

小麦直、支链淀粉和总淀粉含量的比色快速测定研究

戴 双,程敦公,李豪圣,刘爱峰,刘建军,赵振东,宋健民

(山东省农业科学院作物研究所,山东济南 250100)

摘要:为了快速准确地测定小麦直、支链淀粉含量,通过单波长法、双波长法、多波长法对比色法测定小麦直、支链淀粉含量进行了比较,并对影响测定结果的试验条件进行了优化和分析。结果表明,与马铃薯相比,小麦面粉直、支链淀粉-碘复合物吸收曲线存在一定的差异。用单波长法、双波长法、多波长法测定小麦直、支链淀粉含量,均能得到相关性很高的回归方程。双波长和多波长法可以有效地排除其他物质的干扰,测定结果优于单波长法。多波长法测定复杂,结果计算繁琐,因此双波长法更适用于小麦直、支链淀粉含量的同时测定,其测定结果也优于多波长法。在双波长法中,小麦直链淀粉的适宜测定波长为630和486 nm,小麦支链淀粉的适宜测定波长为550和743 nm。溶液酸碱度pH值3.5左右。

关键词:小麦;淀粉含量;比色法;波长

中图分类号:S512.1;S331

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2008)02-0442-06

Simultaneous and Rapid Spectrophotometric Determination of Amylose, Amylopectin, and Total Starch in Wheat Grain

DAI Shuang, CHENG Dun-gong, LI Hao-sheng, LIU Ai-feng,
LIU Jian-jun, ZHAO Zhen-dong, SONG Jian-min

(Crop Research Institute, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 250100, China)

Abstract: In order to determine amylose and amylopectin content rapidly and accurately and guide genetic improvement of wheat starch, different spectrophotometric methods for determining amylose, amylopectin and total starch content were compared among single, double and six wavelengths. In addition, the factors, such as pH value, affecting the measurement were optimized and discussed. Results showed that the iodine-binding capacity of wheat starch was quite different from that of potato displayed by the absorbance spectrum of complexes formed with iodine. Regression equations with high correlation coefficients were developed from different methods of single, double, and multi wavelengths, respectively. The methods with both double and six wavelengths were more suitable to determine amylose and amylopectin content simultaneously and rapidly than that with single wavelength because they excluded the interference of other biomolecules existing in the reaction system efficiently. Furthermore, wheat amylose and amylopectin content determined by double wavelengths was more accurate and simple than by multi wavelengths. Optimized from this experiment, the amylose content was determined by 630 and 486 nm, and amylopectin by 550 and 743 nm, respectively. The pH value of the reaction system was around 3.5.

Key words: Wheat (*Triticum aestivum* L.); Starch content; Spectrophotometric method; Wavelength

* 收稿日期:2008-01-17 修回日期:2008-03-15

基金项目:国家自然科学基金项目(30700492);科技支撑计划项目(2006BAD01A02);山东省良种工程和山东省农业科学院创新基金项目。

作者简介:戴 双(1975-),女,农艺师,主要从事农作物种子检测检验研究。

并列第一作者程敦公(1979-),男,助理农艺师,主要从事小麦遗传育种研究。

通讯作者:宋健民(1972-),男,博士,研究员,主要从事小麦高产优质遗传育种研究。E-mail: songjmsd@sina.com

淀粉是面粉的主要成份,占小麦籽粒干重的65%~70%^[1],与小麦产量显著相关。淀粉主要有两种存在形式,直链淀粉和支链淀粉,其中直链淀粉约占20%~30%,支链淀粉占70%~80%^[1,2],糯性小麦直链淀粉含量极低,甚至没有^[3,4]。淀粉结构和理化特性与小麦加工品质,尤其是面条品质关系密切。直链淀粉含量和比例对淀粉糊化和膨胀特性都有较大的影响,是影响面条品质的重要因素^[5]。高的峰值粘度、崩解值,总是与低的直链淀粉含量同时出现。在淀粉浓度为12%时,直链淀粉含量每下降1%,RVA峰值粘度升高25 RVU^[6]。直链淀粉含量较低的小麦品种或面粉在面条软度、粘性、光滑性、口感和综合评分等品质参数上都有较好的表现^[4,7,8]。

测定淀粉含量可以用物理、化学和生物化学等各种方法^[9~13]。Géard等研究表明,粒子排阻色谱、碘亲和力、差示热量扫描、伴刀豆球蛋白-A结合方法测定结果相近,尤其是测定的淀粉由直、支链淀粉共同组成时^[10]。由于比色法简单快速,因此备受研究者的青睐^[14,15]。这种方法是基于淀粉与碘的颜色反应^[16,17],可以分为单波长法、双波长法和多波长法。早期的测定多采用单波长法,事实上单波长法测定的是直链淀粉,因为只有直链淀粉与碘形成蓝色,而支链淀粉与碘的结合能力很弱,而且颜色呈紫红色。因为直、支链淀粉-碘复合物的吸收峰重叠,因此不能消除样品溶液中同时存在的支链淀粉与碘形成的紫红色复合物及其他背景的吸收,所以结果的准确性依赖于直、支链淀粉含量和比例、链长组成及其分布^[10]。当然可以根据直、支链淀粉标准品混合比例来计算样品中直链淀粉的比例,但样品与标准品比例不一致时,就会产生测量误差^[13]。另外,单波长法只能测定谷物中直链淀粉含量,而决定蒸煮及食味品质的主要指标是谷物中直链淀粉及支链淀粉的含量及其比例,因此最好能同时测定这两种淀粉的含量。双波长法可以同时测定直、支链淀粉的含量^[18,19],进而计算总淀粉含量,对于研究直、支链淀粉对品质的影响非常有用。但从马铃薯的测定结果看,仍存在一定的误差^[20]。Jarvis和Walker^[21]、Séne等^[22]分别根据马铃薯和玉米直、支链淀粉-碘复合物对光的吸收特点,采用六波长法测定直、支链淀粉和总淀粉含量,结果准确性较双波长法进一步提高,但测量相对复杂,计算也比较烦琐,应用不多。

从以往报道看,小麦淀粉含量的测定多借鉴马铃薯和水稻,而小麦淀粉具有自身的特点,与马铃薯、水稻、玉米淀粉相比,小麦直、支链淀粉-碘复合物的吸收峰存在明显差异。因此,本研究以小麦为材料,对单波长法、双波长法和多波长法进行了比较,旨在探索一种快速、准确地测定小麦直、支链淀粉含量的方法。

1 材料与方法

1.1 材料制备

马铃薯标准直、支链淀粉购自Sigma公司。

小麦籽粒制粉采用Brabender Quadrumat Junior实验磨,出粉率60%左右,过60目筛备用。

小麦直、支链淀粉提取、纯度测定参考GB7648-87和何照范^[19]的方法进行。用济麦20面粉提取,纯化后的直、支链淀粉测得纯度分别为98.05%和97.89%。

1.2 测定步骤

(1) 标准溶液配制:称取100.0 mg直链淀粉纯品,放入100 mL容量瓶中,加入1 mol/L NaOH溶液10 mL,在热水中溶解后,取出,用蒸馏水定容至100 mL,混匀,即为1 mg/mL直链淀粉标准溶液。取标准溶液0、0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.1、1.3 mL分别置于50 mL容量瓶中,加20~30 mL H₂O,以0.1 mol/L HCl调pH至3.5,加0.5 mL碘试剂,定容,混匀,即得浓度为0、2、6、10、14、18、22、26 μg/mL的标准溶液系列。

同样方法制备支链淀粉标准溶液,但考虑实际样品中支链淀粉的含量较高,因此配制标准溶液系列时分别取1 mg/mL溶液0、1、2、3、4、5 mL,得到0、20、40、60、80、100 μg/mL的标准溶液系列。

同法配制15 μg/mL直链淀粉+60 μg/mL支链淀粉混合液。

(2) 测定波长的选择:各选一适宜浓度的直链淀粉(15 μg/mL)和支链淀粉(60 μg/mL)标准溶液,分别在双波长紫外-可见分光光度计上进行400~1 000 nm光谱扫描,做出其光谱图。

双波长法测定波长的确定:用作图法(图1、3)确定直链淀粉测定波长₁为630 nm,参比波长₂为486 nm;支链淀粉测定波长₃为550 nm,参比波长₄为743 nm。另外,参考姜东^[23]的试验,直链淀粉以658 nm为测定波长,461 nm

为参比波长;支链淀粉以 550 nm 为测定波长,760 nm 为参比波长也进行了测定比较。

多波长法波长的确定:参考 Jarvis 和 Walker^[21]、Séne 等^[22]的试验,并结合双波长法确定的波长,确定 6 个测定波长:486 nm、550 nm、630 nm、658 nm、743 nm 和 760 nm。

单波长法波长的确定:双波长和多波长方法确定的每一个测定波长,均作为单波长法的测定波长。

(3) 标准曲线制作:将所配制的直链淀粉系列标准溶液分别在不同波长测定吸光度,以蒸馏水作空白,以浓度 C 为横坐标,单波长法以不同波长的吸光度为纵坐标,双波长法以吸光度差值 $A = A_1 - \frac{3}{2}A_2$ 为纵坐标分别作直链淀粉标准曲线,并计算回归方程。

同法做出支链淀粉的标准曲线和回归方程。

多波长法根据不同波长的吸光度, $A_{bs} = E_{am} \times C_{am} + E_{ap} \times C_{ap}$ 联立解方程组,分别计算直、支链淀粉浓度,并计算平均值和标准差(式中 A_{bs} 为某一测定波长的总吸收值, E_{am} 为直链淀粉在该波长处的消光系数, C_{am} 为直链淀粉的浓度, E_{ap} 为支链淀粉在该波长处的消光系数, C_{ap} 为支链淀粉的浓度)。

(4) 结果计算:单波长和双波长法根据直、支链淀粉回归方程分别计算其浓度,多波长法解方程组计算直、支链淀粉浓度,计算样品中直、支链淀粉含量,二者相加即为总淀粉含量。

2 结果与分析

2.1 小麦、马铃薯直、支链淀粉-碘复合物吸收光谱比较

分别以蒸馏水为空白对小麦直链淀粉(15 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、支链淀粉(60 $\mu\text{g}/\text{mL}$)和直、支链淀粉混合液进行了 400~1 000 nm 扫描,整合后如图 1。同法得到了马铃薯直、支链淀粉和混合淀粉的 I₂-KI 吸收曲线(图 2)。可见不论是小麦还是马铃薯,其直、支链淀粉-碘吸收曲线存在明显的差异,说明二者与碘结合能力、结构存在较大差异。与马铃薯相比,小麦直、支链淀粉和总淀粉最大吸收峰均较低,尤其是支链淀粉。因此以往多根据马铃薯直链淀粉标准样品测定小麦直链淀粉含量,必然产生一定的系统误差。另外,从马铃薯-碘吸收曲线根本不能通过作图法确定参比波长,虽然可以根据小麦淀粉-碘吸收曲线确定测定波长,但

也存在相当的困难。为此,以 I₂-KI 为空白,重新进行了扫描(图 3)。从图 3 可以比较容易通过作图法确定双波长法的测定和参比波长。

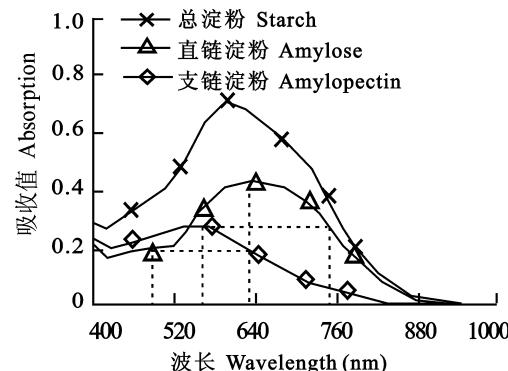


图 1 小麦面粉总淀粉、直、支链淀粉 I₂-KI 吸收曲线(以 H₂O 为空白)

Fig. 1 Absorbance of starch, amylose, and amylopectin in I₂-KI from wheat flour (blank: H₂O)

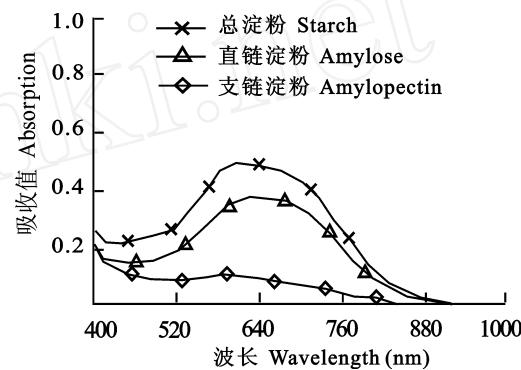


图 2 马铃薯总淀粉、直、支链淀粉 I₂-KI 吸收曲线(以 H₂O 为空白)

Fig. 2 Absorbance of starch, amylose, and amylopectin in I₂-KI from potato tuber (blank: H₂O)

2.2 单波长法、双波长法、多波长法测定结果比较

分别以 H₂O 和 I₂-KI 溶液为空白,对每个波长和双波长测定结果进行了回归分析(表 1、2)。可以看出,在单一直、支链淀粉溶液中,用单波长和双波长测定结果相关系数均在 0.99 以上,相关显著性均在 0.1% 以上。从相关系数看,双波长法测定结果好于单波长法,单波长法中,直、支链淀粉吸收峰附近波长测定结果较好,支链淀粉测定结果优于直链淀粉。

以 H₂O 和 I₂-KI 为空白,相关系数及其显著性没有改变,回归斜率也没有变化,只是截距发生了一定程度的变化。

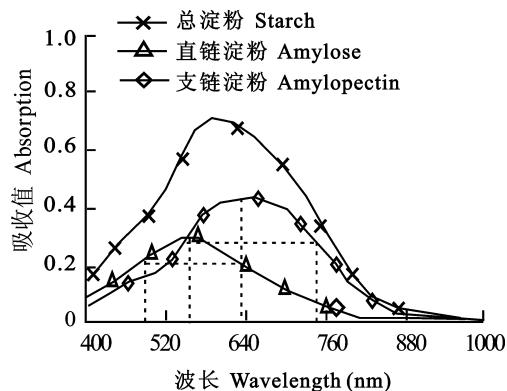


图3 小麦面粉总淀粉、直、支链淀粉在 I₂-KI 溶液里的吸收曲线(以 I₂-KI 为空白)

Fig. 3 Absorbance of starch, amylose and amylopectin in I₂-KI from wheat flour (blank: I₂-KI)

直、支链淀粉混合液中,测定结果回归相关性有所下降(表3),但相关系数仍在0.99以上,相关显著性也在1%水平以上。双波长法中,以658、461和550、760 nm测定的结果直、支链淀粉相关性一致,而以630、486和550、743 nm测定的结果支链淀粉相关系数较高,相关显著性也升高。6波长测定的结果,直、支链淀粉含量回归相关性相同。同时根据3个波长(550、630和658 nm)计算了直、支链淀粉含量,其相关系数反而较6波长测定结果略有提高,可能是在直、支链淀粉吸收曲线两侧更容易产生测量误差。

表1 直链淀粉溶液中单波长和双波长法测定结果比较

Table 1 Comparison between results of amylose content determined by single and double wavelengths in amylose solutions

测定方法 Method	波长 Wavelength	以 H ₂ O 为空白 The blank is H ₂ O			以 I ₂ -KI 为空白 The blank is I ₂ -KI		
		斜率 Slope	截距 Intercept	相关系数 Correlation coefficient	斜率 Slope	截距 Intercept	相关系数 Correlation coefficient
单波长	461	0.0087	0.0466	0.9928 ***	0.0087	0.0085	0.9928 ***
Single wavelength	486	0.0103	0.0254	0.9966 ***	0.0103	0.0060	0.9966 ***
	550	0.0180	0.0014	0.9991 ***	0.0180	0.0045	0.9991 ***
	630	0.0294	-0.0073	0.9993 ***	0.0294	0.0015	0.9993 ***
	658	0.0292	-0.0098	0.9992 ***	0.0292	-0.0008	0.9992 ***
	743	0.0207	-0.0164	0.9989 ***	0.0207	-0.0076	0.9989 ***
	760	0.0172	-0.0162	0.9988 ***	0.0172	-0.0075	0.9988 ***
双波长	658,461	48.6175	2.7581	0.9994 ***	48.6175	0.4682	0.9994 ***
Double wavelengths	630,486	52.3458	1.7251	0.9995 ***	52.3458	0.2490	0.9995 ***

***表示0.1%的相关显著性。表2同。

*** indicates significant correlation at 0.1 % level. The same is as in table 2.

表2 支链淀粉溶液中单波长和双波长法测定结果比较

Table 2 Comparison between results of amylopectin content determined by single and double wavelengths in amylopectin solutions

测定方法 Method	波长 Wavelength	以 H ₂ O 为空白 The blank is H ₂ O			以 I ₂ -KI 为空白 The blank is I ₂ -KI		
		斜率 Slope	截距 Intercept	相关系数 Correlation coefficient	斜率 Slope	截距 Intercept	相关系数 Correlation coefficient
单波长	461	0.0026	0.0463	0.9996 ***	0.0026	0.0082	0.9996 ***
Single wavelength	486	0.0032	0.0230	0.9995 ***	0.0032	0.0036	0.9997 ***
	550	0.0049	-0.0061	0.9999 ***	0.0049	-0.0030	0.9999 ***
	630	0.0034	-0.0078	0.9998 ***	0.0034	0.0010	0.9998 ***
	658	0.0028	-0.0074	0.9997 ***	0.0028	0.0016	0.9997 ***
	743	0.0011	-0.0073	0.9989 ***	0.0011	0.0016	0.9989 ***
	760	0.0009	-0.0076	0.9986 ***	0.0009	0.0011	0.9986 ***
双波长	550,760	248.7348	-0.3530	0.9997 ***	248.7348	1.0399	0.9997 ***
Double wavelengths	550,743	265.4886	-0.2712	0.9997 ***	265.4886	1.2421	0.9997 ***

2.3 pH值对测定结果的影响

淀粉-碘复合物的颜色受显色液pH值的影

响较大,在碱性溶液中,碘试剂易被分解,而酸性过强时,生成的淀粉-碘复合物易沉淀,因此必须

调整 pH 值在一个合适的范围,才能得到稳定可靠的结果。pH 值对小麦和马铃薯淀粉测定结果均较大的影响(表 4),由于支链淀粉结合 I⁻-KI 的能力较差,因此对反应条件更敏感。与直、支链淀粉混合液相比,单一直、支链淀粉对 pH 值的要求

更严格。pH 值 3.5 左右时,直、支链淀粉含量结果误差均较小。从本试验结果看,每份样品测定液中加入 1 mL 0.1 mol/L HCl, pH 值在 3.0~4.1 之间,均能得到稳定吸收值。

表 3 直、支链淀粉混合液中双波长和多波长法测定结果比较

Table 3 Comparison between results of amylose and amylopectin determined by double and multiple wavelengths in blending

测定方法 Method	直链淀粉含量 Amylose content				支链淀粉含量 Amylopectin content			
	波长 Wavelength	斜率 Slope	截距 Intercept	相关系数 Correlation coefficient	波长 Wavelength	斜率 Slope	截距 Intercept	相关系数 Correlation coefficient
双波长 Double wavelengths	658,461	44.8588	1.3738	0.9991 ***	550,760	294.4503	-14.3872	0.9991 ***
	630,486	48.1817	-0.0334	0.9986 **	550,743	211.8328	14.7094	0.9997 ***
多波长 Multiple wavelengths	6 波长 Six wavelengths	0.9035	-0.3093	0.9979 **	6 波长 Six wavelengths	0.9037	-0.0268	0.9979 **
	3 波长 Three wavelengths	0.9281	-0.7894	0.9987 **	3 波长 Three wavelengths	0.9288	-1.1378	0.9986 **

** 和 *** 分别表示 1% 和 0.1% 的相关显著性。

** and *** indicate significant correlation at 1% and 0.1% levels, respectively.

表 4 pH 对直、支链淀粉测定结果的影响

Table 4 Effect of pH on results of amylose and amylopectin determined

材料 Material	15 μg/mL 直链淀粉 15 μg/mL Amylose		60 μg/mL 支链淀粉 60 μg/mL Amylopectin		15 μg/mL 直链淀粉 + 60 μg/mL 支链淀粉 15 μg/mL Amylose + 60 μg/mL Amylopectin		测定结果 Results(μg/mL)
	pH	测定结果 Results (μg/mL)	pH	测定结果 Results (μg/mL)	pH	直链淀粉 Amylose	
小麦 Wheat	11.2	3.88	12.1	nd	11.7	3.98	nd
	10.2	4.14	11.5	nd	10.8	3.94	nd
	9.5	15.39	10.6	nd	9.9	4.11	nd
	7.9	14.89	8.2	70.09	8.1	18.85	66.52
	3.4	15.03	3.4	61.43	3.4	16.08	65.84
	2.8	12.90	2.6	49.22	2.6	16.26	53.45
	11.6	2.63	12	nd	11.9	1.30	nd
马铃薯 Potato	10.8	2.73	11.2	nd	10.9	1.25	nd
	9.8	3.57	10.2	0.17	9.7	1.21	nd
	8.2	14.32	8.3	53.15	7.9	14.58	46.06
	3.5	14.57	3.4	56.25	3.6	15.35	60.08
	2.6	12.60	2.5	53.00	2.7	14.12	53.23

nd:未测到。 nd: not detected.

3 讨论与结论

与马铃薯相比,小麦面粉直、支链淀粉-碘复合物吸收曲线存在一定的差异,其吸收峰也明显较低,因此用马铃薯标准样品做标准曲线测定小麦直链淀粉含量必然会产生一定的系统误差。用单波长法、双波长法、多波长法测定小麦直、支链淀粉含量,均能得到相关性较高的回归方程。直、支链淀粉-碘复合物吸收曲线显著不同,反映出二者对碘结合能力的不同和结构的差异。碘自身对紫外光有一定的吸收,但其并不影响淀粉-碘复合物测定标准曲线的相关性和斜率,只是截距发生了一些变化。单波长法由于不能排除其他物质的

干扰,因此直、支链淀粉混合物中测定结果相关性明显下降(结果未给出),双波长和多波长法测定结果相关性也有一定程度的下降,但由于二者可以有效地排除其他物质的干扰,因此测定结果优于单波长法。多波长法测定复杂,结果计算繁琐,因此双波长法更适于小麦直、支链淀粉含量的同时测定,其测定结果也优于多波长法。本试验确定小麦直、支链淀粉的适宜测定波长分别为 630 和 486 nm、550 和 743 nm。

淀粉与碘生成复合物产生颜色反应,在 400~1 000 nm 形成特征吸收^[16,17]。而溶液的 pH 值、温度、反应时间等反应条件均强烈影响显色结果,从而带来误差。从本试验看,显色液 pH 值、

温度及样品中脂肪含量都会对结果生产较大影响。在碱性溶液中,碘试剂易被分解,而酸性过强时,生成的淀粉-碘复合物易沉淀,在 pH 3~4 范围内,淀粉-碘复合物稳定,因此本实验中调 pH 值为 3.5。温度的变化会改变淀粉-碘复合物的结构特性,随温度升高,显色液的吸光值减小,因此应注意标准曲线与样品测定环境温度变化不能太大,一般应不超过 5℃,本试验要求所有操作尽量在温度一致的条件下进行(如室温)。为去除脂肪的影响,本实验首先对样品进行脱脂处理,应注意各样品之间脱脂处理方法的一致性。显色反应误差也是吸收光谱分析的主要误差来源之一,应严格控制反应条件并保持标准液处理与实测样品处理的一致性。

另外,比耳定律在稀溶液中才能成立,浓度过高也会显著影响测定结果。但浓度过低也会由于吸光值太小而不易测定,因此应通过调节称样量或适当稀释样品液等方法控制样品浓度,使吸光值在 0.05~1 之间,最好在 0.2~0.7 之间。

参考文献:

- [1] Li Z, Chu X, Mouille G, et al. The localization and expression of the class... starch synthases of wheat [J]. Plant Physiology, 1999, 120: 1147~1155.
- [2] Davis E A. Wheat starch [J]. Cereal Foods World, 1994, 39: 34~36.
- [3] Graybosch R A, Peterson C J, Hansen L E, et al. Identification and characterization of U. S. wheats carrying null alleles at the Wx loci [J]. Cereal Chemistry, 1998, 75(1): 162~165.
- [4] 宋健民, 戴 双, 李豪圣, 等. Wx 蛋白缺失对淀粉理化特性和面条品质的影响[J]. 中国农业科学, 2007, 40(12): 2888~2894.
- [5] Blazek J, Copeland L. Pasting and swelling properties of wheat flour and starch in relation to amylose content [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 71(3): 380~387.
- [6] Zeng M, Morris C F, Batey I L, et al. Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat [J]. Cereal Chemistry, 1997, 74(1): 63~71.
- [7] Araki E, Miura H, Sawada S. Differential effects of the null alleles at the three Wx loci on the starch-pasting properties of wheat [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 100(7): 1113~1120.
- [8] 宋健民, 刘爱峰, 李豪圣, 等. 小麦籽粒淀粉理化特性与面条品质关系研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 272~279.
- [9] Corcuera V, Salmoral E M, Salerno J C, et al. Starch molecular fractionation of bread wheat varieties [J]. Agricentia, 2007, 24 (1): 11~18.
- [10] Géard C, Barron C, Colonna P, et al. Amylose determination in genetically modified starches [J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 44(1): 19~27.
- [11] Gibson T S, Solah V A, McIlroy B V. A procedure to measure amylose in cereal starches and flours with concanavalin A [J]. Journal of Cereal Science, 1997, 25: 111~119.
- [12] Grant L A, Ostenson A M, Rayas-Duarte P. Determination of amylose and amylopectin of wheat starch using high performance size-exclusion chromatography (HPSEC) [J]. Cereal Chemistry, 2002, 79(6): 771~773.
- [13] Williams P C, Kuzina F D, Hlynka I. A rapid colorimetric procedure for estimating the amylose content of starches and flours [J]. Cereal Chemistry, 1970, 47: 411~420.
- [14] Herrero-Martínez J M, Schoenmakers P J, Kok W T. Determination of the amylose-amylopectin ratio of starches by iodine-affinity capillary electrophoresis [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1053(1/2): 227~234.
- [15] Martinez C, Prodollet J. Determination of amylose in cereal and non-cereal starches by a colorimetric assay: collaborative study [J]. Starch/Stärke, 1996, 48(3): 81~85.
- [16] Mullins W R, Harrington W O, Olson R L, et al. Estimation of free starch in potato granules and its relation to consistency of reconstituted product [J]. Food Technology, 1955, 9(8): 393~395.
- [17] Takeda Y, Hizukuri S. Structures of rice amylopectins with high and low affinities for iodine [J]. Carbohydrate Research, 1987, 168: 79~88.
- [18] Hovenkamp-Hermelink J H M, de Vries J N, Adamse P, et al. Rapid estimation of amylose/amylopectin ratio in small amounts of tuber and leaf tissue of the potato [J]. Potato Research, 1988, 31: 241~246.
- [19] 何照范. 粮油籽粒品质及其分析技术[M]. 北京: 农业出版社, 1985: 275~297.
- [20] Zwart A, Bursma A, van Kampen E J, et al. Multicomponent analysis of hemoglobin derivatives with a reversed-optics spectrophotometer [J]. Clinical Chemistry, 1984, 30: 373~379.
- [21] Jarvis C E, Walker J R L. Simultaneous, rapid, spectrophotometric determination of total starch, amylose, and amylopectin [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1993, 63: 53~57.
- [22] Séguin M, Thévenot C, Prioul J L. Simultaneous spectrophotometric determination of amylose and amylopectin in starch from maize kernel by multi-wavelength analysis [J]. Journal of Cereal Science, 1997, 26(2): 211~221.
- [23] 姜 东. 高产冬小麦花后光合产物代谢规律及与粒重关系的研究[D]. 泰安: 山东农业大学[博士学位论文], 1998: 15.