

谷物子粒粗淀粉测定法国家标准的研究和制订

孟广勤

(黑龙江省农科院综合化验室)

1979年谷物子粒粗淀粉测定标准化研究课题协作组,对我国主要谷物子粒粗淀粉测定方法,进行了大量的试验研究工作。现将标准中有关问题简介如下。

一、本标准法的选择过程

目前测定粗淀粉的方法较多,常用的方法有旋光法、容量法和比色法。各类方法因测定原理和测定步骤不同,对测定结果有很大影响。就是同一类方法,对同一样品,因采用不同水解方式,应用不同水解剂,也会得出不同结果。为此很有必要开展粗淀粉测定方法标准化的研究,制订出测定结果准确,操作简便,适于我国实际情况的标准方法。

鉴于国外许多先进国家和学会组织以及国内一些科研、生产单位多采用旋光法测定粗淀粉含量,只是所用淀粉水解剂、蛋白沉淀剂等具体操作技术有差别。我们在参阅和借鉴了国内外有关资料的基础上,首先确定旋光法为主要预选对象,对其各测试条件进行了全面筛选。同时对几个有代表性的容量法和比色法也进行了对比试验。通过对我国几种主要谷物子粒40多个样品,进行了36个试验处理,测出万余个数据,获得了可靠的试验结果。在综合国内外诸方法优点的基础上,形成本标准的操作规程草案。

本标准选用了AOAC、AACC旋光法的淀粉水解剂(氯化钙—乙酸溶液);ICO和TOCT旋光法的蛋白质沉淀剂(硫酸锌—

亚铁氰化钾溶液);和英国分析家杂志(Analyst)介绍用甘油浴加热水解淀粉等测试技术。同时对主要影响因素即淀粉水解温度和水解时间,进行了进一步筛选试验,证明采用在 $119\pm 1^{\circ}\text{C}$ 甘油浴中水解淀粉30分钟(包括回升温度5分钟)等测试条件的旋光法,其测定结果准确,精密度高于Analyst对照法,操作简便,宜于作为国家标准法。

二、对于本标准的说明

(一) 样品粒度的确定

在粗淀粉的测定中,样品粒度直接影响测定结果。国内外许多方法要求样品粒度为80—100目,但目前国内许多基层单位受粉碎机的限制,将样品粉碎过细难以达到。根据我国实际情况,本标准规定样品粒度为60目(0.25mm),符合现有条件的要求。

(二) 水解条件

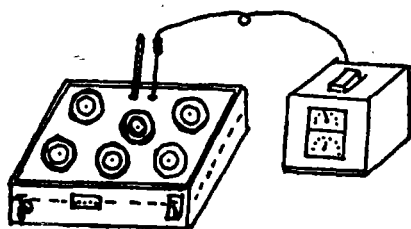
本标准采用甘油浴水解,并将淀粉水解温度较同类对照法(Analyst法)提高 2°C ;水解时间较同类对照法(Analyst法)延长5分钟,对比试验证明本标准较对照法水解溶液过滤快,滤液清晰,加快了分析速度,测定结果与对照法一致,精密度高于对照法,标准法测定淀粉重复间变异系数均在0.1—0.5%之间,而对照法(Analyst)的变异系统

注:参加这项研究工作的有中国农科院综合分析室、山西、广西、甘肃、江苏、湖南、新疆维吾尔自治区、黑龙江和贵州农学院生化室等省农科院分析室。

在 0.2—1.9% 之间。

(三) 甘油加热装置

加热水解淀粉的方式有水浴、油浴(石蜡、食油和甘油)、电炉等多种,其中水浴加热时间长,电炉温度不易控制,而油浴温度较稳定,水解均匀,特别是甘油浴较其它油类沸点高,气味小,试液瓶易洗刷。因此,本标准选用甘油浴水解样品,并设计了具有控制系统的甘油浴锅。详见图示。



(四) 测定结果的精密度

谷物子粒粗淀粉含量较高,均在 50—80%,其平行测定结果间差异大小,直接影响粗淀粉含量的准确度。国际谷物化学协会(ICC)和美国公职分析家协会(AOAC)用旋光法测定粗淀粉均要求两个平行测定旋光值小于 0.06—0.07 度(1dm 旋光管)。按 50%粗淀粉含量计算(2dm 管),其两个平行测定结果相差在 1.18—1.37% 之间,因此,本标准规定两个平行测定结果允许相差为 1%,要求精密度略高于国际标准水平。

谷物子粒粗淀粉测定法

METHOD FOR DETERMINATION OF CRUDE STARCH IN CEREALS SEEDS(The polarimetric method with calcium chloride)

(GB-5006-85)

1. 适用范围

本标准适用于水稻、小麦、玉米、谷子和

高粱等谷物子粒中粗淀粉含量测定。

2. 测定原理

淀粉是多糖聚合物,在一定酸性条件下,以氯化钙溶液为分散介质,淀粉可均匀分散在溶液中,并能形成稳定的具有旋光性的物质。而旋光度的大小与淀粉含量成正比。所以可用旋光法测定。

3. 仪器设备

- (1) 分析天平:感量 0.001g。
- (2) 实验用粉碎机。
- (3) 电热恒温甘油浴锅: $119 \pm 1^\circ\text{C}$, 浴锅内放入工业甘油,液层厚度为 2cm 左右。
- (4) 旋光仪:钠灯,灵敏度 0.01 度。
- (5) 锥形瓶:150、250ml。
- (6) 容量瓶:100ml
- (7) 滤纸直径:15—18cm,中速。

4. 试剂配制

(1) 氯化钙——乙酸溶液:将氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,分析纯)500g 溶解于 600ml 蒸馏水中,冷却后,过滤。其澄清液以波美比重计测定,在 20°C 条件下调溶液比重为 1.3 ± 0.02 。用精密 pH 试纸检查,滴加冰乙酸(GB-676-78,分析纯),粗调氯化钙溶液 pH 值为 2.3 左右。然后再用酸度计准确调 pH 值为 2.3 ± 0.05 。

(2) 30%硫酸锌溶液(W/V):取硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ GB-666-78,分析纯)30g,用蒸馏水溶解并稀释至 100ml。

(3) 15%亚铁氰化钾溶液(W/V):取亚铁氰化钾 $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ GB-1273-77,分析纯]15g,用蒸馏水溶解并稀释至 100ml。

5. 样品的选取和制备

(1) 将样品挑选干净(带壳种子需脱壳),按四分法缩减取样约 20g。

(2) 将选取的样品充分风干或在 $60—65^\circ\text{C}$ 的条件下约烘 6 小时后,粉碎,使 95% 的样品通过 60 目筛,混匀,装入磨口瓶备用。

6. 测定步骤

- (1) 称样

称取样品 2.5g, 准确至 0.001g。同时按 GB-3523383《种子水分测定法》测定水分含量。

(2) 水解

将称好的样品放入 250ml 锥形瓶中, 在水解前 5 分钟左右, 先加 10ml 氯化钙——乙酸溶液湿润样品, 充分摇匀, 不留结块, 必要时可加几粒玻璃珠, 使其加速分散, 并沿瓶壁加 50ml 氯化钙——乙酸溶液, 轻轻摇匀, 避免颗粒粘附在液面以上瓶壁上。加盖小漏斗, 置于 $119 \pm 1^\circ\text{C}$ 甘油浴中, 要求在 5 分钟内达到所需温度, 此时瓶中溶液开始微沸 (注), 继续加热 25 分钟。取出放入冷水槽, 冷却至室温。

注: 通过实测得知氯化钙——乙酸溶液的沸点为 $118-120^\circ\text{C}$, 当甘油浴的温度回升至 $119 \pm 1^\circ\text{C}$ 时, 样品瓶中溶液开始微沸, 因此, 也可据根瓶中液体沸腾程度, 校准控温仪的温度。

(3) 提取

用 30ml 蒸馏水多次冲洗锥形瓶, 将水解液全部转入 100ml 容量瓶中, 加 1ml 硫酸锌溶液, 摇匀, 再加 1ml 亚铁氰化钾溶液, 充分摇匀以沉淀蛋白质。若有泡沫, 可加几滴无水乙醇消除。用蒸馏水定容, 摇匀, 过滤, 弃去 10—15ml 初滤液, 续滤液供 (4) 项测定。

(4) 测定

测定前, 用空白液 (氯化钙——乙酸液: 蒸馏水 = 6:4) 调整旋光仪零点, 再将续滤液装满旋光管, 在 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 下进行旋光测定, 取两次读数平均值。

7. 结果计算

(1) 计算公式

粗淀粉 % (干基)

$$= \frac{a \times 10^6}{L \times W \times 203 \times (100 - H)}$$

a——在旋光仪上读出的旋转角度

L——旋光管长度, dm

W——样品重, g

203——淀粉比旋度

H——样品水分含量 (%)

(2) 结果表示

平行测定的数据用算术平均值表示, 保留小数后两位。

(3) 允许相差

谷物子粒粗淀粉含量的两个平行测定结果的相对相差不大于 1.0%。

样品的脱脂与脱糖

谷物种子内含可溶性糖和脂肪较少, 经过多次洗糖与不洗糖、脱脂与不脱脂对比试验证明, 其中有的谷物子粒 (小麦、水稻、高粱等) 粗淀粉测定结果极相近, 均在允许相差范围之内, 故本标准不要求脱脂与脱糖处理, 如遇有特殊样品 (脂肪含量超过 5%, 可溶性糖含量超过 4%) 需要脱脂或脱糖时, 可将称好样品放入 50ml 离心管中, 用乙醚脱脂, 然后用 60% (以重量计) 热乙醇搅拌, 离心, 倾去上清液, 重复洗至无糖反应为止。最后用 60ml 氯化钙——乙酸溶液将离心管内残留物全部转入 250ml 锥形瓶进行粗淀粉测定。

主要参考资料

1. 耶尔马克夫著: 植物生物化学研究法。
2. 吉尔鲍特著: 酶分析法。
3. 波钦诺克著: 植物生物化学分析方法。
4. "Analyst" Vol 88 P558-560
5. Association of Official Agricultural Chemists Edit 1980, P360
6. Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical chemists 1975, 9, 233—(AOAC 酶解法测定淀粉 1975 年首次批准)。
7. AACC Method 76-10
8. IOC-Standard No 123
9. S.FLFMING and R.D.REOCHERT, Cereal chem, vol, 57 No2 1980, 153