

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2020.05.030

酿酒用粮食中淀粉快速检测方法的 研究与应用

袁士猛¹, 于加乾², 宋宁宇¹

(1. 长光思博光谱技术有限公司, 吉林 长春 130102;
2. 四川宜宾市粮油质量监测站, 四川 宜宾 644000)

摘要: 中国白酒是以高粱、玉米、小麦、大米及糯米等高淀粉含量的粮食为原料, 经多道工序酿制而成。原料淀粉含量的多少直接影响出酒率。为有效缩短粮食淀粉含量的检测时间, 减少操作过程中的人为误差, 建立了检测淀粉含量的快速方法。样品前处理采用微波快速消解代替冷凝回流酸水解, 加快淀粉水解速度、控制水解完全; 样品检测采用快速检测仪代替人工煮沸滴定, 提高了实验操作的重复性和易用性。应用该方法检测多种酿酒用粮食的淀粉含量, 并与国家标准方法 GB 5009.9—2016 的检测结果进行对比, 两种方法的测定结果之间无显著性差异。结果显示, 淀粉快速检测方法能够适用于多种酿酒用粮中总淀粉含量的检测, 大大缩短检测时间, 减少人为操作误差, 重复性和再现性良好, 线性回归及相关性系数 ≥ 0.9997 。

关键词: 酿酒用粮食; 淀粉含量; 快速检测方法; 与国标无显著性差异

中图分类号: TS261.7 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2020)05-0207-06

Application and Exploration of Starch Rapid Detection in Grain for Winemaking

YUAN Shi-meng¹, YU Jia-qian², SONG Ning-yu¹

(1. Changchun Changguang SIPO Spectrum Technology Co., Ltd., ChangChun, Jilin 130102, China;
2. Yibin Quality Monitoring Station of Grain & Oil, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Chinese liquor was made from sorghum, corn, wheat, rice, and glutinous rice with high starch content as raw materials, and was prepared through multiple processes. The amount of starch in the raw material was directly related to the liquor yield. In order to effectively shorten the time for detecting starch content in grain and reduce human error during operation, a fast method for detecting starch content was established. In the sample pre-treatment stage, fast microwave digestion instead of reflux acid hydrolysis is used to speed up starch hydrolysis and improve the completeness of hydrolysis. In the sample detection stage, instrumental detection instead of artificial micro-boiling titration is used which improves the ease of experimental operation. In this paper, the starch content of a variety of brewing grains was tested using the rapid starch detection method, and compared with the results of the national standard method GB 5009.9—2016. There were no significant differences between the results of the two detection methods. The rapid starch detection method can be applied to the detection of total starch content in a variety of brewing grains, greatly shorten the detection time, reduce the artificial operation error, and have good repeatability and reproducibility. The linear regression and correlation coefficient ≥ 0.9997 .

Key words: grain for wine making; starch content; rapid detection method; no significant difference from its national standard

收稿日期: 2019-12-27

作者简介: 袁士猛, 男, 1976 年出生, 高级工程师, 研究方向为分析化学方法和仪器的研发与应用工作。

中国白酒的酿造历史悠久、工艺独特, 气味芳香纯正、入口绵甜爽净, 享誉中外。以高粱、玉米、小麦、大米及糯米等高淀粉含量的粮食为原料, 经蒸煮、糖化、发酵、蒸馏、陈酿、勾兑等多道工序酿制而成。酒的酿造主要是在微生物的作用下, 将粮食中的淀粉转化为酒精, 粮食中淀粉含量的多少直接影响出酒率。现有国标方法 GB 5009.9—2016《食品安全国家标准食品中淀粉的测定》检测速度慢、操作繁琐、对检验人员的经验要求较高等不足, 不适合酿酒生产中的质量监控。因此, 本文旨在建立一种酿酒用粮食中淀粉的快速检测方法, 可以快速准确的检测酿酒用粮食的淀粉含量, 以满足酿酒生产企业的品控需求。

目前在各类标准和文献中能够见到的测定淀粉含量的方法有酶水解滴定法^[1]、酸水解滴定法^[1]、DNS 比色法^[2]、近红外成分分析法^[3]、酶解试剂盒测定法^[4]、双波长分光光度法测定^[5]、碘亲和力测定法^[6]等。以上方法的原理和实验操作上不同程度存在线性回归和相关性不理想, 操作繁复和工作效率低, 测定结果精密度和重复性差的问题^[7]。

针对上述问题, 本方法进行了如下改进: 1. 样品前处理采用微波快速消解代替冷凝回流酸水解, 加快淀粉水解速度和促进反应完全; 2. 样品检测采用快速检测仪代替人工煮沸滴定。方法优势在于: 可进行批量化快速检测; 检测效率明显提高(35 min/批次); 操作规范易学; 大大降低人为和系统误差; 线性回归及相关性系数 ≥ 0.9997 ; 检测结果的精密度和重复性良好。

本文中用淀粉快速检测方法测定了酿酒用高粱、大米、玉米、糯米、小麦的淀粉含量, 并将结果与国家标准 GB 5009.9—2016 的检测结果进行对比。

淀粉快速检测方法大幅度缩短了检测时间, 可以很好地适用于酿酒生产。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

盐酸、氢氧化钠、乙酸铅、硫酸钠、石油醚、乙醚、无水乙醇、甲基红均为分析纯: 国药集团; 淀粉速测仪专用试剂: 长春长光思博光谱技术有限公司; 可溶性淀粉参考物质: 纯度 100%, 欧盟药典, cas: 9005-84-9。

CNS2300 酿酒用粮食淀粉速测仪: 长春长光思博光谱技术有限公司; 锤式旋风磨: 浙江伯利恒仪器设备有限公司; 万分之一精度电子天平: 梅特勒公司; 恒温冷却水槽; 微波消解仪; 恒温水浴锅; 回流装置; 电炉。

1.2 实验方法

1.2.1 水分测定

按照国标方法 GB/T5497—1985《粮食、油料检验 水分测定法》测定样品水分。

1.2.2 干基淀粉测定

称取 0.1 g 用锤式旋风磨粉碎至 80 目的粉末样品置于干燥洁净的消解罐中, 向其中加入 5.9 mL 专用试剂 1, 盖紧盖子进行消解, 消解后在恒温冷却水槽中冷却。准确移取冷却后的消解溶液 0.6 mL 加入 10 mL 离心管中, 向其中加入 4.4 mL 专用试剂 2, 剧烈震荡混合均匀后用 0.5 mL 塑料吸管吸取在淀粉速测仪上进行检测。将检测值、水分值和样品编号同时输入到仪器中, 经仪器计算得到样品的干基淀粉含量。

1.3 淀粉水解

将可溶性淀粉溶解于水中, 配制成淀粉含量 80% 的溶液。

1.3.1 消解时间的影响研究

为缩短淀粉的水解时间, 采用微波消解法代替国家标准^[1]方法规定的酸水解法。取淀粉含量 80% 的溶液, 采用不同的微波消解时间进行消解, 并按照国标方法进行淀粉含量的测定。实验共设四组, 第一组为对照组, 采用国家标准^[1]方法; 其余三组为消解 I 组、消解 II 组、消解 III 组, 采用微波消解, 消解功率设定为 1 000 W, 消解时间分别是 1、3、5 min, 其余步骤按照国家标准^[1]测定淀粉含量。

1.3.2 微波消解功率的影响研究

微波消解样品需要控制微波消解仪的微波输出功率, 以达到最佳的消解效果。取淀粉含量 80% 的溶液, 采用不同的微波消解功率进行消解, 并按照国标方法测定淀粉含量。实验共设四组, 第一组为对照组, 采用国家标准^[1]方法; 其余三组为功率 I 组、功率 II 组、功率 III 组, 采用微波消解, 消解功率分别为 1 200、1 000、900 W, 其余步骤按照国家标准^[1]测定淀粉含量。

1.3.3 正交实验

设计正交实验对消解过程进行条件优化。消解条件分别考察不同的消解时间 (1、3、5 min) 和消解功率 (1 200、1 000、900 W) 对淀粉含量测定的影响。正交实验设计以国家标准^[1]方法作为对照, 依据单因素实验的结果, 选取对淀粉含量测定影响较为显著的消解时间和消解功率 2 个因素进行 3² 正交实验设计, 对消解条件进行优化。

表 1 正交实验因素水平表

水平	消解时间/min	消解功率/W
1	1	1 200
2	3	1 000
3	5	900

1.4 快速检测方法的重复性

采用淀粉快速检测方法, 6 次重复测定淀粉含量 80% 的溶液。

1.5 快速检测方法与国家标准的检测值比较

针对淀粉快速检测方法能否准确地测定酿酒

用粮食 (高粱、大米、玉米、糯米、小麦) 的淀粉含量, 进行了以下对比实验。

选取酿酒用高粱、玉米、大米、糯米和小麦样品各 6 份。用锤式旋风磨粉碎混匀后均分为两份。同时采用国家标准^[1]方法和快速检测方法测定样品的淀粉含量。所得数据用于评价快速检测方法和国标方法的差异。

2 结果与分析

2.1 消解时间的确定

分析四组实验数据, 考察采用不同消解时间的测定结果与采用国家标准^[1]测定的结果之间是否存在显著性差异, 并挑选最优的消解时间条件。

实验结果如表 2 所示, 将四组数据进行单因素方差分析的结果为 $P=0.000<0.05$, 说明消解 I 组和消解 III 组与对照组存在显著性差异, 即不同消解时间对淀粉含量的测定有影响。其中, 消解 II 组与对照组 $P=0.224>0.05$, 测定结果与对照组之间无显著差异, 即当消解时间为 3 min 时, 测定结果与国标法更为接近。

表 2 不同消解时间消解处理后样品总淀粉含量

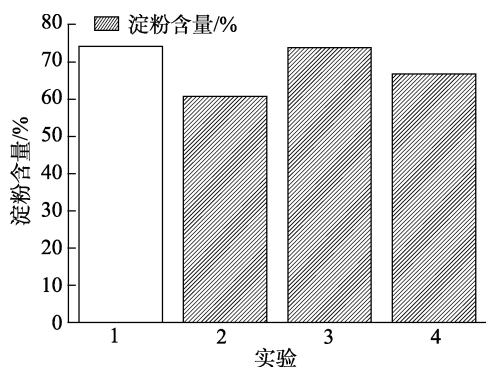
样品编号	标准值 /%	对照组淀粉含量 /%	消解 I 组淀粉含量 /% (1 000 W, 1 min)	偏差 d_1	消解 II 组淀粉含量 /% (1 000 W, 3 min)	偏差 d_2	消解 III 组淀粉含量 /% (1 000 W, 5 min)	偏差 d_3
1	80	80.67	65.43	14.57	80.33	-0.33	72.46	7.54
2		80.13	66.07	13.93	79.85	0.15	72.31	7.69
3		80.09	65.79	14.21	80.26	-0.26	72.59	7.41
4		80.59	65.82	14.18	80.15	-0.15	72.16	7.84
5		80.91	66.29	13.71	79.96	0.04	72.47	7.53
6		80.48	65.59	14.41	80.07	-0.07	72.55	7.45
平均值	/	80.48	65.88	14.12	80.11	-0.11	72.40	7.60
对照组显著性 P 值			0.000		0.224		0.000	
标准偏差	/	0.319	0.313		0.181		0.161	

2.2 消解功率的确定

分析四组实验数据, 考察采用不同消解功率的测定结果与采用国家标准^[1]测定的结果之间是否存在显著性差异, 并挑选最优的消解功率条件。

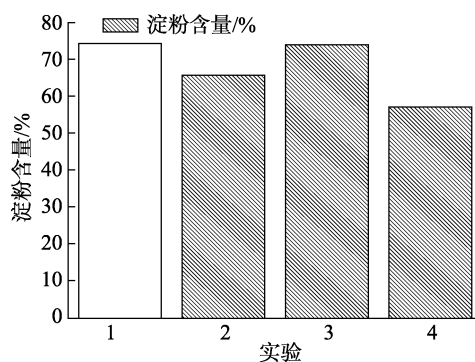
实验结果如表 3 所示, 将四组数据进行单因

素方差分析的结果为 $P=0.000<0.05$, 说明功率 I 组和功率 III 组与对照组存在显著性差异, 即不同消解功率对淀粉含量的测定有影响。其中, 功率 II 组与对照组 $P=0.224>0.05$, 测定结果与对照组之间无显著差异, 即当消解功率为 1 000 W 时, 测定结果与国标法更为接近。



1: 对照组; 2: 消解 I 组 1 000 W, 1 min; 3: 消解 II 组 1 000 W, 3 min; 4: 消解 III 组 1 000 W, 5 min。

图 1 在消解功率 1 000 W 条件下, 不同消解时间检测淀粉含量的比较



1: 对照组; 2: 功率 I 组 1200 W, 3 min; 3: 功率 II 组 1000 W, 3 min; 4: 功率 III 组 900 W, 3 min;

图 2 在相同消解时间条件下, 不同消解功率检测淀粉含量的比较

表 3 不同消解功率消解处理后样品总淀粉含量

样品编号	标准值/%	对照组淀粉含量/%	功率 I 组淀粉含量 /% (1 200 W, 3 min)	偏差 d_1	功率 II 组淀粉含量 /% (1 000W, 3 min)	偏差 d_2	功率 III 组淀粉含量 /% (900 W, 3 min)	偏差 d_3
1	80	80.67	70.95	9.05	80.33	-0.33	62.31	17.69
2		80.13	71.86	8.14	79.85	0.15	61.76	18.24
3		80.09	70.46	9.54	80.26	-0.26	61.86	18.14
4		80.59	70.24	9.76	80.15	-0.15	61.99	18.01
5		80.91	71.56	8.44	79.96	0.04	62.09	17.91
6		80.48	71.77	8.23	80.07	-0.07	62.43	17.57
平均值	/	80.48	71.14	8.86	80.10	-0.10	61.86	18.14
对照组显著性 P 值			0.000		0.224		0.000	
标准偏差	/	0.319	0.693		0.181		0.259	

2.3 消解条件的确定

由正交实验表 4 可知, 影响的主次因素由大到小: $B > A$, 即消解功率 > 消解时间。分析得到最佳组合为 A_2 、 B_2 , 得到最佳的消解条件为: 消解

表 4 正交实验结果

实验编号	因素		淀粉含量/%
	消解时间/min	消解功率/W	
1	1	1	59.67
2	1	2	65.88
3	1	3	55.81
4	2	1	71.14
5	2	2	80.11
6	2	3	61.86
7	3	1	69.16
8	3	2	72.40
9	3	3	65.43
k_1	60.453	66.657	
k_2	71.037	72.797	
k_3	68.997	61.033	
R	10.584	11.764	
	A_2	B_2	

功率为 1 000 W, 消解时间为 3 min。在此最佳的消解条件下, 测定的淀粉含量最接近标准值。

2.4 工作曲线的绘制

将可溶性淀粉参考物质溶于水中, 配制成不同淀粉含量的溶液(含量分别为 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、100%)。将这些溶液按照快速检测方法的操作步骤进行处理和检测, 得到仪器检测值与对应的淀粉含量建立工作曲线。如图 3 所示。淀粉含量与检测值之

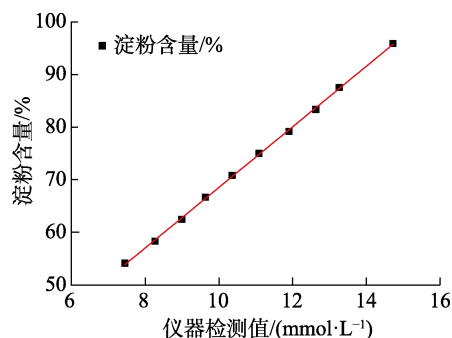


图 3 淀粉标准工作曲线

间呈良好的线性关系,其回归方程为: $y=6.2679x+2.0478$ ($R^2=0.9997$)。

2.5 方法重复性验证

采用淀粉快速检测方法,6次重复测定淀粉含量80%的溶液。

按照 GB/T 4889—2008^[8]中 7.1 单总体方差或标准检验实施 χ^2 分布检验,判断该方法重复性标准差是否符合国家标准^[8]方法中规定的重复性要求;同时采用 6 次测定的极差与国家标准^[8]规定的重复性临界极差进行对照,考察该方法的重复性,分析结果见表 5。

表 5 淀粉快速检测方法重复性实验数据

序号	快速法检测值/%	平均值/%	标准偏差 <i>s</i>	χ^2	$\chi_{0.95}^2(5)$	极差
1	80.23					
2	79.94					
3	80.07	80.07	0.144	0.533	11.070 5	0.38
4	80.13					
5	79.85					
6	80.17					

对照国家标准规定的重复性临界极差。本次实验中重复性标准偏差 $s=0.144$;在显著水平 $\alpha=0.05$ 情况下, $\chi^2=0.533 < \chi_{0.95}^2(5)=11.070 5$;极差值 $0.38 < \text{重复性临界极差值 } 1.77$,说明快速检测方法的重复性标准差与极差符合国家标准^[8]规定的重复性要求。

2.6 仪器稳定性评价

针对淀粉速测仪的稳定性,进行了以下稳定性评价实验。

连续 12 h 使用淀粉速测仪 7 次重复测定淀粉含量 80% 的溶液。按照 GB/T 4889—2008^[8]中 7.1 单总体方差或标准检验实施 χ^2 分布检验,判断淀粉速测仪的稳定性是否符合国家标准^[8]方法中规定的稳定性要求,分析结果见表 6。

对照国家标准^[8]规定的稳定性临界差值,连续 12 h 检测数据的标准偏差 $s=0.144$;在显著性水平 $\alpha=0.05$ 情况下, $\chi^2=0.605 < \chi_{0.95}^2(6)=12.592$;极差值 $0.38 < \text{稳定性临界极差值 } 2.13$,说明淀粉速测仪的稳定性标准差和极差均符合国家标准中规定的稳定性要求。

表 6 淀粉速测仪测定稳定性实验数据

测试时间/h	快速法检测值/%	平均值/%	标准偏差 <i>s</i>	χ^2	$\chi_{0.95}^2(6)$	极差
0	80.06					
2	79.86					
4	80.24					
6	80.19	80.06	0.144	0.605	12.592	0.38
8	80.05					
10	80.14					
12	79.89					

2.7 快速检测方法与国家标准方法的数据比对

快速检测方法测定酿酒用粮食(高粱、大米、玉米、糯米、小麦)的淀粉含量,每种粮食均采集 6 份进行检测,对比数据如下表 7 和图 4。

表 7 样品淀粉含量检测数据对比

样品种类	快速法/%	国标法/%	偏差 <i>d</i>	t_d	$t_{0.05,29}$
高粱 001	73.29	73.55	-0.26		
高粱 002	72.35	72.19	0.16		
高粱 003	71.64	71.92	-0.28		
高粱 004	68.83	68.54	0.29		
高粱 005	69.57	69.52	0.05		
高粱 006	69.52	69.58	-0.06		
玉米 001	86.18	86.34	-0.16		
玉米 002	84.49	84.21	0.28		
玉米 003	83.82	83.62	0.20		
玉米 004	85.59	85.84	-0.24		
玉米 005	84.57	84.39	0.18		
玉米 006	85.51	85.82	-0.31		
大米 001	84.70	84.69	0.02		
大米 002	83.71	83.47	0.23		
大米 003	86.83	86.48	0.34		
大米 004	86.25	86.35	-0.10	0.996 8	2.045
大米 005	84.31	84.44	-0.13		
大米 006	86.46	86.17	0.29		
糯米 001	85.46	85.26	0.20		
糯米 002	86.48	86.57	-0.09		
糯米 003	85.49	85.30	0.20		
糯米 004	88.66	88.38	0.28		
糯米 005	90.24	90.45	-0.21		
糯米 006	84.78	85.10	-0.32		
小麦 001	64.43	64.48	-0.06		
小麦 002	67.33	67.72	-0.39		
小麦 003	70.58	70.45	0.13		
小麦 004	72.57	72.76	-0.19		
小麦 005	59.91	59.89	0.02		
小麦 006	60.67	60.47	0.20		

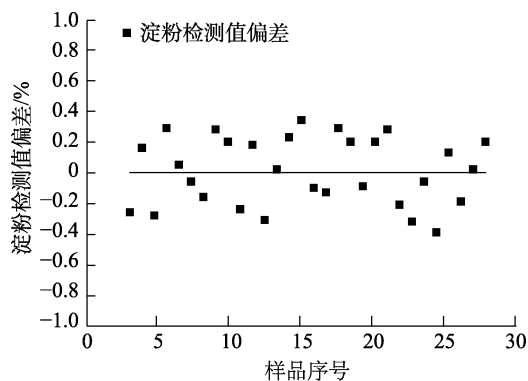


图 4 淀粉检测值偏差离散图

由表 7 和图 4 所示，快速法与国标法测定的淀粉含量进行 T 检验， $t_d=0.996\ 8$ ，查 t 分布表， $t_{0.05,29}=2.045$ ， $t_d=0.996\ 8 < t_{0.05,29}=2.045$ ，说明两种检测方法的测定结果之间无显著性差异，快速法测定值与国家法测定值相符。

3 结论

在淀粉快速检测方法中，消解条件的确定是方法成功与否的关键，通过实验可知，消解功率的影响大于消解时间的影响。最佳的消解条件为消解功率 1 000 W、消解时间 3 min。

实验表明淀粉快速检测方法适用于检测高粱、大米、玉米、糯米、小麦样品的淀粉含量，单次检测时间仅为 35 min，远低于 GB 5009.9—2016 的 8 h，大幅度缩短了检测时间。同时，简化操作步骤减少人为误差，有效地提高了实验的准确性和重复性，测定结果准确可靠，可以满足酿酒企业生产过程中的品质控制。

参考文献：

[1] 食品安全国家标准食品中淀粉的测定: GB5009.9—2016[S].
National food safety standard--Determination of starch in food:

GB5009.9—2016[S].

[2] 马晶晶, 王际英, 张利民, 等. 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定饲料总淀粉含量[J]. 中国饲料, 2010(14): 41-43.
MA J J, WANG J Y, ZHANG L M, et al. Determination of the content of total starch in feed by colorimetric method with 3, 5-dinitrosalicylic acid[J]. Chinafeed, 2010(14): 41-43.

[3] 邵春甫, 李长文, 王珊, 等. 近红外光谱应用于高粱中总淀粉、直链淀粉与支链淀粉的定量分析[J]. 粮油食品科技, 2016, 24, 130(2): 69-73.
SHAO C F, LI C W, WANG S, et al. Quantitative analysis of starch, amylose and amylopectin in sorghum seeds by fourier transform near infrared spectroscopy[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2016, 24, 130(2): 69-73.

[4] 张旭, 蒋桂韬, 王向荣, 等. 酶法测定谷物副产品中淀粉含量[J]. 广东饲料, 2013(10): 34-36.
ZHANG X, JIANG G T, WANG X R, et al. Enzymatic determination of starch content in cereal by-products[J]. Gdfeed, 2013(10): 34-36.

[5] 范明顺, 张崇玉, 张琴, 等. 双波长分光光度法测定高粱中的直链淀粉和支链淀粉[J]. 中国酿造, 2008(21): 85-87.
FAN M S, ZHANG C Y, ZHANG Q, et al. Determination of amylose and amylopectin content in sorghum by dual wavelength method[J]. China Brewing, 2008(21): 85-87.

[6] 杨有仙, 赵燕, 李建科, 等. 直链淀粉含量测定方法研究进展[J]. 食品科学, 2003, 31(23): 417-422.
YANG Y X, ZHAO Y, LI J K, et al. Research progress in determination methods for amylose content[J]. Food Science, 2003, 31(23): 417-422.

[7] 代立刚, 何煜, 王浩, 等. 谷物中总淀粉含量的测定方法[J]. 中国食物与营养, 2013(6): 40-44.
DAI L G, HE Y, WANG H, et al. Determination methods of total starch content in grain[J]. Food and Nutrition in China, 2013(6): 40-44.

[8] 数据的统计处理和解释正态分布均值和方差的估计和检验: GB/T4889—2008[S].
Statistical interpretation of data-techniques of estimation and tests relating to means and variances of normal distribution: GB/T4889—2008[S].