

## 參、材料與方法

### 一、實驗材料

#### 1. 多醣樣品

本實驗之兩種多醣樣品（毛木耳萃取多醣（以下簡稱毛耳多醣或 AP））以及銀耳萃取多醣（以下簡稱銀耳多醣或 TF）是以專利熱水萃取法所得（專利申請中），由行政院農委會農業試驗所鳳山熱帶園藝試驗分所經營利用系所提供。

#### 2. 雙糖及藥品

本實驗之雙糖及藥品來源如下：

海藻糖由 Hayashibala Shoji Inc ( Japan ) 生產，振芳公司提供。

麥芽糖、蔗糖以及刺槐豆膠購自 Sigma Chemical Co ( USA )。氯化鈉 ( sodium chloride )、氯化鉀 ( potassium chloride ) 和氯化鎂 ( magnesium chloride ) 購自 Sigma Chemical Co ( USA )。

#### 3. 米澱粉

本實驗使用之三種米澱粉樣品（台中在來 1 號 ( Taichung Native 1 ; TCN1 )、台農 67 號 ( Tainung 67 ; TNU67 ) 以及台中秈糯 1 號 ( Taichung Sen Waxy 1 ; TCSW1 )）由中央研究院化學研究所呂政義老師研究室提供，此三種米澱粉的成份分析整理於表二。

## 二、實驗方法

### 1. 木耳萃取多醣分子量測定

將約 30mg 樣品溶於約 10ml 0.1M NaNO<sub>3</sub> 溶液中，在 80°C 下加熱 30 分鐘，經 0.45μm 濾膜過濾後，注入 100μl 至高效能分子篩層析儀 ( High Performance size exclusion chromatography , HPSEC ) 以測定樣品之多醣分子量 ( 賴等, 1999 )。使用之 pump ( P580, Gynkotec, USA ) 含線上除氣 ( degas ) 裝置，沖提液為 0.1M NaNO<sub>3</sub> 溶液，流速為 0.6ml/min，管柱為 TosohTSK PW<sub>XL</sub> guard column 及 TSK GMPW<sub>XL</sub> column ( 7.8×300mm )，烘箱及偵測器溫度皆為 40°C，配合折射率計 ( RefractiveIndex , RI ) ( Model250, Viscotek )，以不同分子量 (  $1.2 \times 10^4$ 、 $3 \times 10^4$ 、 $8 \times 10^4$ 、 $1.5 \times 10^5$ 、 $5 \times 10^5$ 、 $1.2 \times 10^6$  及  $4.5 \times 10^6$  Dalton ) 的聚三葡萄糖 ( pullulan ) 為標準品，計算樣品的平均分子量，每一樣品做三重覆。

### 2. 極稀釋溶液之固有黏度 ( intrinsic viscosity ) 測定

以毛細管黏度計 ( Ubbelohde capillary viscometer , Type No. 53110, capillary No. I ) 配合自動毛細管黏度測定儀 ( Gerate AVS 400, Schott ) 於 25±0.1°C 下測定 ( Richardson *et al.*, 1998 )。首先，先配製 0.2 % ( w/v ) 多醣溶液 100 mL，以 250 rpm 攪拌 80°C 加熱 30 分鐘，迅速置於常溫水中冷卻後，再以溶劑 ( 水、糖水或含鹽溶液 )

連續稀釋成 0.18 %、0.16 %、0.14 %、0.12 %、0.1 %、0.09 %、0.08 %、0.07 %、0.06 %、0.05 %、0.04 %、0.03 %、0.02 % 及 0.01 % (w/v) 溶液，注入毛細管，記錄溶液流經固定距離所需之時間。再以所記錄之秒數根據 Huggins equation 及 Kramer equation 兩公式 ( $\lim_{C \rightarrow 0} \eta_{sp}/c = [\eta] + k'[\eta]^2 C$  及  $\lim_{C \rightarrow 0} \ln \eta_{sp}/c = [\eta] + k''[\eta]^2 C$ ) 求得到 固有黏度  $[\eta]$ 。

### 3. 半稀釋 (semi-dilute) 溶液之黏度性質測定

將多醣樣品分別配製成 0.2 %、0.3 %、0.4 %、0.5 %、0.6 %、0.7 %、0.8 %、1.0 %、2.0 % 及 3.0 % (w/v) 溶液，迅速置於常溫水中冷卻後，取 2 ml 溶液注入動態流變儀 (Carri-Med CSL 100 Rheometer; TA Instruments LTD., Surrey, England) 之 double concentric cylinder (直徑 4.5cm) 中，進行 flow mode 之黏度測定；shear rate 範圍設定為 0.6 ~ 1000 (1/s)，所得到之黏度數據再以 TA 公司所附的電腦軟體之 Cross model (式 1.3) 做線性迴歸外推得到  $\eta_0$  (zero shear rate viscosity)。

### 4. 動態流變性質分析測定

動態流變儀可以低振幅剪力 (Small Amplitude Oscillatory Shear; SAOS) 的條件，在不阻礙膠體之形成或破壞膠體結構的狀態下，分析系統之流變行為，儲存模數 (storage modulus;  $G'$ ) 代表施力於樣品使其變形時，貯存於樣品內部之能量，可表示樣品之彈性性質，耗

損模數 (loss modulus;  $G''$ ) 代表樣品變形時損耗之能量，可表示樣品之黏性性質 (陳, 1995)。

採用動態流變儀 (Carri-Med CSL 100 Rheometer, TA Instruments LTD., Surrey, England)，測定樣品在升溫-儲存過程中儲存模數及耗損模數的變化情形。以動態流變儀及 cone and plate geometry (直徑 6cm, degree 2)，進行 oscillatory shear mode 的黏彈性質測定，包括儲存模數、耗損模數和耗損正切 ( $\tan \delta$ )。分別進行以下實驗：

(1) 將木耳類萃取多醣配製成 1%、2% 及 3% (w/v) 水溶液；

(2) 利用 100mM、50mM、25mM 和 10mM 之含 NaCl、KCl 與  $MgCl_2$  之水溶液為溶劑，配製成 3% (w/v) 之木耳多醣溶液；

(3) 分別以麥芽糖、蔗糖及海藻糖配製成 40% (w/w) 之雙糖溶液，以此溶液為溶劑，配製 3% (w/v) 之木耳多醣溶液；

將上述溶液在 80°C 下加熱 30 分鐘並以 250 rpm 速率攪拌，迅速置於常溫水中冷卻 15 分鐘後，以動態流變儀及 cone and plate geometry (直徑 6cm, degree 2)，進行 oscillatory shear mode 的黏彈性質測定；溫度設定為 20°C、30°C、40°C、50°C 及 60°C，儀器設定在同一溫度下維持 1 hr，並同時進行頻率掃描，掃描範圍為 0.1 ~ 100 Hz，觀察  $G'$  及  $G''$  隨頻率之變化。測量間隙 (gap) 及形變量 (strain

%) 設定為 1 mm 及 3 %。

## 5. pH 值對多醣黏彈性質之影響

以 1 M NaOH 以及 1 M HCl 調整過 pH 值的去離子水，其 pH 值分別為 4、5、6、7、8、9 和 10 作為溶劑，並分別配製成 1 % (w/v) 之木耳多醣溶液，在 80°C 下加熱 30 分鐘並以 250 rpm 速率攪拌，迅速置於常溫水中冷卻，配置成多醣溶液後之 pH 值列於表三。取 2 ml 溶液注入動態流變儀之 double concentric cylinder (直徑 4.5 cm) 中，進行 oscillatory shear mode 的黏彈性質測定，G' 值愈高代表彈性性質愈高，而 G'' 值愈高代表黏性性質愈高，掃描範圍為 0.1~100 Hz，觀察 G' 及 G'' 隨頻率之變化。測量間隙 (gap) 及形變量 (strain %) 設定為 1 mm 及 3%。測定頻率設為 1 Hz。

## 6. 多醣溶液之形變活化能測定

本實驗形變活化能測定是以濃度 3 % (w/v) 之多醣溶液來進行實驗；以動態流變儀及 cone and plate geometry (直徑 6cm, degree 2)，進行 oscillatory shear mode 之黏彈性質測定，包含儲存模數、耗損模數及複合黏度 ( $\eta^*$ )，其中再以 G' 經時間-溫度重合 (time-temperature superposition) 處理軟體產生 master curve (Braudo *et al.*, 1984)，參考溫度為 60°C、採橫座標頻率項之修正因子 ( $a_T$ ) 以及利用 Arrhenius [ $\ln a_T = (E_a/2.303 \cdot R)(1/T - 1/T_0)$ ] 公式求形變活

化能 ( $E_a$ )。形變活化能愈高代表使多醣結構內彈性鏈段受力產生位移所需之能量增加，其中  $a_T$  = shift factor， $E_a$  = 形變活化能

(J/mole)， $R$  = 氣體常數 (Joules/mole K)， $T_0$  = 參考溫度 (K)， $T$  = 實際溫度 (K)。

## 7. 連續糊化黏度分析測定

採用快速黏度分析儀 (Rapid Visco Analyzer ; RVA) (Newport Scientific Instruments Narrabeen, N. S. W., Australia) 測定樣品於預設之加熱-冷卻過程中黏度的變化情形。將木耳萃取多醣配成 1%、2% 及 3% 水溶液，在 80°C 下加熱 30 分鐘並以 250 rpm 速率攪拌，迅速置於常溫水中冷卻備用；秤取適量的澱粉，加入蒸餾水及已冷卻的木耳多醣溶液，使之成 0.5%、1% 及 1.5% (w/w) 多醣-8% (w/w) 澱粉之混合系統懸浮液，所得之混合系統中澱粉比水的重量百分率在無添加多醣之控制組為 8.7%，在添加 1.5% 木耳類萃取多醣之系統為 8.8%，並以刺槐豆膠作為對照組。儀器設定為 35°C 下快速攪拌 (960 rpm) 10 秒，而後穩定攪拌速率 160 rpm 進行黏度測驗，樣品以 6°C/min 自 35°C 加熱至 95°C，在 95°C 維持 4 分鐘，然後以 6°C/min 冷卻至 35°C，再於 35°C 維持 5 分鐘 (蔡，1997)，觀察其黏度變化的情形。圖四是典型的快速黏度分析曲線圖，糊化起始溫度 (pasting temperature;  $T_0$ ) 代表糊化過程中第一階段膨潤 (the first

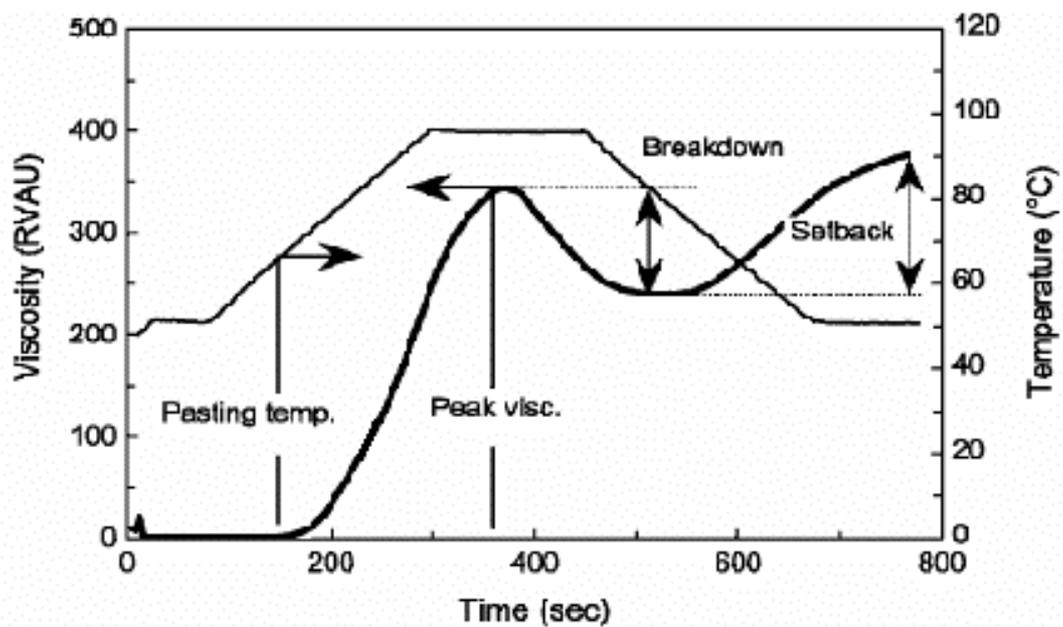
stage of swelling) 的程度；尖峰黏度 (peak viscosity ;  $T_p$ ) 代表完全糊化之黏度；崩解黏度 (breakdown ; P-H) 與澱粉顆粒破損的程度有關；回升黏度 (setback ; F-H) 則與可溶性澱粉滲出的量有關 (Christianson, 1982) 。

表二、台中在來 1 號、台農 67 號與台中私糯 1 號米澱粉之成分分析（許，2004）。

Sample	Lipid ( % )	Amylose content ( % )	Water( % )
TCN1	0.81±0.11	29.33±0.45	14.98±0.25
TNu67	0.67±0.06	12.65±0.20	10.49±0.13
TCSW1	0.42±0.08	1.31±0.14	11.42±0.19

表三、兩種多醣配置溶液前後之pH值變化

原始 pH 值	4.13±0.09	5.18±0.12	6.03±0.02	7.10±0.07	8.09±0.21	9.02±0.16	10.15±0.13
加入毛耳多 醣後之 pH 值	6.11±0.07	5.43±0.11	6.41±0.15	6.44±0.09	6.53±0.10	6.43±0.13	6.50±0.11
加入銀耳多 醣後之 pH 值	8.48±0.22	8.23±0.06	8.01±0.08	8.09±0.11	7.92±0.14	8.12±0.08	8.13±0.13



圖七、快速黏度分析曲線示意圖。粗線：黏度；細線：溫度。

Fig. 7. Representative RVA ( Rapid Visco Analyzer ) curve. Bold: viscosity in RVA unit; Solid: temperature.

( Takahiro *et al.*, 2004 )