

人 工 消 化 试 验

在动物消化道内发生的营养素的分解程度，可以人工地在机体外，用消化酶通过与体内同样的条件把试料分解，进行测定。

一、蛋白质的人工消化试验

用于蛋白质消化试验的酶有胃蛋白酶和胰酶，而胰酶可以使用胰液素代替。实际上，在消化蛋白质时，在胃里主要是受胃蛋白酶的分解，在小肠里主要是受胰酶的分解。因此，为了跟实际的条件相符合，有必要让这两种酶起作用，从结果进行推测。现就盐酸胃蛋白酶的消化试验加以说明。

[操作] 选取脂肪含量多的试料，预先用索氏脂肪提取器将乙醚脱脂后，干燥粉碎备用。

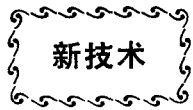
(1) 分解氮的测定

①精确称取2克(*a*mg)试料于300~500ml容积的三角烧瓶中；

②仔细地加入0.1*N* HCl 200ml，充分振荡混合后，再准确加入10mg (*b*mg)的胃蛋白酶，充分振荡混合，盖上塞子置37~38°C的保温箱中24小时，时时振荡混合使蛋白质分解；

③把全部定量的混合液体移入250ml的容

量瓶中，用10ml 2*N* NaOH中和后，加入50%三氯醋酸20ml，放置1小时以上；



④加水至250ml，用干燥滤纸过滤后，以凯氏法测定50ml滤液的氮量 (*A*mg)。

(2) 胃蛋白酶中的非蛋白氮的测定

不加入试料，按上法进行同样的操作，测定由蛋白酶中得来的氮量 (取用蛋白酶量 *C*mg，氮量 *B*mg)。

(3) 试料中非蛋白氮的测定

①精确称取试料2克 (*d*mg) 于250ml的容量瓶中，加入水200ml和50%三氯醋酸20ml [注1]，充分振荡放置1小时以上；

②加水至250ml，用干燥的滤纸过滤后，用凯氏法测定50ml滤液的氮量 (*C*mg)。

(4) 试料中总氮量的测定

精确地称取试料1克 (*e*mg)，同样地测定氮量 (*D*mg)。

[计算] 因为在由(1)得到的分解氮量中，包括胃蛋白酶和试料中的非蛋白氮，所以应把这些值减去，再用百分比表示其试料中的总蛋白氮。消化率是把各数值代入下式算出的。

消化率 (%)

$$= \left\{ A - \left(B \times \frac{b}{c} + C \times \frac{a}{d} \right) \right\} / \left\{ \left(D \times \frac{a}{e} \right) - \left(C \times \frac{a}{d} \right) \right\} \times 100$$

[注2]

[译注] 1) 原文为200ml，可能是印刷之误。根据题意和文章前后所述应为20ml；

2) 原文为 $\left(c - \frac{a}{d} \right)$ 。根据题意应为 $\left(c \times \frac{a}{d} \right)$ 。

二、淀粉的人工消化试验

淀粉的人工消化试验，可以用市售的淀粉酶或淀粉糖化酶进行，但因为唾液是比较容易取得，所以也可用唾液中淀粉酶进行实验。唾液的淀粉酶也称唾液淀粉酶，是 α -淀粉酶。

[操作] 淀粉的人工消化试验, 是使唾液淀粉酶作用于淀粉, 用碘滴定法滴定生成的麦芽糖量, 求淀粉的消化度。[注1]

①在采取唾液时, 用水把口漱净, 把自然地在口腔内积存起来的唾液接受到烧杯里, 如果唾液分泌得不理想, 可嚼一小片纯固体石蜡, 使其分泌, 再把它收集到烧杯中;

②取1%可溶性淀粉25.00ml, 0.2M磷酸缓冲液10.00ml, 0.2M NaCl 1.00ml, 放入300ml容积的三角烧瓶中, 在37°C的水浴中加温10分钟;

③加0.1ml唾液振荡混合, 再在37°C准确加温30分钟后, 加1N H₂SO₄ 2ml使酶反应停止;

④加0.1N碘液20ml振荡混合, 再加入0.1N NaOH 60.00ml, 在室温下放置15分钟;

⑤再加10% H₂SO₄ 10ml使成酸性, 用0.1N Na₂S₂O₃ 滴定(滴定值4ml);

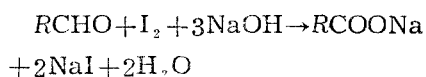
⑥另外, 不加唾液进行同样的处理, 加10% H₂SO₄ 之后, 添加唾液进行滴定做空白试验(滴定值Bml)。

[计算] 两个滴定值的差便是和被生成的麦芽糖还原的碘量相当的0.1N Na₂S₂O₃ 的量。因为这个0.1N Na₂S₂O₃ 1ml相当于麦芽糖17.12mg, 所以生成的麦芽糖是根据下式算出。[注3]

$$\text{生成麦芽糖量 (mg)} = 17.12 \times (B - A) \times F$$

F: 0.1N Na₂S₂O₃ 的因数

[注] 1) 这种糖定量的原理是根据具有CHO基的糖在碱性条件下与碘发生下面的作用。反应式:



用Na₂S₂O₃标准溶液滴定剩余的碘量, 把它从空白试验的碘量中减去, 就可以算出被消耗的碘量。

2) 用微量的Cl⁻使淀粉酶活化;

3) 根据Na₂S₂O₃ (2mol) ≡ 碘(1mol) ≡ 麦芽糖(1mol)的当量关系, 0.1N Na₂S₂O₃ 1ml相当于麦芽糖17.12mg (=34.24/2)。由

于受唾液淀粉酶作用的淀粉的分解, 其糖化曲线的弯曲是随着时间的推移缓慢地延伸, 所以, 不能确定极大分解点。因此是把在一定作用时间内生成的糖量作为麦芽糖计算, 以此表示淀粉的消化度。

[附] 唾液淀粉酶效价的测定

使各种浓度的唾液作用于一定量的淀粉液, 可以知道把基质中某些淀粉分解到消色糊精(碘反应无色)的唾液的最大的稀释倍数, 便可以计算唾液淀粉酶的效价。

[操作]

①准备试管10支, 用1, 2, …… 10的编号, 再用吸量管吸取1% NaCl 1ml于各试管中;

②用吸量管向试管中加唾液1ml充分振荡混合后, 把此唾液稀释液(唾液浓度1/2) 1ml加入试管2, 充分振荡混合;

③用吸量管取试管2的唾液稀释液(唾液浓度1/4) 1ml加入试管3中(唾液浓度成为1/8)。以下逐个地进行同样的操作;

④向各试管中加0.2M磷酸缓冲液1ml, 充分振荡混合;

⑤迅速向各试管中加入已在37°C水浴中保温了的1%可溶性淀粉5ml, 充分振荡混合, 在37°C恒温水浴中加温;

⑥准确加温30分钟后, 把试管从水浴中取出用流水冷却之后, 向各试管中加入0.1N碘1滴, 充分振荡混匀, 观察其呈色;

⑦碘——淀粉反应是随着试管编号的增大, 从无色到红褐色(1支)至成青紫色。选出显示红褐色的试管的前一支试管(无色)。

[计算] 把被唾液1ml分解的1%可溶性淀粉的毫升数, 作为唾液淀粉酶的效价。用下式算出。

$$D_{30}^{37} = 5 \times 2^n$$

D₃₀³⁷: 唾液的淀粉酶的效价
(即淀粉酶价)

2ⁿ: 稀释倍数 (n是试管的编号)

杨婀娜 译自日文《图说食品、营养学实验书》