

# 玉米浸泡液成分的快速检测

冯文红<sup>1,2</sup>, 孟庆军<sup>2</sup>, 张利群<sup>2</sup>, 杨艳<sup>2</sup>, 史建国<sup>2\*</sup>

(1. 山东轻工业学院, 山东 济南 250353; 2. 山东省科学院生物研究所,  
山东省生物传感器重点实验室, 山东 济南 250014)

**摘要:**采用生物传感器和自动分析仪对玉米浸泡过程中的还原糖、葡萄糖和乳酸进行了测定,并对其变化规律进行了初步探讨。检测结果表明:浸泡液中还原糖、葡萄糖及蛋白质含量随时间先减后增,而乳酸含量则随时间先增后降。采用传感器法测定玉米浸泡液成分较传统方法误差小、操作简单,达到了快速检测的目的。通过本研究,建立了玉米浸泡液成分的快速检测方法,也为浸泡工艺的优化控制提供了依据。

**关键词:**玉米浸泡液;生物传感器;蛋白质;还原糖;葡萄糖;乳酸

中图分类号:TS207.3 文献标识码:A

## Rapid determination of the composition of corn steep water

FENG Wen-hong<sup>1,2</sup>, MENG Qing-jun<sup>2</sup>, ZHANG Li-qun<sup>2</sup>, YANG Yan<sup>2</sup>, SHI Jian-guo<sup>2\*</sup>

(1. Shandong Institute of Light Industry, Jinan 250353, China; 2. Shandong Provincial Key Laboratory  
of Biosensors, Biology Institute, Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China)

**Abstract:** This paper presents a rapid detection method for the composition of corn steep water and provides the basis for optimal control of steeping process. We employ biosensors and an automatic analyzer to determine the contents of reducing sugar, glucose and lactic acid in corn steep water and present their variation rule. Detection results show that the content of reducing sugar, glucose and protein initially decreases and then increases, but the content of lactic acid initially increases and then decreases. Moreover, this biosensor detection method has less error and offers simpler operation, so rapid detection goal can be achieved.

**Key words:** corn steep water; biosensor; protein; reducing sugar; glucose; lactic acid

玉米是我国的主要农作物之一。随着科技进步和社会经济发展,对玉米的利用正在由初加工向精深加工乃至生化加工转变,加工层次越来越深,加工领域也日益广泛<sup>[1]</sup>。玉米80%以上成分为淀粉类物质,因此被大量用于生产淀粉、葡萄糖<sup>[2]</sup>。

浸泡是玉米淀粉湿法加工工艺的一个重要环节,包括复杂的物理、化学、生物反应。玉米浸泡的质量,直接影响淀粉生产的得率、质量和产量。浸泡过程中浸出的各营养物质含量如可溶性蛋白、糖类等以及随之生长代谢的微生物都是该过程重要的工艺参数<sup>[3]</sup>,因此各参数的检测及其规律是我们研究的重点。

对于各参数的测定方法有很多。国内目前大多采用手工菲林试剂方法或DNS试剂法测定还原糖,葡萄糖采用碘量法或高效液相法测定,而乳酸则采用中和滴定法或比色法进行测定;这些方法大多费时,样品消

耗量较大且稳定性不好。所以,寻求一种快速简便有效的方法确定浸泡过程工艺参数,对提取收率、降低能耗、保证质量等都是非常必要的。近年来,传感器已作为一种快速检测手法逐渐被应用于各个行业,该方法操作简单、测定快速准确、测试成本低。本文采用传感器法对糖类、乳酸进行了快速测定,并选取几种传统检测方法与之相对比。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料

玉米浸泡液(pH 值为 4.5,不同浸泡时间),潍坊盛泰药业有限公司提供;所有化学试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器

FA1004N 型电子天平,上海菁海仪器有限公司;WFZ UN-2100 型紫外可见分光光度计,外商独资上海合利仪器有限公司;SGD-IV 全自动还原糖分析仪,山东省科学院生物研究所;SBA-40S 型生物传感分析仪,山东省科学院生物研究所;SBA-40C 型生物传感分析仪,山东省科学院生物研究所。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 蛋白质含量的测定方法

采用考马斯亮蓝法测定<sup>[4-6]</sup>。考马斯亮蓝能与蛋白质的疏水微区结合形成特意的吸收峰,在一定范围内,考马斯亮蓝 G-250-复合物呈色后,在 595 nm 下吸光度与蛋白质含量呈线性关系,故可以用于蛋白质浓度的测定。

取试管 6 支,按表 1 进行编号并加入试剂(标准蛋白为牛血清蛋白)。

另取试管 6 支,吸取上述各管蛋白质溶液 0.2 mL,加入 6.0 mL 考马斯亮蓝试剂,充分振荡混合,放置 5 min 后,测定  $A_{595}$  值。

分别取浸泡 7,28,40,48 h 的玉米浸泡液(样品)0.2 mL 加入 6.0 mL 考马斯亮蓝试剂,充分振荡混合,放置 5 min 后,测定  $A_{595}$  值。

#### 1.2.2 还原糖测定

##### 1.2.2.1 SGD-IV 全自动还原糖测定仪检测。

根据费林试剂测定原理设计而成。接通电源(220 V),进入待机状态;按“开/关”键,自动启动准备程序,完成定标 1;待仪器提示定标 2,用移液器注入 500  $\mu$ L 标准糖完成定标并打印;按测定键,自动进入测定程序,样品加样方法同定标 2<sup>[7]</sup>。

##### 1.2.2.2 DNS 试剂法测定还原糖

还原糖和碱性二硝基水杨酸试剂一起共热,产生一种棕红色氨基化合物,在一定的浓度范围内,棕红色物质颜色的深浅程度与还原糖的量成正比。540 nm 下测定其光密度值,查对标准曲线并计算,便可求出样品中还原糖和总糖的含量<sup>[8]</sup>。

#### 1.2.3 葡萄糖、乳酸检测

##### 1.2.3.1 SBA-40S 型生物传感分析仪、SBA-40C 型生物传感分析仪检测

葡萄糖氧化酶(GOD)和乳酸氧化酶(LOD)在有氧条件下催化葡萄糖和乳酸,在过氧化氢型电极上产生电流。该电流值与葡萄糖及乳酸的浓度有线性比例关系<sup>[9]</sup>。

仪器开机后,自动进入清洗过程。当仪器出现进样指令后,用微量进样器取 25  $\mu$ L 标准溶液注入反应池,仪器自动显示校正结果。测定时,用微量进样器取 25  $\mu$ L 样品液注入反应池,20 s 后仪器自动显示或打

表 1 考马斯亮蓝法测定蛋白质含量

Table 1 Coomassie Brilliant Blue based protein content determination-Standard Curve

试剂	1	2	3	4	5	6
0.1% 标准蛋白溶液/mL	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
0.9% 生理盐水/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0.0
蛋白质含量/( $\mu$ g/0.1mL)	0	20	40	60	80	100

印测定值。

### 1.2.3.2 碘量法测定葡萄糖,中和滴定法测定乳酸

碘量法: $I_2$  与 NaOH 作用可生成次碘酸钠,次甲基钠可将葡萄糖分子中的醛基定量地氧化为羧基。未与葡萄糖作用的次碘酸钠在碱性溶液中歧化生成 NaI 和  $Na_2S_2O_3$ ,当酸化时碘酸钠又恢复成  $I_2$  析出,用  $Na_2S_2O_3$  滴定  $I_2$ ,从而计算葡萄糖含量。

中和滴定法:样品中加入氢氧化钠滴定液(1 mol/L)25 mL,煮沸 5 min,加酚酞指示液 2 滴,趁热用硫酸滴定液(0.5 mol/L)滴定,并将滴定的结果用空白试验校正,酚酞指示液变红时停止滴定,读出硫酸滴定液使用量,计算乳酸含量。

### 1.2.4 乳酸菌计数-平板计数法

将每个样品做 4 个稀释度,分别在 LB 培养基上涂布不同梯度样品,28 °C 下培养,2 d 后计数。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白质含量测定

#### 2.1.1 标准曲线的制作

标准蛋白的  $A_{595}$  如表 2 所示,相关系数  $R = 0.9978$ 。

表 2 标准蛋白吸光度

Table 2 Absorbency of standard protein

标号	1	2	3	4	5	6
$A_{595}$	0	0.263	0.464	0.672	0.943	1.108
蛋白质含量/( $\mu\text{g}/0.1\text{mL}$ )	0	20	40	60	80	100

根据表 2 数值以  $A_{595}$  为纵坐标,蛋白质含量为横坐标绘制标准曲线(图 1),建立回归方程  $y = 0.0111x + 0.0187 (R^2 = 0.9968)$ 。

#### 2.1.2 样品测定

对初始样品进行吸光度测定,结果显示吸光度大于仪器准确范围(0.2 ~ 0.8),故将原样稀释 10 倍后重新测定,并根据回归方程计算相应蛋白含量,结果见表 3。

### 2.2 还原糖测定

#### 2.2.1 SGD-IV 全自动还原糖测定仪检测

还原糖测定仪的测定浓度范围为 0.1% ~ 1% ( $\text{g}/100\text{mL}$ ),在 0.5% 左右较准确,样品粗测显示还原糖约为 1%,故将样品稀释一倍后重新测定,根据测定结果换算原样品中还原糖含量,具体结果见表 4。

#### 2.2.2 DNS 试剂法测定还原糖

分别取葡萄糖标准液(1 mg/mL)0,0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL 于 25 mL 试管中,分别准确加入 DNS 试剂 2 mL,加 9 mL 蒸馏水,沸水浴加热 3 min,流水冷却,定容。在 540 nm 波长下测定其吸光度。以葡萄糖浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,得出标准

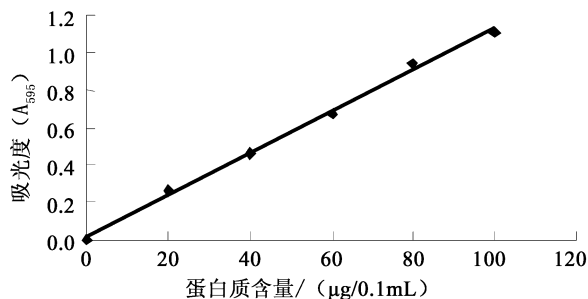


图 1 蛋白含量标准曲线

Fig. 1 A protein standard curve

表 3 样品蛋白含量测定

Table 3 Protein content determination of a sample

浸泡时间/h	0	7	28	40	48
A595(稀释 10 倍)	0	0.269	0.112	0.102	0.265
原样蛋白含量/(mg/mL)	0	2.28	0.83	0.74	2.23

表 4 样品还原糖测定

Table 4 Reducing sugar determination of a sample

浸泡时间/h	0	7	28	40	48
还原糖浓度/%	0	1.015	0.904	0.996	1.005

表 5 DNS 法测定样品还原糖

Table 5 DNS based reducing sugar determination of a sample

浸泡时间/h	0	7	28	40	48
A595(稀释 10 倍)	0	0.251	0.200	0.223	0.220
原样还原糖浓度/%	0	1.132	0.936	1.023	1.013

曲线方程为  $y = 2.5869x - 0.0417$  ( $R^2 = 0.9941$ )。对样品稀释后进行同样操作并根据标准曲线方程换算相应还原糖含量,结果见表5。

两种方法对样品中还原糖含量的测定结果显示,DNS 所测结果较还原糖测定仪略高,耗时长且操作运算复杂。

## 2.3 葡萄糖、乳酸测定

### 2.3.1 SBA-40S 型、SBA-40C 型生物传感分析仪检测

生物传感器为酶系统,当其测定值在 100 mg/dL 以内时数值较准确,乳酸测定均在可测范围之内,但葡萄糖含量接近 400 mg/dL,故测样品中葡萄糖含量时需将其稀释 5 倍,具体测定结果见表 6。

### 2.3.2 碘量法测定葡萄糖,中和滴定法测定乳酸

将每份样品分别做葡萄糖、乳酸滴定三次求取平均值,根据滴定结果换算得到葡萄糖与乳酸含量见表 7。

两种方法分别对葡萄糖和乳酸的检测结果显示,两种滴定法的结果均偏高但相差不大,操作较传感器法繁琐。

## 2.4 菌落计数

将四个梯度菌落情况汇总,结果见表 8。

## 2.5 分析

各工艺参数测定结果显示:浸泡初期,营养物质随浸泡时间增加而不断浸出,乳酸菌繁殖不旺盛,产酸较少,浸泡液中糖含量较高;随着浸泡时间的增加,乳酸菌活动旺盛,乳酸菌利用浸泡液中的营养成分进行生长繁殖同时产生乳酸,故而产酸增多,含糖量降低;浸泡后期乳酸菌生长缓慢,产酸减少,含糖量又再次升高;到达浸泡终点(48 h)时蛋白质、还原糖、葡萄糖、乳酸的浓度分别为 0.223%,1.005%,0.394%,0.033%。

根据现有报道玉米浸泡液中的蛋白含量大约为 2%,本样品所检测蛋白量较少,据推测可能是由于实验地点与厂家距离较远,样品未灭菌,在运输过程中部分蛋白质被微生物消耗,具体原因需在后期做进一步研究。

## 3 结论

通过几种不同检测方法的结果比较,传统方法所测定的结果略高于传感器法所测定的结果。经分析可能是以下原因:(1)样品中杂质的影响会造成 DNS 检测还原糖结果偏高;(2)传统方法受操作误差影响较大;(3)传统方法在操作上较传感器法耗时长,操作繁琐。

玉米浸泡液中含有大量的有机质,浸泡过程的参数控制对产品后期的分离有重要影响。许多新型工艺如高压浸泡和酶法浸泡工艺<sup>[10]</sup>,由于成本高等缺点并未得到普及。目前普遍采用的浸泡工艺存在投资大、浸泡周期过长、能耗高、检测手段落后等缺点,需要进一步的研究和改进。传统检测方法操作时间长,操作繁琐,易受样品其他成分干扰而影响检测结果。生物传感器和自动分析仪操作简单,准确度高,所需样品量及受干扰因素少,本文采用生物传感器和自动分析仪的方法来缩短检测时间,达到快速检测的目的,探究玉米浸泡过程中生物成分变化的规律和特点,为浸泡工艺的优化提供依据。

表 6 样品葡萄糖、乳酸测定

Table 6 Glucose and lactic acid determination of a sample

浸泡时间/h	0	7	28	40	48
葡萄糖浓度/%	0	0.398	0.380	0.387	0.394
乳酸浓度/%	0	0.035	0.073	0.047	0.033

表 7 样品葡萄糖、乳酸测定

Table 7 Glucose and lactic acid determination of a sample

浸泡时间/h	0	7	28	40	48
葡萄糖浓度/%	0	0.412	0.408	0.408	0.400
乳酸浓度/%	0	0.056	0.090	0.068	0.042

表 8 样品菌落数

Table 8 Colony number of bacteria in a sample

浸泡时间/h	0	7	28	40	48
菌落数/(个/mL)	0	106	860	170	80

**参考文献:**

- [1]吕小妹,王利强,李惠荣.玉米综合深加工应用的研究进展[J].农产品加工(学刊),2009(8):51-54.
- [2]王文侠,翟丽萍,宋春丽.玉米浸泡液蛋白质的超滤分离研究[J].农产品加工(学刊),2008(7):115-117.
- [3]杜连起.玉米淀粉生产中的乳酸菌及其应用[J].现代科技,2000(8):50-51.
- [4]张昆,李政霖.C反应蛋白、D-二聚体及乳酸的测定对危重症患者预后的临床价值[J].中国当代医药,2010,17(33):41-42.
- [5]刘宏源,杨金燕,黄松,等.3,5-二硝基水杨酸法测定铁皮石斛中多糖的含量[J].亚太传统医药,2010,6(8):14-16.
- [6]李世刚,陈燕.资木瓜多糖中蛋白质含量的测定[J].安徽农业科学,2010,38(18):9529-9530.
- [7]史建国,孟庆军,杨俊慧,等.果葡糖浆生产过程中还原糖的在线监测[J].食品与发酵工业,2002,29(1):73-75.
- [8]马耀宏.还原糖测定技术[J].发酵科技通讯,2003,32(1):20-22.
- [9]赵涛,郝红,管晓玉,等.生物传感器研究及应用进展[J].化学研究与应用,2009,21(11):1481-1485.
- [10]李艳,常俊然.玉米浸泡工艺研究进展[J].粮食与饲料工业,2006(9):25-26.

(上接第17页)

- [5]王文平,郭祀远,李琳,等.苯酚-硫酸法测定野木瓜中多糖含量的研究[J].食品科学,2007,28(4):276-278
- [6]高丽君,王汉忠,崔建华,等.苯酚-硫酸法测定白首乌中多糖含量[J].山东农业大学学报:自然科学版,2004,35(2):295-297.
- [7]余晓雷,张可,郑旭霞.芦荟中多糖含量测定方法的探讨[J].营养学报,2003,25(2):149-152.
- [8]殷法杰,秦国培,蒋海强,等.杜梨叶中根皮苷含量测定[J].山东中医杂志,2011,31(3):200.
- [9]赵玉卉,赵小亮.杜梨叶片多糖的超声-微波协同萃取法提取[J].食品科技,2008,33(8):131-133.
- [10]刘晓涵,陈永刚,林励.蒽酮硫酸法与苯酚硫酸法测定枸杞子中多糖含量的比较[J].食品科技,2009,34(9):270-272.
- [11]潘九英,陈慧瑾,许颖,等.中药多糖药理作用研究的新进展[J].中华实用中西医杂志,2007,20(19):1744-1745.
- [12]邓小云,丁登峰,戴美红,等.植物多糖药理作用研究进展[J].中医药导报,2006,12(9):86.