

响应面法优化核桃花粉黄酮提取工艺

王丹, 翟梅枝*, 史冠昭, 毛光瑞 (西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌 712100)

摘要 [目的]优化核桃花粉黄酮提取工艺。[方法]试验先采用溶剂提取法提取核桃花粉中的黄酮物质,并在单因素试验的基础上,以总黄酮得率为响应值,采用响应面设计方法优化核桃花粉总黄酮提取工艺。[结果]响应面法得出的提取核桃花粉黄酮的最佳工艺参数如下:乙醇浓度 64.7%,提取温度 80℃,液料比为 30:1 ml/g,提取时间为 102 min,该工艺条件可使总黄酮得率达 4.17%。[结论]响应面法对黄酮提取的优化具有实际应用价值,可为工业化利用丰富的核桃花粉资源提取总黄酮提供生产依据。

关键词 响应面;核桃花粉;黄酮

中图分类号 S664.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)12-05470-05

Optimization of Extraction of Total Flavonoids from Walnut Staminate Flowers by Response Surface Design

WANG Dan et al (College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract [Objective] To optimize extraction technique for flavonoids from walnut staminate flowers. [Method] Total flavonoids were extracted from walnut staminate flowers with solvent method. Based on single-factor test, response surface analysis was conducted to optimize the extraction technology of total flavonoids. The procedure for the extraction was performed with the recovery yield of flavonoids as the response. [Result] The optimum extraction conditions were confirmed by response surface method as follows: ethanol concentration 64.7% temperature 80℃ liquid to material ratio 30:1 and time 102 min. The recovery yield of flavonoids got to 4.17% once extraction. [Conclusion] RSD method has practical application value for optimization of flavonoids extraction, which will provide production basis for extracting total flavonoids from walnut staminate flower.

Key words Response surface; Walnut staminate flowers; Flavonoids

核桃是我国重要的经济林树种,分布广泛,总产量居世界第一^[1]。核桃雌雄花同株,一般在春天3月中旬至4月初开花,为柔荑花序,直径约1 cm,长达10~15 cm,花序重约4 g,花粉为黄色的颗粒。一株20年生的核桃盛果期大树,能产2~4 kg的雄花^[2]。我国核桃雄花虽产量大,但相应的研究却很少。

花粉营养成分丰富、均衡,具有很高的药用保健功能,但不同植物的花粉其营养成分和活性价值又有很大差异^[3]。国内学者对油菜花、野菊花、蒲公英、桃花、野藜香、黄玫瑰、野玫瑰、黄柏、山花、五味子等花粉中的黄酮类物质进行了提取研究,结果显示不同种类花粉中黄酮类物质含量差异很大^[4-6]。Bonvehf, Silva, Leja, Almaraz-Abarca 等分别对西班牙、巴西、波兰、葡萄牙花粉进行了提取分离,在花粉中能分离出黄酮物质并具有抗氧化性^[7-10]。花粉中丰富的黄酮类化合物,可以抗氧化及抗自由基,提高免疫力,延缓衰老,治疗和预防心血管病等退变性疾病;此外,还有抗炎、抗敏感等作用^[11-14]。膳食中每日摄取一定量的抗氧化剂可以预防自由基对细胞膜的损伤,维护其生理功能,这类外源性抗氧化剂中以黄酮类化合物最为明显^[15]。花粉中的维生素E、维生素C、β-胡萝卜素、黄酮类化合物等营养素的综合作用,能极有效地消除机体代谢过程中所产生的过量自由基和脂褐素沉积的出现,延缓皮肤衰老,保持青春^[16]。因此,核桃花粉资源有望成为保健品、化妆品的原材料。

笔者采用响应面设计的方法对影响核桃花粉总黄酮得率的关键因素进行了条件优化研究,并用“NaNO₂-Al

(NO₃)₃-NaOH 显色体系吸光度法”测定了总黄酮含量。

1 材料与方法

1.1 材料 核桃花粉于2012年4月底采自西北农林科技大学山阳核桃试验站,经分检、除杂,自然风干后装袋备用。主要试剂:芦丁标准品,上海融禾医药科技发展有限公司;乙醇、硝酸铝、氢氧化钠、亚硝酸钠,均为分析纯。主要仪器设备:AUY120 电子天平,日本岛津公司;UV-1200 型紫外分光光度计,上海美谱达仪器有限公司;FW-200 型高速万能粉碎机、SHB-III型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;HH-2 型电热恒温水浴锅,北京科伟永兴仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 原料的制备。采用机械破壁法,将核桃花粉放入粉碎机中粉碎,过0.8 mm 标准检验筛,然后经石油醚脱脂,抽滤,滤渣通风橱下24 h 挥发掉石油醚,得到脱脂核桃花粉,备用。并对石油醚进行回收。

1.2.2 比色法测定总黄酮含量。采用 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色体系吸光度法测定总黄酮含量^[17],以芦丁为标样制作标准曲线。取不同浓度梯度的芦丁标准液置于10 ml 容量瓶中,加入5% NaNO₂ 溶液0.3 ml,摇匀后静置6 min,加10% Al(NO₃)₃ 溶液0.3 ml,摇匀,静置6 min,再加入4% NaOH 溶液4 ml,用60%乙醇定容至刻度,摇匀,15 min后。用1 cm 比色皿,于510 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,芦丁浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y = 13.15x - 0.004, R^2 = 0.9991$ 。

1.2.3 核桃花粉黄酮提取的单因素试验。准确称取脱脂破壁核桃雄花粉样品5 g,加入一定量的乙醇溶剂,在不同浓度、温度、时间、料液比的条件下回流提取,将所得提取液稀释一定倍数后,采用 NaNO₂-Al(NO₃)₃-NaOH 显色体系吸光度法于波长510 nm 处测定其吸光度值A,根据回归方程计

作者简介 王丹(1988-),女,辽宁营口人,硕士研究生,研究方向:林产资源的开发利用,E-mail: plum-zhai@163.com。* 通讯作者,教授,博士,从事植物资源开发利用等的教学与研究。

收稿日期 2013-04-06

算出黄酮含量。

$$\text{核桃花粉黄酮含量得率} = \frac{\text{提取液中黄酮含量}}{\text{提取用花粉质量}} \times 100\%$$

1.2.4 响应面分析法优化工艺条件。根据单因素试验结果,采用 design expert 8.0.5b 对试验数据进行响应面分析,优化核桃花粉黄酮的提取工艺。

2 结果与分析

2.1 乙醇提取黄酮类物质的单因素试验

2.1.1 乙醇浓度对提取效果的影响。称取 5 g 干燥的核桃花粉,在液料比 10:1 ml/g、提取时间 120 min、提取 1 次的条件下,考察乙醇浓度对核桃花粉黄酮提取率的影响。由图 1 可见,随着乙醇浓度的增加,黄酮得率也随之增大,当浓度达到 65% 时,核桃花粉黄酮类物质的得率最高,达到了 2.82%。之后随着乙醇浓度增高,提取率逐渐下降。由于生物黄酮类化合物具有黄酮苷元和糖苷 2 种形式,黄酮苷元成分不易溶于水,而糖苷又易溶于水,因此溶液中乙醇和水体积分数的改变直接影响了黄酮类物质的溶出,导致提取率的差异性变化。另一方面,提取液中乙醇浓度的变化也导致极性的改变,乙醇含量越高,溶剂极性越低,黄酮为弱极性分子,根据相似相溶原理,溶液极性与黄酮极性相近更有利于醇溶性和水溶性的黄酮类物质最大程度地析出,使得率达到最高^[18]。

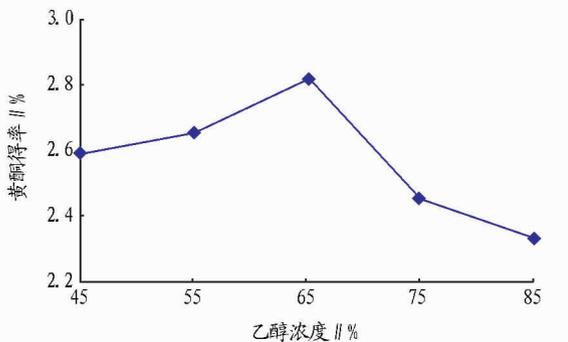


图 1 乙醇浓度对黄酮提取率的影响

2.1.2 提取时间对提取效果的影响。称取 5 g 干燥的核桃花粉,在乙醇溶液体积分数 65%、液料比 10:1 ml/g、温度 60 °C、提取 1 次的条件下,考察提取时间对核桃花粉黄酮得率的影响。由图 2 可见,在 90 min 内,黄酮得率随提取时间的延长而增加;当时间超过 90 min 时,时间延长得率增加不明显,并有降低的趋势。这可能是因为长时间回流易于导致乙醇溶液的挥发,使浓度降低,从而影响提取效果。所以提取时间应控制在 90 min 左右比较理想。

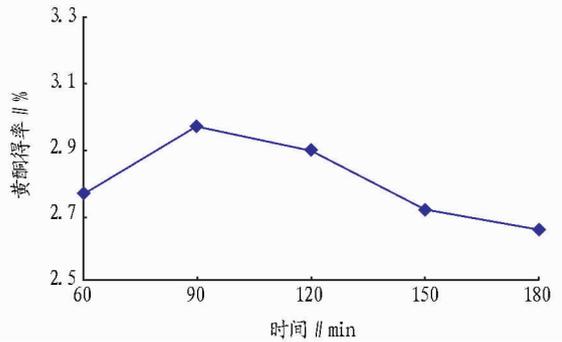


图 2 提取时间对黄酮提取率的影响

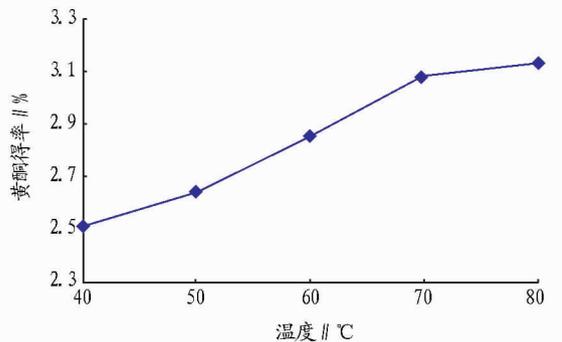


图 3 提取温度对黄酮提取率的影响

°C,提取 1 次的条件下,考察液料比对核桃花粉黄酮得率的影响。由图 4 可见,随着液料比的增大,核桃花粉的得率也逐渐增大,在液料比为 10:1 ~ 20:1 ml/g 时,黄酮的得率增大的较快,当液料比大于 20:1 ml/g 时,增长延缓,并在 25:1 ml/g 后呈现出平缓趋势。这是由于在一定范围内增加液料比可以增加核桃花粉与乙醇溶剂的接触面积,使提取更加充分完全。当液料比达到一定程度时,继续增大液料比,提取得率的增幅不太明显。综合试验结果和试剂费用的考虑,选定提取的液料比为 25:1 ml/g 较为合理。

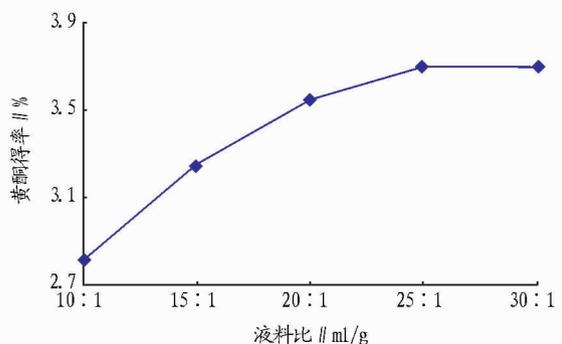


图 4 液料比对黄酮提取率的影响

2.1.3 提取温度对提取效果的影响。称取 5 g 干燥的核桃花粉,在乙醇溶液体积分数 65%、液料比 10:1 ml/g、提取时间 2 h、提取 1 次的条件下,考察提取温度对核桃花粉黄酮得率的影响。由图 3 可见,在低于 80 °C 的范围内随着温度的逐渐升高黄酮得率随之升高,说明较高的温度对黄酮类化合物的溶出是有利的。乙醇沸点是 78.4 °C,当超过 80 °C 后,溶剂挥发严重,故实际操作选取低于 80 °C。

2.1.4 液料比对提取效果的影响。称取 5 g 干燥的核桃花粉,在乙醇溶液体积分数 65%、提取时间为 120 min、温度 60

2.2 响应面分析法优化提取工艺

2.2.1 响应的试验设计及结果。根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,综合单因素试验结果,选取乙醇浓度、提取温度、液料比、提取时间 4 个因素为考察对象,核桃花粉黄酮得率为响应值,在回流提取的基础上采用 4 因素 3 水平的响应面分析方法进行试验,因素与水平见表 1。

表 2 为响应面法试验回流提取核桃花粉黄酮工艺的结

表1 响应面试验的因素和水平编码值

水平	因素			
	乙醇浓度(A)	液料比(B)	时间(C)	温度(D)
	%	ml/g	min	℃
-1	55	20:1	60	60
0	65	25:1	90	70
1	75	30:1	120	80

果,采用 Design Expert 软件对试验设计中的结果进行回归分析,得到黄酮提取率与所选 4 因素的二次多项回归方程为: $Y = 4.10 - 0.069A + 0.11B + 0.090C + 0.18D - 9.005 \times 10^{-3}AB + 0.022AC + 0.041AD - 0.011BC + 0.070BD + 0.059CD - 0.55A^2 - 0.083B^2 - 0.18C^2 - 0.11D^2$ 。

表2 响应面分析试验设计及结果

试验号	因素				黄酮得率
	A	B	C	D	%
1	1	1	0	0	3.679 28
2	0	-1	0	1	3.924 07
3	0	0	0	0	4.121 32
4	0	-1	0	-1	3.704 32
5	1	0	0	-1	3.158 43
6	-1	0	0	-1	3.387 26
7	0	1	0	1	4.267 32
8	0	1	-1	0	3.898 51
9	1	-1	0	0	3.310 03
10	-1	-1	0	0	3.425 54
11	1	0	0	1	3.571 23
12	-1	0	0	1	3.637 03
13	0	0	1	1	4.196 74
14	-1	0	-1	0	3.380 13
15	1	0	1	0	3.424 05
16	0	-1	1	0	3.782 06
17	0	0	0	0	4.071 53
18	0	1	0	-1	3.767 22
19	0	0	-1	-1	3.583 45
20	0	0	0	0	4.102 41
21	1	1	0	0	3.527 75
22	0	0	0	0	4.093 15
23	-1	0	1	0	3.516 66
24	0	0	1	-1	3.699 84
25	0	-1	-1	0	3.634 42
26	0	1	1	0	4.003 04
27	0	0	0	0	4.125 18
28	0	0	-1	1	3.843 02
29	1	0	-1	0	3.201 03

2.2.2 响应面回归方程的分析。模型的方差分析结果见表 3。模型的 F 值为 219.80 ($P < 0.000 1$),说明所选模型极为显著,在不同提取条件下,核桃花粉黄酮的提取率有显著差异。失拟项 $P = 0.235 8 > 0.05$,失拟项差异不显著,方程对试验拟合程度较好。对各因素进行的显著性检验看出,在该试验所选各因素水平范围内:各因素对模型的影响顺序为 $D > B > C > A$,即温度 $>$ 液料比 $>$ 时间 $>$ 乙醇浓度;因素 A、B、C、D 对模型的影响极显著 ($P < 0.01$);各因素的交互项中 AD、BD、CD 对模型影响显著 ($P < 0.05$),这表明乙醇浓度和提取温度、液料比和提取温度、时间和提取温度之间的交互作用对核桃花粉黄酮的提取率有显著性影响,AB、AC、BC 对

模型影响不显著 ($P > 0.05$);二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 对模型影响极显著 ($P < 0.01$)。

$R^2 = 0.995 5$, $R_{Adj}^2 = 0.990 9$,说明该模型只有 0.91 的变异,而相关系数与校正系数接近,说明该模型的拟合度和可行度高,试验误差小,可以用于对回流提取核桃花粉黄酮化合物的结果进行分析和预测。

表3 回归方程模型的方差分析

变异来源	F 值	P 值	显著性
模型	219.80	<0.000 1	**
A	65.68	<0.000 1	**
B	175.60	<0.000 1	**
C	110.68	<0.000 1	**
D	432.63	<0.000 1	**
AB	0.37	0.553 8	
AC	2.12	0.167 2	
AD	7.54	0.015 8	*
BC	0.53	0.479 7	
BD	22.30	0.000 3	*
CD	15.98	0.001 3	*
A^2	2 192.98	<0.000 1	**
B^2	50.32	<0.000 1	**
C^2	232.59	<0.000 1	**
D^2	82.14	<0.000 1	**
失拟项	2.18	0.235 8	

注: * 差异显著 ($P < 0.05$); ** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.2.3 回归模型的优化。为了使回归模型方程进行简化,依次删除对模型影响非显著 ($P < 0.1$) 的交互项,模拟后的优化方程为: $Y = 4.10 - 0.069A + 0.11B + 0.090C + 0.18D + 0.041AD + 0.070BD + 0.059CD - 0.55A^2 - 0.083B^2 - 0.18C^2 - 0.11D^2$ 。

对优化后的回归模型进行方差分析(表 4),可以看出模型 $P < 0.000 1$,具有高度显著,失拟项 $P = 0.247 0 > 0.05$,方程模型失拟不显著,方程决定系数 $R^2 = 0.994 5$,校正后的决定系数 $R_{Adj}^2 = 0.990 9$,说明在试验所取各因素水平范围内,此模型对核桃花粉提取率的拟合度好。

表4 优化后回归方程模型的方差分析

变异来源	F 值	P 值	显著性
模型	279.18	<0.000 1	**
A	65.61	<0.000 1	**
B	175.42	<0.000 1	**
C	110.56	<0.000 1	**
D	432.18	<0.000 1	**
AD	7.53	0.013 8	*
BD	22.27	0.000 2	*
CD	15.96	0.000 9	*
A^2	2 190.72	<0.000 1	**
B^2	50.27	<0.000 1	**
C^2	232.35	<0.000 1	**
D^2	82.05	<0.000 1	**
失拟项	2.10	0.247 0	

注: * 差异显著 ($P < 0.05$); ** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.2.4 核桃花粉黄酮得率响应面分析与最优工艺条件的确定。在回归模型的基础上,选取对核桃花粉黄酮类物质提取得率影响显著的2个因素响应曲面图和等高线图(图5~7)进行分析(其他2个因素固定在零水平)。由图5可以看出,黄酮得率随乙醇浓度和温度变化的响应面趋势呈抛物线型,因此有极大值。由图6可以看出,沿温度方向较沿液料比方

向的曲面陡、等高线密集,说明提取温度对核桃花粉黄酮得率的影响较液料比显著。由图7可以看出,在较低提取时间和温度时曲面较陡、等高线密集,说明两者都在较低水平范围内对核桃花粉黄酮的提取率影响显著;沿温度方向与沿时间方向的等高线密度相似,说明两者对核桃花粉黄酮的提取率影响相当。

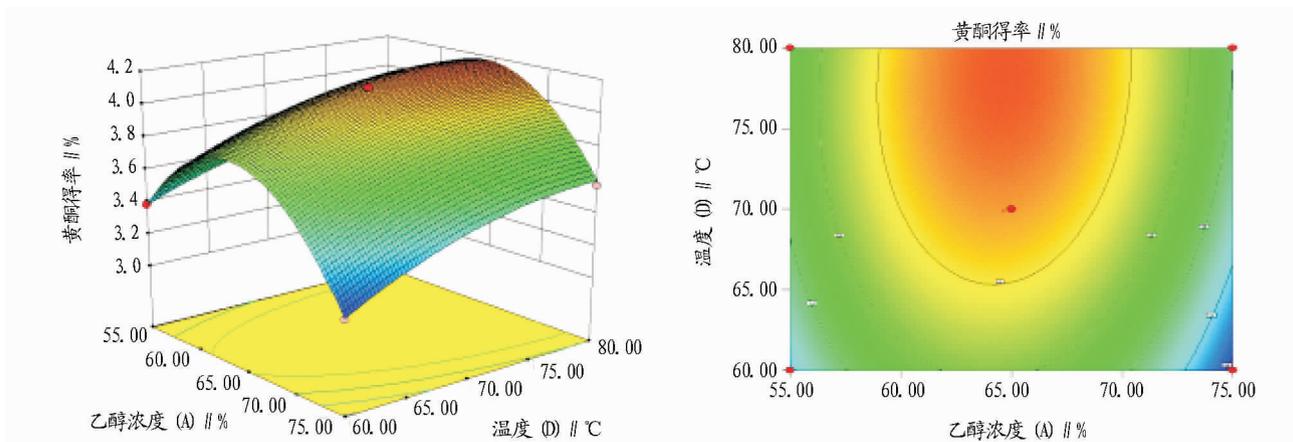


图5 乙醇浓度和温度交互影响核桃花粉黄酮得率的响应面及等高线(B=0,C=0)

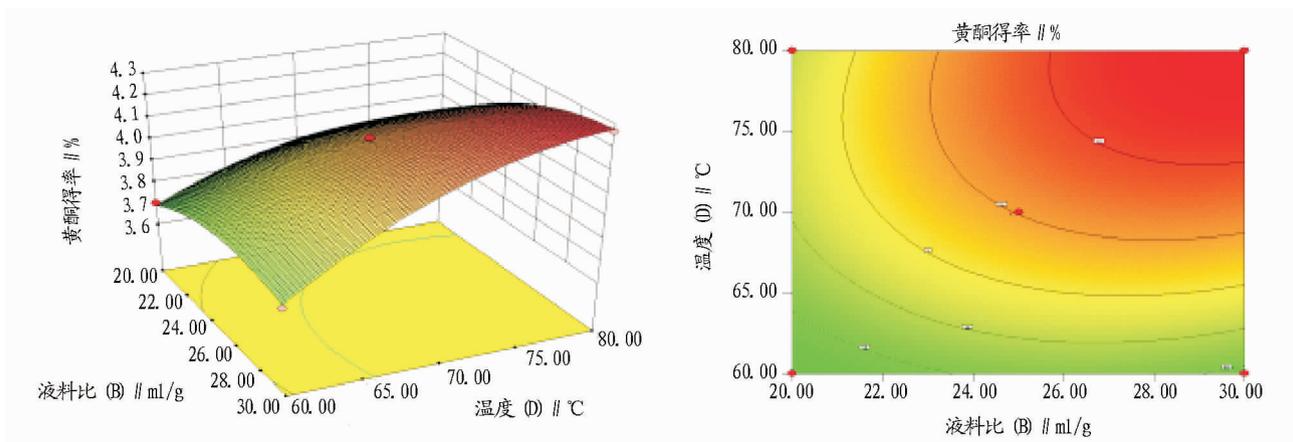


图6 液料比和温度交互影响核桃花粉黄酮得率的响应面及等高线(A=0,C=0)

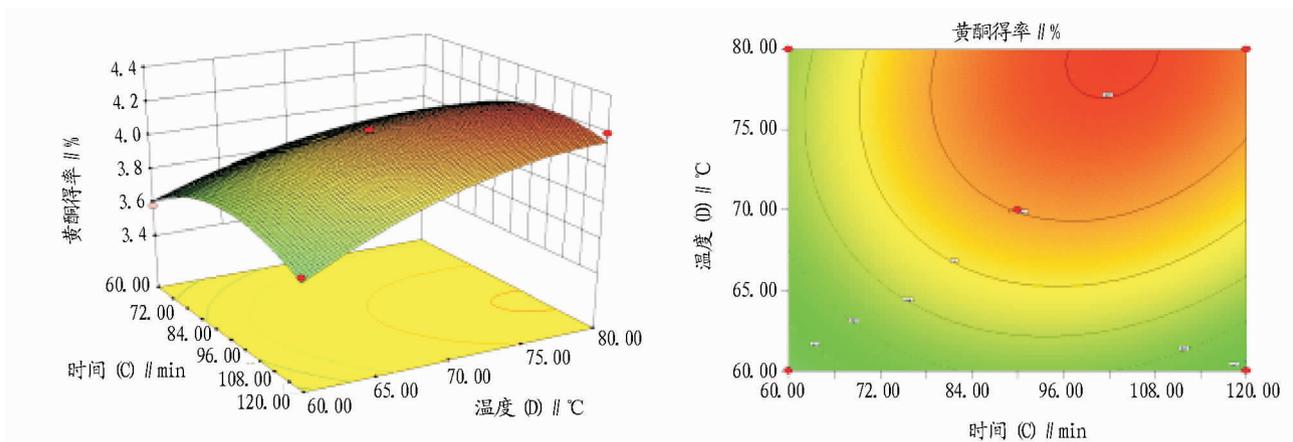


图7 提取时间和温度交互影响核桃花粉黄酮得率的响应面及等高线(A=0,B=0)

利用 design expert 8.0.5b 软件对回归模型进行分析,在试验所取得因素水平下,优化出其最佳提取工艺为:乙醇浓度 64.73%,提取温度 80℃,液料比为 30:1 ml/g,提取时间

为 101.67 min,该工艺条件可使总黄酮得率达 4.304%。

根据最佳工艺条件,参考试验的可行性,分别取乙醇浓度 64.7%,提取温度 80℃,液料比 30:1 ml/g,提取时间 102

min, 做 3 组验证性试验, 结果得出 3 组试验的黄酮得率分别为 4.21%、4.18%、4.13%, 平均得率 4.17%。

由此可以看出, 在最佳工艺条件下, 核桃花粉黄酮的得率 4.17% 与预测值 4.304% 接近, 因此进一步验证了试验结果。

3 结论

在单因素试验的基础上, 采用中心组合设计及响应面分析, 建立了乙醇浓度、液料比、提取温度、提取时间对回流提取核桃花粉黄酮影响的二次多项式回归模型, 并对回归模型进行简化。对回归模型分析后得出: 各因素对核桃花粉提取率影响的主次顺序为 $D > B > C > A$, 即温度 > 液料比 > 时间 > 乙醇浓度; 验证后的最佳工艺参数为乙醇浓度 64.7%, 提取温度 80℃, 液料比为 30:1 ml/g, 提取时间为 102 min, 该工艺条件可使总黄酮得率达 4.17%, 与理论预测值基本相符。说明响应面法对黄酮提取率的优化具有实际应用价值, 为工业化利用丰富的核桃花粉资源, 提取总黄酮提供了生产依据。

参考文献

- [1] 郝荣庭. 发挥优势, 扭转劣势, 加快核桃产业化步伐[C]//第二届中国核桃大会暨首届商洛核桃节论文集. 杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2009: 7-10.
- [2] 叶正达. 核桃雄花的利用[J]. 云南林业, 2005, 26(3): 21.
- [3] 支崇远, 王开发, 潘建国. 黄刺莓和金钟花粉营养成分的研究[J]. 同济大学学报, 2002, 30(1): 46-48.
- [4] 董捷, 张江城, 秦健, 等. 十种蜂花粉醇提取物中总多酚和总黄酮含量测定[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 246-249.
- [5] 阮正, 胡筱波, 赖富饶, 等. 油菜花粉中黄酮类物质提取工艺的优化研究[J]. 食品科学, 2011, 28(7): 133-137.
- [6] 王振忠, 武文杰. 野菊花总黄酮提取工艺的响应面设计优化[J]. 时珍

国医国药, 2007, 18(3): 648-650.

- [7] BONVEH J S, TORRENT M S. Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain[J]. Agric Food Chemistry, 2001, 49(4): 1848-1853.
- [8] SILVA T M S, CAMARA C A, FREITAS B M, et al. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee melipona subnitida ducke[J]. Food Composition and Analysis, 2006, 19: 507-511.
- [9] LEJA M, MARECZEK A, WYZGOLIK G, et al. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species[J]. Food Chemistry, 2007, 100(1): 237-240.
- [10] ALMARAZ-ABARCA N, CAMPOS M G, CORRAL J H, et al. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (Prosopis juliflora, Leguminosae) [J]. Food Composition and Analysis, 2007, 20(2): 119-124.
- [11] 厉真. 蜂花粉抗氧化性的研究[D]. 西安: 西北大学, 2005.
- [12] 张德权, 台建祥, 付勤. 生物类黄酮的研究及应用概况[J]. 食品与发酵工业, 1999, 25(6): 52-57.
- [13] NIJVELDT R J, ELSVAN N, BOELENS P G, et al. Flavonoids: a review of probable mechanism of action and potential applications [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2001, 34(3): 248-251.
- [14] COOK N C, SAMMAN S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 1996, 7(2): 66-76.
- [15] CHEN Y T, ZHENG R L, JIA Z J, et al. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1990, 9(1): 19-21.
- [16] 王开发, 张盛隆, 支崇远, 等. 花粉化妆品的应用和前景[J]. 香料香精化妆品, 2002, 6(3): 42-49.
- [17] 魏永生, 郑敏燕, 王永宁, 等. 青海油菜蜂花粉黄酮类化合物含量的研究[J]. 西北植物学报, 2004, 24(2): 301-305.
- [18] 徐任生, 叶阳, 赵维民. 天然产物化学[M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2004: 156-157.

(上接第 5469 页)

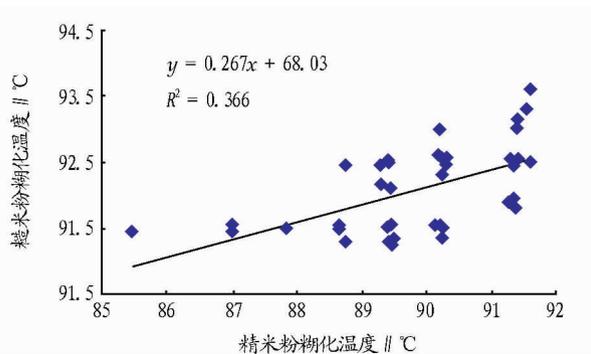


图 10 精米粉和糙米粉糊化温度的关系

0.455、0.639, 糙米粉糊化温度大于精米粉, 两者之间的决定系数为 0.366。这几项指标的决定系数较高, 说明了用糙米粉代替精米粉测定稻米粘度具有一定的参考价值, 对于水稻育种的早代材料进行粘度测定直接选择具有较好的参考作用。

试验中的糙米粉峰值粘度低于精米粉峰值粘度, 也说明了糙米粉的果皮和种皮粘度很小。在 RVA 谱特征值中, 崩解值、消减值和回复值是评价稻米食味品质的 3 个主要特征值^[13]。试验中糙米粉 3 个特征值都小于精米粉。根据前人的相关研究表明, 优良品种的崩解值一般大于 100 RVU, 该试验中糙米粉的崩解值绝大部分低于 100 RVU, 因此若遇到糙米粉崩解值低于 100 RVU 时, 为了试验的准确性, 还是需要进一步测量精米粉的淀粉粘滞性。

以上结论说明, 糙米粉与精米粉的特征值有一定差异, 但总体趋势的规律性是基本稳定的。不同类型品种在 2 种测定方法之间的关系如何, 还有待进一步研究。但可以通过糙米粉的粘滞性作参考, 作为育种中早代选择的依据, 对育种实践具有重要的参考价值。

参考文献

- [1] 闵捷. 中国近 25 年来育成杂交水稻组合的米质分析[J]. 中国水稻科学, 2011, 25(2): 205-201.
- [2] 中华人民共和国农业部. NY/T 593-2002. 食用稻品种品质[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.
- [3] 胡培松, 翟虎渠, 绍唐清, 等. 利用 RVA 快速鉴定稻米蒸煮及食味品质的研究[J]. 作物学报, 2004, 30(6): 519-524.
- [4] 吴殿星, 夏英武, 舒庆尧. 爪哇稻 Lemont 的特征特性及其用配组改良早籼稻品质[J]. 浙江农业学报, 2000, 12(2): 66-69.
- [5] 吴殿星, 舒庆尧, 夏英武. 胚乳外观标记与 RVA 谱理化指标相结合辅助改良早籼稻食用品质[J]. 中国水稻科学, 2002, 16(1): 80-82.
- [6] 吴殿星, 段智英, 舒庆尧, 等. 水稻亚品种间淀粉粘滞特性杂交转移的初步研究[J]. 中国水稻科学, 2003, 17(4): 319-322.
- [7] 包劲松, 舒庆尧, 吴殿星, 等. 用糙米粉代替精米粉测定淀粉粘滞性的效果研究[J]. 中国水稻科学, 2001, 15(2): 145-146.
- [8] 石英尧, 陈多璞, 张志转, 等. 糙米粉代替精米粉测定直链淀粉含量研究初报[J]. 中国农学通报, 2006, 22(8): 148-150.
- [9] 张蓉. 稻米 RVA 谱特征值的遗传及其与品质和产量的相关性研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2003: 21.
- [10] 舒庆尧, 吴殿星, 夏英武, 等. 稻米淀粉 RVA 谱特征与食用品质的关系[J]. 中国农业科学, 1998, 31(3): 1-4.
- [11] 包劲松. 应用 RVA 测定米粉淀粉糊化温度[J]. 中国水稻科学, 2007, 21(5): 543-546.
- [12] 中华人民共和国农业部. NY147-88 稻米品质评价方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1988: 4-6.
- [13] 吴洪恺, 刘世家, 江玲, 等. 稻米蛋白质组分及总蛋白质含量与淀粉 RVA 谱特征值的关系[J]. 中国水稻科学, 2009, 23(4): 421-426.