

脉冲核磁共振仪在大豆含油量测定中的应用

宋丹阳¹, 李培武^{2*}, 赵永国², 丁小霞², 周新安²

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083; 2. 中国农业科学院油料作物研究所, 湖北 武汉 430062)

摘要:用脉冲核磁共振仪建立大豆含油量核磁共振法测定标准曲线, 并进行 408 份大豆含油量的分析。脉冲核磁共振仪测定与国家标准索氏抽提法测定结果的相关系数 $r=0.9896$, 标准曲线为 $y=0.9632x+0.7937$ 。与索氏抽提法相比, 具有简便快速、安全、不损伤种子且不需烘干样品等优点。在大豆品种改良、收购及加工利用和进出口贸易等领域具有广阔的应用前景。

关键词:核磁共振仪; 测定; 大豆; 含油量

中图分类号:O652.2, S565.103.3 **文献标志码:**A

我国是食用油的生产和消费大国, 提高油料作物含油量一直是育种家改良作物的主要指标。传统方法测定油料含油量费时费力, 效率较低, 而且需破坏种子, 不利于优良品种的选育, 同时科技发展和商品流通的日益加快, 特别是生物柴油开发中高含油量能源作物的筛选也迫切需要快速、准确、高效的仪器和方法^[1,2]。国际上利用核磁共振技术 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 测定油料种子含油量始于 20 世纪 60 年代^[3], 该方法与现在使用的索氏抽提法相比, 具有快速、安全无毒、操作简便、不破坏油料种子等优点, 已经在国际上引起广泛重视, 并迅速应用到油脂工业和作物遗传育种领域进行品质分析。

脉冲核磁共振仪广泛应用于食品及工业材料中油脂、水份含量、食用油中固态脂的含量、化纤的上油率、聚合物的物理特性、牙膏和塑料制品中含氟量以及活鼠的脂肪、瘦肉和体液等的测量, 已成为快速、准确定量测定的现代分析仪器^[4,5]。与连续 NMR 相比, 脉冲 NMR 测定速度更快, 准确性更高, 尤其是不需干燥种子, 测量后的种子仍然可以发芽, 可广泛应用于育种材料中种子含油量的测定。有关核磁共振仪在油菜等小粒油籽及油脂分析中的应用已有报道^[6~9], 大豆籽粒大, 无损测定相对困难, 迄今对大豆含油量测定研究很少。本文通过对 36 份大豆种子的含油量进行核磁共振法和索氏抽提两种方法的对比测定, 对 NMR 方法测定大豆种子含油

文章编号:1007—9084 (2006) 02—0199—04

量的准确性、精密度和重现性进行了验证, 旨在为大豆品种改良、流通及加工和进出口贸易等领域提供快速实用的无损检测技术。

1 材料与方法

1.1 材料

供试大豆材料 408 份, 由中国农业科学院油料作物研究所大豆研究室提供, 取其中 36 份用于含油量索氏抽提法和 NMR 方法比对测定, 进行准确性验证, 另取 10 份用于 NMR 方法精密度和稳定性实验。

1.2 方法

1.2.1 索氏抽提法 按照农业行业标准方法 NY/T 4-1982^[10]进行。

1.2.2 NMR 方法 按照国际标准方法 ISO/CD 10565:1995 (E)^[11], 采用德国 BRUKER 公司生产的 Mq 20 脉冲核磁共振仪。取已知含油量的大豆样品 (3~5 个), 用 Mq 20 脉冲核磁共振仪测定相对应的核磁信号强度 (sig/mass), 作出标准曲线 ($r=0.9976$), 见图 1。未知大豆样品含油量通过测定其核磁信号强度, 与标准曲线比较, 计算含油量^[12]。

2 结果与分析

2.1 NMR 方法准确性验证

用索氏抽提法和 NMR 方法分别对 36 份大豆种子的含油量测定结果 (表 1) 表明: 两种方法测定

收稿日期: 2006—01—26

基金项目: 农业部重点项目; 国家科技基础条件平台项目 (2004DEA70870)

作者简介: 宋丹阳 (1968—), 男, 农艺师, 中国农业大学在职博士研究生, 从事农产品质量安全研究与管理。电话: 010-64193168, 传真: 010-64192315, E-mail: scsjdc@agri.gov.cn

* 通讯作者: 李培武, 电话: 027-86812943, 传真: 027-86812862, E-mail: peiwuli@oilcrops.cn

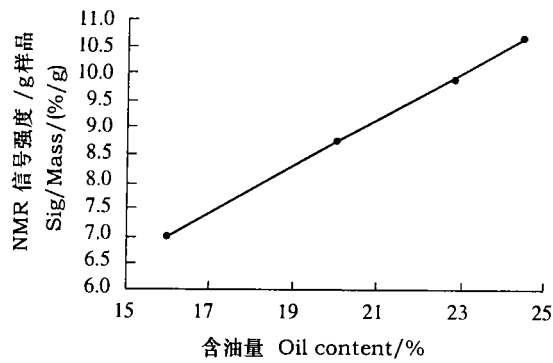


图 1 大豆含油量核磁共振法测定标准曲线

Fig 1 Standard calibration of oil content in soybean seed

结果差异最大的为 3 号样品,其相对误差为 2%,符合国家标准索氏抽提法测定含油量的允许误差要求(国家标准允许误差范围为不得高于 2%)。两种测定方法间绝对偏差为 - 0.68,相关系数为 $r = 0.9896$,标准曲线为 $y = 0.9632x + 0.7937$,表明两种

方法吻合度高。用 NMR 方法不仅准确度高,测定快速,且不损伤种子,测定后的种子仍可以正常发芽出苗。

2.2 NMR 方法精密度

取 10 份大豆种子样品,混匀后用 NMR 方法对每份样品重复测定 3 次,进行统计分析,结果见表 2。样品含油量的标准差范围在 0.03 ~ 0.07 之间,均小于 0.1,变异系数范围在 0.13% ~ 0.32%,NMR 方法对同一样品 3 次重复的含油量测定结果差异不显著,表明 NMR 方法测定大豆含油量的精密度高,重复性好。

2.3 NMR 方法稳定性

取上述 2.2 实验所用的 10 份大豆种子样品混匀,随后连续 25d 用核磁共振仪和 NMR 方法测定其含油量,并进行统计分析,考察仪器和方法的稳定性,结果见表 3。

表 1 索氏抽提法和 NMR 法测定大豆含油量结果分析

Table 1 Results of oil content in soybean by Soxhlet extraction and NMR method

编号	索氏抽提 / %	核磁共振 / %	偏差 / %	编号	索氏抽提 / %	核磁共振 / %	偏差 / %
No	(X) Soxhlet extraction	(Y) NMR	Deviatability (X - Y)	No	(X) Soxhlet extraction	(Y) NMR	Deviatability (X - Y)
1	22.81	22.97	- 0.16	19	21.45	21.57	- 0.12
2	22.78	23.01	- 0.23	20	22.33	22.13	0.20
3	22.18	22.65	- 0.47	21	21.36	21.41	- 0.05
4	20.02	20.13	- 0.11	22	22.06	22.22	- 0.16
5	19.82	19.78	0.04	23	21.89	21.79	0.10
6	20.22	20.49	- 0.27	24	19.47	19.29	0.18
7	21.64	21.26	0.38	25	22.15	22.24	- 0.09
8	21.13	21.41	- 0.28	26	20.18	20.36	- 0.18
9	15.98	16.13	- 0.15	27	21.19	21.25	- 0.06
10	24.44	24.03	0.41	28	20.87	20.91	- 0.04
11	22.31	22.22	0.09	29	21.83	21.65	0.18
12	20.15	20.03	0.12	30	20.76	20.95	- 0.19
13	20.19	20.37	- 0.18	31	22.10	21.96	0.14
14	21.04	21.17	- 0.13	32	20.23	20.45	- 0.22
15	20.88	20.76	0.12	33	20.72	20.59	0.13
16	21.73	21.60	0.13	34	21.26	21.01	0.25
17	21.32	21.16	0.16	35	21.54	21.47	0.07
18	20.76	20.82	- 0.06	36	20.27	20.40	- 0.13

表 2 大豆种子含油量 NMR 重复测定结果的统计分析

Table 2 Repeatability of soybean oil content by NMR method

项目	Item		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
重复	Replication	/ %	22.37	21.76	21.93	20.62	18.87	23.49	20.15	20.74	21.26	22.48
		/ %	22.41	21.71	21.88	20.64	18.92	23.51	20.17	20.73	21.21	22.52
		/ %	22.46	21.69	22.02	20.70	18.83	23.55	20.24	20.67	21.30	22.54
均值	/ %	Mean	22.41	21.72	21.94	20.65	18.87	23.52	20.19	20.71	21.26	22.51
标准差	Std		0.05	0.04	0.07	0.04	0.05	0.03	0.05	0.04	0.05	0.03
变异系数	/ %	CV	0.20	0.17	0.32	0.20	0.24	0.13	0.23	0.18	0.21	0.14

表 3 核磁共振仪测定大豆含油量结果稳定性实验

Table 3 Stability and variation of soybean oil content by NMR method

项目 Item		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
测定日期	4/08	22.39	21.83	21.99	20.71	18.92	23.54	20.22	20.77	21.31	22.52
(month/date)	4/13	22.47	21.95	21.93	20.63	18.87	23.37	20.02	20.59	21.28	22.57
	4/18	22.62	21.70	22.08	20.78	19.14	23.55	20.38	20.72	21.53	22.36
	4/23	22.33	21.74	21.76	20.85	18.93	23.69	20.46	20.85	21.26	22.51
	4/28	22.41	21.78	22.06	20.57	18.82	23.32	20.21	20.88	21.37	22.43
均值 % Mean		22.44	21.80	21.96	20.71	18.94	23.49	20.26	20.76	21.35	22.48
标准差 Sd		0.11	0.10	0.13	0.11	0.12	0.15	0.17	0.12	0.11	0.08
变异系数 % CV		0.49	0.44	0.59	0.54	0.65	0.64	0.84	0.55	0.51	0.37

表 4 不同大豆含油量水平下索氏抽提法和核磁共振仪测定结果比较

Table 4 Results of oil content in soybean seed by Soxhlet extraction and NMR methods

低含油量 Low oil content			中含油量 Middle high oil content			高含油量 High oil content		
索氏抽提 / % (X) Soxhlet extraction	核磁共振 / % (Y) NMR	偏差 / % Deviatability (X - Y)	索氏抽提 / % (X) Soxhlet extraction	核磁共振 / % (Y) NMR	偏差 / % Deviatability (X - Y)	索氏抽提 / % (X) Soxhlet extraction	核磁共振 / % (Y) NMR	偏差 / % Deviatability (X - Y)
17.49	17.62	- 0.13	20.81	20.99	- 0.18	22.72	22.96	- 0.24
18.40	18.51	- 0.11	20.84	20.73	0.11	22.76	23.01	- 0.25
18.59	18.41	0.18	20.86	20.68	0.18	22.77	22.66	0.11
18.61	18.82	- 0.21	20.90	21.11	- 0.21	22.78	22.93	- 0.15
18.73	19.06	- 0.33	20.93	21.07	- 0.14	22.85	22.62	0.23
18.74	18.55	0.19	20.97	20.76	0.21	22.95	22.81	0.14
18.75	18.46	0.29	20.98	20.84	0.14	23.07	22.85	0.22
18.84	19.02	- 0.18	21.03	21.30	- 0.27	23.19	23.54	- 0.35
18.95	18.77	0.18	21.08	21.28	- 0.20	23.35	23.12	0.23
18.96	18.79	0.17	21.18	20.95	0.23	23.59	23.34	0.25

分析结果表明:样品含油量的标准差范围在 0.08~0.17,变异系数范围在 0.37%~0.84%,用脉冲核磁共振仪和建立的 NMR 方法对同一样品、不同时间的含油量测定结果差异不显著,表明脉冲核磁共振仪测定大豆含油量方法稳定,重现性好。

2.4 NMR 测定大豆含油量应用及与索氏抽提法测定结果比较

用脉冲核磁共振仪和建立的 NMR 测定方法对 408 份大豆样品进行了含油量测定,并找出含油量结果差异大的 30 个大豆材料用索氏抽提法测定其含油量,结果比较见表 4。两种方法测定结果的差异符合国家标准的允许误差要求,进一步验证了 NMR 方法的准确性和稳定性。

3 结论

脉冲核磁共振仪测定大豆种子含油量准确度高,重现性好,方法稳定,结果与国家标准索氏抽提法测定结果相关系数为 0.9896;核磁共振仪测定含油量样品用量少,测定速度快,且不损伤测定样品(种子),测定后的大豆种子仍然可以播种,正常发芽出苗,为大豆品种改良及高油分育种特别是为生

物柴油开发中高含油量能源作物的筛选和改良提供了有效手段,同时,其快速、准确定量测定含油量的特点也很适合于商检部门、粮油收购和加工及进出口贸易等部门使用。

参考文献:

- [1] 谢立华,李培武,杨 湄.油菜作为优势能源作物的发展潜力与展望[J].生物加工过程,2005,3(1):28—31.
- [2] 陈小媚,李培武,丁小霞. Buchi B-811 与 YG-2 含油量测定的比较[J].中国油料作物学报,2001,23(4):75—76.
- [3] 王竹云,杨翠玲.核磁共振(NMR)测量油菜籽含油量的应用[J].西部粮油科技,2000,25(6):55—57.
- [4] 王竹云,杨翠玲.油菜种子含油量 NMR 法测定的条件优化[J].西部粮油科技,2001,26(2):46—49.
- [5] 王晓军.油菜籽含油量核磁共振测定及其不同样品的精度分析[J].上海农业科技,1986(1):35—36.
- [6] 朱之美. NH5110 核磁共振含油量测定仪在油菜籽含油量测定中的应用[J].中国油脂,1992,3:31—35.
- [7] 钦理力.核磁共振仪在油料及油脂分析中的应用[J].西部粮油科技,2000,25(1):44—45.

- [8] 王晓军. 应用核磁共振技术测定油菜籽含油量的方法研究 [J]. 作物学报, 1993, 19 (4): 289—297.
- [9] 王竹云, 雷伟侠. 纯油定标法确定核磁共振仪标准曲线的研究 [J], 分析测试技术与仪器, 2001, 7 (2): 122—126
- [10] 谷类、油料作物种子粗脂肪测定方法 [S]. 农业行业标准, 1982
- [11] 李培武, 中岛一成. Oilseeds - simultaneous determination of oil and water contents—Method using pulsed nuclear magnetic resonance spectrometry [R]. 油菜品质检测技术手册, 2003.
- [12] 布鲁克. Mq系列核磁共振分析仪应用资料 (上海), 2003.

Application of pulsed NMR for intact measurement of oil content in soybean seed

SONG Dan - yang¹, LI Pei - wu², ZHAO Yong - guo², DING Xiao - xia², ZHOU Xin - an²

(1. College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China)

Abstract: In this paper, NMR standard curve of oil content in soybean was developed and 408 materials were tested by application of pulsed NMR. The results showed significant correlation between oil contents measured by NMR and traditional soxhlet method ($r=0.9896$), with the standard curve $y=0.9632x+0.7937$. Compared with Soxhlet extraction method, NMR method was rapid, accurate and intact. The method may be widely used not only in soybean breeding, processing and imports and exports trading, but also in high oil content oilseeds resource selection in bio - diesel development

Key words: NMR; Measurement; Soybean; Oil content

油料所农业部重点开放实验室 获第四轮中期评估优秀实验室第三名

为了进一步加强部重点开放实验室的建设与管理,促进实验室整体水平的提高,根据《农业部重点开放实验室管理办法》和“关于开展第四轮农业部重点开放实验室中期评估工作的通知”(农科(计)函[2005]63号)的要求,农业部科教司组织开展了第四轮(2002—2006年)农业部重点开放实验室的中期评估工作。参加此次评估的共有83个部重点实验室,另有一个部重点实验室未报送评估材料。评估工作主要依据书面材料,并借鉴国家重点实验室新的评估指标体系,按照“依靠专家、发扬民主、实事求是、公正合理”的原则,组织有关专家对申报材料进行认真的审核和评估打分。在参评的83个实验室中,评选出优秀实验室(A类)18个,良好实

验室(B类)40个,一般实验室(C类)25个。在18个优秀实验室中,我所部重点实验室获第三名,取得了可喜的成绩。

农业部要求各实验室总结经验,加强建设和管理,使实验室真正成为我国开展高水平农业基础研究和应用基础研究、技术创新和技术应用的重要平台,真正成为聚集和培养优秀人才、学术交流的重要基地。本次评估结果将作为2007年农业部第五轮重点实验室评估命名、学科调整以及推荐“国家重点实验室”的参考依据。

中国农业科学院油料作物研究所科研处
二 六年三月二十九日