

利用酶法与微生物发酵法 制备天然烟用香料

甄达文¹, 于铁妹¹, 朱珊珊¹, 王永华^{1,*}, 杨 博²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640;

2. 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510006)

摘 要:利用酶制剂和微生物处理烟叶碎片废弃物制备天然烟用香料。以纤维素酶、液化酶及糖化酶处理烟叶碎片制备烟用香料, 以非酶处理制备的烟用香料为对照, 加香评吸表明, 酶处理烟用香料在香气和口感上比对照有明显的提高。经酶处理以后, 利用混合微生物对其进行发酵, 发现以生香酵母 + 德氏乳酸菌、生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉两个组合的总体评分最高, 增香效果明显。对发酵物挥发性成分进行了气相色谱-质谱法(GC-MS)分析, 结果表明, 经发酵后醇类、烯烃类、有机酸类、酮类、酯类、杂环类物质的含量和种类与发酵原料相比都有明显的增加。

关键词:烟用香料, 酶制剂, 微生物发酵, 感官评价, 气相色谱-质谱法(GC-MS)

Preparation of natural tobacco flavor by enzyme and microorganism

ZHEN Da-wen¹, YU Tie-mei¹, ZHU Shan-shan¹, WANG Yong-hua^{1,*}, YANG Bo²

(1. College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

2. College of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Enzyme and microorganism were used to process the natural tobacco leaf and to prepare the natural tobacco flavor, which were evaluated by smoking. Compared to raw tobacco leaf, the natural tobacco flavors, processed by cellulose, α -amylase, β -amylase, were better in taste and aroma. After hydrolyzed by the enzymes above, the tobacco leaf was fermented by different combination of microorganism which contained aroma-producing yeast, *Lactobacillus debrueckii*, *Rhizopus*. The groups, aroma-producing yeast + *Lactobacillus debrueckii* and aroma-producing yeast + *Lactobacillus debrueckii* + *Rhizopus*, had the most significant improvement in aroma, taste and smoke, analyzed by GC-MS and the results showed that the content of organic acids, ketones, esters, heterocyclic increased significantly compared to raw material.

Key words: tobacco flavor; enzyme; microorganism fermentation; sensory evaluation; GC-MS

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2009)12-0268-05

我国是一个烟草资源十分丰富的国家, 其中烟草植物的种植面积和产量均居世界首位。我国卷烟工业多取优质烟叶为原料, 其中将近 25% 的烟叶、烟末等下脚料会被废弃^[1]。如果这些下脚料被弃置或处理不当, 将会对环境造成严重的污染。对这些烟草废弃物的再利用, 不仅可以从中获得有用的产品, 为企业带来新的经济效益, 也可以减轻由它带来的各种环境污染。近年来, 我国研究人员在利用酶制剂改善烟叶品质方面进行了一些研究。其中, 张立昌^[2]利用从酵母菌 *B₁₃* 中分离纯化的酶制剂处理打叶复烤后的烟叶烟丝。评吸结果显示, 经酶制剂处理后的烟丝可明显改善卷烟香气, 减轻杂气和刺激性, 提高低次烟叶的等级。马林^[3]将酶解和微生物发酵

技术综合用于改善低次烤烟品质。评吸结果表明, 处理后的烟叶香气增加, 刺激性显著降低, 余味干净, 杂气轻微。利用酶制剂和微生物发酵制备烟用香料, 具有能明显改善卷烟香气, 使烟气醇和饱满, 并可以减少卷烟杂气和刺激性的特点。本实验利用酶制剂和微生物处理烟叶碎片废弃物制备烟用香料, 然后对制得的烟用香料进行感官评价, 并利用 GC-MS 对其进行挥发性成分分析, 为进一步研究烟用香料提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

烟叶碎片 云南楚雄卷烟厂提供; 纤维素酶、液化酶、糖化酶 均由无锡酶制剂厂提供; 生香酵母 山东轻工业学院提供; 生香酵母、德氏乳杆菌、根霉 华南理工大学实验室保藏; 氢氧化钠、盐酸、二氯甲烷等试剂 均为分析纯。

pH 计 上海雷磁仪器厂; 恒温水浴摇床 太仓

收稿日期: 2009-03-06 * 通讯联系人

作者简介: 甄达文(1986-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学与生物技术。

仪器设备厂;高压蒸汽灭菌锅 江阴滨江医疗设备厂;气浴控温摇床 哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;同时蒸馏萃取装置(SDE) 天长市优信电器设备有限公司;HP7890A/5975C 气相色谱质谱联用仪 美国 Waters 公司。

1.2 酶解物的制备

用粉碎机将烟草碎片粉碎成粉末,称取烟末 30.0g 至 500mL 三角瓶中,按烟末与水 1:5 的比例加水,在 100℃ 下灭菌 30min,调节 pH 为 5.5,加入烟末重量 1% 的纤维素酶及液化酶,在 70℃,150r/min 的恒温水浴摇床中反应 2h,再调 pH 为 5.5,加入烟末重量 1% 的糖化酶,在 50℃,150r/min 的恒温水浴摇床中反应,1.5h 后终止反应。

1.3 培养基的制备

麦芽汁培养基:130g 麦芽汁培养基、1000mL 水,121℃ 灭菌 15min;MRS 培养基:蛋白胨 10g、牛肉膏 10g、酵母膏 5g、柠檬酸三铵 2g、葡萄糖 20g、Tween 80 1mL、乙酸钠 5g、磷酸氢二钾 2g、硫酸镁 0.58g、硫酸锰 0.25g、蒸馏水 1L,pH6.2~6.6,于 121℃ 灭菌 15min;根霉种子培养基:葡萄糖 20g、硫酸二铵 4g、磷酸二氢钾 0.3g、七水合硫酸锌 0.05g、硫酸镁 0.3g、硫酸亚铁 0.018g、蒸馏水 1L,pH 自然。

1.4 种子液的制备

生香酵母:菌种经充分活化后接入至麦芽汁培养基中,30℃ 恒温生化培养箱中培养 12h;德氏乳酸菌:菌种经充分活化后接入至 MRS 培养基中,30℃ 恒温生化培养箱中培养 12h;根霉:PDA 平板培养至长出孢子→用接种铲刮取长有孢子的菌丝至装有无菌水的三角瓶中→加入无菌玻璃珠振荡→用塞棉花的无菌漏斗过滤→收集滤液→调整孢子液浓度至 10^6 个/mL。然后,按 50mL/250mL 三角瓶装液量,接入孢子液 0.5mL,34℃、160r/min 振荡培养 18h。

1.5 酶解物的发酵

采用的组合:a.不接种 b.生香酵母 c.根霉 d.德氏乳酸菌 e.德氏乳酸菌 + 生香酵母 f.根霉 + 德氏乳酸菌 + 生香酵母,按一定接种量接入至 1.2 制备的酶解物中,在 30℃,120r/min 恒温摇床中培养 36h,即得发酵物。接种量为:德氏乳酸菌接种量 5%、根霉接种量 1%、生香酵母接种量 2%。

1.6 烟草香料的制备

用 120mL 蒸馏水把发酵物全部放入圆底烧瓶中,加入沸石保持微沸,回流 1.5h,4000r/min 离心取上清液减压浓缩至膏状,待评吸。

1.7 烟草香料的评吸

按烟丝重量的 0.2% 称取烟末水提膏,加水溶解,喷加到烟丝上,在 80℃ 下烘干,控制烟丝含水率为 12% 左右打成烟支,放入恒温恒湿箱(温度:25℃,相对湿度:60%)平衡水分 48h,评吸。

1.8 烟草香料中挥发性成分的分析

1.8.1 挥发性成分萃取 选取评吸效果比较好的根霉 + 生香酵母 + 德氏乳酸菌、生香酵母 + 德氏乳酸菌、根霉组合制备烟用香料,利用二氯甲烷对其挥发性成分进行同时蒸馏萃取。同时蒸馏萃取过程为:

称取发酵物 100mL,放入 500mL 圆底烧瓶中,加入 150mL 蒸馏水,并加入少量沸石,置于同时蒸馏萃取仪的一端,用可控电压的电热套进行加热;同时蒸馏萃取装置的另一端为盛有 50mL 二氯甲烷的 250mL 圆底烧瓶,用恒温水浴加热,水浴温度 45℃。采用同时蒸馏萃取法提取 3h。萃取液在 40℃ 水浴中浓缩至 1mL 左右,用无水硫酸钠干燥,进行 GC-MS 分析。

1.8.2 GC-MS 分析方法 分析条件:色谱柱为 Agilent 19091N-136 HP-INNOWAX,60m × 2.5mm × 0.25μm 毛细管柱。1mL/min 恒流模式,分流比 50:1,进样量 1μL。柱温程序:60℃ 保持 2min,以 2℃/min 的升温速度升至 180℃,再以 10℃/min 升至 220℃,保持 40min。进样口温度为 24℃。

质谱条件:电子轰击源;电离源:70eV;离子源温度 240℃;质量扫描范围 100~450amu,监测方式:SCAN。

将得到的分析谱图与 NIST、WILEY 谱库串联并结合有关文献人工检索确定其化学组成,并通过内标正丁醇峰面积与香料中各组成成分峰面积的比值,确定各组成成分含量并计算其浓度,以不发酵烟末为对照。

2 结果与分析

2.1 烟草香料评吸结果

将以下七个组合:原料香烟碎片、酶处理、生香酵母、根霉、德氏乳酸菌、德氏乳酸菌 + 生香酵母,德氏乳酸菌 + 生香酵母 + 根霉按 1.6 的方法制备烟用香料,然后按 1.7 的方法进行评吸,评吸结果如表 1 所示。

由表 1 可以看出,以没经酶处理制备的烟用香料为对照样,经酶处理制备的烟用香料评吸结果比没经酶处理的无论在香气或者口感方面都有一定的提高,说明纤维素酶、淀粉酶降解烟叶碎片中的纤维素、淀粉等大分子物质,对烟末总体质量有一定的提高;经酶处理而不接种菌种所制备烟用香料的评分都在 3~3.5 分,经酶处理且按不同组合微生物发酵制备烟用香料的评分大部分都在 4~4.5 分,而且烟气状态都是绵长顺畅,这说明所制备出烟用香料的评吸效果很好,卷烟的增香效果明显;其中生香酵母主要对卷烟香气有较大的提高,根霉、德氏乳酸菌主要对卷烟烟气、口感方面有较大的提高,其中德氏乳酸菌处理整体效果更好;在多种微生物组合中,德氏乳酸菌 + 生香酵母组合效果比生香酵母 + 根霉 + 德氏乳酸菌组合更好一些,尤其在香气和口感方面。在所有的发酵样品当中,德氏乳酸菌 + 生香酵母组合感官评吸效果最佳。

2.2 发酵物挥发性成分 GS-MS 分析

按 1.8 所示的方法对评吸效果较好的生香酵母 + 德氏乳酸菌,生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉,根霉的发酵物进行挥发性成分萃取及分析,以不发酵烟叶碎片为对照,鉴定结果如表 2 所示。

从表 2 可以看出,对照样品中确定的特征致香成分有 27 种,其中酮类 7 种、醇类 3 种、醛类 2 种、有机酸类 5 种、酯类 4 种、烯炔类 1 种、烷烃 1 种、酚类

表1 烟草香料的评吸结果

项目		原料香烟碎片 (对照)	酶处理	生香酵母	根霉	德氏乳酸菌	德氏乳酸菌 + 生香酵母	德氏乳酸菌 + 生香酵母 + 根霉
香气 特性	谐调性	较协调	较协调	协调	协调	协调	协调	协调
	丰富性	不明显	不明显	变好	变好	不明显	变好	变好
	香气质	3	3.5	4.5	4	4	4.5	4
	香气量	3	3	4.5	4	3.5	4.5	4
	杂气	3	3.5	3.5	4	4.5	4.5	4
	透发性	3	3.5	4	4	3.5	4.5	3.5
烟气 特性	劲头	3	3	3.5	3	3	3.5	3
	浓度	3	3	4	4	3.5	4	4
	细腻度	3	3.5	4	4	4.5	4.5	4
	柔和度	3	3.5	4	4.5	4.5	4	4
	刺激类型	尖刺	尖刺	尖刺	尖刺	尖刺	尖刺	尖刺
	刺激部位	喉部	喉部	喉部	喉部	喉部	喉部	喉部
口感 特性	刺激程度	3	3.5	3.5	4	4.5	4	4
	刺激时间	3	3	4	4	4.5	4	3.5
	干燥部位	口腔	口腔	口腔	口腔	口腔	口腔	口腔
	干燥程度	3	3	4	4	4.5	4.5	4
	回甜	3	3	4	4.5	4	4	4
	余味	3	3	4	4	4.5	4.5	4
文字 描述	烟气状态	烟气较短	烟气顺畅	烟气绵长顺畅	烟气绵长顺畅	烟气绵长顺畅	烟气绵长顺畅	烟气绵长顺畅
	余味状态	口腔有辛辣感						

表2 发酵物中挥发性成分定性定量结果(μg/g)

编号	化合物名称	对照	生香酵母 + 德氏乳酸菌	生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉	根霉
1	呋喃糠醛	3.60			
2	糠醛		2.38	2.56	
3	1,7,7-三甲基,三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷	14.41		23.08	
4	4-羟基-2-甲基-11次甲基-2,4-乙醇金刚烷		3.96		
5	大马酮	1.80	4.76	6.21	8.63
6	6,10-二甲基-5,9-二碳十一二烯-2-酮	3.60	4.76	4.95	6.17
7	巨豆三烯酮	15.31	47.62	25.27	24.69
8	3-甲基-2-丁酮		1.58		
9	3-羟基丁酮		3.17		
10	6,10,14-三甲基十五烷酮		4.76	1.46	6.17
11	5,6,7,7A-四氢-4,4,7a-三甲基-2(4H)-苯呋喃酮		3.96	0.73	
12	6,10,14-三甲基-5,9,13-十五碳三烯-2-酮		8.73	2.93	13.58
13	5-乙酰基-4-甲基-苯并咪唑酮				9.87
14	茄酮	5.40	18.25	5.61	17.28
15	苯乙醇	3.60			50.62
16	乙醇				10.37
17	1-丙醇		3.96	3.66	
18	2-甲基-1-丙醇		32.54	27.47	18.51
19	3-甲基丁醇		24.6	28.57	40.74
20	苯甲醇		9.52	6.22	7.407
21	新植二烯	78.38	234.90	127.10	102.72
22	萜品烯		23.02		
23	3-甲基戊酸		0.52		
24	1,7-二甲基-4-双甲基甲烯		4.76		
25	菖蒲二烯			2.93	
26	8,9-脱氢新异异长叶烯			1.46	
27	环萜烯				27.16
28	1,2二氯乙烯			0.36	
29	15-甲基金刚烷酮-15-1,3,5,7,9,11,13-庚烯				2.46
30	乙酸			4.39	

续表

编号	化合物名称	对照	生香酵母 + 德氏乳酸菌	生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉	根霉
31	2-甲基丙酸			2.19	
32	癸酸	29.73	5.56		14.81
33	十二烷酸	1.802			28.39
34	十四烷酸	16.22	2.38		80.24
35	十六烷酸	6.30	7.14		90.12
36	乙酸甲酯			0.73	
37	乙酸乙酯		3.17	31.50	41.97
38	癸酸乙酯			10.25	
39	十四酸乙酯			0.73	
40	十六酸甲酯		3.75		6.38
41	十六酸乙酯		1.58		17.28
42	油酸乙酯		2.38		
43	亚油酸乙酯		4.76		7.82
44	十八酸乙酯			3.29	
45	2-(4-苯甲氧基)噻吩			2.93	
46	3-(1-甲基-2-吡咯烷基)-嘧啶	4.50		1.09	23.45
47	2,5-二叔丁基苯酚	2.70		1.83	
48	乳酸	3.67	187.32	162.48	5.56
49	芳樟醇		0.27	0.21	
50	乳酸乙酯	3.29	45.86	32.63	2.06
51	糠醇		1.78	1.32	
52	苯乙醇	1.67	6.82	4.89	
53	2-甲基-3(H)-呋喃酮	2.53	3.62	2.96	2.78
54	Beta-紫罗兰酮	0.18	0.29	0.22	0.33
55	7,8 环氧-alpha-紫罗兰酮		0.28	0.38	
56	二氢大马酮	2.70	13.56	5.81	1.09
57	二氢猕猴桃内酯		4.762	3.82	
58	庚酸乙酯		3.62	6.01	
59	壬酸乙酯		3.09	3.89	
60	乙酸壬酯	0.76	0.89	0.53	1.26
61	2-乙酰基吡嗪		0.67	0.56	0.78
62	2,5-二甲基吡嗪		1.03		
63	吡啶	0.56	0.97	1.13	2.29
64	2-乙酰基吡咯	2.05	4.07	3.94	5.91
65	氧化石竹烯				2.67
66	甲酸乙酯			3.98	
67	壬醛				7.54
68	辛酸乙酯	0.21	0.68		
69	月桂醛		0.11		
70	己酸		2.67	5.67	
71	香叶基丙酮			2.42	
72	庚酸		9.85	3.26	
73	己酸乙酯	1.68	3.82		
74	5-甲基糠醛	5.62	45.67	34.66	3.76
75	辛酸			1.29	
76	2-乙酰-1-甲基吡咯		0.89		
77	2,3,5-三甲基吡嗪		0.43	0.21	
78	香叶醇	0.32			
79	三甲基呋喃		4.762	1.22	
	检出总量	212.59	816.25	612.99	692.87

1 种。根霉样品中有 35 种,其中酮类 11 种、醇类 5 种、醛类 1 种、有机酸类 6 种、酯类 5 种、烯炔类 3 种。生香酵母 + 德氏乳酸菌样品中有 51 种,其中酮类 13 种、醇类 7 种、醛类 3 种、有机酸类 6 种、酯类 11 种、烯炔类 3 种、杂环类 7 种、烷烃 1 种。生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉样品中有 50 种,其中酮类 12 种、醇类 7 种、醛类 2 种、有机酸类 6 种、酯类 10 种、烯炔类

4 种、杂环类 7 种、烷烃 1 种、酚类 1 种。
发酵后烟草的特征致香成分如:茄酮、新植二烯、巨豆三烯酮、大马酮等都被保留了下来,而且在量上都有 1~3 倍的增加;经过不同微生物发酵,有机酸类、醇类、烯炔类、酮类、酯类、杂环类物质无论在种类还是在数量上都有不同程度的增加;根霉样品中以有机酸类、醇类、酮类物质增加为主,生香酵母

+ 德氏乳酸菌样品中以有机酸类、酮类、酯类、烯烃类、杂环类物质增加为主,生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉样品中以有机酸类、烯烃类、酯类物质增加为主。

有机酸可以减少卷烟杂气和刺激,提高细腻度和圆润感,改善余味。杂环类是烟草中重要的增香物质,可以有效提高卷烟的丰满度和透发性。新植二烯是烟草中最重要的潜香类物质,在卷烟燃烧时可以裂解成多种香气物质。酯类物质香气清灵、轻扬、飘逸,能有效地去除卷烟的浊气和杂气、改善内在物质;醇类物质能有效的减少卷烟中的刺激性气味,使吸味柔和;酮类物质能调和烟香,增加烟气的津甜感,改进吸味^[4]。

正是以上醇类、烯烃类、有机酸类、酮类、酯类、杂环类物质的增加,使微生物发酵后制备的烟草香料在评吸中香气、烟气、口感特性方面都比没经微生物发酵的要好,起到降低卷烟杂气、醇和烟气,提高舒适度,增加烟香丰满度的目的,尤其是生香酵母 + 德氏乳酸菌样品中的各种致香成分增加的最多。

3 结论

本研究利用纤维素酶、液化酶和糖化酶处理制

备的烟用香料,比原来没有经过酶处理制备的,在香气、口感方面都有一定的提高。以多种微生物组合发酵处理酶解烟叶制备的烟用香料,无论在香气、口感等方面都有显著的提高,以生香酵母 + 德氏乳酸、生香酵母 + 德氏乳酸菌 + 根霉两个组合的总体评吸效果最好,增香效果明显,并对其致香成分进行了分析。发现醇类、烯烃类、有机酸类、酮类、酯类、杂环类等物质含量及种类与对照相比,都有很大的提高和增加。本研究所制备的天然烟草香料在改善卷烟香气、烟气、口感特性等方面的效果显著。以酶制剂处理与微生物发酵处理烟叶废次物制备的天然烟叶香料具有很好的应用前景。

参考文献

- [1] 彭靖里,马敏象,吴绍情,等.论烟草废弃物的综合利用技术及其发展前景[J].中国资源综合利用,2001,12(8):18-20.
- [2] 张立昌.烟叶酶处理的作用效果[J].烟草科技,2001(4):7-9.
- [3] 马林.利用生物技术改变烟叶化学组分提高其吸食品质和安全性的研究[J].郑州工程学院学报,2001,22(3):40-42.
- [4] 杨虹,苏国岁.烟用香精的 GC-MS 指纹图谱[J].分析测试学报,2004(S1):278-279.

(上接第 267 页)

和 $P = 0.0003$),酶浓度对 SDF 得率的影响较显著 ($P = 0.0025$),而酶解 pH 对 SDF 得率的影响不显著 ($P > 0.1$),4 个因素的交叉项影响不显著 ($P > 0.1$)。表明 4 个影响因素单独变化均会使改性大豆纤维粉 SDF 得率发生明显变化。整个模型的相关系数 R^2 为 95.93%,说明回归模型对实验数据拟合程度高,因此可用此模型对实验进行分析预测。

酶浓度和酶解 pH 对改性大豆纤维粉 SDF 得率影响不显著,因此选为定值,对回归模型进行降维分析,得到酶解时间和酶解温度对改性大豆纤维粉 SDF 得率的响应曲面如图 5。由图 5 可知,回归模型呈一较平缓的抛物曲面,存在最大稳定点,由其稳定点处的估计值得到的酶法优化工艺条件为:纤维素酶浓度 1.57%、酶解时间 3.02h、酶解温度 50.35℃ 和酶解 pH5.13,此时 SDF 得率最高为 24.7%。

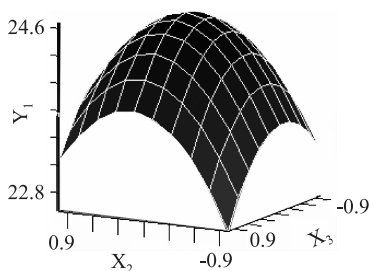


图 5 酶解时间和酶解温度

对改性大豆纤维粉 SDF 得率的响应曲面

2.3.3 改性大豆纤维粉基本成分的测定结果 按优化出的酶法改性工艺及参数制得的改性大豆纤维粉的基本成分测定结果见表 8。比较表 8 和带皮豆渣的基本成分可知,改性大豆纤维粉较带皮豆渣原料:蛋白质含量损失 1.7%,灰分含量增加 2.3%,总膳食

纤维含量增加 0.3%,SDF 含量增加 10.3%。说明纤维素酶对大豆纤维粉的改性作用显著。

表 8 改性大豆纤维粉的基本成分

成分	水分	蛋白质	粗脂肪	灰分	淀粉	总膳食纤维	可溶性膳食纤维
含量 (%)	8.3	14.9	6.4	5.7	4.0	61.2	15.1

3 结论

3.1 以带皮豆渣为原料,通过酸性湿热法脱腥、纤维素酶法改性处理,能有效去除豆渣的腥味和提高大豆纤维粉中的可溶性膳食纤维含量。

3.2 采用湿热法能有效去除豆渣的腥味,通过正交实验优化的豆渣脱腥工艺参数为:液料比 1:1,反应温度 60℃,反应时间 40min,pH5.0。

3.3 采用纤维素酶酶解脱腥豆渣制得的改性大豆纤维粉 SDF 得率为 24.7%。通过响应面分析法优化的酶法改性工艺参数为:酶浓度 1.57%,酶解时间 3.02h,酶解温度 50.35℃,酶解 pH5.13。

参考文献

- [1] Washington DC. Dietary reference intakes proposed definition of dietary fibre [M]. National Academy Press, 2001:1-64.
- [2] 涂宗财,李金林,等.利用豆渣生产高活性膳食纤维的研究[J].食品科学,2006(7):144-145.
- [3] Araceli Redondo - Cuenca, M José Villanueva - Suárez, Inmaculada Mateos - Aparicio. Soybean seeds and its by-product okara as sources of dietary fibre measurement by AOAC and Englyst methods[J]. Food Chemistry, 2008(3):1099-1105.
- [4] E Manas Bravo, F Saura - Calixto. Sources of error in dietary fibre analysis[J]. Food Chemistry, 1994(4):331-342.