

文章编号:1673-2383(2018)04-0073-06

网络出版网址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1378.N.20180814.1403.024.html

网络出版时间:2018-8-14 14:04:08

# RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的酸法制备及抗氧化性研究

邵 颖,刘坤峰,魏宗烽,魏明奎

(信阳农林学院 食品学院,河南 信阳 464000)

**摘要:**为优化酸解法制备 RS<sub>3</sub> 板栗抗性淀粉制备工艺及了解其抗氧化性质,以信阳大板栗为原料,采用正交试验设计优化制备工艺,并对制备的抗性淀粉抗氧化性进行考察。分别以板栗淀粉乳质量分数、盐酸用量、酸解温度、酸解时间做单因素试验,结果表明,当 4 种单因素参数为 20%~30%、1.0%~2.0%、35~45 ℃、2.0~3 h 时,RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉制备得率较高。选用单因素较优参数做正交试验,结果得出板栗乳质量分数 25%,盐酸体积分数为 1.5%,酸解温度 45 ℃,酸解 3 h,RS<sub>3</sub> 板栗抗性淀粉得率为 8.72%。RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的 4 项抗氧化性质试验得出高浓度的 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉具有较强的抗氧化能力;当板栗抗性淀粉质量浓度为 10 mg/mL 时,其对 DPPH 的清除率为 45.2%,相当于 6 mg/mL Vc 的 1/2,对超氧阴离子自由基的清除率与 4 mg/mL Vc 相当;温度为 60 ℃时,10 mg/mL 的 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉对亚硝酸盐的清除率达到最大值 63.20%;RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的总抗氧化能力与浓度具有很好的线性关系。

**关键词:**板栗;抗性淀粉;酸解;抗氧化性

**中图分类号:**TS201.2      **文献标志码:**B

## 0 引言

板栗(*Castanea mollissima*)又称风栗、毛栗、栗子等,在我国种植历史悠久,产量高,发展速度快。河南信阳是盛产板栗的主要地区之一,现有种植面积 10.39 万 hm<sup>2</sup>,总产量 14.485 万 t,居河南省首位<sup>[1]</sup>,但新鲜板栗水分含量高,不耐贮存,深加工程度不够,严重制约了板栗产业的可持续发展。板栗中淀粉含量在 40%~60%<sup>[2]</sup>,素有木本粮食之称,其中直链淀粉含量为 30.16%,支链淀粉含量为 69.84%<sup>[3]</sup>,非常适合抗性淀粉的开发。

抗性淀粉(RS)在健康人体小肠中不被吸收,其生理功能类似于膳食纤维,可改善肠道代谢,降低大肠癌、肥胖的发病风险,也可一定程度上调节血糖<sup>[4-5]</sup>;除此之外,姜余梅等<sup>[6-8]</sup>均研究得出抗性淀粉具有较好的抗氧化作用,糖尿病的发生与氧化应激密切<sup>[9]</sup>,制成功能性食品可供糖尿病病人食

用。目前,抗性淀粉分为 5 类,其中最受关注的是 RS<sub>3</sub>,这类淀粉是经加热糊化后回生的淀粉。目前制备 RS<sub>3</sub> 型抗性淀粉的原料主要有马铃薯、玉米、香蕉等<sup>[10]</sup>,制备方法多见压热法<sup>[11]</sup>、酶脱支法<sup>[12]</sup>、超声波法<sup>[13]</sup>、微波-酶法<sup>[14]</sup>;酸解法具有操作简单、效率高的特点,但是目前采用酸解法制备抗性淀粉鲜见报道。因此,本研究以信阳当地富产资源板栗为原料,研究酸解法制备板栗 RS<sub>3</sub> 的最佳工艺,并对其抗氧化能力(DPPH、超氧阴离子自由基、亚硝酸盐的清除能力及总抗氧化能力)进行分析,以期为板栗抗性淀粉的功能性成分开发提供理论参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

板栗淀粉:信阳农林学院食品学院提供(蛋白质含量为 0.8%,脂肪含量为 1.3%,灰分含量为 1.7%,水分含量为 8.1%);胃蛋白酶:南京多福尼生物科技有限公司;耐高温-淀粉酶(30 000 U/g):安徽大唐生物工程有限公司;葡萄糖淀粉酶(100 000 U/g):北京奥博星生物技术有限公司;葡萄糖、氯化钾、盐酸、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸二氢钾、氢氧化钠、DPPH、95%乙醇、Vc、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、邻苯三酚、磷钼试剂、亚硝酸钠、对氢

收稿日期:2017-11-16

基金项目:河南省高校重点支持计划项目(17B550004);河南省科技厅攻关项目(172102110209);信阳农林学院科研创新团队建设项

作者简介:邵颖(1977—),女,河北沧州人,副教授,研究方向为农产品贮藏与加工。

基苯磺酸、盐酸萘乙二胺:均为分析纯,中国天津巴斯夫化工有限公司;DNS 试剂(分析纯):厦门海标科技有限公司;氢氧化钾(分析纯):上海化学试剂分装厂。

## 1.2 仪器与设备

JY10002 型电子分析天平、FA1004 型电子分析天平:上海良平仪器仪表有限公司;SF-180B 型粉碎机:泰州市天泰制药机械厂;LD-5 电动离心机:常州翔天实验仪器厂;DZF-6050 真空干燥箱:上海山连实验设备有限公司;HH-6 水浴锅:北京科伟永兴仪器有限公司;THZ-82A 恒温振荡器:常州市金坛区环宇科学仪器厂;PHS-4CT 型酸度计:上海智丞电子有限公司;TU-1901 分光光度计:北京普析通用仪器有限公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的制备工艺

称取板栗淀粉 12.5 g,定容于 50 mL 容量瓶中,调配成质量分数为 25% 的板栗淀粉乳,添加一定量的 2 mol/L HCl 溶液,在 40 °C 条件下酸解处理 2 h,加入 40 g/L NaOH 溶液调节 pH 为中性,终止酸解,然后升温至 100 °C 糊化 0.5 h,取出冷却,于 4 °C 冰箱中冷藏 20 h,离心,取沉淀物干燥,粉碎过 100 目筛得成品。

### 1.3.2 制备 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的单因素试验

选择盐酸用量、淀粉乳质量分数、酸解时间、酸解温度为单因素变量,考察各因素对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉含量的影响,确定各因素的适宜水平,为正交试验的设计提供数据支持。

#### 1.3.2.1 盐酸用量对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的影响

称取自制板栗淀粉 5 g,加少量蒸馏水溶解,然后转移定容至 50 mL 容量瓶,配成 10% 淀粉乳,分别加入 2 mol/L 盐酸使其用量为板栗乳的 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0% (V/V),分别于 40 °C 水浴锅中酸解 2 h,然后加入 40 g/L NaOH 溶液调节 pH 为中性,终止酸解,继续升温至 100 °C 糊化 0.5 h,冷却至 4 °C 冷藏 20 h,离心,干燥,粉碎过 100 目筛,考察 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率。

#### 1.3.2.2 板栗乳质量分数对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的影响

称取自制板栗淀粉 2.5、5、7.5、10、12.5、15 g,分别加少量蒸馏水溶解,然后转移定容至 50 mL 容量瓶,配成淀粉乳质量分数分别为 5%、10%、15%、20%、25%、30%,分别加入 1.5% 的盐酸,在 40 °C 条件下,酸解 2 h,然后加入 40 g/L NaOH 溶液调节 pH 为中性,终止酸解,继续升温至 100 °C 糊化 0.5 h,冷却至 4 °C 冷藏 20 h,离心,干燥,粉

碎过 100 目筛,考察 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率。

#### 1.3.2.3 酸解温度对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的影响

固定淀粉乳质量分数 25%,2 mol/L 盐酸用量 1.5%,在温度分别为 25、30、35、40、45、50 °C 下酸解 2 h,然后加入 40 g/L NaOH 溶液调节 pH 为中性,终止酸解,继续升温至 100 °C 糊化 0.5 h,冷却至 4 °C 冷藏 20 h,离心,干燥,粉碎过 100 目筛,考察 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率。

#### 1.3.2.4 酸解时间对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的影响

固定淀粉乳质量分数 25%,2 mol/L 盐酸用量 1.5%,酸解温度 40 °C,在 0.5、1.0、1.5、2、2.5、3 h 进行酸解,然后加入 40 g/L NaOH 溶液调节 pH 为中性,终止酸解,继续升温至 100 °C 糊化 0.5 h,冷却至 4 °C 冷藏 20 h,离心,干燥,粉碎过 100 目筛,考察 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率。

### 1.3.3 正交试验

在单因素试验的基础上,每个因素筛选 3 个水平,以 RS<sub>3</sub> 得率为指标,利用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 做四因素三水平正交试验,确定最佳的板栗抗性淀粉制备工艺。因素与水平见表 1。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	A 淀粉乳质量 分数/%	B 盐酸 体积分数/%	C 酸解温 度/°C	D 酸解时 间/h
1	20	1.0	35	2.0
2	25	1.5	40	2.5
3	30	2.0	45	3.0

### 1.3.4 抗性淀粉含量的测定

参考 Goni 法<sup>[15]</sup>,做适当更改,具体步骤如下:称取待测的板栗抗性淀粉样品 0.5 g,加入 10 mL 0.2 mol/L KCl-HCl 缓冲液(pH 1.7)及一定量的胃蛋白酶,37 °C 保持 4 h (不断振荡);冷却至室温,调节 pH 至中性,加 10 mL 磷酸盐缓冲液(pH 6.0),再加入一定量耐高温 α-淀粉酶于沸水浴中加热 45 min (不断振荡),冷却至室温,调整 pH 至 4.5,加一定量葡萄糖淀粉酶,于 60 °C 水浴锅中保持 1 h (不断振荡),冷却后,加入 4 倍体积 90% 乙醇,混合均匀,离心(4 000 r/min,20 min)弃上清液,醇洗 3 次,将沉淀物溶解于 4 mol/L KOH 溶液中,用 HCl 溶液中和,再加入过量葡萄糖淀粉酶,于 60 °C 水浴锅中保持 1 h (不断振荡),冷却,离心(4 000 r/min,20 min),收集上清液,用水定容至 50 mL,用 3,5-二硝基水杨酸测定还原糖,乘以 0.9,即为抗性淀粉的得率。样品中的抗性淀粉的测

定重复3次。

$$RS = \text{还原糖}(\%) \times 0.9.$$

### 1.3.5 抗氧化性测定

DPPH 自由基清除率的测定,参照连喜军等<sup>[8]</sup>的方法;超氧阴离子自由基清除率的测定,采用邻苯三酚自氧化法<sup>[9]</sup>;总抗氧化活性的测定,参照唐正辉等<sup>[7]</sup>的方法;亚硝酸盐清除率的测定,参照樊明涛<sup>[7]</sup>对氨基苯磺酸-盐酸萘乙二胺的比色法。

## 1.4 数据处理

数据均采用 Excel 2010, SPSS 19.0 软件进行整理分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉提取工艺优化

#### 2.1.1 淀粉乳质量分数对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响

板栗乳质量分数对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响及方差分析见表2。由表2可知,板栗乳质量分数对板栗 RS<sub>3</sub>型抗性淀粉的提取得率影响显著( $P < 0.05$ )。25%淀粉乳提取抗性淀粉得率与5%、10%、15%、20%、30%淀粉乳试验组比较差异均显著( $P < 0.05$ ),且25%板栗乳提取的 RS<sub>3</sub>型板栗抗性

淀粉得率最高,达到8.01%。产生此现象的主要原因在于淀粉乳的糊化程度,板栗乳质量分数过高,淀粉糊化后黏度太大,直链淀粉分子难以相互接近形成有序排列,阻碍了抗性淀粉晶体的形成和成长;板栗乳质量分数太低,伸展的淀粉分子相互接触的概率降低,也不易形成有序排列;只有适当质量分数的淀粉乳经充分糊化后,方可使直链淀粉分子的缔合变得容易,抗性淀粉含量提高<sup>[18-19]</sup>。因此,适宜的板栗乳质量分数为25%。

#### 2.1.2 盐酸用量对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响

盐酸用量对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响及方差分析结果见表3。由表3可知,盐酸用量对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率影响显著( $P < 0.05$ )。当盐酸用量为1.5%时,RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率达到最高值6.29%,此时 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率与其他试验组差异均显著( $P < 0.05$ )。当盐酸用量小于1.5%时,随盐酸用量的增加,抗性淀粉的得率逐渐增加。当盐酸用量大于1.5%时,随盐酸用量的增加,抗性淀粉的得率逐渐降低,说明随着盐酸用量的增加,水解作用会增强,导致淀粉链难以形成有序排列,最终影响抗性淀粉的得率。因此,适宜的盐酸用量为1.5%。

表2 淀粉乳质量分数对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响

Table 2 The effect of chestnut suspension mass fraction on the yield of RS<sub>3</sub>-type chestnut resistant starch

板栗乳质量分数/%	5	10	15	20	25	30
$A_{520}$	2.00±0.00f	2.90±0.06e	3.07±0.00d	3.11±0.06bc	3.21±0.06a	3.01±0.0bc
RS <sub>3</sub> 得率/%	5.01±0.00f	6.29±0.16e	7.26±0.00d	7.69±0.16bc	8.01±0.16a	7.53±0.16c

注:表中的数字为平均值±标准差,字母表示每行数据间 Duncan 多重比较的结果,其中相同的字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ),不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

表3 盐酸用量对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响

Table 3 Effect of hydrochloric acid amount on the yield of RS<sub>3</sub>-type chestnut resistant starch

盐酸用量(V/V)/%	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
$A_{520}$	1.91±0.06d	2.26±0.20b	2.52±0.12a	2.01±0.3bc	1.61±0.06e	1.46±0.00f
RS <sub>3</sub> 得率/%	4.78±0.14d	5.64±0.50b	6.29±0.29a	5.04±0.43c	4.03±0.14e	3.64±0.01f

#### 2.1.3 酸解温度对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响

不同酸解温度对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响及方差分析结果见表4。由表4可知,酸解温度对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率影响显著( $P < 0.05$ )。当酸解温度为40℃时,RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率

达到最高值8.01%,与其他试验组抗性淀粉得率差异均显著( $P < 0.05$ )。当酸解温度小于40℃时,RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率随酸解温度升高而增大;当酸解温度大于40℃,RS<sub>3</sub>抗性淀粉提取率随温度的增大减小。因此,适宜的酸解温度为40℃。

表4 酸解温度对 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率的影响

Table 4 Effect of acid hydrolysis temperature on the yield of RS<sub>3</sub>-type chestnut resistant starch

酸解温度/℃	25	30	35	40	45	55
$A_{520}$	2.50±0.14f	2.62±0.01e	2.90±0.14c	3.21±0.06a	3.02±0.14b	2.81±0.14d
RS <sub>3</sub> 得率/%	6.26±0.08f	6.54±0.01e	7.25±0.08c	8.01±0.16a	7.55±0.08b	7.01±0.08d



### 2.1.4 酸解时间对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的影响

酸解时间直接影响溶液中的淀粉分子被水解的程度,酸解时间过长,分子链被分解得过短,在回生结晶过程中无法形成稳固晶体。酸解时间过短,分子链过长和过少也同样不利于重结晶形成<sup>[20-22]</sup>。酸解时间对板栗 RS<sub>3</sub> 型抗性淀粉得率的影响及方差分析结果见表 5。由表 5 可知,酸解时间对板栗 RS<sub>3</sub> 型抗性淀粉得率影响差异显著( $P<0.05$ )。当酸

解时间小于 2 h 时,RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率随酸解时间的延长逐渐升高;当酸解时间大于 2 h 时,RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率随酸解时间的增加逐渐降低;当酸解时间为 2.0 h 时,RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率最高,达到 8.01%,与其他试验组(酸解 2.5 h 除外)比较差异显著( $P<0.05$ ),因此,适宜的酸解时间为 2.0 h。

表 5 酸解时间对 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的影响

Table 5 Effect of acid hydrolysis time on the yield of RS<sub>3</sub>-type chestnut resistant starch

酸解时间/h	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
A <sub>520</sub>	2.50±0.01e	2.62±0.06d	2.90±0.06c	3.21±0.06a	3.02±0.01a	2.81±0.06b
RS <sub>3</sub> 得率 /%	6.26±0.01e	7.08±0.14d	7.52±0.14c	8.01±0.16a	7.99±0.01a	7.77±0.14b

### 2.1.5 酸解工艺参数优化

制备 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的正交试验设计与结果见表 6。由表 6 可知,影响 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率的因素大小顺序为: B>A>D>C,即:盐酸用量>板栗乳质量分数>酸解时间>酸解温度。制备 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的最佳工艺条件为: A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>,即淀粉乳质量分数 25%、盐酸用量 1.5%、酸解温度 45 ℃、酸解 2 h。在最佳条件下,RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率为 8.69%。从正交试验极差分析可知,抗性淀粉得率最高的组合为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,与正交试验得出的组合 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 不完全相符,故需进行验证试验。

表 6 正交试验设计与结果

Table 6 The design and results of orthogonal test

编号	A	B	C	D	RS <sub>3</sub> 得率/%
1	1	1	1	1	6.51
2	1	2	2	2	7.13
3	1	3	3	3	6.65
4	2	1	2	3	8.12
5	2	2	3	1	8.69
6	2	3	1	2	7.03
7	3	1	3	3	7.17
8	3	2	1	2	7.92
9	3	3	2	1	6.06
k <sub>1</sub>	6.763	7.267	7.153	7.087	
k <sub>2</sub>	7.947	7.913	7.103	7.110	
k <sub>3</sub>	7.050	6.580	7.503	7.563	
R	1.184	1.333	0.400	0.476	

对 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub> 进行验证试验,得出 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉得率为 8.72%,高于 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>D<sub>1</sub> 抗性淀粉得率 8.69%。即制备板栗 RS<sub>3</sub> 型抗性淀粉的最佳工艺条件为:板栗乳质量分数 25%,2 mol/L 盐酸的用量 1.5%,酸解温度 45 ℃,酸解时间 3 h。

## 2.2 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的抗氧化性

### 2.2.1 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉对 DPPH 自由基清除率的影响

图 1 为 20 ℃ 时不同质量浓度板栗抗性淀粉对 DPPH 自由基清除率的影响。由图 1 可知,板栗抗性淀粉对 DPPH 自由基清除能力随板栗抗性淀粉质量浓度的增加而显著增加( $P<0.05$ );当 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的质量浓度低于 8 mg/mL 时,其对 DPPH 自由基清除能力随质量浓度升高增加较缓慢;当 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉的质量浓度高于 8 mg/mL 时,其对 DPPH 自由基清除能力随质量浓度升高速度较快;当板栗抗性淀粉质量浓度为 10 mg/mL 时,其对 DPPH 的清除率为 45.2%,相当于 6 mg/mL Vc 的 1/2。

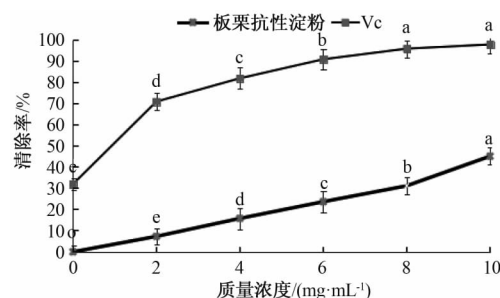


图 1 板栗抗性淀粉对 DHHP 自由基清除率的影响  
Fig.1 Effect of chestnut resistant starch on DPPH free radical scavenging rate

### 2.2.2 RS<sub>3</sub> 型板栗抗性淀粉对超氧阴离子自由基清除率的影响

邻苯三酚在碱性条件下能够迅速自氧化,氧化过程中释放出 O<sup>2-</sup>·,加入清除剂,则能够清除 O<sup>2-</sup>·,使邻苯三酚自氧化速率降低。图 2 给出了板栗抗性淀粉和 Vc 对超氧阴离子清除率的影响。由图 2 可知,RS<sub>3</sub> 板栗抗性淀粉质量浓度对超氧阴离子自由基的清除率影响显著( $P<0.05$ )。随着板栗

抗性淀粉的质量浓度升高,其对超氧阴离子自由基的清除率也随之增大;低质量浓度(2 mg/mL)时,清除率增加缓慢;当板栗抗性淀粉质量浓度大于2 mg/mL时,其对超氧阴离子自由基的清除率增长迅速;在质量浓度为10 mg/mL时,其对超氧阴离子自由基的清除率达到47.0%,与4 mg/mL Vc相当。

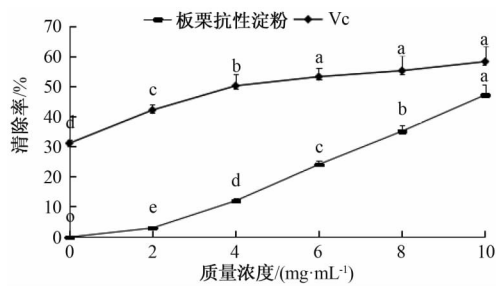


图2 板栗抗性淀粉对超氧阴离子清除率的影响  
Fig.2 Effect of chestnut resistant starch on superoxide scavenging route

### 2.2.3 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉对总抗氧化活性的影响

抗氧化活性与物质的还原能力呈正相关。一般来说,抗氧化能力越强,还原力越强。图3给出了不同质量浓度板栗抗性淀粉的总抗氧化能力。由图3可知,吸光度值随RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉质量浓度的升高而逐渐增大,说明板栗抗性淀粉的总抗氧化活性随着板栗抗性淀粉质量浓度的增大而增强,且板栗抗性淀粉的总抗氧化活性与板栗抗性淀粉的质量浓度之间具有很好的线性关系。

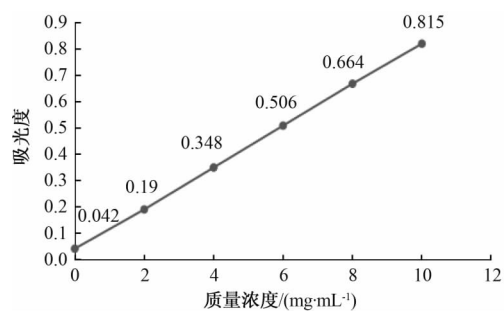


图3 板栗抗性淀粉对总抗氧化活性的影响  
Fig.3 Effect of chestnut resistant starch on total antioxidant capacity

### 2.2.4 RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉对亚硝酸盐清除率的影响

图4为不同温度下,不同质量浓度RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉对亚硝酸盐清除能力的影响。由图4可知,同一温度下,随着RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉质量浓度的增加,其对亚硝酸盐的清除率显著增大( $P<0.05$ );低

质量浓度(0~6 mg/mL)时,对亚硝酸盐的清除率增加较快;高质量浓度(6~10 mg/mL)时,对亚硝酸盐的清除率增加减缓;同一质量浓度下,随着温度升高,板栗抗性淀粉对亚硝酸盐的清除率显著增大( $P<0.05$ );在任一试验温度下,当质量浓度增加到一定程度,亚硝酸盐的清除率增加缓慢,这与唐正辉等<sup>[14]</sup>的报道一致。在试验组中,温度为60℃时,10 mg/mL的RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉对亚硝酸盐的清除率达到最大值63.20%。

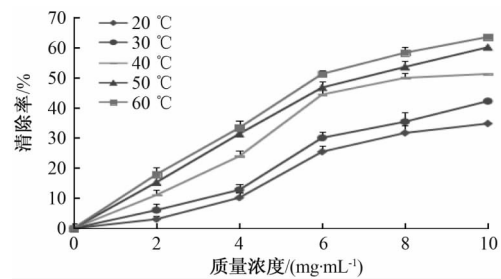


图4 板栗抗性淀粉对亚硝酸盐清除率的影响  
Fig.4 Effect of chestnut resistant starch on scavenging rate of nitrite

## 3 结论

淀粉乳质量分数、盐酸的体积分数、酸解时间及酸解温度均对RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉得率影响显著,而各因素对其影响大小不同,其中盐酸用量影响最大,淀粉乳质量分数、酸解时间影响次之,最小的是酸解温度。通过单因素和正交试验确定了酸解法制备RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉的最优工艺条件:淀粉乳质量分数为25%,2 mol/L盐酸体积分数1.5%,酸解温度45℃,酸解时间3 h。在最佳条件下,RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉的得率为8.72%。

本研究对RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉的抗氧化性进行了试验,结果表明:RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉具有较强的DPPH自由基清除能力和超氧阴离子自由基清除能力,当板栗抗性淀粉质量浓度为10 mg/mL时,其对DPPH的清除率为45.2%,相当于6 mg/mL Vc的1/2,超氧阴离子自由基的清除率与4 mg/mL Vc相当;RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉对亚硝酸盐的清除率随温度及抗性淀粉质量浓度的增加而增大,当质量浓度增加到一定程度后对亚硝酸盐的清除率增加缓慢,在温度为60℃时,10 mg/mL的RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉对亚硝酸盐的清除率达到最大值63.20%。RS<sub>3</sub>型板栗抗性淀粉的总抗氧化能力与板栗抗性淀粉的质量浓度之间具有明显的线性关系。

本研究抗性淀粉得率偏低,但在一定程度上为板栗抗性淀粉的制备奠定了理论基础。下一步应对其抗氧化性机理做进一步分析和探讨。

#### 参考文献:

- [1] 魏明奎,魏宗烽,邵颖,等. 信阳板栗的开发利用[J]. 信阳农林学院学报,2014,24(3): 118-120.
- [2] 李志西,张莉,毛加银,等. 板栗淀粉糊粘度特性的研究[J]. 中国粮油学报,2001,16(1): 28-31.
- [3] 章海兵. 板栗抗性淀粉的制备及性质研究[D]. 恩施:湖北民族学院,2010.
- [4] JOHNSTON K L, THOMAS E L, BELL J D, et al. Resistant starch improves insulin sensitivity in metabolic syndrome[J]. Diabetic Medicine, 2010, 27(4): 391-397.
- [5] KWAK J H, PAIK J K, KIM H I, et al. Dietary treatment with rice containing resistant starch improves markers of endothelial function with reduction of postprandial blood glucose and oxidativestress in patients with prediabetes or newly diagnosed type 2 diabetes[J]. Atherosclerosis, 2012, 224(2): 457-464.
- [6] 姜余梅,杨艳,陈晓姝,等. 灵芝孢子和抗性淀粉对糖尿病大鼠糖脂代谢及氧化应激的协同干预[J]. 食品科学,2014,35(23):288-291.
- [7] 唐正辉,亢灵涛,杨春丰,等. 几种抗性淀粉的体外抗氧化活性[J]. 湖南工程学院学报, 2015, 25(1): 54-58.
- [8] 连喜军,王亮,贾焯. DPPH 法研究不同品种甘薯抗性淀粉抗氧化性[J]. 粮食与油脂, 2009(6): 26-31.
- [9] CERIELLO A, MOTZ E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited[J]. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology, 2004, 24(5): 816-823.
- [10] 苏雪峰,黄继红,侯银晨,等. 抗性淀粉研究进展[J]. 食品工业,2014,35(4):208-211.
- [11] 李新华,崔静涛,钟彦. 玉米抗性淀粉制备工艺的优化研究[J]. 食品科学,2008,29(6): 186-189.
- [12] 武俊超. 豌豆抗性淀粉的制备及其性质研究[D]. 广州:华南理工大学,2012.
- [13] 连喜军,罗庆丰,刘学燕,等. 超声波对甘薯回生抗性淀粉生成的作用[J]. 食品研究与开发,2011,32(1):61-64.
- [14] 李周勇,韩育梅,高宇萍,等. 微波-酶法制备马铃薯抗性淀粉工艺参数的优化[J]. 中国粮油学报,2012,27(6):59-62.
- [15] GONI I, GARCIA-DIZ L, MANAS E, et al. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products source[J]. Food Chemistry, 1996, 56(4): 445-449.
- [16] 李燕凌,张志旭,胡令. 茯苓多糖抗氧化性研究[J]. 天然产物研究与开发,2012,24(4): 1126-1128.
- [17] 樊明涛. 食品分析与检验[M]. 西安:世界图书出版西安有限公司,1998.
- [18] 叶文峰,周秀玲. 超声波-酸解法制备脚踏薯抗性淀粉的工艺条件[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):281-283.
- [19] 史苗苗,高群玉. 脱支蜡质玉米抗性淀粉的制备及性质[J]. 食品与发酵工业,2010,36(8):31-35.
- [20] MUN S H, SHIN M. Mild hydrolysis of resistant starch from maize [J]. Food Chemistry, 2006, 96(1): 115-121.
- [21] SHAMAI K, BIANCO-PELED H E, SHIMONI E. Polymorphism of resistant starch type III[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 54(3): 363-369.
- [22] BRUMOVSKY J O, THOMPSON D B. Production of boildlong-stable granular resistant starch by partial acid hydrolysis and hydrothermal treatments of high-amylose maize starch[J]. Cereal Chemistry, 2001, 78(6): 680-689.

## DEVELOPMENT AND APPLICATION OF ENHANCED CHEMILUMINESCENCE ENZYME-LINKED IMMUNOASSAY ON THE DETERMINATION OF DEOXYNIVALENOL

CHEN Yongzhong<sup>1</sup>, HE Leiliang<sup>2</sup>, WANG Nana<sup>2</sup>, WU Yongjun<sup>2</sup>, QU Lingbo<sup>3</sup>

(1. Continuing Education Center, Yuzhang Normal University, Nanchang 330103, China; 2. College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 3. College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

**Abstract:** The enhanced chemiluminescence enzyme-linked immunoassay (ECLEIA) method was established for the determination of deoxynivalenol (DON) in the present study. The indirect competitive ECLEIA method was developed to examine DON using luminol-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-HRP-4-Phenylphenol system under the optimal conditions, and was compared with ELISA and HPLC method. The linear regression equation of ECLEIA method was  $Y = -1\ 059.1 X + 40\ 892$  in the range of 0.01 to 1 000  $\mu\text{g/mL}$ , while the correlation coefficient and limit of detection were 0.9 942 and 0.19 ng/mL, respectively. The RSD of mid-plate ( $n=3$ ), intra-assay ( $n=3$ ) and inter-assay ( $n=3$ ) were 1.8% to 4.5%, 2.4% to 7.4% and 7.8% to 11.0%, respectively. The recovery rates of ECLEIA in the wheat and corn samples with three concentration levels were from 90.0% to 126.8% and 97.7% to 110.0%, respectively. ECLEIA method was also used to determine the cross reaction rate of zearalenone, which also belonged to Fusarium toxin, less than 10%, and the mycotoxin of other species had almost no cross reaction. The established chemiluminescence enzyme-linked immunoassay (ECLEIA) method had the advantages of simple operation, high sensitivity and high specificity, which could be applied for the rapid detection of DON in the actual samples.

**Key words:** enhanced chemiluminescence enzyme-linked immunoassay; deoxynivalenol; analysis

(上接第 78 页)

## STUDY ON PREPARATION OF RS<sub>3</sub> TYPE CHESTNUT RESISTANT STARCH BY ACID HYDROLYSIS METHOD AND INVESTIGATION OF ITS ANTIOXIDANT PROPERTIES

SHAO Ying, LIU Kunfeng, WEI Zongfeng, WEI Mingkui

(Food Science School, Xinyang Agriculture College, Xinyang 464000, China)

**Abstract:** In order to optimize the preparation process of RS<sub>3</sub> chestnut resistant starch by acid solution and understand its antioxidant properties, the preparation process from Xinyang chestnut was optimized by orthogonal experiment, and the antioxidant activity of resistant starch was investigated. In single factor experiments, the chestnut suspension mass fraction, hydrochloric acid dosage, acid hydrolysis temperature and acid hydrolysis time were selected respectively, the results showed that the yield of RS<sub>3</sub> chestnut resistant starch was higher when the chestnut suspension mass fraction was 20%~30%, hydrochloric acid was 1.0% to 2.0%, the temperature of acid hydrolysis was 35 °C to 45 °C and the time of acid hydrolysis was 2.0 h to 3 h. The orthogonal experiment with 4 factors and 3 levels were employed to explore the optimal extraction ratio of RS<sub>3</sub> chestnut resistant starch, the results showed that the yield of RS<sub>3</sub> chestnut resistant starch was 8.72% when the chestnut suspension mass fraction and hydrochloric acid was 25% and 1.5% respectively, the temperature and time of acid hydrolysis was 45 °C and 3 h respectively. The antioxidant experiments indicated that RS<sub>3</sub> chestnut resistant starch prepared by acid hydrolysis had a good antioxidant activity, the scavenging rate of DPPH was 45.2% by 10 mg/mL RS<sub>3</sub> which was equal to a half of 6 mg/mL Vc. The scavenging rate of the superoxide anion free radical was the same as 4 mg/mL Vc, and when the temperature was 60 °C, the scavenging rate of nitrite reached the maximum 63.20%. The results also showed that the total antioxidant capacity of RS<sub>3</sub> chestnut resistant starch had a good linear relationship with its concentration.

**Key words:** chestnut; resistant starch; acid hydrolysis; antioxidant properties