

分光光度法测定大米直链淀粉含量的误差分析

段传玲¹, 兰 静², 张宏坤¹

(1. 黑龙江东方学院 食品与环境工程学部, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为了更准确的测定直链淀粉含量,在现有国家标准的基础上,探讨了直链淀粉测定过程中脱脂次数、酸度、碘的添加量、显色时间对吸光值的影响。结果表明:碘的加入量和显色时间对试验误差影响较大。碘的加入量应准确控制在 1.0 ± 0.1 mL,大于1.1 mL吸光值偏高,小于0.9 mL吸光值偏低。实验过程中同批样品显色时间应控制在2 h以内,以减少实验误差。脱脂次数和酸度对测定误差影响较小。

关键词:分光光度法;大米;直链淀粉;误差

中图分类号:TS212.7;O657.32 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)04-0129-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.04.0129

大米是人们日常主食之一,大米中直链淀粉含量是影响大米食用品质、加工品质的重要因素。因此,直链淀粉的准确测定对发展种植优质水稻具有重要意义。张巧杰^[1]论述了直链淀粉测定过程中温度对吸光值的影响,证明了当测量标准曲线的温度与测量样品的温度大体一致时,直链淀粉含量的测定将不会受影响;袁建^[2]等人从脱脂方法、脱脂时间、酸度等角度对直链淀粉测定方法的准确度做了相关试验,认为在一定酸度范围内乙酸的添加量对测量值无影响,碘的添加量对测量值有影响,但是影响的范围很小,可以忽略;宋瑞芳^[3]等人也从不同角度证明了直链淀粉测定过程中影响吸光值的几个因素,但对于显色时间的影响均没有具体的试验和结论。本文在GB7648-87^[4]的基础上总结前人的研究成果的同时从不同角度探讨了直链淀粉与碘显色反应^[5]的几种影响因素^[6]。对试验过程中脱脂、酸度、碘的添加量和显色时间等因素对比色值的影响做了详细的讨论并提出了不同的见解,同时提出了减少试验测量误差的建议。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器 TU-1800型紫外—可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;TU-1902型紫外—可见分光光度计:北京普析通用仪

器有限责任公司;分析天平:梅特勒-托利多(上海)有限公司;XW-80漩涡混合器:上海青浦沪西仪器厂;SHB-III循环水式多用真空泵:郑州长城科工贸有限公司。

1.1.2 主要试剂 氢氧化钠:北京益利精细化学品有限公司;碘:北京益利精细化学品有限公司;马铃薯直链淀粉标准品:北京高科恒辉技术发展有限公司;支链淀粉标准品:北京高科恒辉技术发展有限公司;石油醚:北京益利精细化学品有限公司。

1.2 方法

试验于2014年在黑龙江省农业科学院农产品质量安全研究所实验室完成。

1.2.1 样品分散 称取相当于0.1000 g粗淀粉的样品(如按样品干重计算直链淀粉百分含量时,称取样品100 mg)于100 mL容量瓶中,加入1 mL无水乙醇湿润样品,再加9 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液,于沸水浴分散10 min,迅速冷却后,用水定容。

1.2.2 脱脂 取20 mL分散液于50 mL具塞刻度试管中,加入7~10 mL石油醚,间歇摇动10 min,静止15 min,分层后用连接在水泵上的吸管抽吸,吸去上部石油醚层。重复以上操作2次。

1.2.3 测定 吸取脱脂后的碱分散液50 mL于100 mL容量瓶中,加水50 mL,再加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸溶液1 mL及碘试剂1 mL,用水定容。显色10 min后,在620 nm处读取吸光度。

大米直链淀粉含量测定参照国家标准GB7648—87^[4]。测定样品与绘制校准曲线时的

收稿日期:2014-12-12

第一作者简介:段传玲(1987-),女,山东省临沂市人,在读硕士,从事食品工程研究。

通讯作者:张宏坤(1979-),男,黑龙江省海伦市人,硕士,副教授,从事有机与高分子材料合成研究。E-mail: zhanghongkun2000@163.com。

温度相差不能超过 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

2 结果与分析

2.1 脱脂次数对试验误差的影响

GB7648—87 中,直链淀粉的测定需用石油醚进行 2 次脱脂且每次脱脂都需用漩涡混合器漩

混 30 s,使溶液与石油醚充分接触以达到完全脱脂的目的。

5 份样品已测出其近似完全脱脂时的吸光值(可近似看作真值),其不同脱脂情况下的吸光值见表 1。

表 1 5 种样品不同脱脂情况的数据分析

Table 1 The datas analysis on different degreasing times for 5 samples

编号 No.	真值 True value	脱脂 1 次测量值 Values of degreasing 1 time	绝对误差 Absolute error	相对误差/% Relative error	脱脂 2 次测量值 Values of degreasing 2 times	绝对误差 Absolute error	相对误差/% Relative error
1	0.321	0.311	-0.01	3.20	0.320	-0.001	0.31
2	0.331	0.323	-0.008	2.42	0.328	-0.003	0.91
3	0.307	0.304	-0.003	0.98	0.307	0	0
4	0.329	0.317	-0.012	3.65	0.329	0	0
5	0.324	0.327	0.003	0.93	0.324	0	0

从表 1 可知,当不脱脂或不完全脱脂时由于油脂的干扰吸光值会偏低;脱脂 1 次时,其吸光值和真值的数据非常接近,将脱脂 1 次和 2 次的数据分别进行准确性数据分析,脱脂 1 次样品相对误差变异幅度为 0.93%~3.65%,平均值为 2.24%,超过 2.0%的样品数为 3 个,占 60%;脱脂 2 次样品相对误差变异幅度为 0%~0.91%,平均值 0.24%,超过 2.0%的样品数为 0 个。可见,2 次脱脂已全部达到了国标的要求,测量时不会对试验结果造成很大影响,不是误差的主要原因。

2.2 酸度的影响

直链淀粉与碘试剂在一定酸度($\text{pH}4.5\sim 4.7$)下相互作用生成深蓝色络合物, $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的乙酸添加量 1 mL。试验时将 3 种已知真值(吸光值)的样品按照 GB7648—87 处理后加入 1 mL $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的碘试剂,乙酸溶液添加量 0.8~1.2 mL,稀释至 100 mL 后测吸光值(见表 2)。

表 2 不同乙酸量对显色的影响

Table 2 Effect of different acetic acid amounts on the absorbance value

编号 No.	吸光值 Absorbance value					平均值 Average
	0.8 mL	0.9 mL	1.0 mL	1.1 mL	1.2 mL	
1	0.320	0.320	0.321	0.320	0.320	0.320
2	0.332	0.331	0.331	0.332	0.332	0.332
3	0.307	0.308	0.307	0.307	0.309	0.308

由表 2 可以看出,1 号样品、2 号样品、3 号样品吸光度平均值分别为 0.320、0.332 和 0.308,1.0 mL 乙酸添加量样品吸光值与样品平均值误差均为 0.001 mL,变化不大。当乙酸加入量从 0.8~1.2 mL 变化时,样品溶液的吸光值基本不变。因此,在测定直链淀粉时,乙酸加入量的操作误差不会明显的影响测定结果。

2.3 碘加入量的影响

由表 3 看出,3 个样品吸光度平均值分别为 0.321、0.330、0.309,变异系数分别为 2.65%、1.52%及 3.74%。3 个样品在碘试剂加入量在 1.0~1.1 mL 范围时,相对误差均小于 2.0%,符合国标要求。1 号样品当碘试剂加入量小于 1.0 mL 和大于 1.1 mL 时,相对误差分别为 2.80%、2.18%、3.74%,均超出了国标要求;2 号样品加入 0.8 mL 碘试剂时相对误差为 3.02%,超出了国标要求;3 号样品加入 1.2 mL 碘试剂时相对误差为 2.93%,也超出了国标要求。故碘试剂加入量对试验结果有影响,容易带来试验误差。

2.4 显色时间的影响

2.4.1 显色时间对标准曲线的影响 按国标的要求配好标准曲线后,直链淀粉的浓度分别为 0、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,显色 10 min 后开始进行第一次测量(见表 4)。

5 种浓度样品的吸光值随时间变化幅度分别为 0.051~0.052、0.133~0.134、0.210~0.211、0.370~0.371、0.544~0.544、0.695~0.696,极值分别为 0.001、0.001、0.001、0.001、0、0.001。

从图 1 看出,3 个不同时间的标准曲线回归线很好, $R^2=0.999\ 7$, R^2 变异系数为 0.00% ,差异很小,因此认为标准曲线的吸光值在 4 h 内不会随着时间的延长发生变化。

表 3 碘试剂用量对显色的影响

Table 3 Effect of addition of iodine on the absorbance value

项目	编号	0.8 mL	0.9 mL	1.0 mL	1.1 mL	1.2 mL
Items	No.					
吸光值	1	0.312	0.314	0.321	0.325	0.333
	2	0.321	0.331	0.331	0.333	0.333
	3	0.306	0.306	0.307	0.309	0.316
相对误差	1	2.80	2.18	0.00	1.25	3.74
	2	3.02	0.00	0.00	0.60	0.60
	3	0.33	0.33	0.00	0.65	2.93

表 4 不同时间测得的标准曲线吸光值

Table 4 The absorbance value of standard curve from different chromogenic times

测定时间	吸光值 Absorbance value					
Measuering times	0	0.05	0.10	0.20	0.30	0.40
	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
12:40	0.052	0.134	0.211	0.370	0.544	0.696
14:40	0.052	0.133	0.210	0.371	0.544	0.696
16:40	0.051	0.133	0.211	0.371	0.544	0.695

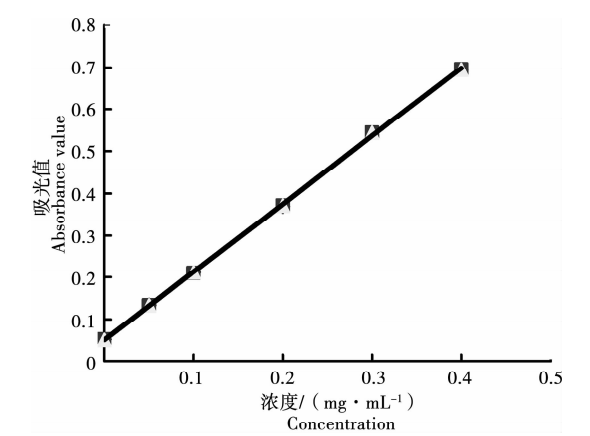


图 1 不同时间的标准曲线

Fig. 1 Standard curve from different chromogenic times

2.4.2 显色时间对样品吸光值的影响 由表 5 可以看出,按照标准要求第 1 次测量(12:50)结果与间隔时间比较看出,随着显色时间的增加,5 个样品的吸光值均呈下降趋势,为进一步探讨显色时间对试验结果的影响,采取不同仪器设备(两个

型号的分光光度计)进行验证(见表 6)。

表 5 不同时间测得的样品吸光值

Table 5 The absorbance values from different times

测定时间	吸光值 Absorbance value				
	1	2	3	4	5
Measuering times					
12:50	0.321	0.331	0.307	0.329	0.324
14:50	0.308	0.322	0.297	0.319	0.313
16:50	0.295	0.310	0.288	0.307	0.304

表 6 不同型号仪器不同显色时间测定样品吸光值

Table 6 The absorbance values from different type instruments and chromogenic times

时间	吸光值 Absorbance value	
	仪器型号 TU-1800	仪器型号 TU-1902
	Instrument type TU-1800	Instrument type TU-1902
Time		
12:00	0.3128	0.3132
12:30	0.3294	0.3288
13:00	0.3100	0.3084
13:30	0.3075	0.3070
14:00	0.3061	0.3057
14:30	0.3063	0.3064
15:00	0.3064	0.3069
15:30	0.3077	0.3081
16:00	0.3075	0.3080
16:30	0.3080	0.3194

表 6 中,TU-1800 和 TU-1902 两种仪器测定的吸光值平均值分别是 0.310 和 0.311,方差分别是 4.97×10^{-5} 和 5.53×10^{-5} ,对表 7 两种仪器的数据做显著性检验得出 $F<F_{0.05}$ ($F=1.24$, $F_{0.05}=3.18$), $t<t_{0.05}$ ($t=1.9\times10^{-4}$, $t_{0.05}=2.10$).因此说明 F 检验有效并且两种仪器之间无显著性差异,可以用 TU-1902 进行验证试验(见表 7)。

从表 7 中可知,吸光值的最大变异幅度为 YZ06,0.260 2~0.282 9,平均值:0.27;变异系数:2.59%;最小变异幅度为 YZ01,0.292 5~0.303 5,平均值:0.30;变异系数:1.51%。时间对吸光值的影响做相对误差分析,从 YZ01~YZ10 各组数据的最大相对误差分别为 3.6%、4.0%、5.2%、4.4%、5.3%、8.0%、4.5%、4.6%、

表 7 TU-1902 不同时间测得的样品吸光值

Table 7 Absorbance values measured by TU-1902 at different chromogenic times

样品编号 Sample No.	吸光值 Absorbance value								
	12:00	12:30	13:00	13:30	14:00	14:30	15:00	15:30	16:00
YZ01	0.3018	0.3035	0.3027	0.2947	0.2940	0.2942	0.2925	0.2926	0.2987
YZ02	0.3053	0.3098	0.3090	0.3002	0.2981	0.3010	0.2990	0.2990	0.2974
YZ03	0.2754	0.2840	0.2820	0.2692	0.2691	0.2688	0.2682	0.2704	0.2701
YZ04	0.2874	0.2951	0.2942	0.2847	0.2826	0.2819	0.2845	0.2831	0.2820
YZ05	0.2918	0.2988	0.2978	0.2845	0.2827	0.2852	0.287	0.2835	0.2838
YZ06	0.2781	0.2829	0.2821	0.2713	0.2714	0.2602	0.2698	0.2707	0.2704
YZ07	0.3094	0.3130	0.3121	0.2990	0.3032	0.3010	0.3002	0.3001	0.2990
YZ08	0.2787	0.2847	0.2841	0.2715	0.2730	0.2715	0.2715	0.2738	0.2737
YZ09	0.2800	0.2855	0.2849	0.2724	0.2723	0.2734	0.2733	0.2733	0.2724
YZ10	0.2672	0.2734	0.2734	0.2624	0.2616	0.2645	0.2611	0.2613	0.2617

4.6%、4.5%。从表中数据看出,显色达 4 h 后超出误差范围的概率为 100%,因此显色时间对吸光值的影响较大,是造成误差的主要原因之一。表 7 出现最大相对误差的时间分别是 0、4.0、3.0、2.5、2.0、3.5、1.5、2.0、3.0 h,图 2 显示了最大相对误差的时间分布,平均时间为 2.7 h,散点图分布最集中的时间是 2~3 h,因此为了减少时间引起的相对误差应该把显色时间控制在 2 h 以内。

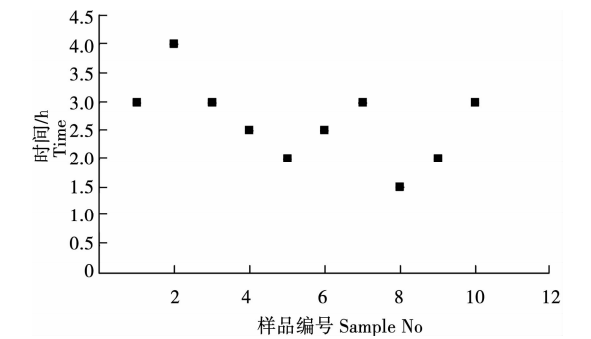


图 2 时间与最大相对误差分布

Fig.2 The distribution of time and the maximum relative error

3 结论与讨论

标准曲线的吸光值几乎不随时间发生变化,标准曲线中溶液的成分是直链淀粉和支链淀粉的标准成分,溶液中除了实验时所添加的试剂外,几乎没有其它成分的干扰,说明样品中除了脂质影响(已脱脂)直链淀粉、支链淀粉与碘的络合还有其它成分参与了络合反应,且随着时间的延长吸

光值逐渐趋向平稳,说明络合反应达到了平衡。

显色时间对测定结果的影响比较显著,样品的显色时间有一个最佳点,时间太短样品的显色不能达到极值,时间太长显色值会慢慢降低,适当延长样品的显色时间使样品测量值与真值尽量接近;进行大批量的测定时,有些样品的显色时间很可能会达到 2~3 h 甚至更久,当大批量的测定样品时应该让样品分批进行显色,尽量把显色时间控制在 2 h 以内,以减少因为显色时间太久带来的测量误差。

碘的加入量引起的误差会对测定结果产生影响,虽然影响不大但仍需在碘试剂的配制及添加时谨慎些;在本试验中脱脂次数、酸度及温度对试验结果影响较小。

参考文献:

[1] 张巧杰.直链淀粉检测装置性能分析研究[D].北京:中国农业大学,2005.

[2] 袁建,杨晓蓉,王肇慈.稻米直链淀粉含量测定方法的研究[J].谷物化学与检测分析,2000(1):38-41.

[3] 宋瑞芳,姚天明.直链、支链淀粉与碘显色反应的研究[J].安徽农业科学,1987(4):38-40.

[4] GB7648-1987《水稻玉米谷子籽粒直链淀粉测定法》[S].

[5] Juliano B. O. A simplified assay for milled rice amylase[J]. Cereal Science, 1971, 16:334-340, 360.

[6] 陈铁雄,何孙胃,周少榕.分光光度法测定大米直链淀粉含量的不确定度[J].广东化工,2013(24):147-148.

[7] 武汉大学.分析化学上册[M].第五版.北京:高等教育出版社,2006:313-325.

植物酯酶源的筛选及最佳提取条件的确定

张天灵,魏金会,李 洋,于海生,王亚飞
(黑龙江八一农垦大学,黑龙江 大庆 163319)

摘要:为建立蔬菜、水果中农药残留的快速检测方法,以 2,6-二氯乙酰苯酚为显色剂,对不同来源的植物酯酶进行筛选,以总酯酶活力和比活力为考核指标,确定最佳植物酯酶源。结果表明:苜蓿酯酶的活力和比活力最大,苜蓿为最佳植物酯酶源,酯酶最佳提取条件是在 4℃,以 pH7.0 的 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲溶液为提取剂,料液比 1:10,提取时间 10 min。

关键词:植物酯酶;筛选;提取条件

中图分类号:S481.8 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2015)04-0133-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.04.0133

我国是农业大国,近年来粮食产量也逐年上升,然而,由于农作物病虫害,每年要损失粮食近 250 亿 kg,各类经济作物 1 800 万 t^[1]。为了防治病虫害,提高农作物产量,长期以来大量使用并依赖化学农药。目前我国的农药生产和使用居世界第一,单位面积化学农药的平均用量比世界平均水平高 2.5~5.0 倍^[2]。由于农药的大量、低水平的使用,用药者缺乏安全意识,导致农产品中的农药残留超标现象严重,由此引发的急性中毒乃至死亡事件时有发生,因此,对农产品上市前进行农药残留的检测监控显得尤为重要。近年来,关于蔬菜、水果中农药残留的快速检测方法的研究报道很多,植物酯酶抑制法以其原料来源广、检测成本低廉、酯酶保存时间长、检测所需时间短、适合现场检测等优点备受关注^[3]。目前,用于农药残留快速检测的植物酯酶都是从小麦^[4]、大豆^[5]、玉米^[6]、荞麦、豌豆^[7]等粮食作物中提取的,本试验拟从来源广、价格低廉的牧草中寻找合适的植物酯酶源,并对其提取条件进行优化研究。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为大米、小米、玉米、面粉、大豆,均购自农贸市场;紫花苜蓿、黄花锦鸡儿、白花三叶草、小叶章,采自试验田。

试验所用仪器和试剂有 AR124CN 分析天平、H2050R-1 高速冷冻离心机、Tu1901 型紫外可见分

收稿日期:2014-11-10
基金项目:黑龙江八一农垦大学校级大学生创新实验资助项目
第一作者简介:张天灵(1992-),女,黑龙江省大庆市人,在读硕士,从事植物保护研究。
通讯作者:王亚飞(1969-),女,硕士,副教授,从事化学教学与应用化学研究。E-mail:wangyafei6969@163.com。

Analysis on Error in Determining Amylose Content of Rice by Spectrophotometry

DUAN Chuan-ling¹, LAN Jing², ZHANG Hong-kun¹

(1. Department of Food and Environmental Engineering, East University, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: In order to accurately measure amylose content, the effect of degreasing, acidity, addition of iodine and chromogenic time on the absorbance value was investigated on the basis of the existing national standards. The results showed that addition of iodine and chromogenic time had a great impact on the experimental error. Iodine's adding amount should be accurately controlled between 1.0±0.1 mL, greater than 1.1 mL resulted in higher absorbance value, less than 0.9 mL induced lower absorbance value. In order to reduce experimental error, chromogenic time for the same batch of samples should be controlled within 2 hours. Degreasing times and acidity had little effect on measuring error.

Keywords: spectrophotometry; rice; amylase; error