

淀粉与碘的颜色反应与还原糖含量的关系

江培[✉], 陆红, 何正平, 吴忠良

(复旦大学 生物科学教学实验中心 生物化学实验室, 上海 200433)

摘要:将糖的定性实验和定量实验相结合,我们测定了淀粉遇碘呈不同颜色反应阶段还原糖的含量,给出定性实验一个量化的结果。当底物淀粉浓度为 2 g/L,加入 α -淀粉酶为 0.5 u/mL 时,0~2.5 min 呈蓝色,2.5~5.5 min 呈紫色,5.5~13.5 min 呈红色,13.5 min 后呈无色。对应颜色变化点还原糖的分解比率分别为 45% (蓝色 紫色),66% (紫色 红色),76% (红色 无色)。

关键词:糖;颜色反应;还原糖含量

中图分类号:Q53

文献标识码:A

文章编号:1006-7167(2005)03-0031-02

On the Relationship between Color Reaction of Starch with I_2 and Content of Reducing Sugar

JIANG Pei-hong, LU Hong, HE Zheng-ping, WU Zhong-liang

(Lab. of Biochemistry, Teaching Center of Biology, Fudan Univ., Shanghai 200433, China)

Abstract: An experiment was designed that combines both qualitative and quantitative experiment on sugar. The content of reducing sugar is measured when the different colors change during the reaction of starch with I_2 , and a qualitative result corresponding to a quantitative experiment is reported. When the concentration of substrate starch is 2 g/L and that of α -amylase is 0.5 u/mL, the solution shows blue, violet and red for the reaction time of 0~2.5 min, 2.5~5.5 min and 5.5~13.5 min respectively. Beyond 13.5 min, the solution turns to colorless. The decomposition rates of reducing sugar corresponding to the changing point of colors are 45% (blue to violet), 66% (violet to red) and 76% (red to colorless) respectively.

Key words: sugar; color reaction; content of reducing sugar

1 引言

淀粉为均一多糖,单体为 1,4- D -糖苷。淀粉分可溶性的直链淀粉和不可溶性的支链淀粉两类。淀粉被酸或酶降解是逐步进行的,其不同阶段的产物与碘反应颜色分别为:淀粉(遇碘呈蓝色) 紫色糊精(遇碘呈紫色) 红色糊精(遇碘呈红色) 无色糊精(遇碘无色)。

α -淀粉酶普遍存在于人,动物,植物和微生物体内,它与多糖反应是从多糖链的末端向内逐一水解生成麦芽糖。水解过程中不同时间加入碘,随着麦芽糖含量的变化,溶液颜色呈现从蓝色 紫色 红色 无

色的变化。一个 α -淀粉酶单位定义为:37 $^{\circ}C$,pH 6.8 条件下 1 min 从淀粉中释放 1 mg 麦芽糖所需要的酶量。

生物化学实验课中通常会以淀粉与碘的颜色反应作为定性实验,总糖和还原糖的测定作为定量实验,但是不同颜色反应阶段还原糖的含量是多少,也就是给出定性实验一个量化的结果,这方面尚未有可借鉴的结果。我们在教学中发现,应该教会学生在实验中如何将定性的实验量化,尽早培养同学们良好的科研作风,因此,在实践中探讨了淀粉与碘的颜色反应与还原糖含量的关系。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

(1) 仪器。试管及试管架,容量瓶,恒温水浴装置,752 紫外光栅分光光度计。

收稿日期:2004-05-21

作者简介:江培[✉](1969-),女,博士,副教授。Tel: 021-65643446;

E-mail: phjiang315@yahoo.com.cn

(2) 试剂。磷酸缓冲液(pH 6.8, 0.2 mol/L)。可溶性淀粉溶液(2 g/L, 以 pH 6.8 磷酸缓冲液配制)。-淀粉酶粉(购自中国医药集团上海化学试剂公司, 50 u/mg) (1 μg/L, 以 pH 6.8 磷酸缓冲液配制)。HCl (6 mol/L)。NaOH (6 mol/L, 2 mol/L)。还原糖显色剂(DNS 试剂) (3,5-二硝基水杨酸 6.3 g, 苯酚 6 g, 亚硫酸钠 6 g, 酒石酸钾钠 182 g, 2 mol/L 氢氧化钠 262 mL, 定容至 1 L)。碘液(结晶碘 5 g, 碘化钾 10 g, 定容至 500 mL, 贮于棕色瓶内)。葡萄糖标准溶液(1 μg/L)。麦芽糖标准溶液(3 μg/L)。

2.2 实验原理

3,5-二硝基水杨酸与还原糖共热后被还原成棕红色的氨基化合物, 该物质在 540 nm 处有特征吸收峰。在一定的浓度范围内, 还原糖的量和棕红色物质颜色的深浅程度成一定的比例关系, 因此可以通过测定反应后 540 nm 的光吸收而对还原糖进行定量。

2.3 实验方法

2.3.1 还原糖标准曲线的绘制

(1) 葡萄糖标准曲线的绘制。取 7 只试管, 编号后按表 1 操作。

表 1

		试管号						
		1	2	3	4	5	6	7
葡 萄 糖 液	浓度/(ng L ⁻¹)	100	200	300	400	500	600	-
	用量/mL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-
蒸 馏 水	蒸馏水/mL	-	-	-	-	-	-	0.5
	含糖量/μg	50	100	150	200	250	300	0
蒸馏水/mL		4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
OD _{540 nm}								

以 7 号管为对照, 测定各管的 OD_{540 nm} 值, 以葡萄糖含量为横坐标, 以 OD_{540 nm} 值为纵坐标, 作出标准曲线。

(2) 麦芽糖标准曲线的绘制。7 只试管中麦芽糖浓度分别为葡萄糖对应浓度的 3 倍, 其他用量及操作完全同葡萄糖标准曲线的绘制。

2.3.2 淀粉中总糖的测定 取可溶性淀粉 0.4 g, 加 15 mL 水溶解后加入 10 mL 6 mol/L HCl, 沸水浴水解 3 h 后冷却, 用 6 mol/L NaOH 调 pH 到中性, 蒸馏水定容到 1 L, 测定还原糖的含量, 根据稀释倍数, 算出淀粉中总糖值。

2.3.3 淀粉酶水解过程中与碘作用呈不同颜色变化的时间点的确定 将 -淀粉酶稀释成不同的单位数, 0.5 mL 淀粉加入 0.5 mL 不同单位的 -淀粉酶, 不同时间取样加入碘液, 确定最佳 -淀粉酶用量和淀粉酶水解过程中与碘作用呈不同颜色变化的时间点。

2.3.4 淀粉酶水解过程中与碘作用呈不同颜色时还原糖含量的测定 根据 1.3.3 的实验结果, 在不同颜色变化的时间点测定相应的还原糖的含量, 计算还原糖占总糖的百分比。

3 结果与讨论

经过多次反复实验, 按文中条件, 得到当 -淀粉酶

加入量为 100 倍稀释, 即 0.5 单位时, 颜色变化较易观察, 分别为: 0~2.5 min 呈蓝色, 2.5~5.5 min 呈紫色, 5.5~12 min 呈红色, 12~13.5 min 呈黄色, 13.5 min 后呈无色。对应颜色变化点糖的分解比率分别为 45% (蓝色 紫色), 66% (紫色 红色), 76% (红色 无色)。

为了增加同学们的实验兴趣, 同时也可以节约实验经费, 又尝试了让同学们自己取唾液淀粉酶, 先测定自己的唾液淀粉酶的活力, 然后适当稀释做淀粉与碘的颜色反应与还原糖含量的关系实验, 实验效果更好。

参考文献:

- [1] 张丽霞. -淀粉酶的碘-淀粉改良比色法[J]. 上海医学检验杂志, 1994, 9(3): 146.
- [2] 陆荣荣. 淀粉遇碘变色的机理[J]. 实验教学与仪器, 1995(1): 18.
- [3] 李建武, 等. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1997.
- [4] 乌云, 等. 不同条件下淀粉遇碘显色反应现象研究[J]. 内蒙古教育学院学报(自然科学版), 1999, 12(2): 65.
- [5] 段穗芳. 碘与淀粉反应条件的探讨[J]. 中等医学教育, 2000, 18(1): 62.
- [6] 钟俊英. 影响淀粉与碘反应因素的初探[J]. 化学教学, 2001, 3: 8.
- [7] 聂纪英. 淀粉与碘的显色反应[J]. 生物学教学, 2001, 26(11): 46.