

魏利斌, 苗红梅, 李 春, 等. 芝麻籽粒脂肪含量核磁共振无损快速测定方法的建立[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(8): 386–388.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.08.112

芝麻籽粒脂肪含量核磁共振无损快速测定方法的建立

魏利斌, 苗红梅, 李 春, 张海洋

(河南省农业科学院芝麻研究中心, 河南郑州 450002)

摘要:以冷榨芝麻油为标样, 制作出核磁共振检测芝麻脂肪含量的标准曲线, 建立了核磁共振无损快速测定芝麻籽粒脂肪含量的方法(简称核磁共振法, NMR)。分别采用索氏提取法和核磁共振仪检测方法, 测定了 50 份国内外芝麻种质资源籽粒的脂肪含量, 对这 2 种方法测定值进行比较分析结果表明, 利用 NMR 法与索氏提取法测定的结果同样稳定, 籽粒脂肪含量范围在 29.48% ~ 58.71%, 而且 2 组测定结果极显著相关(系数为 $r=0.9918$), 测定值的绝对偏差仅为 0.10 ~ 2.05 百分点。与索氏抽提法相比, 核磁共振法可保证籽粒不破损, 而且操作简便、快速, 所测数据准确、可靠, 不受种子含水量、种皮色等因素的影响。因此, 该方法在今后芝麻籽粒脂肪含量快速测定和品质性状研究中具有广泛的应用前景。

关键词:芝麻; 脂肪含量; 索氏提取法; 核磁共振法

中图分类号: O482.53⁺2; S565.301 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)08-0386-03

芝麻是我国重要的优质油料作物, 其种子含油量 45% ~ 58%, 还含有丰富的蛋白质、氨基酸、维生素、芝麻酚等营养物质, 是人类最为理想的植物油脂之一。芝麻籽粒脂肪含量高是评价其品质的重要指标, 也是遗传育种工作者最关注的品质性状。在芝麻籽粒品质分析中, 多采用索氏提取法(GB/T 14772—2008《食品中粗脂肪的测定》)这一经典的方法测定芝麻种子脂肪含量。该方法测定结果准确性较高, 但操作过程繁琐、周期长、成本高, 而且需要破损磨碎待测样品, 样品用量较大, 极大地限制了芝麻优质育种的工作开展^[1]。近 10 年来, 核磁共振技术(nuclear magnetic resonance, NMR)得到了不断发展和完善, 并已成功用于大豆、花生、油菜、棉花、玉米等作物籽粒脂肪含量测定^[2-6]。该技术是基于原子核磁性的一种技术, 可用于快速定量分析检测样品, 对样品不具破坏性, 而且简便、灵敏度高^[7-8]。目前, 国内外尚未见有关利用核磁共振技术进行芝麻种子脂肪含量测定的研究报道。因此, 本研究拟定以冷榨芝麻油为标样, 建立 NMR 检测芝麻籽粒脂肪含量的标准曲线, 比较 NMR 与索氏提取法在芝麻籽粒含油量分析中的优劣性, 以期建立芝麻脂肪含量核磁共振无损快速测定方法。

1 材料与方法

1.1 供试材料

收稿日期: 2015-05-27

基金项目: 国家芝麻产业技术体系建设专项(编号: CARS-15); 公益性行业(农业)科研专项(编号: nyhyzx07-015); 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(编号: 2011CB109304); 国家自然科学基金(编号: 31301653)。

作者简介: 魏利斌(1980—), 男, 山西大同人, 博士, 副研究员, 主要从事芝麻分子育种研究。Tel: (0371)65720774; E-mail: libinwei2013@aliyun.com。

通信作者: 张海洋, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事芝麻遗传育种研究。Tel: (0371)65715936; E-mail: zhy@hnagri.org.cn。

从 2012 年芝麻资源南繁材料中选用国内外不同地区的芝麻种质材料 50 份, 编号见表 1, 其中包括白芝麻 25 份, 黑芝麻 10 份, 中间色(黄、灰、褐、棕等)芝麻材料 15 份。

1.2 索氏提取法测定芝麻籽粒脂肪含量

分别选择 HN2M01 ~ HN2M50 样品饱满籽粒 10 g, 2012 年委托农业部农产品质量监督检验测试中心(郑州), 采用国家质量技术监督局颁布的标准方法——索氏提取法^[9]测定籽粒脂肪含量, 每样重复测定 3 次, 用于计算样品脂肪含量的“平均值 ± 标准误”。所用化学试剂为国产分析纯。

1.3 核磁共振法测定芝麻籽粒脂肪含量

在选用冷榨芝麻油做标样制作 NMR 法标准曲线的基础上, 分别选择 HN2M01 ~ HN2M50 样品饱满籽粒 2 g, 利用 NMI20 核磁共振成像分析仪(上海纽迈电子科技有限公司生产)测定各样品的核磁信号强度, 再通过标准曲线计算出样品籽粒脂肪含量。每样重复测定 3 次, 用于计算样品脂肪含量的“平均值 ± 标准误”。

2 结果与分析

2.1 核磁共振法标准曲线的制定

本试验选用优质芝麻, 首先通过冷榨获得纯正的芝麻油样品, 再分别取冷榨芝麻油配制 7 个不同脂肪含量的标样, 脂肪含量分别为 0、42.31%、51.22%、62.51%、75.23%、89.22%、99.83%, 然后利用 NMI20 核磁共振成像分析仪对各标样进行核磁信号检测, 根据不同标样脂肪含量与核磁信号强度制作出 NMR 法标准曲线(图 1), 该标准曲线的回归方程为 $y=29.754x-18.774$, $r^2=1$, 表明标样中芝麻脂肪含量与核磁信号强度呈显著的线性关系。

2.2 核磁共振法和索氏提取法测定芝麻籽粒脂肪含量结果的比较

分别选用核磁共振法(NMR)与索氏提取法, 对 50 份芝麻种质资源籽粒中脂肪含量进行了检测, 结果见表 1。在索氏抽提法测定结果中, 50 份芝麻种质籽粒脂肪含量范围为

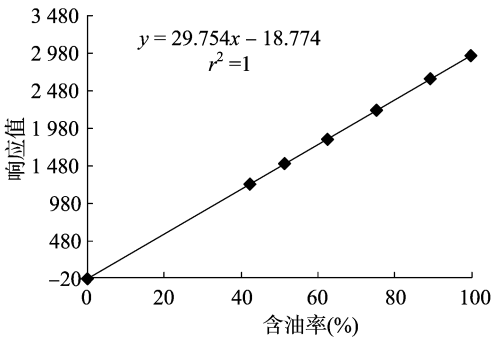


图1 核磁共振法中芝麻油脂含量标准曲线制作

30.50% ~ 58.41%, 样品具有广泛的代表性。

在 NMR 检测结果中,50 份芝麻种质籽粒脂肪含量的范围为 29.48% ~ 58.71%, 与索氏抽提法结果的差值范围为 -1.06 ~ 2.05 百分点,最小偏差为 0.10 百分点。从这 2 组测定值比较分析的结果还可以看出,具有极端(高、低)脂肪含量的 6 个芝麻种质脂肪含量排序完全相同。其中,脂肪含量最高的 3 个芝麻材料分别为 HN2M02 [58.71% (A)、58.41% (B)]、HN2M21 [58.61% (A)、57.29% (B)] 和 HN2M10 [57.71% (A)、57.09% (B)];脂肪含量最低的 3 个芝麻材料均分别为 HN2M41 [29.48% (A)、30.50% (B)]、HN2M38 [36.97% (A)、37.40% (B)] 和 HN2M45 [45.15% (A)、44.40% (B)]。对 NMR 法与索氏提取法测定数据进行相关性分析的结果表明,这 2 种方法所得的测定值极其一致,相关系数为 $r=0.9918$,说明 NMR 法测定结果稳定、可靠,可以用于芝麻籽粒脂肪含量检测。

3 讨论

芝麻是世界上最古老的油料作物之一,阐明芝麻高含油量遗传机理、进一步改良芝麻品质是芝麻遗传育种研究工作中的重要任务之一^[10-11]。目前,在分析芝麻籽粒脂肪含量过程中,多采用索氏提取法和近红外光谱法,利用索氏提取法测定的成本较高,采用近红外光谱法检测结果受种子干燥程度或种皮颜色等因素影响较大^[9,11]。为建立更为精准、快速的芝麻籽粒油脂含量检测方法,本研究采用 NMR 技术开展了芝麻籽粒油脂含量检测分析。利用 NMR 方法测定的结果表明,在 50 个国内外芝麻种质中,籽粒脂肪含量范围在 29.48% ~ 58.71%,其中白芝麻 48.58% ~ 58.71%,中间色芝麻 48.43% ~ 55.29%,黑芝麻 29.48% ~ 52.49%。

NMR 法是基于原子核的自旋角动量在外加磁场作用下的进动,利用信号/质量比来直接检测脂肪(游离与结合态脂肪)的总含量。自旋角动量的具体数值是由原子核的自旋量子数决定的^[12];核磁能够穿透整个样品进行检测,所以信号不受样品均匀性、籽粒表面特性如色度、冰晶、颜色和质地等因素影响。本研究结果也证实,在不同粒色的芝麻种质中,NMR 检测结果与索氏提取法测定结果较为一致,数据绝对偏差很小,仅为 0.10 ~ 2.05 百分点,而且这 2 种方法测定的结果呈极显著相关(系数为 $r=0.9918$);这表明 NMR 法与索氏提取法一样,适用于芝麻籽粒含油量检测,而且数据稳定、可靠。

但是,研究过程中也发现,90% 芝麻样品测定出的籽粒脂肪含量均高于索氏提取法测定的结果,且测定值标准误差索

表 1 核磁共振法与索氏提取法对 50 份芝麻种质籽粒脂肪含量测定的结果

材料编号	脂肪含量(%)		差值 (百分点)	粒色
	A:核磁共振法	B:索氏提取		
HN2M01	53.21 ± 0.02	52.11 ± 0.64	1.10	白
HN2M02	58.71 ± 0.08	58.41 ± 0.51	0.30	白
HN2M03	54.94 ± 0.01	53.31 ± 0.68	1.63	白
HN2M04	52.76 ± 0.03	51.73 ± 0.31	1.03	白
HN2M05	51.75 ± 0.04	51.38 ± 0.17	0.37	白
HN2M06	54.87 ± 0.04	54.29 ± 0.42	0.58	白
HN2M07	53.37 ± 0.04	51.32 ± 0.77	2.05	白
HN2M08	52.70 ± 0.04	51.57 ± 0.12	1.13	白
HN2M09	54.83 ± 0.06	53.59 ± 0.31	1.24	白
HN2M10	57.71 ± 0.05	57.09 ± 0.65	0.62	白
HN2M11	56.39 ± 0.05	54.35 ± 0.19	2.04	白
HN2M12	55.50 ± 0.05	55.78 ± 0.64	-0.28	白
HN2M13	49.15 ± 0.03	48.63 ± 0.41	0.52	白
HN2M14	50.73 ± 0.03	50.03 ± 0.18	0.70	白
HN2M15	52.58 ± 0.08	51.24 ± 0.43	1.34	白
HN2M16	52.62 ± 0.06	51.65 ± 0.66	0.97	白
HN2M17	53.44 ± 0.08	52.96 ± 0.16	0.48	白
HN2M18	50.61 ± 0.04	49.98 ± 0.14	0.63	白
HN2M19	54.04 ± 0.02	52.89 ± 0.46	1.15	白
HN2M20	52.58 ± 0.08	51.32 ± 0.44	1.26	白
HN2M21	58.61 ± 0.07	57.29 ± 0.76	1.32	白
HN2M22	50.23 ± 0.04	49.74 ± 0.28	0.49	白
HN2M23	56.77 ± 0.01	56.25 ± 0.20	0.52	白
HN2M24	52.00 ± 0.01	50.99 ± 0.28	1.01	白
HN2M25	48.58 ± 0.01	49.64 ± 0.49	-1.06	白
HN2M26	51.78 ± 0.02	51.09 ± 0.61	0.69	黄
HN2M27	51.15 ± 0.02	50.51 ± 0.31	0.64	黄
HN2M28	54.89 ± 0.06	53.81 ± 0.57	1.08	黄
HN2M29	50.88 ± 0.02	49.40 ± 0.29	1.48	黄
HN2M30	52.40 ± 0.07	51.98 ± 0.31	0.42	黄
HN2M31	55.29 ± 0.10	55.18 ± 0.84	0.11	黄
HN2M32	54.20 ± 0.01	53.15 ± 0.18	1.05	黄
HN2M33	50.94 ± 0.02	50.10 ± 0.18	0.84	黄
HN2M34	50.37 ± 0.04	50.06 ± 0.21	0.31	黄
HN2M35	48.68 ± 0.08	49.05 ± 0.54	-0.37	黄
HN2M36	53.33 ± 0.04	52.70 ± 0.21	0.63	灰
HN2M37	53.39 ± 0.02	52.52 ± 0.51	0.87	褐
HN2M38	36.97 ± 0.10	37.40 ± 0.29	-0.43	褐
HN2M39	48.43 ± 0.04	48.33 ± 0.39	0.10	棕
HN2M40	55.17 ± 0.01	53.26 ± 0.67	1.91	棕
HN2M41	29.48 ± 0.09	30.50 ± 0.67	-1.02	黑
HN2M42	50.36 ± 0.04	49.06 ± 0.60	1.30	黑
HN2M43	52.49 ± 0.06	50.67 ± 0.47	1.82	黑
HN2M44	51.84 ± 0.02	50.55 ± 0.19	1.29	黑
HN2M45	45.15 ± 0.05	44.40 ± 0.90	0.75	黑
HN2M46	49.74 ± 0.06	48.73 ± 0.48	1.01	黑
HN2M47	49.46 ± 0.06	49.18 ± 0.38	0.28	黑
HN2M48	50.08 ± 0.02	49.59 ± 0.07	0.49	黑
HN2M49	50.06 ± 0.02	49.07 ± 0.71	0.99	黑
HN2M50	47.17 ± 0.08	47.03 ± 0.21	0.14	黑

氏提取法的小。这可能有 2 个方面的原因,一是索氏提取法是通过乙醚、石油醚等有机溶剂将脂肪抽提出来。由于这些溶剂只能抽提游离脂肪,无法提取结合态脂肪,因此索氏提取法无法对含量较小的结合态脂肪含量进行测定,而 NMR 可以同时检测到游离和结合态脂肪含量。因此,NMR 测定值往

往要略高于索氏提取法结果,这也说明 NMR 法测定数据更为准确。二是索氏提取法测定数据易受测试环境等因素影响,如样品粉碎及干燥程度、滤纸筒高度(不能超过回流弯管,否则乙醚不易穿透样品,使脂肪不能全部提出)、有机溶剂纯度(溶剂中若含有水分,则可能将样品中的糖以及无机物抽出)、烘箱烘干时间(加热时间过长,易引起油脂氧化等,并导致质量增加)等因素。在索氏提取法测定过程中,上述因素均可对测试结果造成误差。由此可见,与索氏提取法相比,NMR 法更为准确、可靠。此外,NMR 法不需要干燥、样品粉碎等过程,不需试剂,用样量小,不对样品形成损害、操作简便、耗时短,测定过程简便、快速(短于 1 min)。因此,NMR 法在今后快速检测芝麻籽粒品质以及进一步开展芝麻油脂形成机理等相关品质研究中具有广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] 马爱萍,邵群,孙志宾,等. 3 种测定大豆种子脂肪含量方法的比较研究[J]. 河南农业科学,2011,40(3):62-64.
- [2] 张钟华,贺青,李正坤. 核磁共振法快速测量大豆含油量[J]. 现代科学仪器,2006(1):6-9.
- [3] Jambunathan R, Raju S M, Barde S P. Analysis of oil content of groundnuts by nuclear magnetic resonance spectrometry[J]. Sci Food Agric,1985,36(3):162-166.
- [4] Pedersen H T, Munck L, Engelsen S B. Low-field ^1H nuclear magnetic resonance and chemometrics combined for simultaneous determi-

nation of water, oil, and protein contents in oilseeds[J]. J Am Oil Chem Soc,2000,77(10):1069-1077.

- [5] Horn P J, Neogi P, Tombakan X, et al. Simultaneous quantification of oil and protein in cottonseed by low-field time-domain nuclear magnetic resonance[J]. J Am Oil Chem Soc,2011,88(10):1521-1529.
- [6] Kotyk J J, Pagel M D, Deppermann K L, et al. High-throughput determination of oil content in corn kernels using nuclear magnetic resonance imaging[J]. J Am Oil Chem Soc,2005,82(12):855-862.
- [7] Robertson J A, Morrison W H. Analysis of oil content of sunflower seed by wide-line NMR[J]. J Am Oil Chem Soc,1979,56(12):961-964.
- [8] Gelbard G, Brès O, Vargas R M, et al. ^1H nuclear magnetic resonance determination of the yield of the transesterification of rapeseed oil with methanol[J]. J Am Oil Chem Soc,1995,72(10):1239-1241.
- [9] GB/T 5512—2008 粮油检验 粮食中粗脂肪含量测定[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [10] Zhang H, Miao H M, Wang L, et al. Genome sequencing of the important oilseed crop *Sesamum indicum* L. [J]. Genome Biol,2013,14(1):401.
- [11] Li C, Miao H, Wei L, et al. Association mapping of seed oil and protein content in *Sesamum indicum* L. using SSR markers[J]. PloS One,2014,9(8):e105757.
- [12] Lambert J B, Mazzola E P. Nuclear magnetic resonance spectroscopy: an introduction to principles, applications, and experimental methods[J]. Philosophical Studies,1975,28(4):295-296.

(上接第 385 页)

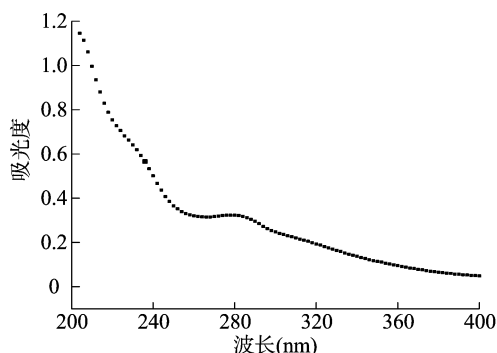


图7 木质素的紫外光谱图示

要因素有反应温度、甲酸浓度、反应时间、固液比。通过单因素多水平试验及正交试验结果分析可知,各因素对木质素产率的影响从大到小依次为反应温度>反应浓度>反应时间>固液比。甲酸法提取棉秆中木质素的最佳条件为:反应温度 90℃、反应时间 3.0 h、甲酸浓度 80%、固液比 1 g:15 mL,在此条件下木质素产率最高,达 55.7%。

参考文献:

- [1] 张勤生,王来来. 木质素及其模型化合物的加氢脱氧反应研究进展[J]. 分子催化,2013,27(1):89-97.
- [2] 马隆龙,王铁军,吴创之,等. 木质纤维素化工技术及应用[M]. 北京:科学出版社,2010:35-46.
- [3] 冯刚,吴永新,地里夏提·艾合买提. 新疆棉秆资源的开发利用[J]. 水利电力机械,2006,28(12):50-52.
- [4] 郭京波,陶宗亚,罗学刚,等. 棉秆的提取利用[J]. 中国棉业科

学,2005(4):45.

- [5] 杨淑惠. 植物纤维化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,2004:32-48.
- [6] 赵士举,李鑫,徐翠莲,等. 微波法从麦秸秆中提取木质素研究[J]. 科技导报,2008,26(18):66-68.
- [7] 黄仁亮,苏荣欣,齐威,等. 木质纤维素甲酸预处理及其组分分离[J]. 过程工程学报,2008,8(6):1103-1107.
- [8] Monck H. Ethanol from cellulosic biomass: geoeconomist performance in short middle and long term[J]. Biomass and Bioenergy,2005(28):384-388.
- [9] 邓海波,林鹿,吴真,等. 麦草甲酸不溶木质素的结构研究[J]. 中国造纸学报,2007,22(3):1-4.
- [10] 衣守志,石淑兰,李翠珍. 制浆废液中木质素的分离与利用新进展[J]. 国际造纸,2001,20(6):56-58.
- [11] 张莉,于淑静,张龙. 甲酸-盐酸体系下木质纤维素的组分分离[J]. 纤维素科学与技术,2013,21(1):56-61.
- [12] 袁艳丽,朱春山,张晓渊. 从糠醛渣中提取纤维素的工艺[J]. 化工进展,2013,32(2):466-469.
- [13] Kmdw K. Fraction of herbaceous biomass by ammonia hydrogen percolation treatment[J]. Bioengineering,1992(73):461-465.
- [14] Díaz M J, Alfaro A, García M M, et al. Ethanol pulping from tagasaste (*Chamaecytisus proliferus* L. F. ssp. palmensis) a new promising source for cellulose pulp[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research,2004,43(8):1875-1881.
- [15] 廖俊和,罗学刚. 乙酸乙酯法竹材木质素分离技术研究[J]. 林产化工通讯,2004,38(4):19-21.
- [16] 张华. 现代有机波谱分析[M]. 北京:化学工业出版社,2005:282-291.
- [17] 蒋挺大. 木质素[M]. 北京:化学工业出版社,2001:55-73.