

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2015)06-0341-05

## 马铃薯块茎直链淀粉含量检测方法的比较

杨焕春<sup>1, 2</sup>, 李 勇<sup>3\*</sup>, 吕文河<sup>1</sup>, 杜英秋<sup>2</sup>, 单 宏<sup>2</sup>, 孔保华<sup>1</sup>(1. 东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086;  
3. 黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘 要:** 为研究不同测定方法对马铃薯块茎直链淀粉含量的影响, 采用单一曲线法、双波长法和混合曲线法(对照)测定马铃薯品种‘克新22号’的直链淀粉含量。结果表明: 单一曲线法测定结果偏高, 与标准方法测定值比较差异显著; 双波长法测定结果与标准方法测定值差异不显著, 且变异系数小, 回收率好。因此, 除国家标准方法之外, 双波长法也适合测定马铃薯块茎直链淀粉含量。这一研究结论将为选择合适的马铃薯块茎直链淀粉含量测定方法提供进一步支持。

**关键词:** 马铃薯; 直链淀粉; 单一曲线法; 混合曲线法; 双波长法

## Comparison of Determination Method for Amylose Content in Potato Tubers

YANG Huanchun<sup>1, 2</sup>, LI Yong<sup>3\*</sup>, LU Wenhe<sup>1</sup>, DU Yingqiu<sup>2</sup>, SHAN Hong<sup>2</sup>, KONG Baohua<sup>1</sup>

(1. Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China; 2. Safety and Quality Institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China; 3. Institute of Virus-free Seedling Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

**Abstract:** The single curve method, dual wavelength method, and hybrid curve method (standard method, control) were applied to determine the amylose content in potato variety 'Kexin 22' to investigate the impacts of different determination methods on the results of amylose content determination in potato tuber. The results indicated that the value of single curve method was relatively higher, and a significant difference was found between the standard method and the single curve method. No significant difference was observed for the results between the dual wavelength method and standard method, meanwhile, lower value was obtained for the coefficient of variation, and a good recovery rate was achieved for the dual wavelength method. In consequence, besides the standard method, the dual wavelength method was adequate for determination of potato amylose. This research provided further support for the selection of adequate amylose determination method in potato tubers.

**Key Words:** potato; amylose; single curve method; hybrid curve method; dual wavelength method

马铃薯是人们日常生活必不可少的食物来源之一。马铃薯淀粉具有口味温和、无色、无刺激、高黏、高韧和高稳定性等特点, 有着任何其他作物淀粉无法比拟的独特特性。因次, 马铃薯淀粉在食品

加工业、水产饲料业、医药生产行业、化工行业、石油行业和铸造业等众多领域有着广泛的应用。直链淀粉作为淀粉的一个重要组分, 其含量对淀粉的品质和特性有着重要影响。多年来, 文献中有很多

收稿日期: 2015-08-13

基金项目: 国家科技支撑计划项目“东北地区马铃薯标准化、机械化生产技术集成与示范(2012BAD06B02)”; 黑龙江省农业科技创新工程(2014QN016)。

作者简介: 杨焕春(1978-), 女, 助理实验师, 硕士研究生, 研究方向为农产品质量检测。

\*通信作者(Corresponding author): 李勇, 助理研究员, 研究方向为马铃薯栽培生理和遗传育种, E-mail: liyong5306449@163.com。

关于马铃薯块茎直链淀粉含量测定方法的报道, 如曾凡奎等<sup>[1]</sup>采用双波长法; 赵萍等<sup>[2]</sup>采用酶法; 姚新灵等<sup>[3]</sup>采用酸水解法; 曹忙选<sup>[4]</sup>采用电位滴定法等。但前人并没有系统分析何种方法测定马铃薯块茎直链淀粉含量更科学、更准确。本研究利用不同检测方法对马铃薯块茎直链淀粉含量进行测定和分析, 旨在筛选出科学、准确、简便的马铃薯块茎直链淀粉测定方法, 为马铃薯淀粉品质评价和定量界定提供有价值的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

马铃薯直链淀粉标准品由黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所提供, 马铃薯支链淀粉由西格玛公司提供, 所有试剂均为分析纯。试验样品为高淀粉品种‘克新22号’的块茎。

### 1.2 试验仪器

电热恒温水浴锅; 电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司); DS-1 高速组织捣碎机(上海精科实业有限公司); DFT-50 手提式高速万能粉碎机(温岭市林大机械有限公司); 紫外分光光度计(德国耶拿公司); SGW-2 自动旋光仪(上海申光有限公司); ML204 万分之一天平(梅特勒托利多仪器有限公司)。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 单一曲线法

该方法参考 NY/T 55-1987, 标准曲线简化为由马铃薯直链淀粉标准品绘制, 而支链淀粉部分用校正液补齐至 5.0 mL。其余操作全部按 NY/T 55-1987 执行。在 6 个 100 mL 容量瓶中分别加入 1 mg/mL 的马铃薯直链淀粉标准溶液 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mL, 用 0.09 mol/L 氢氧化钠溶液补齐至 5.0 mL。然后分别加蒸馏水约 50 mL, 1 mol/L 乙酸 1 mL, 碘试剂 1 mL。摇匀定容显色 10 min, 空白不加标样, 其他同上, 以马铃薯直链淀粉含量(mg/mL)为横坐标, 以 620 nm 处吸光值为纵坐标绘制标准曲线。样品处理同标准品。

#### 1.3.2 混合曲线法

参照国家标准 GB/T15683-2008/ISO6647-1:2007 测定马铃薯样品直链淀粉的含量。在 6 个 100 mL 容量瓶中分别加入 1 mg/mL 的马铃薯直链淀粉标准溶液 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 和 2.0 mL,

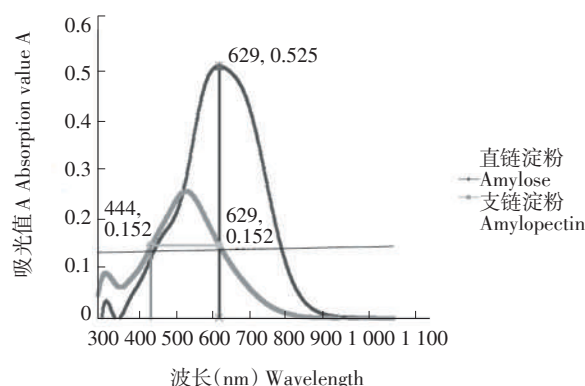
将此标准系列溶液用 1 mg/mL 的马铃薯支链淀粉标准溶液补齐至 5.0 mL, 空白为取 0.09 mol/L 氢氧化钠溶液 5 mL, 然后分别加蒸馏水约 50 mL, 加 1 mol/L 乙酸 1 mL, 再加碘试剂 1 mL。摇匀定容显色 10 min。以马铃薯直链淀粉含量(mg/mL)为横坐标, 在 620 nm 处以混合吸光值为纵坐标绘制标准曲线。样品处理同标准品。

#### 1.3.3 双波长法

参照 Williams 等<sup>[5]</sup>的研究方法, 取 1 mg/mL 直链淀粉标准溶液 0.6, 1, 1.4, 1.8, 2.2 和 2.6 mL 放入 100 mL 容量瓶中, 加入 40~60 mL 蒸馏水, 用 0.1 mol/L HCl 溶液调 pH 至 3.5 左右, 加碘试剂 1 mL, 混匀定容。静止显色 20 min, 以空白试剂为对照, 将分光光度计程序设定双波长比色状态比色作曲线( $\lambda_1$  为 444 nm,  $\lambda_2$  为 629 nm)。即得  $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$ 。以  $\Delta\lambda$  值为纵坐标, 直链淀粉含量(mg/mL)为横坐标, 绘制直链淀粉的双波长标准曲线。样品处理同标准品。

#### 1.3.4 双波长法的波长与参比波长的建立

首先确定双波长 $\lambda_2$ 和 $\lambda_1$ , 由于马铃薯原薯的直链和支链淀粉的比例约为 1:3, 因而, 参考曾凡奎等<sup>[1]</sup>报道, 采用直支比 1:3 的比例进行全波长扫描。如图 1 所示, 从直链淀粉全波长扫描的最大吸收向 X 轴作垂线的交点即是波长 $\lambda_2 = 629$  nm, 与支链淀粉扫描曲线相交, 从交点处平行 X 轴作直线与支链淀粉曲线相交, 沿此交点向 X 轴作垂线的交点即参比波长 $\lambda_1 = 444$  nm。马铃薯直链淀粉含量(mg)与 $\Delta\lambda$ 成正比,  $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$ 。



1 mg/mL 直链淀粉取 1.8 mL, 1 mg/mL 支链淀粉取 5.4 mL。  
1 mg/mL amylose 1.8 mL, 1 mg/mL amylopectin 5.4 mL。

图1 双波长法全波长扫描

Figure 1 The whole wavelength scanning picture of dual wavelength method

1.4 样品前处理

‘克新22号’马铃薯块茎干样的制备：块茎经过洗净、切碎、干燥箱60℃烘干至恒重，过80目筛，得到试验块茎干样。粗淀粉提取：参照曾凡逵等<sup>[1]</sup>报道的提取方法，自然晾干制得。

1.5 加标回收试验

准确量取1 mg/mL的马铃薯直链淀粉标准溶液0.25, 0.50和0.75 mL共3份，分成3组，各自加入1 mg/mL的样品溶液2 mL，分别按照单一曲线法、混合曲线法和双波长法的操作方法测定吸光值，计算加标回收率。

1.6 精密度试验

采用单一曲线法、混合曲线法和双波长法测定样品直链淀粉含量，每个样品处理均设3个重复，计算样品平均值及变异系数。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的建立

2.1.1 单一曲线法标准曲线的建立

单一曲线法的回归方程为 $y = 0.314\ 2x - 0.003\ 2$ ，相关系数 $R^2 = 0.999\ 8$ 。如图2所示，马铃薯直链淀粉标准品在此浓度下与吸光值呈较好的线性关系，符合朗博比尔定律。

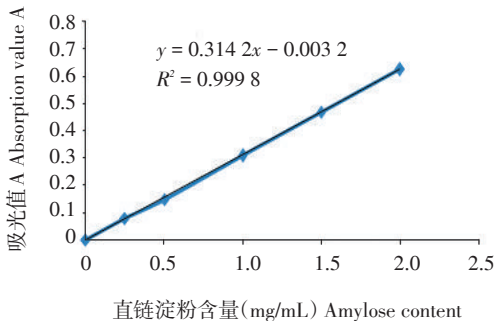


图2 单一曲线法测定直链淀粉含量的标准曲线  
Figure 2 Standard curve of amylose content determination by single curve method

2.1.2 混合曲线法标准曲线的建立

混合曲线的回归方程为 $y = 0.303\ 8x + 0.120\ 9$ ，相关系数 $R^2 = 0.999\ 8$ ，曲线不经过零点，吸光值为0.1，这是5 mg支链淀粉的吸光值。如图3所示，马铃薯直链淀粉标准品在此浓度下与吸光值呈较好的线性关系，符合朗博比尔定律。

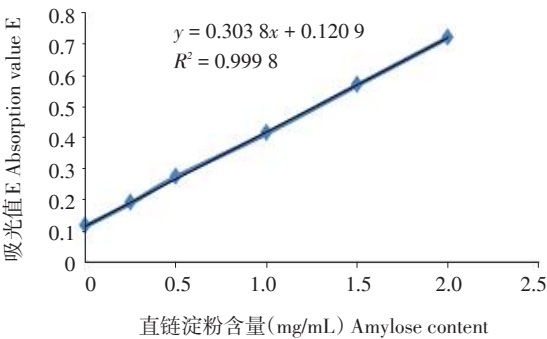


图3 混合曲线法测定直链淀粉含量的标准曲线  
Figure 3 Standard curve of amylose content determination by hybrid curve method

2.1.3 双波长法标准曲线的建立

双波长法的回归方程为 $y = 0.223\ 4x - 0.003\ 3$ ，相关系数 $R^2 = 0.999\ 9$ ，如图4所示，马铃薯直链淀粉标准品在此浓度下与吸光值 $\Delta\lambda$ 呈较好的线性关系，符合朗博比尔定律。

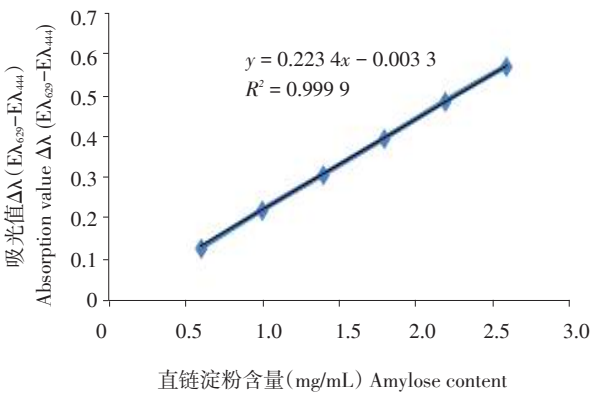


图4 双波长法测定直链淀粉含量的标准曲线  
Figure 4 Standard curve of amylose content determination by dual wavelength method

2.2 样品前处理对测定值的影响

如图5所示，无论采用哪种方法，块茎烘干样品测定值均比粗淀粉样品低。其中，利用单一曲线法测定块茎干样和粗淀粉样品的直链淀粉含量分别为37.11%和38.86%；利用混合曲线法测定马铃薯块茎干样和粗淀粉样品的直链淀粉含量分别为28.15%和33.04%；利用双波长法测定马铃薯块茎干样和粗淀粉样品的直链淀粉含量分别为29.59%和34.05%。

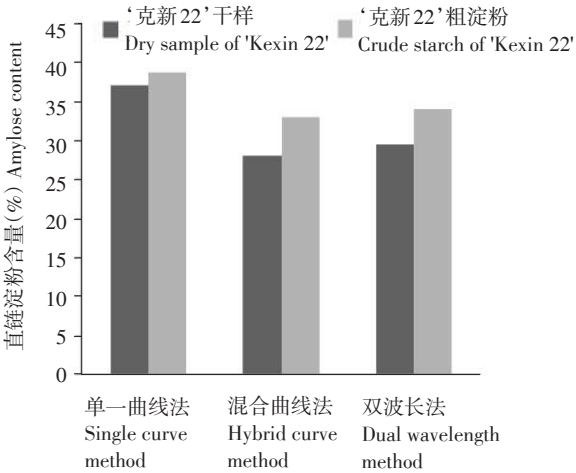


图5 不同处理直链淀粉含量的影响  
Figure 5 Effects of different treatments on amylose content

表1 不同方法测定块茎干样直链淀粉含量比较

Table 1 Comparison of amylose content in dry sample tested by different methods

| 检测方法<br>Method                   | 重复次数<br>Replication |       |       | 平均值(%)<br>Average | 变异系数(%)<br>CV | 与CK相比<br>显著性<br>Significant |
|----------------------------------|---------------------|-------|-------|-------------------|---------------|-----------------------------|
|                                  | 1(%)                | 2(%)  | 3(%)  |                   |               |                             |
| 单一曲线法<br>Single curve method     | 38.66               | 36.19 | 36.47 | 37.11             | 3.64          | 8.953**                     |
| 双波长法<br>Dual wavelength method   | 29.10               | 29.50 | 30.17 | 29.59             | 1.83          | 1.437                       |
| 混合曲线法(CK)<br>Hybrid curve method | 29.89               | 27.15 | 27.42 | 28.15             | 5.36          | -                           |

注:  $LSD_{0.01} = 3.667$ 。 \*\*表示差异极显著, 下同。  
Note:  $LSD_{0.01} = 3.667$ . \*\*stands for significance. The same below.

表2 不同方法测定块茎粗淀粉直链淀粉含量比较

Table 2 Comparison of amylose content in crude starch tested by different methods

| 检测方法<br>Method                   | 重复次数<br>Replication |       |       | 平均值(%)<br>Average | 变异系数(%)<br>CV | 与CK相比显著性<br>Significant |
|----------------------------------|---------------------|-------|-------|-------------------|---------------|-------------------------|
|                                  | 1(%)                | 2(%)  | 3(%)  |                   |               |                         |
| 单一曲线法<br>Single curve method     | 38.93               | 38.50 | 39.14 | 38.86             | 0.84          | 5.813**                 |
| 双波长法<br>Dual wavelength method   | 33.80               | 34.06 | 34.29 | 34.05             | 0.72          | 1.007                   |
| 混合曲线法(CK)<br>Hybrid curve method | 32.97               | 32.55 | 33.61 | 33.04             | 1.62          | -                       |

注:  $LSD_{0.01} = 1.174$ 。  
Note:  $LSD_{0.01} = 1.174$ .

混合曲线法是测定谷物中直链淀粉的国际方法, 双波长法的测定结果与混合曲线法的测定结果差异不显著。因此, 双波长法也适合测定马铃薯块茎直链淀粉含量。

2.4 添加回收分析

如表3所示, 单一曲线法测得回收率为 94.08%~105.86%; 混合曲线法测得回收率为 100.08%~

2.3 直链淀粉含量差异性比较

利用最小显著差法(LSD法)(表1), 比较单一曲线法与混合曲线法测定马铃薯块茎干样直链淀粉含量的差异显著性,  $LSD = 8.953$ , 大于  $LSD_{0.01} = 3.667$ , 说明这2种方法的测定结果差异达到极显著水平; 比较双波长法与混合曲线法测定值的差异显著性,  $LSD = 1.437$ , 小于  $LSD_{0.01} = 3.667$ , 说明这2种方法的测定结果差异不显著。

利用最小显著差法(LSD法)(表2), 比较单一曲线法与混合曲线法测定马铃薯块茎粗淀粉样品直链淀粉含量的差异显著性,  $LSD = 5.813$ , 大于  $LSD_{0.01} = 1.174$ , 说明这2种方法的测定结果差异达到极显著水平; 比较双波长法与混合曲线法测定值的差异显著性,  $LSD = 1.007$ , 小于  $LSD_{0.01} = 1.174$ , 说明这2种方法的测定结果差异不显著。

102.32%; 双波长法测得回收率为 100.32%~102.20%。由此可见, 单一曲线法的回收最差, 而混合曲线法和双波长法回收率较高, 准确度高。

2.5 精密度比较

测定样品为块茎烘干样品时, 单一曲线法  $CV = 3.64\%$ 、混合曲线法  $CV = 5.36\%$ 、双波长法  $CV = 1.83\%$ (表1), 双波长法的变异系数最小。测

表 3 直链淀粉添加回收分析

Table 3 Analysis of adding and recycling of amylose

| 方法<br>Method                   | 标准品添加量(mL)<br>Standard volume | 样品量(mL)<br>Sample volume | 样品直链淀粉含量(mg)<br>Sample amylose content | 实测值(mg)<br>Result | 回收率(%)<br>Recycling rate |
|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------|----------------------------------------|-------------------|--------------------------|
| 单一曲线法<br>Single curve method   | 0.25                          | 2.00                     | 0.575 8                                | 0.811 0           | 94.08                    |
|                                | 0.50                          | 2.00                     | 0.565 8                                | 1.095 1           | 105.86                   |
|                                | 0.75                          | 2.00                     | 0.561 5                                | 1.321 9           | 101.39                   |
| 混合曲线法<br>Hybrid curve method   | 0.25                          | 2.00                     | 0.425 4                                | 0.681 2           | 102.32                   |
|                                | 0.50                          | 2.00                     | 0.421 2                                | 0.921 6           | 100.08                   |
|                                | 0.75                          | 2.00                     | 0.463 8                                | 1.219 1           | 100.71                   |
| 双波长法<br>Dual wavelength method | 0.25                          | 2.00                     | 0.451 5                                | 0.702 3           | 100.32                   |
|                                | 0.50                          | 2.00                     | 0.457 7                                | 0.964 8           | 101.42                   |
|                                | 0.75                          | 2.00                     | 0.468 1                                | 1.234 6           | 102.20                   |

注：标准品浓度和样品浓度均为 1 mg/mL。

Note: Standard concentration and sample concentration are both 1 mg/mL.

定样品为粗淀粉样品时，单一曲线法  $CV = 0.84\%$ 、混合曲线法  $CV = 1.62\%$ 、双波长法  $CV = 0.72\%$ （表 2），双波长法的变异系数亦最小。以上数据说明粗淀粉样品测定的精密度高于烘干样品的精密度；利用双波长法测定块茎烘干样品和粗淀粉样品均有较好的精密度。

### 3 讨 论

对于不同前处理获得的马铃薯样品来说，无论采用单一曲线法、双波长法和混合曲线法中哪种方法，烘干样品值均偏低，粗淀粉样品值均偏高。由于烘干样品是将水分烘干，未破坏其组分和组成比例，更能代表实际。因此，用烘干样品测定马铃薯直链淀粉含量比较科学。而粗淀粉样品在提取过程中，需要经过打浆和利用大量的水洗涤淀粉，在洗涤过程中直链和支链淀粉会随着水损失掉，这部分损失并不是按照马铃薯直支链淀粉固有的比例损失掉的。通过试验检测结果可知，支链淀粉流失的要比直链淀粉流失的多，导致直链淀粉含量测定值偏高，因此，不建议选用粗淀粉样品测定马铃薯块茎直链淀粉的含量。

同一马铃薯块茎样品，采用单一曲线法测定值最高，混合曲线法测定值最低，双波长法测定结果较为合理。因此，利用双波长法测定马铃薯块茎直链淀粉含量更为科学。混合曲线法是国际通用的谷物中直链淀粉含量测定的方法，双波长法与混合曲线法测定结果差异不显著，这说明双波长法适合用

来测定马铃薯块茎直链淀粉含量。添加回收分析表明，双波长法和混合曲线法回收率高，精密度好，接近真实值。另外，双波长法<sup>[6-8]</sup>能同时测定马铃薯块茎直链淀粉、支链淀粉和总淀粉含量 3 个指标，操作简单，能够提高工作效率，适合多参数大批量分析。

### [ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] 曾凡奎, 赵鑫, 周添红, 等. 双波长比色法测定马铃薯直链淀粉/支链淀粉含量 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(1): 119-122.

[ 2 ] 赵萍, 巩惠玲, 赵瑛. 不同品种马铃薯淀粉及其直链淀粉、支链淀粉含量的测定 [J]. 兰州理工大学学报, 2004, 30(1): 76-78.

[ 3 ] 姚新灵, 丁向真, 陈彦云, 等. 马铃薯表观淀粉含量与直链淀粉含量相关性研究 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(5): 953-957.

[ 4 ] 曹忙选. 电位滴定法快速测定直链淀粉含量 [J]. 西北农业学报, 2003, 12(4): 91-92, 97.

[ 5 ] Williams P C, Kuzina F D, Hiynka I. A rapid colorimetric procedure for estimating the amylase content of starches and flours [J]. Cereal Chemistry, 1970, 47: 411-420.

[ 6 ] 加列西·马那甫, 景伟文, 削合来提·再丁. 双波长法测定谷类和豆类作物籽粒中直链和支链淀粉的含量 [J]. 新疆农业科学, 2010, 47(3): 564-568.

[ 7 ] 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.

[ 8 ] 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(4): 97-100.