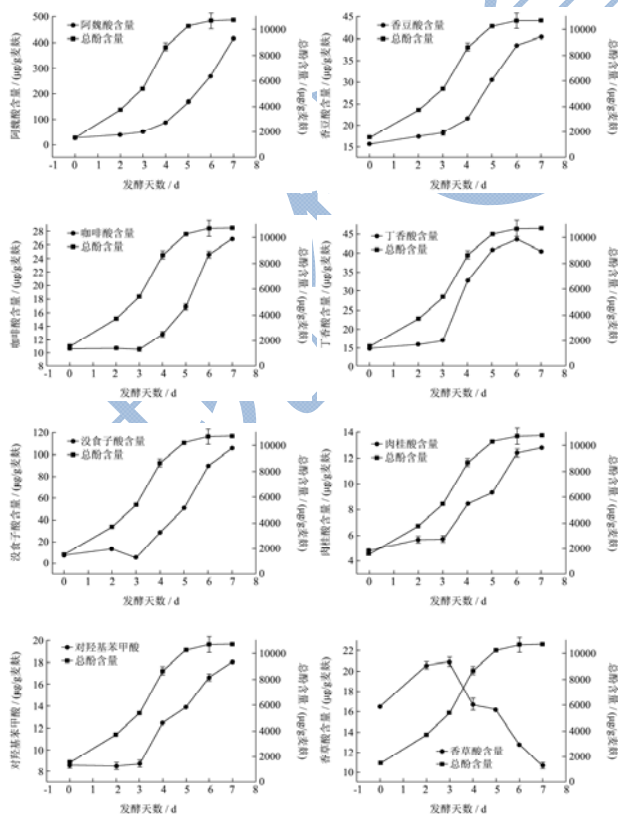


图2 不同酵解时间黑曲霉固态发酵小麦麸皮分解酚酸组分变化

Fig.2 Changes in the content of phenolic acid components in wheat bran by solid-state fermentation with *Aspergillus*

从图2的结果分析得出, 小麦麸皮中能检测到的游离酚酸有阿魏酸, p-香豆酸, 咖啡酸, 没食子酸, 丁香酸, 肉桂酸等九种。主要以阿魏酸为主, 含量相对较少。经过黑曲霉降解大部分酚酸随着发酵的时间增加, 含量有所提高。其中以阿魏酸, 没食子酸的释放量最为显著。原麦麸中阿魏酸测定值为 27.51 µg/g 麦麸, 发酵第 2 d 已经达到 37.85 µg/g 麦麸, 从第 4 d 86.41 开始, 以 2 倍数数量级迅速增加。第 7 d 的阿魏酸含量已达到 416.56 µg/g 麦麸, 比原麦麸中游离的阿魏酸含量提高了 15 倍多。

次之是没食子酸, 虽然没有阿魏酸的增加量多, 但是从初始未发酵原麦麸中含量 7.71 µg/g 麦麸, 到第 7 d 达到 105.77 µg/g 麦麸, 也增加了 13 倍多。虽然在发酵过程中出现了减少的趋势, 但是分析可能是两种原因: 一, 在微生物生长繁殖过程中, 分泌的某种酶或其他成分对没食子酸有分解作用。当分解速率大于促生成速率的时候, 没食子酸就会减少, 当后期随着降解程度的增加, 可能酚酸的分解速率迅速增加, 导致没食子酸的增加量远远大于分解量, 或者同时, 在发酵后期的生长环境中细胞会被某些成分诱导, 阻断分解没食子酸的物质合成。二, 也有可能是特殊情况偶然发生, 属于误差。那么我们同时进行了重复性实验, 结果是相同的, 于是我们原则上排除第二种可能。

还有一些麸皮中含量相对较多, 但是在固态发酵中却并没有大量分解生成的酚酸, 如咖啡酸, 丁香酸, 香豆酸, 肉桂酸等, 整体增量差异不明显, 但是也与总酚的含量趋势相同, 说明, 黑曲霉发酵中总酚的增加量能够代表酚酸类成分的增加量。

另一部分酚酸随着黑曲霉发酵麦麸时间的延长, 成分会减少, 如香草酸和绿原酸。香草酸从发酵开始到第 3 d, 略有增加, 但是从第 3 d 开始锐减, 第 7 d 检测量只有 10.71 µg/g 麦麸, 低于原始未发酵的麦麸

中游离香草酸的量。绿原酸则是从发酵开始含量直线下降。分析可能是发酵中的微生物分泌的某些成分对香草酸和绿原酸有分解作用。而发酵释放量远远小于分解量，则显现含量下降趋势。

图3结果分析得到：经过棒曲霉固态发酵小麦麸皮，大部分酚酸随着发酵的时间增加，含量有所提高。其中仍然以阿魏酸释放量最为显著。虽然开始的3 d增加量不显著，但是从第4 d开始迅速以倍数级增加，第7 d阿魏酸含量达到200.81 μg/g 麦麸，比原麦麸中游离的阿魏酸含量提高了7倍多。

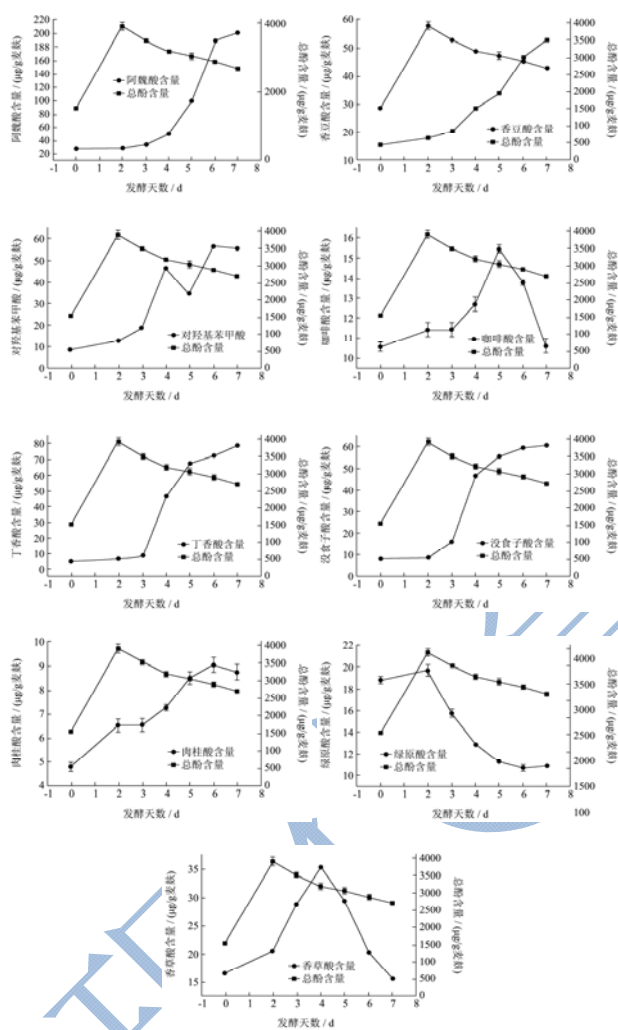


图3 不同酵解时间棒曲霉固态发酵小麦麸皮分解酚酸组分变化

Fig.3 Changes in the phenolic acid components in wheat bran during the solid-state fermentation with *A. clavatus*

次之是丁香酸，没食子酸，对羟基苯甲酸和香豆酸，虽然没有阿魏酸的增加量多，但是从分别从原麦麸中含量14.74 μg/g 麦麸、7.71 μg/g 麦麸、8.57 μg/g 麦麸、5.62 μg/g 麦麸增长至88.4 μg/g 麦麸，60.38 μg/g 麦麸，55.56 μg/g 麦麸，52.93 μg/g 麦麸。虽然发酵对

这些酚类的释放效果不是非常显著，但是说明发酵是对酚酸释放具有正向作用的。我们从结果可以看到，棒曲霉发酵后总酚测定是先增加后减少。这个结果说明：一，酚类物质在酵解中是确实存在被分解的情况。二，虽然总酚增加与酚酸成分有一定相关性，但并不能完全代表酚酸分解量。

除了肉桂酸在发酵过程中变化不大以外，绿原酸，咖啡酸，香草酸的含量均与发酵前无明显变化或比发酵前少。趋势基本是先少量增加，之后减少。可能进一步佐证了上面的分析和猜想，即在发酵中微生物为了满足自身的生长繁殖需求，会分泌促使麸结构分解的酶来降解出糖分等物质，但是同时也分泌出某些酶或其他成分对酚类有相应的降解作用，当分解速率大于生成速率时，我们检测得到减小趋势，当生成速率大于分解速率时，我们检测得到增加趋势。

## 2.4 两种丝状真菌发酵中阿魏酸酯酶酶活变化

为了进一步研究两种丝状真菌酵解小麦麸皮过程中各种酚酸变化量与酶活性变化之间的关系，我们对其中比较重要的两种酶的活性进行跟踪性测定。结果见表2和表3。

虽然黑曲霉的阿魏酸酯酶活性没有棒曲霉的活性强，但是我们在酚酸检测的结果却是黑曲霉的阿魏酸释放量最大，总酚含量也是最大。那么我们可以得出结论为：通过检测阿魏酸酯酶活性变化量，能够说明一种微生物在发酵过程中具有释放阿魏酸的能力，并且阿魏酸酯在固态发酵过程中酶活力趋势与阿魏酸为主的酚酸释放量趋势基本一致，但是并不能直接代表这种微生物分解麦麸产生酚酸的能力。评价一种微生物释放酚酸的能力，应该结合多种酶的活性、总酚测定结果、各种酚酸测定结果等多种因素综合判定。于是我们测定了，两种丝状真菌在固态发酵过程中，木聚糖酶的活性变化，结果如表3所示。

由表3结果分析得到：黑曲霉的木聚糖酶活性远高于棒曲霉。那么结合阿魏酸酯酶与酚酸的结果进行分析，说明木聚糖酶在丝状真菌分解小麦麸皮过程中酚酸的释放量具有协同阿魏酸酯酶且至关重要的作用。木聚糖酶对暴露酚酸酯键供酚酸酯酶（主要以阿魏酸酯酶为主）切断连接阿魏酸及阿魏酸二聚体与阿拉伯木糖之间的酯键有关键作用。木聚糖酶的活性具有代表一种菌种分解麸皮的能力，间接代表释放酚酸的能力。

表2 两种丝状真菌不同发酵时间阿魏酸酯酶酶活变化

**Table 2 Changes in ferulic acid esterase activity at different fermentation time points using two types of filamentous fungi**

发酵时间/d	2	3	4	5	6	7
菌种	阿魏酸酯酶酶活/(mU/g 小麦麸皮)					
黑曲	18.82±0.15 <sup>d</sup>	28.58±2.53 <sup>c</sup>	31.43±0.59 <sup>b</sup>	50.92±0.18 <sup>a</sup>	37.15±0.57 <sup>b</sup>	36.28±0.75 <sup>b</sup>
棒曲	49.71±1.73 <sup>c</sup>	45.49±2.34 <sup>c</sup>	55.39±0.79 <sup>b</sup>	66.89±4.97 <sup>a</sup>	63.65±6.94 <sup>a</sup>	65.43±2.69 <sup>a</sup>

表3 两种丝状真菌不同发酵时间木聚糖酯酶酶活变化

**Table 3 Changes in xylanase esterase activity at different fermentation time points using two types of filamentous fungi**

发酵时间/d	2	3	4	5	6	7
菌种	木聚糖酯酶酶活/(U/g 小麦麸皮)					
黑曲	139.1±0.8 <sup>d</sup>	654.1±3.8 <sup>ab</sup>	661.2±16.8 <sup>a</sup>	639.2±17.1 <sup>b</sup>	660.1±11.2 <sup>a</sup>	372.1±5.5 <sup>c</sup>
棒曲	321.0±3.9 <sup>a</sup>	299.7±2.5 <sup>b</sup>	215.3±7.8 <sup>c</sup>	146.9±2.5 <sup>d</sup>	45.2±0.2 <sup>e</sup>	49.6±0.4 <sup>e</sup>

### 2.5 丝状真菌降解小麦麸皮过程中表面结构的变化

小麦麸皮包括三个部分：糊粉层，中皮层和外皮层。通常微生物降解是从糊粉层开始的，糊粉层含有大量的氨基酸、蛋白质、淀粉和一部分游离的酚酸类物质。在糊粉层降解的过程中，微生物利用其中的营养物质进行大量的生长繁殖，进而降解中皮层中的成分产生生长繁殖中需要的糖类满足代谢需求。外皮层由于结构坚固紧密，微生物对其降解的能力有限，或者过程非常缓慢。这也是固态发酵一直不能用于大规模生产的原因所在。为了更好的了解丝状真菌固态发酵分解小麦麸皮过程中麸皮被降解的实际情况，我们用电镜观察了小麦麸皮的不同时间的结构变化（见图4和图5）。

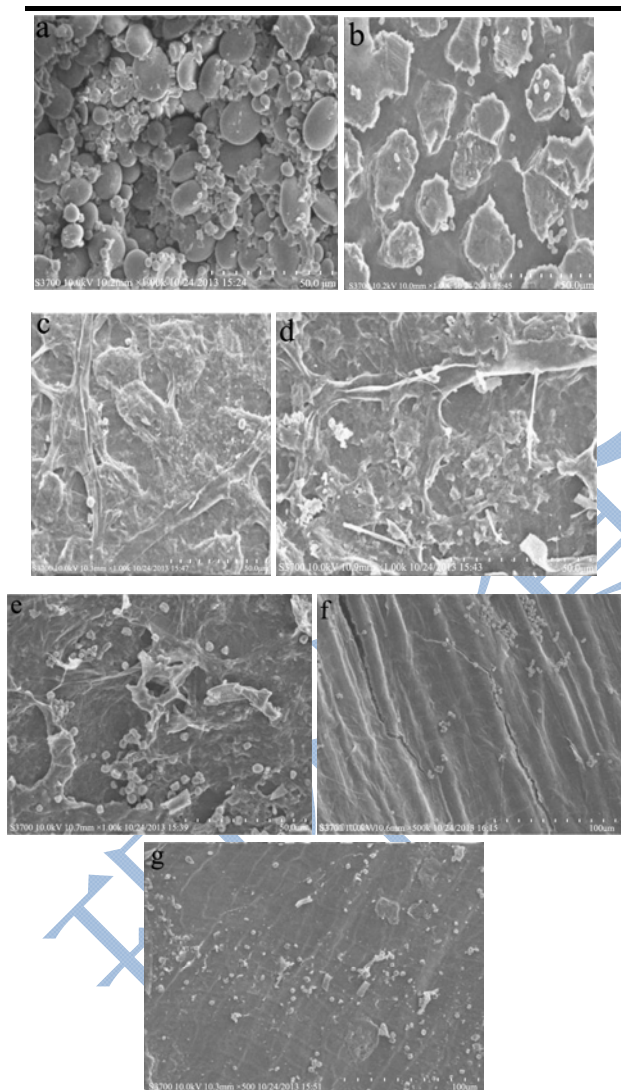
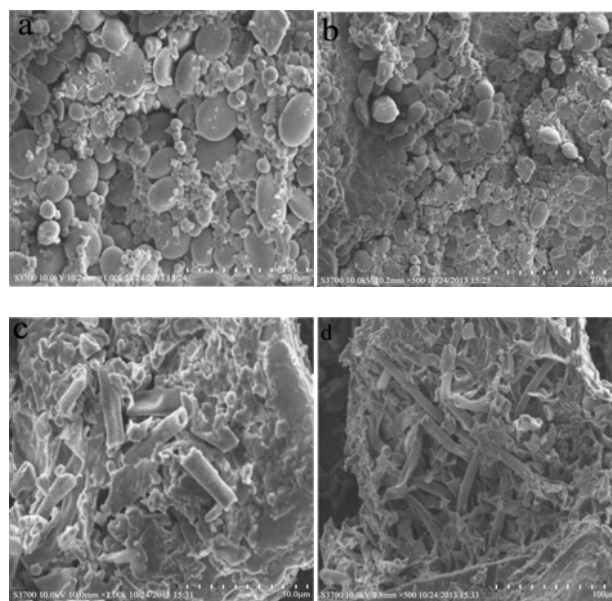


图4 电镜观察黑曲霉降解小麦麸皮过程中麸皮表面结构的变化

Fig.4 Changes in the surface structure of wheat bran during the degradation of wheat bran by *Aspergillus niger* (observed using electron microscopy)



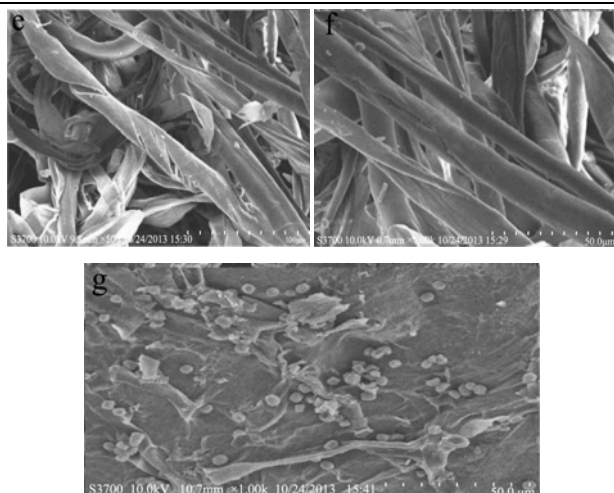


图5 电镜观察棒曲霉降解小麦麸皮过程中麸皮表面结构的变化

**Fig.5 Changes in the surface structure of wheat bran during the degradation of wheat bran by *Aspergillus clavatus* (observed using electron microscopy)**

图中可以看到,不同微生物在降解小麦麸皮过程中,小麦麸皮变化状态不尽相同,其中黑曲霉降解过程中,小麦麸皮糊粉层迅速被降解,表面呈块状结构,随着降解时间的延长,块状趋于平滑,暴露出纤维素骨架结构,直至降解到外皮层部分,表面趋于光滑,伴有被降解的纤维素裂纹。而棒曲霉降解糊粉层的速度弱于黑曲霉,并且麸皮表面呈丝状形态。纤维素丝网状交织结构随着酵解的时间的延长,越来越松散,第七天观察到仍以不规则的粗糙面状态存在,说明降解程度不如黑曲霉深入。

### 3 结论

3.1 两种菌种对小麦麸皮的降解能力有所不同,与酚酸酯酶(主要以阿魏酸酯酶为主)活性有关,但阿魏酸酯酶酶活的高低不能判定菌种释放酚酸的能力高低。

3.2 两种丝状真菌固态发酵中产生的酚酸的种类基本相同,但对某种酚酸的释放能力优越性不尽相同。对阿魏酸和没食子酸的释放能力黑曲霉显著优于棒曲霉;对丁香酸的释放能力棒曲霉优于黑曲霉。

3.3 木聚糖酶的活性直接影响麸皮酵解程度,间接影响酚酸组分的释放。由于菌种不同,微生物降解麸皮所显现表面结构不同。

3.4 微生物分泌酶系降解麦麸产生酚酸的同时也可能会分泌某种酶或其他未知成分来降解某些酚酸组分,当释放率大于降解率时,我们得到酚酸增加的检测结果,当小于降解率时,测定酚酸值可能会低于原麦麸测定值。

### 参考文献

- [1] A N Mateo, A M Aura, E Selinheimo, et al. Bioprocessing of wheat bran in whole wheat bread increases the bioavailability of phenolic acids in men and exerts antiinflammatory effects ex vivo. [J]. Journal of Nutrition, 2011, 141(1): 137-143
- [2] S D Kock, Taylor. Effect of heat treatment and particle size of different brans on loaf volume of brown bread [J]. Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie, 1999, 32(6): 349-356
- [3] Salmenkallio-Marttila, Katina, Autio. Effects of bran fermentation on quality and microstructure of high-fiber wheat bread [J]. Cereal Chemistry, 2001, 78(4): 429-435
- [4] Bonnin E, Saulnier L, Brunel M, et al. Release of ferulic acid from agroindustrial by-products by the cell wall-degrading enzymes produced by *Aspergillus niger* I-1472 [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31(7): 1000-1005
- [5] Sancho A I, Bartolome B, Gomez-Cordoves C, et al. Release of ferulic acid from cereal residues by barley enzymatic extracts [J]. Journal of Cereal Science, 2001, 34(2): 173-179
- [6] Bartolome, Faulds C B, Williamson G. Enzymic release of ferulic acid from barley spent grain [J]. Journal of Cereal Science, 1997, 25(3): 285-288
- [7] Faulds C B, Williamson G. The purification and characterisation of 4-hydroxy-3-methoxycinnamic (ferulic) acid esterase from *Streptomyces olivochromogenes* [J]. Journal of General Microbiology, 1991, 137(10): 2339-2345
- [8] Dhiman T R, Zaman M S, Gimenez R R, et al. Performance of dairy cows fed forage treated with fibrolytic enzymes prior to feeding [J]. Animal Feed Science and Technology, 2002, 101(1-4): 115-125
- [9] Hermoso J A, Aparicio J S, Molina R. The crystal structure of feruloyl esterase: A from *Aspergillus niger* suggests evolutive functional convergence in feruloyl esterase family [J]. Journal of Molecular Biology, 2004, 338(3): 495-506
- [10] S Mathew, T E Abraham. 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
- [11] 胡博涵,吴晖,赖富饶,等.产阿魏酸酯酶菌株的筛选及其酚酸释放研究[J].现代食品科技,2015,7:92-98  
HU Bo-han, Wu Hui, LAI Fu-rao et al. Selection of feruloyl esterase-producing strains and estimation of phenolic acid production [J]. Modern Food Science and Technology, 2015(7): 92-98

- [12] 杜小燕,吴晖,赵超敏,等.泡盛曲霉发酵麦麸过程中酚类物质含量的变化与三种酶活性的相关性[J].现代食品科技, 2015,4:69-76  
DU Xiao-yan, Wu Hui, ZHAO Chao-min, et al. Correlations between phenolic compounds contents in wheat bran fermented by *Aspergillus awamori* and three types of enzyme activities [J]. Modern Food Science and Technology, 2015(4): 69-76
- [13] GB/T 23874-2009,饲料添加剂木聚糖酶活力的测定分光光度法[S]  
GB/T 23874-2009, Determination of xylanase activity in feed additives-spectrophotometric method [S]
- [14] Xie Chun-yan, Gu Zhen-xin, You Xue-jiao, et al. Screening of edible mushrooms for release of ferulic acid from wheat bran by fermentation [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2010, 46(2): 125-128
- [15] 夏荃,文惠玲,李土光,等.高效液相色谱法测定川芎不同炮制品中游离阿魏酸和总阿魏酸的含量[J].广州中医药大学学报,2009,26(4):384-387  
XIA Quan, WEN Hui-ling, LI Tu-guang, et al. Determination of ferulic acid and total ferulic acid in different processed products of rhizoma chuanxiong by HPLC [J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2009(4): 384-387
- [16] GB 5009.5-2010,食品中蛋白质的测定微量凯氏定氮法[S]  
GB 5009.5-2010, Determination of protein in food-micro-Kjeldahl [S]
- [17] GB 5009.5-2003,食品中脂肪的测定索氏抽提法[S]  
GB 5009.5-2003, Determination of fat in food-soxhlet extraction [S]
- [18] GB/T 5009.9-2008,食品中淀粉的测定酸水解法[S]  
GB/T 5009.9-2008, Determination of starch in food-acid hydrolysis [S]
- [19] 范鹏程,田静.花生壳中纤维素和木质素含量的测定方法[J].重庆科技学院学报(自然科学版),2008,10(5):64-67  
FAN Peng-cheng, TIAN Jing, et al. On the determination of cellulose and lignin of peanut shells [J]. Journal of Chongqing University of Science and Technology: Natural Science Edition, 2008, 10(5): 64-67
- [20] GB 5009.4-2010,食品中灰分的测定高温灼烧法[S]  
GB 5009.4-2010, Determination of ash in food-high temperature burning method [S]
- [21] GB 5009.3-2010,食品中水分的测定常压干燥法[S]  
GB 5009.3-2010, Determination of moisture in food-atmospheric pressure drying method [S]