

## 利用 $^{13}\text{C}$ CP/MAS 测定葛根淀粉晶体结构

方玲玲, 杜先锋

(安徽农业大学茶与食品科技学院, 合肥 230036)

**摘要:** 对淀粉颗粒粒度分布、热力学性质、微观结构、淀粉晶型以及双螺旋含量和相对结晶度的测定等表征葛根淀粉的物理性质和物理化学性质进行系统性探究, 并以马铃薯淀粉作为对照。结果表明, 葛根淀粉颗粒粒度大小的分布模式呈双峰型; 起始糊化温度为  $64.32\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 糊化焓为  $1.77\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ 。通过固体核磁可以测定葛根淀粉的晶体结构含淀粉的晶型, 双螺旋含量和相对结晶度, 其中, 通过对 NMR 图谱中化学位移在  $94\sim 110\text{ nm}$  处的  $\text{C}_1$  区进行分峰, 产生了 2 个副峰表明了葛根淀粉为 Cb 型晶体, 同时利用 X 晶体衍射 (X-ray diffraction, XRD) 对葛根淀粉颗粒进行, 衍射角在  $5.7^{\circ}$ 、 $15.3^{\circ}$ 、 $17.2^{\circ}$  和  $17.5^{\circ}$  时出现明显尖峰, 证明葛根淀粉晶型为 C 型。 $^{13}\text{C}$  CP/MAS 固体核磁和 XRD 对葛根淀粉相对结晶度含量的测定结果分别为  $28.7\%$  和  $19.18\%$ , 且通过  $^{13}\text{C}$  CP/MAS 得到葛根淀粉双螺旋含量为  $41.21\%$ 。

**关键词:** 葛根淀粉; 无定形葛根淀粉;  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR; XRD; CLSM; 晶体结构

中图分类号: TS201.23

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)05-0749-07

## Use of $^{13}\text{C}$ CP/MAS in studying crystal structure properties of Kudzu starch

FANG Lingling, DU Xianfeng

(School of Tea & Food Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** A systematic research was conducted to assess general properties of Kudzu starch, including physical and physicochemical properties, such as particle size, granule distribution, thermal properties, morphology, crystallite, and the relative amount of double helices and crystallinity. Kudzu starch granules showed a bimodal size distribution. The gelatinization and enthalpy temperature was  $64.32\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $1.77\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ , respectively. Crystal structures of Kudzu starch, including the crystalline, crystallinity, and double helix were precisely characterized via  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy. The  $\text{C}_1$ 's chemical shift from 94 to 110 ppm revealed on the NMR spectroscopy contained two peaks after a sub-peak, indicating that crystallite of Kudzu is Cb-type. Furthermore, X-ray powder diffraction was employed for verifying the conclusion of CP/MAS spectroscopy, coherently. Distinct C-type signature doublets emerged at  $2\theta=5.7^{\circ}, 15.3^{\circ}, 17.2^{\circ}$  and  $17.5^{\circ}$ , respectively, demonstrating the credible evidence to ensure the conclusion. The relative degree of crystallinity detected through  $^{13}\text{C}$  CP/MAS and XRD was  $28.7\%$  and  $19.18\%$ , respectively.  $^{13}\text{C}$  CP/MAS showed that a relative amount of double helix of  $41.21\%$  existed in Kudzu starch. Potato starch was used as a control because potato and kudzu are tuberous root species.

**Key words:** Kudzu starch; amorphous kudzu starch;  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR; XRD; CLSM (confocal laser scanning microscopy); crystal structure

葛根因丰富的药用价值得到了广泛的应用, 葛根淀粉是由块根部位经过水磨后澄取所得到的。淀粉的主要结构为直链淀粉和支链淀粉所构成的结晶区和无定形区<sup>[1]</sup>。根据晶型的不同, 可以将淀粉大

体划分为 A-, B-, C-型淀粉 3 种, 不同类型的植物中存在的淀粉具有不同的晶型: 存在于谷类种子中的淀粉多为 A-型结晶, B-型结晶淀粉主要存在于植物块茎中, 分布于豆类与薯类块茎中的为 C-型淀粉<sup>[2]</sup>。

收稿日期: 2017-01-15

基金项目: 国家自然科学基金 (31471700) 资助。

作者简介: 方玲玲, 硕士研究生。E-mail: 13739285431@139.com

\* 通信作者: 杜先锋, 教授, 博士生导师。E-mail: dxp@ahau.edu.cn

淀粉颗粒中存有结晶区,因此会产生 X 射线衍射现象<sup>[3]</sup>,传统测定淀粉晶型以及相对结晶度的方法便是利用淀粉该性质测得淀粉 X-射线衍射图继而分析得出结果。<sup>13</sup>C CP/MAS 核磁共振是可以更精确得出淀粉的相对结晶度以及计算出淀粉的双螺旋含量的方法,而该技术在淀粉的晶体性质测定方面应用较少。本研究利用 <sup>13</sup>C CP/MAS 对葛根淀粉的晶体结构性质进行探究并利用传统的测定方法(X-射线衍射)进行相应的佐证。

淀粉的物理化学性质如淀粉的粒度分布、热力学性质、晶型和相对结晶度等是影响淀粉的品质及加工过程的重要参数,因而对淀粉一般性质的研究是必不可少的内容。本研究除了对葛根淀粉的一般性质进行了系统的探究,还采用激光共聚焦对葛根淀粉的内部结构进行了测定,从物理化学方面及直观角度了解葛根淀粉各方面的基础性质。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 供试材料** 葛根原淀粉、无定形葛根淀粉、马铃薯淀粉和无定形马铃薯淀粉。

**1.1.2 仪器设备** 激光粒度分析仪:英国 Malvern 公司;差示扫描量热仪(DSC):美国 DSC-8000 PE USA;扫描电子显微镜(SEM):日本日立 S-4800;共聚焦激光扫描显微镜(CLSM):Fv-10 for Olympus;X 射线衍射仪(XRD):中国 Bruker-AXS, D5000, Karlsruhe, Germany;高场固体核磁共振(<sup>13</sup>C CP/MAS):中国 Bruker Avance II。

### 1.2 方法

**1.2.1 无定形葛根淀粉与无定形马铃薯淀粉的制备**称取 0.4 g 干葛根淀粉加入 20 mL 的纯水中,得到的葛根淀粉悬浮液经过充分震荡后加入 RVA 中加热,使淀粉悬浮液快速充分糊化。充分加热后的样品置入液氮中以达到迅速冷却。糊化过程使葛根淀粉中的螺旋结构解体,结晶结构被破坏,及时的冷却阻止了链的重新缠结,从而得到了无定形葛根淀粉。

**1.2.2 葛根淀粉粒度分布** 葛根淀粉粒度分布特征通过激光粒度分布仪进行测定。往样品池中加入适量的葛根淀粉,分散介质为纯水,并利用超声波进行分散,转速 3 000 r·min<sup>-1</sup>。并测定马铃薯淀粉粒度分布作为对照。

**1.2.3 葛根淀粉热力学性质** 葛根淀粉与水按照 1:2 比例配制的淀粉悬浮液,充分震荡后用移液枪移至液体铝坩埚内并放置于 4℃ 下平衡水分 12 h。实验条件参数设置为:氮气流速 20 mL·min<sup>-1</sup>,扫描频

率 10℃·min<sup>-1</sup>,升温范围 40~120℃。并测定马铃薯淀粉热力学性质作为对照。

**1.2.4 葛根淀粉颗粒形貌微观结构** 扫描电镜样品台贴上特定双面胶后,均匀铺上经充分干燥的葛根原淀粉,并利用洗耳球吹去样品台上多余的葛根淀粉。样品经过 2 次喷金后置于显微镜下观察。实验条件参数:测试电压 20 kV,加速电位 3 kV。并测定马铃薯淀粉颗粒形貌微观结构作为对照。

**1.2.5 葛根淀粉颗粒内部微观结构** 样品在进行染色之前将 1:24(淀粉:水)配比的葛根淀粉悬浮液加热糊化,糊化后的样品溶液用 FITC 染色液染色,并加入 PH9.0 碱液(Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, NaCl 混合液),充分震荡。取适量混合物滴于载玻片上,盖上盖玻片后用纯净水冲净盖玻片周围多余混合液并将载玻片放置在显微镜下观察,拍照。并测定马铃薯淀粉颗粒内部微观结构作为对照。

**1.2.6 广角 X 射线衍射测定葛根淀粉晶体结构** 以铜对阴极作为 X 射线衍射仪的衍射管,选择 Ni 为过滤器。实验条件:电压 30 kV,电流 200 mA,扫描速率 5°·min<sup>-1</sup>,2θ 范围为 5°~50°。实验样品需放置在有过饱和 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的干燥器中,以达到平衡葛根淀粉水分的目的,淀粉中的水分需控制在(18.0±0.05)%左右。分析衍射图可以判定淀粉晶型,参考 Herman 方法划分出葛根淀粉结晶区与非结晶区,计算相对结晶度<sup>[4]</sup>。并测定马铃薯淀粉晶体结构作为对照。

$$\text{相对结晶度}(\%) = A_c / (A_c + A_a) \times 100$$

$A_c$ : XRD 衍射图中结晶区面积;  $A_a$ : XRD 衍射图中非结晶区面积。

**1.2.7 固体核磁共振测定葛根淀粉晶体结构** 利用高场核磁对葛根淀粉的晶体结构特性进行测定,可以测定出包括晶型,相对结晶度和双螺旋含量等性质参数。实验条件设置 <sup>13</sup>C 共振频率为 100.63 MHz,90°脉冲宽度为 5 μs,采样时间 5 ms,接触时间为 1.0 ms,循环延迟时间为 5.0 s,魔角旋转转速为 5.0 kHz,实验中使用六甲基苯定标 <sup>13</sup>C 化学位移。并利用固体核磁共振测定马铃薯淀粉晶体结构特性作为对照。

根据 Pairs 的方法计算 2 种淀粉相对结晶度<sup>[5]</sup>。双螺旋含量的计算参考 C<sub>4</sub>-PPA<sup>[6]</sup>。

$$\text{相对结晶度} = \text{分峰 } C_1 \text{ 区面积} / C_1 \text{ 区面积}$$

$$\text{双螺旋含量} = 100 - (\text{原淀粉 PPA} / \text{无定形淀粉 PPA}) \times 100\%$$

PPA 为波谱拟合 C<sub>4</sub> 峰的面积与波谱总面积的比值。

## 2 结果与分析

### 2.1 葛根淀粉粒度分布

淀粉颗粒大小与淀粉结晶性质, 直链支链比例密切相关, 是影响淀粉热力学性质的一个重要因素<sup>[7]</sup>, 且淀粉的物理化学性质如糊化、老化, 流变学等都会受到淀粉粒度大小的影响<sup>[8]</sup>。实验结果如图 1 所示: 葛根淀粉粒度大小呈双峰分布, 主要集中于 1 000  $\mu\text{m}$ , 少部分分布于 10  $\mu\text{m}$  处, 该结果与文献中葛根淀粉粒度大小分布于 1~110  $\mu\text{m}$  结论不同<sup>[9]</sup>, 分析原因可能是由于选用的葛根淀粉材料来至于不同的产地, 产地不同使得葛根在生长过程中生物化学反应不同从而影响了该物理性质。图 2 为马铃薯淀粉的测定结果, 马铃薯淀粉的粒度分布图呈现并不明显的三峰结构, 主要存在于 10~100 之间。

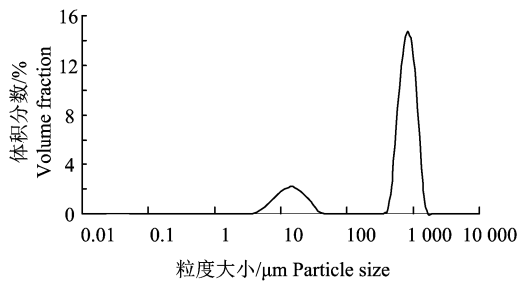


图 1 葛根原淀粉粒度分布

Figure 1 The distribution of native Kudzu starch

### 2.2 葛根淀粉热力学性质

通过差示扫描量热仪得出葛根原淀粉和马铃薯热力学性质如图 3。葛根淀粉起始糊化温度, 糊化温度范围与糊化焓分别为 64.32 $^{\circ}\text{C}$ 、15.68 $^{\circ}\text{C}$ 和 1.77  $\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$ 。葛根淀粉糊化焓 ( $\Delta H=1.77 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ ) 远低于普通马铃薯淀粉 ( $\Delta H=5.4 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ ), 该数据表明葛根淀粉完全糊化时所需能量少于普通马铃薯淀粉。同

时, 由于糊化焓是淀粉双螺旋结构被破坏的重要指标, 也是相对结晶度的测量方式之一<sup>[10]</sup>, 因此, 较低的糊化焓也意味着葛根淀粉的无定形结构中存在大量的短链<sup>[7]</sup>。

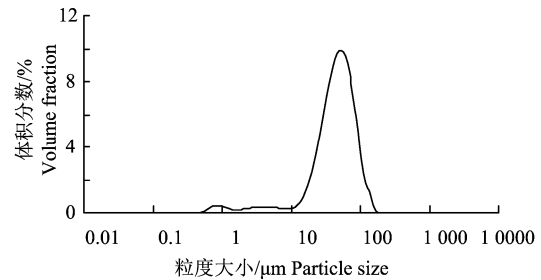


图 2 马铃薯原淀粉粒度分布

Figure 2 The distribution of native potato starch

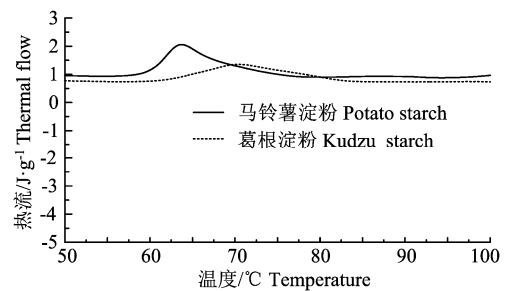


图 3 葛根淀粉与马铃薯淀粉 DSC 测定结果

Figure 3 DSC parameters of kudzu and potato starch

### 2.3 葛根淀粉颗粒形貌微观结构

由扫描电子显微镜观测得到的葛根淀粉颗粒外部形貌微观图如图 4 所示。可以观察到葛根淀粉颗粒表面光滑且形状多为典型的多角形或半椭圆形等不规则形状。马铃薯淀粉颗粒形貌为平滑平整的圆形或椭圆形 (图 5)。葛根淀粉颗粒形状外貌与同样为块根作物的马铃薯淀粉明显不同。主要原因归结于不同淀粉颗粒的分子内部组织不同<sup>[11]</sup>。

表 1 葛根与马铃薯淀粉糊化特性

Table 1 Gelatinization properties of Kudzu and potato starch

项目 Item	起始糊化温度/ $^{\circ}\text{C}$ $T_0$	峰值温度/ $^{\circ}\text{C}$ $T_p$	终止糊化温度/ $^{\circ}\text{C}$ $T_c$	糊化焓/ $\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$ $\Delta H$
葛根原淀粉 Kudzu native starch	64.32 $\pm$ 0.22	71.61 $\pm$ 0.08	78.36 $\pm$ 0.17	1.77
马铃薯淀粉 Potato native starch	59.83 $\pm$ 0.15	63.70 $\pm$ 0.18	70.22 $\pm$ 0.22	5.70

注: 3 次数据平均值 $\pm$ 偏差。Note: Means of three determination $\pm$ SD.

### 2.4 葛根淀粉颗粒内部微观结构

**2.4.1 利用激光共聚焦电子显微镜观察葛根原淀粉内部精细结构** 通过激光共聚焦电子显微镜 (CLSM) 可以测定淀粉颗粒内部微观结构和形态学特性。糊化后的葛根淀粉溶液经过染色液染色,

通过激光共聚焦显微镜可以观测到淀粉的外部形状, 及内部偏光十字和细微结构。图 6 和图 7 分别为葛根和马铃薯淀粉在激光共聚焦显微镜下的荧光图和偏光图。图 6A 和 6C 是葛根淀粉颗粒的荧光图, 从图中可以看出淀粉颗粒呈现强亮度绿色荧光, 图

6C 是高倍镜下的图片,可以清晰观察到荧光存在于葛根淀粉颗粒的外部,而颗粒内部颜色相对暗沉。由于荧光的存在与淀粉中的直链淀粉密不可分,图中存在于葛根淀粉颗粒中强亮度的荧光表明葛根淀粉中有较高浓度的直链淀粉<sup>[12]</sup>。通过强亮度的荧光分布于淀粉颗粒的外部而颗粒内部荧光较弱这一现象可以推出葛根淀粉中的直链淀粉主要存在于淀粉颗粒结构的表面,即葛根淀粉颗粒的内部主要由无定形区构成,而结晶区包围在颗粒的外围。马铃薯荧光图中有较大面积且完整的暗影部分存在于淀粉颗粒内部,外围是明亮且所占比例较小。从侧面反映马铃薯淀粉中直链淀粉的含量高于支链淀粉且存在于淀粉颗粒外部(见图 7A 和 7B)。

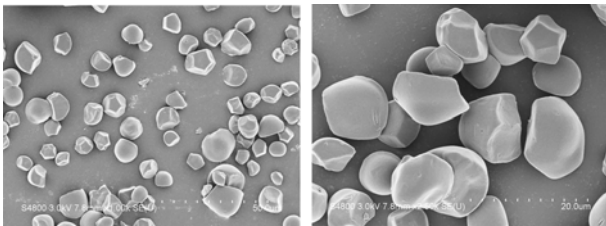


图 4 葛根原淀粉的扫描电镜图  
Figure 4 SEM micrographs of native Kudzu starches

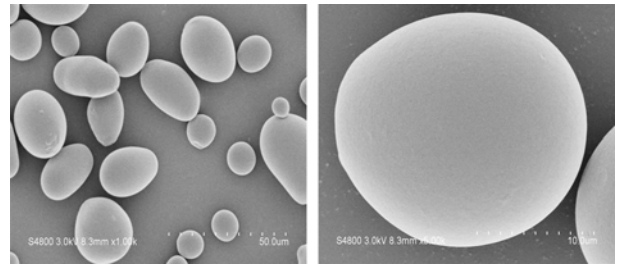


图 5 马铃薯原淀粉的扫描电镜图  
Figure 5 SEM micrographs of native Potato starches

图 6B、6D 与图 6A、6C 是同一个视野下葛根淀粉颗粒偏光图,图中有清晰的偏光十字存在于葛根淀粉颗粒中。偏光十字的产生是由于淀粉颗粒中的结晶区与无定形的密度以及对偏振光的折射率不同而产生双折射现象,其强度取决于淀粉颗粒的大小,结晶度以及淀粉颗粒中结晶区的定向<sup>[13]</sup>。图中的偏光十字清晰且位于淀粉颗粒中接近中心的位置,说明葛根淀粉颗粒的结晶区排列状态呈高度有序。马铃薯淀粉的偏光十字清晰地存在于淀粉颗粒的脐点部位,马铃薯淀粉的偏光十字的定向相较于葛根淀粉更为立体(见图 7C 和 7D)。

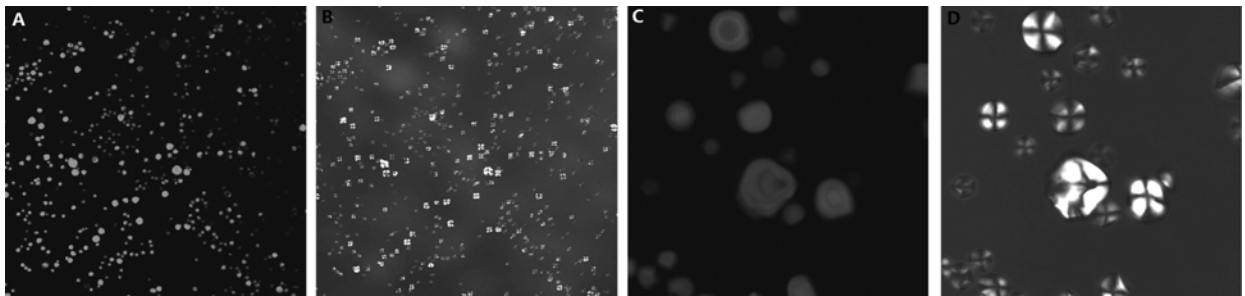


图 6 葛根原淀粉激光共聚焦图  
Figure 6 Confocal laser scanning micrographs of native Kudzu starch

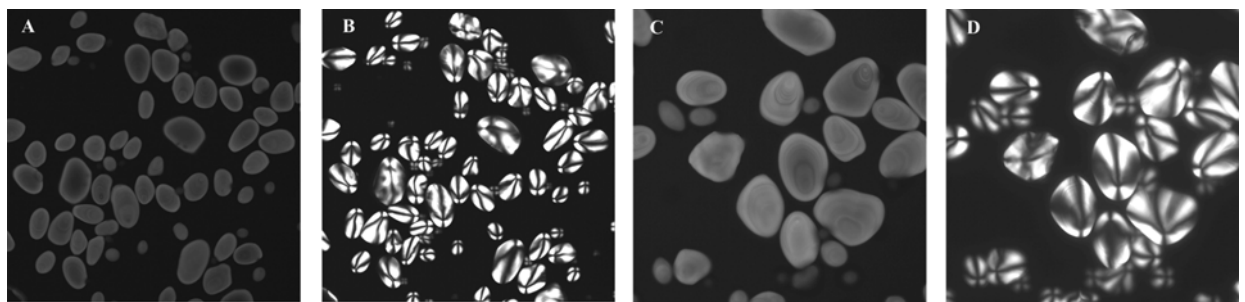


图 7 马铃薯原淀粉激光共聚焦图  
Figure 7 Confocal laser scanning micrographs of native potato starch

**2.4.2 利用激光共聚焦电子显微镜证明无定形葛根淀粉的形成** 偏光十字与淀粉中的晶体结构紧密相关。淀粉颗粒中的偏光十字会伴随着淀粉加热的进程而逐渐消失,其消失的原因是由于在淀粉糊化过

程中水分子进入淀粉内部将淀粉链之间的氢键打开导致晶体结构被破坏,有序结构转为无序结构从而双折射现象消失。图 8E 是葛根淀粉凝胶的荧光图,图中通过染色剂可以观察到凝胶状态,图 8F 是同一

视野下的偏光图, 图中没有偏光十字的存在, 由此指明随着对葛根淀粉悬浮液的加热使得淀粉氢键被打开, 双螺旋解体, 晶体结构被彻底破坏转为无序结构, 利用液氮迅速冷冻使葛根淀粉链无法重新缠结, 从而将葛根原淀粉彻底转化为无定形葛根淀粉。

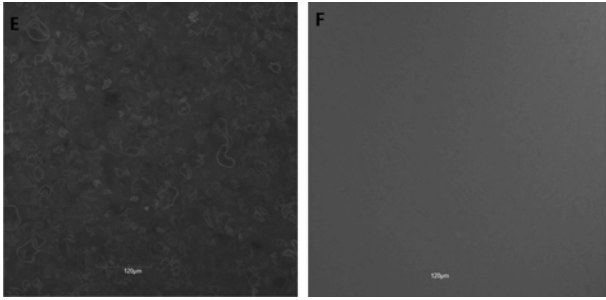


图 8 无定形葛根淀粉激光共聚焦图

Figure 8 Confocal laser scanning micrographs of gelatinized Kudzu starch

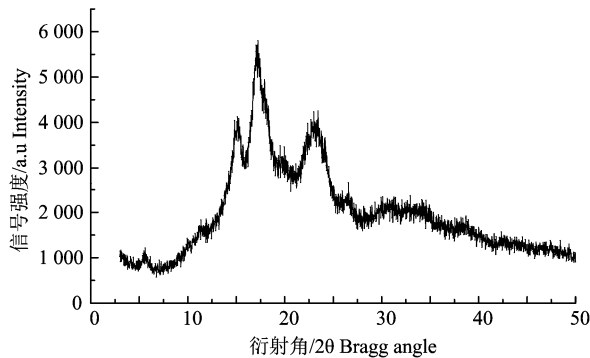


图 9 葛根淀粉 X 射线衍射图

Figure 9 X-ray diffractograms of Kudzu starch

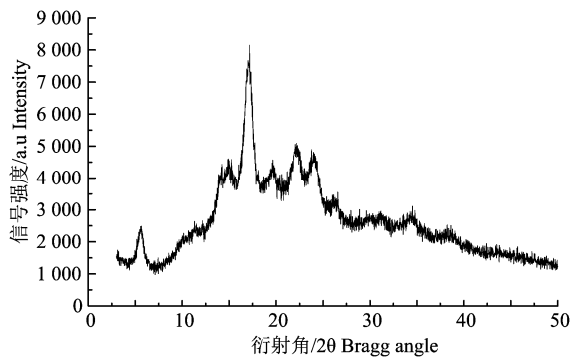


图 10 马铃薯淀粉 X 射线衍射图

Figure 10 X-ray diffractograms of potato starch

## 2.5 X-射线衍射

X-射线衍射图中的峰高和半峰宽与淀粉颗粒内部结晶区中的晶粒大小, 形状以及结晶度息息相关, 淀粉颗粒中结晶粒度越大反映在 X 晶体衍射图谱中就是衍射峰越高, 半峰宽越小<sup>[14]</sup>。

葛根淀粉 X 晶体衍射图谱 (图 9) 所示, 衍射角  $2\theta$  在  $5.7^\circ$ 、 $15.3^\circ$ 、 $17.2^\circ$  和  $17.5^\circ$  处出现了明显衍

射峰, 且在  $17.5^\circ$  处显现的为宽峰, 而在  $5.7^\circ$  出现的衍射峰较不明显。具有不同晶型的淀粉会在不同的衍射角产生衍射峰: A 型晶体结构在  $15.3^\circ$ 、 $17.1^\circ$ 、 $18.1^\circ$  及  $23.5^\circ$  处出现衍射峰, B 型晶型的衍射峰分布于  $5.6^\circ$ 、 $17.2^\circ$ 、 $22\sim 24^\circ$ <sup>[15]</sup>。典型 C 型介于 A、B 之间。本次实验中测定的葛根原淀粉 XRD 图谱相较于典型 A-型淀粉的 XRD 衍射图在  $5.6^\circ$  处出现了中强度衍射峰, 与 B-型淀粉相比又在  $23^\circ$  处出现单峰。说明葛根淀粉所具有的晶体结构结合了 A、B 2 种晶型的特点即为 C 型且接近于 B 型。如图 10 所示马铃薯淀粉衍射峰出现在  $5.5^\circ$ 、 $17.2^\circ$ 、 $20^\circ$ 、 $22.5^\circ$  及  $25^\circ$  处, 说明马铃薯淀粉为典型 B 型淀粉。虽然马铃薯与葛根同样作为块根类淀粉但具有不同淀粉晶型, 因为属于不同品种以及生长环境不同。利用 Jade5.0 软件对葛根淀粉的 XRD 图谱进行分区计算出其相对结晶度为 19.18%。马铃薯淀粉计算结果为 23.22%。马铃薯淀粉结晶度高于葛根淀粉, 因淀粉的相对结晶度与淀粉中直链含量呈正相关<sup>[16]</sup>, 表明葛根淀粉直链淀粉的含量要低于马铃薯淀粉。除此之外, 淀粉中含水量也会影响相对结晶度<sup>[17]</sup>。

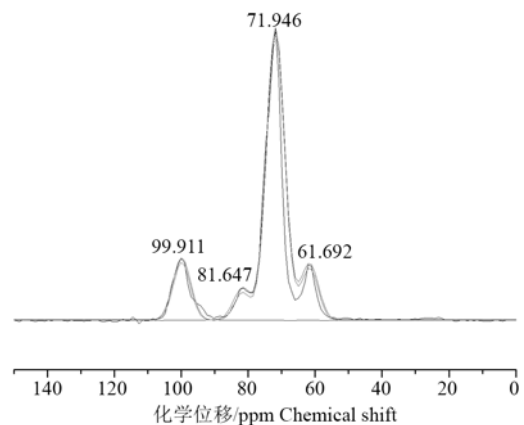


图 11 葛根淀粉  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 分峰图谱

Figure 11 The  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectra and peak-fitted profiles for Kudzu starch

## 2.6 固体核磁共振测定葛根淀粉晶体结构

### 2.6.1 葛根淀粉的晶型 $^{13}\text{C}$ CP/MAS NMR 测定

淀粉所得的波谱图大体相同, 可以根据化学位移划分为  $C_1$ 、 $C_4$ 、 $C_{2,3,5}$  和  $C_6$  4 个区域, 化学位移在  $99\sim 104$  ppm 为  $C_1$ 、 $C_4$  区的化学位移为  $81\sim 84$  ppm, 由于碳原子上连接羟基基团会产生  $70\sim 73$  ppm 之间的化学位移为  $C_{2,3,5}$ 。化学位移在  $59\sim 62$  ppm 之间的为  $C_6$ <sup>[18]</sup>。

不同晶型淀粉的区别存在于  $C_1$  峰处。A-型淀粉由于双螺旋排列中存在 3 个葡萄糖残基而在  $C_1$  区表现为三重结晶峰。B-型淀粉波谱图经过拟合后

会在  $C_1$  出现 2 个结晶峰。C-型淀粉同时具有 A-型 B-型淀粉的特点, 当淀粉中 A-型结晶较多时, 表现为 A-型结晶的特征, 若 B-型结晶较多时则表现为 B-型结晶的特征<sup>[19]</sup>。

葛根淀粉  $^{13}\text{C}$  CP/MAS 波谱拟合峰图见图 11, 图 12 为葛根淀粉波谱图中  $C_1$  区域放大图谱。可以

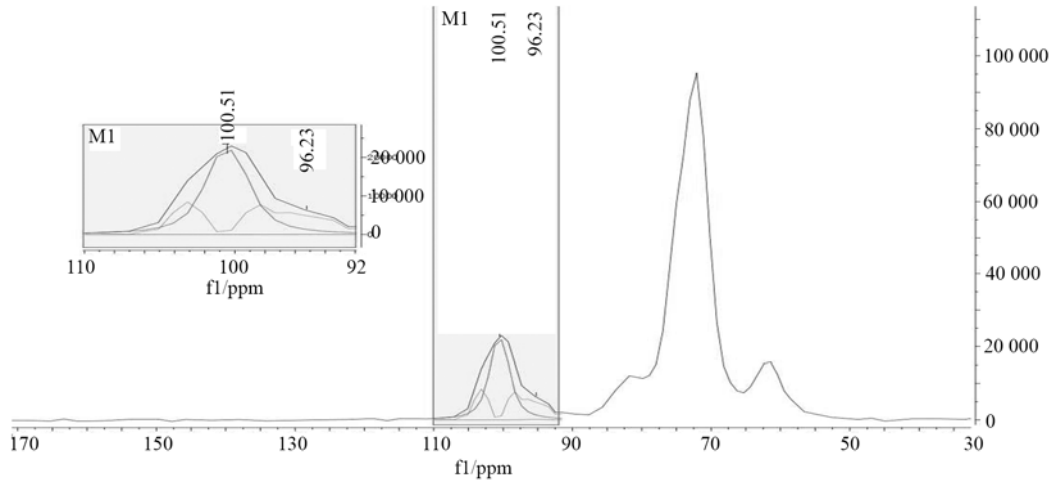


图 12 葛根淀粉  $C_1$  区  $^{13}\text{C}$  CP/MAS 分峰图谱

Figure 12 The detail of the  $C_1$  sub-spectra

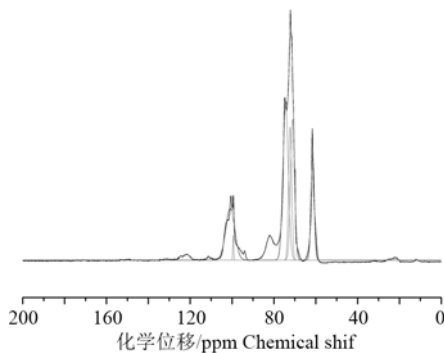


图 13 马铃薯原淀粉  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 分峰图谱

Figure 13 The  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectra and peak-fitted profiles for potato starch

**2.6.2 葛根淀粉相对结晶度** 葛根原淀粉和无定形葛根淀粉的固体核磁的宽线谱图见图 14, 马铃薯淀粉的固体核磁的宽线谱图见图 15。图中无定形淀粉与原淀粉大致相同, 但无定形葛根淀粉  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 图谱中  $C_1$  区的峰面积明显小于葛根原淀粉, 且无定形性葛根淀粉的  $C_4$  信号区面积明显高于葛根原淀粉的  $C_4$  区面积。因为  $C_1$  信号峰是反映淀粉中双螺旋结构的区域, 无定形葛根淀粉制备过程中双螺旋链被打开, 因而导致了  $C_1$  区域的面积会明显减小。  $C_4$  区域面积增加原因是因为淀粉颗粒中无定形含量与  $C_4$  相关, 无定形的含量越高, 反映在 NMR 图谱上是  $C_4$  信号越强,  $C_4$  区域的峰高越高。

得出葛根淀粉  $^{13}\text{C}$  CP/MAS 波谱图经过 Peakfit 软件分峰拟合之后, 在  $C_1$  区产生了 2 个结晶峰, 由此可以得知葛根淀粉为 C-型结晶淀粉且以 B-型结晶为主, 为  $C_b$ -型晶型淀粉。马铃薯原淀粉的  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 分峰图谱如图 13 所示, 分峰后产生 2 个明显的副峰推知马铃薯淀粉为典型 B 型结晶。

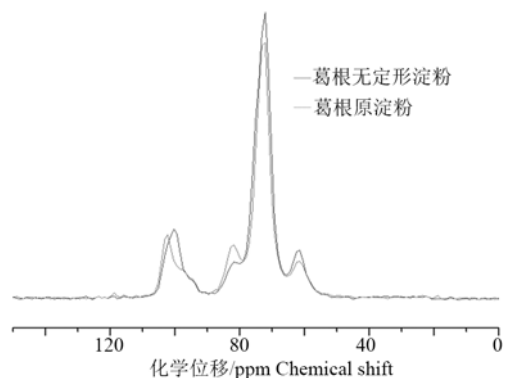


图 14 葛根原淀粉与无定形葛根淀粉的  $^{13}\text{C}$  CP/MAS 谱图

Figure 14 The  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectra of Kudzu starch and non-crystalline Kudzu starch

利用 MestReNova 软件对 CP/MAS 谱图进行分峰, 用 Peakfit 对分解得到的亚谱进行拟合从而计算出相对结晶度。

相对结晶度 = 分峰  $C_1$  区面积 /  $C_1$  区面积<sup>[5]</sup>

葛根淀粉计算结果为 28.70%。马铃薯淀粉相对结晶度核磁共振测定结果为 32.17%。葛根淀粉与马铃薯淀粉核磁共振图谱的计算结果都结果高于 XRD 计算结果, 是由于 XRD 测定的是淀粉中的长程有序结构, 淀粉中存有的短程有序结构并不能被 XRD 测定, 但  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 可以测定, 从而导致通过固体核磁计算出的葛根淀粉相对结晶度会高于 XRD 的计算结果<sup>[20]</sup>。

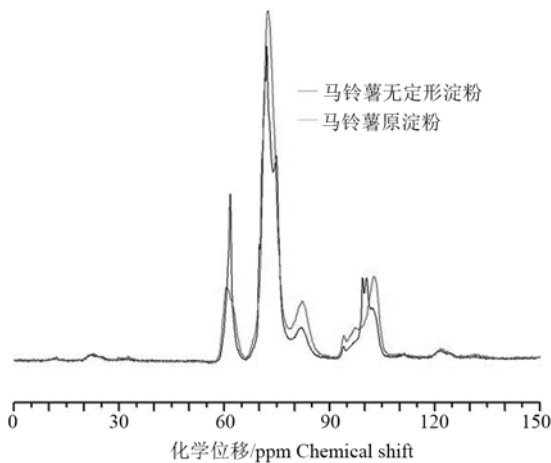


图 15 马铃薯原淀粉与无定形葛根淀粉的  $^{13}\text{C}$  CP/MAS 谱图  
Figure 15 The  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectra of potato starch and non-crystalline potato starch

**2.6.3 葛根淀粉双螺旋含量** 计算方法采用  $\text{C}_4\text{-PPA}$  法: 双螺旋含量 =  $100 - (\text{葛根原淀粉 PPA} / \text{无定形葛根淀粉 PPA})$  [6]

葛根淀粉计算结果为 41.21%。马铃薯淀粉相对双螺旋核磁共振测定结果为 36.30%。 $\text{C}_4\text{-PPA}$  法的计算原理是假设原淀粉的 NMR 图谱只包含结晶区(双螺旋结构排列所构成)和无定形区 2 部分,从而,将原淀粉的 NMR 图谱减去无定形淀粉的 NMR 图谱即为结晶区,计算无定形区与结晶区相对于原淀粉的面积比,得到双螺旋含量[6]。因为除了支链淀粉构成双螺旋结构以外,少量直链淀粉也会相互缠绕形成双螺旋结构,从而通过直接减去无定形区计算的双螺旋含量会高于相对结晶度。

### 3 结论

通过对葛根淀粉的一般性质做了系统性地研究,结果表明葛根淀粉粒度的大小分布在  $3.8 \sim 39.8 \mu\text{m}$  和  $416.7 \sim 1659.6 \mu\text{m}$ 。糊化起始温度为  $64.32^\circ\text{C}$ , 温度为  $80.00^\circ\text{C}$  处终止糊化以及糊化焓为  $1.77 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ 。XRD 和  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR 结论表明葛根淀粉为 Cb-型结晶,依据 NMR 波谱拟合后计算的葛根淀粉的相对结晶度达到 28.70% 高于 XRD 的计算结果 (19.18%), 造成该结果的原因是固体核磁能够测定有序结构,而 XRD 测定的是结晶结构,有序结构由双螺旋和单螺旋构成,而结晶结构是双螺旋构成,因而 NMR 的结果高于 XRD 计算结果。根据葛根无定形淀粉与葛根原淀粉的 NMR 波谱图可以得知无定形淀粉的特征在  $\text{C}_4$  区域上明显展现出来,且 NMR 图谱经过 PeakFit 4.12 软件进行分峰拟合计算出葛根淀粉双螺旋含量高于其相对结晶度。目前对

于葛根淀粉性质的研究较多,但没有系统地对葛根淀粉的基础性质进行研究,且目前很少将固体核磁共振技术应用用于葛根淀粉晶体性质的测定,多是使用传统技术与仪器,而固体核磁技术具有测定结果精确、快速且对样品无损伤的优势。对葛根淀粉基础性且系统性地研究有助于葛根在各领域的应用。

### 参考文献:

- [1] JANE J. Structure of starch granules[J]. J Appl Glycosci, 2007, 54(1): 31-36.
- [2] 黄峻榕. X 射线衍射在测定淀粉颗粒结构中的应用[J]. 陕西科技大学学报, 2003, 21(4): 90-93.
- [3] 夏玉卓. 葛根等中药淀粉的理化性质研究[D]. 天津: 天津大学, 2013.
- [4] STEVENSON D G, JANE J, INGLET T G E. Physico-chemical properties of pin oak (*Quercus palustris* Muenchh.) acorn starch[J]. Starch-Stärke, 2006, 58(11): 553-560.
- [5] PARIS M, BIZOT H, EMERY J, et al. Crystallinity and structuring role of water in native and recrystallized starches by  $^{13}\text{C}$  CP-MAS NMR spectroscopy: 1: Spectral decomposition[J]. Carbohydr Polym, 1999, 39(4): 327-339.
- [6] BOGRACHEVA T Y, WANG Y L, HEDLEY C L. The effect of water content on the ordered/disordered structures in starches[J]. Biopolymers, 2001, 58(3): 247-259.
- [7] NODA T, TSUDA S, MORI M, et al. Properties of starches from potato varieties grown in Hokkaido[J]. J Appl Glycosci, 2004, 51(3): 241-246.
- [8] SINGH N, SINGH J, KAUR L, et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources[J]. Food Chem, 2003, 81(2): 219-231.
- [9] 钟耕. 葛根淀粉和藕淀粉的理化性质及血糖指数体外测定的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2003.
- [10] COOKE D, GIDLEY M J. Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition[J]. Carbohydr Res, 1992, 227: 103-112.
- [11] 杨冯, 顾楠, 赵国华. 不同品种菱角淀粉的颗粒特性研究[J]. 食品科学, 2010, 31(3): 118-122.
- [12] CHEN X, DU X, CHEN P, et al. Morphologies and gelatinization behaviours of high-amylose maize starches during heat treatment[J]. Carbohydr Polym, 2017, 157: 637-642.
- [13] 侯蕾, 韩小贤, 郑学玲, 等. 土豆淀粉和绿豆淀粉理化性质的比较研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(24): 1-4.
- [14] 刘松青, 杨婉身, 张祖民, 等. 马铃薯羟丙基羧甲基淀粉颗粒及分子结构变化[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(1): 43-46.
- [15] 严青. 不完全糊化法研究淀粉颗粒的外壳和小体结构[D]. 西安: 陕西科技大学, 2015.
- [16] 张艳霞, 丁艳锋, 李刚华, 等. 直链淀粉含量不同的稻米淀粉结构, 糊化特性研究[J]. 作物学报, 2007, 33(7): 1201-1205.
- [17] 周玉东, 龙功瑾. 水分含量对马铃薯淀粉颗粒结晶度影响的研究[J]. 粮油加工, 2010 (10): 80-82.
- [18] SINGH V, ALI S Z, DIVAKAR S.  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy of native and acid modified starches[J]. Starch-Stärke, 1993, 45(2): 59-62.
- [19] TAN I, FLANAGAN B M, HALLEY P J, et al. A method for estimating the nature and relative proportions of amorphous, single, and double-helical components in starch granules by  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR[J]. Biomacromolecules, 2007, 8(3): 885-891.
- [20] 满建民, 蔡金文, 徐斌, 等. 作物淀粉晶体结构的波谱分析[J]. 作物学报, 2012, 38(4): 691-698.