

双波长比色法测定不同产地和品种青稞中直链淀粉和支链淀粉的含量

谭亮,董琦,耿丹丹,胡风祖*

(中国科学院西北高原生物研究所,青海西宁 810001)

摘要:利用一种更简便、准确的双波长比色法来测定不同产地和品种青稞中直链淀粉和支链淀粉的含量,以此代替以往复杂繁琐的样品前处理过程。根据双波长比色原理——若溶液中某溶质在两个波长下均有吸收,则两个波长的吸收差值与该溶质浓度成正比,以及根据直链淀粉和支链淀粉与碘试剂作用分别产生纯蓝色和紫红色的性质,用紫外分光光度计对两种淀粉与碘试剂的反应液进行全波长扫描(450~900nm),用作图法在同一个坐标系里确定其各自的测定波长和参比波长。结果测得直链淀粉的测定波长和参比波长分别为560nm和506nm,支链淀粉的测定波长和参比波长分别为545nm和722nm。青稞中直链淀粉和支链淀粉分别在0.20~0.59mg和0.50~3.00mg范围内具有良好的线性关系($R^2=0.9993$ 和 $R^2=0.9995$),平均加样回收率分别为91.14%和91.73%,RSD分别为1.70%和2.25%($n=9$)。该方法简便、准确、稳定性和重现性好,适用于测定青稞中直链淀粉和支链淀粉的含量,可为青稞的质量控制提供依据。

关键词:双波长比色法,不同产地和品种,青稞,直链淀粉,支链淀粉,含量测定

Determination of amylase and amylopectin in hullessbarley from different habitats and varieties by dual-wavelength colorimetric method

TAN Liang, DONG Qi, GENG Dan-dan, HU Feng-zu*

(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract: A more simple, accurate dual-wavelength colorimetric method was developed to determine the contents of amylose and amylopectin in hullessbarley from different habitats and varieties. It was replaced the previous complicated sample pre-treatment process. The reaction solution that reacted by two ingredient of starch and iodine reagents were scanned from 450nm to 900nm by UV spectrophotometer to determine its detection wavelength and reference wavelength in the same coordinate system which according to the principle of the dual-wavelength colorimetry—the difference was proportional to the concentration of solute while there were two absorption peaks at two different wavelengths from the same solute in the solution, as well as characteristic of blue appearance that amylose encountered with iodine reagents and purple red as amylopectin. The results indicated that the detection wavelength and reference wavelength were 560nm and 506nm for amylose, 545nm and 722nm for amylopectin, respectively. The method had good linear relationship within the ranges of 0.20~0.59mg for amylose ($R^2=0.9993$), 0.50~3.00mg for amylopectin ($R^2=0.9995$), respectively. The average recoveries ($n=9$) were 91.14% (RSD=1.70%) for amylose and 91.73% (RSD=2.25%) for amylopectin. The assay demonstrated that the method had adequate simple, accurate, good stability and reproducibility. It was suitable for the determination of amylose and amylopectin contents in hullessbarley. In addition, it could be used to assist the quality evaluation of hullessbarley.

Key words: dual-wavelength colorimetry; different habitats and varieties; hullessbarley; amylose; amylopectin; assay

中图分类号: TS237

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)02-0079-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.02.008

收稿日期: 2014-06-04

作者简介: 谭亮(1984-), 男, 硕士研究生, 工程师, 研究方向: 天然产物研究与开发。

* 通讯作者: 胡风祖(1955-), 女, 大学本科, 研究员, 研究方向: 藏药、民族保健食品、核心资源食品的研制开发。

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-EW-J-26); 农产品安全检测公共技术服务平台(2012-T-Y19)。

青稞是生长在我国西北、西南特别是西藏、青海、甘肃等地的一种重要的高原谷类作物, 亦称裸大麦、米大麦、元麦, 其学名是 *Hordeum vulgare* L. var. *nudum* Hook. f., 属禾本科小麦族大麦属大麦变种之一^[1]。青稞作为藏民传统的主要农作物, 已经由几百年前的“农牧民专用”, 到近年来随着人们观念的转变, 绿色食品的大力提倡, 受到了都市人的宠爱。但传统观念中我国藏民主要将青稞制成糌粑, 口感较

粗糙,不易被人体吸收,如果能将青稞深加工成口感好易吸收的食品,其利用空间将会拓宽。淀粉是青稞的主要成分之一,占籽粒干重的65%左右,它包括直链淀粉和支链淀粉两种。淀粉成分独特,普遍含有74%~78%的支链淀粉,有些甚至接近100%^[2]。支链淀粉的含量增加使淀粉品质整体优化,还可作为优良的增稠剂、乳化剂、黏着剂、悬浮剂而广泛地应用于食品、造纸、纺织和黏着剂工业^[3];直链淀粉含量是影响粮食感官品质和加工特性的一个重要因素,其含量的高低,可作为评价粮食品质的一个重要指标^[4]。所以,直链淀粉和支链淀粉的含量测定对粮食的合理加工、淀粉的合理利用、农业选种、育种等均具有重要意义。

目前,关于青稞淀粉研究的内容有:青稞淀粉化学组成及工艺性质、淀粉颗粒特性、淀粉酶法提取工艺、抗性淀粉制备、青稞淀粉粒蛋白多态性及其与淀粉含量的关系以及基因型与环境效应对青稞淀粉含量的影响^[5-10]等,而关于青稞中淀粉的含量以及组成淀粉的直链淀粉和支链淀粉的含量测定未见文献报道。测定淀粉含量的方法有间接测定法(包括酶解法、酶解-蒽酮比色法、试剂盒法、HPLC法等)和直接测定法(包括CaCl₂-HOAC浸提法、双波长比色法、近红外光谱分析法等)^[11-24]。这些方法大多存在使用试剂、仪器成本高,操作步骤繁琐费时的问题,并且只能测定总淀粉含量。本文采用双波长比色法快速、准确地测定出不同产地青稞中直链淀粉和支链淀粉的含量,进而由二者之和得出总淀粉的含量。该方法测定成本低、精度较高、结果较准确、重复性和稳定性好,同时可得到直链淀粉、支链淀粉和总淀粉3组数据,极大地提高了工作效率,适用于大批量样品的测定,也为青稞淀粉的含量测定提供了确实可行的依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

青稞 39批不同品种的青稞样品采自西藏和青海不同产地(见表1),经中国科学院西北高原生物研究所分析测试中心胡风祖教授鉴定确认为正品(样

品预处理:将收集的样品阴干,粉碎,装入密封袋中密封,置干燥器中保存);直链淀粉标准品 上海惠诚生物科技有限公司(纯度≥98%);支链淀粉标准品 上海惠诚生物科技有限公司(纯度≥98%);无水乙醇、氢氧化钠、碘、碘化钾、冰乙酸 均为分析纯。

Cary300Bio型紫外-可见分光光度计 美国Varian公司;PL203型电子天平、MS205DU型精密电子天平 瑞士梅特勒-托利多公司;pHS-3E型pH计 上海仪电科学仪器股份有限公司;XW-80A型涡旋混合器 上海之信仪器有限公司;ML-1.5-4型数显电加热板 北京中科奥博科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 碘试液的配制 称取碘化钾2.0g,溶于少量蒸馏水中,再加碘0.2g,待溶解后用蒸馏水稀释定容至100mL。

1.2.2 直链淀粉和支链淀粉标准溶液的制备

1.2.2.1 直链淀粉标准溶液的制备 称取直链淀粉标准品50mg,精密称定,置于50mL容量瓶中,加入1mol/L氢氧化钠溶液10mL,置沸水浴中溶解分散后,取出,冷却至室温,加入蒸馏水稀释至刻度,摇匀,即浓度为1.0mg/mL的直链淀粉标准溶液(实际配制浓度为0.9896mg/mL)。

1.2.2.2 支链淀粉标准溶液的制备 称取支链淀粉标准品50mg,精密称定,按“1.2.2.1”项下操作方法制备成浓度为1.0mg/mL的支链淀粉标准溶液(实际配制浓度为0.9996mg/mL)。

1.2.3 直链淀粉、支链淀粉测定波长和参比波长的确定

1.2.3.1 直链淀粉吸收曲线绘制 准确移取上述直链淀粉标准溶液0.5mL,置于25mL容量瓶中,加入蒸馏水15mL,以1mol/L冰乙酸溶液调节pH为3.5左右,加入碘试剂0.25mL,继续加入蒸馏水稀释至刻度,摇匀。静置15min后,以蒸馏水为对照,用双光束分光光度计在450~900nm波段范围内扫描,绘制直链淀粉吸收曲线。

1.2.3.2 支链淀粉吸收曲线绘制 准确移取上述

表1 不同产地和品种的青稞样品(n=3)

Table 1 Hullessbarley samples collected from different habitats and varieties(n=3)

编号	青稞品种	产地	编号	青稞品种	产地	编号	青稞品种	产地
1	藏青25	西藏甘孜	14	短白青稞	西藏拉萨	27	长芒红青稞	青海班玛
2	藏青690	西藏海南	15	长黑青稞	西藏迪庆	28	二道眉白青稞	青海称多
3	康青7号	西藏天祝	16	昆仑1号	西藏海北	29	二道眉黑青稞	青海称多
4	康青8号	西藏日喀则	17	昆仑10号	西藏甘南	30	湟源蓝青稞	青海称多
5	甘青4号	西藏拉萨	18	北青2号	西藏昌都	31	二道眉紫青稞	青海囊谦
6	甘青5号	西藏迪庆	19	北青4号	西藏甘孜	32	长钩芒白青稞	青海囊谦
7	阿青5号	西藏海北	20	北青5号	西藏海南	33	互助白青稞	青海互助
8	阿青6号	西藏甘南	21	北青6号	西藏天祝	34	湟源花青稞	青海湟源
9	北青7号	西藏昌都	22	柴青1号	西藏日喀则	35	六棱红青稞	青海大通
10	北青8号	西藏甘孜	23	黄青1号	西藏拉萨	36	四棱白大麦	青海乐都
11	昆仑12号	西藏海南	24	康青9号	西藏迪庆	37	四棱蓝青稞	青海民和
12	昆仑13号	西藏天祝	25	长芒白青稞	青海玉树	38	长芒黄脉青稞	青海民和
13	喜马拉雅22	西藏日喀则	26	四长二短芒白青稞	青海玉树	39	四棱红青稞	青海循化

支链淀粉标准溶液0.5mL,置于25mL容量瓶中,按“1.2.3.1”项下操作方法绘制支链淀粉吸收曲线。

1.2.3.3 直链淀粉和支链淀粉测定波长和参比波长的确定 将上述两种淀粉标准溶液的吸收曲线叠加绘制在同一个坐标系里(450~900nm),依据溶液中某溶质在两个波长下均有吸收,则两个波长的吸收差值与该溶质浓度成正比的原理,通过等吸收点消除法确定测定波长和参比波长:

a.确定支链淀粉吸收曲线中相同吸光度 $A_{支1}$ 和 $A_{支2}$,其对应的波长分别为 λ_1 和 λ_2 , λ_2 处对应直链淀粉吸收曲线上较大的A值($A_{直2}$),故 λ_2 作为直链淀粉的测定波长, λ_1 处对应直链淀粉吸收曲线上较小的A值($A_{直1}$),故 λ_1 作为直链淀粉的参比波长;

b.确定支链淀粉吸收曲线中 A_{max} 所对应的 λ_4 作为支链淀粉的测定波长,在 λ_4 处找到相应直链淀粉吸收曲线上 $A_{直4}$,继续在该曲线上找到与 $A_{直4}$ 相同的吸光度 $A_{直3}$,在支链淀粉吸收曲线上找到与 $A_{直3}$ 相同的 λ_3 作为支链淀粉的参比波长。

1.2.4 双波长直链淀粉和支链淀粉标准曲线的绘制

1.2.4.1 双波长直链淀粉标准曲线 准确移取上述直链淀粉标准溶液0、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6mL分别置于6个25mL容量瓶中,加入蒸馏水15mL,以1mol/L冰乙酸溶液调节pH为3.5左右,加入碘试剂0.25mL,继续加入蒸馏水稀释至刻度,摇匀。静置15min后,以蒸馏水为对照,分别在 λ_1 、 λ_2 两波长下测定 A_{λ_1} 和 A_{λ_2} ,以 $\Delta A_{直}=A_{\lambda_2}-A_{\lambda_1}$ 为纵坐标,直链淀粉质量(mg)为横坐标,绘制双波长直链淀粉标准曲线。

1.2.4.2 双波长支链淀粉标准曲线 准确移取上述支链淀粉标准溶液0、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0mL分别置于6个25mL容量瓶中,以下按“1.2.4.1”项下操作方法操作,以蒸馏水为对照,分别在 λ_3 、 λ_4 两波长下测定 A_{λ_3} 和 A_{λ_4} ,以 $\Delta A_{支}=A_{\lambda_4}-A_{\lambda_3}$ 为纵坐标,支链淀粉质量(mg)为横坐标,绘制双波长支链淀粉标准曲线。

1.2.5 供试品溶液的制备和含量测定 称取0.1g已粉碎过60目筛的青稞样品,置于25mL容量瓶中,精密称定,加入0.5mL无水乙醇,涡旋以润湿样品。加入1mol/L氢氧化钠溶液2mL,涡旋混匀,置沸水浴中加热10min,取出,冷却至室温,加入蒸馏水稀释至刻度,摇匀,过滤。准确移取两份滤液各1.0mL置于25mL容量瓶中(一份作为样品空白对照液,另一份作为样品测定液),按“1.2.4.1”项下操作方法操作。其中,样品测定液中加入0.25mL碘试剂,样品空白对照液中不加碘试剂,均加入蒸馏水稀释至刻度,摇匀。静置15min后,以各样品空白液为对照,分别测定 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 处的吸光度值 A_{λ_1} 、 A_{λ_2} 、 A_{λ_3} 和 A_{λ_4} ,得 $\Delta A_{直}=A_{\lambda_2}-A_{\lambda_1}$ 和 $\Delta A_{支}=A_{\lambda_4}-A_{\lambda_3}$ 。分别在直链淀粉和支链淀粉标准曲线上求得相应 ΔA 值所对应的淀粉质量,即可计算出青稞样品中直链淀粉和支链淀粉含量,二者之和即为总淀粉含量。

1.2.6 方法学验证实验

1.2.6.1 稳定性实验 取已制备好的样品溶液(西藏甘孜藏青25),按“1.2.5”项下操作方法操作,室温下放置,于 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 下每隔1h测定吸光度 A_{λ_1} 、 A_{λ_2} 、 A_{λ_3} 和 A_{λ_4} ,计算直链淀粉和支链淀粉的RSD值,检测

溶液的稳定性。

1.2.6.2 重现性实验 准确吸取同一青稞样品所提取的供试品溶液(西藏甘孜藏青25),按“1.2.5”项下操作方法操作,于 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 下测定吸光度 A_{λ_1} 、 A_{λ_2} 、 A_{λ_3} 和 A_{λ_4} ,计算直链淀粉和支链淀粉的RSD值,检测方法的重现性。

1.2.6.3 回收率实验 采用加样回收法,在已知淀粉含量的青稞样品供试液中按低、中、高浓度分别精密加入直链淀粉和支链淀粉标准溶液,每一浓度3份,并按“1.2.5”项下操作方法操作,于 λ_1 、 λ_2 、 λ_3 、 λ_4 下测定吸光度 A_{λ_1} 、 A_{λ_2} 、 A_{λ_3} 和 A_{λ_4} ,计算直链淀粉和支链淀粉的平均回收率和RSD值,检测方法的回收率。

1.3 数据处理

利用SPSS 16.0统计软件,对西藏和青海青稞中总淀粉、直链淀粉和支链淀粉含量统计分析,进行独立样本t检验。

2 结果与分析

2.1 直链淀粉和支链淀粉测定波长和参比波长的确定

当试液中含有两种吸收光谱相互重叠的组分时,一般需进行萃取分离或加掩蔽剂的方法才能完成测定。如单波长法虽能对多组分物质进行定量分析,但其测定的准确度、灵敏度、选择性和测定过程的简单性均无法同双波长法相比。采用的双波长法仅用一个吸收池,且用试液本身作参比液,完全能消除吸收池和参比液等因素引起的误差,提高了测定的准确度,又因测定的是试液在两波长处的吸光度差值,故可提高测定的灵敏度和选择性。所以采用双波长法测定直链淀粉和支链淀粉的含量是最合适的,也得到了很好的实验结果。

将两种淀粉标准溶液的吸收曲线叠加绘制在同一个坐标系里(450~900nm),可得如图1所示的结果。由结果可确定直链淀粉的测定波长、参比波长分别为 $\lambda_2=560\text{nm}$ 和 $\lambda_1=506\text{nm}$;支链淀粉的测定波长、参比波长分别为 $\lambda_4=545\text{nm}$ 和 $\lambda_3=722\text{nm}$ 。

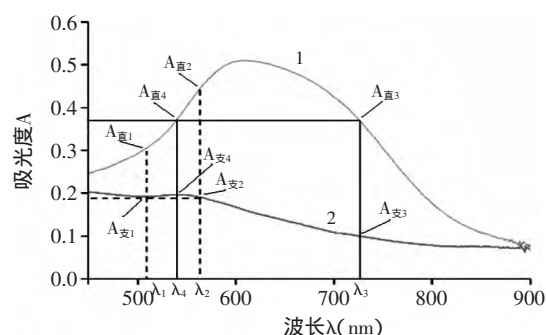


图1 直链淀粉和支链淀粉吸收曲线扫描图(450~900nm)

Fig.1 Scanning spectrum of absorption curve of amylose and amylopectin(450~900nm)

注:1-直链淀粉吸收曲线,2-支链淀粉吸收曲线。

2.2 双波长直链淀粉和支链淀粉标准曲线

2.2.1 双波长直链淀粉标准曲线 以 $\Delta A_{直}=A_{\lambda_2}-A_{\lambda_1}$ 为纵坐标,直链淀粉质量(mg)为横坐标绘制标准曲

线,绘制的标准曲线见图2。由图2可知,直链淀粉含量在0.20~0.59mg范围内呈良好的线性关系,回归方程为 $y=0.3019x-0.0132$, $R^2=0.9993$ 。

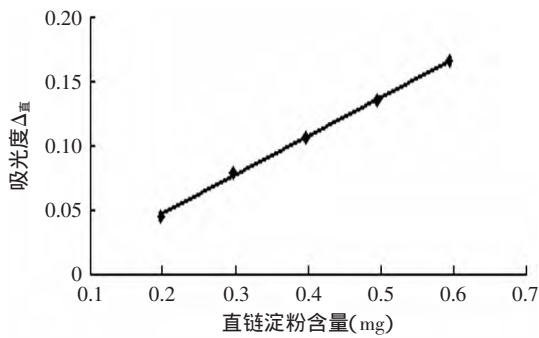


图2 直链淀粉标准曲线

Fig.2 Standard curve of amylose

2.2.2 双波长支链淀粉标准曲线 以 $\Delta A_{支}=A_{\lambda 4}-A_{\lambda 3}$ 为纵坐标,支链淀粉质量(mg)为横坐标绘制标准曲线,绘制的标准曲线见图3。由图3可知,支链淀粉含量在0.50~3.00mg范围内呈良好的线性关系,回归方程为 $y=0.1418x+0.0098$, $R^2=0.9995$ 。

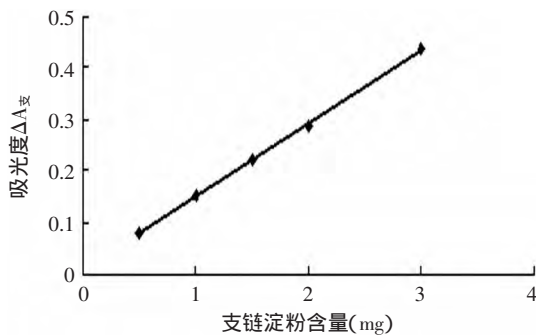


图3 支链淀粉标准曲线

Fig.3 Standard curve of amylopectin

2.3 方法学验证实验结果

2.3.1 稳定性实验 取已制备好的样品溶液,按“1.2.5”项下操作方法操作,室温下放置,于506、545、560、722nm下每隔1h测定吸光度 A_{506nm} 、 A_{545nm} 、 A_{560nm} 和 A_{722nm} ,结果表明供试品溶液在12h内稳定性良好,计算得直链淀粉和支链淀粉的RSD值分别为2.0%和2.3%。

2.3.2 重现性实验 准确吸取同一青稞样品所提取的供试品溶液,按“1.2.5”项下操作方法操作,于506、545、560、722nm下测定吸光度 A_{506nm} 、 A_{545nm} 、 A_{560nm} 和 A_{722nm} ,结果表明检测方法的重现性良好,计算得直链淀粉和支链淀粉的RSD值分别为1.6%和1.8%。

2.3.3 回收率实验 采用加样回收法,在已知淀粉含量的青稞样品供试液中按低、中、高浓度分别精密加入直链淀粉和支链淀粉标准溶液,每一浓度3份,并按“1.2.5”项下操作方法操作,于506、545、560、722nm下测定吸光度 A_{506nm} 、 A_{545nm} 、 A_{560nm} 、 A_{722nm} ,结果见表2、表3。计算得直链淀粉和支链淀粉的平均回收率分别为91.14%和91.73%,RSD分别为1.70%和2.25%。

结果表明检测方法具有良好的准确性。

表2 直链淀粉回收率实验结果(n=9)

Table 2 Results of recovery test of amylose(n=9)

样品编号	原有直链淀粉量(μg)	加入直链淀粉量(μg)	测得直链淀粉量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	20.85	9.90	29.79	90.29		
2	20.85	9.90	29.73	89.74		
3	20.85	9.90	29.63	88.69		
4	20.85	19.79	38.68	90.09		
5	20.85	19.79	38.95	91.46	91.14	1.70
6	20.85	19.79	39.17	92.58		
7	20.85	29.69	48.38	92.75		
8	20.85	29.69	47.96	91.33		
9	20.85	29.69	48.55	93.31		

表3 支链淀粉回收率实验结果(n=9)

Table 3 Results of recovery test of amylopectin(n=9)

样品编号	原有支链淀粉量(μg)	加入支链淀粉量(μg)	测得支链淀粉量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	36.55	19.99	54.41	89.32		
2	36.55	19.99	54.64	90.52		
3	36.55	19.99	54.26	88.59		
4	36.55	39.98	73.02	91.21		
5	36.55	39.98	73.87	93.34	91.73	2.25
6	36.55	39.98	73.22	91.71		
7	36.55	59.97	92.71	93.65		
8	36.55	59.97	91.94	92.37		
9	36.55	59.97	93.45	94.88		

2.4 不同产地和品种青稞中两种淀粉的含量测定

2.4.1 最佳实验条件考察 通过对碘试剂与两类淀粉显色反应的条件考察,确定符合实验的最佳样品取用量、酸度条件(pH)、碱溶时间,极大地提高了分析检测的速度和准确度。有文献中报道称样量为200mg,而这样的称样量至少需要好几粒种子,本实验分别考察了称样量为25、50、100、200、300mg的情况。结果随着称样量的增加提取率也随之增加,当超过100mg时提取率又随之减少,其原因是称样量小时称量的误差大,称样量大时提取又不完全,超过了可将淀粉完全提取的饱和状态,又考虑到样品、试剂的用量和成本,选择称样量为100mg作为最佳取用量;当维持其他条件不变时,根据pH对淀粉-碘络合物的影响情况,溶液的酸度在pH2.0~5.0范围内吸光值总体变化不大,呈现先上升后下降的趋势,且当pH为3.5时有最大吸光值;在用氢氧化钠溶液溶解青稞样品中的淀粉时,分别考察了在沸水浴中的加热时间5、10、15、20min,结果在10min时测得含量最高,分析原因是碱溶时间过长可能导致淀粉水解,使测量结果偏低,碱溶时间过短可能使淀粉不能完全溶解,所以确定最佳碱溶时间为10min。

2.4.2 青稞中两种淀粉含量测定结果 采用双波长

比色法测定不同产地和品种青稞中直链淀粉和支链淀粉的含量结果见表4,二者之和即为总淀粉含量。由表4可知:所有青稞中支链淀粉含量均高于直链淀粉含量,其含量约高出2.6倍。在西藏青稞中,来自西藏海南的藏青690青稞总淀粉含量最高为67.55%,来自西藏日喀则的柴青1号青稞总淀粉含量最低为55.00%,在青海青稞中,来自青海称多的湟源蓝青稞总淀粉含量最高为68.53%,来自青海玉树的长芒白青稞总淀粉含量最低为58.14%。

2.5 不同产地青稞中淀粉含量统计分析

通过SPSS 16.0软件对西藏和青海青稞中总淀粉、直链淀粉和支链淀粉含量进行统计分析,结果见表5~表7。结果分析如下:由表5可知Levene方差齐性检验

$F=1.347$ $p=0.253>0.05$,说明两样本方差相等,进行方差齐性检验时 $t=24.532$,自由度 $df=37$,双尾检验概率 $p=0.000<0.05$,说明西藏和青海青稞中直链淀粉含量具有显著性差异,西藏青稞中直链淀粉平均含量(21.52%)约高出青海青稞中直链淀粉平均含量(9.93%)2.2倍;由表6可知Levene方差齐性检验 $F=0.023$ $p=0.880>0.05$,说明两样本方差相等,进行方差齐性检验时, $t=-15.084$,自由度 $df=37$,双尾检验概率 $p=0.000<0.05$,说明西藏和青海青稞中支链淀粉含量具有显著性差异,青海青稞中支链淀粉平均含量(53.01%)约高出西藏青稞中支链淀粉平均含量(39.22%)1.4倍;由表7可知Levene方差齐性检验 $F=1.894$ $p=0.177>0.05$,说明两样本方差相等,进行方差齐性检验时 $t=-1.904$,

表4 不同产地和品种青稞中直链淀粉和支链淀粉的含量测定结果($n=3$)

Table 4 Determination results of amylose and amylopectin in hullessbarley samples collected from different habitats and varieties($n=3$)

青稞品种	产地	直链淀粉 (%)	支链淀粉 (%)	总淀粉 (%)	青稞品种	产地	直链淀粉 (%)	支链淀粉 (%)	总淀粉 (%)
藏青25	西藏甘孜	20.85	36.55	57.40	北青6号	西藏天祝	18.90	38.53	57.43
藏青690	西藏海南	21.54	46.02	67.55	柴青1号	西藏日喀则	19.37	35.63	55.00
康青7号	西藏天祝	22.49	41.51	64.00	黄青1号	西藏拉萨	20.24	35.11	55.35
康青8号	西藏日喀则	22.91	42.64	65.54	康青9号	西藏迪庆	23.85	42.28	66.13
甘青4号	西藏拉萨	25.18	38.53	63.70	长芒白青稞	青海玉树	9.59	48.55	58.14
甘青5号	西藏迪庆	20.82	37.80	58.62	四长二短芒白青稞	青海玉树	9.42	49.73	59.15
阿青5号	西藏海北	22.16	44.24	66.41	长芒红青稞	青海班玛	7.79	52.95	60.74
阿青6号	西藏甘南	21.77	40.43	62.20	二道眉白青稞	青海称多	10.37	54.52	64.89
北青7号	西藏昌都	23.62	39.71	63.33	二道眉黑青稞	青海称多	10.65	52.81	63.46
北青8号	西藏甘孜	21.09	39.85	60.94	湟源蓝青稞	青海称多	9.77	58.76	68.53
昆仑12号	西藏海南	23.14	38.05	61.19	二道眉紫青稞	青海囊谦	11.33	51.30	62.63
昆仑13号	西藏天祝	21.86	37.10	58.96	长钩芒白青稞	青海囊谦	9.44	52.68	62.12
喜马拉雅22	西藏日喀则	22.20	38.15	60.35	互助白青稞	青海互助	11.55	50.50	62.05
短白青稞	西藏拉萨	21.52	39.41	60.93	湟源花青稞	青海湟源	11.16	54.37	66.53
长黑青稞	西藏迪庆	21.31	38.39	59.70	六棱红青稞	青海大通	10.97	50.55	61.52
昆仑1号	西藏海北	20.53	39.26	59.79	四棱白大麦	青海乐都	8.26	52.68	60.94
昆仑10号	西藏甘南	21.33	35.84	57.17	四棱蓝青稞	青海民和	9.08	54.63	63.72
北青2号	西藏昌都	21.98	35.38	57.35	长芒黄脉青稞	青海民和	9.63	53.46	63.09
北青4号	西藏甘孜	18.89	40.07	58.96	四棱红青稞	青海循化	10.01	57.70	63.71
北青5号	西藏海南	18.84	40.90	59.74					

表5 不同产地青稞中直链淀粉含量的独立样本 t 检验

Table 5 Independent samples test of amylose content in hullessbarley samples collected from different habitats

不同产地直链淀粉数据比较	方差相等之Levene检验				均数相等检验				
	F	Sig.方差相等概率	t	df	双尾概率检验	均数之差	均数之差标准误	95%可信区间	
								下限	上限
假定方差相等	1.347	0.253	24.532	37	0.000	11.58158	0.47210	10.62502	12.53815
假定方差不相等			26.766	36.658	0.000	11.58158	0.43270	10.70457	12.45859

表6 不同产地青稞中支链淀粉含量的独立样本 t 检验

Table 6 Independent samples test of amylopectin content in hullessbarley samples collected from different habitats

不同产地支链淀粉数据比较	方差相等之Levene检验				均数相等检验				
	F	Sig.方差相等概率	t	df	双尾概率检验	均数之差	均数之差标准误	95%可信区间	
								下限	上限
假定方差相等	0.023	0.880	-15.084	37	0.000	-13.78850	0.91409	-15.64062	-11.93638
假定方差不相等			-15.079	29.829	0.000	-13.78850	0.91445	-15.65650	-11.92050

表7 不同产地青稞中总淀粉含量的独立样本t检验

Table 7 Independent samples test of total starch content in hullsbarley samples collected from different habitats

不同产地总淀粉 数据比较	方差相等之Levene检验				均数相等检验				
	F	Sig.方差相等概率	t	df	双尾概率检验	均数之差	均数之差标准误	95%可信区间	
								下限	上限
假定方差相等	1.894	0.177	-1.904	37	0.065	-2.00883	1.05500	-4.14647	0.12880
假定方差不相等			-2.029	35.454	0.050	-2.00883	0.98988	-4.01748	-0.00019

自由度df=37,双尾检验概率 $p=0.065>0.05$,两组数据间无统计学意义,说明西藏和青海青稞中总淀粉含量无显著性差异,西藏青稞总淀粉平均含量(60.74%)略低于青海青稞总淀粉平均含量(62.75%)。

3 结论

本研究中淀粉含量测定结果显示:所有青稞中支链淀粉平均含量高于直链淀粉2.6倍,西藏青稞中藏青690总淀粉含量最高为67.55%,柴青1号总淀粉含量最低为55.00%,青海青稞中湟源蓝青稞总淀粉含量最高为68.53%,长芒白青稞总淀粉含量最低为58.14%,西藏青稞中直链淀粉平均含量显著高出青海青稞中直链淀粉平均含量,而青海青稞中支链淀粉平均含量显著高出西藏青稞中支链淀粉平均含量,西藏和青海青稞中总淀粉含量相当,无显著性差异。双波长分光光度法作为一种淀粉含量的快速测定方法,具有样品用量少、碱溶温度低、环境污染小、省时省力、快捷、准确、重复性好、便于样品的批量测定等特点。该方法可以同时得到直链淀粉、支链淀粉和总淀粉含量3组数据,既提高了实验效率,又节省了样品用量,适宜于大批量样品分析,对于优异青稞品种材料的选育工作具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 谢宗万. 本草纲目药物彩色图鉴[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:221.
- [2] 臧靖巍, 阚建全, 陈宗道, 等. 青稞的成分研究及应用状况[J]. 中国食品添加剂, 2004(4): 43-46.
- [3] 雷宏, 王晓曦, 曲艺. 面粉中直链淀粉对面制品品质的影响[J]. 粮油加工, 2009, 36(3): 73-75.
- [4] 钟连进, 程方民. 水稻籽粒鲜样品的直链淀粉含量测定方法[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版, 2002, 28(1): 33-36.
- [5] 臧靖巍. 青稞淀粉和蛋白质的化学组成及其工艺性质研究[D]. 重庆:西南农业大学, 2005.
- [6] 史一一, 达瓦, 张文会. 青稞淀粉颗粒特性研究[J]. 西藏科技, 2010(3): 17-18.
- [7] 史一一, 达瓦, 余耀斌, 等. 青稞淀粉酶法提取工艺研究[J]. 西藏农业科技, 2009, 31(2): 12-16.
- [8] 肖新龙. 青稞淀粉理化特性及其抗性淀粉制备研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2013.

[9] 潘志芬, 邹弈星, 赵桃, 等. 青藏高原栽培青稞淀粉粒蛋白多态性及其与淀粉含量的关系[J]. 遗传, 2007, 29(5): 599-606.

[10] 吴昆仑. 基因型与环境效应对青稞淀粉含量的影响[J]. 西南农业学报, 2011, 24(2): 422-424.

[11] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.9-2008, 食品中淀粉的测定[S]. 2009.

[12] Englyst H N, Cummings J H. Improved method for measurement of dietary fibre as non-starch polysaccharides in plant foods[J]. Journal of the Association of Official Analytical Chemists International, 1988, 71(4): 808-814.

[13] McCleary B V, Gibson T S, Mugford D C. Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase- α -amylase method: Collaborative study[J]. Journal of the Association of Official Analytical Chemists International, 1997, 80(3): 571-579.

[14] 黄光文, 沈玉平, 李常健. 甘薯淀粉含量测定的新方法[J]. 湖南农业科学, 2010(17): 109-111.

[15] 于鲁浩, 杨俊慧, 孟庆军, 等. 玉米粉中淀粉含量的快速测定方法[J]. 山东科学, 2012, 25(1): 19-23.

[16] 禹萍, 范世宾, 朗秋美, 等. 酶电极法测定谷物淀粉含量的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2000, 10(5): 515-517.

[17] 董学畅, 乔永峰, 孙海林, 等. 高效液相色谱法测定烟草中的淀粉含量[J]. 云南民族大学学报:自然科学版, 2003, 12(4): 210-211.

[18] 廖燕芝, 杨代明, 张继红, 等. 气相色谱法测定魔芋食品中葡甘聚糖及淀粉含量[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(4): 66-69.

[19] 林媚, 温明霞, 冯先桔, 等. CaCl_2 -HOAC浸提法测定温州蜜柑树根中淀粉含量的研究[J]. 浙江柑橘, 2006, 23(2): 32-33.

[20] Gibson T S, Solah V A, McCleary B V. A procedure to measure amylose in cereal starched and flours with concanavalin A[J]. Journal of Cereal Science, 1997, 25: 111-119.

[21] 石海信, 郝媛媛, 方怀义, 等. 双波长法测定木薯淀粉中直链和支链淀粉的含量[J]. 食品科学, 2011, 32(21): 123-127.

[22] 沈林峰, 沈掌泉. 应用近红外光谱和偏最小二乘回归法预测玉米中淀粉含量[J]. 化学分析计量, 2008, 17(6): 26-28.

[23] 王喜萍, 李长生, 张文英. 淀粉含量测定方法的研究初探[J]. 粮油食品科技, 2001, 9(2): 37-38.

[24] 展海军, 崔丽伟, 李婕. 用差热分析法测定玉米中淀粉含量[J]. 河南工业大学学报:自然科学版, 2012, 33(6): 31-35.

(上接第78页)

A, 2007, 1156(1): 45-50.

[17] Kerio L C, Wachira F N, Wanyoko J K *et al.* Total polyphenols, catechin profiles and antioxidant activity of tea products from

purple leaf coloured tea cultivars[J]. Food Chemistry, 2013, 136: 1405-1413.

[18] 陈椽. 制茶学[M]. 第二版. 北京:中国农业出版社, 1989: 6-7.