

# 直链淀粉含量及检测方法与抗性淀粉增抗效应研究

顾振宇<sup>1</sup>, 樊镇棣<sup>2</sup>, 黄赣辉<sup>2,\*</sup>, 邓丹雯<sup>2</sup>, 余飞<sup>2</sup>

(1. 浙江工商大学 食品安全浙江省重点实验室, 浙江 杭州 310035

2. 南昌大学 食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047)

**摘要:** 直链淀粉含量及其品质对抗性淀粉的形成有着重要的影响, 采用碱液分散法和碘吸光度法测量早米淀粉、葛根淀粉、青稞淀粉、绿豆淀粉、高粱淀粉、藕淀粉 6 种淀粉类原料的直链淀粉含量, 采用循环老化工艺增抗并测定抗性淀粉含量, 结果表明, 抗性淀粉的得率与原料中的直链淀粉含量有密切的关系, 同时, 也与各淀粉中直链淀粉和支链淀粉的分子结构、平均聚合度有一定关系, 与碘吸光度法相比, 碱液分散法测得的直链淀粉含量能更好地预测原料淀粉增抗后的抗性淀粉得率。

**关键词:** 表观直链淀粉; 抗性淀粉; 真实直链淀粉

Study on Amylose Content Determination and Resistant Starch Resistance-boosting Effects

GU Zhen-yu<sup>1</sup>, FAN Zhen-di<sup>2</sup>, HUANG Gan-hui<sup>2,\*</sup>, DENG Dan-wen<sup>2</sup>, YU Fei<sup>2</sup>

(1. Food Safety Key Laboratory of Zhejiang Province, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China

2. Key Laboratory of Food Science, Ministry of Education, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** Amylose content and quality are important factors in the formation of resistant starch. As indicated by measuring the amylose content in the following 6 kinds of materials such as early rice starch, kudzu vine root starch, highland barley starch, mung bean starch, broomcorn starch and lotus root starch via alkali-solution decentralization and iodine-absorbency, the amount of resistant starch obtainable is closely related to the amylose content in the materials, and is also affected by the molecule structure and the average degree of polymerization of amylose and amylopectin. Compared with iodine-absorbency, alkali-solution decentralization is superior in measuring the amylose content to pre-judge the amount of resistant starch obtainable.

**Key words** apparent amylose; resistant starch; true amylose

中图分类号: TS231

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)01-0074-04

抗性淀粉(resistant starch, RS)是指在健康人体小肠中不能被消化但却可在大肠中被微生物分解的淀粉及其降解物<sup>[1]</sup>。抗性淀粉对糖尿病和结肠癌具有预防和辅助治疗效果的食物, 在肥胖食品中也具有很重要的价值。抗性淀粉一般分为四种: RS<sub>1</sub>、RS<sub>2</sub>、RS<sub>3</sub>、RS<sub>4</sub>, RS<sub>1</sub>和RS<sub>2</sub>与原料淀粉的颗粒状态及成熟度有关, RS<sub>1</sub>型淀粉是指淀粉酶无法接近的淀粉; RS<sub>2</sub>型淀粉是指天然具有抗消化性的淀粉, 因其物质结构如结晶结构、密度大等特点而产生抗消化性。RS<sub>3</sub>是指糊化后又冷却老化的淀粉, RS<sub>4</sub>主要指化学改性淀粉, 如交联淀粉、接枝频率较高的接枝淀粉等。RS<sub>3</sub>和RS<sub>4</sub>均在加工过程中

形成, 是目前抗性淀粉主要的研究领域。RS<sub>3</sub>的形成与淀粉的糊化和老化有关, 其得率与淀粉中的直链淀粉含量、直支比、淀粉分支状况、淀粉链长度有关, 还与原料中淀粉的共存物的性质与含量有关, 其中, 直链淀粉含量是决定抗性淀粉得率的主要原因, 技术方法上主要通过促进淀粉的老化而得到<sup>[2-6]</sup>。

直链淀粉和支链淀粉在结构和性质上都存在着本质的区别, 直链淀粉是指由葡萄糖单位通过 $\alpha$ -1, 4糖苷键连接的线形分子形成的长链, 葡萄糖单元平均有200~980多个; 支链淀粉是由多个直链淀粉通过 $\alpha$ -1, 6糖苷键形成侧链, 在侧链上还会形成另一个分支的侧链, 因此

收稿日期: 2006-12-15

基金项目: 江西省科技厅农业攻关项目(20041B0206300); 浙江省食品安全重点实验室引导项目(ZFSKL0411)

作者简介: 顾振宇(1965-), 男, 副教授, 主要从事食品产品开发与消费品质研究。E-mail: guzy84@163.com

\*通讯作者: 黄赣辉(1968-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品加工。E-mail: ghhuang@ncu.edu.cn

结构复杂,分子量也更为巨大,两种在糊化和老化过程中,表现出极大的差异性<sup>[7]</sup>,也影响着抗性淀粉生成及其得率。

直链淀粉含量检测的方法主要有碘分光光度法、碘电位滴定法以及碱液分散法等,分别利用直、支链淀粉与碘络合生成深蓝色、棕红色复合物,采用双波长分光光度法分别测定直、支链淀粉在波长下的吸光度值,从而测定直链淀粉的含量;碘的氧化还原电位以及碱液条件下直链淀粉从卷曲支链淀粉游离并与正丁醇形成大玫瑰花形晶体络合物<sup>[8]</sup>的特点来检测分析不同淀粉原料中直链淀粉的含量。由于支链淀粉长链也能与碘发生碘反应,由此,经典碘反应(classical iodine reaction)测得的直链淀粉往往是高估的<sup>[9]</sup>,碘反应获得直链淀粉含量一般也被称作为表观直链淀粉(apparent amylose, AA),或者又称之为等效直链淀粉(amylose-equivalent, AE),因此,真实的直链淀粉含量往往要低于通过碘反应测得的数据,也能更客观地预示经增抗处理后原料淀粉中的抗性淀粉的含量。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 材料与试剂

早籼米淀粉(金优402,产自江西玉山) 市售;葛根淀粉(赣葛5号) 江西玉山新田园公司;青稞(阿青4号,产自西藏拉萨) 市售;绿豆淀粉 河北景县淀粉厂;高粱淀粉(产自河北任丘) 市售;藕淀粉(产自江西广昌) 市售。所有淀粉均经300目尼龙滤布过滤除杂,静水沉澄三次,去除上层浮粉和下层泥沙杂质后,于40℃鼓风干燥备用。使用前,所有原料淀粉均置于干燥皿中平衡水分48h。

NaOH、HCl、正丁醇、异戊醇、乙醇(95%)、甲醇(85%)、碘、碘化钾,均为分析纯; $\alpha$ -淀粉酶(2万U/ml) 无锡杰能科公司;葡萄糖淀粉酶(10万U/ml) 泰安华星公司;直链淀粉A0512 Sigma公司;支链淀粉10118 Fluka公司。

碘试剂配制方法:用具盖称量瓶称取 $2.000 \pm 0.005$ g碘化钾,加适量的水以形成饱和溶液,加入 $0.200 \pm 0.001$ g碘,碘全部溶解后将溶液定量移至100ml容量瓶中,加水至刻度,摇匀。

#### 1.1.2 仪器与设备

高速离心机(Anke TDL-5-A centrifuge)、分光光度计(BECKMAN DU640);恒温水浴锅、鼓风干燥箱、电子天平等。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 碱液分散法直链淀粉的提取与测量

本研究采用碱液分散法提取直链淀粉<sup>[10]</sup>。取10g原料淀粉,研碎,加入20ml无水乙醇充分润湿,加入200ml浓度为0.5mol/L的NaOH溶液,充分搅拌,在沸水浴中加热10~15min至溶液透明无团块;随后降温至室温,加入40~50ml浓度为2mol/L的HCl溶液调至中性(pH7~7.5);加入90ml正丁醇-异戊醇混合液,在沸水浴中搅拌20min至溶液透明;冷却至室温,4℃静置12h后,4500r/min离心20min,去除上清液,沉淀物用正丁醇饱和水溶液洗涤收集,完成一次结晶过程;沸水浴5~5min搅拌,冷却至室温,如此反复结晶三次,离心沉降后的直链淀粉以无水乙醇洗涤,浸泡24h,再次离心后以无水乙醇或95%乙醇洗涤三次,抽滤,60℃干燥8h,80℃至恒重,称量结果即为碱液法提取直链淀粉,通过计算可获得相应原料淀粉直链淀粉含量值。

#### 1.2.2 表观直链淀粉测定

本研究采用碘吸光度法测量直链淀粉含量<sup>[11]</sup>,参见中华人民共和国国家标准GB/T 15683—1995中稻米——直链淀粉含量的测定。

#### 1.2.3 抗性淀粉增抗及含量测定

##### 1.2.3.1 增抗方法

称取6g原料淀粉,以蒸馏水配制成6%的淀粉乳浆,盛淀粉乳浆烧杯在水浴锅中95~100℃恒温搅拌糊化30min;自来水冷却至室温后,入低温冷柜冻藏至中心温度为-18℃(约3h);取出,再次于95~100℃恒温搅拌糊化30min,并第二次冻藏循环老化<sup>[12]</sup>。

##### 1.2.3.2 抗性淀粉含量测定

采用美国分析化学家学会(AOAC)推荐的酶-重力法测量各淀粉增抗后的抗性淀粉含量<sup>[13]</sup>。首先将经过老化处理的淀粉用高温淀粉酶在93℃水浴中搅拌酶解30min,加酶量以每克淀粉干基500单位,然后升温至100℃灭酶15min;冷却至60℃,以10mmol/L浓度HCl液调节物料pH值为4.5,加入葡萄糖淀粉酶(5000U/干基淀粉)水浴中继续水解上述淀粉30min后,取出冷却至室温;将淀粉水解液布氏漏斗抽滤,沉淀用蒸馏水洗涤三次以上;沉淀在80℃条件下干燥,105℃恒重,冷却称重,获得RS含量,并计算RS得率。

## 2 结果与分析

### 2.1 碱液分散法和碘吸光度法测得直链淀粉含量

图1是以直链淀粉和支链淀粉标准品采用碘吸光度法得到的标准工作曲线,早籼米、高粱、藕、青稞、绿豆和葛根六种原料淀粉直链淀粉的含量分别为14.4%、24.2%、28.7%、27.6%、23.7%及23.3%;采用碱液分散测得的原料淀粉直链淀粉的含量依序分别为14.0%、

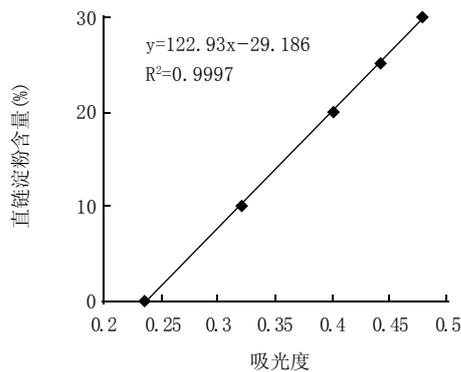


图1 直链淀粉标准工作曲线  
Fig.1 Standard working curve of amylose

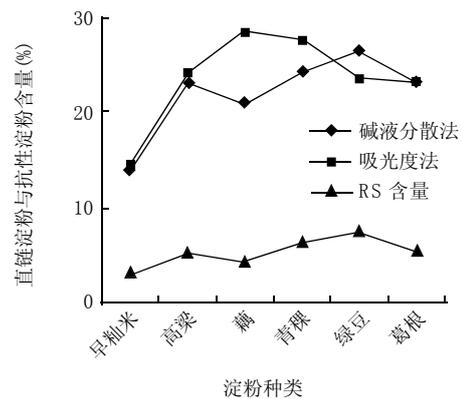


图2 直链淀粉含量与增抗效果  
Fig.2 Amylose contents and resistance-boosting effects

23.2%、21.0%、24.4%、26.5%及23.2%。

使用碱液分散法和碘吸光度法均可对不同淀粉原料中的直链淀粉含量进行测定，并因为品种的不同而存在差异，且同一种原料采用两种方法测得的直链淀粉含量并不相同，总体而言，除绿豆淀粉外，碘吸光度法测得的直链淀粉含量要高于碱液分散法所获得的数值（见表1）。这说明支链淀粉参与了与碘的络合呈色反应，增大了表观直链淀粉含量的得率；另外一个方面，直链淀粉在溶液中包括了无规线团、展开线团和螺旋形等多种构型<sup>[8]</sup>，其构型的复杂性也影响了碘与直链淀粉络合物的呈色反应。绿豆淀粉中，碘吸光度法测得的直链淀粉含量小于碱液分散法，这可能预示着绿豆淀粉链的结构分支多而链长短，也可能与绿豆直链淀粉的平均聚合度低有关。

## 2.2 直链淀粉含量与抗性淀粉增抗效应

淀粉的增抗方法有糊化-冷沉老化法以及酶脱枝老化法两种，主要是围绕促进淀粉的老化及淀粉链间的有序结晶展开的，一般认为在4℃条件下具有良好的结晶效果，但耗时较长，冷沉的最优工艺时间达到12~36h以上。本研究采用的二次冷冻循环老化增抗工艺，可在较短时间达到最优增抗效果；增抗后的各原料淀粉以AOAC推荐的酶-重力法测量抗性淀粉含量，数据列于表1。与两种直链淀粉测定方法测得的直链淀粉含量见图2。

表1 不同原料淀粉中直链淀粉含量及增抗后的抗性淀粉含量  
Table 1 Amylose and resistant starch resistance-boosting content of 6 kinds of materials

编号	淀粉种类	直链淀粉含量(%)		RS 含量(%)
		吸光度法	碱液分散法	
1	早籼米	14.4	14.0	3.1
2	高粱	24.2	23.2	5.1
3	藕	28.7	21.0	4.2
4	青稞	27.6	24.4	6.3
5	绿豆	23.7	26.5	7.5
6	葛根	23.3	23.2	5.3

由于在直链淀粉和支链淀粉之间存在着大量的中间状态淀粉，大多数的直链淀粉分子都存在着一程度的支化，而支链淀粉的分支也存在着不均一性，低分子量支链淀粉具有部分的直链淀粉的特性；天然淀粉不是D-吡喃葡萄糖基的线性和支化分子的混合物，而是一些具有很长的链、很宽的支化度以及分子量分布很宽的共价键支链淀粉的混合物，因此，上述两种检测方法均无法具备完全意义上的对原料淀粉中真实直链淀粉进行测定，可以通过体积排阻色谱-多角度激光光散射光法(size-exclusion chromatography, SEC, multi-angle laser light scattering, MALLS)来测定高分子量淀粉，这一部分淀粉就是具有比较真实意义的直链淀粉<sup>[9]</sup>，可以对抗性淀粉增抗效应进行一个良好的预测。

## 3 结论

3.1 原料淀粉通过循环老化后，抗性淀粉的得率与原料淀粉中直链淀粉的含量有着极其密切的关系。

3.2 碱液分散法是将直链淀粉与支链淀粉进行分离而单独测得，避免了碘吸光度法直、支链淀粉与碘络合呈色对测试结果的影响，能更客观地预测增抗后原料淀粉中抗性淀粉的增抗效果。

## 参考文献:

- [1] ENGLYST H N, TROWELL H, SOUTHGATE D A T, et al. Dietary fiber and resistant starch[J]. Am J Clin Nutr, 1987, 46: 873-874.
- [2] HAN J A, BEMILLER J N. Preparation and physical characteristics of slowly digesting modified food starches[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 25(7): 1-9.
- [3] MUN S H, SHIN M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize[J]. Food Chemistry, 2006, 96(5): 115-121.
- [4] SHAMAI K, BIANCO-PELED H, SHIMONI E. Polymorphism of resistant starch type III[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 54(11): 363-369.
- [5] FREI M, SIDDHURAJU P, BECKER K. Studies on the *in vitro* starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice

- cultivars from the Philippines[J]. *Food Chemistry*, 2003, 83(11): 395-402.
- [6] SAJILATA M G, SINGHAL R S, KULKARNI P R. Resistant starch- A review[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2006(5): 1-17.
- [7] FENNEMA O R. 食品化学 [M]. 3版. 北京: 中国轻工业出版社, 2003: 166.
- [8] 惠斯特勒 R J, 贝密勒 J N, 斯卡帕尔 E F. 淀粉的化学与工艺学[M]. 北京: 中国食品出版社, 1988: 177.
- [9] RAMESH M, MITCHELL J R, JUMEL K, et al. What is the true amylose content of rice starch[C]. *Gums and Stabilisers for the Food Industry*, 2000(10): 76-81.
- [10] 洪雁, 顾正彪, 刘晓欣. 直链淀粉和支链淀粉纯品的提取及其鉴定[J]. *食品工业科技*, 2004, 25(4): 86-88.
- [11] 中华人民共和国国家标准. GB/T 15683 — 1995, 稻米直链淀粉含量的测定[S].
- [12] 樊镇棣, 邓丹雯, 顾振宇, 等. 葛根抗性淀粉生理功能的动物实验研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(11): 492-494.
- [13] 杨光, 丁霄霖. 抗性淀粉定量测定方法的研究[J]. *中国粮油学报*, 2002, 17(3): 79-82.