钙离子协同酶解淀粉基薄膜的制备及其性能

吕杜[1]，关玉[1]，付少海[1,2]，储鑫[3]，林源杰[3]，张丽平[1*]

（1.江南大学纺织科学与工程学院，江苏无锡 214122）（2.山东省纤维及织品绿色低碳加工技术重点实验室，山东滨州 256600）（3.江苏新瑞贝生物科技股份有限公司，江苏无锡 214122）

摘要：为了改善木薯淀粉基薄膜断裂伸长率不足的缺点，采用钙离子协同普鲁兰酶对木薯淀粉进行酶解脱支，将脱支淀粉与原淀粉共混制膜，研究了脱支淀粉对淀粉薄膜机械性能和阻隔性能的影响，探究了钙离子协同普鲁兰酶解作用对木薯淀粉结构的影响。钙离子通过提高普鲁兰酶活的方式提高酶解淀粉效率，所得脱支淀粉表观直链淀粉含量达 73.21%，较无钙对照提高 30.71%。结构表征显示，脱支淀粉颗粒由球形变为片状，XRD 显示结晶度下降并出现 V 型峰，FT-IR 与 ^{1}H NMR 证实直链比例上升、分支度下降。添加脱支淀粉后，复合薄膜 XRD 显示 12~15° 宽峰减弱、28~32° 新峰增强，FT-IR 中羟基伸缩峰与水带峰减弱。性能测试显示，添加脱支淀粉后复合薄膜的断裂强度与原淀粉膜相近，为 33.16 MPa，断裂伸长率提升至 3.79%，较原淀粉膜提升 28.23%，水蒸气渗透率（2.76×10^{-12} g·m^{-1}·s^{-1}·Pa^{-1}）维持原有水平，水接触角从 63.1° 增加至 74.2°。综上，钙离子协同普鲁兰酶脱支能有效调控淀粉结构，在无需增塑剂条件下显著提升薄膜柔韧性并保持其强度和阻隔性能，为木薯淀粉基食品包装膜的脆性改良提供绿色高效途径。

关键词：木薯淀粉；普鲁兰酶；脱支淀粉；钙离子；表观直链淀粉含量

文章编号：1673-9078(2026)10-262-271 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.10.1053

Preparation and Characterization of Starch-based Film via Calcium Ion-assisted Enzymatic Hydrolysis

LYU Du[1], GUAN Yu[1], FU Shaohai[1,2], CHU Xin[3], LIN Yuanjie[3], ZHANG Liping[1*]

(1.School of Textile Science and Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China) (2.Shandong Key Laboratory of Green and Low Carbon Processing Technology for Fibers and Textiles, Binzhou 256600, China) (3.Jiangsu New Reba Technology, Co. Ltd., Wuxi 214122, China)

Abstract: To address the limitation of insufficient elongation at break in cassava starch-based films, calcium ion-assisted pullulanase was used to enzymatically debranch cassava starch. Debranched starch (DBS) was blended with native starch to prepare composite films, and the effects of DBS on the mechanical and barrier properties of the films were investigated, along with the structural changes induced by calcium ion-assisted enzymatic debranching with pullulanase. Calcium ions enhanced the pullulanase activity, thereby improving the efficiency of starch hydrolysis and yielding DBS with an apparent amylose content of 73.21%, which was 30.71% higher than that of the calcium-free control. Structural characterization revealed that DBS granules transformed from a spherical to a flaky morphology. X-ray diffraction (XRD) showed decreased crystallinity and the emergence of a V-type peak. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and proton nuclear magnetic resonance (^{1}H NMR) confirmed an increased amylose fraction and reduced branching degree. Incorporation of DBS into the films led to attenuation of the broad peak at 12~15° and enhancement of the new peak at 28~32° in XRD, while FT-IR exhibited weakened hydroxyl-stretching and water-band absorptions. Performance testing demonstrated that the composite films containing DBS maintained a tensile strength comparable to that of native starch films (33.16 MPa), while the elongation at break was significantly improved to 3.79%, representing a 28.23% increase. The water vapor

收稿日期：2025-07-28；修回日期：2025-09-30；接受日期：2025-10-10

基金项目：国家自然科学基金项目（22278185）

作者简介：吕杜（2001-），男，硕士研究生，研究方向：淀粉改性，E-mail：6233017074@stu.jiangnan.edu.cn

通讯作者：张丽平（1985-），女，博士，教授，研究方向：绿色染整加工，E-mail：zhanglp@jiangnan.edu.cn

permeability (2.76×10^{-12} g·m^{-1}·s^{-1}·Pa^{-1}) remained unchanged, whereas the water contact angle increased from 63.1° to 74.2°. In conclusion, calcium ion-assisted pullulanase debranching effectively modulated starch structure, markedly enhanced film flexibility without the need for plasticizers, while maintaining film strength and barrier properties, providing a green and efficient strategy for reducing the brittleness of cassava starch-based packaging films.

Key words: cassava starch; pullulanase; debranched starch; calcium ion; apparent amylose content

引文格式：

吕杜,关玉,付少海,等.钙离子协同酶解淀粉基薄膜的制备及其性能[J].现代食品科技,2026,42(10):262-271.

LYU Du, GUAN Yu, FU Shaohai, et al. Preparation and characterization of starch-based film via calcium ion-assisted enzymatic hydrolysis [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(10): 262-271.

淀粉具有优异的成膜性、结构可调控性以及环境友好等特征，是公认替代石油基塑料的重要材料之一[1]。然而，原生淀粉成膜存在断裂伸长率不高、脆性大等缺点，限制了其在食品包装、贴合性材料等领域的拓展，因此，开发高韧性淀粉成膜材料尤为重要。当前，提高淀粉成膜断裂伸长率的方法主要包括生物酶法改性、化学改性和物理掺杂等。化学改性（如阳离子化、酯化或醚化处理）能够在一定程度上改善淀粉的柔韧性，但往往伴随反应条件苛刻、环境负担较大以及力学强度下降等问题。例如，李伟等[2]采用三聚磷酸钠和己酸酐对酸解淀粉进行磷酸酯－己酸酯化处理，使淀粉膜断裂伸长率提高到 3.91%，但断裂强度从 32.8 MPa 下降至 28.1 MPa。物理共混增塑剂（如甘油、山梨糖醇、柠檬酸）虽能有效改善淀粉膜的柔韧性，但增塑剂易迁移且会削弱膜的阻隔性能，同时导致断裂强力下降[3,4]，不利于食品包装对强度和防潮性的要求。酶法脱支通过选择性断裂淀粉分子中的 α-1,6 糖苷键，使淀粉的长支链减少，线性片段比例增加，从而降低了位阻并增强了链段的协同缠结与滑移能力，薄膜的断裂伸长率因此提升[5]，实现在无需外加增塑剂的条件下改善淀粉膜性能，同时保持力学强度和环保优势。因此，本研究选择酶法脱支，并结合 Ca^{2+} 协同作用，系统探讨其对淀粉结构与性能的影响。

淀粉膜的性能与淀粉分子结构密切相关，淀粉由直链淀粉和支链淀粉组成，支链淀粉比例较高是导致淀粉膜韧性不足的关键原因，提高直链淀粉含量有助于提升淀粉膜的黏结性、硬度及整体力学性能[6]。以木薯淀粉（Cassava Starch, CS）为例，因其来源丰富、价格低廉且成膜性好，已被广泛应用于食品包装，但其支链含量较高，成膜延展性存在不足。针对这一问题，酶法脱支已成为提高直链淀粉含量的重要途径，其中普鲁兰酶能够特异性水解淀粉分子中的 α-1,6 糖苷键，去除支链结构。然而，普鲁兰酶的催化效率容易受到 pH 值、温度等环境条件的影响而下降。Bunzo 等[7]发现，钙离子（Ca^{2+}）可通过稳定普鲁兰酶活性中心构象、增强酶与底物的结合亲和力，显著提升酶的催化活性。

本研究以木薯淀粉（CS）为原料，提出一种 Ca^{2+} 协同普鲁兰酶高效脱支的新方法，用以制备高直链含量的脱支淀粉（Debranched Starch, DBS），并将其作为大分子增韧剂与原淀粉共混制膜。研究旨在无需添加外源增塑剂的条件下，通过调控淀粉分子链结构，显著提升薄膜柔韧性的同时保持其机械强度与阻隔性，为绿色食品包装材料的设计提供了新思路，也为开发新一代高性能、全生物降解食品包装材料提供了重要的理论基础和技术参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

普鲁兰酶（酶活力 2 000 U·mL^{-1}），沧州夏盛酶生物技术有限公司；木薯淀粉（表观直链淀粉含量 20%），江苏新瑞贝生物科技股份有限公司；普鲁兰标准糖（色谱纯），德国聚合物标准品公司；磷酸二氢钠（分析纯），上海麦克林生化科技有限公司；无水乙醇（分析纯），上海麦克林生化科技有限公司；直链淀粉标准品，上海阿拉丁试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

BZ2.5/TNIS 万能材料试验机，德国 Zwick 公司；UV-1800 紫外－可见分光光度计，日本岛津公司；Nicoletis10 傅里叶变换红外光谱仪，美国赛默飞世尔（中国）有限公司；Aduance Ⅲ全数字化核磁共振波谱仪，德国 Bruker 公司；W306 水蒸气透过率测试仪，济南赛成电子科技有限公司；D8-Advance X 射线衍射仪，德国 Bruker 公司；SU8600 冷场扫描电子显微镜，日本日立有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 钙离子协同普鲁兰酶脱支木薯淀粉的制备

首先将木薯淀粉（CS）分散于 0.1 mol·L^{-1} 磷酸盐缓冲液（pH 值为 4.6）中，配制质量分数为 6% 的悬浮液，经沸水浴加热搅拌 1 h 使其充分糊化，冷却后加入不同浓度的 $CaCl_2$ 溶液（0、1、2.5、5、7.5、10 mmol·L^{-1}），调节体系至目标 pH 值（3.0、4.0、5.0、6.0、7.0），加入一定量普鲁兰酶（1、3、5、8、10、12 U·g^{-1}），于不同温度（30、40、50、60、70 ℃）下反应特定时间（1、6、12、18、24、28 h）。所有实验均在 250 r·min^{-1} 恒定搅拌下进行，且除目标变量外其他参数保持恒定以排除干扰。反应结束后，将混合物沸水浴灭酶，高速离心并过滤去除酶渣，加入 3 倍体积无水乙醇搅拌沉降 30 min，经离心后收集沉淀，干燥、研磨、过筛制得脱支淀粉（DBS）粉末。通过比较较优 Ca^{2+} 浓度（2.5 mmol·L^{-1}）下各因素（温度、pH 值、酶用量、时间）对酶解效果的影响，评估 Ca^{2+} 在普鲁兰酶脱支淀粉中的调控机制。

1.3.2 木薯淀粉膜的制备

称取 DBS 和 CS 的混合粉末于三口烧瓶中，DBS 分别占混合粉末质量的 0%、1%、5%、10%、15%、20%，加入去离子水，制备质量分数为 6% 的水悬浮液，于沸水浴加热搅拌 1 h 使其充分糊化，制得淀粉浆液。将浆液自然冷却至 70 ℃，缓慢均匀地倒在聚四氟乙烯模具中，在恒温恒湿箱中（20 ℃，湿度为 65%）干燥成膜，将淀粉膜揭下，裁成特定大小的条状试样，留待测试。

1.3.3 脱支淀粉表观直链淀粉含量的测试

采用中国国家标准 GB/T 15683-2025《粮油检验 大米直链淀粉含量的测定》[8]，在 720 nm 处测定吸光值，以玉米直链淀粉标准品得到标准曲线，计算得到木薯淀粉的表观直链淀粉含量。

1.3.4 普鲁兰酶相对酶活的测试

采用 3,5-二硝基水杨酸（DNS）法测试普鲁兰酶相对酶活[9]。称取 2 g 普鲁兰糖，加入乙酸钠缓冲液（0.04 mol·L^{-1}，pH 值为 4.4），搅拌至完全溶解得到质量分数 2% 的普鲁兰糖溶液。调节体系至目标 pH 值（3.0、4.0、5.0、6.0、7.0），将稀释后的普鲁兰酶（50 μg·mL^{-1}）加入到普鲁兰糖溶液中，于不同温度（30、40、50、60、70 ℃）下反应。反应结束后，加入 3,5-二硝基水杨酸终止反应，于沸水浴中煮沸 10 min，室温冷却。在 540 nm 处测定吸光值，以葡萄糖标准溶液得到标准曲线，每分钟产生 1 μmol 还原糖定义为 1 个酶活单位，计算得到普鲁兰酶相对酶活。Ca^{2+} 对普鲁兰酶相对酶活影响的实验参考 Wangpaiboon 等的方法[10]进行。

1.3.5 脱支淀粉SEM测试

取干燥后的 DBS 粉末（过 100 目筛），均匀铺展于样品台的导电胶上，采用离子溅射仪进行喷金处理后，将样品置于冷场扫描电子显微镜样品室，调节加速电压为 5 kV，观察微观形貌并拍照。

1.3.6 脱支淀粉傅里叶红外光谱（FT-IR）和X射线衍射（XRD）测试

采用 KBr 压片法在傅里叶红外光谱仪上对淀粉进行红外光谱测试，扫描范围为 4 000~500 cm^{-1}，分辨率为 4 cm^{-1}，扫描次数为 64 次。淀粉晶体结构测试采用德国 Bruker 公司的 D8-Advance 型 X 射线衍射仪，测试条件为：2θ 角范围 3º~40º，扫描速度 2°·min^{-1}。利用软件 Jade 5.0 分析计算相对结晶度。

1.3.7 脱支淀粉核磁共振氢谱（^{1}H NMR）测试

取 10 mg 淀粉于核磁管中，加入 680 μL 氘代二甲基亚砜（d6-DMSO），在 80 ℃下溶解 12 h 后，加入 20 μL 质量浓度为 1.2 mg·mL^{-1} 的 3-(三甲基硅基)丙酸钠 -2,2,3,3-d4（TPS）氘水溶液，将其作为内标。在 BrukerAduance Ⅲ 400MHz 核磁共振波谱仪上进行核磁共振氢谱测试。淀粉的分支度（Degree of Branching, DB）指的是淀粉分子链中 α-1,6 糖苷键数量与 α-1,4 糖苷键和 α-1,6 糖苷键数量之和的比值，可由公式（1）[11]计算得到：

$$B=\frac{x_1}{x_1+x_2}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

B——淀粉的分支度（DB），%；

x_1——α-1,6 糖苷键的积分面积；

x_2——α-1,4 糖苷键的积分面积。

1.3.8 淀粉膜傅里叶红外光谱（FT-IR）和X射线衍射（XRD）测试

使用傅里叶红外光谱仪对淀粉膜进行红外光谱测试，扫描范围为 4 000~500 cm^{-1}，分辨率为 4 cm^{-1}，扫描次数为 64 次。淀粉膜晶体结构测试采用德国 Bruker 公司的 D8-Advance 型 X 射线衍射仪，测试条件为：2θ 角范围 3º~40º，扫描速度 2°·min^{-1}。

1.3.9 淀粉膜厚度和机械性能测试

使用千分尺在薄膜的五个随机位置测量厚度并计算平均值。在万能材料试验机上进行机械性能测试，测试条件为：裁剪 15 cm×3 cm 的淀粉膜（样品图片

见支撑材料 S1），夹距为 10 cm，夹具移动速度为 50 mm·min^{-1}。淀粉膜断裂强力和断裂伸长率由仪器自动记录，淀粉膜断裂强度由公式（2）计算得到：

$$Q=\frac{P}{D\times K} \quad (2)$$

式中：

Q——淀粉膜断裂强度，MPa；

P——淀粉膜平均断裂强力，N；

D——淀粉膜平均厚度，mm；

K——淀粉膜宽度，mm。

1.3.10 淀粉膜接触角的测试

将淀粉膜裁成 10 mm×50 mm 试样，将样品平整铺在接触角测试仪水平试验台上，旋转针管旋出体积为 5 μL 水滴，将液滴接触复合薄膜表面后立即升高针头，测量淀粉膜的水接触角。

1.3.11 淀粉膜透光率的测试

使用紫外－可见分光光度计在 600 nm 波长下测试薄膜的透明度。将薄膜切成条状（1 cm×4 cm），并直接放置在分光光度计测试池中。空气被用作参考。透明度表示为每个厚度单位的透射率单位。

1.3.12 淀粉膜水蒸气渗透率的测试

水蒸气透过率测试仪用于测试复合薄膜的阻水能力。

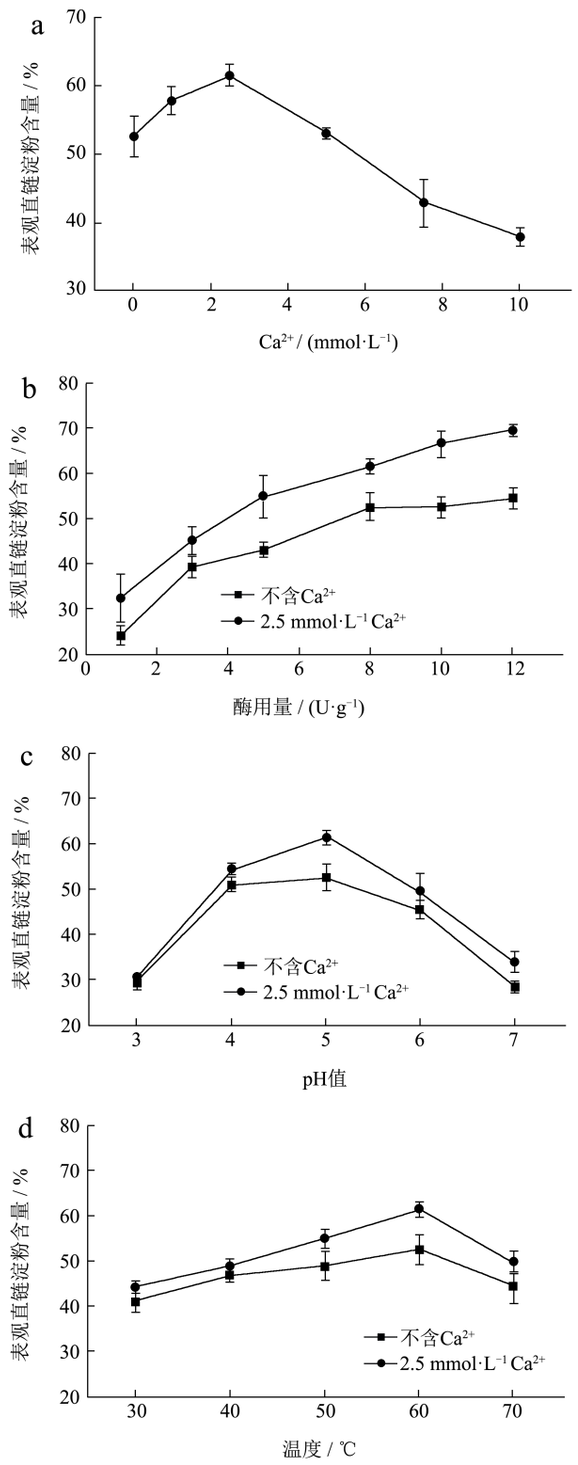
1.4 数据统计

每组试验重复进行 3 次，结果用“平均值 ± 标准偏差”表示，采用 IBM SPSS statistics、Origin 2025 软件对所有数据进行分析和绘制。

2 结果与讨论

2.1 普鲁兰酶解木薯淀粉影响因素

研究表明普鲁兰酶可以将淀粉支链切断，增加 DBS 表观直链淀粉含量，DBS 表观直链淀粉含量越高，表明普鲁兰酶解淀粉效率越高[12]。图 1a 表明 DBS 表观直链淀粉含量随着 Ca^{2+} 浓度的增加先升高后降低，在 Ca^{2+} 浓度为 2.5 mmol·L^{-1} 时，DBS 表观直链淀粉含量最高。由图 1b~1e 可知，在不同酶用量、pH 值和温度条件下，Ca^{2+} 都能提升 DBS 表观直链淀粉含量。这是因为 Ca^{2+} 能够影响普鲁兰酶的相对酶活，如图 1f 所示，当 Ca^{2+} 浓度为 2.5 mmol·L^{-1} 时，普鲁兰酶相对酶活提升 9.01%，进而提高酶解效率。而过高的 Ca^{2+} 浓度反而会导致酶构象过度刚性化，降低普鲁兰酶相对酶活[7,10]。如图 1g~1h 所示，在不同酶用量、pH 值和温度条件下，Ca^{2+} 都能提升相对酶活，进而提升普鲁兰酶解淀粉效率。DBS 较佳的制备条件是：在普鲁兰酶用量为 10 U·g^{-1}、Ca^{2+} 浓度为 2.5 mmol·L^{-1}、pH 值为 5.0、60 ℃、酶解时间为 28 h。在此条件下，DBS 表观直链淀粉含量达到 73.21%，较未添加 Ca^{2+} 的对照组最大值提高了 30.71%，较刘程玲等[13]制备的酶解红薯淀粉的直链淀粉含量（32.63%）提升显著，凸显了本研究中钙离子协同策略在提升脱支效率方面的优越性。



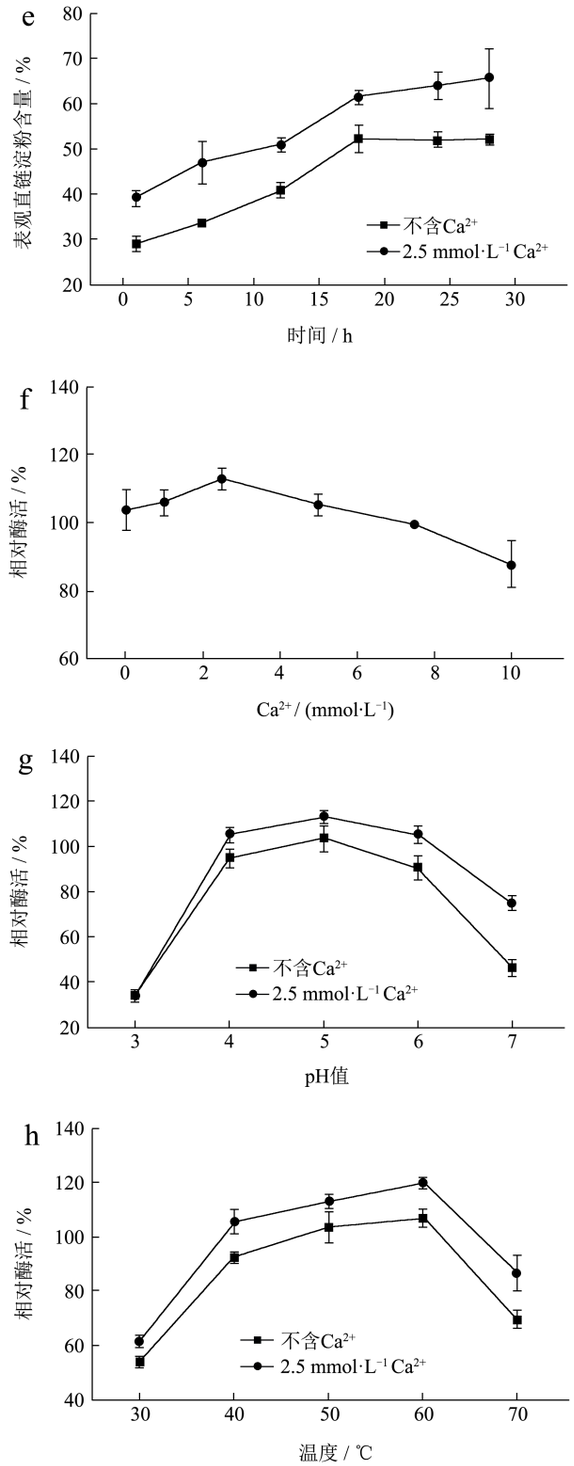


图 1 不同条件对 DBS 表观直链淀粉含量和普鲁兰酶相对酶活的影响

Fig.1 Effects of different conditions on apparent amylose content and relative pullulanase activity of DBS

注:(a) Ca^{2+} 浓度;(b) 酶用量;(c) pH 值;(d) 温度;(e) 时间;(f) Ca^{2+} 浓度;(g) pH 值;(h) 温度。

2.2 DBS的表征

2.2.1 结构形貌与晶体结构表征

图 2 为 CS 和 DBS 的 SEM 图。其中，表观直链淀粉含量为 30.77%、40.38%、50.97%、61.04% 和 73.21% 的 DBS，依次命名为 DBS30、DBS40、DBS50、DBS60、DBS70。由图可知，CS 颗粒呈现规则的球形结构且表面光滑，经酶解处理后，DBS 颗粒形态发生变化，呈现不规则片状结构。这是由于酶解过程对淀粉颗粒结构的破坏和重组。酶解过程包含三个关键阶段：糊化阶段，CS 颗粒膨胀破裂，晶体结构被破坏，淀粉分子从破裂的颗粒中扩散出来[14]；脱支阶段，普鲁兰酶特异性切断支链分子的 α-1,6 糖苷键，释放直链淀粉片段[15]；干燥阶段，水分蒸发，淀粉分子聚集形成新的颗粒结构。随着 DBS 表观直链淀粉含量的增加，其平均粒径逐渐减小。这是因为长直链与支链之间的相互作用增强，显著提升了分子链的有序性，其中，长直链在重组过程中起主导作用，有助于提高体系的有序性和稳定性[16]。因此，随着直链淀粉含量增加，分支结构减少，长直链分子增多并更易平行排列形成双螺旋结构，使颗粒结构趋于有序与致密，最终表现为 DBS 平均粒径减小。

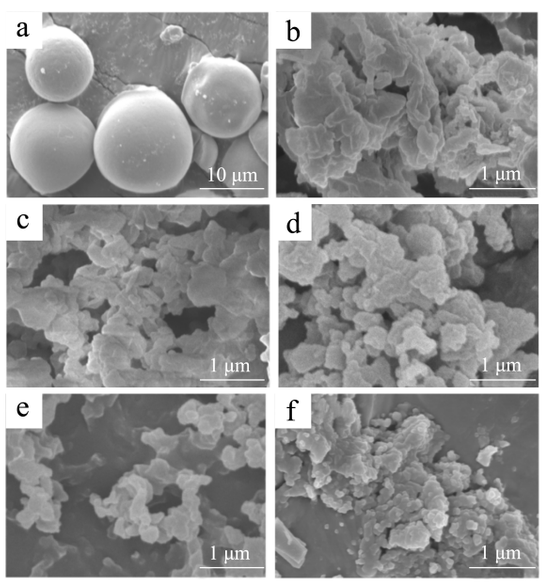


图 2 淀粉颗粒的 SEM 图

Fig.2 SEM image of starch granules

注:(a) CS;(b) DBS30;(c) DBS40;(d) DBS50;(e) DBS60;(f) DBS70。

图 3 为 CS 和 DBS 的 XRD 谱图。由图可知，CS 在 2θ 为 15°、17°、18° 和 23° 处显示出强烈的特征衍射峰，符合 A 型晶体结构的特征，与木薯淀粉的典型特征峰一致[17]。低直链 DBS（DBS30、DBS40、

DBS50）在 2θ 为 13°~20° 范围内呈现一个宽泛的弥散峰，结晶度较低。这种变化源于酶解过程中糊化处理对原有淀粉结晶结构的破坏，以及随后分子重组所引起的晶型转变[18]。随着表观直链淀粉含量的升高，DBS 的结晶度逐渐增加，高直链 DBS（DBS60、DBS70）在 2θ 为 13°~20° 处出现 V 型晶体结构的特征衍射峰[19]。这是因为，DBS 表观直链淀粉含量较高时，体系中线性长直链比例增加，这些直链分子在回生过程中更易形成双螺旋结构并趋向有序排列，使重结晶样品的 XRD 衍射峰更为尖锐，结晶性显著增强[20]。

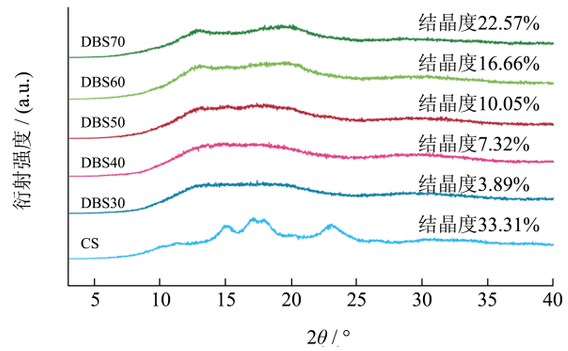


图 3 淀粉颗粒的 XRD 谱图

Fig.3 XRD pattern of starch granules

2.2.2 分子结构和化学组成分析

图 4 为 CS 和 DBS 的 FT-IR 谱图。由图可知，CS 和 DBS 特征峰的位置具有一致性，3 414 cm^{-1} 处的吸收峰为 O–H 的伸缩振动，这表明脱支前后的淀粉均存在较多的羟基[21]。脱支后，DBS 该位置的峰强度较 CS 有所增强。这主要归因于酶解过程中 α-1,6 糖苷键不断被水解，部分支链脱落并转化为线性直链片段，随着直链比例增加，羟基伸缩振动峰增强，说明直链片段中羟基暴露更充分[22]，从而使 DBS 在 3 414 cm^{-1} 处的伸缩峰强度高于 CS。

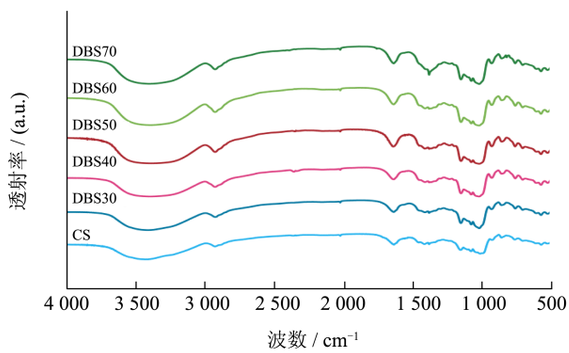


图 4 淀粉颗粒的 FT-IR 谱图

Fig.4 FT-IR spectrum of starch granules

图 5 为 CS 和 DBS 的 ^{1}H NMR 谱图。化学位移在 5.10 ppm 和 4.91 ppm 处的特征峰分别为淀粉分子链中 α-1,4 糖苷键和 α-1,6 糖苷键的氢质子特征峰[23]。由图可知，三种淀粉的分支度依次为：CS（8.61%）＞DBS30（2.71%）＞DBS70（1.35%），相较于 CS，DBS 分支度明显降低。这是因为，分支度很大程度上是由支链淀粉决定，而直链淀粉几乎不含分支点，呈线性结构[24]。经普鲁兰酶脱支处理后，随着 DBS 表观直链淀粉含量的增加，α-1,6 糖苷键逐渐减少、分支点数量显著下降，线性直链比例增加，从而导致分支度降低[11]。

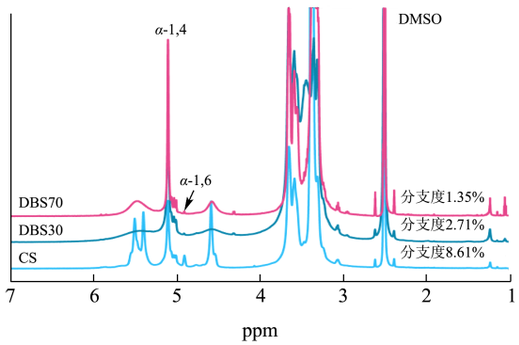


图 5 淀粉颗粒的 ^{1}H NMR 谱图

Fig.5 ^{1}H NMR spectrum of starch granules

2.3 淀粉膜结构表征

2.3.1 淀粉膜形貌分析

图 6 为添加不同含量 DBS50 后淀粉膜的 SEM 图。由图 6 可知，CS 膜表面呈现出连续、平整且光滑的均一结构。当 DBS50 的添加量较低（1%）时，薄膜表面基本保持了原有的平整度。然而，随着 DBS50 添加量进一步增加至 5%~20% 时，薄膜表面的平整度逐渐下降，出现了微观颗粒和不规则的凸起。这是因为，短直链片段在成膜回生过程中更易平行排列，迅速形成类晶体性结构，而支链分子平行排列困难，回生速率慢。这种结构差异在成膜过程中引起非均匀收缩，使薄膜三维网络结构松散并导致平整度降低[25]。

为了进一步探究 DBS 本身的分子结构对膜形貌的影响，将 DBS 的添加量固定在 5%，系统研究了不同表观直链淀粉含量的 DBS 对复合薄膜表面的影响，如图 7 所示。与图 6 中添加量增加导致表面不平整的现象不同，当添加的 DBS 直链度较低（DBS30）时，薄膜表面可观察到不规则颗粒或起伏；随着 DBS 表观直链淀粉含量的增加，复合薄膜的表面逐渐趋于平整和均一。这是因为，当脱支淀粉添加量较低时，薄膜形貌主要受长直链分子比例的影响，表观直链淀粉含量越高，长直链分子比例越高，这些长链在成膜过程中能与支链分子形成更加规整的网络结构[26]。在此作用下，回生过程中薄膜能够更均匀地承受由短直链造成的非均匀收缩，有效抑制局部应力集中引起的表面不平整现象，最

终形成表面更光滑、结构更致密的复合薄膜。

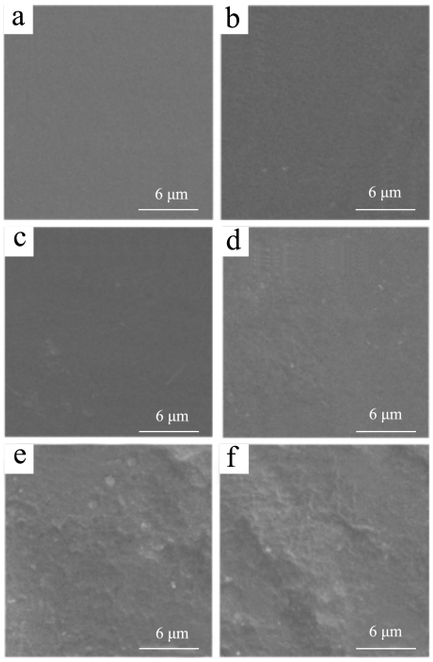


图 6 添加不同含量 DBS50 淀粉膜的 SEM 图

Fig.6 SEM images of starch films with different DBS50 loadings

注：（a）CS；（b）1% DSB50；（c）5% DSB50；（d）10% DSB50；（e）15% DSB50；（f）20% DSB50。

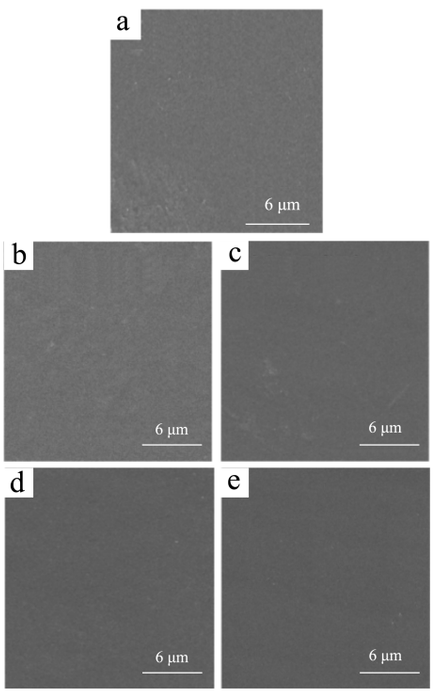


图 7 添加 5% 不同表观直链淀粉含量 DBS 淀粉膜的 SEM 图

Fig.7 SEM images of DBS starch film with 5% different apparent amylose content added

注：（a）5% DBS30；（b）5% DBS40；（c）5% DBS50；（d）5% DBS60；（e）5% DBS70。

2.3.2 淀粉膜的晶体结构与分子结构分析

图 8a 为不同添加量 DBS50 的薄膜 XRD 图谱；图 8b 为不同表观直链淀粉含量 DBS 的薄膜 XRD 图谱（DBS 添加量固定为 CS 质量的 5%）。由图 8a 可知，CS 膜在 2θ 为 12°~15° 处呈现主宽峰，原有的 A 型结晶结构消失。这是因为，糊化后 CS 原有的结晶结构被破坏，在成膜过程中淀粉分子重新有序排列，而 CS 中以高聚合度的支链分子为主，分子迁移阻力大，分子重排困难，最终呈现部分有序结构。添加 DBS50 后，在 2θ 为 28°~32° 处出现新的宽峰，并随添加量增加而峰强增强。这表明脱支产生的直链片段在成膜回生过程中发生了快速重新排列，并在局部形成一定程度的有序堆砌[20]。随着 DBS50 添加量的上升，原有的 2θ 为 12°~15° 处的主峰逐渐减弱。这表明 CS 基体原有的短程有序结构被部分破坏，从而导致复合薄膜的结构均一性降低。这一现象与 SEM 图中观察到的表面平整度下降趋势一致，同时解释了高添加量下薄膜力学性能下降的原因。

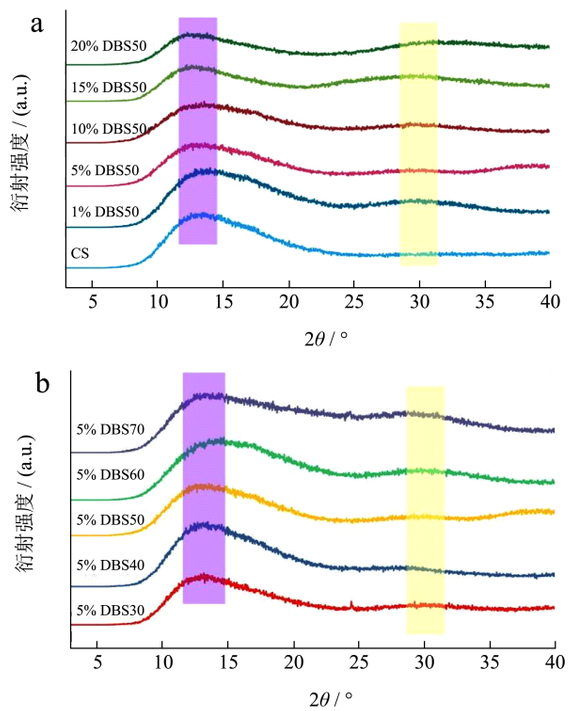


图 8 淀粉膜的 XRD 谱图

Fig.8 XRD patterns of starch films

注：（a）添加不同含量 DBS50 淀粉膜；（b）添加 5% 不同表观直链淀粉含量 DBS 淀粉膜。

由图 8b 可知，随着 DBS 表观直链淀粉含量增加，2θ 为 28°~32° 处的宽峰逐渐增强，而 2θ 为 12°~15° 处的主峰未出现明显衰减。这说明高直链度的 DBS 有助于在成膜回生过程中形成更为致密且分布均匀的局域堆砌结构，使直链片段排列更加规整、尺寸分布更集中，

从而避免相分离现象。同时，结晶峰的增强往往伴随淀粉膜力学性能的改善[27]，这类均匀分布的小尺度回生团簇可使淀粉分子链堆砌更加致密、排列更加有序，从而提升膜基体的结构完整性和刚性。

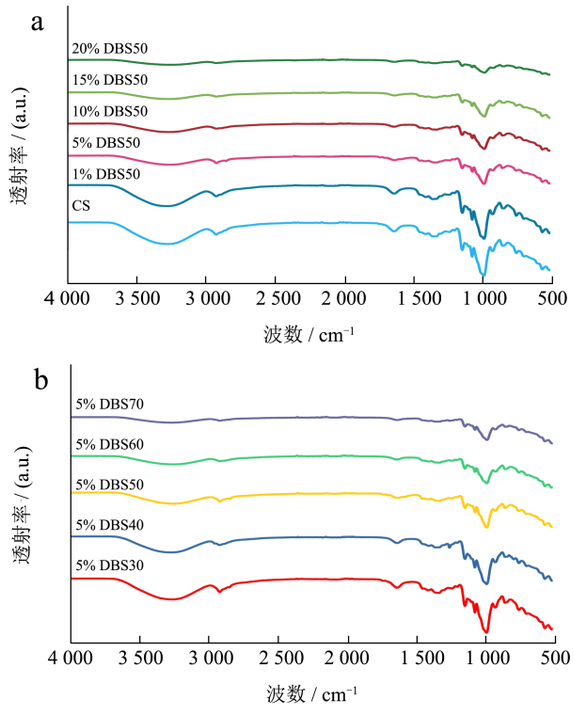


图 9 淀粉膜的 FT-IR 谱图

Fig.9 FT-IR spectrum of the starch film

注：（a）添加不同含量 DBS50 淀粉膜；（b）添加 5% 不同表观直链淀粉含量 DBS 淀粉膜。

图 9a 为不同添加量 DBS50 的薄膜 FT-IR 图谱；图 9b 为不同表观直链淀粉含量 DBS 的薄膜 FT-IR 图谱（DBS 添加量固定为 CS 质量的 5%）。所有薄膜在 3 300 cm^{-1} 附近均存在较宽的吸收带，对应 O–H 伸缩振动，是淀粉分子链间和链内氢键的特征峰；1 640 cm^{-1} 附近出现的吸收带为吸附水分子的 H–O–H 弯曲振动，其强度与淀粉膜含水率有关；1 200~900 cm^{-1} 为淀粉的指纹区，主要由 C–O–C 不对称伸缩和 C–O 伸缩振动构成。由图 9a 可知，随着 DBS50 添加量的增加，3 300 cm^{-1} 处 O–H 伸缩振动峰强度减弱并发生蓝移，同时，1 645 cm^{-1} 处的水带振动峰的强度降低。这表明脱支淀粉的加入影响分子间氢键的重新分布，薄膜中暴露的羟基数量减少，氢键作用力减弱，同时，淀粉膜的束缚水减少[25]。

由图 9b 可知，随着 DBS 表观直链淀粉含量的增加，3 300 cm^{-1} 处的 O–H 伸缩峰和 1 645 cm^{-1} 处的水带峰均减弱。这是因为，较高的长直链比例使薄膜结构更加致密[20]，减少了薄膜中暴露的氢键数量，水分子结合位点减少，这种致密且具有一定规整性的结构会抑制水分子的扩散通道，同时减少界面缺陷。这与水蒸气渗透率、接触角测试结果的变化趋势具有一致性。

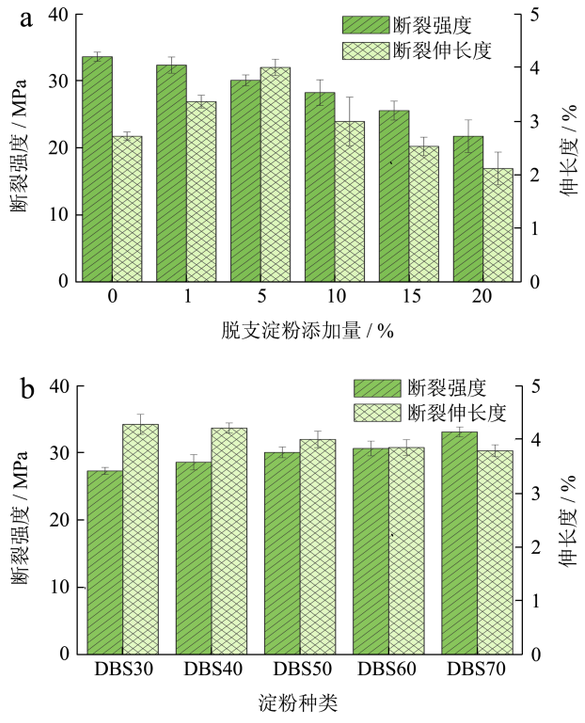


图 10 淀粉膜的断裂强度和断裂伸长率

Fig.10 Fracture strength and elongation at break of starch film

注：（a）添加不同含量 DBS50 淀粉膜；（b）添加 5% 不同表观直链淀粉含量 DBS 淀粉膜。

2.4 淀粉膜性能分析

2.4.1 淀粉膜的机械性能

图 10a 为淀粉膜断裂强度和断裂伸长率随 DBS50 添加量的变化；图 10b 为淀粉膜断裂强度和断裂伸长率随 DBS 表观直链淀粉含量的变化（DBS 添加量固定为 CS 质量的 5%）。由图 10a 可知，DBS 添加量小于等于 5% 时，随着添加量的增加，淀粉膜断裂伸长率升高，而断裂强度降低，添加量为 CS 质量的 5% 时，断裂伸长率为 4.01%。这是因为，CS 中支链含量高，分子间羟基通过氢键形成致密网络，限制了链段滑移，因此 CS 膜断裂强度较大而断裂伸长率较低。加入 DBS 后，糊化过程中低分子量直链穿插在 CS 支链分子之间，削弱了支链分子间原有的氢键作用力，使链段结合松弛并增加滑移，从而使淀粉膜断裂伸长率升高而断裂强度降低[28]。这与此前薄膜 FT-IR 测试结果相一致，即羟基伸缩振动峰强度减弱并伴随蓝移现象，表明氢键作用力有所减弱。当 DBS 添加量大于 5% 时，淀粉膜断裂强度和断裂伸长率均降低。这是因为，

此时薄膜出现明显缺陷，SEM 中观察到相分离现象，XRD 显示 2θ 为 12°~15° 的主宽峰强度明显下降，复合薄膜网络结构的连续性被破坏，从而导致断裂伸长率和断裂强度均降低。

由图 10b 可知，随着复合薄膜中 DBS 表观直链淀粉含量增加，复合薄膜断裂伸长率逐渐降低、断裂强度逐渐升高，在添加 5% 的 DBS70 时，复合薄膜的断裂强度与原淀粉膜接近，为 33.16 MPa，断裂伸长率提升至 3.79%，较原淀粉膜提升 28.23%。薄膜拉伸性能的变化往往源于基质结晶度的调整[29]，随着直链度提高，XRD 显示 2θ 为 28°~32° 范围内衍射峰逐渐增强，且 2θ 为 12°~15° 的主宽峰强度无明显变化。这表明随着 DBS 长直链比例增加，成膜过程中链段更易形成规整堆砌的高有序结构，膜内部结构趋于致密且有序性增强，从而使膜的断裂强度升高而伸长率下降。

2.4.2 淀粉膜的水接触角

图 11 为 CS 膜和复合薄膜（DBS 添加量固定为 CS 质量的 5%）的水接触角。由图 11 可知，添加较低直链度 DBS（DBS30、DBS40、DBS50）后复合薄膜的水接触角降低。这是因为，DBS 的引入改变了膜表面结构特征，在低直链条件下，薄膜表面不平整，水接触角降低。随着 DBS 表观直链淀粉含量的增加，复合薄膜的水接触角逐渐增大。此时 FT-IR 结果显示 3 300 cm^{-1} 处的 O–H 伸缩峰和 1 645 cm^{-1} 处的水带峰均减弱，表明薄膜暴露羟基和结合水减少，亲水性降低。同时，随着脱支程度加深，DBS 长直链比例增加，膜基质在成膜回生过程中更易规整排列，使表面趋于平整致密[30]。由于表面结构与润湿性能密切相关，表面更致密的复合薄膜往往表现出更高的水接触角[31]。这种性能提升有助于减少液态食品或环境湿气在包装表面的润湿与渗透，从而增强包装的防潮性能。

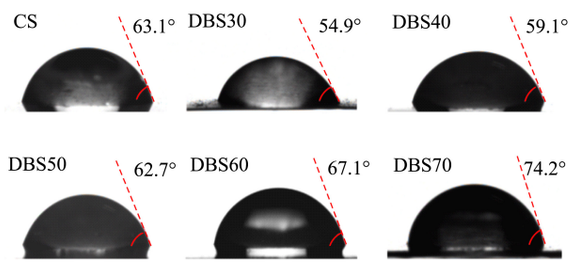


图 11 淀粉膜的水接触角

Fig.11 Water contact angle of starch film

2.4.3 淀粉膜的透光率和水蒸气渗透率

表 1 为复合薄膜透光率和水蒸气渗透率随 DBS 表观直链淀粉含量的变化（DBS 添加量固定为 CS 质量的 5%）。由表 1 可知，在厚度相近的条件下，与 CS 膜相比，添加 DBS 后复合薄膜的透光率降低，而水蒸气渗透率增加。这可能是由于，在低直链含量 DBS 加入后，其中低分子量直链片段可穿插到 CS 的支链分子之间，削弱分子链间氢键作用力，使原有紧密的链网结构被部分破坏。XRD 结果显示，此时膜的 2θ 为 12°~15° 主宽峰基本保持，2θ 为 28°~32° 处仅出现微弱宽峰，表明膜基体缺乏致密规整的堆砌结构。在这种松散结构中，链间自由体积增大，水分子在膜内的扩散路径缩短，导致水蒸气渗透率升高，同时更多界面缺陷也增加了光线散射，使透光率下降[32]。随着 DBS 表观直链淀粉含量增加，复合薄膜的透光率、水蒸气渗透率均降低。此时薄膜的 XRD 显示结晶峰增强，而结晶相界面会增加光的散射和吸收，使透光率进一步降低。同时，DBS 直链度提高使薄膜致密性增强，水分子扩散路径延长，从而使水蒸气渗透率逐渐降低。当添加 5% 的 DBS70 时，复合薄膜和 CS 膜的水蒸气渗透率基本接近，其中复合薄膜的水蒸气渗透率为 2.76×10^{-12} $g\cdot m^{-1}\cdot s^{-1}\cdot Pa^{-1}$。

表 1 淀粉膜的厚度、透光率和水蒸气渗透率

Table 1 Thickness, transmittance, and water vapor permeability of starch film

淀粉膜种类	厚度/mm	透光率/%	水蒸气渗透率/($\times10^{-12}$ $g\cdot m^{-1}\cdot s^{-1}\cdot Pa^{-1}$)
CS	0.21 ± 0.13^{c}	90.01 ± 1.03^{a}	2.75 ± 0.14^{d}
DBS30	0.21 ± 0.15^{b}	86.86 ± 1.72^{d}	3.30 ± 0.10^{a}
DBS40	0.21 ± 0.10^{d}	84.64 ± 0.39^{a}	3.13 ± 0.06^{b}
DBS50	0.22 ± 0.05^{e}	83.29 ± 0.41^{b}	2.94 ± 0.05^{c}
DBS60	0.21 ± 0.17^{a}	82.69 ± 0.59^{e}	2.87 ± 0.07^{c}
DBS70	0.20 ± 0.05^{e}	81.27 ± 0.54^{c}	2.76 ± 0.11^{a}

注：数值为平均值 ± 标准差。同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异（$P<0.05$）。

3 结论

通过钙离子协同普鲁兰酶解木薯淀粉制备脱支淀粉（DBS），并将其与原淀粉共混制备食品包装薄膜，系统探究了 Ca^{2+} 对酶解效率、淀粉结构及薄膜性能的影响。结果表明，Ca^{2+} 能够提高普鲁兰酶相对酶活，较优条件下提升 9.01%。在优化工艺条件下（Ca^{2+} 浓度 2.5 mmol·L^{-1}、酶用量 10 U·g^{-1}、pH 值为 5.0、60 ℃、酶解 28 h），DBS 表观直链淀粉含量达 73.21%，较无 Ca^{2+} 对照组提升 30.71%；分支度从 8.61% 降至 1.35%。SEM 显示，酶解过程使淀粉颗粒从规则球形转变为不规则片状，粒径减小；XRD 结果表明，低直链 DBS 结晶度较低，而高直链 DBS 出现 V 型特征峰；FT-IR 结果显示 3 414 cm^{-1} 处羟基振动峰增强，证实线性直链片段比例升高。

在薄膜性能方面，当添加 5% 表观直链淀粉含量为 73.21% 的 DBS 时，复合薄膜的断裂强度与原淀粉膜相近，为 33.16 MPa，断裂伸长率提升至 3.79%，较原淀粉膜提升 28.23%；此时水蒸气渗透率（2.76×10^{-12} $g\cdot m^{-1}\cdot s^{-1}\cdot Pa^{-1}$）保持 CS 膜原有水平；水接触角从 63.1° 增至 74.2°，表明薄膜表面疏水性增强。性能的变化与 XRD 显示的 2θ 为 28°~32° 的衍射峰增强及 FT-IR 中水带峰减弱所反映的膜结构致密化趋势一致，说明通过分子结构调控可在提升柔韧性的同时保持力学强度和阻隔性能。

综上，Ca^{2+} 协同普鲁兰酶脱支不仅有效调控了淀粉分子结构，而且在不依赖增塑剂的条件下实现了薄膜柔韧性的提升，同时保持了强度和阻隔性能，为改善淀粉基包装材料的脆性缺陷提供了绿色高效的技术途径，在可降解食品包装领域具有应用潜力。

参考文献

[1] 彭颖,管兰春,冯瑞雪,等.可食用淀粉膜的制备及改性研究[J].塑料科技,2025,5:87-90.

[2] 李伟,张正桥,吴兰娟,等.磷酸酯-己酸酯化淀粉的制备及其浆膜性能[J].纺织学报,2020,41(10):81-86.

[3] 卢淦,宋佳奇,聂羽慧,等.PBAT/玉米淀粉增塑改性及可降解性能研究[J].合成材料老化与应用,2022,51(2):36-38.

[4] 张康,金栋梁,胡丁元,等.琥珀酸钠/二甘醇对淀粉的协同增塑作用[J].塑料工业,2023,51(10):153-159.

[5] TANG J, ZOU F X, GUO L, et al. The relationship between linear chain length distributions of amylopectin and the functional properties of the debranched starch-based films [J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 279: 119012.

[6] 凌建娣.直链淀粉含量对淀粉胶和淀粉/PVA薄膜性能影响的研究[D].广州:广州大学,2023.

[7] BUNZO M, HIROYUK I, DOMINGGUS M, et al. Crystal structure of pullulanase: evidence for parallel binding of oligosaccharides in the active site [J]. Journal of Molecular Biology, 2006, 359(3): 690-707.

[8] GB/T 15683-2025,粮油检验 大米直链淀粉含量的测定[S].

[9] KAHAR U M, SALLEH M M, GOH K M, et al. Medium optimization for pullulanase production from Anoxybacillus species using experimental design [J]. Indian Journal of Biotechnology, 2014, 13(1): 89-97.

[10] KARAN W, THANAPON C, METHUS K, et al. Cassava pullulanase and its synergistic debranching action with isoamylase 3 in starch catabolism [J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1114215.

[11] XIE H F, DUAN Q F, HU G H, et al. Encapsulation of fatty acids using linear dextrin from waxy potato starch: effect of debranching time and degree of unsaturation [J]. Gels, 2025, 11(2): 91.

[12] 陈彩雯,田佳宁,于坤正,等.电场处理对普鲁兰酶水解糯米淀粉的影响[J].食品与机械,2022,38(7):1-6,67.

[13] 刘程玲,胡煜莹,王力翾,等.普鲁兰酶酶解处理红薯淀粉及其性质研究[J].中国粮油学报,2018,2:6-11.

[14] 周永元.纺织浆料学[M].北京:中国纺织出版社,2004.

[15] DILARA A B, ZAHRA B, ARIF U, et al. Isolation, characterization, and cloning of thermostable pullulanase from Geobacillus stearothermophilus ADM-11 [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2024, 31(2): 103901.

[16] 章海风,陈岩松,徐若瑗,等.湿热处理前后中国菰米淀粉结构、理化和消化特性的变化[J].现代食品科技,2024,40(10):50-59.

[17] SUREEPORN B, SAUANTA T. Structural transformation of crystallized debranched cassava starch during dual hydrothermal treatment in relation to enzyme digestibility [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 191(1): 1-7.

[18] 孙建光,孙晓艳,林顺顺.酶脱支对玉米淀粉结构及性能的影响分析[J].中国食物与营养,2025,(3):66-70.

[19] LI S N, WANG Z H, PAN Y J, et al. Effects of amylose and amylopectin molecular structures on the emulsification performance of starch nanoparticles [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 308(4): 142717.

[20] LIAN X J, CHENG K L, WANG D L, et al. Analysis of crystals of retrograded starch with sharp X-ray diffraction peaks were obtained by blending sweet potato amylose and amylopectin with narrow distribution of molecular weight [J]. International Journal of Food Properties, 2018, 20(sup3): 1-13

[21] GUSTAVO R G, EETTER G J, JAQUELINE C J, et al. Peculiarities of bio-oil and biochar obtained from the lignin-rich residue of the enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse [J]. Renewable Energy, 2025, 241: 122282.

[22] SAHAR R, HODA J M, AFSHIN J, et al. Enzymatically and chemically starch nanoparticles preparation using ultrasonication, precipitation and lyophilization post-treatments: screening and characterization [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 277: 134506.

[23] CHEN J P, XIAO J J, WANG Z Y, et al. Effects of reaction condition on glycosidic linkage structure, physical-chemical properties and *in vitro* digestibility of pyrodextrins prepared from native waxy maize starch [J]. Food Chemistry, 2020, 320: 126491.

[24] HUANG K J, SU Y B, HUANG H T, et al. Effect of hydrocolloids on the pasting and retrogradation of starch with different amylose/amylopectin ratios [J]. Food Biophysics, 2025, 20(1): 35.

[25] LIU C Z, JIANG S S, ZHANG S L, et al. Characterization of edible corn starch nanocomposite films: The effect of self-assembled starch nanoparticles [J]. Starch-strake, 2016, 68(3): 239-248.

[26] YANG X Y, GUO S Y, CUI Y J, et al. Effect of different modified potato starch on starch-based films containing ZIF-67@thymol [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 303: 140731.

[27] ZHANG L Y, ZHAO J, LI F, et al. Effects of amylose and amylopectin fine structure on the thermal, mechanical and hydrophobic properties of starch films [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 282: 137018.

[28] 陈雪华,徐欣东,王清,等.木薯淀粉基膜材料的研究进展[J].食品科学,2021,42(9):254-263.

[29] NATTINEE B, PHANWIPA W, KHWANCHAT P, et al. Morphology and permeability of bio-based poly(butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT), poly(butylene succinate) (PBS) and linear low-density polyethylene (LLDPE) blend films control shelf-life of packaged bread [J]. Food Control, 2022, 132: 108541.

[30] 宋嘉文.高温高压环境下水在固体表面接触角的温度和压力依赖性研究[D].杭州:浙江大学,2022.

[31] 唐诗,赵晶晶,苏婷婷,等.不同直链含量热塑性淀粉的制备及性能研究[J].中国塑料,2021,35(6):7-12.

[32] LIN Q Z, JI N, LI M, et al. Fabrication of debranched starch nanoparticles via reverse emulsification for improvement of functional properties of corn starch films [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 104: 105760.