

陈金玲, 杨杰, 魏真. 微生物来源的 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(6): 343–351. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040108

CHEN Jinling, YANG Jie, WEI Zhen. Research Progress of α -L-Arabinofuranosidase from Microorganisms[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(6): 343–351. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040108

· 专题综述 ·

微生物来源的 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶的研究进展

陈金玲^{1,2}, 杨杰^{1,2}, 魏真^{1,2,3,*}

1. 江苏海洋大学, 江苏省海洋生物资源与环境重点实验室, 江苏连云港 222005;
2. 江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏连云港 222005;
3. 江苏省海洋资源开发研究院 (连云港), 江苏连云港 222005)

摘要: α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -L-AFase) 属于糖苷水解酶类, 主要功能是水解阿拉伯木聚糖中的阿拉伯糖取代基, 并与其他水解酶协同促进半纤维素的降解, 从而改善半纤维素的生物转化率。本文综述了近年来微生物来源 α -L-AFase 的酶学特性、性质改良、结构、催化机制和协同作用效应等方面的研究进展, 发现不同微生物来源的 α -L-AFase 的理化性质、分子结构和催化机制均存在着多样性, 重组表达的方法能有效改善 α -L-AFase 的活性和稳定性, 且 α -L-AFase 与其他半纤维素水解酶的协同催化作用使底物的转化效率显著提高。 α -L-AFase 广泛应用于改善面团发酵质地、果汁澄清、酿酒工艺优化、制备高消化率饲料以及功能性保健产品研制等多个领域。本文为后续 α -L-AFase 的基础研究、开发和利用提供一定的参考。

关键词: α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶 (α -L-AFase), 阿拉伯木聚糖, 催化机制, 协同作用

中图分类号: Q936

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)06-0343-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040108

本文网刊:



Research Progress of α -L-Arabinofuranosidase from Microorganisms

CHEN Jinling^{1,2}, YANG Jie^{1,2}, WEI Zhen^{1,2,3,*}

1. Jiangsu Key Laboratory of Marine Bioresources and Environment, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;
2. Co-Innovation Center of Jiangsu Marine Bio-industry Technology, Lianyungang 222005, China;
3. Jiangsu Institute of Marine Resources Development, Lianyungang 222005, China)

Abstract: α -L-Arabinofuranosidase (α -L-AFase) belongs to glycosyl hydrolases. Its main function is to hydrolyze the arabinose substituents in arabinoxylan and promote the hydrolysis of hemicellulose with other hydrolases synergistically, so as to improve the biotransformation rate of hemicellulose. In this article, the recent research advances on the enzymatic characteristic and its improvement, structure, catalytic mechanism and synergistic catalytic effect of α -L-AFase from microorganisms are reviewed. It is found that the physicochemical properties, molecular structures and catalytic mechanisms of α -L-AFases from different microbial sources are diverse, and the method of recombinant expression could effectively improve the enzymatic activity and stability of α -L-AFase. This synergistic catalysis of α -L-AFase with other hemicelluloses hydrolases can significantly improve the substrate conversion efficiency. α -L-AFase has been widely used in many fields such as improving the texture of fermented dough, juice clarification, optimizing the brewing technique, preparation of high digestion feed, and preparing the functional health products. This review provides some references for the subsequent fundamental research, development and utilization of α -L-AFase in the future.

Key words: α -L-Arabinofuranosidase (α -L-AFase); arabinoxylan; catalytic mechanism; synergistic effect

收稿日期: 2023-04-16

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK20201028); 江苏海洋大学科研启动基金 (KQ19052)。

作者简介: 陈金玲 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: chenjl9920@163.com。

* 通信作者: 魏真 (1991-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品酶学, E-mail: 2019000036@jou.edu.cn。

α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶(α -L-arabinofuranosidase, α -L-AFase)归属于糖苷水解酶(glycoside hydrolases, GH)家族,主要催化阿拉伯糖聚合物中以 α -(1,2)、 α -(1,3)或 α -(1,5)连接的阿拉伯呋喃糖基的水解,在阿拉伯木聚糖的生物降解及开发应用中极具研究价值^[1-2]。此外, α -L-AFase在食品加工、饲料研制和医疗保健等领域发挥着重要作用,例如用于改善果汁澄清度和葡萄酒风味、制备动物饲料和生物活性物质等^[3]。目前已报道多种微生物菌株能够产生 α -L-AFase,且越来越多的 α -L-AFase的基因被挖掘和鉴定。不同 α -L-AFase分布于多个糖苷水解酶家族,不同的结构和催化机制致使该水解酶表现出不同的底物特异性^[4]。至今为止研究者在 α -L-AFase的基因挖掘、表达纯化、酶学性质等方面已做了相关研究,并对其分子结构和催化机制等作出分析,但是阿拉伯木聚糖的复杂结构仍然限制了 α -L-AFase的应用范围,不同来源和不同作用模式的 α -L-AFase需要协同其他水解酶共同降解复杂的阿拉伯木聚糖。因此,充分认识不同类型的 α -L-AFase对于该酶后续的性质、分子改造及应用等研究具有重要意义。本文总结和分析了近年来 α -L-AFase的微生物来源、酶学特性与性质改良、分子结构与催化机制、与其他水解酶的协同作用以及该酶应用于食品、饲料、医疗保健等领域的研究进展,为推动后续 α -L-AFase的基础研究及应用提供参考。

1 α -L-AFase的微生物来源

α -L-AFase广泛分布于细菌、真菌等微生物中,随着对 α -L-AFase及其水解产物的需求不断增大,对该酶的开发也随之增多。多种细菌已被报道能够产生 α -L-AFase,例如*Bacillus velezensis*^[5]、*Anoxybacillus kestanbolensis* AC26Sari^[6]、*Paenibacillus* sp. DG-22^[7]、*Streptomyces* sp. S9^[8]、*Clostridium thermocellum*^[9]、*Pseudopedobacter saltans*^[10]、*Geobacillus vulcani* GS90等^[11],这些 α -L-AFase普遍分布于GH43或GH51等糖苷水解酶家族中。最近研究者在常温菌*Bifidobacterium longum*和嗜热菌*Caldicellulosiruptor* sp.两种细菌中鉴定到了 α -L-AFase的存在,同时这也是该酶分别在GH146和GH159家族中被发现^[12-13]。这些新发现的 α -L-AFase不仅丰富了该酶的物种来源,而且扩展了糖苷水解酶家族的功能谱,对后续 α -L-AFase的研究提供了新的理论支持。与细菌来源的 α -L-AFase相比,多数真菌的 α -L-AFase产量较低,对真菌 α -L-AFase的研究也相对较少。目前发现的能够产 α -L-AFase的真菌涵盖子囊菌门和担子菌门,例如*Meripilus giganteus*^[14]、*Aspergillus* sp.^[15]、*Penicillium subrubescens*^[16]、*Penicillium chrysogenum*^[17]、*Saccharomycopsis fibuligera* KJJ81等^[18]。此外,研究者在一些耐热微生物中也发现了 α -L-AFase的存在,例如极端嗜热细菌*Caldicellulosiruptor saccharolyticus*、*Thermotoga petro-*

*phila*和中温真菌*Eupenicillium parvum*等^[19-21],这些微生物来源的酶具有良好的耐热性质,有利于研究者筛选和开发热稳定的 α -L-AFase。

2 α -L-AFase的酶学特性及性质改良

2.1 α -L-AFase的酶学特性

不同来源的 α -L-AFase的酶学性质在分子量、最适反应条件及稳定性等方面也表现出较大差异见表1。不同来源的 α -L-AFase的分子量差别较大,其最大差值达到约70 kDa。例如来自细菌*Acremonium* sp. WCQ-6A的 α -L-AFase分子量仅为42 kDa^[22],而来自真菌*Aspergillus japonicus*的 α -L-AFase呈现出较大的分子量,约为113 kDa^[23];不同微生物来源的 α -L-AFase的最适pH和温度不同,细菌来源的 α -L-AFase的最适pH多集中在5.5~6.0之间,而真菌来源的 α -L-AFase最适pH范围普遍较低,约为4.5~5.5;与真菌相比,来自细菌的 α -L-AFase通常有着更高的最适作用温度,特别是少数来源于极端细菌的 α -L-AFase的最适温度可达到80~85℃;一些来源于极端微生物的 α -L-AFase表现出较高的稳定性,在理论研究和工业化生产中均有重要价值。例如,Carvalho等^[11]发现一种双功能 β -木糖苷酶/ α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶具有盐稳定性,它能够在2.5 mol/L氯化钠中保留高达63%的活性,具备在高盐或海水环境下降解木质纤维素底物的潜力。一些具有良好热稳定性的 α -L-AFase也逐渐被分离出来,例如Surmeli等^[24]在*G. vulcani* GS90中分离出的 α -L-AFase的最适温度达到70℃,且该酶在30~90℃温度范围内均具有活性,而Saleh等^[19]在*C. saccharolyticus*中分离的 α -L-AFase(CAX43)在70℃时的半衰期高达120 h,这些耐热酶在需要高温条件下进行的反应过程中尤为重要。随着工业化生产对酶稳定性的要求不断提高,寻找具有生产潜力的优质 α -L-AFase逐渐成为研究的热点和难点,这些性质稳定的 α -L-AFase在工业化应用中将会有良好的发展前景。

2.2 α -L-AFase的性质改良

α -L-AFase在工业生产中的应用日趋广泛,但多数天然 α -L-AFase在酶活力和稳定性等方面还与实际需求存在着较大的差距。为了获得更多具有优良性质的 α -L-AFase,通常使用异源表达方法对活性酶进行重组表达和制备,并结合分子生物学和生物信息学等技术手段对野生酶进行分子结构改造,以实现 α -L-AFase的性质优化。一般将编码 α -L-AFase的基因连接到具有强启动子的其他宿主的表达载体上进行异源表达,以获得高产的 α -L-AFase。用于表达外来基因的宿主通常为大肠杆菌、芽孢杆菌或酿酒酵母等。酵母菌,特别是毕赤酵母,通常被选为真核阿拉伯呋喃糖苷酶基因的宿主生物,而大肠杆菌常被用作表达原核阿拉伯呋喃糖苷酶基因的宿主生物。与真菌相比,细菌具有更快的生长速度,因而它们更

表 1 不同微生物来源的 α -L-AFase 的酶学性质

Table 1 Properties of α -L-AFases from different microbial sources

来源	菌株名称	分子量(kDa)	糖苷水解酶 (GH)家族	最适温度或温度 耐受范围(℃)	最适pH或pH 耐受范围	参考文献
细菌	<i>Bifidobacterium longum</i>	85.1	GH146	35	3.5	[12]
	<i>Caldicellulosiruptor</i> strains	37.6	GH159	92~93	5.5~6.0	[13]
	<i>Geobacillus vulcani</i> GS90	50.2	GH51	70	5.0	[25]
	<i>Hungateiclostridium clariflavum</i>	54.3/58.7	GH43	65/60	7.0	[26]
	<i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> DSM571	56.7	GH51	55	5.5	[27]
	<i>Pseudopedobacter saltans</i>	65.0	GH43	50	6.0	[10]
	<i>Bacillus velezensis</i>	56.9	GH51	45	6.0	[5]
	<i>Thermotoga maritima</i>	94.0	—	85	5.8	[28]
	<i>Thermotoga thermarum</i> DSM5069	90.0	—	80	5.5	[29]
	<i>Anoxybacillus kestanbolensis</i> AC26Sari	57.0	GH51	65	5.5	[6]
	<i>Paenibacillus</i> sp.DG-22	57.0	GH51	60	6.0	[7]
	<i>Streptomyces</i> sp. S9	55.0	GH51	60	6.0	[8]
	<i>Acremonium</i> sp.WCQ-6A	42.0	GH43	25	6.0	[22]
	<i>Geobacillus vulcani</i> GS90	60.0	GH51	70	5.0	[24]
	<i>Clostridium thermocellum</i>	82.0	GH51	85	7.2	[9]
	<i>Thermotoga maritima</i> MSB8	55.0	GH51	90	—	[30]
	<i>Caldicellulosiruptor saccharolyticus</i> DSM8903	60.6	GH43	70	6.0	[19]
真菌	<i>Aspergillus niger</i> An76	—	GH51	50	5.0	[15]
	<i>Eupenicillium parvum</i>	45.0	GH51	55.0	4.0~4.5	[21]
	<i>Thielavia terrestris</i>	45.0	GH62	55.0	4.0~4.5	[31]
	<i>Penicillium subrubescens</i>	—	GH51 GH54 GH62	40~50	2.0~7.0	[16]
	<i>Meripilus giganteus</i>	—	GH51	—	5.5	[14]
	<i>Trichoderma reesei</i>	—	GH54	—	5.0	[32]
	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i> KJJ81	59.0	GH51	40~50	6.0~7.0	[18]
	<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC20524	74.0	GH51	75	4.5	[33]
	<i>Aspergillus japonicus</i>	113.0	GH3	—	—	[23]
	<i>Aspergillus nidulans</i>	51.0	GH54	—	—	[34]

注: “—”代表相关文献未进行说明。

容易被进行基因操作以用于改造 α -L-AFase。工程菌特性。在酶活性优化方面,通过构建以大肠杆菌或毕赤酵母为宿主的基因工程菌成功提高了重组

表 2 为目前已被构建的部分 α -L-AFase 的基因

表 2 不同来源的 α -L-AFase 的基因工程菌特性

Table 2 Characteristics of α -L-AFases from different sources of genetic engineering bacteria

宿主菌	糖苷水解酶 (GH)家族	基因来源	最适温度 (℃)	最适 pH	K_m (mmol/L)	V_{max} [μ mol/(mg·min)]	k_{cat}/K_m [L/(s·mmol)]	比活性 (U/mg)	参考文献
大肠杆菌	GH54	<i>Trichoderma harzianum</i>	55	6.0	6.75±3.24	1.85×10 ³	2.38×10 ⁻¹	—	[35]
大肠杆菌	GH51	<i>Aspergillus hortai</i> CRM1919	35	3.0	—	—	—	1.837	[38]
大肠杆菌	GH51	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i> KJJ81 (SfABF51A)	40	7.0	—	—	—	51.1±0.9	[18]
大肠杆菌	GH51	<i>Saccharomycopsis fibuligera</i> KJJ81 (SfABF51B)	50	6.0	—	—	—	75.7±4.1	[18]
大肠杆菌	GH43	<i>Massilia</i> sp. RBM26	50	6.5	4.64	1.98	0.44	1.28±0.03 U/mL	[39]
大肠杆菌	GH51	<i>Geobacillus vulcani</i> GS90	70	5.0	—	—	—	72.10×10 ⁻³	[24]
大肠杆菌	GH43	<i>Ruminiclostridium josu</i> (RjAbf43B)	45	6.0	24.9±2.5 (底物为阿拉伯二糖)	—	7.22 (底物为阿拉伯二糖)	194±5.7 U/ μ mol	[40]
大肠杆菌	GH51	<i>Paenibacillus polymyxa</i> KF-1	40	6.5	0.2	58.10	273.3	12.66±0.34	[41]
大肠杆菌	GH51	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	50	7.5	0.81±0.06	56.2±2.06 U/mg	0.015	76.7±1.2	[42]
大肠杆菌	GH2	<i>Thermotoga thermarum</i> DSM5069	80	5.5	0.77	2.30	5.84	—	[29]
毕赤酵母	GH43	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	50	5.5	—	—	—	197	[36]
大肠杆菌	GH43	<i>Pseudopedobactor saltans</i>	50	6.5	2.17	100.7	—	77.11	[37]
大肠杆菌	GH62	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i> OPC-520	60	5.0	—	—	—	—	[43]

注: “—”代表相关文献未进行说明;除特殊说明外,酶学动力学参数 K_m 、 V_{max} 、 k_{cat}/K_m 均以对硝基苯基- α -L-阿拉伯呋喃糖苷为底物测定;由于参考文献中的单位标准不统一,比活性、 K_m 、 V_{max} 、 k_{cat}/K_m 的单位均以数值后标注为准。

α -L-AFase 的酶活性: 如 Motta 等^[35]将来自 *Trichoderma harzianum* 的具有 Mg^{2+} 依赖性的 α -L-AFase (ThABF) 在大肠杆菌中表达, 重组 ThABF 的相对活性达到 97%, 且对对硝基苯- α -D-半乳糖苷(pNPG) 的降解活性也有极大程度的提高。Huy 等^[36]将源于 *Phanerochaete chrysosporium* 的具有木糖苷酶和 α -L-AFase 活性的双功能酶 PcXyl 在毕赤酵母中进行表达, 该酶的比活性达到 1797 U/mg。在酶稳定性提升方面, 来自 *Pseudopedobactor saltans* 的 α -L-AFase (PsGH43_12) 在大肠杆菌中表达后的性质更为稳定, 重组的 PsGH43_12 比野生酶在更为宽泛的 pH 范围(5~9)和温度范围(35~55 °C)中均表现出活性^[37]。另外, 表达质粒和宿主的选择、表达的环境条件等因素也会影响酶的表达效果, 在 α -L-AFase 的基因工程菌构建中可以进一步对以上因素进行优化, 以更好地提高酶的表达水平, 实现酶学性质的最佳改良效果。除了常规重组表达, 近年来通过酶的定向进化也能够改善酶的性质, 例如 Surmeli 等^[25]通过定向进化对源于 *G. vulcani* GS90 的 α -L-AFase (GvAbf) 进行分子改造, 得到了活性高于野生酶的突变体 GvAbf51 和 L307S, 以及热稳定性高于野生酶的突变体 GvAbf52, 实现了 α -L-AFase 的双重酶学性质改良。随着生物信息学和计算生物学技术的不断提高, 利用定向突变和进化等辅助手段可以更高效的对天然 α -L-AFase 作出设计和改造, 实现 α -L-AFase 的性质优化也更加具有针对性。

以上多种实验表明, 一些天然 α -L-AFase 经异源重组表达后, 其活性有了不同程度的提高, 酶学性质也更加稳定, 这为后续优质 α -L-AFase 的大规模生产及应用奠定了坚实的研究基础。

3 α -L-AFase 的结构与催化机制

结构生物学的迅速发展使得越来越多 α -L-AFase 的空间结构得以解析。深入探究 α -L-AFase 的结构对理解该酶的反应机制具有重要意义, 同时也便于后续提高对该酶功能预测的准确性, 提高分子改造效率。

查阅碳水化合物活性酶数据库(Carbohydrate-Active Enzymes Database, CAZy; www.cazy.org)得知, α -L-AFase 被划分为 GH2、GH3、GH43、GH51、GH54、GH62、GH146 和 GH159 等多个糖苷水解酶家族, 其中绝大多数家族酶的催化机制为保留型。此外, 在 GH5、GH10、GH93、GH127 等家族中也鉴定到了 α -L-AFase 的存在, 但它们的酶学性质和结构等信息还未被充分挖掘。GH2 家族的 α -L-AFase 属于糖苷水解酶家族的 GH-A 家族, 该家族成员的催化结构域具有 $(\beta/\alpha)_8$ 的三维结构, 通过保留机制切割 α -L-阿拉伯呋喃糖苷键, 且将谷氨酸作为其亲核试剂和质子供体^[29]。GH3 家族与 GH2 家族具有类似的催化机制, 但是 GH3 家族中的天冬氨酸为催化的亲核试剂, 谷氨酸为水解酶的催化质子供体, 组氨

酸为磷酸化酶的催化质子供体^[4]。GH43 家族的 α -L-AFase 主要催化阿拉伯木聚糖中阿拉伯糖侧链的水解, 其催化结构域为五叶片的 β -螺旋桨褶皱结构, 且分别以天冬氨酸和谷氨酸作为催化亲核试剂和催化质子供体采用反转机制切割糖苷键^[44]。此外, 部分 GH43 家族的 α -L-AFase 还同时具有 α -木糖苷酶和 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶活性^[45]。对来源于 GH51 家族 α -L-AFase 的圆二色谱图分析显示它们的催化结构域具有 $(\beta/\alpha)_8$ 桶状结构, 其质子供体和亲核谷氨酸分别在 β -4 和 β -7 链上, 通过双置换机制水解糖苷键, 同时保留异位构型^[25,46]。GH51 家族的极少数酶同时也具有内切木聚糖酶活性^[47]。根据圆二色谱图, GH54 家族的 α -L-AFase 与 β -三明治折叠的 B 族糖苷水解酶相似, 其催化结构域分别以谷氨酸和天冬氨酸作为亲核残基和质子供体, 采用保留机制进行催化作用^[3]。首次被解析的 GH62 家族的 α -L-Afase 来源于真菌, 也呈现出一个五叶片的 β -螺旋桨褶皱的三维结构类型, 对阿拉伯糖具有绝对特异性^[48]。属于 GH-F 家族的 α -L-AFase 是 GH62 家族的唯一一组酶, 这些酶在释放阿拉伯糖的同时, 水解阿拉伯木聚糖中存在的单取代木糖残基, 作用于糖苷键的 O-2 和 O-3 位点^[4,49]。近年来首次发现了来源于 GH159 家族的嗜热 α -L-AFase, 该酶展示了较小的五叶片 β -螺旋桨式的三维结构, 成为 GH159 家族中首次被解析的具有阿拉伯呋喃糖苷水解酶活性的 α -L-AFase^[13]。

由此可以看出, α -L-AFase 的主要功能为切割 α -L-阿拉伯呋喃糖苷键并去除 α -L-阿拉伯糖取代基, 但不同糖苷水解酶家族的 α -L-AFase 的分子结构和催化机制差异较大, 显示出不同 α -L-AFase 在空间结构与催化机制中的多样性。随着越来越多微生物来源的 α -L-AFase 基因被挖掘和鉴定, 对该酶结构的认识也进入了飞速发展期。尽管到目前为止, 众多 α -L-AFase 的结构已被解析, 但部分家族 α -L-AFase 的结构特征尚未明确, 未来 α -L-AFase 是否存在更加多样的催化机理仍有待探讨。

4 α -L-AFase 与其他半纤维素水解酶的协同作用

前述对 α -L-AFase 的性质和催化机制的分析表明, α -L-AFase 的核心功能是去除阿拉伯木聚糖中的 α -L-阿拉伯糖取代基, 因而 α -L-AFase 在半纤维素的生物降解及木质纤维素的生物转化中起到非常关键的作用。然而, 阿拉伯木聚糖的结构极为复杂, 其高效酶解是由 α -L-AFase、 β -木聚糖酶、 β -木糖苷酶等多种木聚糖降解酶共同作用的结果^[2]。研究发现, 复杂底物的高效降解离不开多种水解酶的协同作用, α -L-AFase 也具有与其他半纤维素水解酶协同降解阿拉伯木聚糖的性质^[26,50]。

α -L-AFase 这一独特性质使得研究者们越来越关注该酶与哪些水解酶类能够起到协同作用, 以及如何提高该酶与其他水解酶类的协同催化效率。已有

实验证实 α -L-AFase 与阿拉伯糖苷酶、木聚糖酶、木糖苷酶等多种水解酶均能协同降解特定底物,并且使底物转化率明显提高:如 Leschonski 等^[51]对分别来源于 *Humicola insolens* 和 *Talaromyces pinophilus* 的阿拉伯呋喃糖苷酶 HiABF43_36a 和 TpABF43_36b 的协同作用进行研究,发现当以阿拉伯木聚糖为底物时,HiABF43_36a 与 GH51 家族阿拉伯糖苷酶 MgABF51 和 GH62 家族阿拉伯糖苷酶 PoABF62 共同作用产生了更多的单取代木糖基残基,并多释放了 54% 的阿拉伯糖, TpABF43_36b 与 MgABF51、PoABF62 的协同作用导致底物多释放了 56% 的阿拉伯糖。Puangpen 等^[45]将来源于 *Paenibacillus curdlanolyticus* B-6 中具有 α -L-AFase 功能的蛋白 PcAxy43B、PcAxy43A 与木聚糖酶 Xyn10C 共同进行降解,发现三种酶对阿拉伯木聚糖的降解产物几乎全部为阿拉伯糖和木糖,底物转化率达到 95.33%;同样,将来源于 *E. parvum* 的 α -L-AFase(EpABF62A)与一种 GH10 家族木聚糖酶、GH43 家族 β -D-木糖苷酶和 GH67 家族 α -葡萄糖醛酸酶共同作用于添加了纤维素酶的玉米芯糖化过程中,葡萄糖、木糖和阿拉伯糖的转化率分别达到 94.0%、91.8% 和 82.6%^[21]。多种研究结果表明,与单一使用 α -L-AFase 降解阿拉伯木聚糖相比,联合使用多种半纤维素降解酶系能够显著提高底物的水解效率和底物转化率。这种多种酶参与降解底物的模式不仅能够降低底物的水解成本,而且有助于推动复杂底物的高值化利用。因此,构建更加稳定的 α -L-AFase 协同降解酶系统成为当前推动和实现复杂底物降解的研究热点。

5 α -L-AFase 的应用

半纤维素的完全生物转化离不开 α -L-AFase 的关键作用,因而 α -L-AFase 逐渐成为农业和工业等领域中富有潜力的工具酶之一。随着基因工程和酶工程技术的发展,越来越多的酶制剂生产实现了纯度高、生产成本降低和生产周期缩短等优点,实际生产应用中对 α -L-AFase 的需求也日益增加。 α -L-AFase 广泛应用于提高面食制作质量、果汁澄清、改善葡萄酒风味、提高饲料利用率和特殊药物成分研制等领域,在食品加工、饲料和医疗保健等行业起到了举足轻重的作用。

5.1 在发酵面食制作中的应用

小麦等农作物的种子富含大量的阿拉伯木聚糖等半纤维素成分,同时也是面食类食品的主要来源。 α -L-AFase 能够与内源小麦粉酶等水解酶共同将添加至小麦粉中的戊聚糖分解为游离态戊糖,从而提高酵母菌对糖类的利用率,在一定程度上促进面团发酵,同时改善发酵面食的质地和口感^[52-54]。Xue 等^[54]将经过来自 *Thermotoga marotima* 的木聚糖酶和 α -L-AFase 处理后的麦麸添加至馒头中,发现经两种酶处理后馒头的抗延展性、软化性、吸水性、延展性、稳定时间、孔隙率和感官特性等均得到有效改善。

Zhou 等^[55]将 *T. marotima* 中的 α -L-AFase 与来自 *C. thermocellum* 的木聚糖结合结构域(CtXBD6)融合,发现融合酶能够提高对不溶性阿拉伯木聚糖底物的催化性能,并增加以小麦粉为原料的面包的比体积、粘结性和弹性。越来越多的 α -L-AFase 将应用到发酵类面食的工业化制作之中,探究其合适配方、提高 α -L-AFase 与其他水解酶的协同作用效率及健全食品的安全性评价制度将是未来值得思考的问题。

5.2 在果汁澄清中的应用

水果中富含大量的碳水化合物多糖,其中也不乏半纤维素的存在。多糖、蛋白质等物质在果汁储存过程中容易形成沉淀,而 α -L-AFase 与果胶酶能够联合用于果汁的澄清,其中 α -L-AFase 用于水解半纤维素的阿拉伯糖侧链,而果胶酶可以消化果胶材料^[56-57]。鼠李半乳糖醛酸聚糖 I 果胶是植物初代细胞壁的主要成分,在商业鸡尾酒制作尤其是其中的果汁澄清工艺中难以消化,向其中添加 *Aspergillus aculeatinus* O822 来源的 α -L-AFase 可将果汁粘度降低 70%,而且果汁的过滤流速和产量均得到一定提升^[58]。彭程等^[59]发现向葡萄柚汁中添加 15 U/mL 的来自 *Aspergillus niger* 的 α -L-AFase 可将果汁澄清度提高 15.18%,表明 α -L-AFase 也可以对柑橘类果汁有明显的澄清作用。因此, α -L-AFase 在提高果汁溶解度和澄清度、优化果汁制作工艺等方面发挥着独特的优势。

5.3 在酿酒工业领域的应用

除了在发酵面食制作及果汁澄清中具有重要作用, α -L-AFase 还可以应用到葡萄酒、啤酒等酿酒工业中,用以改善酿造工艺。研究表明,葡萄酒最重要的品质是其特有的香气,在酿酒过程中添加 α -L-AFase 能够增加葡萄酒的风味,改善葡萄酒的品质^[60]。葡萄酒中绝大多数风味物质是游离形式的单萜类化合物,然而葡萄酒中的大多数单萜烯与糖类结合后不具有香气^[61-63], α -L-AFase 和 β -D-吡喃葡萄糖苷酶、 β -葡萄糖苷酶等水解酶的协同作用可以高效分解与单萜烯结合的糖类物质,并释放单萜烯以促进葡萄酒香味的形成^[62,64]。例如 Ravanal 等^[65]从 *Penicillium purpurogenum* 中分离纯化了一种 α -L-AFase(ABF3),并对同样来源于该菌株的 β -葡萄糖苷酶联合应用于葡萄酒的风味增加进行了研究,发现两种酶的共同作用比商业酶制剂释放更多的萜烯类物质并生成更高的香气指数。此外, α -L-AFase 也能够降解啤酒生产中用到的大麦麦芽的阿拉伯糖侧链,同时促进其他水解酶对麦芽的分解,有效提高大麦麦芽汁的过滤速度,缩短啤酒的生产周期^[66-67]。

5.4 在饲料领域的应用

作为能够分解阿拉伯木聚糖的水解酶, α -L-AFase 在动物饲料加工领域也颇有优势。阿拉伯木聚糖属于半纤维素,能够为动物提供重要的营养物质并促进肠道蠕动,是多数食草类动物饲料的主要成分

之一,然而很多食草动物由于自身不分泌分解半纤维素的酶而对饲料的吸收能力降低^[68-70]。 α -L-AFase能去除阿拉伯木聚糖中阿拉伯糖残基的侧链,因此在饲料生产过程中添加 α -L-AFase有助于提高半纤维素的利用率^[71-72]。对肉鸡饲料和一些杂粮混合饲料的研究表明,添加含有 α -L-AFase的饲料酶可以裂解饲料中阿拉伯木聚糖等一些聚合物之间的化学键,降低纤维类物质在肠道中的粘度和有害作用,最终减少非淀粉多糖的营养抑制作用,提高动物对饲料营养成分的总消化率^[73-74]。

5.5 在医药保健领域的应用

α -L-AFase在医药保健领域的主要应用是参与制备生物活性物质人参皂苷Rd及功能性益生元。人参皂苷Rd来源于人参,具有抗炎、保护神经、抗氧化等多种特殊生物学活性,而人参皂苷Rc为Rd与 α -L-阿拉伯呋喃糖苷键结合形成的糖苷^[75-76],因而可用 α -L-AFase水解人参皂苷Rc上的 α -L-阿拉伯呋喃糖苷残基来制备获得人参皂苷Rd^[77-78]。据报道,多种微生物来源的 α -L-AFase都可以用于制备人参皂苷Rd,例如*Bacillus subtilis*、*Thermotoga thermarum*、*C. saccharolyticus*等^[79-81],其中多数 α -L-AFase表现出了良好的水解性能。此外, α -L-AFase还能够高效地与木聚糖酶等水解酶协同降解玉米皮等农副产物,产生具有益生元功能的木聚糖和阿拉伯低聚糖,为开发功能性保健食品提供了重要元素^[82]。因此, α -L-AFase在医药保健领域显示出独特的应用潜力和优势,为人类的健康与发展提供了一定帮助。

6 结论与展望

α -L-AFase因其具有水解半纤维素中 α -L-阿拉伯呋喃糖苷基的特性,在改良发酵面食、果汁、酿酒等食品加工工艺、提高动物饲料利用率、制备功能性保健品等领域都具有重要的应用前景。目前,研究者已对多种微生物来源的 α -L-AFase的酶学特性、结构与催化机制、协同作用和应用等方面开展多样化的研究,并在该酶的重组菌株构建和表达等方面取得了重大突破,使酶的活性、耐热性和稳定性得到提高。在此背景下,如何获得应用范围广泛、能高效发酵制备、靶向转化和结构修饰的新型 α -L-AFase将是未来的研究方向。然而,由于天然阿拉伯木聚糖底物的复杂性与多样性, α -L-AFase对不同类型底物的催化方式仍需进一步探索,研究如何提高 α -L-AFase与其他水解酶之间的协同作用效率仍具有突破和创新的空间。此外,酶研究的一个重要基础是阐明酶的结构和功能,以探索其催化机制和分子修饰。面对天然阿拉伯木聚糖底物的多样性,研究不同家族 α -L-AFase对于不同底物的位点识别和降解机制,探索基于 α -L-AFase的多酶复合催化系统,也成为实现 α -L-AFase高效应用的发展趋势。

参考文献

- [1] PORIA V, SAINI J K, SINGH S, et al. Arabinofuranosidases: characteristics, microbial production, and potential in waste valorization and industrial applications[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 304: 123019.
- [2] THAPA S, MISHRA J, ARORA N, et al. Microbial cellulolytic enzymes: diversity and biotechnology with reference to lignocellulosic biomass degradation[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology*, 2020, 19(3): 621-648.
- [3] NUMAN M T, BHOSLE N B. Alpha-L-arabinofuranosidases: the potential applications in biotechnology[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2006, 33(4): 247-260.
- [4] CANTAREL B L, COUTINHO P M, RANCUREL C, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy): An expert resource for glycogenomics[J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(Database issue): D233-D238.
- [5] OH G W, KANG Y, CHOI C Y, et al. Detailed mode of action of arabinan-debranching α -L-arabinofuranosidase GH51 from *Bacillus velezensis*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 29(1): 37-43.
- [6] CANAKCI S, KACAGAN M, INAN K, et al. Cloning, purification, and characterization of a thermostable alpha-L-arabinofuranosidase from *Anoxybacillus kestanbolensis* AC26Sari[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, 81(1): 61-68.
- [7] LEE S H, LEE Y E. Cloning, expression, and characterization of a thermostable GH51 alpha-L-arabinofuranosidase from *Paenibacillus* sp. DG-22[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 24(2): 236-244.
- [8] SHI P J, LI N, YANG P L, et al. Gene cloning, expression, and characterization of a family 51 alpha-L-arabinofuranosidase from *Streptomyces* sp. S9[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 162(3): 707-718.
- [9] TAYLOR E J, SMITH N L, TURKENBURG J P, et al. Structural insight into the ligand specificity of a thermostable family 51 arabinofuranosidase, Araf51, from *Clostridium thermocellum*[J]. *Biochemical Journal*, 2006, 395(1): 31-37.
- [10] THAKUR A, SHARMA K, JAISWAL K, et al. Structure and dynamics analysis of a family 43 glycoside hydrolase α -L-arabinofuranosidase (PsGH43_12) from *Pseudopedobacter saltans* by computational modeling and small-angle X-ray scattering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 582-592.
- [11] CARVALHO D R, CARLI S, MELEIRO L P, et al. A halo-tolerant bifunctional β -xylosidase/ α -L-arabinofuranosidase from *Colletotrichum graminicola*: Purification and biochemical characterization[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 114: 741-750.
- [12] ISHIWATA A, TSUNOMACHI H, KAMEYAMA K, et al. Bifidobacterial GH146 β -L-arabinofuranosidase (Bll4HypBA1) as the last enzyme for the complete removal of oligoarabinofuranosides from hydroxyproline-rich glycoproteins[J]. *Chembiochem*, 2023, 24(5): e202200637.
- [13] BAUDREX M, FIDA T, BERK B, et al. Biochemical and structural characterization of thermostable GH159 glycoside hydrolases exhibiting α -L-arabinofuranosidase activity[J]. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2022, 9: 907439.
- [14] MCGREGOR N G S, TURKENBURG J P, MORKEBERG KROGH K B R, et al. Structure of a GH51 α -L-arabinofuranosidase from *Meripilus giganteus*: Conserved substrate recognition from bacteria to fungi[J]. *Acta Crystallographica Section D-Structural Biology*, 2020, 76(Pt 11): 1124-1133.
- [15] WU X Y, ZHANG S, ZHAO S, et al. Functional specificity

- of three α -arabinofuranosidases from different glycoside hydrolase families in *Aspergillus niger* An76[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(16): 5039–5048.
- [16] COCONI L N, LI X, DILOKPIOMOL A, et al. Comparative characterization of nine novel GH51, GH54 and GH62 α -L-arabinofuranosidases from *Penicillium subrubescens*[J]. *FEBS Letters*, 2022, 596(3): 360–368.
- [17] SAKAMOTO T, INUI M, YASUI K, et al. Substrate specificity and gene expression of two *Penicillium chrysogenum* α -L-arabinofuranosidases (AFQ1 and AFS1) belonging to glycoside hydrolase families 51 and 54[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(3): 1121–1130.
- [18] PARK T H, CHOI C Y, KIM H J, et al. Arabinoxylo- and arabino-oligosaccharides-apefic α -L-arabinofuranosidase GH51 isozymes from the amylolytic yeast *Saccharomycopsis fibuligera*[J]. *Journal of Microbiology Biotechnology*, 2021, 31(2): 272–279.
- [19] SALEH M A, MAHMUD S, ALBOGAMI S, et al. Biochemical and molecular dynamics study of a novel GH 43 α -L-arabinofuranosidase/ β -xylosidase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* DSM8903[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 810542.
- [20] DOS SANTOS C R, SQUINA F M, NAVARRO A M, et al. Functional and biophysical characterization of a hyperthermostable GH51 α -L-arabinofuranosidase from *Thermotoga petrophila*[J]. *Biotechnology Letters*, 2011, 33(1): 131–137.
- [21] LONG L K, SUN L, LIU Z, et al. Functional characterization of a GH62 family α -L-arabinofuranosidase from *Eupenicillium parvum* suitable for monosaccharification of corn cob arabinoxylan in combination with key enzymes[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2022, 154: 109965.
- [22] 张明慧, 李中媛, 仇海燕, 等. 低温木糖苷/阿拉伯呋喃糖苷酶 AX543 的基因克隆及性质研究[J]. 生物技术通报, 2016, 32(11): 215–223. [ZHANG M H, LI Z Y, CHOU H Y, et al. Cloning and characterization of a novel cold-active bifunctional xylosidase/arabinofuranosidase AX543[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2016, 32(11): 215–223.]
- [23] WAKIYAMA M, YOSHIHARA K, HAYASHI S, et al. Purification and properties of an extracellular β -xylosidase from *Aspergillus japonicus* and sequence analysis of the encoding gene[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2008, 106(4): 398–404.
- [24] SURMELI Y, ILGU H, SANLI-MOHAMED G. Improved activity of α -L-arabinofuranosidase from *Geobacillus vulcani* GS90 by directed evolution: investigation on thermal and alkaline stability[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2019, 66(1): 101–107.
- [25] SURMELI Y, SANLI-MOHAMED G. Structural and functional analyses of GH51 alpha-L-arabinofuranosidase of *Geobacillus vulcani* GS90 reveal crucial residues for catalytic activity and thermostability[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2023, 70(3): 1100–1108.
- [26] GENG A L, JIN M, LI N N, et al. Arabinan hydrolysis by GH43 enzymes of *Hungateiclostridium clariflavum* and the potential synergistic mechanisms[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(23): 7793–7803.
- [27] SHI H, GAO F, YAN X, et al. Cloning, expression and characterization of a glycoside hydrolase family 51 α -L-arabinofuranosidase from *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* DSM 571[J]. *3 Biotech*, 2022, 12(8): 176.
- [28] 王锐丽, 王玉, 薛业敏. 极耐热双功能酶的表达纯化及性质研究[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(7): 1843–1846. [WANG R L, WANG Y, XUE Y M. Expression purification and characterization of a thermostable bifunctional β -xylosidase from *Thermoga maritima*[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2016, 55(7): 1843–1846.]
- [29] SHI H, ZHANG Y, XU B Y, et al. Characterization of a novel GH2 family α -L-arabinofuranosidase from hyperthermophilic bacterium *Thermotoga thermarum*[J]. *Biotechnology Letters*, 2014, 36(6): 1321–1328.
- [30] MIYAZAKI K. Hyperthermophilic α -L-arabinofuranosidase from *Thermotoga maritima* MSB8; Molecular cloning, gene expression, and characterization of the recombinant protein[J]. *Extremophiles*, 2005, 9(5): 399–406.
- [31] LONG L K, SUN L, LIN Q Y, et al. Characterization and functional analysis of two novel thermotolerant α -L-arabinofuranosidases belonging to glycoside hydrolase family 51 from *Thielavia terrestris* and family 62 from *Eupenicillium parvum*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(20): 8719–8733.
- [32] CASTANO J D, ZHOU M, SCHILLING J. Towards an understanding of oxidative damage in an α -L-arabinofuranosidase of *Trichoderma reesei*: a molecular dynamics approach[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 193(10): 3287–3300.
- [33] OHTA K, FUJII S, HIGASHIDA C. Characterization of a glycoside hydrolase family-51 α -L-arabinofuranosidase gene from *Aureobasidium pullulans* ATCC 20524 and its encoded product[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2013, 116(3): 287–292.
- [34] CONTESINI F J, LIBERATO M V, RUBIO M V, et al. Structural and functional characterization of a highly secreted α -L-arabinofuranosidase (GH62) from *Aspergillus nidulans* grown on sugarcane bagasse[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta-Proteins and Proteomics*, 2017, 1865(12): 1758–1769.
- [35] MOTTA M L L, FILHO J A F, DE MELO R R, et al. A novel fungal metal-dependent α -L-arabinofuranosidase of family 54 glycoside hydrolase shows expanded substrate specificity[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 10961.
- [36] HUY N D, THAYUMANAVAN P, KWON T H, et al. Characterization of a recombinant bifunctional xylosidase/arabinofuranosidase from *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2013, 116(2): 152–159.
- [37] THAKUR A, SHARMA K, JAMALDHEEN S B, et al. Molecular characterization, regioselective and synergistic action of first recombinant type III alpha-L-arabinofuranosidase of family 43 glycoside hydrolase (PsGH43_12) from *Pseudopedobacter saltans*[J]. *Molecular Biotechnology*, 2020, 62(9): 443–455.
- [38] TERRONE C C, MONTESINO D F N J, FANCHINI TER-RASAN C R, et al. Salt-tolerant α -arabinofuranosidase from a new specie *Aspergillus hortai* CRM1919; Production in acid conditions, purification, characterization and application on xylan hydrolysis[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2020, 23: 101460.
- [39] XU B, DAI L M, ZHANG W H, et al. Characterization of a novel salt-, xylose- and alkali-tolerant GH43 bifunctional β -xylosidase/ α -L-arabinofuranosidase from the gut bacterial genome[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2019, 128(4): 429–437.
- [40] SAKKA M, YAMADA K, KITAMURA T, et al. The modular arabinanolytic enzyme Abf43A-Abf43B-Abf43C from *Ruminiclostridium josui* consists of three GH43 modules classified in different subfamilies[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2019, 124: 23–31.
- [41] HU Y B, ZHAO Y, TIAN S, et al. Screening of a novel glycoside hydrolase family 51 α -L-arabinofuranosidase from *Paeni-*

- bacillus polymyxa* KF-1: Cloning, expression, and characterization [J]. *Catalysts*, 2018, 8(12): 589.
- [42] GAO J, ZHAO Y, ZHANG G C, et al. Production optimization, purification, expression, and characterization of a novel α -L-arabinofuranosidase from *Paenibacillus polymyxa* [J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2018, 36: 24–33.
- [43] TSUJIBO H, TAKADA C, WAKAMATSU Y, et al. Cloning and expression of an α -L-arabinofuranosidase gene (stxIV) from *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520, and characterization of the enzyme [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2002, 66(2): 434–438.
- [44] HASSAN N, KORI L D, GANDINI R, et al. High-resolution crystal structure of a polyextreme GH43 glycosidase from *Halothermothrix orenii* with α -L-arabinofuranosidase activity [J]. *Acta Crystallographica Section F-Structural Biology Communications*, 2015, 71(Pt 3): 338–345.
- [45] LIMSAKUL P, PHITSUWAN P, WAEONUKUL R, et al. A novel multifunctional arabinofuranosidase/endoxyranase/ β -Xylosidase GH43 enzyme from *Paenibacillus curdlanolyticus* B-6 and its synergistic action to produce arabinose and xylose from cereal arabinoxylan [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(24): e0173021.
- [46] SHALLOM D, BELAKHOV V, SOLOMON D, et al. The identification of the acid-base catalyst of α -arabinofuranosidase from *Geobacillus stearothermophilus* T-6, a family 51 glycoside hydrolase [J]. *FEBS Letters*, 2002, 514(2-3): 163–167.
- [47] BOURAOUI H, DESROUSSEAU M L, IOANNOU E, et al. The GH51 α -L-arabinofuranosidase from *Paenibacillus* sp. THS1 is multifunctional, hydrolyzing main-chain and side-chain glycosidic bonds in heteroxylans [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2016, 9: 140.
- [48] SIGUIER B, HAON M, NAHOUM V, et al. First structural insights into α -L-arabinofuranosidases from the two GH62 glycoside hydrolase subfamilies [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2014, 289(8): 5261–5273.
- [49] WILKENS C, ANDERSEN S, DUMON C, et al. GH62 arabinofuranosidases: structure, function and applications [J]. *Biotechnology Advances*, 2017, 35(6): 792–804.
- [50] MALGAS S, THORESEN M, VAN DYK J S, et al. Time dependence of enzyme synergism during the degradation of model and natural lignocellulosic substrates [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2017, 103: 1–11.
- [51] LESCHONSKI K P, KAASGAARD S G, SPODSBERG N, et al. Two subgroups within the GH43_36 α -L-arabinofuranosidase subfamily hydrolyze arabinosyl from either mono- or disubstituted xylosyl units in wheat arabinoxylan [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(22): 13790.
- [52] YANG W, JIANG Z J, LIU L Y, et al. The effect of pentosanase on the solubilisation and degradation of arabinoxylan extracted from whole and refined wheat flour [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(3): 1034–1041.
- [53] DAHIYA S, BAJAJ B K, KUMAR A, et al. A review on biotechnological potential of multifarious enzymes in bread making [J]. *Process Biochemistry*, 2020, 99: 290–306.
- [54] XUE Y M, CUI X B, ZHANG Z H, et al. Effect of β -endoxyranase and α -arabinofuranosidase enzymatic hydrolysis on nutritional and technological properties of wheat brans [J]. *Food Chemistry*, 2020, 302: 125332.
- [55] ZHOU T, XUE Y M, ZHANG Z H, et al. Improvement of the characteristics of steamed bread by supplementation of recombinant α -L-arabinofuranosidase containing xylan-binding domain [J]. *Food Biotechnology*, 2019, 33(1): 34–53.
- [56] PATEL V B, CHATTERJEE S, DHOBLE A S. A review on pectinase properties, application in juice clarification, and membranes as immobilization support [J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(8): 3338–3354.
- [57] LEMAIRE A, DURAN G C, PERRIN A, et al. Three novel rhamnogalacturonan I-pectins degrading enzymes from *Aspergillus aculeatinus*: Biochemical characterization and application potential [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 248: 116752.
- [58] DURAN G C, HABRYLO O, LEMAIRE A, et al. Characterization of a novel strain of *Aspergillus aculeatinus*: from rhamnogalacturonan type I pectin degradation to improvement of fruit juice filtration [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 262: 117943.
- [59] 彭程, 肖文熙, 倪辉, 等. 一种黑曲霉 α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶克隆表达、性质分析和果汁澄清效果 [J]. *食品科学*, 2022, 43(2): 83–92. [PENG C, XIAO W X, NI H, et al. Cloning, expression and characterization of α -L-Arabinofuranosidase from *Aspergillus niger* and its clarification effect on fruit juice [J]. *Food Science*, 2022, 43(2): 83–92.]
- [60] BELDA I, RUIZ J, ALASTRUEY-IZQUIERDO A, et al. Unraveling the enzymatic basis of wine "flavorome": A phylo-functional study of wine related yeast species [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 12.
- [61] CAFFREY A J, LERNO L A, ZWEIGENBAUM J, et al. Direct analysis of glycosidic aroma precursors containing multiple aglycone classes in vitis vinifera berries [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(12): 3817–3833.
- [62] PARKER M, BLACK C A, BARKER A, et al. The contribution of wine-derived monoterpene glycosides to retronasal odour during tasting [J]. *Food Chemistry*, 2017, 232: 413–424.
- [63] TOMASINO E, SONG M, FUENTES C. Odor perception interactions between free monoterpene isomers and wine composition of pinot gris wines [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(10): 3220–3227.
- [64] ZIETSMAN A J, DE KLERK D, VAN RENSBURG P. Co-expression of α -L-arabinofuranosidase and β -glucosidase in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *FEMS Yeast Research*, 2011, 11(1): 88–103.
- [65] RAVANAL M C, ROSA L, EYZAGUIRRE J. α -L-arabinofuranosidase 3 from *Penicillium purpurogenum* (ABF3): Potential application in the enhancement of wine flavour and heterologous expression of the enzyme [J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 888–893.
- [66] 高飞, 金昭, 蔡国林, 等. 阿拉伯呋喃糖苷水解酶对啤酒大麦麦芽过滤性能的影响 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35(14): 237–240, 255. [GAO Fei, JIN Zhao, CAI Guolin, et al. Effect of arabinoxylan arabinofuranohydrolases of Jiangsu barley malt on the filterability [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2014, 35(14): 237–240, 255.]
- [67] 解西柱, 张明, 林材, 等. α -L-阿拉伯呋喃糖苷酶在毕赤酵母中的表达及其对大麦麦芽过滤性能的影响 [J]. *食品与发酵工业*, 2018, 44(2): 48–54. [XIE Xizhu, ZHANG Ming, LIN Cai, et al. Expression of α -L-arabinofuranosidase in *Pichia pastoris* and its effect on filterability of barley malt [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2018, 44(2): 48–54.]
- [68] SONI H, KANGO N. Hemicellulases in lignocellulose biotechnology: recent patents [J]. *Recent Patents on Biotechnology*, 2013, 7(3): 207–218.
- [69] CANN I, PEREIRA G V, ABDEL-HAMID A M, et al. Thermophilic degradation of hemicellulose, a critical feedstock in the

- production of bioenergy and other value-added products[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2020, 86(7): e02296–19.
- [70] LINTON S M, GREENAWAY P. A review of feeding and nutrition of herbivorous land crabs: Adaptations to low quality plant diets[J]. *Journal of Comparative Physiology B*, 2007, 177(3): 269–286.
- [71] WARD N E. Debranching enzymes in corn/soybean meal-based poultry feeds: a review[J]. *Poultry Science*, 2021, 100(2): 765–775.
- [72] SAKAMOTO T, ISHIMARU M. Peculiarities and applications of galactanolytic enzymes that act on type I and II arabinogalactans[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(12): 5201–5213.
- [73] COZANNET P, KIDD M T, MONTANHINI NETO R, et al. Next-generation non-starch polysaccharide-degrading, multi-carbohydrase complex rich in xylanase and arabinofuranosidase to enhance broiler feed digestibility[J]. *Poultry Science*, 2017, 96(8): 2743–2750.
- [74] MATHLOUTHI N, SAULNIER L, QUEMENER B, et al. Xylanase, β -glucanase, and other side enzymatic activities have greater effects on the viscosity of several feedstuffs than xylanase and beta-glucanase used alone or in combination[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(18): 5121–5127.
- [75] SONG X P, WANG L N, FAN D D. Insights into recent studies on biotransformation and pharmacological activities of ginsenoside Rd[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(4): 512.
- [76] CHEN Y Y, LIU Q P, AN P, et al. Ginsenoside Rd: a promising natural neuroprotective agent[J]. *Phytomedicine*, 2022, 95: 153883.
- [77] LIU Q M, JUNG H M, CUI C H, et al. Bioconversion of ginsenoside Rc into Rd by a novel α -L-arabinofuranosidase, Abf22-3 from *Leuconostoc* sp. 22-3; Cloning, expression, and enzyme characterization[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, 103(4): 747–754.
- [78] CHOI J H, SHIN K C, OH D K. An L213A variant of β -glycosidase from *Sulfolobus solfataricus* with increased α -L-arabinofuranosidase activity converts ginsenoside Rc to compound K[J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191018.
- [79] ZHANG R, TAN S Q, ZHANG B L, et al. Two key amino acids variant of α -L-arabinofuranosidase from *Bacillus subtilis* Str. 168 with altered activity for selective conversion ginsenoside Rc to Rd[J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1733.
- [80] XIE J, ZHAO D, ZHAO L, et al. Characterization of a novel arabinose-tolerant α -L-arabinofuranosidase with high ginsenoside Rc to ginsenoside Rd bioconversion productivity[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 120(3): 647–660.
- [81] SHIN K C, LEE G W, OH D K. Production of ginsenoside Rd from ginsenoside Rc by α -L-arabinofuranosidase from *Caldicellulosiruptor saccharolyticus*[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 23(4): 483–488.
- [82] LI C Y, CAO H, WU W, et al. Expression and characterization of α -L-arabinofuranosidase derived from *Aspergillus awamori* and its enzymatic degradation of corn byproducts with xylanase[J]. *Bioresource Technology*, 2023; 129278.