

# 马铃薯中直链淀粉和支链淀粉含量测定方法的优化

王 丽,罗红霞,李淑荣\*,刘小飞,潘 妍,徐毓谦  
(北京农业职业学院,北京 102442)

**摘要:**本文以马铃薯为原料,优化马铃薯淀粉预处理方法,改善直链淀粉和支链淀粉的测定波长,完善淀粉的测定方法。采用直链淀粉和支链淀粉标准品绘制标准曲线,以未经过脱糖脱脂、脱脂、脱糖、先脱糖后脱脂、先脱脂后脱糖为样品预处理方法,分析不同预处理方法对直链淀粉和支链淀粉含量的影响。结果表明,直链淀粉和支链淀粉的最大吸收波长分别为 609 nm 和 546 nm,参比波长分别为 473 nm 和 734 nm。标准方程回归系数均大于 0.999。先脱脂后脱糖样品颗粒溶解性好,支链淀粉含量为 70.27%,直链淀粉含量为 12.38%。因此,采用先脱脂后脱糖处理样品,在双波长法条件下可以准确测定马铃薯中直链淀粉和支链淀粉含量。

**关键词:**马铃薯,直链淀粉,支链淀粉,双波长比色法

## Optimization for determination of content of amylose and amylopectin in potato

WANG li, LUO Hong-xia, LI Shu-rong\*, LIU Xiao-fei, PAN yan, XU Yu-qian

(Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442, China)

**Abstract:** This paper used the potato as material, optimized the pretreatment method, improved measure method of the amylose and amylopectin, completed the potato starch analysis method. Standard material of amylose and amylopectin was used to draw the standard curve. Five samples, including no desugar and no degrease, degrease, desugar, desugar first than degrease, degrease first than desugar, was used to analysis the content of amylose and amylopectin. The result showed that the maximum absorption wavelength of amylose and amylopectin was 609 nm and 546 nm, reference wavelength was 473 nm and 734 nm, respectively. The coefficient of standard equation regression was higher than 0.999. The sample of degrease first than desugar had good solubility, the content of amylopectin and amylose was 70.27% and 12.38%, respectively. So the degrease first than desugar was a good pretreatment method, which can be accuracy analysis the content of amylose and amylopectin at the dual-wavelength.

**Key words:** potato; amylose; amylopectin; dual-wavelength colorimetry

中图分类号: TS231

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)17-0220-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.17.042

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是茄科茄属多年生块茎草本植物,营养丰富,素有“地下苹果”和“第二面包”之称<sup>[1]</sup>。马铃薯是世界上重要的作物之一,是仅次于小麦、水稻、玉米的第四大粮食作物,据联合国粮农组织统计资料显示,2014年我国马铃薯种植面积和产量均占世界的 1/4 左右,已经成为马铃薯生产和消费第一的大国<sup>[2]</sup>。

鲜马铃薯中淀粉含量为 9%~25%,还原糖含量为 0.22%~1.60%,粗蛋白含量为 0.2%~2.6%,脂肪含量大约为 0.1%~0.5%<sup>[3-5]</sup>。马铃薯淀粉中大约有 12%~20% 的直链淀粉和 70%~82% 的支链淀粉,并且不同品种中直链淀粉和支链淀粉的含量变化幅度

很大<sup>[6]</sup>。研究表明,直链淀粉含量越高,抗消化性越强,糊化峰值黏度、最终黏度、破损值、回复值也越高,支链淀粉含量越高,抗老化性越强,冻融稳定性好,膨胀性高、吸水性强<sup>[7-9]</sup>。马铃薯中直链淀粉-碘结合物的吸收波长为 500~800 nm,支链淀粉-碘结合物的吸收波长为 500~600 nm,前者覆盖了后者,对马铃薯直链淀粉含量的测定会产生一定的干扰作用<sup>[10]</sup>。Zhu<sup>[11]</sup>, Hovenkamp Hermelink<sup>[12]</sup> 将双波长比色法同 DSC 法、HPSEC 法和酶法(直链淀粉/支链淀粉试剂盒)进行了比较,发现双波长比色法是最准确和最有应用价值的方法。曾凡逵<sup>[13]</sup>、刘轶<sup>[14]</sup> 均是直接优化了马铃薯中直链淀粉和支链淀粉的双波长测定范

收稿日期: 2017-01-13

作者简介: 王丽(1982-),女,博士,研究方向:农产品质量与食品安全, E-mail: wangli2008\_beijing@163.com。

\* 通讯作者: 李淑荣(1968-),女,博士,教授,主要从事粮油、果蔬产品加工与质量检测研究, E-mail: shurongl@hotmail.com。

基金项目: 北京农业职业学院博士基金项目(XY-BS-16-04)。

围,未对样品预处理方法进行优化,而马铃薯中的脂肪和糖类对淀粉含量的测定会有一定的影响<sup>[15-17]</sup>,因此,优化马铃薯淀粉测定前处理方法,可以较准确的测定马铃薯淀粉中的直链淀粉和支链淀粉含量。

为了准确的测定马铃薯中直链淀粉和支链淀粉的含量,本文优化了马铃薯中直链淀粉和支链淀粉测定的前处理方法,完善了马铃薯直链淀粉和支链淀粉的双波长测定范围,通过该预处理方法的建立和双波长测定范围的界定,可以准确测定马铃薯样品中直链淀粉和支链淀粉含量,为不同品种马铃薯的鉴定和马铃薯新品种的育种提供了依据,为马铃薯淀粉的加工利用提供了技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

马铃薯(荷兰薯) 北京市蔬菜合作社;直链淀粉标准品、支链淀粉标准品 Sigma 公司;碘化钾、碘、无水乙醇、盐酸、石油醚、氢氧化钾等均为分析纯 北京北化试剂公司。

DK-S28 水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;DHG-9053 烘箱 上海一恒科学仪器有限公司;UV-2550 紫外分光光度计 岛津公司;PHS-3E pH 酸度计 上海仪电科学仪器股份有限公司;FW177 粉碎机 天津市泰斯仪器有限公司;FA2204B 电子天平 上海舜宇恒平科学仪器有限公司;JJ2 组织捣碎机 金坛市城东新瑞仪器厂。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 直链淀粉和支链淀粉标准曲线的绘制

1.2.1.1 直链淀粉、支链淀粉标准原液 精确称取 0.1000 g 直链淀粉/支链淀粉标准品,加入几滴无水乙醇润湿后,加入 0.5 mol/L KOH 溶液 10 mL,在 (80 ± 1) °C 水浴溶解后定容至 100 mL 容量瓶中,得到 1 mg/mL 的直链淀粉/支链淀粉标准原液<sup>[18-19]</sup>。

1.2.1.2 直链淀粉和支链淀粉波长范围扫描及标准吸收曲线 吸取 1 mg/mL 直链淀粉标准原液 1 mL,加入双蒸水 20 mL,以 0.1 mol/L HCl 将溶液 pH 调至 3.0,加入碘试剂 0.5 mL,用双蒸水定容至 50 mL 容量瓶中,静置 20 min,待测;吸取 1 mg/mL 支链淀粉标准原液 3 mL,其他处理同直链淀粉;不加任何标准品,其他试剂同标准液制备,作为空白液<sup>[18-19]</sup>;将直链淀粉和支链淀粉的标准液在紫外可见分光光度计(波长范围为 400~900 nm)中扫描,根据峰图分析最大吸收波长和参比波长。根据确定的最大吸收波长和参比波长进行直链淀粉和支链淀粉吸光度的测量。直链淀粉分别在最大吸收波长( $\lambda_1$ )和参比波长( $\lambda_3$ )下测定吸光度,以直链淀粉浓度( $\mu\text{g/mL}$ )为横坐标,以  $\Delta A_{\text{直}} = (A_{\lambda_1} - A_{\lambda_3})$  为纵坐标,绘制直链淀粉标准曲线。支链淀粉分别在最大吸收波长( $\lambda_2$ )和参比波长( $\lambda_4$ )下测定吸光度,以支链淀粉浓度( $\mu\text{g/mL}$ )为横坐标,以  $\Delta A_{\text{支}} = (A_{\lambda_2} - A_{\lambda_4})$  为纵坐标,绘制支链淀粉标准曲线。

1.2.2 样品的制备 称取去皮马铃薯 1500 g,切片后 40 °C 烘干,粉碎过 80 目筛,放入封口袋中保存备用。

1.2.3 样品中水分的测定 水分测定采用直接干燥法测定<sup>[20]</sup>。

1.2.4 样品预处理方法的优化 参考刘襄河<sup>[18]</sup>和 Zhou<sup>[19]</sup>,略有改动。

1.2.4.1 未经过脱糖脱脂处理样品 称取 0.1 g 样品加入 0.5 mol/L KOH 溶液 10 mL,在 (80 ± 1) °C 水浴中溶解 10 min 后,定容于 50 mL 容量瓶中,吸取样品液 2.5 mL,加入 20 mL 双蒸水,用 0.1 mol/L HCl 将溶液 pH 调至 3.0,加入碘试剂 0.5 mL,用双蒸水定容至 50 mL 容量瓶中,静置 20 min 待测,记作样品 1,同时做空白样品。

1.2.4.2 脱脂处理样品 称取 0.5 g 样品,用 20 mL 石油醚分 4 次洗出脂肪,放入恒重铝盒中在通风橱内进行完全挥发。随后在 105 °C 的烘箱中烘干至恒重,称量脱脂样品按照方法 1.2.4.1 继续处理备用,记作样品 2。

1.2.4.3 脱糖处理样品 称取 0.5 g 样品,用 20 mL 85% 乙醇分 4 次洗出可溶性糖,残留物转移至恒重铝盒中在通风橱内进行完全挥发。随后在 105 °C 烘箱中进行烘干至恒重,称量脱糖样品按照方法 1.2.4.1 继续处理备用,记作样品 3。

1.2.4.4 先脱糖后脱脂处理样品 称取 0.5 g 样品,按照上述 1.2.4.3、1.2.4.2 方法先脱糖后脱脂的方法处理样品,残留物转移至恒重铝盒中在通风橱内进行完全挥发。随后在 105 °C 的烘箱中进行烘干至恒重,称量脱糖脱脂样品按照方法 1.2.4.1 继续处理备用,记作样品 4。

1.2.4.5 先脱脂后脱糖处理样品 称取 0.5 g 样品,按照上述 1.2.4.2、1.2.4.3 方法先脱脂后脱糖的方法处理样品,残留物转移至恒重铝盒中在通风橱内进行完全挥发,随后在 105 °C 的烘箱中进行烘干至恒重,称量脱脂脱糖样品按照方法 1.2.4.1 继续处理备用,记作样品 5。

1.2.5 样品中直链淀粉和支链淀粉含量的测定 分别称取 0.1 g 样品 1~5 各加入 0.5 mol/L KOH 溶液 10 mL,在 (80 ± 1) °C 水浴溶解 10 min 后,定容于 50 mL 容量瓶中,在吸取样品液 2.5 mL,加入 20 mL 双蒸水,用 0.1 mol/L HCl 将溶液 pH 调至 3.0,加入碘试剂 0.5 mL,用双蒸水定容至 50 mL 容量瓶中,静置 20 min。

### 1.3 数据处理

直链淀粉和支链淀粉浓度采用标准曲线方程进行计算:

$$\begin{aligned} & \text{直链淀粉}(\%) \\ &= \frac{Y_{\text{直}} \times 50 \times 50 \times (1 - W_1 - W_2 - W_3 - W_4)}{2.5 \times M \times 1000000} \times 100 \\ & \text{支链淀粉}(\%) \\ &= \frac{Y_{\text{支}} \times 50 \times 50 \times (1 - W_1 - W_2 - W_3 - W_4)}{2.5 \times M \times 1000000} \times 100 \end{aligned}$$

式中:Y 为标准曲线中计算出的直链淀粉或支链淀粉浓度( $\mu\text{g/mL}$ );50 为两次定容的体积(mL); $W_1$  为原有样品中水分含量(%); $W_2$  为原有样品中脱脂后减少量(%); $W_3$  为原有样品脱糖后减少量(%); $W_4$  为原有样品脱糖脱脂减少量(%);2.5 为吸

取测定样品体积数(mL);M为测定用样品重(g)。

实验数据重复三次,采用平均数±标准差表示,所有数据采用SPSS 18.0进行方差分析、显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 直链淀粉和支链淀粉测定波长的选择

将直链淀粉和支链淀粉分别在400~900 nm光谱范围内进行扫描,结果如图1所示。图1中可以看出,直链淀粉和支链淀粉的最大吸收波长分别是609 nm( $\lambda_1$ )和546 nm( $\lambda_2$ )。根据等吸收点作图法确定直链淀粉和支链淀粉的参比波长分别为473 nm( $\lambda_3$ )和734 nm( $\lambda_4$ )。

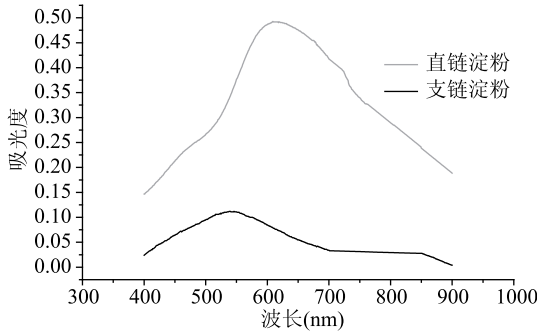


图1 直链淀粉和支链淀粉扫描图谱

Fig.1 Scanning atlas of amylose and amylopectin

### 2.2 双波长法测定直链淀粉和支链淀粉标准曲线的绘制

直链淀粉标准曲线如图2所示。回归方程为 $y = 0.0125X - 0.0035$ ,回归系数 $R^2 = 0.9996$ 。支链淀粉标准曲线如图3所示。回归方程为 $y = 0.0021X - 0.0015$ ,回归系数 $R^2 = 0.9992$ 。直链淀粉和支链淀粉回归方程的回归系数均大于0.999,均达到了极显著水平,说明使用该双波长法绘制的标准曲线线性好。

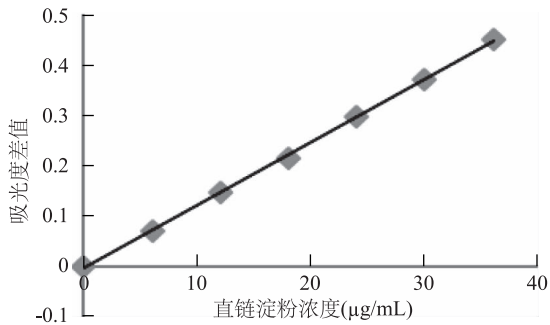


图2 直链淀粉的标准曲线

Fig.2 Standard curve of amylose

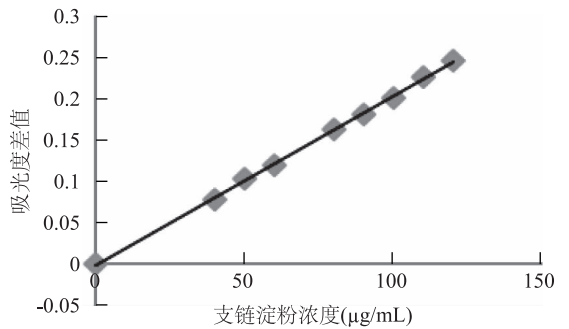


图3 支链淀粉标准曲线

Fig.3 Standard curve of amylopectin

### 2.3 不同预处理方法对样品中直链淀粉和支链淀粉含量的影响

只进行脱糖或经过先脱糖后脱脂的样品成凝结的颗粒状,在1.2.5处理过程中出现不溶的情况,影响了吸光度的测定,而只进行脱脂或先脱脂再脱糖的样品在1.2.5处理中溶解性较好(结果如表1所示)。

从表1中可以看出,不同样品中直链淀粉和支链淀粉差异显著( $p < 0.05$ ),其中样品1和样品4淀粉总含量大于100%,而样品中还含有脂类、糖类、水分等其他物质,因此,得知该二种预处理方法不能准确测定样品中直链淀粉和支链淀粉的含量,样品2和样品3中的淀粉总含量分别为95.79%和95.57%,而由水分测定结果可知,样品中的水分含量为7.92%,与淀粉总量之和同样大于100%,因此以上四种方法均不是测定马铃薯淀粉中直链淀粉和支链淀粉的有效方法,分析其原因,主要是以上四种预处理方法中淀粉在测定过程中有难以溶解的颗粒,使得紫外分光光度测定过程中阻碍了光线的透过,影响了测定结果。该研究结果与曾凡逵<sup>[14]</sup>研究结果相一致,可能是由于这些样品中淀粉颗粒溶胀不够充分,仍然呈颗粒状的淀粉与碘试剂反应时,颗粒表面的淀粉分子与碘结合形成在水溶液中肉眼能观察到的悬浮物,这种悬浮物静置后会同普通淀粉一样沉降,由此对检测结果造成影响。而样品5通过先脱脂后脱糖的方法,获得样品的溶解度好,透明性好,测定得到支链淀粉含量为70.27%,直链淀粉含量为12.38%,测定结果准确,该结果与文献研究结果<sup>[15-16]</sup>相一致,如黄立飞<sup>[15]</sup>比较分析了脱脂、脱糖和脱脂脱糖三种预处理方法对甘薯中直链淀粉含量的测定分析,结果表明未脱糖处理的样品中测定结果最小。王广鹏<sup>[16]</sup>研究了脱糖、脱脂、脱糖脱脂对板栗支链淀粉含量的影响,结果表明经过脱脂脱糖处理后,支链

表1 直链淀粉和支链淀粉在不同处理条件下的含量及溶解性(%)

Table 1 The content and solubility of amylose and amylopectin at different treat condition (%)

样品名称	支链淀粉含量	直链淀粉含量	总量	溶解性
样品1	74.72 ± 0.39 <sup>c</sup>	29.79 ± 0.32 <sup>c</sup>	104.51 ± 0.07 <sup>c</sup>	有微小凝结核
样品2	71.85 ± 0.93 <sup>b</sup>	23.93 ± 0.60 <sup>b</sup>	95.79 ± 0.33 <sup>b</sup>	全部溶解
样品3	72.03 ± 0.71 <sup>b</sup>	23.53 ± 0.22 <sup>b</sup>	95.57 ± 0.50 <sup>b</sup>	有凝结核
样品4	80.56 ± 0.19 <sup>d</sup>	33.44 ± 0.07 <sup>d</sup>	114.00 ± 0.13 <sup>d</sup>	有凝结核
样品5	70.27 ± 0.05 <sup>a</sup>	12.38 ± 0.32 <sup>a</sup>	82.65 ± 0.37 <sup>a</sup>	全部溶解

注:字母表示不同样品间的差异性( $p < 0.05$ )。

淀粉含量比其他处理方法高5%,说明糖和脂肪存在对支链淀粉的测定具有显著的干扰作用。

直链淀粉和支链淀粉含量与加工产品品质之间关系密切,准确测定两种淀粉含量对原料的加工利用具有较好的推动作用。如Noda<sup>[21]</sup>得出直链淀粉含量与面条感官评价的硬度、弹性、光滑性呈极显著负相关。董凯娜等<sup>[22]</sup>分析结果表明,总淀粉含量、直链淀粉含量和直/支比例与面条粘聚性和回复性呈显著或极显著正相关。Lagassé<sup>[23]</sup>研究了随着直链淀粉含量的增加,面条的硬度增加,粘度减小。目前关于小麦的直链淀粉和支链淀粉含量与面条的品质特性之间具有显著的关系,而关于马铃薯直链淀粉和支链淀粉与产品品质间关系的研究未见报道,因此,通过本研究可以为马铃薯的加工利用提供较好的理论依据。

### 3 结论

本文确定了马铃薯直链淀粉和支链淀粉的最大吸收波长分别是609 nm和546 nm,参比波长分别为473 nm和734 nm。

分析比较了不同预处理方法测定马铃薯直链淀粉和支链淀粉,结果发现先脱脂再脱糖的预处理方法,可以获得马铃薯样品溶解度好,透明度高,马铃薯直链淀粉和支链淀粉测定结果准确的方法。

### 参考文献

- [1] Camire ME, Kubow S, Donnelly DJ, et al. Potatoes and human health[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2009, 49(10): 823-840.
- [2] FAO, <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>, 2017.
- [3] 马晓东, 钟浩. 马铃薯淀粉的研究及在工业中的应用[J]. *农产品加工(学刊)*, 2008, 2: 59-62.
- [4] 张良. 马铃薯部分品质性状近红外模型的建立及育种应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [5] 盛万民. 中国马铃薯品质现状及改良对策[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(2): 166-170.
- [6] Ngobese N Z, Workneh T S, Alimi B A, et al. Nutrient composition and starch characteristics of eight European potato cultivars cultivated in South Africa [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2017, 55: 1-11.
- [7] Menzel C, Andersson M, Andersson R, et al. Improved material properties of solution - cast starch films: Effect of varying amylopectin structure and amylose content of starch from genetically modified potatoes [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 130: 388-397.
- [8] Nazarian - Firouzabadi F., Visser RGF. Potato starch

synthases: Functions and relationships [J]. *Biochemistry and Biophysics reports*, 2017, 10: 7-16.

- [9] Lu ZH, Donner E, Yada RY, et al. Physicochemical properties and *in vitro* starch digestibility of potato starch/protein blends [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 154: 214-222.
- [10] Pinhero RG, Waduge RN, Liu Q, et al. Evaluation of nutritional profiles of starch and dry matter from early potato varieties glycemic impact [J]. *Food Chemistry*, 2016, 203(15): 356-366.
- [11] Zhu T, Jackson DS, Wehling RL. Comparison of amylase determination methods and the development of a dual wavelength iodine binding technique [J]. *Cereal Chemistry*, 2008, 85: 51-58.
- [12] Hovenkamp-Hermelink JHM, De Vries JN, Adamse P, et al. Rapid estimation of the amylase/amylopectin ratio in small amounts of tuber and leaf tissue of the potato [J]. *Potato Research*, 1988, 31(2): 241-246.
- [13] 刘轶, 冯涛, 酃芳玲, 等. 双波长测定马铃薯淀粉中直链淀粉含量[J]. *食品工业*, 2016, 37(2): 164-166.
- [14] 曾凡远, 赵鑫, 周添红, 等. 双波长比色法测定马铃薯直链/支链淀粉含量[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(1): 119-122.
- [15] 黄立飞, 房伯平, 陈景益, 等. 单波长比色法测定甘薯直链淀粉含量[J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(5): 100-104.
- [16] 王广鹏, 刘庆香, 孔德军, 等. 板栗支链淀粉含量的双波长测定方法[J]. *河北农业科学*, 2008, 12(1): 35-37.
- [17] 陈丽娜, 石矛. 双波长法测定油莎豆直、支链淀粉含量的研究[J]. *食品科技*, 2010, 35(8): 325-327.
- [18] 刘襄河, 郑丽璇, 郑丽勉, 等. 双波长法测定常用淀粉原料中直链淀粉、支链淀粉及总淀粉含量[J]. *广东农业科学*, 2013, 18: 97-99.
- [19] Zhou HX, Wang CJ, Shi L, et al. Effects of salts on physicochemical, microstructural and thermal properties of potato starch [J]. *Food Chemistry*, 2014, 156(1): 137-143.
- [20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中水分的测定[S]. GB 5009.3-2016.
- [21] Noda T, Tohnooka T, Taya S, et al. Relationship between physicochemical properties of starches and white salted noodle quality in Japanese wheat flours [J]. *Cereal Chemistry*, 2001, 78(4): 395-399.
- [22] 董凯娜. 小麦品种淀粉特性与面条质量关系的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2012.
- [23] Lagassé S L, Hatcher D W, Dexter J E, et al. Quality Characteristics of Fresh and Dried white Salted Noodles Enriched with Flour from Hull-less [J]. *Cereal Chemistry*, 2006, 83(2): 202-210.

(上接第94页)

- [32] Wang R R, Ding S H, Zhao D D, et al. Effect of dehydration methods on antioxidant activities, phenolic contents, cyclic nucleotides, and volatiles of jujube fruits [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2016, 25(1): 137-143.
- [33] Plotto A, Margarita C A, Goodner K L, et al. Odour and flavour thresholds for key aroma components in an orange juice matrix: esters and miscellaneous compounds [J]. *Flavour and*

*Fragrance Journal*, 2008, 23(6): 398-406.

- [34] Krokida M K, Philippopoulos C. Volatility of apples during air and freeze drying [J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 73(2): 135-141.
- [35] 毕金峰, 于静静, 丁媛媛, 等. 固相微萃取 GC-MS 法测定不同干燥方式下枣产品的芳香成分[J]. *现代食品科技*, 2011, 27(3): 354-360.