

非对称场流分离系统的构建及其在淀粉颗粒粒径表征中的应用

郭雨曦¹, 宋天歌², 孙瑜珊¹, 喻倩^{1*}, 窦海洋^{1*}

(1. 河北大学基础医学院, 河北 保定 071000; 2. 河北大学化学与环境科学学院, 河北 保定 071002)

摘要: 淀粉颗粒粒径与分子尺寸分别在 1~100 μm 和 20~250 nm 之间, 是影响淀粉功能特性的重要因素之一。非对称场流分离 (AF4) 是一种基于样品与外力场相互作用机制的分离技术, 已应用于表征淀粉分子尺寸分布。商品化的 AF4 系统的粒径检测范围为 1 nm~10 μm , 对于淀粉颗粒粒径表征具有一定的局限性。该文研制了 AF4 分离系统; 考察了其在微米尺度下对红薯、莲子和大米淀粉颗粒粒径表征的性能; 采用微米尺寸的聚苯乙烯乳化石 (PS) 标准样品验证了构建的 AF4 系统的分离性能。实验结果显示, 构建的 AF4 系统对 PS 混合样品 (粒径 2、6、12、20 μm) 实现了基线分离, 同商品化 AF4 相比提高了检测上限, 具有分离表征淀粉颗粒的潜力。此外, 该文研究了载液组成对淀粉颗粒分离表征的影响; 通过光学显微镜验证了构建的 AF4 系统在微米尺度上对淀粉颗粒粒径分布的表征能力。最后, 采用商品化的 AF4 系统串联多角度激光光散射检测器和示差折光检测器对 3 种淀粉分子进行了分离表征, 考察了淀粉的溶解温度对其表征结果的影响。在摩尔质量 $10^6 \sim 10^8 \text{ g/mol}$ 范围内, 红薯和莲子淀粉的回转半径和水合半径的比值 (R_g/R_h) 在 0.9~1.1 之间, 大米淀粉的 R_g/R_h 在 1.2~1.4 之间。实验结果证明构建的 AF4 系统是一种快速、准确的淀粉颗粒粒径表征方法, 与商品化的 AF4 系统结合可为研究淀粉尺寸分布与其功能性质之间的关系提供技术支持。

关键词: 非对称场流分离; 淀粉颗粒; 粒径表征

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2021)11-1247-08

Development of an asymmetrical flow field-flow fractionation system for the size characterization of starch granules

GUO Yuxi¹, SONG Tiange², SUN Yushan¹, YU Qian^{1*}, DOU Haiyang^{1*}

(1. College of Basic Medical Sciences, Hebei University, Baoding 071000, China;

2. College of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: Starch occurs naturally in the form of semicrystalline granules, and is composed of two types of carbohydrate molecules, amylose (AM) and amylopectin (AP). Starch granules and starch molecules have sizes in the range of 1–100 μm and 20–250 nm, respectively; these size ranges are among the key factors affecting the functional properties of starch. Asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4) is a size-based separation technique. The major difference between AF4 and dynamic light scattering or microscopy techniques is that AF4 enables the separation of particles based on their size; consequently, the elution profile can be converted to the size distribution of the samples. In the last two decades, AF4 systems, when coupled online with multiangle light scattering (MALS) and differential refractive index (dRI) detectors (AF4-MALS-dRI), have demonstrated to be applicable for the size characterization of starch at the molecular level. Unlike size exclusion chromatography (SEC), AF4 systems use an open channel that does not require a stationary phase or packing materials. Thus, the shear scission of AP

收稿日期: 2021-05-07

* 通讯联系人. Tel: (0312) 5075532, E-mail: yuqian161811@163.com (喻倩); E-mail: douhaiyang-1984@163.com (窦海洋).

基金项目: 河北省自然科学基金 (H2020201295); 河北省高等学校科技研究重点项目 (ZD2019009); 国家级大学生创新创业计划项目 (202110075289).

Foundation item: Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2020201295); Key Project of Hebei Education Department (No. ZD2019009); National Undergraduate's Innovation Fund Project (No. 202110075289).

molecules during AF4 separation is minimized. The size detection range of a commercial AF4 system ranges from 1 nm to 10 μm , which is smaller than the size range of starch granules. In this study, a home-made AF4 system was developed, and its capability for the size characterization of starch granules extracted from sweet potato, lotus seed, and rice was investigated. The performance of the developed AF4 system was evaluated by running a mixture of polystyrene (PS) with diameter of 2, 6, 12, and 20 μm , respectively. Baseline separation of four PS samples was achieved, and the resolution for 6 μm PS and 12 μm PS was 1.40. The detection limit of the developed AF4 system was higher than that of commercial AF4 systems. Thus, the developed AF4 system is promising for the separation and characterization of starch granules. The effect of the composition of the carrier liquid on the AF4 separation of starch granules was also studied. Moreover, the accuracy of AF4 in terms of size characterization of the starch granules was evaluated by optical microscopy (OM). The results revealed that the type of dispersant and viscosity of the carrier liquid affect the accuracy of size characterization of the starch granules. The size distribution of rice starch granules obtained using a carrier liquid containing 0.01% (w/v) sodium dodecyl sulfate (used as a dispersant), 0.02% (w/v) NaN_3 (used as a bactericide), and 0.001% (w/v) hydroxypropylmethylcellulose (used to adjust the viscosity of the carrier liquid) was in agreement with that obtained from OM. Furthermore, a commercial AF4 system coupled with MALS and dRI detectors was employed for the separation and characterization of starch molecules. A molecularly dispersed solution is necessary for the reliable molecular characterization of starch. The effect of the starch dissolution temperature on the AF4 characterization of starch was also investigated. The optimal dissolution temperature for lotus seed and rice starch granules was 75 $^\circ\text{C}$, while that for sweet potato starch granules was 78 $^\circ\text{C}$; this difference is mainly attributed to the different botanical origins of the granules. The results showed that the ratio of the radius of gyration (R_g) to the hydrodynamic radius (R_h) of rice starch and sweet potato starch is in the range of 0.9–1.1 over the molar mass range of 10^6 – 10^8 g/mol. For rice starch, the R_g/R_h ratio is between 1.2 and 1.4. Rice starch has the highest apparent density among the three starches, indicating that rice starch molecules have a dense structure. The results demonstrated that the AF4 system developed in this study is rapid and accurate for the size characterization of starch granules. The developed AF4 system, when combined with commercial AF4 systems coupled online with MALS and dRI detectors, can provide technical support to study the relationship between the size from the nanoscale to the microscale and functional properties of starch.

Key words: asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4); starch granule; size characterization

淀粉是人类主要的能量来源之一,以其独有的物理化学性质和功能特性广泛应用在食品、医药等领域。在食品生产中,淀粉作为一种重要的食品配

料,对于调整食品的质地有重要作用^[1,2]。淀粉成膜性和冻融稳定性被应用于胶凝剂、增稠剂,稳定剂和涂层剂等工业^[3,4]。淀粉颗粒大小是影响其功能

引用本文:郭雨曦,宋天歌,孙瑜珊,喻倩,窦海洋. 非对称场流分离系统的构建及其在淀粉颗粒粒径表征中的应用. 色谱,2021,39(11):1247-1254.

GUO Yuxi, SONG Tiange, SUN Yushan, YU Qian, DOU Haiyang. Development of an asymmetrical flow field-flow fractionation system for the size characterization of starch granules. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(11): 1247-1254.

特性的重要因素之一^[5]。目前,表征淀粉颗粒大小常用的方法有动态光散射技术(dynamic light scattering, DLS)和显微镜技术^[6]。DLS 分析样品时间短、操作简单、成本低,但对于粒径分布较宽的样品,不同粒径颗粒的散射光之间会产生干涉,降低样品粒径表征结果的准确性^[7]。光学显微镜(optical microscopy, OM)操作简单、分析成本低,可以同时提供淀粉颗粒形貌及粒径分布信息,但 OM 检测的样本数量有限,分析时间长。

20 世纪 60 年代 Giddings 博士^[8]首次提出场流分离(field-flow fractionation, FFF)概念,其中非对称场流分离(asymmetrical flow field-flow fractionation, AF4)是一种应用最广的 FFF 子技术,无固定相和填充材料,适用于剪切力敏感的样品的分离,检测范围广(1 nm~50 μm)^[9]。该技术已应用于蛋白质及其复合物、纳米粒子、亚细胞单元和聚合物的分离表征^[10]。AF4 可与多角度激光光散射检测器(MALS)和示差折光检测器(dRI)联用(AF4-MALS-dRI),表征淀粉分子的粒径分布^[11]。目前,商品化的 AF4 系统检测上限为 10 μm,对于淀粉颗粒粒径表征具有一定局限性。本研究构建了 AF4 系统,结合商品化的 AF4 系统,与紫外可见光检测器(UV)、MALS 和 dRI 联用,考察了其在纳米与微米尺度下对淀粉分离表征的性能。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

SQP 电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司,中国);MS-H550-Pro 磁力搅拌器(北京大龙兴创实业有限公司,中国);DHG-914385-III 电热鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司,中国);Eclipse Ci 型显微镜(尼康公司,日本);ZEN 3700 型动态光散射粒度分析仪(马尔文公司,英国);UPR-II-10T 超纯水系统(西安优普仪器设备有限公司,中国);LC-20AT 液相泵和 SPD-20A 紫外可见光检测器(岛津公司,日本);DAWN EOS MALS 型多角度激光光散射检测器(怀雅特公司,美国);1260 Infinity II 示差折光检测器(安捷伦公司,德国)。

大米、莲子、红薯购自当地超市;马脾铁蛋白、溴酚蓝(BPB)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;聚苯乙烯乳化球(PS)、FL-70 购自美国 Thermo Fisher 公司;NaOH、HCl、NaHSO₃、SDS(sodium dodecyl sul-

fate)、NaNO₃、Triton X-100 (polyethylene glycol tert-octylphenyl ether)、NaN₃、羟丙基甲基纤维素(HPMC)购自上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 淀粉颗粒及淀粉溶液的制备

淀粉颗粒的制备:将大米、红薯和莲子洗净晾干。根据 Schoch 等^[12]描述的方法提取淀粉颗粒。具体方法如下:室温下,将 40 g 大米在 200 mL NaHSO₃(1 g/L)中浸泡 12 h 后使用厨房料理机在 250 W 的条件下粉碎 2 min,依次通过 80 和 120 目筛,将滤液转入 2 L 烧杯中,静置 5 h 后弃上清液,然后用去离子水重悬沉淀物,静置 3 h,重复 3 次,沉淀物在 40 °C 的烘箱中干燥得到淀粉颗粒。

淀粉溶液的制备:室温下,将 15 mg 淀粉颗粒和 1.5 mL 1 mol/L NaOH 添加到 20 mL 玻璃瓶中,200 r/min 搅拌 6 min。然后将装有大米、莲子淀粉的玻璃瓶放置在 75 °C 的水浴中,装有红薯淀粉的玻璃瓶放置在 78 °C 的水浴中,400 r/min 搅拌 4 min,加入 4.5 mL 去离子水,继续搅拌 2 h。最后加入 1 mol/L HCl 调节 pH 至 7,得到淀粉溶液。

1.2.2 光学显微镜对淀粉颗粒的表征

将 10 μL 淀粉悬浮液(3.0 g/L)滴到显微镜载玻片上,在 400 倍的放大倍率下观察淀粉颗粒的形貌与大小(Nikon Digital Sight 软件)。由于淀粉颗粒形状不规则,本实验所测长度为平面下颗粒的最长尺寸。每种淀粉每次统计 500 个颗粒,得到其平均直径,所有检测重复 3 次。

1.2.3 Zeta 电位的表征

样品检测质量浓度为 3.0 g/L,采用动态光散射粒度分析仪对不同载液条件下的淀粉颗粒悬浊液的 Zeta 电位进行分析,所有检测重复 3 次。

1.2.4 非对称场流分离系统的构建及对淀粉颗粒粒径的表征

AF4 系统构建及对淀粉颗粒的分析:采用 10 kDa 再生纤维素(RC)膜和 350 μm 垫片组装的 AF4 通道构建了 AF4 系统(见图 1)。通道具有梯形的几何形状,长度为 17.4 cm,入口和出口的宽度分别为 2.2 cm 和 0.15 cm。通过 BPB 确定聚集时间,通过铁蛋白确定通道实际厚度为 290 μm。载液为 0.01% (w/v) 表面活性剂和 0.02% (w/v) NaN₃ 的去离子水。将 20 μL 淀粉颗粒悬浮液以 0.2 mL/min 的速度注入通道。检测器流速和交叉流流速分别为 1.0 和 0.3 mL/min。通过 SPD-20A 紫外

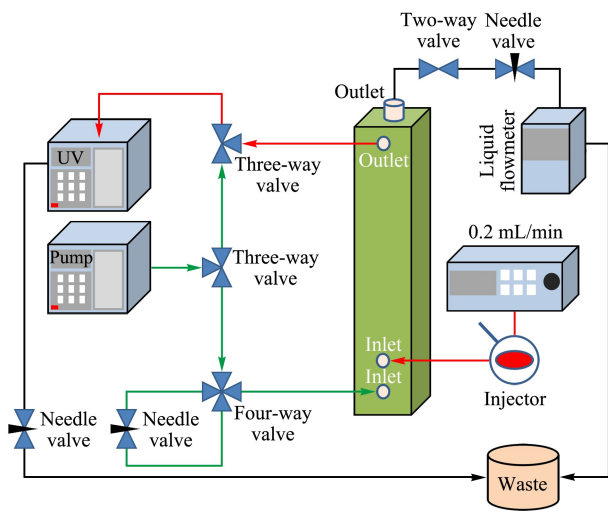


图 1 构建的 AF4 系统示意图

Fig. 1 Schematic illustration of asymmetrical flow field-flow fractionation (AF4) system

可见光检测器在 254 nm 波长下对淀粉颗粒进行检测。

AF4 在空间位阻模式下的保留时间(t_r)和样品的水合直径(d)有如下关系^[13]:

$$\log t_r = -S_d \log d + \log t_{r1} \quad (1)$$

t_{r1} 为具有单位直径的粒子的 t_r 的外推值; S_d 为样品颗粒的分离度。

斜率(S_d)和 y 轴截距(t_{r1})由校准曲线确定后, 根据公式(1)可将 AF4-UV 洗脱图谱($c(t_r)$)转换为粒径质均分布($m(d)$)^[14]:

$$m(d) = c(t_r) V S_d t_{r1} \left(\frac{t_r}{t_{r1}} \right)^{\frac{S_d+1}{S_d}} \quad (2)$$

V 为体积流速。粒径数均分布($n(d)$)^[15]:

$$n(d) = \frac{m(d)}{d^3} \quad (3)$$

淀粉溶液的分析: 使用商品化的 AF4 系统, 载液为 5 mmol NaNO₃ 的去离子水溶液, 样品浓度为 0.30 g/L, 进样流速为 0.20 mL/min, 进样体积为 50 μ L, 交叉流流速从 1.20 mL/min 指数下降到 0.05 mL/min, 半衰期($t_{1/2}$)为 3.0 min。通过 BPB 确定聚集时间, 通过铁蛋白测得通道实际厚度为 287 μ m。

2 结果与讨论

2.1 构建的 AF4 系统的分离性能

采用微米尺寸的 PS 标准样品对构建的 AF4 系

统分离性能进行了评估。检测器流速为 1 mL/min, 交叉流速为 0.3 mL/min, 选择载液为 0.02% (w/v) FL-70 和 0.02% (w/v) NaN₃ 去离子水溶液, 按体积比 1:1:1:1 混合 2、6、12 和 20 μ m 粒径的 PS 标准样品, 进行 AF4 分离性能检验(见图 2a)。实验结果显示, 构建的 AF4 系统对混合的 4 种微米级 PS 标准样品实现了基线分离, 2 和 6 μ m 粒径的 PS 分辨率为 3.65, 6 和 12 μ m 粒径的 PS 分辨率为 1.40, 4 种 PS 标准样品的校准曲线 R^2 为 0.999(见图 2b)。实验结果证明了构建的 AF4 系统对微米级样品具有良好的分辨率, 同商品化 AF4 相比, 其检测上限更高, 具有分离表征淀粉颗粒的潜力。

2.2 构建的 AF4 系统表征淀粉颗粒粒径的分布

2.2.1 载液组成对构建的 AF4 分离表征淀粉颗粒粒径的影响

载液组成是影响样品与 AF4 超过滤膜交联的主要因素之一, 根据不同样品表面性质的差异, 需采用不同的表面活性剂分散样品颗粒。本文考察了 3 种表面活性剂对 AF4 分离表征淀粉颗粒的影响。载液为 0.01% (w/v) 表面活性剂和 0.02% (w/v)

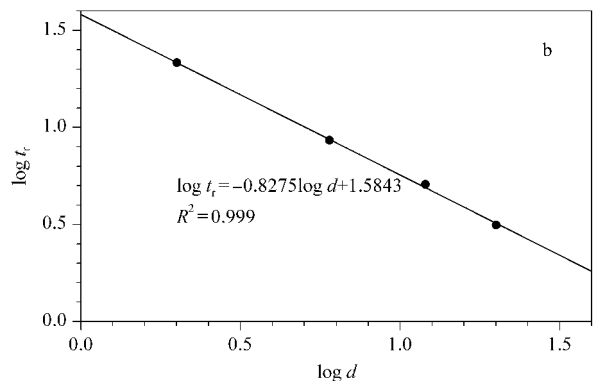
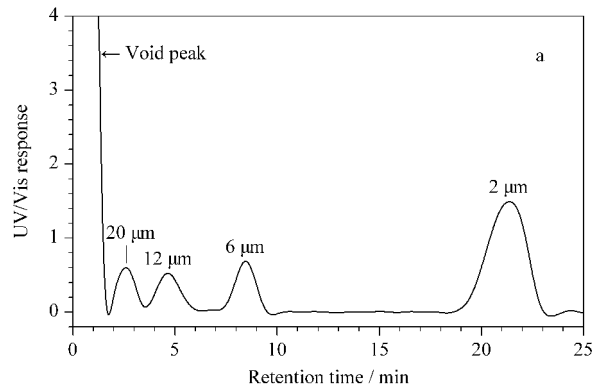


图 2 聚苯乙烯 (PS) 标准样品的 (a) AF4 洗脱谱图和 (b) 校准曲线

Fig. 2 (a) AF4 fractogram and (b) calibration curve of polystyrene (PS) standard samples

t_r : retention time; d : hydrodynamic diameter.

NaN₃(抑菌剂)的去离子水溶液。当交叉流速为 0 mL/min,直接进样品得到的峰面积为 A₀;当交叉流速为 0.3 mL/min,样品峰面积为 A₁,淀粉颗粒的回收率为 A₁/A₀。不同载液条件下,AF4 分析 3 种淀粉颗粒的回收率列于表 1。实验结果表明,3 种淀粉颗粒在 SDS 载液中的回收率最高;其中大米淀粉颗粒的回收率为 98.89%。根据 Plocková 等^[15]报道,在 AF4 分析过程中,样品在不同成分载液中的回收率差异可用静电解释。

表 1 不同载液条件下 AF4 分析淀粉颗粒样品的回收率 (n=3)
Table 1 Recoveries of starch granules obtained by AF4 with different carrier liquids (n=3)

Carrier liquid	Sample recoveries/%		
	Sweet potato	Lotus seed	Rice
Water	41.99±0.02	14.98±0.02	82.76±0.01
Polyethylene glycol <i>tert</i> -octyl-phenyl ether (Triton X-100)	75.95±0.17	57.30±0.05	83.13±0.01
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	94.03±0.02	80.47±0.03	98.89±0.04
FL-70	88.77±0.03	40.98±0.31	77.13±0.11

中性条件下,AF4 超过滤膜表面主要带负电荷,增加样品表面负电荷可提高样品与 AF4 超过滤膜之间的静电排斥力,减小样品与超过滤膜的交联,进而提高样品的回收率^[16]。Zeta 电位表征结果显示(见表 2),3 种样品在所有载液条件下带负电,相同来源的淀粉颗粒样品在 SDS 载液中的 Zeta 电位绝对值最大;在 SDS 载液中,莲子淀粉表面电位绝对值(45.33±1.36)大于大米淀粉表面电位绝对值(25.9±0.53),但是莲子淀粉颗粒的回收率小于大米淀粉颗粒,说明 Zeta 电位不是影响样品与超过滤膜表面交联的唯一因素。载液黏度与样品的结构特性共同影响样品与超过滤膜表面的交联^[17]。

2.2.2 构建的 AF4 系统表征淀粉颗粒粒径的准确性

采用 OM 检验构建的 AF4 系统表征淀粉颗粒粒径的准确性。OM 测得的淀粉颗粒粒径分布如图 3 柱状图所示。实验结果显示,红薯、莲子、大米淀粉颗粒的尺寸范围分别为 3~32 μm、2.1~23.5

表 2 不同载液条件下淀粉颗粒的 Zeta 电位 (n=3)
Table 2 Zeta potential of starch granules dispersed in different carrier liquids (n=3)

Carrier liquid	Zeta potentials		
	Sweet potato	Lotus seed	Rice
Water	-24.10±0.72	-19.97±0.64	-17.93±1.57
Triton X-100	-26.80±0.60	-24.63±0.35	-16.93±0.81
SDS	-35.97±1.10	-45.33±1.36	-25.90±0.53
FL-70	-30.43±0.74	-35.20±0.36	-20.07±0.55

μm、1.5~12 μm;平均粒径分别为 12.16±0.11 μm、16.04±0.79 μm、5.25±0.30 μm。根据公式(1)~(3),结合图 2 的 PS 标准曲线,将不同载液条件下得到的淀粉颗粒的 AF4 洗脱图谱转换成粒径数均分布(见图 3),平均粒径列于表 3。实验结果显示,AF4 测量淀粉颗粒平均粒径整体小于 OM 测量值。这主要是因为 AF4 测量的是样品水合直径,对于不规则样品,OM 采用颗粒的最长尺寸为直径。

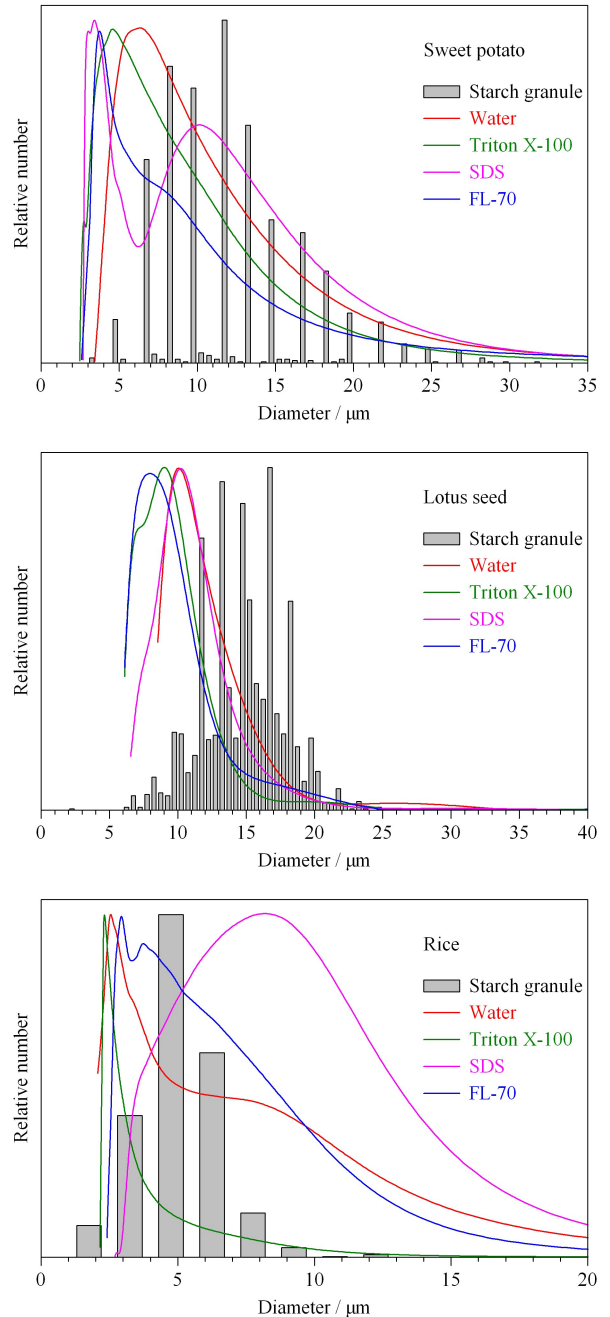


图 3 不同载液条件下淀粉颗粒的粒径数均分布
Fig. 3 Number-based size distributions of starch granules obtained with different carrier liquids

此外,实验结果显示,在纯水条件下,AF4 测量的莲子淀粉颗粒平均粒径 ($11.05 \pm 0.54 \mu\text{m}$) 小于 OM 测量值,这可能是由于在此条件下莲子淀粉的回收率为 14.98% (见表 1),只有部分莲子淀粉颗粒被检测到,导致 OM 测量的粒径分布代表性差。在 SDS 载液条件下,AF4 测得的大米淀粉颗粒粒径大于 OM 测量值。这可能是由于淀粉颗粒在 AF4 空间模式中的洗脱受重力、升力、外加力和静电排斥力影响,升力与静电排斥力之和大于外加力与重力之和,使淀粉颗粒更接近池道中心,洗脱速度更快,保留时间更短,进而和图 2 得到的 PS 标准曲线有偏差,所以大米淀粉在 SDS 载液条件下洗脱时,AF4 测量平均粒径值比 OM 测量值大。Woo 等^[18]报道:载体黏度影响 PS 的保留率,当载液黏度接近 1 时,通道底部与颗粒之间具有相互排斥作用并随载液黏度的增加保留率先下降后上升。已知载液中只含有 0.01% SDS 载液时,黏度接近于 1。为增加载液黏度,减小样品所受的静电排斥力,在 0.01% SDS + 0.02% NaN_3 载液中加入 0.001% (w/v) HPMC,使样品更接近 AF4 通道底部,相应结果见图 4。在此条件下,AF4 测量大米淀粉颗粒的数均分布与 OM 测得结果相似。

表 3 不同载液条件下 AF4 表征淀粉颗粒平均粒径结果 ($n=3$)

Table 3 Mean diameters of starch granules obtained by AF4 with different carrier liquids ($n=3$)

Carrier liquid	Mean diameters/ μm		
	Sweet potato	Lotus seed	Rice
Water	7.02 ± 0.43	11.05 ± 0.54	4.30 ± 0.49
Triton X-100	5.23 ± 0.42	8.68 ± 0.32	3.50 ± 0.06
SDS	10.13 ± 0.19	9.63 ± 0.18	6.74 ± 0.33
FL-70	4.36 ± 0.07	8.66 ± 0.02	4.49 ± 0.25

2.3 AF4 对淀粉分子尺寸分布的表征

淀粉颗粒的溶解程度影响淀粉分子尺寸分布和摩尔质量表征的准确性^[19]。本实验采用碱溶法溶解淀粉颗粒,考察了温度对淀粉颗粒溶解的影响(见图 5)。实验结果显示,溶解温度为 75°C 时,红薯淀粉回转半径(R_g)分布和重均摩尔质量(M_w)分布在 $t_r=7\sim 13 \text{ min}$ 处出现凸起,这可能是由于红薯淀粉未全溶解,发生了共洗脱现象,粒径大的颗粒与粒径小的颗粒同时洗脱出来^[20,21]。当溶解温度为 78°C 时,共洗脱现象消失,红薯淀粉溶解较好。由图 5a 可见,在 $t_r=5.4 \text{ min}$ 和 $t_r=12 \text{ min}$ 出现两个洗脱峰,前者是直链淀粉洗脱峰,后者为支链淀粉洗脱峰。当溶解温度升高至 80°C 时,AF4-dRI 信号的

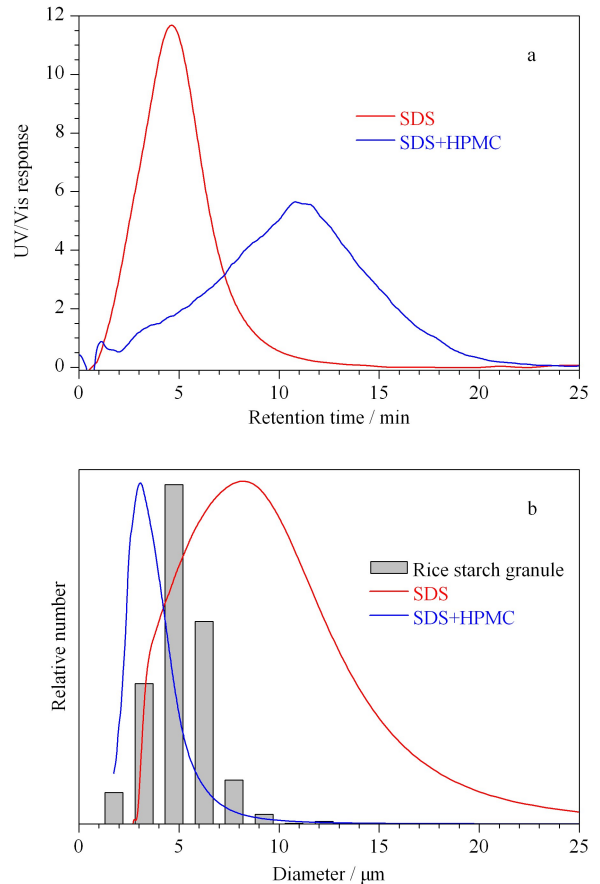


图 4 大米淀粉的 (a) AF4 洗脱谱图及 (b) 粒径数均分布
Fig. 4 (a) AF4 fractograms and (b) number-based size distributions of rice starch granules

HPMC: hydroxy propyl methyl cellulose

第一个洗脱峰信号增强,第二个洗脱峰信号降低,表明大米淀粉溶解过程中支链淀粉发生降解。综上,选择 78°C 为红薯淀粉的溶解温度。莲子淀粉和 大米淀粉的最佳溶解温度为 75°C 。在最佳溶解温度下得到的大米淀粉、红薯淀粉和莲子淀粉的 R_g 分布范围分别为 $20\sim 200 \text{ nm}$ 、 $20\sim 240 \text{ nm}$ 、 $40\sim 200 \text{ nm}$, M_w 的分布范围分别为 $1.80 \times 10^5 \sim 3.13 \times 10^8 \text{ g/mol}$ 、 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^8 \text{ g/mol}$ 、 $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^8 \text{ g/mol}$ 。

在图 5 条件下,对 3 种淀粉的 R_g/R_h 和表观密度进行表征(见图 6)。 R_g/R_h 比值在 $1.0\sim 1.5$ 范围表现为多分支结构^[22]。实验结果显示,在摩尔质量 $10^6\sim 10^8$ 范围内,大米淀粉的 R_g/R_h 的比值在 $1.2\sim 1.4$ 之间,红薯和莲子淀粉的 R_g/R_h 的比值在 $0.9\sim 1.1$ 之间。另外,3 种淀粉随着摩尔质量的增加,表观密度均呈下降趋势,说明 3 种淀粉分子随着摩尔质量的增加,结构变得疏松。在相同的摩尔质量下,大米淀粉的表观密度最大,表明其结构更为紧密。

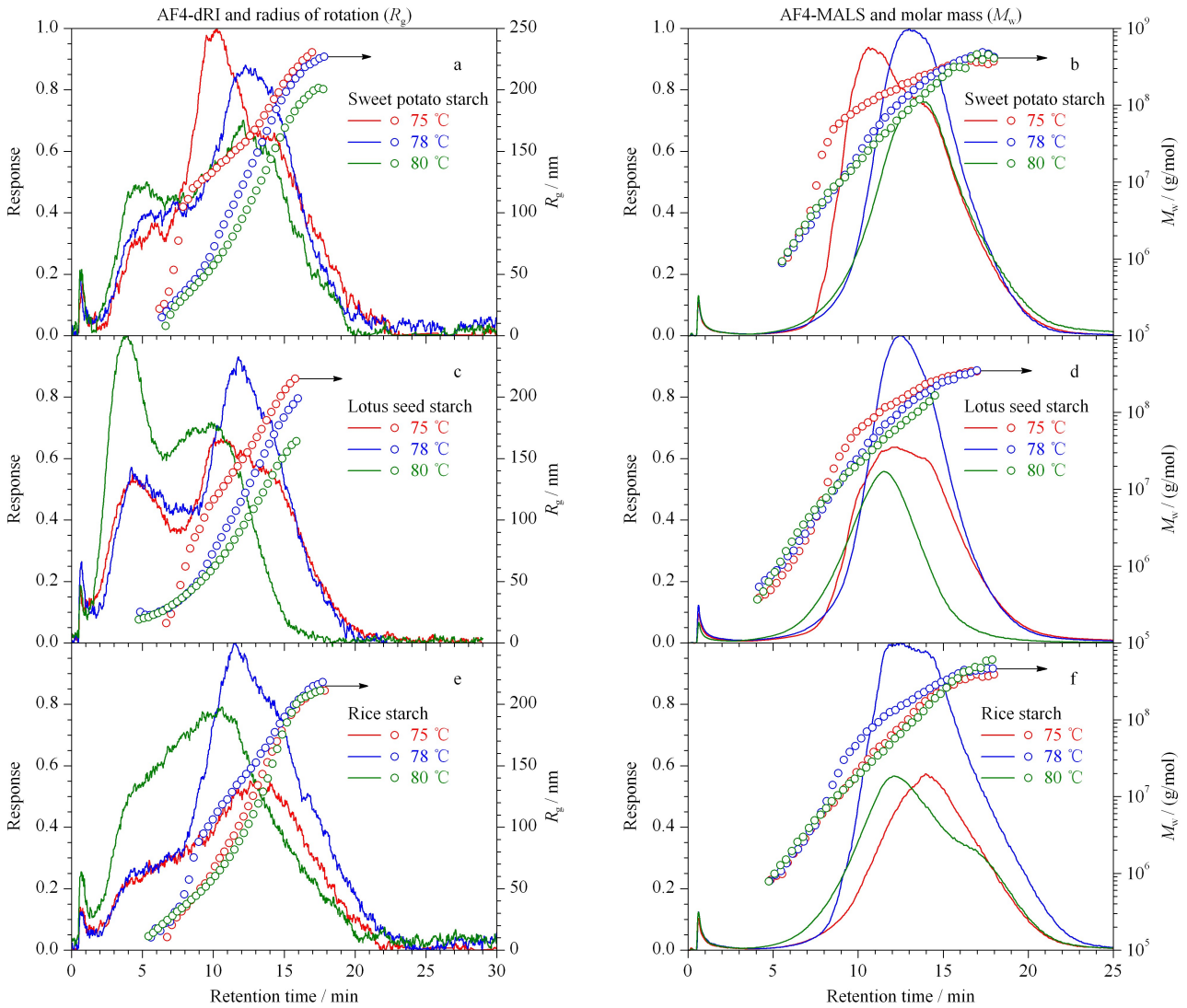


图 5 不同淀粉溶解温度下的 AF4-MALS-dRI 洗脱谱图、 R_g 和 M_w 分布图

Fig. 5 AF4-MALS-dRI fractograms, R_g and M_w distributions of starches dissolved under different temperatures

MALS: multiangle light scattering; dRI: differential refractive index.

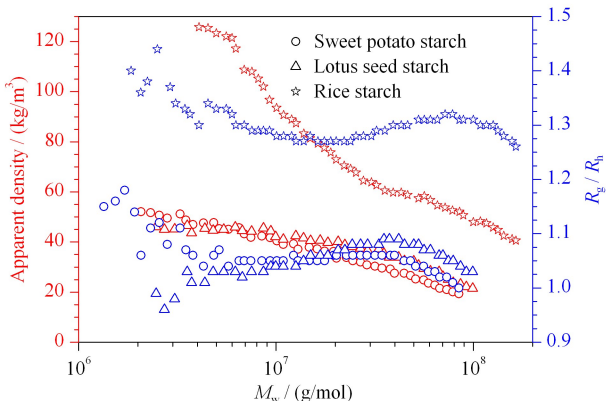


图 6 淀粉的表现密度和 R_g/R_h 分布图

Fig. 6 Apparent densities and R_g/R_h distributions of starches

R_h : hydrodynamic radius.

3 结论

本研究构建了 AF4 系统, 并对于大米、红薯和莲子 3 种植物来源不同的淀粉颗粒进行了分离及粒径表征。PS 标准样品证明了构建的 AF4 系统具有良好的分辨率; OM 粒径表征结果验证了构建的 AF4 在微米级淀粉颗粒粒径表征中的准确性。结果显示, 载液组成(例如表面活性剂和黏度)影响淀粉颗粒的 AF4 分离表征结果。商品化的 AF4 和 MALS、dRI 联用可表征淀粉分子尺寸及结构。研究结果发现, 不同来源的淀粉溶解温度不同, 结构有所差异。实验证明了构建的 AF4 结合商品化的 AF4 系统, 可在纳米至微米范围对淀粉进行分离及粒径表征。

参考文献:

- [1] Qiu C, Yang J, Ge S, et al. *LWT-Food Sci Technol*, 2016, 74: 303
- [2] Zheng B, Karski M, Taylor S. *Carbohydr Polym*, 2019, 209: 145
- [3] Mohammed O, Xu B. *Food Hydrocoll*, 2020, 112: 106286
- [4] Ortega F, Arce V B, Garcia M A. *Carbohydr Polym*, 2021, 252(2): 117208
- [5] Lin L, Huang J, Zhao L, et al. *Carbohydr Polym*, 2015, 134: 448
- [6] Su H, Tu J, Zheng M, et al. *Food Chem*, 2020, 315(4): 126209
- [7] Dou H Y, Kim K H, Lee B C, et al. *Powder Technol*, 2013, 235: 814
- [8] Giddings J C. *Sep Sci Technol*, 1966, 1(1): 123
- [9] Zhang J, Guo P P, Li H L, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(2): 169
张靖, 郭攀攀, 李惠丽, 等. 色谱, 2020, 38(2): 169
- [10] Liang Q H, Wu D, Qiu B L, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2017, 35(9): 918
- [11] HaKansson A, Ulmius M, Nilsson L. *Carbohydr Polym*, 2012, 87(1): 518
- [12] Schoch T J, Maywald E C. *Cereal Chem*, 1968, 45: 564
- [13] Giddings J C, Moon M H, Williams P S, et al. *Anal Chem*, 1991, 63(14): 1366
- [14] Dou H Y, Lee Y-J, Jung E C, et al. *J Chromatogr A*, 2013, 1304: 211
- [15] Plocková J, Chmelk J. *J Chromatogr A*, 2000, 868(2): 217
- [16] Williams P S, Moon M H, Giddings J C. *Colloid Surface A*, 1996, 113(3): 215
- [17] Dou H Y, Bai G Y, Ding L, et al. *J Chromatogr A*, 2015, 1422: 253
- [18] Woo I S, Jung E C, Lee S. *Talanta*, 2015, 132: 945
- [19] Wang W, He W, Xin J, et al. *Polymer*, 2018, 153: 643
- [20] Perez-Rea D, Zielke C, Nilsson L. *J Chromatogr A*, 2017, 1506: 138
- [21] Zielke C, Fuentes C, Piculell L, et al. *J Chromatogr A*, 2018, 1532: 251
- [22] Guo P, Li Y, An J, et al. *Carbohydr Polym*, 2019, 226: 115330