

说明书

一种燕麦粉糊化度的测定方法

5 技术领域

本发明属于淀粉糊化度测定技术领域，具体地说，涉及一种燕麦粉糊化度的测定方法。

背景技术

10 淀粉是由葡萄糖分子聚合而成的高分子碳水化合物。一般来说淀粉在室温下不溶于水。淀粉糊化通常是指在热作用下淀粉颗粒缓慢吸收水分发生膨胀，并逐渐破裂分散到溶液中的过程。糊化度是表示淀粉糊化程度的指标，具体为淀粉中的糊化淀粉占全部淀粉量的百分比。淀粉在糊化过程中变得可溶，因此容易受到酶的攻击。糊化度与淀粉的溶解程
15 度成正比，而淀粉的溶解程度又与酶解程度成正比。

燕麦在制粉前往往进行灭酶处理，通常采用炒制、焙烤、高压蒸汽、红外高温以及微波等热处理。由于水分、温度和压力等因素的综合作用下使得燕麦粉中的淀粉发生糊化。在燕麦粉加工过程中，糊化度是一项非常重要的判定指标，不仅能够改变最终产品的物理、化学和感官特性，
20 而且影响其对酶解的敏感性，从而影响其消化特性和营养特性。因此，在燕麦粉生产过程中有效测定燕麦粉糊化度变得尤为重要。

目前，尚未有对燕麦粉糊化度进行测定的国家标准。现有测定淀粉糊化度的方法主要为淀粉酶水解法。对于淀粉糊化度的测定，酶的方法在新鲜制作的湿样品中很有效，其中糊化淀粉已经完全溶解。然而，经
25 过一定程度的热加工后，燕麦粉通常被冷却或干燥以储存，在此期间，一些糊化淀粉逐渐回生成与天然淀粉颗粒不同形式的半结晶聚集体，造成燕麦粉糊化度的测量值与实际值的偏差较大。

因此，有必要提供一种燕麦粉糊化度的测定方法。

发明内容

有鉴于此,本发明针对燕麦粉热加工后通常被冷却或干燥以储藏而使得糊化淀粉退化不易溶解的问题,提供了一种燕麦粉糊化度的测定方法,在化学或酶解分析前,采取适当的前处理使得燕麦粉中的糊化淀粉完全溶解以及采用化学糊化的方法制得全糊化的燕麦粉样品,减少燕麦粉糊化度的测量值与实际值的偏差。

为了解决上述技术问题,本发明公开了一种燕麦粉糊化度的测定方法,该方法具体包括以下步骤:先利用低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液作为助溶剂使得燕麦粉中的糊化淀粉完全溶解得到待测样品,同时利用高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液使燕麦粉完全糊化得到全糊化样品;再利用酶将待测样品和全糊化样品中的糊化淀粉水解为还原糖,之后利用 3,5-二硝基水杨酸试剂与还原糖反应生成棕红色的氨基化合物,氨基化合物在 540 nm 附近有最大吸光度,利用紫外分光光度计测定待测样品和全糊化样品的吸光度,并根据公式计算出燕麦粉糊化度。

可选地,包括以下步骤:

步骤 1、称取两等份燕麦粉,一份燕麦粉中加入低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液进行增溶处理得到待测样品,另一份燕麦粉中加入高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液进行糊化处理得到全糊化样品,磁力搅拌;

步骤 2、分别向所述待测样品和全糊化样品中加入醋酸钠缓冲液,涡旋混合均匀,制备得到待测样品悬浮液和全糊化样品悬浮液;

步骤 3、取等量的待测样品悬浮液和全糊化样品悬浮液,分别加入 β -淀粉酶溶液,另取等量的待测样品悬浮液加入蒸馏水,作为空白样品,水浴孵育,之后离心处理,弃沉淀,得到待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液;

步骤 4、分别移取等量待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液于具塞刻度试管中,再加入 3,5-二硝基水杨酸试剂,混合均匀,沸水浴 5 min,立即冷却,加蒸馏水稀释至刻度,盖上盖子摇匀,用紫外分光光度计进行比色测定并计算得到燕麦粉糊化度。

可选地，所述步骤 1 中燕麦粉的粒径小于等于 300 μm ，所述低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 50~80 mM 和 20~40 mM，所述燕麦粉与低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液的配比为 20 mg: 5 mL~30 mg: 5 mL，所述高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100~120 mM 和 350~380 mM，所述燕麦粉与高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液的配比为 20 mg: 5 mL~30 mg: 5 mL。

可选地，所述步骤 1 中增溶处理和糊化处理的条件为：磁力搅拌时间为 30~40 min，磁力搅拌速率为 120~160 rpm。

10 可选地，所述步骤 2 中醋酸钠缓冲液的体积摩尔浓度为 100~120 mM，醋酸钠缓冲液与待测样品和全糊化样品的体积比均为 30 mL: 5 mL；醋酸钠缓冲液的 pH 为 4.75。

可选地，所述步骤 3 中水浴孵育条件是在 50°C 水浴中孵育 45 min，每 15 min 旋转 5 s；所述离心处理条件是在 10000 rpm/min 离心 5 min。

15 可选地，所述步骤 3 中待测样品悬浮液、全糊化样品悬浮液与 β -淀粉酶酶液的体积比均为 2 mL: 10 μL ，待测样品悬浮液与蒸馏水体积比为 2 mL: 10 μL 。

20 可选地，所述步骤 4 中的 3,5-二硝基水杨酸试剂的制备方法为：称取 9.165 g 的 3,5-二硝基水杨酸溶于少量热蒸馏水中，溶解后加入 10% 氢氧化钾溶液 426 mL，再加入 20 mL 丙三醇，摇匀，冷却后定容至 1000 mL，即制成 3,5-二硝基水杨酸试剂，贮于棕色试剂瓶中放置一周后备用。

可选地，所述步骤 4 中的待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液与 3,5-二硝基水杨酸试剂体积比均为 0.3 mL: 3 mL ~0.5 mL: 3 mL。

25 可选地，所述步骤 4 中的利用紫外可见分光光度计进行比色测定，检测波长为 540 nm。所述的燕麦粉糊化度的计算公式为 $X = (A_1 - A_0) / (A_2 - A_0) \times 100$ ；

其中，X 为燕麦粉糊化度， A_0 为空白样品的吸光度， A_1 为待测定样品的吸光度， A_2 为全糊化样品的吸光度。

与现有技术相比，本发明可以获得包括以下技术效果：

1) 燕麦粉中的糊化淀粉和总淀粉可以通过不同浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液进行分离，利用低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液进行增溶处理使得燕麦粉中的糊化淀粉完全溶解得到待测样品，并且使用高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液作为糊化溶剂，得到全糊化样品，减少燕麦粉糊化度的测量值与实际值的偏差，使测定结果更为准确。

2) 该测定方法所用试剂来源广、易于操作，经该测定方法测定所得的结果准确有效。

当然，实施本发明的任一产品并不一定需要同时达到以上所述的所有技术效果。

附图说明

此处所说明的附图用来提供对本发明的进一步理解，构成本发明的一部分，本发明的示意性实施例及其说明用于解释本发明，并不构成对本发明的不当限定。在附图中：

图 1 是本发明燕麦原淀粉在不同浓度氯化钾/氢氧化钾混合溶液中的光学显微镜图；A：混合溶液中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 100 mM；B：混合溶液中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 300 mM；C：混合溶液中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 350 mM。

图 2 是本发明中样品 1 分别进行沸水浴（A，对比例 1）和高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液作为糊化溶剂进行糊化处理（B，实施例 1）后的燕麦粉偏光显微镜图片。

图 3 是本发明中样品 1 按照实施例 1 中的方法以及用蒸馏水（对比例 1 中溶解方法）替代低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液测得的样品 1 的吸光度值，其中，0 是按照实施例 1 测定的吸光度值，即是在蒸馏水处理后测得的吸光度值；1 是按照实施例 1 测定的吸光度值，即是在氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 50 mM 和 20 mM 测得的吸光度值；2 是按照实施例 1 测定的吸光度值，其中，氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度替换成为 70 mM

和 30 mM; 3 是按照实施例 1 测定的吸光度值, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度替换成为 80 mM 和 20 mM; 4 是按照实施例 1 测定的吸光度值, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度替换成为 80 mM 和 40 mM;

5 样品 4 按照实施例 4 中的方法以及用蒸馏水(对比例 1 中溶解方法)替代低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液测得的样品 4 的吸光度值, 其中, 0 是按照实施例 4 测定的吸光度值, 即是在蒸馏水处理后测得的吸光度值; 1 是按照实施例 4 测定的吸光度值, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度替换成为 50 mM 和 20 mM; 2 是按照实施例 4 测定的吸光度值, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度替换成为 70 mM 和 30 mM; 3 是按照实施
10 例 4 测定的吸光度值, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度替换成为 80 mM 和 20 mM; 4 是按照实施例 4 测定的吸光度值, 即是在氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 80 mM 和 40 mM 测得的吸光度值。

具体实施方式

15 以下将配合实施例来详细说明本发明的实施方式, 藉此对本发明如何应用技术手段来解决技术问题并达成技术功效的实现过程能充分理解并据以实施。

为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清晰, 以下将配合实施例对本发明中的技术方案进行清楚、完整地描述。实施例中未注明具体条件者, 按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂
20 商者, 均为可以通过市售购买获得的常规产品。

本发明公开了一种燕麦粉糊化度的测定方法, 包括以下步骤:

步骤 1、准确称取两份等量燕麦粉样品, 称量前将燕麦粉磨碎过 300 μm 筛(约为 50 目)于离心管中, 向一份燕麦粉中加入低浓度的氯化钾/氢氧化
25 钾混合溶液进行增溶处理得到待测样品, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 50~80 mM 和 20~40 mM, 燕麦粉与低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液的配比为 20 mg: 5 mL~30 mg: 5 mL, 增溶处理具体为: 120~160 rpm/min 下磁力搅拌 30~40 min, 向另一份燕麦粉中加入高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液进行糊化处理得到全糊化样品, 其中, 氯化钾和氢氧化钾的

体积摩尔浓度分别为 100~120 mM 和 350~380 mM，燕麦粉与高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液的配比为 20 mg: 5 mL~30 mg: 5 mL，糊化处理具体为：在 120~160 rpm/min 转速条件下磁力搅拌 30~40 min，得到全糊化样品，搅拌过程中可以旋转离心管位置，减少搅拌的位置效应。

- 5 现有的测定方法忽略了燕麦粉干燥样品中的糊化淀粉完全溶解和制得完全糊化燕麦粉样品的必要性，使得燕麦粉糊化度的测量值与实际值存在偏差。本发明实施例燕麦粉糊化度的测定方法的有益效果是：采取适当的前处理使得燕麦粉样品中的糊化淀粉完全溶解，而使同一批燕麦粉样品中的天然淀粉的溶出率最低，同时采用化学糊化的方法替代热处理糊化的方法制得完全糊化的燕麦粉样品。此测定方法的关键试剂为低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，其中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 50~80 mM 和 20~40 mM，和高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，其中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100~120 mM 和 350~380 mM。氯化钾溶液作为一种无机盐溶液，其金属钾离子可作用于淀粉分子内部的氢键，为淀粉的溶解提供驱动力，同时金属钾离子内部会与水分子紧密结合形成配位球，由此形成的配位层亦使其具备了溶解淀粉的能力。同时，氢氧化钾溶液作为一种碱性溶液使得淀粉中葡萄糖分子上的羟基在碱性环境下带负电荷，当氢氧化钾的浓度越高时，淀粉分子所带负电荷越多，分子间斥力越大，这种斥力使得淀粉颗粒逐渐膨胀，进一步分散，淀粉本身的双螺旋结构展开。其中，低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液能够最大限度地溶解糊化淀粉，最低限度地溶解天然淀粉，确保糊化淀粉测量值的准确度，而当混合溶液中氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别高于 80 mM 和 40 mM 时，则会导致天然淀粉开始糊化溶解。高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液能够完全打破淀粉分子内部的氢键作用使得淀粉完全糊化溶解，若氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别低于 100 mM 和 350 mM 不能起到完全糊化淀粉的作用。

本发明中增溶处理和糊化处理的磁力搅拌时间为 30~40 min，磁力搅拌速率为 120~160 rpm。对于燕麦粉中糊化淀粉的增溶处理而言，若磁力搅拌时间过短，搅拌速率过低，不能使得燕麦粉中糊化淀粉完全溶解，若磁力搅拌时间过长，搅拌速率过高，会使得燕麦粉中的天然淀粉发生糊化溶解，造

成燕麦粉样品中糊化淀粉的测定值偏高。对于燕麦粉糊化处理而言，若磁力搅拌时间过短，搅拌速率过低，不利于高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液充分作用于淀粉分子，不利于燕麦粉样品完全糊化溶解制得全糊化样品，为了减少测定时间和操作难度，磁力搅拌时间不宜过长，搅拌速率不宜过高。

- 5 步骤 2、向所述待测样品和全糊化样品中分别加入 pH 4.75 的醋酸钠缓冲液，醋酸钠缓冲液的体积摩尔浓度为 100~120 mM，醋酸钠缓冲液与待测样品和全糊化样品的体积比均为 30 mL: 5 mL，涡旋混合均匀，制备得到待测样品悬浮液和全糊化样品悬浮液；

- 10 步骤 3、分别吸取待测样品悬浮液和全糊化样品悬浮液于两个试管中，然后加入 β -淀粉酶酶液对待测样品和全糊化样品进行酶解处理，待测样品悬浮液、全糊化样品悬浮液与 β -淀粉酶酶液的体积比均为 2 mL: 10 μ L；另取一份待测样品悬浮液于试管中加入蒸馏水作为空白样品，待测样品悬浮液与蒸馏水体积比为 2 mL: 10 μ L；在 50°C 水浴中孵育 45 min，每 15 min 旋转 5 s；之后使用高速离心机于 10000 rpm/min 离心 5 min，弃沉淀，得到待测
15 样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液；

步骤 4、取 0.3~0.5 mL 待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液于 25 mL 具塞刻度试管中，再加入 3 mL 的 3,5-二硝基水杨酸试剂，混合均匀，沸水浴 5 min，立即冷却，用蒸馏水定容至 20 mL，盖上盖子摇匀，用紫外分光光度计于 540 nm 下测定吸光度，并计算得到燕麦粉糊化度。

- 20 燕麦粉糊化度的计算公式为 $X = (A_1 - A_0) / (A_2 - A_0) \times 100$ ；

其中，X 为燕麦粉糊化度， A_0 为空白样品的吸光度， A_1 为待测定样品的吸光度， A_2 为全糊化样品的吸光度。

以下结合实施例对本发明的特征和性能作进一步的详细描述。

实施例 1

- 25 准确称取两份质量均为 20 mg 且粉碎过 300 μ m 筛（约为 50 目）的未进行热处理的燕麦粉（样品 1）于 50 mL 离心管中，向一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 50 mM 和 20 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，120 rpm/min 下磁力搅拌 30 min 得到待测样品，向另一份燕麦粉中加入 5 mL、

体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 350 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，120 rpm/min 下磁力搅拌 30 min 得到全糊化样品，搅拌过程中可以旋转离心管位置，减少搅拌的位置效应；向所述待测样品和所述全糊化样品中加入 30 mL、100 mM、pH 4.75 的醋酸钠缓冲液，涡旋混合均匀；分别吸取 2 mL 待测样品和全糊化样品悬浮液于两个 5 mL 试管中，然后加入 10 μ L 的 β -淀粉酶酶液对待测样品和全糊化样品进行酶解处理，另取 2 mL 所述待测样品悬浮液于 5 mL 试管中加入 10 μ L 的蒸馏水作为空白样品，在 50°C 水浴中孵育 45 min，每 15 min 旋转 5 s；之后使用高速离心机于 10000 rpm/min 离心 5 min；弃沉淀，得到待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液；取 0.5 mL 所述待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液于 25 mL 具塞刻度试管中，再加入 3 mL 的 3,5-二硝基水杨酸试剂，混合均匀，沸水浴 5 min，立即冷却，用蒸馏水定容至 20 mL，盖上盖子摇匀，用紫外分光光度计于 540 nm 下测定吸光度，并计算得到燕麦粉的糊化度为 10.21%。

燕麦粉糊化度的计算公式为 $X = (A_1 - A_0) / (A_2 - A_0) \times 100$

其中，X 为燕麦粉糊化度， A_0 为空白样品的吸光度， A_1 为待测定样品的吸光度， A_2 为全糊化样品的吸光度。

实施例 2

准确称取两份质量均为 30 mg 且粉碎过 300 μ m 筛（约为 50 目）的热处理燕麦粉（样品 2，燕麦籽粒水分含量调质为 25%，于滚筒炒货机中 160°C 炒制 25 min 后超微粉碎制粉）于 50 mL 离心管中，向一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 70 mM 和 30 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，130 rpm/min 下磁力搅拌 35 min 得到待测样品，向另一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 110 mM 和 360 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，130 rpm/min 下磁力搅拌 35 min 得到全糊化样品，搅拌过程中可以旋转离心管位置，减少搅拌的位置效应；向所述待测样品和所述全糊化样品中加入 30 mL、100 mM、pH 4.75 的醋酸钠缓冲液，涡旋混合均匀；分别吸取 2 mL 待测样品和全糊化样品悬浮液于两个 5 mL 试管中，然后加入 10 μ L 的 β -淀粉酶酶液对待测样品和全糊化样品进行酶解处理，另取 2 mL 所述待测样品悬浮液于 5 mL 试管中加入 10 μ L 的蒸馏水作为空白样品，在 50°C 水浴中孵育 45

min, 每 15 min 旋转 5 s; 之后使用高速离心机于 10000 rpm/min 离心 5 min; 弃沉淀, 得到待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液; 取 0.4mL 所述待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液于 25 mL 具塞刻度试管中, 再加入 3 mL 的 3,5-二硝基水杨酸试剂, 混合均匀, 沸水浴 5 min, 立即冷却, 用蒸馏水定容至 20 mL, 盖上盖子摇匀, 用紫外分光光度计于 540 nm 下测定吸光度, 并计算得到燕麦粉的糊化度为 35.62%。

燕麦粉糊化度的计算公式为 $X = (A_1 - A_0) / (A_2 - A_0) \times 100$

其中, X 为燕麦粉糊化度, A_0 为空白样品的吸光度, A_1 为待测定样品的吸光度, A_2 为全糊化样品的吸光度。

10 实施例 3

准确称取两份质量均为 30 mg 且粉碎过 300 μm 筛 (约为 50 目) 的热处理燕麦粉 (样品 3, 燕麦籽粒水分含量调质为 27.5%, 于滚筒炒货机中 160°C 炒制 25 min 后超微粉碎制粉) 于 50 mL 离心管中, 向一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 80 mM 和 40 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液, 160 rpm/min 下磁力搅拌 40 min 得到待测样品, 向另一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 120 mM 和 380 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液, 160 rpm/min 下磁力搅拌 40 min 得到全糊化样品, 搅拌过程中可以旋转离心管位置, 减少搅拌的位置效应; 向所述待测样品和所述全糊化样品中加入 30 mL、100 mM、pH 4.75 的醋酸钠缓冲液, 涡旋混合均匀; 分别吸取 2 mL 待测样品和全糊化样品悬浮液于两个 5 mL 试管中, 然后加入 10 μL 的 β -淀粉酶酶液对待测样品和全糊化样品进行酶解处理, 另取 2 mL 所述待测样品悬浮液于 5 mL 试管中加入 10 μL 的蒸馏水作为空白样品, 在 50°C 水浴中孵育 45 min, 每 15 min 旋转 5 s; 之后使用高速离心机于 10000 rpm/min 离心 5 min; 弃沉淀, 得到待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液; 取 0.3 mL 所述待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液于 25 mL 具塞刻度试管中, 再加入 3 mL 的 3,5-二硝基水杨酸试剂, 混合均匀, 沸水浴 5 min, 立即冷却, 用蒸馏水定容至 20 mL, 盖上盖子摇匀, 用紫外分光光度计于 540 nm 下测定吸光度, 并计算得到燕麦粉的糊化度为 51.36%。

燕麦粉糊化度的计算公式为 $X = (A_1 - A_0) / (A_2 - A_0) \times 100$

其中，X 为燕麦粉糊化度， A_0 为空白样品的吸光度， A_1 为待测定样品的吸光度， A_2 为全糊化样品的吸光度。

实施例 4

准确称取两份质量均为 25 mg 且粉碎过 300 μm 筛（约为 50 目）的热处理燕麦粉（样品 4，燕麦籽粒水分含量调质为 35%，于滚筒炒货机中 160°C 炒制 25 min 后超微粉碎制粉）于 50 mL 离心管中，向一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 80 mM 和 40 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，150 rpm/min 下磁力搅拌 35 min 得到待测样品，向另一份燕麦粉中加入 5 mL、体积摩尔浓度分别为 120 mM 和 380 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液，150 rpm/min 下磁力搅拌 35 min 得到全糊化样品，搅拌过程中可以旋转离心管位置，减少搅拌的位置效应；向所述待测样品和所述全糊化样品中加入 30 mL、100 mM、pH 4.75 的醋酸钠缓冲液，涡旋混合均匀；分别吸取 2 mL 待测样品和全糊化样品悬浮液于两个 5 mL 试管中，然后加入 10 μL 的 β -淀粉酶酶液对待测样品和全糊化样品进行酶解处理，另取 2 mL 所述待测样品悬浮液于 5 mL 试管中加入 10 μL 的蒸馏水作为空白样品，在 50°C 水浴中孵育 45 min，每 15 min 旋转 5 s；之后使用高速离心机于 10000 rpm/min 离心 5 min；弃沉淀，得到待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液；取 0.3 mL 所述待测样品上清液、全糊化样品上清液和空白样品上清液于 25 mL 具塞刻度试管中，再加入 3 mL 的 3,5-二硝基水杨酸试剂，混合均匀，沸水浴 5 min，立即冷却，用蒸馏水定容至 20 mL，盖上盖子摇匀，用紫外分光光度计于 540 nm 下测定吸光度，并计算得到燕麦粉的糊化度为 90.25%。

燕麦粉糊化度的计算公式为 $X = (A_1 - A_0) / (A_2 - A_0) \times 100$

其中，X 为燕麦粉糊化度， A_0 为空白样品的吸光度， A_1 为待测定样品的吸光度， A_2 为全糊化样品的吸光度。

25 对比例 1

采用文献（Zhu, L., Jones, C., Guo, Q., Lewis, L., Stark, C.R., Alavi, S., 2016. An evaluation of total starch and starch gelatinization methodologies in pelleted animal feed. J. Anim. Sci. 94, 1501.）中碘-硫代硫酸钠滴定测定糊化度的方法测定燕麦粉（样品 1-样品 4）的糊化度。

分别对上述实施例 1-4 中的燕麦粉样品 1-4 进行糊化度的测定(试验组)以及用对比例 1 对样品 1-样品 4 进行糊化度的测定(对照组)，其结果如表 1 所示：

表 1 燕麦粉糊化度的测定结果

燕麦粉样品	对照组	试验组
1	21.03%	10.21%
2	46.84%	35.62%
3	58.69%	51.36%
4	96.34%	90.25%

- 5 由上表 1 的实验结果可以看出，4 个燕麦粉样品对照组测得的糊化度显著高于试验组，主要是因为对照组测定方法中采用的沸水浴处理不能使得燕麦粉完全糊化，导致测得的燕麦粉样品糊化度值偏高。由图 1A-B 可知，当氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 100 mM 时，燕麦原淀粉的光学显微镜图片中淀粉仍保持原有的颗粒形貌，当氯化钾和氢氧化钾的
- 10 体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 300 mM 时，一些淀粉颗粒膨胀变大发生糊化，失去淀粉原有的颗粒形貌，一些淀粉仍保持原有的颗粒形貌，说明当氢氧化钾的体积摩尔浓度较低时无法使得淀粉颗粒完全糊化。由图 1-C 可知，当氯化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 350 mM 时，燕麦原淀粉的光学显微镜图片中淀粉颗粒完全破碎，失去原有的颗粒形貌，说明氯
- 15 化钾和氢氧化钾的体积摩尔浓度分别为 100 mM 和 350 mM 时可使得燕麦淀粉完全糊化，减小燕麦粉糊化度的测量值与实际值的偏差。由图 2 可知，沸水浴处理的燕麦粉样品（A，对比例 1）偏光显微镜图片中仍能观察到部分淀粉偏光十字，表明沸水浴处理不能使得燕麦粉完全糊化；同时，对照组中热处理的燕麦粉样品中糊化淀粉并未完全溶解，导致测得的燕麦粉样品糊化
- 20 度值存在偏差，而经过高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液作为糊化溶剂进行糊化处理（B，实施例 1）后的燕麦粉偏光显微镜图片无淀粉偏光十字，说明实验组的燕麦粉样品中完全糊化，测得的燕麦粉样品糊化度值不存在偏差，由图 3 可知，使用体积摩尔浓度分别为 80 mM 和 40 mM 的氯化钾/氢氧

化钾混合溶液对样品 4 进行增溶处理后测得的样品 4 吸光度值 ($A_1=0.285$) 明显高于蒸馏水 (对比例 1 中采用的溶解方法) 溶解处理后测得的吸光度值 ($A_1=0.245$)，并且样品 1 (未热处理的燕麦粉) 在蒸馏水 (对比例 1 中采用的溶解方法) 和氯化钾/氢氧化钾混合溶液处理后测得的吸光度值没有明显差异，表明体积摩尔浓度分别为 50 mM 和 20 mM、70 mM 和 30 mM、80 mM 和 20 mM、80 mM 和 40 mM 的氯化钾/氢氧化钾混合溶液并未造成天然淀粉溶解，且能够增加样品中糊化淀粉的溶解度，减少燕麦粉糊化度的测定值与实际值的偏差。本测定方法一方面利用低浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液进行增溶处理使得燕麦粉中的糊化淀粉完全溶解得到待测样品，另一方面利用高浓度的氯化钾/氢氧化钾混合溶液化学糊化的方法替代沸水浴糊化的方法使得燕麦粉完全糊化得到全糊化样品，减少了燕麦粉糊化度的测量值与实际值的偏差，使测定结果更为准确。

上述说明示出并描述了发明的若干优选实施例，但如前所述，应当理解发明并非局限于本文所披露的形式，不应看作是对其他实施例的排除，而可用于各种其他组合、修改和环境，并能够在本文所述发明构想范围内，通过上述教导或相关领域的技术或知识进行改动。而本领域人员所进行的改动和变化不脱离发明的精神和范围，则都应在发明所附权利要求的保护范围内。