

ICS 67.060

CCS B20

# 团 体 标 准

T/CI 037-2022

## 蒸煮加工用高抗性淀粉大米含量指标及检测方法

Content Index of High Resistant Starch Rice for Cooking and Processing  
and Its Detection Method

2022-7-1 发布

2022-7-1 实施

中国国际科技促进会 发布



## 目 次

前 言 .....	II
蒸煮加工用高抗性淀粉大米含量指标及检测方法 .....	1
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语及定义 .....	1
3.1 抗性淀粉 .....	1
3.2 高抗性淀粉大米 .....	1
3.3 蒸煮加工用大米 .....	1
4 原理 .....	2
5 试剂和材料 .....	2
5.1 试剂 .....	2
5.2 材料 .....	4
6 仪器和设备 .....	4
7 试样准备 .....	4
8 分析步骤 .....	4
9 结果计算 .....	5
10 精度 .....	6

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》要求进行编写。

某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由浙江大学提出。

本文件由中国国际科技促进会归口。

本文件起草单位：浙江大学、海南浙江大学研究院、浙江大学山东（临沂）现代农业研究院、浙江大学中原研究院、浙江省农业科学院、浙江省中药研究所有限公司、浙江绿巨人生物技术有限公司、衢州市三易易生态农业科技有限公司、杭州赋禾数字科技有限公司。

本文件主要起草人：舒小丽、吴殿星、张 宁、徐开盛、王 寅、孙 健、沈 易、孟雨莎、张晓艳、郑楠楠、詹 宇、徐应英、姜 章。

本文件为首次发布。

# 蒸煮加工用高抗性淀粉大米含量指标及检测方法

## 1 范围

本文件规定了抗性淀粉及高抗性淀粉大米的术语和定义,蒸煮加工用高抗性淀粉大米中抗性淀粉含量的量值判别范围及大米抗性淀粉含量的测定方法。

本文件适用于不同品种的稻米及其制品中抗性淀粉含量的测定及蒸煮加工用高抗性大米的判定。企业在制定企业标准时可参照使用,相关机构在选育、审定和应用高抗性淀粉大米及其制品时可参照使用。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件的,仅注日期的版本适用于本文件,凡是不注日期的引用文件,其最亲版本(包括所有修订单)适用于本文件。

GB/T1354 大米

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T5497 粮食、油料检验 水分测定法

## 3 术语及定义

### 3.1 抗性淀粉

是指在健康人体小肠中不被消化吸收而能进一步在大肠中被全部或部分发酵吸收的淀粉。

### 3.2 高抗性淀粉大米

按常规方式蒸煮后米饭中的抗性淀粉含量 $\geq 8\%$ 的大米。

### 3.3 蒸煮加工用大米

指以蒸煮方式进行加工,用于日常食用或食品制作的大米。

## 4 原理

体外模拟人体消化，大米经唾液淀粉酶，胃蛋白酶和胰淀粉酶过夜消化后，非抗性淀粉被水解成葡萄糖，然后利用乙醇终止反应，消化后残渣即为粗抗性淀粉。然后用 KOH 将未被消化的淀粉溶解，再利用淀粉葡萄糖苷酶将抗性淀粉水解成葡萄糖。生成的葡萄糖与葡萄糖氧化酶/过氧化物酶 (GOPOD) 试剂会产生显色反应，形成复合物，在 510nm 处会产生特征吸收峰。测定其在 510nm 处吸光值，利用葡萄糖标准液绘制标准曲线，计算出样品消化残渣产生的葡萄糖量，再利用葡萄糖淀粉转化系数将其转化为淀粉含量，即可得出样品的抗性淀粉含量。

## 5 试剂和材料

### 5.1 试剂

除特殊说明外，所用试剂均为分析纯试剂。试验所用水符合 GB/T 6682 规定实验用水。

5.1.1 氯化钾 (KCl)。

5.1.2 氢氧化钠 (NaOH)。

5.1.3 氯氧化钾 (KCl)。

5.1.4 马来酸 (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub>)。

5.1.5 冰醋酸 (HAc)。

5.1.6 二水合氯化钙 (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O)。

5.1.7 磷酸二氢钾 (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)。

5.1.8 盐酸 (HCl)。

5.1.9 无水乙醇 (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH)。

5.1.10 苯甲酸 (C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>)。

5.1.11 胃蛋白酶 (1:3000)。

5.1.12 α-胰淀粉酶。

5.1.13 淀粉葡萄糖苷酶，或淀粉葡萄糖苷酶原液 (3300 U/mL)。

5.1.14 葡萄糖测试试剂盒。

5.1.15 D-葡萄糖标准品 (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>，纯度：99.5%)。

5.1.16 氢氧化钠溶液 [*c*(NaOH)=4.0 mol/L]：准确称取 160.0 g 氢氧化钠，加入 800 mL 水溶解后，定容至 1L。

5.1.17 马来酸钠缓冲液 [*c*(C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>COONa)=0.1 M, pH6.0]：准确称取 23.2 g

马来酸，加 1600 mL 水溶解后，用氢氧化钠溶液（5.1.16）调 pH 至 6.0。再加入 0.6 g 二水合氯化钙溶解后定容至 2L。该溶液在 4℃ 下可稳定 12 个月。

5.1.18 醋酸钠缓冲液 [ $c(\text{CH}_3\text{COONa})=1.2 \text{ M}$ , pH3.8]: 将 69.6 mL 冰醋酸加入至 800 mL 水中，用氢氧化钠溶液（5.1.16）调 pH 至 3.8，定容至 1 L。该试剂在室温下可稳定 12 个月。

5.1.19 醋酸钠缓冲液 [ $c(\text{CH}_3\text{COONa})=0.1 \text{ M}$ , pH4.5]: 将 5.8 mL 冰醋酸加入至 800 mL 水中，用氢氧化钠溶液（5.1.16）调 pH 至 4.5，定容至 1 L。该试剂在 4℃ 可稳定 2 个月。

5.1.20 氢氧化钾溶液 [ $c(\text{KOH})=4 \text{ M}$ ]: 准确称取 44.8 g 氢氧化钾至 150 mL 水中，搅拌溶解后定容至 200 mL。试剂在室温下可稳定 12 个月。

5.1.21 盐酸溶液 [ $c(\text{HCl})=0.1 \text{ M}$ ]: 量取 8.4 mL 浓盐酸，加适量水并稀释至 1 L。

5.1.22 苯甲酸溶液 [ $c(\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH})=0.2\%$ ]: 称取 0.2 g 苯甲酸溶于适量水中，然后定容至 100 mL。

5.1.23 氯化钾盐酸溶液 [ $c(\text{KCl})=0.1 \text{ M}$ , pH 1.5]: 称取 7.35 g 氯化钾，溶于 500 mL 水中，然后用盐酸溶液（5.1.21）调 pH 至 1.5，再定容至 1 L。

5.1.24 无水乙醇 [ $c(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH})=50\%$ , 体积分数]: 500 mL 无水乙醇加水定容至 1 L。

5.1.25 淀粉葡萄糖苷酶原液 (3300 U/mL): 根据购买淀粉葡萄糖苷酶活力单位，称取适量粉末，用 pH4.5 醋酸钠缓冲液（5.1.19）配制，4℃ 下可稳定 5 年。

5.1.26 淀粉葡萄糖苷酶工作液 (300 U/mL): 用 0.1 M 马来酸钠缓冲液 (pH6.0) (5.1.17) 将 2 mL 3300 U 淀粉葡萄糖苷酶原液 (5.1.25 或直接购买的原液) 稀释至 22 mL，然后分装在小离心管中，-20℃ 保存备用，试剂 -20℃ 下可稳定 5 年。

5.1.27  $\alpha$ -胰淀粉酶悬液 [ $\alpha$ -胰淀粉酶 (10 mg/mL) + 淀粉葡萄糖苷酶 (3 U/mL)]: 称取 1 g 胰腺  $\alpha$ -淀粉酶，用 100 mL 马来酸钠缓冲液。悬浮，振荡 5 min。加入 1 mL 300 U/mL 淀粉葡萄糖苷酶 (5.1.26)。充分混合。1500 g 离心 10 min，取上清液。现用现配。

5.1.28 胃蛋白酶 (10%): 称取 10.0 g 胃蛋白酶溶于氯化钾盐酸溶液 (5.1.23)，并定容至 100 mL。

5.1.29 葡萄糖标准液 (1 mg/mL): 准确称取 1.00 g D-葡萄糖 (99.5%，无结晶水) 至 900 mL 苯甲酸溶液 (5.1.22) 中，然后定容至 1L。室温下密封可保存 5 年。也可直接使用购买的商品化葡萄糖测定试剂盒 (5.1.14) 中自带的葡萄

糖标准液。

## 5.2 材料

碾米精度符合 GB/T 1354 要求的大米。

## 6 仪器和设备

- 6.1 旋风式磨粉机。
- 6.2 分析天平（精度 0.1 mg）。
- 6.3 pH 计。
- 6.4 电饭煲。
- 6.5 手持式匀浆机（最低转速 1000 rpm）。
- 6.6 水浴摇床。
- 6.7 翻转摇床。
- 6.8 具盖螺纹圆底离心管（15 mL，16×25 mm）。
- 6.9 离心机。
- 6.10 酶标仪。
- 6.11 容量瓶（容量 100 mL，1000 mL，500 mL，250 mL）。
- 6.12 移液器（量程 1 mL，10  $\mu$ l，200  $\mu$ l）。
- 6.13 磁力搅拌器。
- 6.14 全自动水分测定仪。
- 6.15 冷冻干燥机。

## 7 试样准备

（1）干样：待测样品放干燥通风处或有空调（25℃）的实验室内 1 周左右，用旋风磨粉机磨碎，过 150  $\mu$ m 筛子，混匀，保存于自封袋中密封备用。

（2）湿样：取有代表性湿样用手持式匀浆机捣碎备用；或者冷冻干燥后 48 h 或普通烘箱烘干后用旋风磨粉机磨碎，过 150  $\mu$ m 筛子，混匀后保存于自封袋中密封备用。

## 8 分析步骤

- （1）利用全自动水份测定仪或根据 GB/T5497 测定试样中水份；
- （2）制备两份平行试液。准确称取样品 100±5 mg（干样）至 15 mL 带盖螺旋圆底离心管中，轻轻敲打试管以使样品位于底部（湿样则称取 0.5 g 至试管中）；
- （3）加入 500  $\mu$ L 蒸馏水于各试管中，等电饭煲水沸后放入，蒸煮 20 min，然后保温 10 min；

(4) 取出试管, 等试管冷却至室温时, 加入 2 mL 氯化钾盐酸溶液 (5.1.23), 利用手持式匀浆机 (最小档, 40 s) 将样品捣碎;

(5) 加入 100  $\mu$ L 胃蛋白酶 (5.1.28), 置于旋转摇床 40 rpm 37 $^{\circ}$ C 消化 1 h;

(6) 加入 4 mL 马来酸钠缓冲液 (5.1.17) 混匀, 然后加入 4 mL  $\alpha$ -胰淀粉酶悬液 (5.1.27), 混匀;

(7) 旋紧试管盖, 置于旋转摇床 (20 rpm), 于 37 $^{\circ}$ C 消化过夜 (16 h);

(8) 取出试管, 1500 g 离心 10 min;

(9) 小心去除上清液, 然后加入 2 mL 50%乙醇 (5.1.24), 旋涡振荡, 将沉淀充分重悬, 然后再加入 6 mL 50%乙醇 (5.1.24), 轻轻混匀, 4000 rpm 离心 10 min;

(10) 重复 (9) 两次;

(11) 小心去除上清液, 倒置试管去除多余水分, 并用滤纸将试管壁上多余水分小心吸去;

(12) 在每个试管中加入 1 mL 水, 将沉淀充分重悬, 然后再加入 1 mL 4M 氢氧化钾溶液 (5.1.20), 轻轻混匀后, 置冰水浴中振荡 20 min;

(13) 每个试管中加入 8 mL 1.2 M 醋酸钠缓冲液 (5.1.18), 混匀后, 立即加入 0.1 mL 3300 U 的淀粉葡萄糖苷酶 (5.1.25), 混匀后置水浴摇床, 50  $^{\circ}$ C 30 min, 期间取出两次混匀;

(14) 取出试管, 擦干试管表面水份, 4000 rpm 离心 10 min;

(15) 对于抗性淀粉含量 $<10\%$ 的样品, 直接吸取 10  $\mu$ L 上清液至 96 孔板中, 加入 190  $\mu$ L GOPOD 试剂 (5.1.14); 对于抗性淀粉含量 $\geq 10\%$ 的样品, 吸取 1 mL 上清液到 15 mL 带盖螺旋圆底离心管中, 加入 9 mL 0.1 M 醋酸钠溶液 (5.1.19), 混匀后吸取 10  $\mu$ L 至 96 孔板中, 加入 190  $\mu$ L GOPOD 试剂 (5.1.14);

(16) 葡萄糖标准曲线制备: 吸取 0, 1, 3, 5, 7, 9, 10  $\mu$ L 1 mg/mL 葡萄糖标准试剂 (5.1.29) 至 96 孔板中, 不足 10  $\mu$ L 的分别用 0.1 M 醋酸钠溶液 (5.1.19) 补足至 10  $\mu$ L, 加入 190  $\mu$ L GOPOD 试剂 (5.1.14); 以 10  $\mu$ L 0.1 M 醋酸钠溶液 (5.1.19) 加 190  $\mu$ L GOPOD 试剂作为空白试液;

(17) 试液及标准液需置于同一块 96 孔酶标板, 50  $^{\circ}$ C 温育 20 min 后, 冷却至室温, 以空白试样调零, 在 510 nm 处测定标准液和试液的吸光度值;

## 9 结果计算

根据葡萄糖标准样品绘制标准曲线, 根据标准曲线方程计算试样中的葡萄糖溶液, 然后根据下列公式计算抗性淀粉含量:

$$\text{抗性淀粉 (g/100g 样品) (含量<10\%)} = C \times 10.3 \times \frac{162}{180} \times \frac{100}{W}$$

$$\text{抗性淀粉 (g/100g 样品) (含量}\geq 10\%) = C \times 10 \times 0.3 \times \frac{162}{180} \times \frac{100}{W}$$

式中：

C — 根据标准曲线得出的葡萄糖浓度 (mg/mL)

10.3 — 试样体积 (mL)

$\frac{162}{180}$  — 葡萄糖淀粉转化系数

W — 样品干重=称取样品重量 (100-含水量)/100 (mg)

实验结果保留至小数点后两位。

## 10 精度

两次独立测定结果的绝对差值不大于这两个测定算术平均值的 10%。