

抗性淀粉测定方法探讨及预处理对 宜糖米抗性淀粉质量分数的影响

周 颖¹, 邹彦平², 姜元荣², 李保国^{*1}

(1. 上海理工大学 医疗器械与食品学院, 上海 200093; 2. 丰益全球研发中心, 上海 200137)

摘要: 为探讨较快速、准确测定大米抗性淀粉质量分数的方法, 研究宜糖米不同预处理方式对抗性淀粉质量分数的影响。首先通过对 AOAC 法和 Goni 法分析对比, 得出 Goni 改进法后, 以抗性淀粉标准品为实验对象, 比较 AOAC 法和 Goni 改进法测定标准品的结果, 选出大米抗性淀粉适合的测定方法; 利用该方法测定了不同预处理后的宜糖米抗性淀粉质量分数。结果表明, AOAC 法操作相对简单、准确性高、稳定性好, 是测定大米抗性淀粉的首选方法; 蒸煮处理能显著提高宜糖米中抗性淀粉质量分数, 且宜糖米加水量越多, 颗粒越细, 淀粉的水解度和糊化度越高, 冷却后形成的 RS 越多。

关键词: 宜糖米; 抗性淀粉; 测定方法; 预处理

中图分类号: TS 201.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)04-0416-04

Detection Methods for Resistance Starch Content of Yi-Tang Rice and Optimization of Pretreatment

ZHOU Ying¹, ZOU Yanping², JIANG Yuanrong², LI Baoguo^{*1}

(1. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. Wilmar Global Research & Development Center, Shanghai 200137, China)

Abstract: A quick and accurate determination of resistant starch (RS) content in rice was studied, and the optimization of pretreatment was investigated on Yi-Tang rice. The comparative study between AOAC method and Goni method was carried out first and an improved Goni method was then established. The standard RS was selected to analyze the RS content detection using AOAC method and the improved Goni method, respectively. The optimal method was thus used to determine the RS content in Yi-Tang Rice. AOAC method was recommended to detect RS content offering simplicity, accuracy and stability. The RS content of Yi-Tang rice could be significantly improved by cooking and steaming. Higher RS content after cooled was achieved under higher hydrolysis degree and gelatinization of starch when more water was added and finer particles were

收稿日期: 2015-05-14

基金项目: 上海市教委科研创新重点项目(14ZZ133); 上海市助推计划项目(LM201364)。

* 通信作者: 李保国(1961—), 男, 河南济源人, 教授, 主要从事食品科学与工程研究。E-mail: lbaoguo@126.com

引用本文: 周颖, 邹彦平, 姜元荣, 等. 抗性淀粉测定方法探讨及预处理对宜糖米抗性淀粉质量分数的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(04): 416-419.

provided.

Keywords: Yi-Tang rice, resistant starch, detection methods, pretreatment

1993年欧洲抗性淀粉协会 EURESTA 将抗性淀粉(Resistant Starch, RS)定义为:不能被健康人体小肠消化吸收的淀粉及其降解产物的总称^[1]。抗性淀粉是一种新的膳食纤维,由于其具有良好的生理功能特性而受到人们的关注。研究表明:RS可预防肠道疾病、降低血糖^[2]、控制体重^[3]和促进矿物质的吸收^[2]。关于抗性淀粉的测定有体内测定法和实验室的体外测定法。体外测定又分为直接法和间接法。间接法是先测定总淀粉含量和可溶性淀粉含量,两者的差值得到抗性淀粉含量。目前,抗性淀粉的测定方法主要有 Berry 法(1986)^[4]、Bjorck 法(1987)^[5]、Champ 法(1992)^[6]、Englyst 法(1992)^[7]、Goni 法(1996)^[8]、AOAC 法(2002)^[9],这些方法有各自特点,较常用的是 Goni 法和 AOAC 法。至今还没有形成一种国标检测方法。

RS 大致分为 5 类,其中 RS3 因具有热稳定性,且能广泛的添加到方便食品中而受到关注。影响 RS3 形成的因素可分为外因和内因。内因主要为内源脂类,外因是指与抗性淀粉制备有关的加工条件、处理方式以及食物形态等。

宜糖米是一种高直链淀粉品系大米,其直链淀粉质量分数约 37.9%,是普通粳米和籼米的近 2 倍,抗性淀粉含量也比普通大米高^[10]。作者先以 RS 标准品为实验对象,选出适合大米抗性淀粉的检测方法,进一步研究预处理方式对宜糖米 RS 质量分数的影响,为大米的加工应用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

宜糖米:浙江绿巨人生物技术有限公司提供;抗性淀粉检测试剂盒:北京博欧实德生物技术有限公司产品。

1.2 仪器与设备

BSA2202S 型电子天平:德国 sartorius 公司产品;RCT BS25 型磁力搅拌器:德国 IKA 公司产品;UV-1800 紫外分光光度计:日本岛津公司产品。

1.3 试验方法

1.3.1 检测原理 将样品用 α -胰淀粉酶和淀粉葡

糖苷酶(AMG)水浴振荡,通过两种酶的联合作用,可使非抗性淀粉被酶水解成 D-葡萄糖,加入等体积的乙醇终止反应,离心弃上清液,底部残留絮状物即为 RS。利用 RS 溶于 KOH 溶液的性质,加入 KOH 溶液使 RS 完全溶解后,添加 AMG 将其定量水解成葡萄糖。水解液经离心取上清液用葡萄糖氧化酶/过氧化物酶试剂(GOPOD)测定 D-葡萄糖。

1.3.2 GOPOD 法测定还原糖质量分数 对于 RS 质量分数<10%的大米样品 RS 水解液,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 0.1 mL 移至试管,加入 3 mL GOPOD 试剂,50 ℃孵育 20 min。以 0.1 mL 醋酸钠缓冲液(pH 4.5)和 3.0 mL GOPOD 为空白试剂,以 0.1 mL D-葡萄糖(1 mg/mL)和 3.0 mL GOPOD 为葡萄糖标准溶液,在 510 nm 下测量溶液相对于空白试剂的吸光值。

1.3.3 两种方法的比较 AOAC 法和 Goni 法测定抗性淀粉(RS)的步骤都有:去除非抗性淀粉、溶解抗性淀粉、水解抗性淀粉,两者主要区别在于前者未去除蛋白质,而后者模拟人体胃液的消化环境,去除了蛋白质。这两种方法测定 RS 时取样量为 0.1 g,通常大米的蛋白质质量分数约 8%,对测定结果影响不大。但 Goni 法更接近真实。第二步,前者采用两种酶联合作用,避免了后者因酶用量不足导致可溶性淀粉去除不完全,而使测定结果偏高;第三步,AOAC 法采用边加入 KOH 溶液边搅拌,避免淀粉结块;结合两种方法的优缺点,得到 Goni 改进法,如表 1 所示,笔者将比较 AOAC 法和 Goni 改进法的 RS 标品测定结果。

对抗性淀粉质量分数为 52.5%的标准品分别采用 AOAC 法、Goni 改进法两种不同的方法测定,比较两种方法测定结果的准确性,并计算出各自的标准偏差和相对标准偏差。

1.3.4 原料的预处理 生米粉:将宜糖米粉碎,过 100 目筛;煮糯米饭:按米水质量体积比 1 g:1.3 mL,温水浸泡 45 min,采用电饭锅蒸煮,跳闸后保温 10 min,冷却至室温待测;煮糯米粥:按米水质量体积比 1 g:9 mL,温水浸泡 45 min 后用电饭锅蒸煮,调至煮粥模式,跳闸后保温 10 min,冷却至室温待测;

表 1 抗性淀粉试剂盒法、Goni 法及 Goni 改进法的比较

Table 1 Comparative study between AOAC, Goni and the improved Goni methods

比较项目	AOAC 法	Goni 法	Goni 改进法
去除蛋白质	—	调节 pH 为 1.5, 胃蛋白酶 37 ℃ 消化 1 h	胃蛋白酶 37 ℃ 消化 1 h
去除非抗性淀粉	pH 6.0, α -胰淀粉酶、AMG 37 ℃ 连续振荡 16 h	调节 pH 为 6.9, α -胰淀粉酶 37 ℃ 连续振荡 16 h	调节 pH 6.0 (同 AOAC 步骤), α -胰淀粉酶、AMG 37 ℃ 连续振荡 16 h
溶解抗性淀粉	边搅拌边加入 2 mol/L KOH, 冰浴 20 min	加入 KOH 后室温振荡 30 min	边搅拌边加入 2 mol/L KOH, 冰浴 20 min
水解抗性淀粉	AMG, 50 ℃ 水浴 30 min, 期间间歇混匀	调节 pH 4.75, AMG, 60 ℃ 水浴振荡 45 min	AMG, 50 ℃ 水浴 30 min, 期间间歇混匀

蒸煮米粉: 取过 100 目的米粉与水按 1:9 加热糊化 20 min, 冷却至室温待测; 上述干样取 0.1 g, 湿样取 0.5 g, 每个样均平行测定 3 次。

1.3.5 数据处理 利用 Excel 进行数据处理和统计分析。

2 结果与讨论

2.1 方法准确性和重复性比较

选取 RS 质量分数 52.5%, moisture 质量分数 14.7% 的标准品, 分别按 AOAC 法和 Goni 改进法测定其 RS 质量分数, 每种方法平行测定 3 次, 结果如表 2 所示。

表 2 两种方法测定抗性淀粉标准品结果比较

Table 2 Detection of standard RS content by AOAC and the improved Goni methods

测定方法	RS 质量分数(平均值)/%	相对标准偏差(RSD)
AOAC	49.88	0.035 0
Goni 改进	46.70	0.114 0

从表 2 可以看出, AOAC 法测定结果更接近于 RS 标品, 该标品测定结果的允许误差为 $\pm 5\%$, AOAC 法测定结果在此范围内, 准确性较高, 而 Goni 改进法测定结果超出了此误差范围, 分析原因可能由于多了胃蛋白酶酶解步骤, 需要更多次调节溶液 pH, 增加了实验误差, 导致结果偏差较大。相对标准偏差又称变异系数, 是标准偏差与其平均数的比值, 它衡量的是样本的变异程度。变异系数消除了不同单位与平均数的影响, 可以用来比较不同样本的相对变异程度。

AOAC 与 Goni 改进法相比, 其 RSD 较小, 说明采用该方法测定的数值变异程度小, 重复性好。故 AOAC 法可选为以下研究的 RS 测定方法。

2.2 原料预处理对 RS 质量分数的影响

对宜糖米进行 4 种不同的预处理后, 采用

AOAC 法进行 RS 质量分数的测定, 结果如表 3, 它们的标准差及变异系数均较小, 测定数据可靠。3 种蒸煮处理后宜糖米比原米粉中的 RS 质量分数都高, 分析原因可能是宜糖米被蒸煮后, 其淀粉发生糊化再冷却, 直链淀粉相互靠近更易形成 RS; 而蒸煮米水比和宜糖米颗粒大小对 RS 质量分数的影响主要由于水分和颗粒大小不同引起淀粉的水解度和糊化度不同所致, 随着加水量的增加, RS 质量分数增高; 蒸煮米粥和蒸煮米粉的 RS 质量分数相近。

表 3 不同预处理方式对宜糖米 RS 质量分数的影响

Table 3 Effects of pretreatment on RS content of Yi-Tang rice

预处理方式	RS 质量分数(平均值)/%	标准差	变异系数
生米粉	1.618	0.039	0.024
蒸煮米饭	4.161	0.210	0.050
蒸煮米粥	6.027	0.029	0.005
蒸煮米粉	6.275	0.123	0.020

3 结 语

通过对抗性淀粉检测方法的比较研究, 得到 AOAC 法与 Goni 法及 Goni 改进法相比, 准确度较高, 结果稳定性好, 是适合大米抗性淀粉的测定方法。由于 RS 含量受多种因素影响, 如颗粒粉碎程度、蒸煮或加工条件等物理因素、pH 和酶活等化学因素, 这就要求检测者必须统一工艺参数, 严格规范操作, 尽量减小操作误差。

宜糖米经蒸煮冷却处理后, RS 含量比原样均有大幅度提高, 说明该品种大米原淀粉在糊化冷却后, 更易于形成 RS; 且加水量越多, 颗粒越细, 淀粉的水解和糊化度越高, 冷却后形成的 RS 越多。

参考文献:

- [1] ENGLYST H N, KINGMAN S M, CUMMINGS J H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions[J]. **European Journal of Clinical Nutrition**, 1992, 46(2): 30-50.
- [2] FUENTES Z E, RIQUELME N M J, SANCHEZ Z E et al. Resistant starch as functional ingredient: A review [J]. **Food Research International**, 2010, 43(4): 931-942.
- [3] WANDERS A J, DE Graaf C, HULSHOF T, et al. Effects of dietary fibre on subjective appetite, energy intake and body weight: a systematic review of randomized controlled trials[J]. **Obesity Reviews**, 2011, 12(9): 724-739.
- [4] BERRY C S. Resistant starch formation; formation and measurement of starch that survives exhaustive Digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre[J]. **Journal of Cereal Science**, 1986(4): 301-314.
- [5] BJORCK I, NYMAN M, PEDERSEN B, et al. On the digestibility of starch in wheat bread studies in vitro and vivo[J]. **Journal of Cereal Science**, 1986(4): 1-11.
- [6] CHAMP M. Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study[J]. **European Journal of Clinical Nutrition**, 1992, 46(2): 51-62.
- [7] ENGLYST H, WIGGINS H L, CUMMINS J H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates[J]. **Analyst**, 1982, 107: 307-318.
- [8] GONI L, GARCIA-DIZ E, MANAS F, et al. Analysis of resistant starch: a method for foods and food products [J]. **Food Chemistry**, 1996: 564.
- [9] AOAC. Resistant starch in starch and plant materials[S]. AOAC Official Method, 2002.

会 议 消 息

会议名称(中文): 第三届合成生物学青年学者论坛

所属学科: 生物物理学、生物化学及分子生物学、细胞生物学、生物技术与生物工程

开始日期: 2017-07-01

结束日期: 2017-07-02

所在城市: 上海市 徐汇区

具体地点: 中国科学院植物生理生态研究所

主办单位: 中国科学院植物生理生态研究所、中国科学院合成生物学重点实验室

协办单位: 上海交通大学 华东师范大学 华东理工大学 上海合成生物学创新战略联盟 中国生物工程学会青年工作委员会 上海市生物工程学会合成生物学专业委员会

摘要截稿日期: 2017-05-31

联系人: 卢艳娜

联系电话: 021-54924292

E-MAIL: synbioysf2017@163.com

会议网站: <http://synbioysf2017.sippe.ac.cn/>

会议背景介绍: 继第二届合成生物学青年学者论坛在北京大学召开之后, 由中国科学院合成生物学重点实验室主办的第三届论坛将于 2017 年 7 月 1 日-2 日在中科院植物生理生态研究所召开。“合成生物学青年学者论坛”由活跃于合成生物学领域的一群青年学者于 2015 年发起组织, 旨在着眼于最前沿的合成生物科学理论与技术, 紧密链接世界顶尖水平的合成生物学研究, 为国内外志同道合的青年合成生物学研究者提供一个交流合作的平台。

征文范围及要求: 基因组合成与编辑, 优质元件与底盘设计, 线路设计和动态调控代谢工程, 基于基因和细胞的疾病治疗, 环境修复, 新技术与理论, 生物安全与伦理