

# 饲料淀粉糊化度(熟化度)的测定<sup>1</sup>

## DETERMINATION OF STARCH GELATINIZATION (COOKING DEGREE) IN FEED

熊易强 博士, 美国大豆协会

### 前 言

本文介绍的是目前美国饲料工业界普遍采用的测定淀粉饲料热加工程度的方法。此方法实际上是已发表过的测定淀粉糊化度的经典酶解法的简化。该经典酶解法测定淀粉糊化度是将未加工的“生”淀粉(或含淀粉的饲料样品)在给定实验条件下的葡萄糖释放量定为零,将充分煮熟的全糊化淀粉(或与上述含淀粉饲料同一起来源的全糊化样品)的葡萄糖释放量定为 100,以不同比例的“生样品”与“全糊化样品”的混合物与对应的葡萄糖释放量建立直线回归;测定同一起来源的加工过的样品的葡萄糖释放量,根据回归公式,推算加工样品的糊化度(见另文:测定高粱的加工程度和淀粉可利用率的改进酶法,熊易强,S.J.Bartle,R.L.Preston,1990)。该经典方法在商业应用上有两个问题:一是测定手续繁琐,费工耗时;二是生产中往往难以得到与所测样品同一起来源的未经加工的“生”淀粉(或饲料)样品。作者在美国饲料部门工作期间,吸取生产单位的检测经验并加以改进,建立了本文所介绍的简化方法,也是目前工业上采用的简化方法。此法是以加工过的样品的葡萄糖释放量与同一起来源的全熟化样品的葡萄糖释放量之比值来直接表达淀粉糊化(熟化)度。更确切地讲,该比值所表达的是在给定实验条件下淀粉酶解的有效率(度)。这一推算和表达方式不仅省去了测定“生”样品葡萄糖释放量(对一般谷物来说,该数值为淀粉含量的 20—30%)及建立回归公式的步骤;而且,在不需得知样品的葡萄糖释放量和样品的淀粉含量的情况下,可以直接用光吸收的比值表达糊化(熟化)度,从而进一步省去了建立葡萄糖标准曲线的步骤。需要指出的是,简化法所表达的淀粉糊化度,由于“零点”位置的改变,与经典方法在概念和数值上都有所差别。但从动物对淀粉

---

<sup>1</sup> 首次发表于 1999 年 3 月

的利用率的角度来说，这一简化方法应该说是更有意义、更为直接的表达。

## 设 备

天平，灵敏度 0.001g。

恒温水浴。

分光光度计。

## 试 剂

### 缓冲液

将 3.7ml 冰醋酸(glacial acetic acid)和 4.1g 无水乙酸钠(anhydrous sodium acetate)(或 6.8g  $\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )溶于大致 100ml 蒸馏水中，定容至 1 立升，必要时可滴加乙酸或乙酸钠调整 pH 值至  $4.5 \pm 0.05$ 。

### 酶溶液

将 750mg 脱支酶(amyloglucosidase, Sigma, No. A-7255 浓度 12100 单位/g)溶于 50ml 蒸馏水。此溶液含粗制酶 15mg(或 180 单位/ml)。测试当天配制。

### 蛋白沉淀剂

1.  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 10%(w/v)蒸馏水溶液。

2. 0.5N NaOH。

### 铜试剂

将 40g 无水  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶于大致 400ml 蒸馏水中，加 7.5g 酒石酸(tartaric acid)，溶解后加 4.5g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 。混合并稀释至 1 立升。

### 磷钼酸试剂

取 70g 钼酸(molybdic acid)和 10g 钨酸钠(sodium tungstate)，加入 400ml 10%NaOH 和 400ml 蒸馏水。煮沸 20—40min 以驱赶  $\text{NH}_3$ 。冷却，加蒸馏水至大约 700ml，加 250ml 浓的正磷酸(85%  $\text{H}_3\text{PO}_4$ )，用蒸馏水稀释至 1 立升。

### 葡萄糖标准液

溶解 100mg 纯葡萄糖于 70ml 蒸馏水中，稀释至 100ml。测试当天配制。

## 操作程序

1. 先将风干样品细磨碎使全部通过 1mm 筛。再根据样品含淀粉程度不同,准确称取两份样品各 100mg(纯淀粉)、或各 150mg(样品淀粉含量 60% 以上)、或各 200mg(样品淀粉含量 30—60%)、或各 300mg(样品淀粉含量 15—30%)、或各 400mg(样品淀粉含量 15% 以下),分别置于 25ml 刻度试管内。其中一份供制备“全糊化样品”,另一份为“测定样品”。

“全糊化样品”的制备:向样品中加入 15ml 缓冲液,混匀后将试管置于沸水浴中加热 1h(其间摇动 2~3 次),即为“全糊化样品”。用自来水冷却试管,滴加适量蒸馏水使液面恢复到加热前的位置。与“测定样品”一起进行以下步骤。

2. 向“测定样品”中加入 15ml 缓冲液。分别向“全糊化样品”与“测定样品”中加入 1ml 酶溶液。另取一空试管加入 15ml 缓冲液和 1ml 酶溶液,作为“空白”。在 40℃ 水浴中保温 1h,起初摇动一次,以后每 15min 摇动一次。

3. 保温达 1h 时,加 2ml 10%  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  混匀,再加 1ml 0.5N NaOH。用水稀释至 25ml,混匀,过滤(用 Whatman<sup>#</sup>40 滤纸)。

4. 准确吸取 0.1ml 滤液和 2ml 铜试剂,置于 25ml 刻度试管中。

5. 将该试管置沸水浴中 6min,保持沸腾,加 2ml 磷钼酸试剂,继续加热 2min。

6. 用自来水令试管冷却。加蒸馏水稀释至 25ml,堵住试管口(可用带手套的姆指或手掌),反覆颠倒试管使之混匀。

7. 用分光光度计在 420nm 读取吸收值。

8. 测定样品淀粉糊化(熟化)度的计算:

$$\text{糊化(熟化)度(\%)} = \frac{\text{测定样品光吸收} - \text{空白光吸收}}{\text{全糊化样品光吸收} - \text{空白光吸收}} \times 100(\%)$$

如要得知样品的葡萄糖释放量和淀粉含量,则需增加以下步骤:

9. 建立葡萄糖标准曲线:吸取 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6ml

标准葡萄糖溶液(1mg/ml)分别置于各有 2ml 铜试剂的试管中。按第 4 至第 7 步骤得出葡萄糖标准曲线。当样品称取量为 200mg 时, 这些试管分别代表每克样品含葡萄糖 0、125、250、375、500、625、750mg 的浓度。

10. 样品葡萄糖释放量和淀粉含量的计算:

样品葡萄糖释放量(mg/g)

$=(\text{测定样品葡萄糖值}^* - \text{空白葡萄糖值}^*) \times 200 / \text{称取样品量}(\text{mg})$

样品淀粉含量(mg/g)

$=(\text{全糊化样品葡萄糖值}^* - \text{空白葡萄糖值}^*) \times 0.9 \times 200 / \text{称取样品量}(\text{mg})$

(\*根据光吸收从葡萄糖标准曲线查找)

(刘瑞征 翻译)