

萌发糙米中不溶性多酚提取工艺的研究

孙兆远,侯会绒

(江苏食品职业技术学院,江苏淮安 223003)

摘要:以萌发糙米为原料提取不溶性多酚类化合物,探讨碱水解条件和乙酸乙酯萃取条件对不溶性多酚提取得率的影响。通过单因素实验和正交实验,确定碱水解最佳条件为:粉碎粒度 40 目、NaOH 浓度 1.5mol/L、水解时间 2.5h、料液比 1:18;乙酸乙酯萃取最佳条件为:乙酸乙酯添加量 40mL、萃取时间 30min、振荡速度 200r/min、pH2.0。在此条件下不溶性多酚提取得率为 32.35mg/100g。

关键词:萌发糙米,不溶性多酚,提取

Extraction technology of bound phenolics in pre-germinated brown rice

SUN Zhao-yuan, HOU Hui-rong

(Jiangsu Food Science College, Huai'an 223003, China)

Abstract: The factors of alkaline hydrolysis and ethyl acetate extraction, which influence the extraction yield in the technology for extraction of bound phenolics from pre-germinated brown rice, were researched through single factor experiments and orthogonal experiment. The optimum technological parameters for extraction of bound phenolics were determined: particle size 40 mesh, NaOH concentration 1.5mol/L, alkaline hydrolysis 2.5h, solid-liquid ratio 1:18. The extraction parameters were addition of ethyl acetate 40mL, extraction time 30min, shake speed 200r/min, pH2.0. The yield of bound phenolics could reach 32.35mg/100g.

Key words: pre-germinated brown rice; bound phenolics; extraction technology

中图分类号:TS210.1

文献标识码:B

文章编号:1002-0306(2010)12-0231-05

多酚类物质是广泛存在于自然界中的一类酚羟基结构的化合物^[1],具有很强的抗氧化性和抗自由基能力^[2],能阻碍氧化物破坏脂类和低密度脂蛋白^[3]、抑制血小板凝聚^[4]、降低冠心病和癌症的几率^[5],还具有延缓组织和人体衰老等功效,是很好的抗氧化物质^[6]。现代流行病学研究表明,食用全粒谷物或相关产品对降低心脑血管等慢性疾病具有很好的效果,主要是因为全粒谷物中的多酚类物质的作用。植物多酚是植物体内次生代谢的中间产物,以游离态、酯化态和结合态的形式存在于植物体中,游离态和酯化态被称为可溶性酚类^[7],主要有阿魏酸、对香豆酸^[8]、原儿茶酸、没食子酸、咖啡酸^[9]、芥子酸^[10]等;结合态被称为不溶性酚类,以酯键、糖苷键、醚苷键等形式与其他物质(包括蛋白质、单糖、有机酸等)相结合^[7]。谷物中的多酚绝大多数以结合形式存在(玉米 85%、燕麦 75%、小麦 75%)^[11]。目前,相关的论文报道中对谷物中酚类物质均采用甲醇、乙醇、丙酮的水溶液进行提取,为了提高提取得率,多采用延

长提取时间或者是对谷物进行粉碎处理。报道中没有对不溶性多酚进行水解,因此提取得率很低。谷物在萌发过程中,淀粉酶、纤维素酶、蛋白酶被激活,其质构有所改善且营养物质变得容易消化和吸收^[12],同时苯丙烷代谢增强,使得多酚类物质含量增多,抗氧化能力增强^[5]。本研究以萌发糙米为原料提取不溶性多酚,以提取得率为指标,探讨了碱水解条件和乙酸乙酯萃取条件对提取得率的影响,以得出不溶性多酚最佳提取方案。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

苏北大米 由淮安市清浦区苏鑫米厂提供;萌发糙米 自制;阿魏酸、Folin-Ciocalteu 试剂 Sigma 公司;其余试剂 均为国产分析纯。

HP250GS-C 型智能人工气候箱 武汉瑞华;WF180 万能粉碎机 上海光学仪器厂;RE-2000A 旋转蒸发器 上海亚荣;BS-1E 振荡培养箱 苏州威尔;TU-1900 紫外可见分光光度计 北京普析;VF203 真空抽滤装置 北京桑翌;JA1003A 电子精密天平 上海伦捷;PHS-3C 酸度计 上海雷磁。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 糙米萌发条件:准确称量糙米 400g,用水洗净,加水 2000mL,于 32℃ 条件下浸泡

收稿日期:2010-07-07

作者简介:孙兆远(1979-),男,讲师,主要从事天然产物活性成分的提取与应用研究。

基金项目:淮安市 2008 年度科技支撑计划(工业)项目(HAC08056)。

21h,选取芽长1mm的萌发糙米作为试样,低温冻干后,用万能粉碎机粉碎,过40目筛,然后于-20℃条件下冷冻储存。

1.2.2 不溶性多酚的提取 精确称取5.0g磨碎的萌发糙米样品,己烷($4 \times 50\text{mL}$,30min每次)脱脂,抽滤后放于烘箱中烘干,然后用70%乙醇去除游离酚酸。残渣浸入NaOH溶液中在充氮条件下水解。离心分离后,混合上清液,用HCl调至酸性,加入乙酸乙酯于恒温振荡箱中振荡萃取3次^[11]。混合萃取液于35℃充氮旋转蒸干后用甲醇定容至50mL。

1.2.3 不溶性多酚含量的测定

1.2.3.1 标准曲线的绘制 分别吸取0、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00mL 1.0mg/mL阿魏酸标准溶液于50mL容量瓶中,加入2mL 20% Folin-Ciocalteu试剂,混匀后静置5min,再加入5mL 7.5% Na₂CO₃溶液混匀,用去离子水定容至50mL,35℃下避光静置30min,以去离子水做空白,在768nm波长下测定吸光度值。以吸光度值为纵坐标,阿魏酸标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线(图1)。

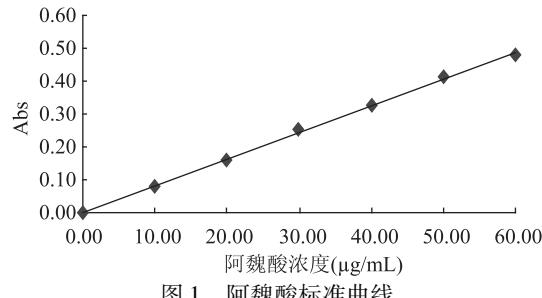


图1 阿魏酸标准曲线

由图1可知,阿魏酸在0~60μg/mL范围内线性回归方程为 $y = 0.00809x + 0.00071$,相关系数 $R^2 = 0.9989$,结果符合朗伯比尔定律,表面线性关系良好,可用于萌发糙米提取液多酚含量测定。

1.2.3.2 样品测定 吸取1.0mL萌发糙米提取液置于50mL容量瓶中,按照1.2.3.1测定吸光度值,根据标准曲线和下面公式计算出不溶性多酚提取得率。

$$\text{不溶性多酚提取得率} (\%) = \frac{c \times v}{m} \times 100\%$$

式中:c—提取液中多酚浓度;v—提取液体积;m—样品质量。

2 结果与分析

2.1 碱水解条件的确定

2.1.1 粉碎粒度对不溶性多酚提取得率的影响 精确称取目数分别为10、20、30、40、50、60目的6份样品各5.0g,按照操作步骤1.2.2进行不溶性多酚水解和提取,提取物按照1.2.3进行含量测定,结果见图2。

由图2可知,多酚提取得率随粉碎粒度的增大而迅速增加,主要因为糙米颗粒越小,比表面积越大,在单位时间内与碱液接触面积越大,分解速度增加,提取得率也就越大。但当糙米粒度小于30目时,提取得率开始下降,原因可能是糙米颗粒内部的淀粉等其它物质浸出速度加快,提取液黏度增大,将不溶性多酚包裹,阻碍了碱液与不溶性多酚的接触,使得分解速度减弱,水解液过滤困难,对乙酸乙酯萃取造成较大影响。由此可见,粉碎粒度以30目为宜。

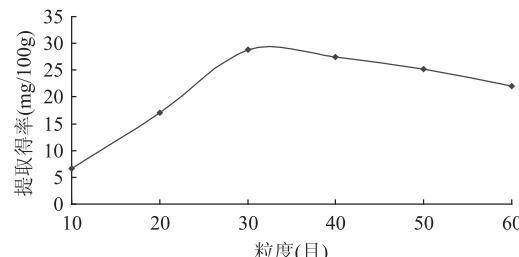


图2 粉碎粒度对多酚提取得率的影响

2.1.2 NaOH浓度对不溶性多酚提取得率的影响 分别量取浓度为0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0mol/L NaOH溶液各100mL,按照操作步骤1.2.2进行不溶性多酚水解和提取,提取物按照1.2.3进行含量测定,结果见图3。

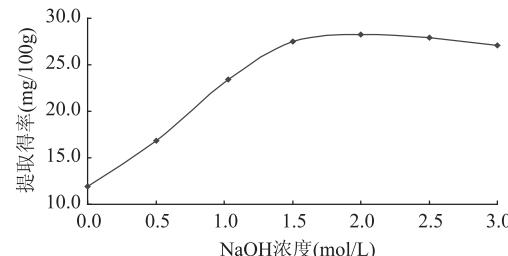


图3 NaOH浓度对多酚提取得率的影响

由图3可知,随着NaOH浓度的增大,不溶性多酚与蛋白质、单糖、有机酸等结合形成的酯键、糖苷键、醚苷键被破坏,酚酸由结合形式转为游离形式游离到碱液之中,使得提取得率增大。当NaOH浓度增加到1.5mol/L时,提取得率达到最大值,之后缓慢降低,这主要是因为在酸性条件下酚类物质比较稳定,而在强碱性条件下,其分子容易发生断裂而分解^[13]。同时,在强碱条件下淀粉、纤维素发生水解,使得溶液黏度增加,一定程度上抑制了多酚物质的浸出。因此,NaOH浓度为1.5mol/L较好。

2.1.3 碱水解时间对不溶性多酚提取得率的影响 精确称取样品8份各5.0g,按照操作步骤1.2.2分别水解0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0h后进行提取,提取物按照1.2.3进行含量测定,实验结果见图4。

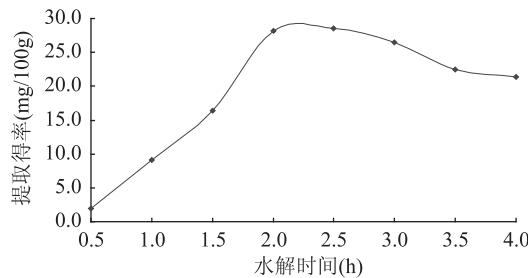


图4 水解时间对多酚提取得率的影响

由图4可知,多酚提取得率随水解时间的延长而增加,主要是因为水解反应开始时反应底物浓度较大,NaOH与不溶性多酚与其他物质结合的酯键、糖苷键、醚苷键接触的机会大,使得反应迅速进行。当水解时间到达2.0h时,多酚提取得率出现峰值,之后随时间延长而缓慢降低。这主要是因为强碱性条件下,多酚物质发生分解反应造成。因此选择水解时间为2.0h较好。

2.1.4 料液比对不溶性多酚提取得率的影响 分别

量取 50、60、70、80、90、100、110、120mL 的 NaOH 溶液,按照操作步骤 1.2.2 进行不溶性多酚水解和提取,提取物按照 1.2.3 进行含量测定,结果见图 5。

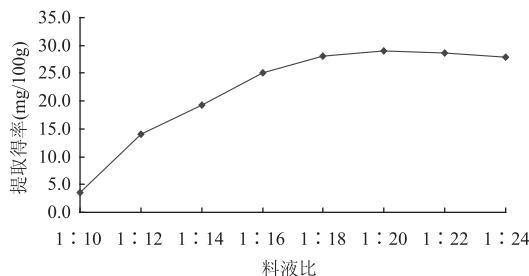


图 5 料液比对多酚提取得率的影响

由图 5 可知,当料液比为 1:10 时,不溶性多酚提取得率很低(3.50mg/100g),这主要是提取液呈黏稠状态,不利于 NaOH 水解和乙酸乙酯的萃取。当料液比逐渐增大时,碱水解速度增加,提取得率也增加,并在料液比为 1:18 时出现峰值。之后随料液比的增大,提取得率缓慢降低,这可能是因为料液比增大使得提取液中多酚浓度降低,与乙酸乙酯中多酚浓度的差值降低,萃取不彻底,另外,碱水解液添加量增大,溶液 pH 上升,多酚稳定性变差。因此选择料液比 1:18 为好,即 NaOH 的添加量为 90mL。

2.1.5 碱水解最佳条件的确定 在单因素的基础上,以粉碎粒度、NaOH 浓度、水解时间及料液比为考察因素,以不溶性多酚提取得率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验确定碱水解最佳条件。因素水平见表 1,正交实验结果见表 2。

表 1 碱水解因素水平表

水平	因素			
	A 粉碎粒度 (目)	B NaOH 浓度 (mol/L)	C 水解时间 (h)	D 料液比
1	20	1.0	1.5	1:16
2	30	1.5	2.0	1:18
3	40	2.0	2.5	1:20

由表 2 中 R 值可以看出,各因素对结果的影响次序为:C>B>D>A,即水解时间对提取得率的影响最大,NaOH 浓度次之,粉碎粒度对提取得率的影响最小。

表 2 碱水解正交实验结果

实验号	A	B	C	D	提取得率 (mg/100g)
1	1	1	1	1	21.02
2	1	2	2	2	30.14
3	1	3	3	3	26.31
4	2	1	2	3	25.91
5	2	2	3	1	31.73
6	2	3	1	2	22.68
7	3	1	3	2	30.99
8	3	2	1	3	23.01
9	3	3	2	1	26.60
K ₁	77.47	77.92	66.72	79.35	
K ₂	80.33	84.89	82.65	83.81	T = 238.40
K ₃	80.60	75.59	89.03	75.23	
k ₁	25.82	25.97	22.24	26.45	
k ₂	26.78	28.30	27.55	27.94	X = 26.49
k ₃	26.87	25.20	29.68	25.08	
R	1.04	3.10	7.44	2.86	
优水平	A ₃	B ₂	C ₃	D ₂	

由表 2 中提取得率水平对应的 k 值可以看出,本实验的最佳组合 A₃B₂C₃D₂,经验证实该条件下不溶性多酚提取得率高于正交实验中的最大值,因此确定最佳碱水解条件为:粉碎粒度 40 目、NaOH 浓度 1.5 mol/L、水解时间 2.5h、料液比 1:18。

2.2 乙酸乙酯萃取条件的确定

2.2.1 乙酸乙酯添加量对不溶性多酚提取得率的影响 分别量取 10、20、30、40、50、60、70、80mL 乙酸乙酯,按照操作步骤 1.2.2 进行不溶性多酚水解和提取,提取物按照 1.2.3 进行含量测定,结果见图 6。

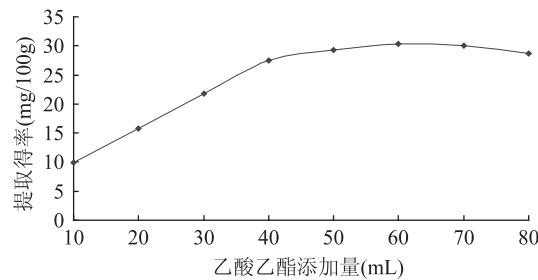


图 6 乙酸乙酯添加量对多酚提取得率的影响

由图 6 可知,当乙酸乙酯添加量为 10mL 时,不溶性多酚提取得率处于较低水平(9.90mg/100g),这主要是因为水解液经 HCl 调节 pH 后体积可达 250mL,10mL 的乙酸乙酯不足以将所有多酚萃取出来,同时,乙酸乙酯微溶于水,致使体积降低。随着乙酸乙酯添加量的增大,提取得率逐渐增大,当添加量为 40mL 时接近最大值,再增加乙酸乙酯的量,提取得率略有上升,但给蒸发浓缩带来困难,当添加量大于 60mL 后,提取得率出现下降,这就是旋转蒸发过程中多酚氧化损失造成的。因此选择乙酸乙酯添加量 40mL 为好。

2.2.2 萃取时间对不溶性多酚提取得率的影响 精确称取样品 8 份各 5.0g,按照操作步骤 1.2.2 分别萃取 5、10、15、20、25、30、35、40min,提取物按照 1.2.3 进行含量测定,结果见图 7。

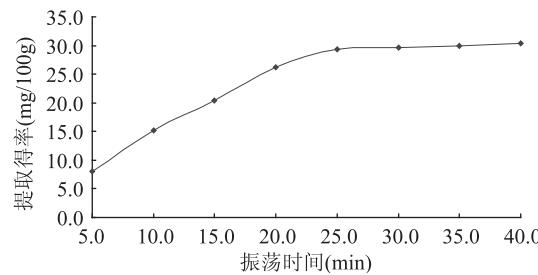


图 7 振荡时间对多酚提取得率的影响

由图 7 可知,多酚提取得率随振荡时间的延长而逐渐增加,其中前 25min 内增加速度较快,当振荡时间大于 25min 后,提取得率基本变化不大,为提高生产效率,减少多酚氧化,选择振荡时间为 25min 较好。

2.2.3 振荡速度对不溶性多酚提取得率的影响 精确称取 5 份样品各 5.0g,按照操作步骤 1.2.2 在转速分别为 50、100、150、200、250r/min 的恒温振荡培养箱中振荡萃取,提取物按照 1.2.3 进行含量测定,结果见图 8。

由图 8 可知,多酚提取得率随振荡速度的增加

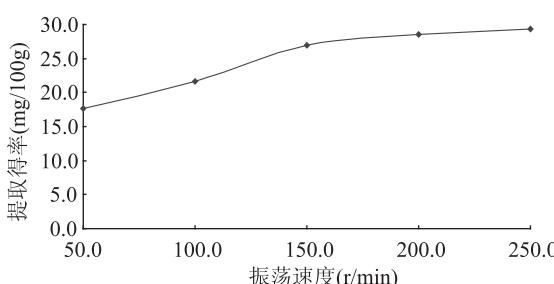


图8 振荡速度对多酚提取得率的影响

逐渐增大,当速度在200r/min时多酚提取得率接近最大值,随后缓慢增大,但当速度达到250r/min,由于振荡速度过大,三角瓶中溶液有溅出,因此选择振荡速度为200r/min较好。

2.2.4 pH对不溶性多酚提取得率的影响 精确称取5份样品各5.0g,按照操作步骤1.2.2用HCl分别调至pH为1、2、3、4、5、6,然后加入乙酸乙酯萃取,提取物按照1.2.3进行含量测定,结果见图9。

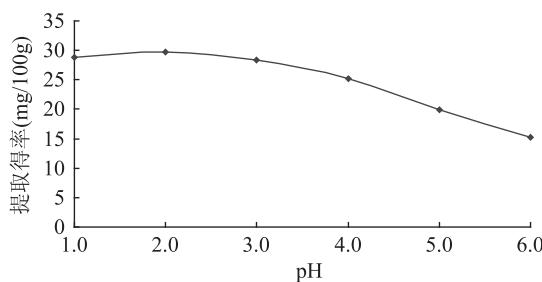


图9 pH对多酚提取得率的影响

由图9可知,多酚提取率先随pH的增加而降低,这主要是因为多酚类物质在酸性条件下较稳定,而在碱性条件下,其分子容易发生断裂而分解。另外由于振荡时无法进行充氮处理,振荡过程中会带入氧气,使得多酚物质发生分解或生成其他物质,因此选择pH为2.0。

2.2.5 乙酸乙酯萃取最佳条件的确定 在单因素实验基础上,以乙酸乙酯添加量、萃取时间、振荡速度及pH为考察因素,以不溶性多酚提取得率为指标,采用L₉(3⁴)实验确定最佳萃取条件。因素水平见表3,正交实验结果见表4。

表3 乙酸乙酯萃取因素水平表

水平	因素			
	A 乙酸乙酯添加量(mL)	B 萃取时间(min)	C 振荡速度(r/min)	D pH
1	30	20	175	1.0
2	40	25	200	2.0
3	50	30	225	2.0

由表4中R值可知,各因素对结果的影响次序为:C>D>B>A,即振荡速度对不溶性多酚提取得率的影响最大,pH次之,乙酸乙酯添加量对提取得率的影响最小。由表4中乙酸乙酯萃取实验水平对应的k值可知,本实验的最佳组合A₂B₃C₂D₂,即不溶性多酚提取得率最高时,最佳萃取条件为:乙酸乙酯添加量40mL、萃取时间30min、振荡速度200r/min、pH2.0。

表4 乙酸乙酯萃取正交实验结果

实验号	A	B	C	D	提取得率(mg/100g)
1	1	1	1	1	24.29
2	1	2	2	2	30.86
3	1	3	3	3	27.67
4	2	1	2	3	28.86
5	2	2	3	1	29.14
6	2	3	1	2	31.14
7	3	1	3	2	30.00
8	3	2	1	3	26.57
9	3	3	2	1	32.29
K ₁	82.82	83.15	82.00	85.72	
K ₂	89.14	86.57	92.01	92.00	T = 260.82
K ₃	88.86	91.10	86.81	83.10	
k ₁	27.61	27.72	27.33	28.57	
k ₂	29.71	28.86	30.67	30.67	X = 28.98
k ₃	29.62	30.37	28.94	27.70	
R	6.32	7.95	10.01	8.90	
优水平	A ₂	B ₃	C ₂	D ₂	

2.3 验证实验

因为A₂B₃C₂D₂的提取条件不在正交实验表中,所以按此提取条件补做3次验证实验,结果见表5。

表5 验证实验结果

实验号	提取得率(mg/100g)	平均值(mg/100g)
1	32.36	
2	32.31	32.35
3	32.39	

由表5可知,在设定的提取条件下,不溶性多酚的提取得率较高(32.35mg/100g)且稳定,平均得率超过正交实验最大值,具有可行性和实用价值。

3 结论

通过单因素实验和正交实验,确定萌发糙米中不溶性多酚物质的碱水解最佳参数为:粉碎粒度40目、NaOH浓度1.5mol/L、水解时间2.5h、料液比1:18;乙酸乙酯萃取最佳条件为:乙酸乙酯添加量为40mL、萃取时间为30min、振荡速度200r/min、pH2.0。在此条件下不溶性多酚提取得率为32.35mg/100g。

参考文献

- [1] Shashidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidants [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1992, 32:67-103.
- [2] Morton LW, Abu-Amsha Caccetta R, Pudsey IB, et al. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2000, 27:152-159.
- [3] Daniel O, Meier MS, Schlatter J, et al. Selected phenolic compounds in cultivated plants: Ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides [J]. Environ Health Perspect, 1999, 107:109-114.
- [4] Newmark HL. Plant phenolics as potential cancer prevention agents [J]. Adv Exp Med Biol, 1996, 401:25-34.
- [5] Tian S, Nakamura K, Kayahara H. Analysis of Phenolic Compounds in White Rice, Brown Rice, and Germinated Brown Rice [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52:4808-4813.

(下转第237页)

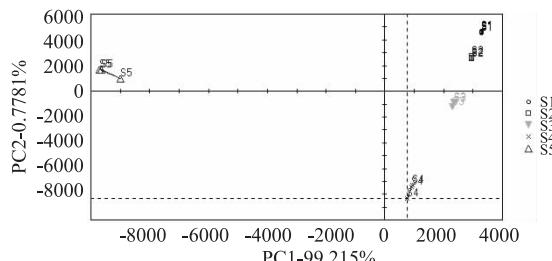


图2 标准品 Flash GC E-Nose 胨味测定数据主成分分析(PCA)图谱

以人工感官评为横坐标,标准样品的响应值为纵坐标,采用偏最小二乘法建立线性拟合曲线(PLS),如图3。建立的PLS曲线的相关系数为0.9636,有一定的相关性,但相关性不理想。Heracles超快速气相色谱电子鼻具有分析速度快的特点(平均3~5min一个样)。因此,可以通过该仪器快速粗略地对待测样品的腥味进行测定。

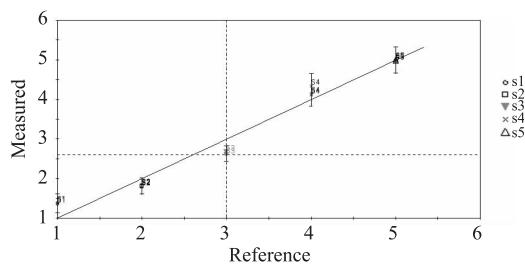


图3 标准品 Flash GC E-Nose 胨味测定数据线性拟合曲线(PLS)图谱

从表3中可以看出,稀酸碱洗脱液的洗脱效果最差,洗脱液的腥味评分最低,仅为1.96。不同浓度乙醇洗脱液的洗脱效果有所差别,以50%乙醇洗脱液的腥味评分最高,达到了4.65,说明该洗脱条件下腥味成分的洗脱效果最好,而其它条件的乙醇洗脱液在3~4左右,腥味成分的洗脱效果稍差。结合表2和表3,我们可以看出,通过Flash GC E-Nose测定的腥味值与总氮洗脱率并不一致,说明腥味值和

表3 样品 Flash GC E-Nose 胨味测定数据表

样品	腥味平均值 (Mean)	标准偏差 (SD)
25%乙醇洗脱液	4.04	0.0438
50%乙醇洗脱液	4.65	0.0431
75%乙醇洗脱液	3.19	0.0352
梯度乙醇洗脱液	3.35	0.0301
稀酸碱洗脱液	1.96	0.00242

(上接第234页)

- [6] Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols [J]. J Nutr, 2000, 130: 2073S-85S.
- [7] Jung MY, Jeon BS, Bock JY. Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids in white and red Korean ginsengs [J]. Food Chemistry, 2002, 79(1): 105-111.
- [8] Ayumi H, Masatsune M, Seiichi H. Analysis of free and bound phenolics in rice [J]. Food Science and Technology Research, 1999(5): 74-79.
- [9] Rao MS, Muralikrishna G. Evaluation of the antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and milled finger millet [J]. J Agric Food Chem, 2001, 50 (4):

总氮洗脱率之间并不是简单的正相关关系,某些腥味成分中并不含有氮元素。所以,在考虑洗脱效果时,要综合考虑总氮和腥味值两个指标,总的来看,采用梯度乙醇洗脱条件的总氮洗脱率最高,腥味指标也达到了3.35,且乙醇用量较少,故选择采用梯度乙醇洗脱进行树脂洗脱操作。

3 结论

非极性大孔吸附树脂Da201-C处理鳀鱼酶解液脱腥后,采用不同组成的洗脱液对其进行洗脱,测定了洗脱液的总氮和腥味值。其中腥味值的测定采用的是Flash GC E-Nose这一简单快捷的方法,应用偏最小二乘法建立线性拟合曲线(PLS),并对被测样品的腥味值进行估算。结果表明,不同组成的洗脱液的洗脱效果有所差别,乙醇洗脱液的洗脱效果较好。腥味值和总氮洗脱率的相关性不明显,梯度乙醇洗脱液的总氮洗脱率最高,为96.80%,而腥味值最高值为50%乙醇洗脱液的4.65。综合考虑这两个指标,选择梯度乙醇洗脱液进行树脂洗脱操作。

参考文献

- [1] 董玉莲,闻克威,李宝才,等.水产下杂鱼鳀鱼营养价值研究[J].食品与发酵工业,2000,26(6):27-31.
- [2] 汪少芸,黄景洁,常景立,等.新型复合酶制备鳀鱼蛋白水解物的研究[J].中国食品学报,2008,8(2):123-127.
- [3] 吕英涛,康从民,韩春超,等.鳀鱼内源蛋白酶初步研究[J].食品科学,2009,30(17):270-273.
- [4] 金晶,周坚.鱼制品脱腥脱苦技术研究进展[J].食品科技,2007(5):14-17.
- [5] Joseph Wasswa, Jian Tang, Xiao-Hong Gu. Desalting fish skin protein hydrolysates using macroporous adsorption resin [J]. American Journal of Food Technology, 2007(5):406.
- [6] Jonsdottir R, Olafsdottir G, Martinsdottir E, et al. Flavor characterization of ripened cod roe by gas chromatography, sensory analysis, and electronic nose[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(20):6250-6256.
- [7] 周明,徐伟,薛长湖,等.鳀鱼酶解技术的条件优化[J].食品工业科技,2009,30(2):158-160.
- [8] 李剑君,李稳宏,高新,等.AB-8型大孔吸附树脂吸附葛根素过程的研究[J].西安交通大学学报,2000,34(4):78-81.
- [9] P Severiano-Perez, A M Vivar-Quintana, I Revilla. Determination and evaluation of the parameters affecting the choice of veal meat of the “Ternera de Aliste” quality appellation [J]. Meat Science, 2006, 73:491-497.

889-892.

- [10] Bunzel M, Allerdings E, Sinwell V, et al. Cell wall hydroxycinnamates in wild rice (*Zizania aquatica L.*) insoluble dietary fibre[J]. European Food Research and Technology, 2002, 214(6):482-488.
- [11] Adom KK, Liu RH. Antioxidant activity of grains[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(21):6182-6187.
- [12] Oste RE. Digestibility of processed food protein[J]. Adv Exp Med Biol, 1991, 289:371-388.
- [13] 冯艳丽,员月明,夏艳.碱法水解大豆异黄酮工艺条件研究[J].中国油脂,2009,34(5):56-58.