

酶法提取白酒糟中酚酸物质工艺

王鑫, 刘微微, 曹学丽*

(北京工商大学食品学院, 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

摘要: 采用二次回归正交旋转组合设计对酶法提取白酒糟中酚酸类物质的工艺进行研究。考察了加酶量(X_1)、反应时间(X_2)、pH值(X_3)和液料比(X_4)4个试验因素对总酚酸产率(Y)的影响, 并得到回归模型: $Y = 1.28321 + 0.04783X_1 + 0.03728X_2 + 0.12048X_3 + 0.05152X_4 - 0.05027X_1^2 + 0.01514X_2^2 + 0.00099X_3^2 - 0.03790X_4^2 + 0.02000X_1X_2 + 0.03000X_1X_3 + 0.00250X_1X_4$ 。其最佳工艺条件为: 加酶量 10mL/100g、酶解时间 150min、pH6.6、液料比 25:1, 得到的最高总酚酸产率为 1.51%。实测值与模型预测值偏差为 0.67%。高效液相色谱分析表明酶解前后反式阿魏酸含量变化极其显著。

关键词: 白酒糟; 酚酸; 酶解; 提取; 工艺优化

Enzymatic Extraction of Phenolic Components from Distiller's Grains

WANG Xin, LIU Wei-wei, CAO Xue-li*

(Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: An enzymatic hydrolysis method was proposed to extract phenolic components from distiller's grains. The extraction process was optimized by quadratic rotation-orthogonal composite experimental design method. The extraction yield of total phenolic acids was investigated with respect to variable parameters including enzyme dosage (X_1), reaction time (X_2), pH (X_3) and material-to-liquid ratio (X_4). A regression model was established as $Y = 1.28321 + 0.04783X_1 + 0.03728X_2 + 0.12048X_3 + 0.05152X_4 - 0.05027X_1^2 + 0.01514X_2^2 + 0.00099X_3^2 - 0.03790X_4^2 + 0.02000X_1X_2 + 0.03000X_1X_3 + 0.00250X_1X_4$. The optimal extraction conditions were enzyme dosage 10 mL/100 g, pH 6.6, and material-to-liquid ratio 1:25, and hydrolysis time 150 min. Under these conditions, the predicted and actual yields of total phenolic acids were 1.50% and 1.51%, showing a relative error of 0.67%. HPLC analysis indicated that an obvious increase of *trans*-ferulic acid after enzymatic hydrolysis was observed.

Key words: distiller's grains; phenolic acids; enzymatic hydrolysis; extraction; optimization

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)24-0114-06

酒糟是指酒经过发酵后剩余的残渣, 是酿酒业的副产物。酒糟分为啤酒糟、白酒糟和酒精糟^[1]。白酒糟主要是以高粱、甘薯和玉米等为原料, 用固体发酵法和液体发酵法生产白酒后得到得副产品。近几年来, 我国白酒产量急剧增高。据报道 2010 年, 我国白酒产量已达到 891 万吨^[2]。与此同时每年会产生 3000 万吨以上的白酒糟^[3]。由于其呈酸性, 极易霉变, 如果不及处理, 会造成严重的环境污染^[4], 而酒糟本身由于发酵不完全等各种原因, 仍有一定的营养价值和可利用之处。充分而有效地对酒糟加以综合利用, 既可减轻环境污染, 又可节约粮食、降低生产成本。因此, 酒

糟的综合利用对我国的资源开发和环境保护具有十分重要的意义^[5]。目前, 国内外对酒糟的综合利用主要为^[6-9]生产化工产品、培养食用菌、酿醋、生产饲料、生产沼气等。但是对酒糟中可能存在的高附加值生物活性物质的深度开发和利用还报道的较少。

酒糟中含有大量不能被微生物利用的谷物皮渣, 其中除含有蛋白质, 氨基酸、微量元素等物质外, 还含有大量与多糖骨架结合在一起构成细胞壁的酚酸类物质(束缚型酚酸)如阿魏酸等^[10-12]。谷物中的酚酸类物质主要有羟基苯甲酸类和羟基肉桂酸类, 具有抗氧化、清除自由基、抗菌、保鲜等生物活性^[13-14]。但这类酚酸在

收稿日期: 2011-07-05

作者简介: 王鑫(1983—), 男, 硕士研究生, 研究方向为生物分离工程。E-mail: wangxin_2010@126.com

*通信作者: 曹学丽(1967—), 女, 教授, 博士, 研究方向为生物分离工程。E-mail: caoxl@th.btbu.edu.cn

谷物麸皮中多以交联聚合物的形式存在,利用度较低。研究表明酶水解法有利于植物细胞中微量营养素和植物化学成分的释放。利用复合酶处理谷物麸皮可以使其中的活性成分得到有效释放^[15],提高其生物利用度。本实验着重对酶法提取白酒糟中酚酸类物质的工艺进行研究和优化,提高酒糟中束缚型酚酸的释放,为白酒糟中酚酸类物质的高效利用和开发奠定基础,同时也为白酒糟资源的二次利用开辟了新的途径。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

白酒酒糟 山西某白酒厂; Ultraflo XL、Viscozyme L 诺维信(中国)生物技术有限公司; 没食子酸(分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 福林酚试剂(国产) 北京汇海科学仪器有限公司; 4-羟基苯甲酸(4-hydroxybenzoic acid)、4-羟基苯乙酸(4-hydroxyphenylacetic acid)、4-羟基苯甲醛(4-hydroxybenzaldehyde)、香草酸(vanillic acid)、丁香酸(syringic acid)、香豆酸(coumaric acid)、反式-阿魏酸(trans-ferulic acid)、肉桂酸(cinnamic acid)(纯度均大于95%) 美国 Sigma-Aldrich 公司; 石油醚、无水乙醚(均为分析纯) 北京化工厂; 甲醇(色谱纯) 美国 Fisher Scientific 公司; 超纯水 自制。

1.2 仪器与设备

Agilent 1100 高效液相色谱系统 美国安捷伦科技有限公司; SpectraMax 190 连续波长酶标仪 美国分子仪器有限公司; RE-2000 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; DSHZ-300 多用途水浴恒温振荡器 江苏太仓市实验设备厂。

1.3 方 法

1.3.1 酒糟中总酚酸含量的测定

采用 Folin-Ciocalteu 法对酒糟中总酚酸的含量进行测定^[16-17]。

标准曲线的绘制:称取一定的没食子酸,用80%乙醇溶解并定容至容量瓶中,配制1mg/mL没食子酸标准溶液。精确吸取0、0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL上述标准溶液定容至10mL容量瓶中,分别取100 μ L上述标准液于1.5mL EP管中,加入150 μ L福林酚试剂,8min后分别加入300 μ L水,450 μ L 10g/100mL Na₂CO₃溶液,充分振荡后于室温下避光反应30min。取200 μ L置于96孔酶标板中,室温下在760nm处测定吸光度。没食子酸标准曲线: $y = 0.0049x - 0.0023$, $R^2 = 0.9982$ 。

样品测定:取100 μ L样品溶液于1.5mL EP管中,按照上述方法测定试样的吸光度,根据标准曲线计算总酚酸的含量。

1.3.2 单个酚酸含量的 HPLC 测定

色谱条件^[18]: 色谱柱 Phenomenex Luna phenyl-hexyl (250mm \times 4.6mm, 5 μ m), 配有预柱 Phenomenex Security Guard Column; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流动相: A 为 2% 乙酸水溶液, B 为 甲醇; 洗脱程序: 0~25min, 5%~30% B; 25~35min, 30%~50% B; 35~45min, 50%~100% B; 45~55min, 100% B; 进样量 20 μ L; 检测波长 280nm。

1.3.3 复合酶的筛选和活力测定

由于谷物麸皮的大部分酚酸成分是以酯键或醚键的形式结合在交联的木聚糖、阿拉伯糖残基上,故要使其释放为游离型,需要打破交联的酯键。根据报道^[19-20],可采用阿魏酸酯酶来进行处理。但是阿魏酸酯酶市场上较难得到,据报道^[21-22], α -葡聚糖酶 Ultraflo XL 具有较理想的阿魏酸酯酶活性,且经济易得,故选取这种成品酶并对其阿魏酸酯酶活性进行测定。

另外 Viscozyme L 也是一种特别适用于分解细胞壁,从植物组织中提取有效成分时使用的特殊酶。是一种包括阿拉伯聚糖酶、纤维素酶、 α -葡聚糖酶、半纤维素酶和木聚糖酶在内的复合酶。本实验对此酶的阿魏酸酯酶活性也进行了测定。

阿魏酸酯酶比活力的测定:参照 Humberstone 等^[23]和 Sancho 等^[24]的方法,并加以改进。称取 100mg 阿魏酸甲酯,加入 10 μ L 酶液,置于 10mL pH6.0 柠檬酸盐缓冲液中,45 $^{\circ}$ C 水浴摇床反应 3h。沸水浴灭酶 15min,用 6mol/L HCl 溶液酸化至 pH2,等体积乙醚萃取 3 次,滤液合并后溶解至 1mL 甲醇中,按照 1.3.2 节方法检测生成阿魏酸的量。以每 1min 生成 1 μ g 阿魏酸所需酶液的量记为 1 个酶活力单位(U)。

1.3.4 白酒糟中酚酸的提取工艺流程

1.3.4.1 酶解前游离酚酸的提取

干酒糟 粉碎(粒径0.45~0.3mm) 石油醚脱脂 干燥备用 称 0.5g 20mL 80% 甲醇提取 3 次 调 pH2 乙醚萃取 旋蒸 甲醇复溶 测定总游离酚酸和单个酚酸含量

1.3.4.2 酶解工艺提取酚酸

干酒糟 粉碎(粒径0.45~0.3mm) 石油醚脱脂 干燥备用 称 0.5g 45 $^{\circ}$ C、100r/min 酶解 沸水浴 15min 灭酶 调 pH2 乙醚萃取 旋蒸 甲醇复溶 测定总游离酚酸和单个酚酸含量

1.3.5 白酒糟酶法提取工艺的优化

1.3.5.1 单因素试验

酒糟酶解提取酚酸工艺的影响因素主要有酶用量、酶解时间、pH 值、料液比等。针对这几种因素,分别在保持其他因素相同的条件下进行单因素试验。考察各因素对酒糟中游离总酚酸产率的影响,选取关键的影响因素和影响范围。

1.3.5.2 正交试验

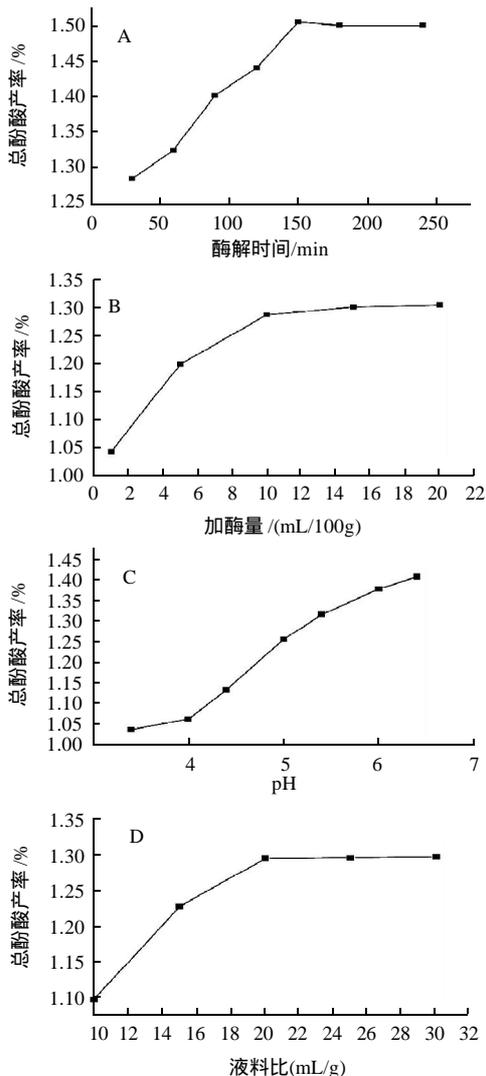
在单因素试验基础上,选取对酒糟中总酚酸产率影响关键的4个因素,进行二次回归正交旋转法 $4(1/2)$ 组合设计,每个试验重复2次。对结果进行分析,以总酚酸产率为指标,确定酶解的最佳工艺条件。

2 结果与分析

2.1 复合酶的筛选及其阿魏酸酯酶活力

通过1.3.3节方法,测定得到Ultraflo XL酶的阿魏酸酯酶比活力为1406U/mL,Viscozyme L酶的阿魏酸酯酶比活力为210U/mL,Ultraflo XL的阿魏酸酯酶的酶比活力是Viscozyme L的6.7倍。因此,选用Ultraflo XL酶作为试验用酶。

2.2 酒糟酶解工艺单因素试验



A. 酶解时间; B. 加酶量; C. pH值; D. 液料比。

图1 不同影响因素对酒糟中总游离酚酸产率的影响

Fig.1 Effects of four hydrolysis parameters on the yield of total free phenolic acids from distiller's grains as obtained by one-factor-at-a-time designs

固定加酶量10mL/100g、液料比20:1、pH6.0,考察不同酶解作用时间对总酚酸产率的影响。从图1A可看出,总酚酸的产率随酶解时间的增加而不断增加,当酶解时间超过150min之后总酚酸的产率略有下降。其主要原因是,在酶解开始时由于底物过量,酶能快速与底物结合使酚酸不断释放出来,但随着时间的增加,总酚酸的释放会趋于平缓,而且酶解液中的部分酚酸会被氧化,总酚酸的产率也会略有下降。因此选择酶解作用时间150min比较适宜。

固定酶解时间150min,其他条件同上,考察不同加酶量对总酚酸产率的影响。从图1B可看出,在加酶量1~10mL/100g之间时,总酚酸的产率增加显著,当加酶量超过10mL/100g时,总酚酸的产率趋于平缓。说明当底物固定不变,加酶量达到一定值时,酶与底物就会达到饱和,即使再增加酶用量也没有多余的底物与之结合,致使总酚酸的产率不会再有明显的增加。因此,选择10mL/100g的加酶量比较合适。

其他条件不变,考察不同pH值对总酚酸产率的影响。从图1C可看出,随着pH值升高,总酚酸的产率也逐渐升高,当pH值达到6.4时总酚酸产率达到最高值,说明Ultraflo XL酶最适的pH值范围比较宽。但考虑到酚酸属于弱酸性物质,为了保证酚酸以分子形式而不是以离子形式存在,需要保持整体的反应体系为酸性,故采用酸性pH5.0的缓冲液作为反应体系。

其他条件不变,考察不同液料比对总酚酸产率的影响。从图1D可看出,当液料比较小时,随着溶剂用量的增加,总酚酸的产率也不断增加。当液料比超过20:1时,总酚酸产率基本趋于平缓。因此选择液料比为20:1。

2.3 二次回归正交旋转组合设计酶解工艺条件的优化

2.3.1 正交试验因素选取

在单因素试验基础上,采用二次回归旋转组合设计对酶解工艺的主要影响因素进行优化试验,取加酶量(X_1)、酶解时间(X_2)、pH值(X_3)和液料比(X_4)作为4个考察因素,每个因素选取5个显著水平,因素及水平设计见表1。

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Coded values and corresponding actual values of the optimization parameters used in quadratic rotation-orthogonal composite experimental design

变量名称	水平				
	1.682	1	0	-1	-1.682
X_1 加酶量/(mL/100g)	18.4	15	10	5	1.6
X_2 酶解时间/min	250	210	150	90	50
X_3 pH	6.6	6.0	5.0	4.0	3.4
X_4 液料比	30:1	25:1	20:1	15:1	10:1

2.3.2 二次回归模型的建立与显著性检验

根据二次回归正交组合试验设计原理,共进行23组试验,试验设计及结果见表2。运用DPS 7.05数据处理系统,用二次回归正交旋转组合设计试验统计方法对试验数据进行拟合,得到的回归方程如下:

$$Y=1.28321 + 0.04783X_1 + 0.03728X_2 + 0.12048X_3 + 0.05152X_4 - 0.05027X_1^2 + 0.01514X_2^2 + 0.00099X_3^2 - 0.03790X_4^2 + 0.02000X_1X_2 + 0.03000X_1X_3 + 0.00250X_1X_4$$

表2 二次回归正交旋转组合设计及试验结果

Table 2 Quadratic rotation-orthogonal composite experimental design and results

试验号	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	Y总酚酸产率/%
1	1	1	1	1	1.51
2	1	1	-1	-1	1.11
3	1	-1	1	-1	1.33
4	1	-1	-1	1	1.09
5	-1	1	1	-1	1.26
6	-1	1	-1	1	1.13
7	-1	-1	1	1	1.31
8	-1	-1	-1	-1	1.04
9	-1.682	0	0	0	1.02
10	1.682	0	0	0	1.23
11	0	-1.682	0	0	1.23
12	0	1.682	0	0	1.39
13	0	0	-1.682	0	1.09
14	0	0	1.682	0	1.45
15	0	0	0	-1.682	1.04
16	0	0	0	1.682	1.28
17	0	0	0	0	1.25
18	0	0	0	0	1.32
19	0	0	0	0	1.37
20	0	0	0	0	1.20
21	0	0	0	0	1.34
22	0	0	0	0	1.25
23	0	0	0	0	1.29

表3 回归试验结果方差分析表

Table 3 Variance analysis for the established regression model

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
X ₁	0.0227	1	0.0227	7.5743	0.0188	*
X ₂	0.0138	1	0.0138	4.6011	0.0551	
X ₃	0.1442	1	0.1442	48.0670	0.0001	**
X ₄	0.0264	1	0.0264	8.7896	0.0129	*
X ₁ ²	0.0292	1	0.0292	9.7354	0.0097	**
X ₂ ²	0.0026	1	0.0026	0.8826	0.3677	
X ₃ ²	0.0000	1	0.0000	0.0038	0.9519	
X ₄ ²	0.0166	1	0.0166	5.5325	0.0383	*
X ₁ X ₂	0.0023	1	0.0023	0.7759	0.3972	
X ₁ X ₃	0.0052	1	0.0052	1.7457	0.2132	
X ₁ X ₄	0.0000	1	0.0000	0.0121	0.9143	
回归	0.3617	11	0.0329	F ₂ = 10.96197	0.0002	**
剩余	0.0330	11	0.0030			
失拟	0.0119	5	0.0024	F ₁ = 0.67781	0.6454	
误差	0.0211	6	0.0035			
总和	0.3947	22				

注:*. P < 0.05, 差异显著; **. P < 0.01, 差异极显著。

运用DPS 7.05分析软件对表2中数据进行统计分析,方差分析结果如表3所示。由表3方差分析结果可知,回归项极显著(P < 0.01),失拟项不显著,说明该方程与实际情况拟合较好,能正确反映酒糟中总酚酸的产率与加酶量、酶解时间、pH值和液料比这4个因素间的关系,回归系数R² = 回归平方和/总平方和 = 0.9164,说明该模型能够解释91.64%的变化。

对回归系数进行显著性检验,在P = 0.10显著水平剔除不显著项,简化后的回归方程为:Y=1.28321 + 0.04783X₁ + 0.03728X₂ + 0.12048X₃ + 0.05152X₄ - 0.05027X₁² - 0.03790X₄²。通过表3对回归方程系数显著性检测可知,回归方程的一次项X₃极显著,X₁、X₄显著,X₂不显著;二次项X₁²极显著,X₄²显著,X₂²、X₃²不显著;交互项均不显著。从F值分析结果来看,在所选的各因素水平范围内,对总酚酸产率的影响顺序为:pH值(X₃) > 液料比(X₄) > 加酶量(X₁) > 酶解时间(X₂)。

2.3.3 最佳酶解方案的确定与验证

通过对表2数据处理,得到酒糟中总酚酸产率的最大酶解条件为:加酶量(X₁)在0水平(10mL/100g),酶解作用时间(X₂)在1.682水平(250min),pH值(X₃)在1.682水平(6.6),液料比(X₄)在1水平(25:1)。此方案得到的最佳总酚酸产率为1.56%。但考虑到酶解时间不显著,酶解时间过长并不能显著增加总酚酸的产率,为了节省时间减少生产成本,故选择加酶量(X₁)在0水平(10mL/100g),酶解时间(X₂)在0水平(150min),pH值(X₃)在1.682水平(6.6),液料比(X₄)在1水平(25:1),通过带入回归方程得到总酚酸产率为1.50%。在上述优化工艺条件下进行验证实验,重复3次,得到的总酚酸产率平均值为1.51%,其相对误差为0.67%,证明此最佳模型是可靠的。

2.4 酶解前后酚酸含量的变化

2.4.1 酶解前后总酚酸含量的变化

表4 酶解前后总酚酸含量变化

Table 4 Content change of total phenolic acids before and after the enzymatic hydrolysis

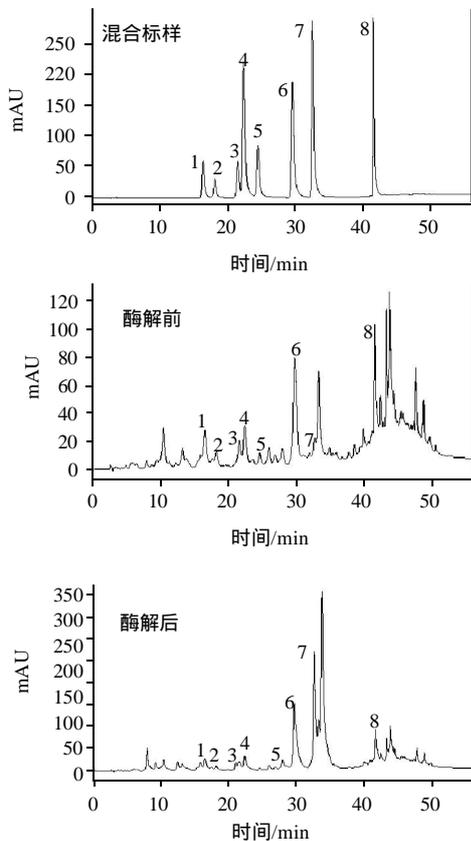
酚酸含量/(mg/g)	1	2	3	平均值
酶解前	10.22	10.22	10.23	10.22
酶解后	15.07	15.10	15.15	15.11

酶解前总酚酸含量为10.22mg/g,经过酶解后总酚酸含量达到15.11mg/g,总酚酸释放量为4.89mg/g,是酶解前的约1.5倍。

2.4.2 酶解前后单个酚酸含量的变化

由图2可知,在酶解前后酒糟样品中均检出了4-羟基苯甲酸、4-羟基苯乙酸、香草酸、4-羟基苯甲醛、丁香酸、香豆酸、反式阿魏酸和肉桂酸8种酚酸成分。

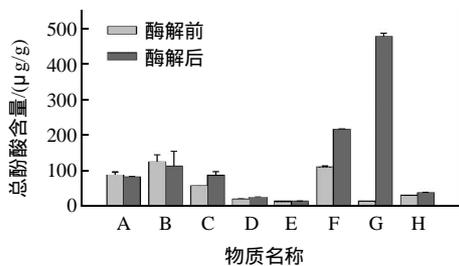
在酶解前的样品中以香豆酸和肉桂酸的丰度较高,酶解后这两种酚酸仍然是主要成分,但是在酶解后的样品中反式-阿魏酸的丰度有显著提高。根据文献推测,在反式-阿魏酸后紧邻出现的峰应为顺式-阿魏酸,其也是酶解前后样品中的主要成分,且酶解后丰度也明显提高。但因无标样,没有对其进行定量。其他酚酸成分的定量含量变化见图3。



1. 4-羟基苯甲酸(16.440min); 2. 4-羟基苯乙酸(18.173min); 3. 香草酸(21.558min); 4. 4-羟基苯甲醛(22.352min); 5. 丁香酸(24.537min); 6. 香豆酸(29.613min); 7. 反式阿魏酸(32.607min); 8. 肉桂酸(41.638min)。

图2 酶解前后酚酸提取物的HPLC图

Fig.2 HPLC chromatogram of phenolic acid extracts before and after the enzymatic hydrolysis



A.4-羟基苯甲酸; B.4-羟基苯乙酸; C.香草酸; D.4-羟基苯甲醛; E.丁香酸; F.香豆酸; G.反式阿魏酸; H.肉桂酸。

图3 酶解前后单个酚酸含量的变化

Fig.3 Content changes of individual phenolic acids before and after the enzymatic hydrolysis

由图3可知,八种酚酸中,除香豆酸和反式阿魏酸外,其他酚酸在酶解前后的含量变化不大。酶解后,香豆酸含量是酶解前的2.0倍,反式-阿魏酸的含量是酶解前的35倍。反式-阿魏酸的含量酶解后比酶解前提高极为显著,进一步证实了Ultraflo XL具有一定的阿魏酸酯酶的活力。采用这种廉价易得的复合酶即可以实现阿魏酸酯酶的特定功效,对于提高酒糟及相关谷物麸皮中酚酸成分尤其是阿魏酸的生物利用度及其大规模的开发利用具有重要意义和应用价值。

3 结论

3.1 比较了ViscozymeL和Ultraflo XL两种酶的阿魏酸酯酶的比活力,证明了这两种酶都具有一定的阿魏酸酯酶的活力。且Ultraflo XL的阿魏酸酯酶的比活力是ViscozymeL的6.7倍。

3.2 通过单因素试验和二次回归正交旋转组合设计对酶解酒糟后总酚酸释放量的工艺参数进行优化,得到的优化工艺条件为:加酶量10mL/100g、酶解时间150min、pH6.6、液料比25:1,得到的总酚酸产率为1.51%,其相对偏差为0.67%,酶解后总酚酸产率是酶解前的约1.5倍。

3.3 由于谷物中大多数酚酸主要是通过糖、脂肪酸或蛋白质结合形成束缚型的酚酸,因此如何将束缚型的酚酸水解成游离型的酚酸是研究的重点^[14]。通过对酶解前后单个酚酸成分的分析,发现酶解后酒糟中香豆酸、阿魏酸的含量明显增大,其中酶解后反式-阿魏酸的含量是酶解前的35倍。说明了Ultraflo XL酶可以较好的将酒糟中酚酸释放出来,特别是对具有多种生物学活性的阿魏酸^[25-27]。因此,酶法是一种从白酒糟中释放提取游离酚酸的有效方法。

参考文献:

- [1] 刘晓牧, 吴乃科. 酒糟的综合开发与应用[J]. 畜牧与饲料科学, 2004(5): 9-10.
- [2] 胡春霞. 食品饮料: 2010年白酒产量增长27% 啤酒、乳品稳定增长[EB/OL]. [2011.01.24](2011.06.20). <http://www.rxzq.com.cn/rxzq/public/infodetail.jsp?infoId=2376981>.
- [3] 宋安东, 张建威, 吴云汉, 等. 利用酒糟生物质发酵生产燃料乙醇的试验研究[J]. 农业工程学报, 2003, 19(4): 278-281.
- [4] 汪善锋, 陈安国. 白酒糟资源的开发利用途径[J]. 饲料工业, 2003, 24(5): 43-45.
- [5] 王肇颖, 肖敏. 白酒酒糟的综合利用及其发展前景[J]. 酿酒科技, 2004, 121(1): 65-67.
- [6] 李政一. 白酒糟综合利用研究[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2003, 21(1): 9-13.
- [7] 高晓娟, 王君高, 王欣, 等. 酒糟在食醋酿造中的应用研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(7): 45-47.
- [8] 刘军, 牛广杰, 孙东伟. 混合菌种协同发酵酒糟生产菌体饲料蛋白的研究[J]. 酿酒科技, 2009(9): 116-118.

- [9] 马晓建, 陈俊英, 张如意, 等. 酒糟综合利用的发展前景酿酒科技[J]. 酿酒科技, 2006(4): 96-98.
- [10] 张红艳, 金艳梅, 孟庆忠. 酒糟中阿魏酸的提取及工艺优化[J]. 大众商务, 2009(6): 288.
- [11] BARTOLOME B, FAULDS C B, WILLIAMSON G. Enzymic release of ferulic acid from barley spent grain[J]. Journal of Cereal Science, 1997, 25(3): 285-288.
- [12] SANCHO A I, BARTOLOMET B, GOMEZ-CORDOVEST C, et al. Release of ferulic acid from cereal residues by barley enzymatic extracts [J]. Journal of Cereal Science, 2001, 34(2): 173-179.
- [13] DYKES L, ROONEY L W. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits[J]. Cereal Food World, 2007, 5(3): 105-111.
- [14] KIM K H, TSAO R, YANG R, et al. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions [J]. Food Chemistry, 2006, 95(3): 466-473.
- [15] OHTA T, YAMASAKI S, EGASHIRA Y, et al. Antioxidative activity of corn bran hemicellulose fragments[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994, 42(3): 653-656.
- [16] 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, 31(18): 129-133.
- [17] 杨磊, 隋小宇, 祖元刚, 等. Folin-Ciocalteu 法测定迷迭香中总酚酸含量[J]. 中成药, 2009, 31(2): 272-275.
- [18] 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, 31(10): 263-267.
- [19] 薛峰, 欧仕益, 汪勇, 等. 双酶法降解玉米麸皮制备低聚糖和阿魏酸的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2006(10): 17-19.
- [20] 刘子立, 欧仕益, 蒋笃孝, 等. 麦麸发酵产酶制备并提纯阿魏酸[J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2006, 27(1): 117-122.
- [21] SZWAJGIER D, PIELECKI J, TARGONSKI Z. The release of ferulic acid and feruloylated oligosaccharides during wort and beer production [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2005, 111(4): 372-379.
- [22] MIN J Y, KANG S M, PARK D J, et al. Enzymatic releases of ferulic acid from *Ipomoea batatas* L. (sweet potato) stem[J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2006, 11(4): 372-376.
- [23] HUMBERSTONE F J, BRIGGS D E. Extraction and assay of ferulic acid esterase from malted barley[J]. Journal of Institute of Brewing, 2000, 106(1): 21-29.
- [24] SANCHO A, FAULDS C B, BARTOLOME B, et al. Characterization of feruloyl esterase activity in barley[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999, 79(3): 447-449.
- [25] KHANDUJAK L, AVTIP K, KUMAR S, et al. Anti-apoptotic activity of caffeic acid, ellagic acid and ferulic acid in normal human peripheral blood mononuclear cells: A Bcl-2 independent mechanism[J]. BBA-General Subjects, 2006, 1760(2): 283-289.
- [26] GRAF E. Antioxidant potential of ferulic acid[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1992, 13(4): 435-448.
- [27] 胡益勇, 徐晓玉. 阿魏酸的化学和药理研究进展[J]. 中成药, 2006, 28(2): 253-255.