

几种常见谷物淀粉分析方法的比较

顾 君 华

(中国农业科学院分析室)

淀粉的含量对粮食的食用品质及食品工艺的选择有直接的影响,同时它是评价其经济价值的重要指标之一。它不但是人类和动植物必须摄取的养分,而且是工农业生产必不可少的原料。

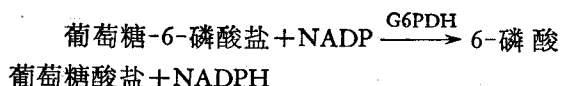
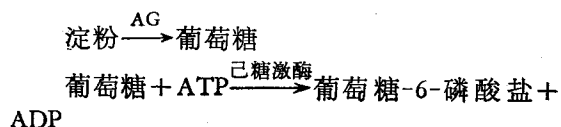
谷物淀粉分析方法很多,主要有旋光法、容量法、比色法及电化学法。各种方法测定原理和操作方法各异。即使同一种方法,用不同的酸解剂、分散介质或酶制剂,采用不同的酸解时间和温度,及不同的蛋白质沉淀剂,都会得出悬殊的分析结果。本文讨论了谷物淀粉分析中常见的方法及各自的特点并加以比较。根据比较结果来看,认为醋酸氯化钙为分散介质的旋光法用于测定谷物淀粉含量最为合适,与国际标准化组织(ISO)的分析结果一致。

几种常见谷物淀粉分析

一、方法

1. 酶解法 淀粉酶对淀粉的催化水解具备高度的专一性。AOAC(美国公职分析化学家协会)及我国卫生部把酶解法列为标准方法。使用时酶的浓度以 1:25, 1:50, 1:100 较为适合。

Jones^[1]认为,由于支链淀粉聚合物的碳链长度及其分支晶格常常发生变化,要求所选用的酶制剂必须足够应付被酶作用物的不均匀基团。本法测定原理如下;淀粉酶把淀粉水解成葡萄糖,在己糖激酶作用下,葡萄糖与 ATP 反应生成葡萄糖-6-磷酸盐,在氧化过程中被辅酶 II 还原成 NADPH。



由于测量 NADPH 的荧光,因此灵敏度很高,适合微量淀粉分析,反应专一,它不与半乳糖、阿拉伯糖、木酮糖、半乳酸、鼠李糖、甘露糖、核糖、麦芽糖、2-脱氧葡萄糖、蔗糖及糖胺类反应,Macrae 等^[2]比较测定叶组织淀粉的六种方法,也选用了酶解法。但是酶的催化活力及活力的稳定性受 pH 和温度的影响较大,粉状酶制剂在储存期间的活力虽然比液体酶制剂略好些,但也有所下降。25℃ 下储存半年约降低 8—10%^[3]。而且酶解法操作烦琐,反应慢,一定程度上限制了这个方法的应用。

2. 酸解法 常用的酸解剂有 1%、0.7N、1.124% 盐酸及 0.56N 高氯酸。

苏联在 1965 年颁布的谷物淀粉国家标准用 1.124% 盐酸。ICC(国际谷物化学协会)^[4]用 0.3N 盐酸,并介绍测马铃薯淀粉改用 0.1N 盐酸。

由表 1 可见 1% 盐酸与 1.124% 盐酸测定结果接近,重复性好,标准差小。0.7N 盐酸与 0.56N 高氯酸测定结果欠佳,不适合谷物淀粉分析。Zelenka^[5]用数理统计对一系列分析方法进行比较后指出,酸解法适应连续分析,重复性好,操作简单。但需严格控制酸解剂的浓度及水解时间、水解温度。

3. 蒽酮(Anthrone)比色法 蒽酮比色法主要用于测定植物组织中的淀粉及单糖、双糖、糊精等^[6,7]。本法依据糖与硫酸反应脱水生成羟甲基糠醛,再与蒽酮缩合成蓝色化合物,在 630nm 测量光密度,再换算成淀粉含量。本法测定值高于其它方法,分析结果亦难重复。

表 1 不同酸解剂的比较

项 目 样 品	酸解剂	淀粉含量 (%)	重复次数	标准差
可溶性 淀粉	1%盐酸	88.67	5	0.395
	1.124%盐酸	88.46	10	0.394
	0.7N 盐酸	79.05	10	3.074
	0.56N 高氯酸	60.77	6	1.417
	醋酸氯化钙	98.85	10	0.073
水 稻	1%盐酸	74.56	10	0.329
	1.124%盐酸	74.80	10	0.490
	0.7N 盐酸	65.59	10	1.262
	0.56N 高氯酸	69.44	5	1.025
	醋酸氯化钙	78.67	10	0.817
高 粱	1%盐酸	66.96	10	1.466
	1.124%盐酸	66.66	10	1.170
	0.7N 盐酸	59.31	10	2.744
	0.56N 高氯酸	55.95	6	1.666
	醋酸氯化钙	71.74	10	1.457
马 铃 薯	1%盐酸	68.14	10	0.464
	1.124%盐酸	68.34	10	0.341
	0.7N 盐酸	63.35	5	0.562
	0.56N 高氯酸	59.19	10	0.501
	醋酸氯化钙	74.62	10	0.610
红 薯	1%盐酸	71.89	10	0.523
	1.124%盐酸	71.85	10	0.955
	0.7N 盐酸	62.97	10	1.362
	0.56N 高氯酸	64.89	6	1.591
	醋酸氯化钙	72.08	10	1.086

4. 电化学法 随着仪器分析的迅速发展, 这项技术也已应用于谷物淀粉分析。余纲哲^[8]等用纸上层析测定马铃薯和玉米中的直、支链淀粉。Trop^[9]等人用极谱法测定淀粉。极谱法避免了比色法和容量法中常常遇到的粮食中颜色及微溶于水的化合物及混浊造成的干扰。国际水稻研究所即采用此法。

5. 旋光法与醋酸氯化钙分散介质 本法利用淀粉或糊精, 葡萄糖分子内具有旋光性的不对称碳原子, 用光电旋光仪测量旋光度, 并求出淀粉含量。美国谷物化学学会 (AACC)、苏联国家标准 (TOCT)、玉米加工工业研究基金会 (CIRF)、法国标准 (NF)、ISO、ICC 及 AOAC 都把旋光法列为测定淀粉的标准方法。Frozlr^[10] 认为正确的选择酸解剂或分散介质是

旋光法测定淀粉的重要环节。ISO 与 AACC、NF 都用醋酸氯化钙分散介质。TOCT 用盐酸。这两种究竟哪一种更适合, Frozlr 的研究报告认为温度及 pH、水解时间是醋酸氯化钙作为淀粉分散介质的关键。Ulmann^[11] 利用淀粉的溶解度对醋酸氯化钙分散介质进行了全面的研究和改进, 寻找恒定的比旋度并观察淀粉在醋酸氯化钙介质中的状态, 以及水解时间对比旋度的影响, 认为调节醋酸氯化钙分散介质 pH = 2.30, 比重 1.30 时比旋度 203° 将恒定不变。盐酸水解剂则随着水解时间比旋度下降(图 1)。在研究过程中还发现盐酸不仅分解双糖和多糖, 也水解其它水溶性高分子产物成为溶于

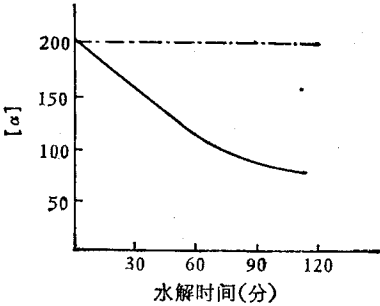


图 1

— · — · — 醋酸氯化钙法 — 盐酸水解法

水的旋光性物质, 使分析结果偏高。醋酸氯化钙分散介质不存在这种误差, 比旋度 203° 适应任何种类谷物中的淀粉测定, 对薯类也同样适用。只要用醋酸氯化钙分散介质即可用 $[\alpha] = 203^\circ$ 来计算。它避免了用酸解法及其它方法测定淀粉时根据待测试样用各自特定的比旋度的弊病。此方法简单易行, 适合批量分析。

以醋酸氯化钙为分散介质的旋光法主要操作如下:

取过 60 目筛的试样 2.5 克置于 250 毫升三角瓶, 加醋酸氯化钙 (pH = 2.30, 比重 1.30) 溶液 60 毫升。在 118—120℃ 的甘油浴中水解 25 分钟, 取出冷却, 用水将水解液转入 100 毫升容量瓶, 加 30% ZnSO₄ 和 15% K₄Fe(CN)₆ 溶液各 1 毫升, 使蛋白质沉淀, 定容。用折叠滤纸过滤, 取滤液进行旋光测定。

计算公式：

203;比旋度

淀粉% = $\frac{\alpha \times 10^6}{L \times W \times 203 \times (100 - K)}$

式中：α: 旋光角度

W: 取样重(克)

K: 样品水分含量(%)

二、结果与讨论

1. 醋酸氯化钙旋光法与其他几种方法，用五种谷物和北京化学试剂厂生产的可溶性淀粉作为测试对象进行比较结果如下(表 2):

表 2 七种方法的比较

方法	统计符号	可溶性淀粉			粳稻			冬小麦			玉米			高粱			谷子		
		平均值 $\bar{x}$	标准差 s	次数 n	平均值 $\bar{x}$	标准差 s	次数 n	平均值 $\bar{x}$	标准差 s	次数 n	平均值 $\bar{x}$	标准差 s	次数 n	平均值 $\bar{x}$	标准差 s	次数 n	平均值 $\bar{x}$	标准差 s	次数 n
TOCT (旋光法)		97.30	0.36	5	74.56	0.53	5	63.18	0.58	5	73.27	0.27	5	69.77	0.50	5			
AACC (旋光法)		98.97	0.29	8	71.34	0.61	7	60.51	0.32	8	72.10	0.79	8	71.72	0.43	8	75.73	0.66	8
AOAC (比色法)		98.16	2.60	6	77.42	3.43	7	65.25	3.30	7	74.27	2.00	5	73.14	2.68	6	74.20	2.79	5
AOAC (容量法)		99.87	0.78	8	78.74	0.59	7	66.10	0.64	8	75.31	1.06	7	73.50	0.84	7	74.98	0.66	7
ISO (旋光法)		99.60	0.29	6	75.09	0.69	9	63.29	0.65	8	73.08	0.50	8	71.78	0.95	8	78.08	0.50	8
卫生部标准 (容量法)		93.39	1.89	6	76.55	0.44	6	66.24	0.51	6	72.65	0.63	6	72.32	0.50	6	77.86	0.24	6
醋酸氯化钙 (旋光法)		99.05	0.37	8	76.59	0.54	5	63.17	0.43	5	73.01	0.99	7	72.81	0.35	6	77.82	0.44	5

从以上比较结果也表明 AOAC 比色法标准差最大，容量法次之。卫生部标准的容量法结果偏低，重复较差。TOCT 旋光法操作简单，但加热温度及时间的要求严格，结果低于 ISO 法和醋酸氯化钙旋光法。

2. ISO 法与醋酸氯化钙旋光法的结果接

表 3 醋酸氯化钙法与 ISO 法的比较

样 品	统计符号	平均值 $\bar{x}$		标准差 s		次数 n		T	显著性
		醋酸氯化钙法	ISO 法	醋酸氯化钙法	ISO 法	醋酸氯化钙法	ISO 法		
可溶性淀粉		99.36	99.60	0.126	0.285	5	6	1.629	不
粳稻		79.65	79.406	0.133	0.553	6	6	0.8103	不
糯稻		79.961	79.463	0.236	0.436	6	7	1.9930	不
籼稻		84.463	84.738	0.2108	1.282	6	7	0.5069	不
粉质玉米		74.200	73.813	0.191	0.828	6	6	1.1159	不
硬质玉米		70.14	70.59	0.382	0.300	7	5		不
冬小麦		64.661	64.549	0.222	0.418	6	7	0.5870	不
春小麦		60.549	60.796	0.340	0.496	6	7	1.9469	不
高粱		73.498	73.498	0.496	0.278	6	9	0	不
粉谷		79.956	79.398	0.194	1.082	6	5	1.0714	不
粘谷		77.694	77.185	0.186	0.731	6	6	0.2954	不

近,为此再选择十种不同种类的谷物对 ISO 法与醋酸氯化钙旋光法进行比较(表3)。

醋酸氯化钙旋光法与 ISO 法的比较结果在统计学上没有明显的差异(表3)。标准差及 T 值分布统计计算符合要求。从实验结果来看,醋酸氯化钙旋光法的准确度及精密度略高于 ISO 法,尽管两种方法的可溶性淀粉回收率都达 99% 以上,但醋酸氯化钙旋光法的标准差比 ISO 法的标准差要小得多。从快速准确这两点来考虑,以醋酸氯化钙为分散介质的旋光法为更好。而且操作简单易行,分析结果可靠,用于常规批量分析,尤为合适。

本文承蒙李伟格副研究员、查如璧、常碧影、陈必芳同志的协助,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Jones, M. G. K.: *Biochem.*, Vol. B3. 303/1, 1981.
- [2] Macrae, J. C. et al.: *J. Sci. Food. Agri.*, Vol. 25, 1465, 1974.
- [3] 张力田:《淀粉糖》,轻工业出版社,1981,第120页。
- [4] ICC-Standard, No. 123.
- [5] Zelenka, S et al.: *Die Stärke.*, 18(3), 77, 1966.
- [6] Hansen, J. et al.: *Anal. Biochem.*, 68, 87, 1975.
- [7] 上海商品检验局,《食品化学分析》,上海科学技术出版社,1982,第33页。
- [8] 余纳哲:《郑州粮食学院学报》,1981,第1期。
- [9] Trop, M. et al.: *J. AOAC.*, Vol. 55, 1191, 1972.
- [10] Frozlr, J R. et al.: *Die Stärke.*, No. 11. 398, 1962.
- [11] Ulmann, et al.: *Cereal Chem.*, Vol. 49, No. 3, 298, 1972.

[本文于1982年10月17日收到]

高效液相色谱在蛋白质化学中的应用

姚 志 建

(军事医学科学院基础医学研究所,北京)

最近十年,高效液相色谱的迅速发展已经愈来愈受到蛋白质化学家的重视。本文拟就其应用的现状,做一些介绍。

一、色 谱 填 料

1. 凝胶过滤色谱

凝胶过滤色谱是利用大小不同的溶质分子进入一定孔隙填料的程度不同而使之分离的。这是蛋白质和肽类分离中最常用的简便方法。但传统的凝胶色谱填料,如葡聚糖凝胶、聚丙烯酰胺凝胶等都是些遇水即膨胀的软胶,不耐压,故不适于做高效液相色谱填料。

寻求高效凝胶过滤色谱填料,主要集中在两方面:

(1) 改造无机填料的表面性质: 可控孔隙的硅胶和玻璃珠是高效液相色谱填料的基

础,但是存在于这种填料表面的负电荷硅醇基团或是吸附阳离子或是排斥阴离子,使它们不能直接适用于溶液中呈两性电解质的蛋白质分子。因此许多工作都致力于改造硅胶的表面性质,主要方法是把糖基硅烷键合到硅胶的表面,以遮盖极性基团,从而得到一种中性的亲水性表面^[1,2]。

(2) 合成较硬的有机凝胶 例如甲基丙烯酸乙二醇双脂与乙二烯苯的共聚多孔微球^[3]。

表1列出了某些蛋白质样品在一种糖基硅烷键合相硅胶——TSK 2000SW 上的色谱行为。

2. 离子交换色谱

分离原理是基于溶质分子与填料表面上解离基团的相互作用。过去,对于蛋白质的分离,纤维素类离子交换树脂用的最多。但是,这类