

全国“粮食工程”专业系列规划教材

淀粉工艺学

程建军 主编



科学出版社

全国“粮食工程”专业系列规划教材

淀粉工艺学

程建军 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

《淀粉工艺学》共七章,全面地介绍了淀粉基础知识、淀粉及淀粉产品的生产和检测技术,包括淀粉结构、淀粉理化性质、淀粉的制取、淀粉糖生产、变性淀粉制备、淀粉发酵产品以及淀粉的检测技术。不仅提供了经典的淀粉理论和技术,还完善和补充了近些年来出现的新产品、新技术和新方法。本书内容与科研、生产实践结果紧密结合。

本书可供粮食工程、食品科学与工程等专业的本科生、研究生作为教学参考书,也可作为淀粉、食品等相关行业研究工作者及工程技术人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

淀粉工艺学/程建军主编. —北京:科学出版社,2011
全国“粮食工程”专业系列规划教材
ISBN 978-7-03-032427-6

I. ①淀… II. ①程… III. ①淀粉-生产工艺-高等学校-教材
IV. ①TS234

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 196168 号

责任编辑:吴美丽 王国栋 孙 青 / 责任校对:朱光兰
责任印制:张克忠 / 封面设计:北京科地亚盟图文设计有限公司

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

保定市中国画美凯印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 12 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011 年 12 月第一次印刷 印张:16 3/4

字数:430 000

定价:39.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

淀粉是绿色植物果实、种子、块根、块茎的主要成分，是空气中二氧化碳和水经光合作用合成的产物，是取之不尽、用之不竭的天然资源。更好地开发利用淀粉资源是当今世界研究的热点之一。

我国现已发展成为世界淀粉最大生产国，年产各种淀粉超过 1000 万 t，我国淀粉生产技术也已跻身世界强国行列，多项技术工艺达到国际先进水平。淀粉包括玉米淀粉、薯类淀粉、变性淀粉、淀粉糖等。2001 年以来，我国淀粉总产量以年均 17% 的速率递增，2005 年产量达 1106 万 t，居各国之首。淀粉工业被誉为朝阳产业，可直接带动农业、食品、造纸、医药、化工、石油等诸多行业的发展。

淀粉及其深加工工业的发展是随着其相关工业的发展而发展起来的，倍受相关行业的重视。因此，充分开发淀粉资源、合理布局和规划淀粉及其深加工工业、研究淀粉工业技术、大力发展其深加工产品、提高其附加值是淀粉及其深加工工业的主要任务。

因此，为了满足我国淀粉科学技术日益发展的需要，在全体编写人员多年教学、科研基础上编著了本书，以供从事淀粉结构、功能、淀粉制取、变性淀粉、淀粉糖以及淀粉部分发酵产品的学生、科技人员作为参考。

本书第一、第二章由程建军编写，第三章由李鸿梅编写，第四章由肖志刚和王鹏编写，第五章由陈凤莲编写，第六章由史军花和徐速编写，第七章由周雁和何胜华编写。全书统稿主要由程建军完成，在此感谢苏俊烽、任为聪、刘宇协助完成统稿工作。

在本书的编写过程中，得到了教材编写委员会及相关院校各位领导和老师的帮助，在此表示衷心的感谢。

由于作者水平有限，难免有不妥及疏漏之处，敬请读者批评指正，编写组成员不胜感激。

编写组

2011 年 6 月

目 录

前言

第一章 淀粉的结构与性质	1
第一节 淀粉的构成单位和组分	1
第二节 淀粉颗粒的结构	16
思考题	21
第二章 淀粉的物理化学性质	22
第一节 淀粉颗粒的化学组成	22
第二节 淀粉的物理性质	25
第三节 淀粉的润胀和糊化	31
第四节 淀粉的回生	42
第五节 淀粉的化学性质	45
思考题	46
第三章 淀粉的制取工艺	47
第一节 玉米淀粉的生产	47
第二节 马铃薯淀粉的生产	85
第三节 甘薯淀粉的生产	97
第四节 木薯淀粉的生产	100
第五节 小麦淀粉的生产	102
第六节 稻米淀粉的生产	108
第七节 豆类淀粉的生产	110
思考题	112
第四章 淀粉制糖	113
第一节 概述	113
第二节 淀粉糖生产的原理	116
第三节 淀粉糖生产工艺	119
第四节 麦芽糖浆	121
第五节 葡萄糖	125
第六节 果葡糖浆	128
第七节 麦芽糊精	134
第八节 异麦芽低聚糖	138
第九节 麦芽糖醇	141
第十节 挤压技术在淀粉制糖中的应用	143
思考题	149
第五章 变性淀粉	150
第一节 概论	150

第二节 预糊化淀粉.....	154
第三节 氧化淀粉.....	156
第四节 酯化淀粉.....	160
第五节 醚化淀粉.....	168
第六节 交联淀粉.....	174
第七节 接枝共聚淀粉.....	177
第八节 糊精.....	181
第九节 抗性淀粉.....	185
第十节 多孔淀粉.....	190
思考题.....	193
第六章 淀粉发酵.....	194
第一节 概述.....	194
第二节 乙醇生产.....	195
第三节 味精生产.....	203
第四节 有机酸生产.....	211
第五节 其他淀粉发酵产品.....	219
思考题.....	226
第七章 淀粉检测技术.....	227
第一节 淀粉常规检测方法.....	227
第二节 淀粉含量的测定.....	229
第三节 淀粉糖的检测.....	233
第四节 变性淀粉的检测.....	237
第五节 淀粉检测新技术.....	252
思考题.....	257
主要参考文献.....	258

第一章 淀粉的结构与性质

对淀粉的分子而言，结构是功能的基础。淀粉的结构包括化学结构、空间结构、分子构象和淀粉颗粒的微结晶结构。在淀粉分子结构中，化学结构是基本的结构，化学结构决定高级结构，空间结构决定淀粉的性质。不同植物来源的淀粉分子因其结构的差异而具有各自不同的特性。只有掌握淀粉的结构知识，才能对淀粉的特征、性能作出充分的解释。在工业生产中，淀粉的结构和性质是确定制取工艺的依据。同时，有关淀粉分子结构的理论也可为淀粉的物理和化学变性、酶降解及在发酵工业中的应用，进行深度加工，提供可靠的信息。

第一节 淀粉的构成单位和组分

一、淀粉的基本构成单位

淀粉是高分子碳水化合物，是由单一类型的糖单元组成的多糖。淀粉的基本构成单位为 α -D-吡喃葡萄糖，葡萄糖脱去水分子后经由糖苷键连接在一起所形成的共价聚合物就是淀粉分子。淀粉属于多聚葡萄糖，游离葡萄糖的分子式以 $C_6H_{12}O_6$ 表示，脱水后葡萄糖单位则为 $C_6H_{10}O_5$ ，因此，淀粉分子可写成 $(C_6H_{10}O_5)_n$ ，或者写成 $[C_6H_7O_2(OH)_3]_n$ 、 $[C_6H_7(OH)_3O_2]_n$ ， n 为不定数。组成淀粉分子的结构单体（脱水葡萄糖单位）的数量称为聚合度，以 DP 表示。

葡萄糖的开链结构有 5 个羟基， C_4 和 C_5 上的羟基可与醛基形成环状半缩醛结构，分别形成五环和六环两种结构存在，1,5-氧环为吡喃糖环，1,4-氧环为呋喃糖环，淀粉中的脱水葡萄糖单位是以吡喃环存在的。

淀粉是经由 α -1,4-糖苷键连接组成的。其后，人们把淀粉分离为直链分子和支链分子（图 1-1、图 1-2），直链分子是 D-六环葡萄糖经 α -1,4-糖苷键组成，支链分子的分支位置为 α -1,6-糖苷键，其余为 α -1,4-糖苷键。酶法水解淀粉产生麦芽糖，产率可达 70%~80%，说明麦芽糖是淀粉分子的组成部分，淀粉分子中糖苷键应与麦芽糖分子中的糖苷键相同，麦芽糖是

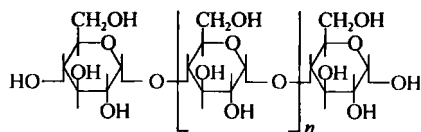


图 1-1 直链淀粉分子

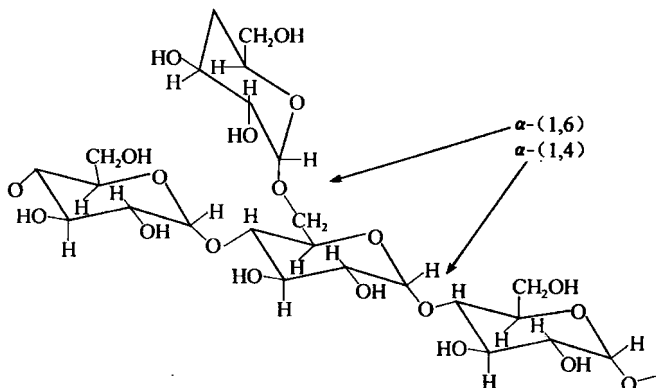


图 1-2 支链淀粉分子

2 个 D-六环葡萄糖经由 α -1,4-糖苷键组成的二糖, 所以淀粉分子中也应是 α -1,4-糖苷键。而淀粉水解产物中同时还有少量的异麦芽糖存在, 是经由 α -1,6-糖苷键组成, 这表明除 α -1,4-糖苷键外, 还有一定量的 α -1,6-糖苷键在淀粉中存在。

虽然淀粉的化学组成比较简单, 但对其进行结构分析并不容易。多糖至少由两种碳水化合物组成, 但对淀粉组分和其他葡聚糖来讲, 很难将单一类型的碳水化合物组成有意义的次序。因此, 需要利用特殊参数来描述淀粉组分的特性。在支链淀粉中短链聚集成束, 这些束结构通过长链相互连接。支链淀粉结构中不同类型的链、链段见图 1-3。

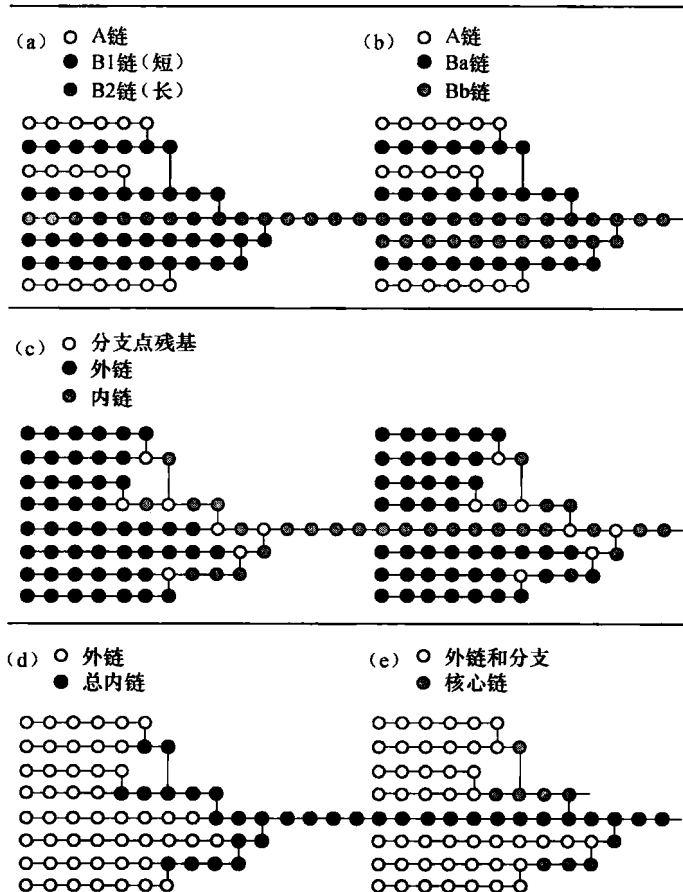


图 1-3 支链淀粉分支结构中不同的链和链段定义(张燕萍, 2007)

圆圈代表葡萄糖残基, 横线代表 1,4-糖苷键, 竖线代表 1,6-糖苷键

根据 Peat 等提出的经典命名法, A 链被定义为不可替代链, 而 B 链则可被其他链替代。大分子支链淀粉还含有一个 C 链, 其具有唯一的还原末端。实验表明, C 链无法同 B 链区分开。也可根据链的长短来描述链的特性, 但对链长无确切的定义。而且, 对链长的定义, 直链淀粉与支链淀粉差别很大。不同的链进一步被分成特征性的片段, 外链指从最外面的分支点延伸到非还原端的部分。这样, 所有的 A 链都是外链, 而部分 B 链也属于外链。其他的 B 链称作总内链, 包括所有分支点上的葡萄糖残基。另一种定义是核心链, 其不包含最外分支点上的残基。最后, 内链被定义为分支点之间的 B 链片段, 其不包含分支点上的葡萄糖残基。为了应用方便, 一般认为分子还原末端的片段也属于内链。采用淀粉酶对淀粉成分进行限制性水解, 可很方便地获得上述链段。

二、直链淀粉和支链淀粉

在高等植物中,淀粉存在于质体内,并以淀粉粒的形态存在。1940年 K. H. Meyer 将淀粉团粒完全分散于热的水溶液中,发现淀粉颗粒可分为两部分,其中形成结晶沉淀析出的部分称为直链淀粉 (amylose),留存在母液中的部分称为支链淀粉 (amylopectin)。那些两者尚没有被分开的淀粉通常以“全淀粉”相称。

直链淀粉实质是 α -D-吡喃葡萄糖基单位通过 1,4-糖苷键连接的线型聚合物,而支链淀粉是 α -D-吡喃葡萄糖基单位通过 1,4-糖苷键及 1,6-糖苷键连接的高支化聚合物。淀粉颗粒一般都由直链淀粉和支链淀粉组成,此外,还存在一个数量很少的中间级分,它由低度支化的支链淀粉和带有少量 α -D-(1,6)-糖苷键的短支链的直链淀粉组成。玉米淀粉中的中间级组分占 4%~9%。

淀粉颗粒如何由数目众多的直链淀粉和支链淀粉分子组成复杂的结构,还没能够充分予以了解。但可以肯定的是,在淀粉颗粒中直链淀粉分子和支链淀粉分子不是机械地混合在一起的。支链淀粉量多分子又大,是构成淀粉颗粒的骨架,支链淀粉分子的侧链与直链淀粉分子间可通过氢键结合,在某些区域形成排列具有一定规律的“束网”结构,有些区域分子排列杂乱,成“无定形”结构,每个直链淀粉分子和支链淀粉分子都可能穿过几个不同区域的“束网”结构和“无定形”结构。

(一) 直链淀粉

1. 平均聚合度 ($\overline{DP}$) 和分子质量

在天然淀粉中有 20%~30% 的淀粉为直链淀粉分子。直链淀粉一般由一条形状为线状的长链分子构成,其链由数百个以上 D-葡萄糖单位通过 α -1,4-糖苷键相连接。长链的两端,一端是还原末端基,另一端为非还原末端基。即便是同一种天然淀粉颗粒,其中所含的直链分子大小也不可能一致,而是由一系列聚合度不等的分子混合在一起构成,故直链淀粉分子的聚合度通常都以平均聚合度表示,并把聚合度的变化范围称为表观聚合度分布。表 1-1 列出一些直链淀粉分子的平均聚合度。

表 1-1 一些直链淀粉的平均聚合度

淀 粉	$\overline{DP}_n^{\text{D}}$	$\overline{DP}_w^{\text{D}}$	$\overline{DP}_w/\overline{DP}_n$	$\overline{DP}$ 分布范围
大米 sasanishiki	1 100	3 100	2.8	280~9 700
hokkaido	1 100	3 200	2.9	210~9 900
IR ₃₂	1 000	2 800	2.8	290~8 800
IR ₃₆	900	2 800	3.1	210~9 800
IR ₄₂	1 000	3 300	3.3	260~13 000
玉米	930	2 400	2.6	400~14 700
高直链淀粉玉米	710	1 900	2.7	220~4 000
小麦	1 300	—	—	360~15 600
栗	1 700	4 000	2.4	440~14 900
西米 (LV)	2 500	4 400	1.8	640~11 300
(HV)	5 100	12 000	2.6	960~36 300
葛	1 500	3 200	2.1	480~12 300
木薯	2 600	6 700	2.6	580~22 400

续表

淀 粉	$\overline{DP}_n^①$	$\overline{DP}_w^②$	$\overline{DP}_w/\overline{DP}_n$	$\overline{DP}$ 分布范围
甘薯	4 100	5 400	1.3	840~19 100
山药	1 200	5 200	4.3	400~24 000
百合	3 300	5 000	2.2	360~18 900
马铃薯	4 900	6 400	1.3	840~21 800

① 数均平均聚合度；② 重均平均聚合度

2. 直链淀粉分子的分支构造

β -淀粉酶能够从直链淀粉的非还原末端开始水解相隔的 α -1,4-糖苷键，生成 β -麦芽糖，由于直链淀粉中各葡萄糖单位均是由 α -1,4-糖苷键连接起来的。所以，水解产物理应 100% 为麦芽糖。早期实验结果确实如此。后来用精制的 β -淀粉酶水解直链淀粉却得到不同结果，实际水解率只有 73%~95%，这表明在直链淀粉中还可能含有微量的 α -1,4-糖苷键以外的其他键存在。进一步研究发现，早期用的 β -淀粉酶为粗酶，其中含有一种与 α -淀粉酶相似的 α -酶，它能使 β -淀粉酶越过淀粉分子中的非 α -1,4-糖苷键，继续水解。

为了探明这些非 α -1,4-糖苷键的性质，在用 β -淀粉酶水解直链淀粉时，同时加入异淀粉酶和支链淀粉酶，则 β -淀粉酶的水解度明显上升。异淀粉酶和支链淀粉酶主要水解淀粉分子中构成分支的 α -1,6-糖苷键，因此，可以推测某些直链淀粉分子具有分支结构。将直链淀粉甲基化并用 Smith 法分解，得到微量 1-O-甲基-D-葡萄糖，进一步说明直链淀粉中存在 α -1,6-糖苷键。用 β -淀粉酶水解线状直链淀粉分子时，能够完全水解；水解带分支的直链淀粉分子时，因为 α -1,6-糖苷键的分支存在，只能有部分水解，水解后所剩下的未被水解部分称为 β -淀粉酶极限糊精 (β -LD)。可根据 β -LD 的构造推测带分支直链淀粉分子的构造。

直链淀粉中轻度分支分子的结构可通过酶解法给出。轻度分支分子的链数为 4~20。直链淀粉每个分子的平均链数=轻度分支分子的平均链数×分支分子所占百分比+直链线状分子的链数×直链线状分子所占百分比，总的直链淀粉的平均链数为 2~13。相当于每 1000 个葡萄糖单位含有 2~4 条链。通常带分支的直链淀粉分子大小是直链线状分子的 1.5~3.0 倍 (表 1-2)。

表 1-2 部分直链淀粉的结构特性

直链淀粉	β -水解 极限值/%	分支分子 所占比例/%	$\overline{DP}_n$			分支链数		
			全部分子	分支分子 (B)	线状分子 (L)	B/L	全部分子	分支分子
小麦	81	39	1230	1950	760	2.6	4.5	12.5
大米	80	36	1010	1410	810	1.7	2.4	6.5
直链淀粉玉米	75	44	710	1040	450	2.3	2.0	4.5
普通玉米	82	48	960	1320	630	2.1	2.1	4.4
葛	75	53	1460	1950	910	2.1	3.7	6.8
百合	89	39	2300	2780	2000	1.4	3.9	10.0
木薯	75	42	2660	3280	2210	1.5	6.8	16.1
西米 (HV)	74	62	5090	6820	2260	3.0	10.4	18.3
(LV)	80	41	2490	3050	2100	1.5	6.8	16.4

图 1-4 是稻米直链淀粉分子构造模型示意图。线状不带分支的直链分子占 64%，带分支的

直链淀粉分子占 36%；不带分支的直链分子 $\overline{DP}$ 为 800，带分支的直链分子 $\overline{DP}$ 为 1400，因为有分支侧链存在，聚合度明显增加。每个带分支分子平均含 7 个短的支侧链，平均链长 200， β -LD 占 39%。大麦直链淀粉中，轻度分支直链分子占 27%，平均有 3.3 个分支，侧链长度为 1~60，平均链长为 17.4，主链 $\overline{DP}$ 为 1070，分支分子的平均链长 360。

不能把轻度分支直链淀粉分子视为混入直链淀粉中的支链淀粉分子，两者还是有明显区别的。例如，支链淀粉的分子质量要比轻度分化直链淀粉分子大得多，前者的平均链数可达数百个，后者则只有几个或十几个。轻度分支直链淀粉因分支少，侧链短， β -淀粉酶的分解极限只有 40%左右，比支链淀粉的 55%~60%要低。淀粉颗粒随处理温度升高，逐渐有分子溶出，最先溶出的是线状直链分子，之后是轻度分支直链淀粉分子，支链淀粉则在最后被溶出。不过，由于带分支的直链淀粉所具有的短侧链与支链淀粉分子链长为 20 左右的短侧链相似，也有人推测带分支的直链淀粉分子可能是支链淀粉成长过程中的中间分子。

3. 直链淀粉分子的螺旋结构

直链淀粉分子的立体结构信息主要是依靠 X 衍射技术获得的。与蛋白质和核酸相比，淀粉空间结构测定有很大难度，由于制备合适样品存在困难，一直得不到理想的 X 射线衍射图。尽管早在 20 世纪 30 年代就有淀粉 X 射线衍射的研究报道，但对其结晶性排列至今尚未得到一个肯定的结果，只是提出若干种模型。

直链淀粉为螺旋型，每一螺旋周期包含 6 个 α -D-吡喃葡萄糖基（图 1-5），这种螺旋极可能形成的是左手螺旋。一个 α -D-吡喃葡萄糖单元 C-2 位上的羟基和相连的另一个糖单元的 C₃

分支状 ($\overline{DP}$ 1400, $\overline{CL}$ 200 $\overline{NC}$ 7, β -LD 39%)



线状 ($\overline{DP}$ 800)

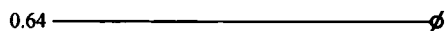
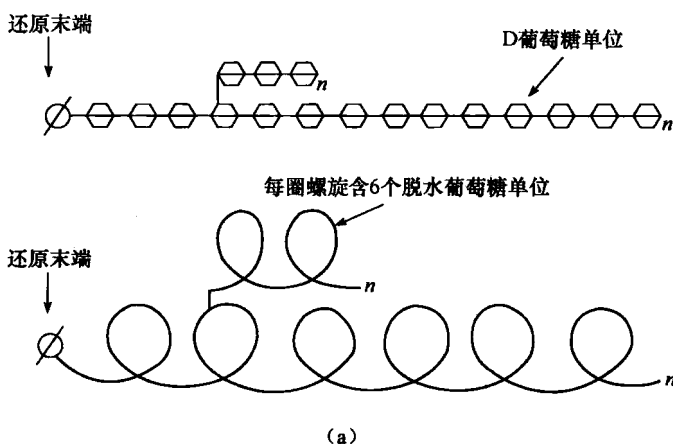


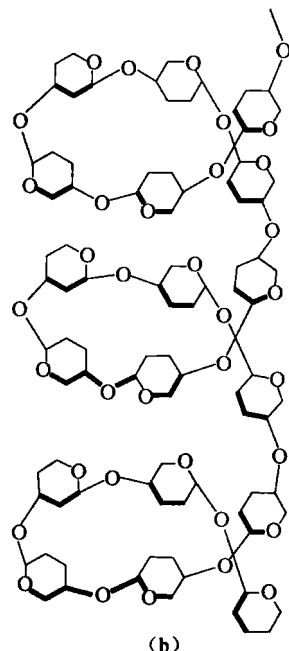
图 1-4 稻米直链淀粉的分支分子和线状分子

$\overline{DP}$: 平均聚合度; $\overline{CL}$: 平均链长;

$\overline{NC}$: 平均链数; β -LD: β -环糊精



(a)



(b)

图 1-5 直链淀粉分子的螺旋结构示意图

上羟基之间形成氢键，使左手螺旋更加稳定。Kainurna 和 French (1972) 指出直链淀粉是双螺旋结构，螺旋结构每一螺旋所包含的单糖单元数 $n=6$ ，每个单体单元沿螺旋轴上升的距离 $h=3.5\times10^{-10}\text{m}$ ，双螺旋很稳定，构成双螺旋的分子是同一方向或相反方向都有可能。因为这两条链紧密地配合在一起，相对单体单元的疏水区紧密接触，各羟基则位于链间产生氢键。Sarko (1980) 根据最佳纤维衍射记录提出天然淀粉以右旋各股平行的双螺旋结构存在，螺旋每上升 $(10.4\sim10.5)\times10^{-10}\text{m}$ ，有 3 个 D-吡喃葡萄糖单元，在螺旋轴上有一个对称轴，因此，沿单股螺旋的重复距离相当于 6 个 D-吡喃葡萄糖单元 ($21\times10^{-10}\text{m}$)。双螺旋虽然是平行

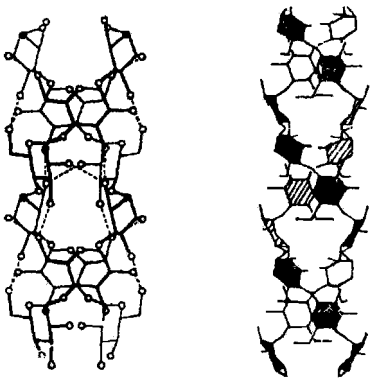


图 1-6 直链淀粉左手和右手双螺旋

合股的，却是反向堆积的，一股单螺旋是向上的，另一股是向下的。

现在被人们所接受的模型是从 X 射线衍射研究得到的模型 (图 1-6)。两者均为反平行堆积右手双螺旋结构，每股螺旋每圈为 6 个葡萄糖残基，即螺旋分子具有六重螺旋轴对称性，重复周期为 $2.08\mu\text{m}$ ，但是两个模型中的双螺旋在晶胞中堆积方式有相当大的差别，淀粉的分子结构以及它们的堆积方式的研究仍在继续进行着，对一些问题还有争议。

有关直链淀粉螺旋结构的证明都来自制备的晶体样品，在溶液状态下，直链淀粉的结构又会发生怎样的变化呢？

直链淀粉在稀溶液中的空间构象有三种 (图 1-7)：①无规则线团 (random coil)，呈弯曲性非常大的完全随机的线团状态；②间断式螺旋 (interrupted helix)，螺旋链段和链段之间曲线连接；③螺旋形 (deformed helix) 状态存在，具有刚性棒状结构。

在中性溶液中，直链淀粉呈现出无规则线团状态，其中带有松散缠绕的螺旋形短段。但当溶液中含有与淀粉分子形成络合物的配合剂时，直链淀粉多以螺旋形存在。

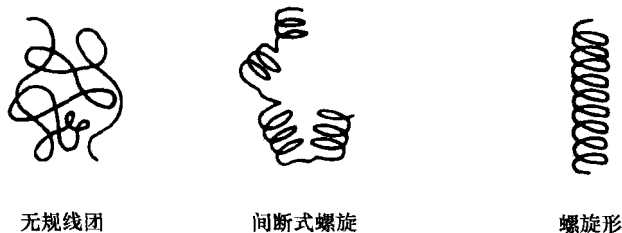


图 1-7 直链淀粉在稀溶液中的空间构象

(二) 支链淀粉

1. 支链淀粉的分子结构模型

最早由 Haworth (1937) 等提出层叠式结构，Staudinger 等 (1937) 提出梳子模型，随后 Meyer (1940) 提出树枝状模型，其后 Whelan (1970) 对 Meyer 的模型进行了修正 (图 1-8)。

在近期提出的众多模型中，有代表性的是 French (1972)、Robin (1974) 以及 Manners 和 Matheson (1981) 等提出的“束簇”支链淀粉模型，以及由 Hizukuri (1986) 修正后的“束簇”模型，用 β -淀粉酶和脱支酶对支链淀粉进行酶解，对酶解产物分析结果表明 Manners 和 Matheson 的支链淀粉结构模式比较符合支链淀粉实际的结构 (图 1-9)。

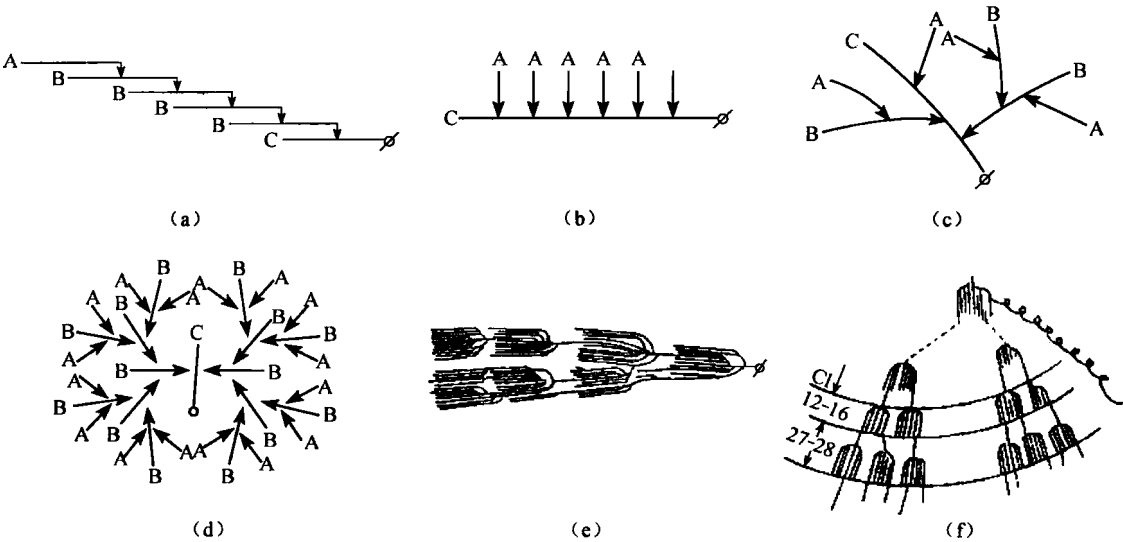


图 1-8 直链淀粉分子结构模型

(a) Haworth (1937); (b) Staudinger 和 Husemann (1937); (c) Meyer 和 Bernfeld (1941);
(d) Whelan (1970); (e) French (1972); (f) Hizukuri (1986)

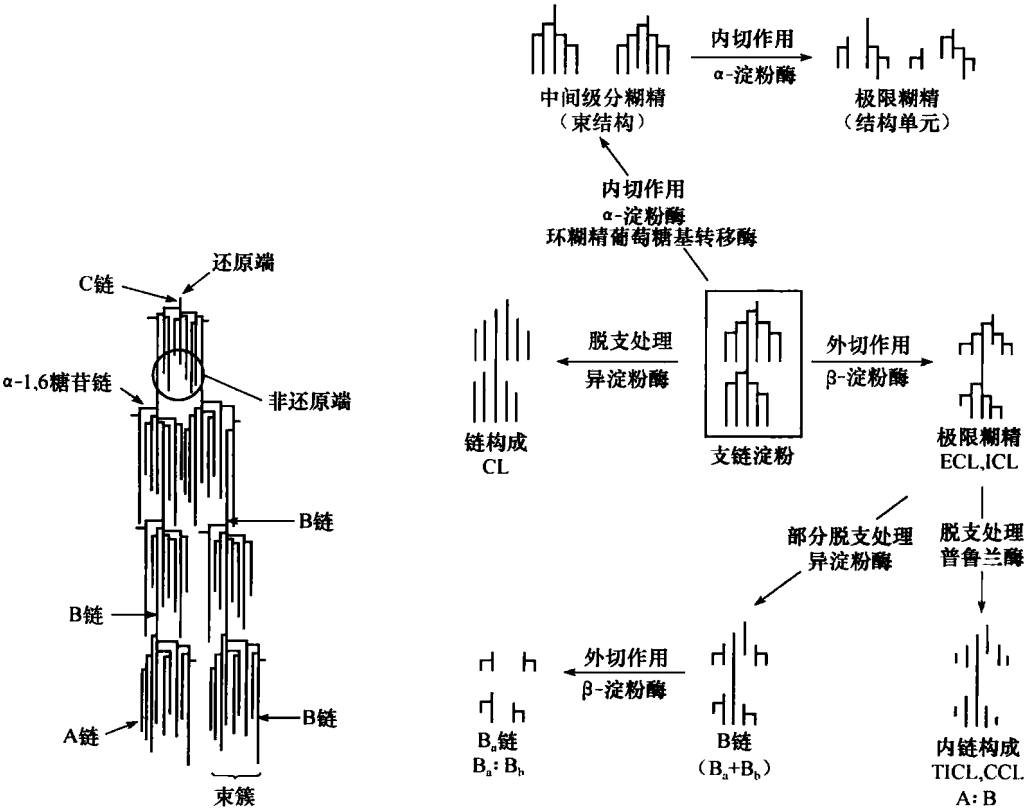


图 1-9 支链淀粉分子束簇模型

图 1-10 支链淀粉和其他分支淀粉组分采用酶分析原理

支链淀粉的分子质量较直链淀粉大得多，采用凝胶渗透色谱（Gel Permeation Chromatography, GPC）或分子排阻色谱（Size Exclusion Chromatography, SEC）研究其链长分布时，

没有合适的媒介, 另外支链淀粉容易形成分子聚集体或存在链段断裂的风险, 所以难以获得支链淀粉这种大分子的精确平均链长组成。一般支链淀粉的质均相对分子质量 ($M_{r,m}$) 为 $(2 \sim 700) \times 10^6$, 依植物来源、分析方法以及采用溶剂的不同, 而有所差别。支链淀粉质均相对分子质量 ($M_{r,m}$) 要低得多。

采用改进的 Park-Johnson 法测定还原能力时, 不同支链淀粉样品的 DP 值为 $(4.8 \sim 15.0) \times 10^3$, 仅比直链淀粉略高, 与质均相对分子质量 $M_{r,m}$ 值 $(0.8 \sim 2.5) \times 10^6$ 相符。对支链淀粉还原端采用荧光示踪, 然后采用 GPC 测定, 不同植物来源的支链淀粉被分为 3 类, DP_n 值为 $(0.7 \sim 26.5) \times 10^3$ 。这样 $M_{r,m}/M_{n,m}$ 的数量级为 $10^1 \sim 10^2$ 。图 1-10 列举了采用不同酶进行支链淀粉结构分析的途径。不同的酶类在浓度为 2.5 mol/L 或较低的二甲亚砜 (DMSO) 溶液中具有活力, 如在酶作用前将支链淀粉溶解于 DMSO 溶液中, 应注意上述情况。

从支链淀粉结构模型可以看出, 淀粉分子由复杂多枝的分支构成, 为了对结构分析的方便, 把构成淀粉分子的链分成 A、B、C 三种, 并对一些专门用语做出相应的规定。

A 链: 还原性末端经由 α -1,6 糖苷键与 B 链或 C 链相连接的链。

B 链: 连有一个或多个 A 链, 还原性末端经由 α -1,6 糖苷键与 C 链相连接的链。

C 链: 含有还原性末端的主链, 支链淀粉中仅含一条 C 链, 因此, C 链一端为非还原性末端, 另一端为还原性末端。对许多研究而言, 通常 C 链被当做一个 B 链。

外链 (exterior 或 outer chain): A、B、C 链的非还原末端到最靠近外侧支叉位置的一段链。

内链 (interior chain): 支叉位置和外链以外部分组成, 即相邻两个以 α -1,6 糖苷键为分叉点的一段链的链长。

主链和侧链: 带有还原性末端的 C 链为主链, 与主链以 α -1,6 糖苷键相连接的其他链为侧链。

分支化度 (multiple branching degree): 淀粉分子上每个 B 链所连接的链段 (A 链) 平均数目, 其值大小由 A 链和 B 链数量比值决定。

2. 聚合度和分子质量

1) 平均聚合度 ($\overline{DP}$)

支链淀粉分子是巨大分子, 各种已测得植物淀粉的支链淀粉 $\overline{DP}_n$ 为 4000~40 000, 大部分为 5000~13 000, 相对分子质量中 M_n (数均分子量) 多为 $8 \times 10^5 \sim 2 \times 10^6$, M_w (重均分子量) 在 $6.5 \times 10^6 \sim 6.5 \times 10^7$, M_w 是 M_n 的 10~30 倍, 比值随淀粉大小分子所占比例不同而异。糯米的 $\overline{DP}_n$ 为 18 500, M_n 为 2.9×10^6 , 西米的 $\overline{DP}_n$ 为 40 000, M_n 为 6.5×10^6 , 它们都是分子比较大的支链淀粉。小麦淀粉中的支链淀粉却比较小, $\overline{DP}_n$ 只有 4800。稻米的不同类型 (粳稻和籼稻)、西米的不同黏度 (高黏度和低黏度) 在支链淀粉相对分子质量上都有明显差异 (表 1-3)。支链淀粉的相对分子质量和相对分子质量分布的测定对了解淀粉的功能特性有着重要的意义。

表 1-3 支链淀粉的聚合度和链长度

淀 粉	$\overline{DP}_n$	CL	NC	ECL	ICL
糯米	18 500	18	1 000	12	5
大米 koshihikari	8 200	20	410	14	5
sasanishiki	12 800	19	670	13	5
hokkaido	11 000	19	580	13	5
IR32	4 700	21	220	14	6

续表

淀 粉	$\overline{DP}_n$	$\overline{CL}$	$\overline{NC}$	$\overline{ECL}$	$\overline{ICL}$
IR ₃₆	5 400	21	260	15	5
IR ₄₂	5 800	22	260	15	6
玉米	8 200	22	370	15	6
小麦	4 800	19	250	13	5
菱	12 600	22	570	15	6
粟	11 000	22	500	14	7
西米 (LV)	11 800	22	540	15	6
(HV)	40 000	22	1 800	15	6
山药	6 100	24	220	16	7
马铃薯	9 800	24	410	15	8

2) 平均链长 ($\overline{CL}$) 和平均链数 ($\overline{NC}$)

平均链长度是指每个非还原末端基的链所具有的葡萄糖残基数, $\overline{CL}$ = 产物中总量 (葡萄糖当量) / 产物中的总还原力 (葡萄糖当量), 但 $\overline{CL}$ 不能表示出各个链的实际长度和平均值的差别。每个分子的平均链数 $\overline{NC}$ 可由 $\overline{DP}_n / \overline{CL}_n$ 计算。以 $\overline{ECL}$ 表示外链长, $\overline{ICL}$ 表示内链长, 平均链长和平均外链长、平均内链长间有如下关系: $\overline{CL} = \overline{ECL} + \overline{ICL} + 1$ 。支链淀粉的平均链长 $\overline{CL}_n$ 多为 18~26, 光散射法得到的重量平均链长 $\overline{CL}_w$ 是 $\overline{CL}_n$ 的 1.3~1.6 倍。多数支链淀粉分子的平均链数 $\overline{NC}$ 为 400~700, 印度型高直链淀粉稻米的支链淀粉 $\overline{NC}$ 是 220~260, 而糯米的链数却高达 1000。从链数上看支链淀粉和带分支的直链淀粉之间还是有明显区别的。

3) 单元链长和分布

最常用的支链淀粉结构分析方法是测定单元链的链长及其分布, 但这不是最全面的分析方法。平均链长可从下式获得:

$$\overline{CL} = G_{\text{tot}} / \overline{NC}$$

式中: G_{tot} ——葡萄糖残基的总数 (总碳水化合物含量);

$\overline{NC}$ ——样品的链数。

$\overline{NC}$ 与非还原端数量相等, 其值可通过改进的快速 Smith 法降解法获得。非还原性末端释放的甘油可通过酶法测定。如下所述, 样品首先用酶脱支, 然后采用 Nelson 试剂测定每个链的还原末端。采用改进的 Park-Johnson 试剂可使测定的精确度提高约 10 倍。

$\overline{CL}$ 也可通过 ^1H 和 ^{13}C 的核磁共振波谱测定。由于支链淀粉是大分子, $\overline{CL}$ 近似等于 α -1,4 与 α -1,6 糖苷键之比。在非还原末端的 H-1 质子发生化学位移, 与另一个 H-1 质子分离, 这增加了测定的精确性。运用核磁共振波谱测定, 不必在支链淀粉结构分析前对淀粉脱支处理, 该方法与酶法的测定结果相符。对单元链分布分析可获得比链长更多的信息, 前者也经常被称作链分布分析。

单元链分布可通过 GPC 或 HPSEC (高效分子排阻色谱) 来分析, 该办法适用于支链淀粉。无论任何来源的支链淀粉, 基本都含有主要的短链组分和少量的长链组分。然而, 大多数支链淀粉共有多模式分布, 这可通过 HPSEC 获得证实。表 1-4 给出了一些支链淀粉典型的 $\overline{CL}$ 值。

表 1-4 一些支链淀粉的链长和摩尔比

来 源	CL	ECL	ICL	S : L ^①	A : B ^②
蜡质玉米 1	18	12	6	NA ^③	1.3
蜡质玉米 2	23	15	8	8.1	1.1
蜡质玉米 3	22	14	6	11.5	1.0
玉米 1	22	14	7	NA	1.2
玉米 2	26	17	8	9.0	1.2
蜡质大米 1	20	12	6	NA	1.2
蜡质大米 2	18	12	5	NA	1.3
蜡质大米 3	17	11	5	10.5	0.8
大米	19	13	5	NA	1.2
豌豆 1	26	16	9	11.5	NA
豌豆 2	NA	NA	NA	7.3	1.4
马铃薯 1	28	17	9	4.4	NA
马铃薯 2	21	14	6	6.6	1.5
无直链淀粉马铃薯	24	15	8	NA	1.2

① 短链与长链的物质的量比；② 有 β , ϕ 或 ϕ , β -极限糊精脱支后的 A、B 链物质的量比；③ 未分析

样品在脱支前，将其还原端用荧光染料 2-氨基吡啶做标记，然后用 SEC 分析。C 链的分布可通过荧光检测表明，其 DP 为 10~130，在 DP 为 40 左右有一特征峰。对于一些支链淀粉的超长链，其本质仍不十分清楚。

带有脉冲电流检测器的高效阴离子交换色谱 (HPAEC-PAD)，已经大大提高单链间的分辨率，最高可区分 DP 为 50~70 的链段。

图 1-11 给出了两个单元链的示意图。蜡质玉米是典型的 A 型结晶结构，其短链与长链的摩尔比较高 (表 1-2)。无直链淀粉马铃薯中的支链淀粉表现为典型的 B 型结晶结构，短链与

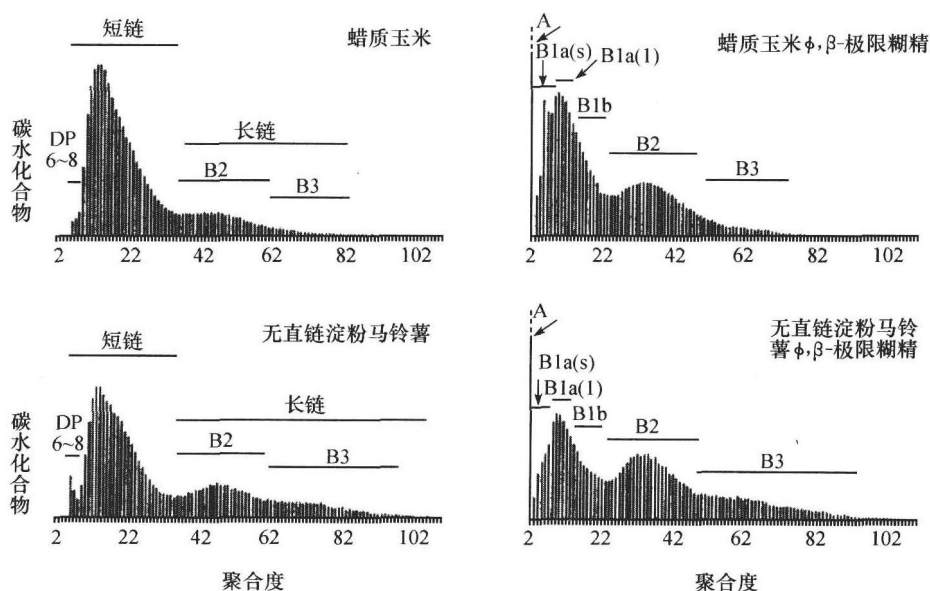


图 1-11 两种支链淀粉样品及其极限糊精单元链分布的 HPAEC-PDA 色谱图

DP>60 部分的条线图仅给出近似值，支链淀粉及其极限糊精不同链组分分别采用 Hizllk 和 Bertoft 命名法

长链的物质的量比较低。值得注意的是，两个单元链中的最短链的 DP 为 6，这是目前为止，所有支链淀粉都具有的特性（虽然可能存在极少的更短链）。DP 为 6~8 的最短链的分布模式是许多天然存在的 A 型或 B 型结晶结构所特有的。某些突变植株，如高直链玉米淀粉中的支链淀粉，具有 B 型结晶结构，这与普通玉米支链淀粉模式相似。具有 C 型结晶结构的淀粉，是 A 型和 B 型结晶结构的混合，其结构介于两者之间。

单元链分布可通过毛细管电泳或 DNA 自动测序仪进行分析，使用该方法时，脱支样品链的还原端用带负电荷的荧光 8-氨基-1,3,6-萘三磺酸标记，用荧光检测器检测，此方法的分辨率不低于 HPAEC 法，其结果直接表征单元链的摩尔分布，而不代表分子质量分布。

4) 外链长度和内链分布

虽然单元链长分布提供了关于链组成的总体情况，但若要详细了解支链淀粉的细致结构，则需知道分子内链的分布、组成位置、链的数量等信息。如果采用外切淀粉酶水解外链，留下来的极限糊精则包含原有的分支结构和内链残基，这可用于研究内链结构。

β -淀粉酶从淀粉分子的非还原端水解两个葡萄糖单位，产生麦芽糖。该酶不能越过分支点进行水解，这样留下具有抗酶解作用的 β -极限糊精，其上携带有具有一定特征链长的外链残基（图 1-12）。在透析膜内进行水解作用，可直接将麦芽糖从体系中去除；或将 β -极限糊精在甲醇或乙醇中沉淀。 β -极限值定义为在反应中形成的麦芽糖的相对数量。典型的支链淀粉的 β -极限值为 50%~65%。可按下式利用 β -极限值计算平均的外链长度（ECL）：

$$ECL = CL \times \beta\text{-极限值} / 100 + 2$$

式中，假定样品中有相同数量的 A 链和 B 链，以及相同数量的带有奇数和偶数残基的链，因此，在 β -极限糊精中，平均的外链残基长度是 2 个葡萄糖残基。

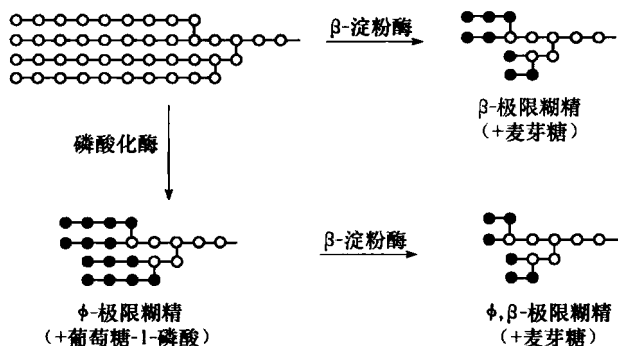


图 1-12 甜马铃薯 β -淀粉酶和兔肌磷酸化酶 α 对分支底物的作用模式
残留的 β -极限糊精外链残基模式， ϕ -极限糊精或 ϕ, β -极限糊精以实心圆表示

磷酸化酶 α 是从兔子肌肉中分离到的一种酶，其可从非还原端水解下葡萄糖-1-磷酸盐，一般水解后，距分支点平均 3.5 个葡萄糖残基。在此过程中，糖苷键的水解是通过磷酸解作用，而不是通过水解作用，在该反应体系中采用磷酸盐缓冲溶液。然而，该反应是可逆的，若想获得纯的 ϕ -极限糊精，反应完成后，磷酸盐与葡萄糖-1-磷酸盐的比率应在 10 以上。若该反应是在透析袋内进行的，则葡萄糖-1-磷酸盐的浓度应始终保持在较低的水平。因为，残留的外链残基相对较长，所以 ϕ -极限值相对于 β -极限值要低一些，ECL 值可通过下式获得：