

# 古代淀粉鉴别的新方法—耐热性 $\alpha$ 淀粉酶降解法\*

陶大卫<sup>①②③</sup> 吴妍<sup>①②</sup> Karen Hardy<sup>④</sup>

(①中国科学院研究生院科技史与科技考古系,北京 100049; ②中国科学院古脊椎动物与古人类研究所人类演化实验室,北京 100044; ③法国国家科研中心里昂 Archéorient 实验室,里昂 69001; ④西班牙巴塞罗那自治大学史前考古系,巴塞罗那 08193)

**摘要** 目前古代淀粉粒鉴别的两种方法,即显微镜观察法和碘着色测试法,均不能确保鉴别的准确性。针对耐热性  $\alpha$ -淀粉酶只对淀粉产生降解的特点,设计出古代淀粉粒鉴别的“耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解法”,并运用到考古样品中淀粉粒的分析和鉴定之中。本文详细介绍了耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解法的原理和流程,并通过古代淀粉粒的鉴别实验,确定了该方法在确切鉴别考古样品中淀粉粒的实用性和有效性;同时现代大麦和莲藕淀粉粒的降解实验结果表明不同植物来源以及同种植物内部不同粒径的淀粉粒其降解速率存在明显差异,而古代淀粉粒在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶作用下出现的降解速率差异的现象,或可揭示古代淀粉粒的植物来源,甚至长期埋藏对其产生的影响。

**关键词** 淀粉粒 降解 耐热性  $\alpha$ -淀粉酶

**中图分类号** K87,Q94 **文献标识码** A

## 1 引言

淀粉是葡萄糖分子聚合而成的长链化合物,以淀粉粒的形式存在于植物的贮藏组织,如种子、根茎以及块茎中。不同植物的淀粉粒在形态、类型、大小、层纹、脐点位置以及偏光下的形态等方面各具特征,依据这些特征常可判定其植物来源<sup>[1-8]</sup>。近些年来,古代淀粉粒研究逐渐成为一种重要的微体化石分析手段,在石器功能、植物利用和栽培、古代人类食物结构以及食物加工方式等研究领域都已取得众多的成果<sup>[9-17]</sup>。

目前,鉴别提取于考古样品的物质是否为淀粉粒主要有两种方法,即碘着色测试法和显微镜观察法。前者主要是依据碘元素能与淀粉中的直链淀粉和支链淀粉产生反应,呈现出特定的颜色,这种检测淀粉是否存在的方法在早期石器残留物研究方面有较多应用<sup>[18,19]</sup>;后者主要是依据淀粉粒的特殊结构使其在正交偏光下能够呈现出消光十字(即马耳他十字, Maltese cross)特征。但是这两种方法都具有一定程度的缺陷,并不能确保鉴别的准确性。事实上,碘不仅能对淀粉着色,同样也能对其他一些有机物着色<sup>[20]</sup>;而偏光下的消光十字特征并非唯淀粉粒具有,其他一些生物沉积物,如粪球粒(faecal

spherulites)、纤维素(cellulose)、孢子(spores)等在偏光下也具有这种消光特征<sup>[21,22]</sup>。不仅如此,有关学者还明确指出,显微镜下观察考古样品时,很可能将无性孢子误判为淀粉粒<sup>[23]</sup>。

$\alpha$ -淀粉酶是一种只对淀粉产生降解作用的酶,其可破坏中支链淀粉和直链淀粉中的  $\alpha$ -1,4 糖苷键,使淀粉水解。一般说来,动植物、微生物中均能产生  $\alpha$ -淀粉酶,但是目前使用的  $\alpha$ -淀粉酶主要缘自真菌和细菌。耐热性  $\alpha$ -淀粉酶通常产生于喜温生物中,1973 年, Madsen 等<sup>[24]</sup>从地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)中分离出耐热性  $\alpha$ -淀粉酶,该酶能在 100℃ 以上液化淀粉,实现了耐热性  $\alpha$ -淀粉酶研究的突破。现今发现,杆菌属(*Bacillus* sp.),特别是枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*),嗜热芽孢杆菌(*B. stearothermophilus*)以及地衣芽孢杆菌等均能产生耐热性  $\alpha$ -淀粉酶,而地衣芽孢杆菌产生的  $\alpha$ -淀粉酶,其耐热性极佳,因而被广泛应用于淀粉工业等方面<sup>[25]</sup>。

20 世纪 80 年代, Batey 等<sup>[26]</sup>为了测定谷物产品的淀粉含量,借鉴葡萄糖工业生产中利用耐热性  $\alpha$ -淀粉酶促进淀粉液化的方法,最先将缘自地衣芽孢杆菌的耐热性  $\alpha$ -淀粉酶应用到现代淀粉分析中。其具体步骤为,将耐热性  $\alpha$ -淀粉酶加到淀粉中,再

第一作者简介:陶大卫 男 28 岁 博士研究生 科技考古学专业 E-mail:han0071@gmail.com

\* 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(批准号:KZCX2-YW-Q1-04)和国家自然科学基金项目(批准号:41002057)共同资助  
2011-10-27 收稿,2011-12-29 收修改稿

通讯作者: Karen Hardy E-mail:karhardy@gmail.com

加热使升至糊化温度,这时, $\alpha$ -淀粉酶即可降解淀粉。之后,这种方法不断被改进并广泛应用于现代淀粉的分析中<sup>[27]</sup>。基于这一具体情况,Hardy 等<sup>[11]</sup>提出利用耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解法来准确鉴别考古样品中提取出的物质是否为淀粉粒。

本文拟通过现代淀粉粒样品和古代淀粉粒样品的耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解实验对比,进一步阐释耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解法在古代淀粉粒分析中的潜在意义,旨在加强和完善古代淀粉粒分析和研究工作。

## 2 研究材料和方法

本文选择大麦和莲藕两种现代植物的淀粉,利用耐热性  $\alpha$ -淀粉酶对其进行了降解实验,初步了解淀粉粒在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶作用下的降解反应;接着,对来自英国约克郡的部分古代牙结石样品中提取出来的物质进行降解实验,以判定其是否为淀粉粒。这里使用的耐热性  $\alpha$ -淀粉酶来源于地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)。

现代淀粉样品的具体降解步骤为(表 1):首先将适量大麦和莲藕淀粉分别与酒精混合制成溶液,再用移液器吸出微量大麦和莲藕淀粉样品置于钢圈内,待酒精挥发以后再用移液器向钢圈内滴入微量  $\alpha$ -淀粉酶溶液,并使之保持在 40℃ 恒温下加热。显微镜下观察显示,直接加热 30 分钟后,二者的降解速率存在明显差异,因此,决定对二者分别进行降解实验:即分别加热大麦和莲藕淀粉,使之皆保持 40℃ 恒温,于 10 分钟、20 分钟和 30 分钟时,依次观察大麦淀粉的降解状况;而于 60 分钟、120 分钟以及 15 小时后,依次观察莲藕淀粉的降解状况。

而从考古样品提取淀粉粒时,其数量通常十分有限,为此,需要对古代淀粉粒的制样方法进行适当的改进。之前,Hardy 等<sup>[11]</sup>采用的制备古代样品的

具体步骤为:先将考古样品中提取的物质用甘油制片,并用高真空油脂封片,再用移液器将微量  $\alpha$ -淀粉酶溶液,透过高真空油脂注入载片中,而将这些疑似淀粉粒的物质置于恒温状态下加热,使之降解。

实践表明, $\alpha$ -淀粉酶溶液注入载片的过程中,由于甘油的存在,将导致淀粉粒的流动,加之加热过程中淀粉粒也要流动,致使每次加热以后,都必须重新寻找淀粉粒的新位置,显然,对于显微镜观察而言是十分不便的。为此,这里设计了一种更为简便的方法:1)将微量酒精滴入装有古样品的离心管中,并轻微搅动混合;2)将一个直径 1.5cm 左右的不锈钢圈,用加拿大树脂直接固定在盖片上;而后再用移液器吸出微量样品放入钢圈内,待酒精挥发以后再用移液器向钢圈内滴入微量  $\alpha$ -淀粉酶溶液,最后保持恒温加热,使之降解;3)每加热一次,需立刻进行显微观察以及拍照,由此获得整个降解过程中淀粉粒降解的序列变化。

该方法将古代样品直接限制在一个钢圈以内,缩小了观察面积,相比于前面的方法明显提高了观察效率。同时需要指出的是,每次加热过程,其持续不能过长,一般为 2~3 分钟,旨在防止载片中的物质因加热时间过长而消失殆尽。

## 3 研究结果

在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶作用下,两种现代植物淀粉粒均产生了明显的降解反应(图 1)。对大麦淀粉控制在 40℃ 恒温加热 10 分钟以后,业已发现部分淀粉粒开始降解,而且这种降解是从中心部位开始,但此时大部分开始降解的淀粉粒仍保持其外部轮廓(图 1a 和 1b),继续加热 10 分钟以后,降解反应进一步加剧,大部分淀粉粒进一步降解以致分解成碎片(图 1c),说明大麦淀粉直接加热降解 30 分钟后

表 1 现代大麦和莲藕淀粉样品的耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解实验步骤

Table 1 Procedures of degradation of starch granules from modern barley and lotus root with the thermostable alpha-amylase

现代淀粉 粒样品	步骤一	步骤二
大麦 淀粉	将适量大麦淀粉和酒精混合制成溶液;将一个直径 1.5cm 左右的不锈钢圈,用加拿大树脂直接固定在盖片上;再用移液器吸出微量大麦淀粉样品置于钢圈内,待酒精挥发以后再用移液器向钢圈内滴入微量 $\alpha$ -淀粉酶溶液;在 40℃ 恒温下直接加热 30 分钟后观察大麦淀粉的降解状况	用移液器吸出微量大麦淀粉样品置于钢圈内,待酒精挥发以后再用移液器向钢圈内滴入微量 $\alpha$ -淀粉酶溶液;在 40℃ 恒温下加热,于 10 分钟、20 分钟和 30 分钟时,依次观察大麦淀粉的降解状况
莲藕 淀粉	将适量莲藕淀粉和酒精混合制成溶液;将一个直径 1.5cm 左右的不锈钢圈,用加拿大树脂直接固定在盖片上;再用移液器吸出微量莲藕淀粉样品置于钢圈内,待酒精挥发以后再用移液器向钢圈内滴入微量 $\alpha$ -淀粉酶溶液;而后在 40℃ 恒温下直接加热 30 分钟后观察莲藕淀粉的降解状况	用移液器吸出微量莲藕淀粉样品置于钢圈内,待酒精挥发以后再用移液器向钢圈内滴入微量 $\alpha$ -淀粉酶溶液;在 40℃ 恒温下加热,于 60 分钟、120 分钟以及 15 小时后,依次观察莲藕淀粉的降解状况

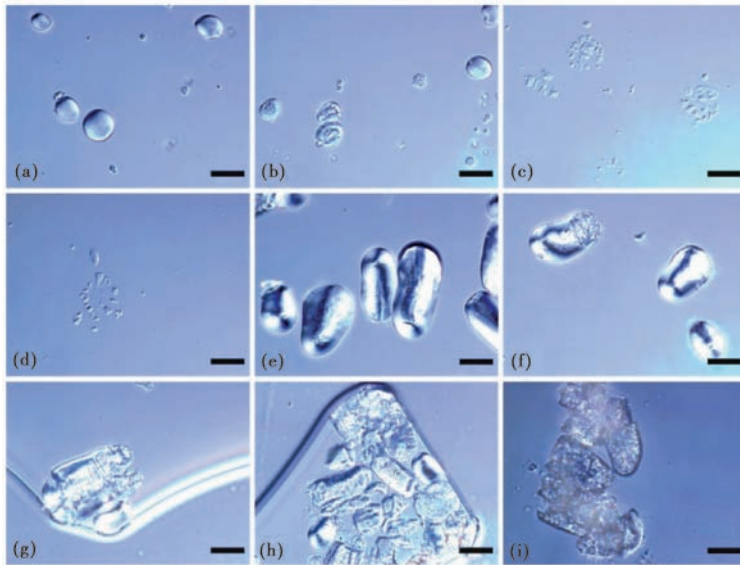


图 1 现代大麦和莲藕淀粉粒在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解下的持续变化(标尺:  $20\mu\text{m}$ )

(a)刚加入耐热性  $\alpha$ -淀粉酶溶液时的大麦淀粉粒 (b)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 10 分钟后的大麦淀粉粒,图 1b 中最左侧的淀粉粒显示正在开始降解,中间部位出现浅坑,边缘完整;中间的两颗已经降解到一定程度 (c)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 20 分钟后的大麦淀粉粒 (d)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 30 分钟后的大麦淀粉粒 (e)刚加入耐热性  $\alpha$ -淀粉酶溶液时的莲藕淀粉粒 (f)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 30 分钟后的莲藕淀粉粒 (g)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 60 分钟后的莲藕淀粉粒 (h)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 120 分钟后的莲藕淀粉粒 (i)恒温  $40^\circ\text{C}$  加热 15 小时后的莲藕淀粉粒

Fig. 1 Degradation of starch granules from modern barley and lotus root with the thermostable  $\alpha$ -amylase(scale bar:  $20\mu\text{m}$ )

出现的情况(图 1d),实际上始于加热 20 分钟时。在对莲藕淀粉继续加热 30 分钟以后,淀粉颗粒出现破裂现象(图 1e和 1f),但同时仍有一定量的未降解的淀粉粒存在(图 1g),在加热到 120 分钟的时候,大部分淀粉粒进一步降解,部分开始分解,但此时仍有不少完整的淀粉粒存在(图 1h),然而加热至 15

小时后,便不见完整的淀粉颗粒,说明淀粉粒均已被降解(图 1i)。

古代人牙结石样品中提取出的一些疑似淀粉粒物质,在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶的作用下,均出现了一定程度的降解反应(图 2),从而表明这些物质确实为淀粉粒。

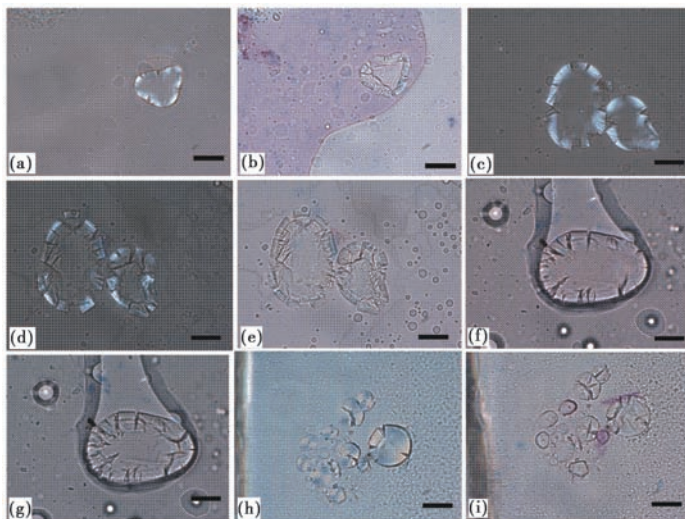


图 2 牙结石中提取出的物质在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解后的反应(标尺:  $20\mu\text{m}$ )

(a)和(b)为同一淀粉粒,其中,(a)提取的淀粉粒在正交偏光下的状态,(b)降解以后在透射光下的状态;(c)提取出的两颗淀粉粒在正交偏光下的状态;(d)为(c)中两颗淀粉粒降解后在偏光下的状态;(e)为(c)中两颗淀粉粒降解后在透射光下的状态;(f)和(g)为同一颗淀粉粒,其中,(f)提取的淀粉粒在透射光下的状态,(g)降解以后在透射光下的状态;(h)提取出的淀粉粒在透射光下的状态;(i)为(h)中的淀粉粒降解后在透射光下的状态

Fig. 2 Degradation of materials extracted from ancient dental calculus with the thermostable  $\alpha$ -amylase(scale bar:  $20\mu\text{m}$ )

## 4 讨论和结论

实验结果表明,大麦和莲藕淀粉粒在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶作用下均反应明显。但需要指出的有两点:其一,二者直接加热 30 分钟后,显微镜观察显示它们在降解速率以及反应方面存在明显差异(图 1d 和 1f),从而表明不同植物种属的淀粉粒受  $\alpha$ -淀粉酶降解的速率及反应的确存在显著区别;其二,尽管大麦淀粉和莲藕淀粉控制在 40℃ 恒温加热一定时间以后,大部分都降解了,但是仍有部分淀粉颗粒保存完好,而且这些淀粉粒都是各自淀粉粒组合中较小的,这表明同种植物内部不同大小的淀粉粒,其降解速率应该存在一定的差异。

在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶作用下,牙结石中的淀粉粒也出现了降解反应。但如图 2i 所示,尽管较大的淀粉粒已被降解并出现一定程度的破裂,但较小淀粉粒仍然保持着颇为完好的形态,这与上述现代淀粉粒样品的降解实验结果基本吻合。它在一定程度上反映了古代埋藏环境中,粒径对淀粉粒保存效果的影响,对古代淀粉粒的埋藏学而言,不失为有价值的信息。与此同时,模拟实验还发现,不同种类的淀粉粒在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶的作用下,其降解速率显著不同。虽然目前尚不能明确解释这一现象,不过,若能排除埋藏环境对淀粉粒降解速率的影响,则可推测植物的不同种属为影响淀粉粒降解速率的根本原因,否则,这种淀粉粒降解速率的明显差异,只能解释为二者综合作用的结果,即植物种属和埋藏环境的综合影响。

古代淀粉粒的降解实验结果表明,相较于传统的淀粉粒鉴别方法,耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解法虽比较耗时,但却能够准确有效地鉴别出考古样品中提取出的物质是否为淀粉粒,而且有可能提供古代淀粉粒植物来源和埋藏方面的信息。需要注意的是,耐热性  $\alpha$ -淀粉酶会对淀粉粒产生明显的破坏,因此在利用耐热性  $\alpha$ -淀粉酶对提取出来的疑似淀粉粒物质进行降解鉴别之前,要对这些物质进行仔细的形态观察、测量并拍照,在此基础上再对这些物质进行降解判别!

本文较为详细地介绍了耐热性  $\alpha$ -淀粉酶降解法在古代淀粉粒研究中的应用,为明确鉴定考古样品提取出来的物质是否为淀粉粒提供了可靠且可信的方法。而古代淀粉粒在耐热性  $\alpha$ -淀粉酶作用下,其降解速率存在明显的差异,深入探究这一现象,或许可获得古代淀粉粒的植物来源,甚至可揭示长期埋藏对淀粉粒变化的影响。

## 参考文献 (References)

- Reichert E T. The Differentiation and Specificity of Starches in Relation to Genera, Species, etc. Washington D. C.: Carnegie Institute of Washington, 1913. 302 ~ 312
- Torrence R, Wright R, Conway R. Identification of starch granules using image analysis and multivariate techniques. *Journal of Archaeological Science*, 2004, **31**(5): 519 ~ 532
- Wilson J, Hardy K, Allen R *et al.* Automated classification of starch granules using supervised pattern recognition of morphological properties. *Journal of Archaeological Science*, 2010, **31**(3): 594 ~ 604
- 杨晓燕,吕厚远,刘东生等. 粟、黍和狗尾草的淀粉粒形态比较及其在植物考古研究中的潜在意义. 第四纪研究, 2005, **25**(2): 224 ~ 227  
Yang Xiaoyan, Lü Houyuan, Liu Tungsheng *et al.* Micromorphology characteristics of starch grains from *Setaria italica*, *Panicum miliaceum* and *S. viridis* and its signification for archaeology. *Quaternary Sciences*, 2005, **25**(2): 224 ~ 227
- 杨晓燕,孔昭宸,刘长江等. 中国北方主要坚果类淀粉粒形态对比. 第四纪研究, 2009, **29**(1): 153 ~ 158  
Yang Xiaoyan, Kong Zhaochen, Liu Changjiang *et al.* Characteristics of starch grains from main nuts in North China. *Quaternary Sciences*, 2009, **29**(1): 153 ~ 158
- 杨晓燕,孔昭宸,刘长江等. 中国北方现代粟、黍及其野生近缘种的淀粉粒形态数据分析. 第四纪研究, 2010, **30**(2): 364 ~ 371  
Yang Xiaoyan, Kong Zhaochen, Liu Changjiang *et al.* Morphological characteristics of starch grains of millets and their wild relatives in North China. *Quaternary Sciences*, 2010, **30**(2): 364 ~ 371
- 葛威,刘莉,金正耀. 几种禾本科植物淀粉粒形态比较及其考古学意义. 第四纪研究, 2010, **30**(2): 377 ~ 384  
Ge Wei, Liu Li, Jin Zhengyao. Morphological analyses on starch granules of five grass species and their significance for archaeology. *Quaternary Sciences*, 2010, **30**(2): 377 ~ 384
- 万智巍,杨晓燕,葛全胜等. 中国南方现代块根块茎类植物淀粉粒形态分析. 第四纪研究, 2011, **31**(4): 736 ~ 745  
Wan Zhiwei, Yang Xiaoyan, Ge Quansheng *et al.* Morphological characteristics of starch grains of root and tuber plants in South China. *Quaternary Sciences*, 2011, **31**(4): 736 ~ 745
- 杨晓燕,郁金城,吕厚远等. 北京平谷上宅遗址磨盘磨棒功能分析: 来自植物淀粉粒的证据. 中国科学(D 辑), 2009, **39**(9): 1266 ~ 1273  
Yang Xiaoyan, Yu Jincheng, Lü Houyuan *et al.* Starch grain analysis reveals function of grinding stone tools at Shangzhai Site, Beijing. *Science in China (Series D)*, 2009, **52**(8): 1164 ~ 1171
- Pearsall D M, Chandler-Ezell K, Zeidler J A. Maize in ancient Ecuador: Results of residue analysis of stone tools from the Real Alto Site. *Journal of Archaeological Science*, 2004, **31**(4): 423 ~ 442
- Hardy K, Blakeney T, Copeland L *et al.* Starch granules, dental calculus and new perspectives on ancient diet. *Journal of Archaeological Science*, 2009, **36**(2): 248 ~ 255
- Perry L, Sandweiss D H, Piperno D R. Early maize agriculture and interzonal interaction in southern Peru. *Nature*, 2006, **440**: 76 ~ 79
- Fullagar R, Field J, Denham T *et al.* Early and Mid Holocene tool-use and processing of taro (*Colocasia esculenta*), yam (*Dioscorea* sp.) and other plants at Kuk Swamp in the highlands of Papua New Guinea. *Journal of Archaeological Science*, 2006, **33**(5): 595 ~ 614
- Gong Yiwen, Yang Yimin, Ferguson D K *et al.* Investigation of ancient noodles, cakes, and millet at the Subeixi Site, Xinjiang,

- China. *Journal of Archaeological Science*, 2011, **38**(2):470~479
- 15 李明启,葛全胜,王 强等. 青海卡约文化丰台遗址灰坑中古代淀粉粒揭示的农业概况. 第四纪研究, 2010, **30**(2):372~376  
Li Mingqi, Ge Quansheng, Wang Qiang *et al.* Ancient starch grains from ash pits of Fengtai site, Qinghai Province and their application in archaeology. *Quaternary Sciences*, 2010, **30**(2):372~376
- 16 张永辉,翁 屹,姚 凌等. 裴李岗遗址出土石磨盘表面淀粉粒的鉴定与分析. 第四纪研究, 2011, **31**(5):891~899  
Zhang Yonghui, Weng Yi, Yao Ling *et al.* Identification and analysis of starch granules on the surface of the slabs from Peiligang Site. *Quaternary Sciences*, 2011, **31**(5):891~899
- 17 Tao Dawei, Wu Yan, Guo Zhizhong *et al.* Starch grain analysis for groundstone tools from Neolithic Baiyinchanghan Site: Implications for their function in North East China. *Journal of Archaeological Science*, 2011, **38**(12):3577~3583
- 18 Loy T H, Spriggs M, Wickler S. Direct evidence for human use of plants 28000 years ago: Starch residues on stone artefacts from the northern Solomon Islands. *Antiquity*, 1992, **66**(253):898~912
- 19 Briuer F L. New clues to stone tool function: Plant and Animal residues. *American Antiquity*, 1976, **41**:478~484
- 20 Torrence R. Description, classification and identification. In: Torrence R, Barton H eds. Ancient Starch Research. Walnut Creek, CA: Left Coast Press, 2006. 120~122
- 21 Loy T H. Optical properties of potential look-alikes. In: Torrence R, Barton H eds. Ancient Starch Research. Walnut Creek, CA: Left Coast Press, 2006. 123~124
- 22 Canti M G. The micromorphological identification of faecal spherulites from archaeological and modern materials. *Journal of Archaeological Science*, 1998, **25**(5):435~444
- 23 Haslam M. Potential misidentification of in situ archaeological tool-residues: Starch and conidia. *Journal of Archaeological Science*, 2006, **33**(1):114~121
- 24 Madsen G B, Norman B E, Slott S. A new, heat stable bacterial amylase and its use in high temperature liquefaction. *Starch/Stärke*, 1973, **25**(9):304~308
- 25 Sivaramakrishnan S, Gangadharan D, Nampoothiri K M *et al.*  $\alpha$ -Amylases from microbial sources—An overview on recent developments. *Food Technology and Biotechnology*, 2006, **44**(2):173~184
- 26 Batey I L. Starch analysis using thermostable alpha-amylases. *Starch/Stärke*, 1982, **34**(4):125~128
- 27 McCleary B V, Gibson T S, Mugford D C. Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase— $\alpha$ -amylase method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 1997, **80**(3):571~579

## NEW METHOD FOR IDENTIFICATION OF ANCIENT STARCH WITH THERMOSTABLE ALPHA-AMYLASE

Tao Dawei<sup>①②③</sup> Wu Yan<sup>①②</sup> Karen Hardy<sup>④</sup>

(<sup>①</sup>Department of Scientific History and Archaeometry, Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049;

<sup>②</sup>Laboratory of Human Evolution, Institute of Vertebrate Paleontology and Paleoanthropology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100044;

<sup>③</sup>Archéorient, CNRS, Lyon 69001; <sup>④</sup>Departament de Prehistoria, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona 08193)

### Abstract

Starch granules are identified by the stains and the extinction cross (Maltose cross), which can be seen under the polarized light to date. However, both methods have their defects and ancient starch cannot be identified accurately this way. Considering the thermostable alpha-amylase, which is specifically to degrade starch, it is an effective method to identify ancient starch with this enzyme.

Two kinds of modern starches from barley and lotus root were chosen for degradation with the thermostable alpha-amylase. They were both degraded and the rates of degradation of two samples were different. The result may show that the rates of degradation from different plants should be different. Meantime, although most of starch granules from barley and lotus root were degraded completely after twenty minutes and one hundred and twenty minutes heating respectively, there survived some smaller granules from each sample. This phenomenon indicates that the size of starch granule may affect the rate of degradation.

Based on the degradation of modern starch, ancient suspicious starch from dental calculus were also degraded with the alpha-amylase to test whether this method is effective. These materials were degraded and the result shows that they were definitely starch granules. It should be noted that there were also some smaller starch granules which were not degraded completely after heating. This result is consistent with the modern starch samples and indicates that the size of starch granule may have some effects on its preservation.

Modern and ancient starch degradation experiments show that degradation of ancient starch with the thermostable alpha-amylase is an effective method to identify them. Furthermore, this method may also provide some information on diagenesis and plant origins of ancient starch.

**Key words** starch granule, degradation, thermostable alpha-amylase