

直链淀粉快速检测方法的研究与应用

李小明

(遂宁市粮食质量监督检验站,四川 遂宁 629000)

摘要:采用超声波脱脂与恒温干燥平衡水分方法,对国标法测定直链淀粉的前处理条件进行改进,利用配套的直链淀粉速测仪对大米中的直链淀粉进行检测,并用国标法进行验证,建立了以比色法为基础的直链淀粉快速检测方法。通过实验,确定了水温 50 ℃,时间 50 min 为超声波脱脂样品的最佳条件;105 ℃干燥 80 min 为平衡样品水分的最佳条件。比对结果 *T* 检验显示两种检测方法的测定结果之间无显著性差异。该方法很大程度上克服了人为误差,缩短了实验时间,提高了实验的准确性、重复性与再现性。

关键词:直链淀粉含量;直链淀粉速测仪;快速检测方法

中图分类号:TS 210.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2018)02-0058-05

Study and application of rapid detection method of amylose

LI Xiao-ming

(Suining Grain Quality Supervision and Inspection Station, Suining Sichuan 629000)

Abstract: The pretreatment conditions for the determination of amylose in national standard method was improved by ultrasonic degreasing and constant temperature drying. The content of amylose in rice was detected by amylose detector and verified by the national standard method. The rapid detection method for amylose was established based on colorimetric method. The optimum condition of ultrasonic degreasing was determined by the experiment: water temperature 50 ℃, and the time 50 min; the optimum condition of constant temperature drying: temperature 105 ℃, drying time 80 min. *T* test showed that there was no significant difference between the results of the two detection methods. This method overcame the human error to a great extent, shortened the experiment time and improved the accuracy, repeatability and reproducibility of the experiment.

Key words: amylose content; amylose analyzer; rapid detection method

稻米的食味品质与其理化性状密切相关,直链淀粉含量(amylose content, AC)、胶稠度、糊化温度、蛋白质含量、水分、脂肪等相互作用对稻米食味品质有很大影响,其中直链淀粉含量是最主要的理化指标^[1]。在国家优质稻谷、优质大米标准以及好粮油稻谷、部分杂粮标准^[2-5]中直链淀粉含量均作为定等指标或声称指标,以评价其食用和蒸煮品质,因此快速、准确测定直链淀粉含量对优质稻谷(杂粮)的筛选、推广种植以及收购、储存、加工都具有十分重要的意义,为国家实施优质粮食工程,全面推进“中国好粮油”行动,增加绿色优质粮油产品的供给和消费提供科技支撑^[6]。

测定直链淀粉含量的方法较多,常见的有电位滴定法、碘比色法、近红外光谱分析法、伴刀豆球蛋白法等。我国现行测定大米直链淀粉含量的国标法(GB/T 15683—2008)是采用比色法,其检测时间较长,部分实验步骤不易操作,实验的重复性与再现性较差。近红外光谱分析方法虽然检测时间较快,但必须对不同地区的稻谷分别进行建模,建模工作量大,并且其检测结果和化学值之间的标准偏差尚难满足分级定等的要求,仅可以用来预测直链淀粉含量。

为缩短检测大米直链淀粉含量的时间,有效减少操作过程中的人为误差,本实验研究利用直链淀粉速测仪对大米中直链淀粉含量进行快速检测。

收稿日期:2017-11-15

作者简介:李小明,1974年出生,男,大学本科,工程师。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂

甲醇、95%乙醇溶液、1.0 mol/L氢氧化钠溶液、直链淀粉速测仪专用显色试剂:长春长光思博光谱技术有限公司;无特殊说明的化学试剂均为分析纯。

1.1.2 样品来源

(1)超声波脱脂和平衡水分实验用样品:随机选取20份直链淀粉含量在15%~25%范围内的大米样品。

(2)直链淀粉速测仪性能评价实验用样品:支链淀粉选用蜡质糯米,纯度100%(挑选去除非糯性大米),粉碎至80~100目;马铃薯直链淀粉(CAS:9005-82-7):购自sigma公司。

(3)快速法与国标法比较实验用样品:从四川省2017年省级收获粮食水稻谷质量调查会检样品中选取40份直链淀粉含量呈梯度分布的样品。

1.1.3 参考物质

直链淀粉有证标准物质(BCR[®]-467):坛墨质检(北化恒信-国家标准物质中心)。

1.2 实验仪器

CNS-2100直链淀粉速测仪:长春长光思博光谱技术有限公司;旋风磨:浙江伯利恒仪器设备有限公司;数控超声波清洗器:浙江伯利恒仪器设备有限公司;分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;索氏抽提器:阿尔瓦仪器公司。

1.3 实验设计

1.3.1 超声波脱脂条件

采用不同的脱脂方法与脱脂时间对20份大米样品进行脱脂,然后按照国标法测定直链淀粉含量。实验共设四组,第一组为对照组,采用索氏提取器脱脂;其余三组均利用超声波清洗器进行超声波脱脂,分为超声I组、超声II组、超声III组。

超声波脱脂:称取0.5g样品置于滤纸袋内,放入装有150mL甲醇的250mL广口瓶中,放到超声波清洗器内,在水温50℃中进行超声波处理。超声I组、超声II组、超声III组超声波处理时间分别为30、50、70min。最后将滤纸袋取出,按照国标的要求平衡水分后进行后续操作。

1.3.2 平衡水分实验方法改进

选取20份大米样品,按照国标法脱脂后,采用

不同的平衡水分方法与平衡时间对脱脂后样品进行平衡水分,测定直链淀粉含量。共分四组,第一组为对照组,采用国标法测定样品的直链淀粉含量;其余三组为烘干I组、烘干II组、烘干III组,使用恒温干燥箱烘干脱脂后的样品,烘干时间分别是60、80、100min,其余操作都按照国标法执行。

具体操作步骤:取出用索氏抽提器脱脂后的样品,自然风干30min,使甲醇挥发近干,然后将样品转移至铝盒内,105℃烘干。烘干I组、烘干II组、烘干III组的烘干时间分别60、80、100min,在干燥器中冷却30min。随后按国家标准进行后续操作。

1.3.3 直链淀粉速测仪内置曲线的制作

直链淀粉速测仪内置标准曲线是用大米直链淀粉参考物质进行绘制的。先测定不同浓度参考物质的吸光度值,然后以吸光度值为纵坐标,直链淀粉含量为横坐标,绘制标准曲线。

1.4 直链淀粉速测仪性能评价实验

按国标要求准备样品。选取糯米支链淀粉与马铃薯直链淀粉,进行脱脂和平衡水分。测试用样品共9组,由糯米支链淀粉与马铃薯直链淀粉两者混合制成,其中马铃薯直链淀粉含量分别为14%、16%、18%、20%、22%、24%、26%、28%、30%。

1.4.1 准确性检测

用2台直链淀粉速测仪,按照仪器操作方法测定直链淀粉含量在14%至30%的加标样品,两次测定均值作为测定结果。

1.4.2 重复性检测

采用同一台直链淀粉速测仪,6次重复测定直链淀粉含量在20%左右的样品,计算重复性。

1.4.3 稳定性检测

采用同一台直链淀粉速测仪,对直链淀粉含量在20%左右的样品每小时测定一次,连续测定12个小时。

1.5 比较实验

采用国标法和快速法测定40份大米样品的直链淀粉含量。快速法的操作步骤:

将大米样品用0.5mm筛片的旋风磨粉碎,称取0.5g样品置于定性滤纸袋中,放入预先装有150mL甲醇的250mL广口瓶中,放到超声波清洗器中,在50℃下超声波处理50min后取出,放在通风处,甲醇挥发至近干后,放在105℃恒温干燥箱内

烘干 80 min,取出后立即放入干燥器中冷却 30 min。称取 100 mg 干燥后的样品于 100 mL 容量瓶中,加入 95% 乙醇 1.0 mL 与 1.0 mol/L 的氢氧化钠溶液 9.0 mL,轻轻摇匀,放在恒温水浴锅中,沸水浴加热 10 min,取出容量瓶冷却至室温,加蒸馏水定容,剧烈振摇混匀 30 s,制成试样分散液。

向 25 mL 比色管中加入 100 μ L 直链淀粉速测仪专用显色试剂,摇匀,加入约 10 mL 蒸馏水,摇匀,加入 1.0 mL 试样分散液,加蒸馏水定容至 20 mL 刻度处,缓慢摇匀,静置 10 min,制成显色溶液。

将装有蒸馏水的比色皿放入直链淀粉速测仪中进行空白测试,调零。然后,测定显色溶液,在显示屏上直接读取吸光度值和直链淀粉含量。

2 结果与分析

2.1 超声波脱脂时间的确定

脱脂处理后样品的直链淀粉含量测定结果如表 1 所示,对四组数据进行单因素方差分析,考察采用不同超声波脱脂条件处理样品后测定的结果与采用国标法测定的结果之间存在的显著性差异。在 $P = 0.021 < 0.05$ 时,超声 I 组与对照组差异显著,超声 II 组和超声 III 组与对照组结果相似,但是,超声 II 组的平均值与对照组更为接近,而且该组的超声时间较短。所以,选定超声 II 组的处理条件作为超声波脱脂的条件,即水温 50 $^{\circ}$ C,时间 50 min。

表 1 脱脂处理后样品的直链淀粉含量 %

样品编号	对照组 (GB/T 15683)	超声 I 组 (50 $^{\circ}$ C,30 min)	超声 II 组 (50 $^{\circ}$ C,50 min)	超声 III 组 (50 $^{\circ}$ C,70 min)
1	18.48	16.13	17.15	17.15
2	19.27	16.93	16.85	15.87
3	18.17	16.27	16.66	16.05
4	19.63	17.68	17.38	17.46
5	16.81	14.77	15.26	15.33
6	21.74	19.67	19.44	19.71
7	18.80	16.85	17.69	17.04
8	18.87	17.00	19.81	17.04
9	16.85	15.26	15.21	15.70
10	18.03	15.59	15.74	16.12
11	21.51	20.15	19.90	20.59
12	23.25	21.09	22.04	22.50
13	23.95	21.81	22.31	22.27
14	18.95	16.36	17.31	18.07
15	20.51	18.94	18.22	18.15
16	17.31	16.05	15.97	15.97
17	18.79	15.87	16.20	15.48
18	19.67	18.18	17.04	17.69
19	24.79	22.49	22.73	22.50
20	20.52	18.02	18.30	17.77
平均值	19.79 ^a	17.75 ^b	18.06 ^a	17.92 ^a
标准差	2.25	2.25	2.29	2.36

注:肩标 a,b 表示同一行内组间差异,肩标相同的表示组间差异不显著,肩标不同的表示组间差异显著。

2.2 平衡水分方法的改进

将四组测定结果进行单因素方差分析,考察烘干样品对样品的测定结果产生影响并挑选出适合的烘干条件进行实验,结果见表 2。 $P = 0.206 > 0.05$

表 2 平衡水分后样品的直链淀粉含量 %

样品编号	对照组 (GB/T 15683)	烘干 I 组 (105 $^{\circ}$ C,60 min)	差值 d_1	烘干 II 组 (105 $^{\circ}$ C,80 min)	差值 d_2	烘干 III 组 (105 $^{\circ}$ C,100 min)	差值 d_3
1	18.48	20.82	2.34	19.71	1.23	19.52	1.04
2	19.27	20.59	1.32	19.75	0.48	19.21	-0.06
3	18.17	20.24	2.07	19.33	1.16	19.14	0.97
4	19.63	20.32	0.69	19.63	0.00	18.91	-0.72
5	16.81	19.18	2.37	17.95	1.14	18.30	1.49
6	21.74	22.50	0.76	22.38	0.65	21.85	0.11
7	18.80	19.98	1.18	19.86	1.07	20.09	1.30
8	18.87	20.78	1.91	19.90	1.03	19.63	0.76
9	16.85	18.76	1.91	18.22	1.38	18.07	1.22
10	18.03	18.98	0.95	18.45	0.42	19.02	0.99
11	21.51	24.02	2.52	22.38	0.88	22.92	1.41
12	23.25	24.71	1.46	24.29	1.05	24.63	1.39
13	23.95	24.90	0.95	24.90	0.95	25.09	1.14
14	18.95	20.02	1.07	19.82	0.88	20.40	1.45
15	20.51	21.96	1.45	21.58	1.07	21.47	0.96
16	17.31	19.21	1.91	18.41	1.11	19.02	1.72
17	18.79	19.90	1.11	19.06	0.27	18.56	-0.23
18	19.67	21.43	1.76	20.63	0.96	20.28	0.61
19	24.79	26.24	1.45	26.24	1.45	25.66	0.88
20	20.52	22.08	1.56	21.77	1.26	21.31	0.80
平均值	19.79	21.33	1.54	20.71	0.92	20.65	0.86
标准差	2.26	2.15	/	2.32	/	2.30	/

时,测定结果之间无显著差异,即采用恒温干燥箱烘干样品并不会影响直链淀粉含量的测定结果。但是,由于对照组平均值与烘干组平均值的差值最小的是烘干Ⅱ组,所以,选择烘干Ⅱ组的烘干条件,即 105 ℃,烘干 80 min 作为平衡水分的条件。

2.3 直链淀粉速测仪性能的评价

利用直链淀粉参考物质绘制直链淀粉速测仪内置曲线,可免去国标中规定的标准曲线绘制,减少了工作量与操作误差,提高了检测效率。

2.3.1 准确性评价

准确性测定结果见表3和表4。采用测定值与定值进行配对 T 检验,验证仪器法测定结果与国标法测定结果间的显著性差异。仪器1: $t_d = 0.40$,查 t 分布表, $t_{0.05,8} = 2.306$, $t_d = 0.40 < t_{0.05,8} = 2.306$; 仪器2: $t_d = 0.76$,查 t 分布表, $t_{0.05,8} = 2.306$, $t_d = 0.76 < t_{0.05,8} = 2.306$ 说明仪器法测定结果与国标法测定结果之间无显著性差异。

表3 仪器1测定直链淀粉含量的准确性

样品编号	定值 /%	仪器1 /%	差值 d_i /%	均值 \bar{d}	标准差 s_d	t_d	$t_{0.05,8}$
1	14	14.72	-0.72				
2	16	16.40	-0.40				
3	18	18.31	-0.31				
4	20	19.59	0.41				
5	22	19.59	-0.59	0.088	0.67	0.40	2.306 0
6	24	24.12	-0.12				
7	26	25.48	0.52				
8	28	26.84	1.16				
9	30	29.16	0.84				

表4 仪器2测定直链淀粉含量的准确性

样品编号	定值 /%	仪器2 /%	差值 d_i /%	均值 \bar{d}	标准差 s_d	t_d	$t_{0.05,8}$
1	14	14.91	-0.91				
2	16	16.20	-0.20				
3	18	18.26	0.26				
4	20	19.56	0.44				
5	22	22.44	-0.44	0.18	0.71	0.76	2.306 0
6	24	23.90	0.10				
7	26	25.34	0.66				
8	28	26.74	1.26				
9	30	29.04	0.97				

2.3.2 重复性评价

按照 GB/T 4889—2008 中 7.1 单总体方差或标准检验进行 χ^2 分布检验,判断该方法重复性测定标准差是否超过国家标准方法中规定的重复性要求,同时采用 6 次测定极差与现有国标法规定的 6 次测定重复性临界极差进行对照,考察该方法的重复

性。测定结果见表5。

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过 1.24,6 次测定的重复性临界极差为 1.77, 国标规定的重复性标准差 $s_r = 0.443$, 显著水平 $\alpha = 0.05$ 情况下, $\chi^2 = 1.79 < \chi_{0.95}^2(5) = 11.070 5$, 极差 $0.63 < \text{重复性临界极差} = 1.77$, 说明该方法测定的重复性标准差和极差均没有超过国标中规定的重复性要求。

表5 直链淀粉测定结果的重复性

测定次数	测定值 /%	平均值	标准差 s	χ^2	$\chi_{0.95}^2(5)$	极差
1	18.30					
2	17.71					
3	18.21	17.95	0.26	1.79	11.070 5	0.63
4	17.81					
5	18.02					
6	17.67					

2.3.3 稳定性评价

仪器稳定性测定结果见表6。依据国标规定计算出在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差不得超过 1.27,13 次测定的重复性临界差值 2.13, 国家规定的重复性标准差 $s_r = 0.454$, 显著性水平在 $\alpha = 0.05$ 情况下, 极差 $1.04 < \text{重复性临界极差} = 2.13$, 说明该方法测定的稳定性标准差和极差均没有超过国标中规定的重复性要求。

表6 直链淀粉测定结果的稳定性

测定次数	测定值 /%	平均值	标准差 s	χ^2	$\chi_{0.95}^2(12)$	极差
1	19.64					
2	19.44					
3	20.12					
4	20.09					
5	19.64					
6	19.77					
7	19.83	19.67	0.29	5.05	21.02	1.04
8	19.55					
9	19.51					
10	19.39					
11	19.08					
12	19.99					
13	19.62					

2.4 快速法与国标法对比实验

为了验证快速检测法的准确性,按直链淀粉含量高低选取了 40 份样品,用国标法测定,测定结果进行配对 T 检验,结果见表7。 $t_d = 0.58$,查 t 分布表, $t_{0.05,39} = 2.023 0$, $t_d = 0.58 < t_{0.05,39} = 2.023 0$, 说明两种检测方法的测定结果之间无显著性差异,快速检测方法测定值与国家标准方法测定值相符。

同时,两种检测方法各自的测定结果的两次独立测试结果差的绝对值,均小于国标规定的重复性 r ,说

明两种检测方法自身的重复性都良好,测试结果真实可靠。

表7 快速法与国标法直链淀粉测定结果对比

编号	国标法测定值		平均值	两次测定值差值		重复性限	速测法测定值		平均值	两次测定值差值		重复性限
	/%			d/%			/%			d/%		
1	10.21	10.08	10.15	0.13	1.11	10.36	10.51	10.44	0.15	1.11		
2	10.48	10.36	10.42	0.12	1.11	10.55	10.47	10.51	0.08	1.12		
3	11.12	11.25	11.19	0.13	1.13	11.28	11.39	11.34	0.11	1.13		
4	11.48	11.06	11.27	0.42	1.13	11.59	11.46	11.53	0.13	1.14		
5	12.21	12.36	12.29	0.15	1.15	12.18	12.25	12.22	0.07	1.15		
6	12.93	12.81	12.87	0.12	1.16	13.06	13.17	13.12	0.11	1.17		
7	13.41	13.16	13.29	0.25	1.17	13.52	13.47	13.50	0.05	1.17		
8	13.82	13.91	13.87	0.09	1.18	13.93	13.79	13.86	0.14	1.18		
9	14.43	14.28	14.36	0.15	1.19	14.53	14.44	14.49	0.09	1.19		
10	14.86	14.58	14.72	0.28	1.19	15.01	14.92	14.97	0.09	1.20		
11	15.29	15.45	15.37	0.16	1.20	15.33	15.48	15.41	0.15	1.20		
12	16.18	16.33	16.26	0.15	1.22	16.38	16.45	16.42	0.07	1.22		
13	16.58	16.81	16.70	0.23	1.22	17.26	17.36	17.31	0.1	1.23		
14	16.66	16.43	16.55	0.23	1.22	16.88	16.97	16.93	0.09	1.23		
15	17.57	17.95	17.76	0.38	1.24	17.43	17.47	17.45	0.04	1.24		
16	17.65	17.65	17.65	0.00	1.24	17.89	17.97	17.93	0.08	1.24		
17	17.73	17.65	17.69	0.08	1.24	18.26	18.26	18.26	0	1.25		
18	18.03	18.34	18.19	0.31	1.25	17.95	18.03	17.99	0.08	1.24		
19	18.18	18.49	18.34	-0.31	1.25	17.55	17.64	17.60	0.09	1.24		
20	18.34	18.56	18.45	-0.22	1.25	19.08	19.13	19.11	0.05	1.26		
21	18.64	18.41	18.53	0.23	1.25	18.6	18.69	18.65	0.09	1.25		
22	18.87	19.02	18.95	0.15	1.26	17.94	18.05	18.00	0.11	1.24		
23	18.95	19.02	18.99	0.07	1.26	19.07	19.16	19.12	0.09	1.26		
24	19.48	19.25	19.37	0.23	1.26	19.78	19.86	19.82	0.08	1.27		
25	19.71	19.4	19.56	0.31	1.26	18.98	19.07	19.03	0.09	1.26		
26	19.86	20.09	19.98	0.23	1.27	20.87	20.44	20.66	0.43	1.28		
27	20.17	20.24	20.21	0.07	1.27	20.34	20.29	20.32	0.05	1.27		
28	20.22	20.24	20.23	0.02	1.27	19.4	19.48	19.44	0.08	1.26		
29	20.4	20.32	20.36	0.08	1.27	19.96	20.05	20.01	0.09	1.27		
30	21.08	21.24	21.16	0.16	1.28	20.14	20.33	20.24	0.19	1.27		
31	21.01	20.47	20.74	0.54	1.28	20.83	20.96	20.90	0.13	1.28		
32	21.39	21.77	21.58	0.38	1.29	20.8	20.89	20.85	0.09	1.28		
33	22.45	22.56	22.51	0.11	1.30	22.34	22.51	22.43	0.17	1.30		
34	22.83	22.62	22.73	0.21	1.30	22.98	22.79	22.89	0.19	1.30		
35	23.12	22.97	23.05	0.15	1.31	23.35	23.46	23.41	0.11	1.31		
36	23.51	23.78	23.65	0.27	1.31	23.47	23.52	23.50	0.05	1.31		
37	24.12	23.96	24.04	0.16	1.32	24.35	24.28	24.32	0.07	1.32		
38	24.77	24.54	24.66	0.23	1.32	24.96	24.81	24.89	0.15	1.33		
39	26.21	25.98	26.10	0.23	1.34	26.35	26.44	26.40	0.09	1.34		
40	26.51	26.77	26.64	0.26	1.34	26.66	26.78	26.72	0.12	1.35		
	均值 d		0.038	标准差 s	0.42	t_d		0.58	$t_{0.05,39}$	2.023 0		

3 结论

直链淀粉快速检测法可以快速检测大米直链淀粉含量。单次检测时间为3 h,与 GB/T 15683—2008 国标法相比,不仅缩短了检测时间,同时减少了人为误差,提高了检测的准确性、重复性与再现性,测定结果准确可靠,为食品质检和企业生产提供了支撑。

参考文献:

[1]刘娜,王建军,范小娟,王林友,张礼霞. 稻米直链淀粉检测技术的研究现状与展望[J]. 中国粮油学报,2015,30(3):140-146.
 [2]GB/T 17891—1999,优质稻谷[S].
 [3]GB/T 1354—2009,大米[S].
 [4]LS/T 3108—2017,中国好粮油 稻谷[S].
 [5]LS/T 3112—2017,中国好粮油 杂粮[S].
 [6]国家粮食局.《财政部关于印发“优质粮食工程”实施方案的通知》国粮财[2017]180号[Z].2017.