

应用近红外分析技术快速测定玉米

赖氨酸含量方法的研究

胡传璞 衣翠文 张 明

(吉林农业科学院大豆所)

赖氨酸的测定方法有多种:染料结合赖氨酸(DBL)法;2-氯、3·5二硝基吡啶比色法;2·4·6三硝基苯磺酸法;茚三酮比色法;茚三酮染色法;液相色谱法和气相色谱法等。但这些化学方法大都是用药多、成本较高,有毒,步骤繁琐,且不易掌握,所测结果变异系数较大。近红外技术属物理测试方法,是近年来发展起来的一种快速测定方法。其特点是快速、准确、精密度高,不需化学前处理。

测定是根据谷物的成分在近红外波段(0.8—2.5 μm)有特征吸收峰,其成分的含量与其在特征吸收峰上的光强之间的相关关系加以定量的。为了开发利用进口分析仪器,更好地为农业科学育种服务,我们于1986年度利用近红外谷物品质分析仪研究了玉米中赖氨酸含量快速测定的方法。实验表明,与常规方法相比较,准确度相当于常规水平,精密度优于常规测定,是一种可靠的、快速的、经济的分析测试方法。

一、样 品 制 备

1. 样品选择

赖氨酸含量的表达单位是:克赖氨酸/100克样(绝干)。供标定样品26个,其中赖氨酸含量由0.24—0.33克赖氨酸/100克样品(绝干)均匀分布。校验样品10个,其中赖氨酸含量由0.23—0.32克赖氨酸/100克样品(绝干)。

2. 样品处理

将供试样品在恒温箱中130℃烘2小时,由高速万能粉碎机粉碎达60目粒度,装入磨口瓶中备用。

二、玉米赖氨酸的常规成分及样品光源参数的测定

1. 玉米赖氨酸的常规测定方法

玉米赖氨酸常规值,采用日立835—50型自动氨基酸分析仪分析。样品前处理使用6N盐酸110℃水解24小时后由氢氧化钠溶液中和水解液的方法进行。单位是:克赖氨酸/100克蛋白质。因为蛋白质的测定结果表示为克蛋白质/100克样品(绝干),所以常规值为氨基酸分析仪所测值乘以玉米样品蛋白质所测值,即为100克绝干样品中所含赖氨酸的克数值,也就是本文中所说的常规值。

2. 样品光密度(ΔOD)值的测定

仪器:美国Neotec公司制造的GQA—31型谷物品质分析仪。测定标定样品的 ΔOD 值:将样品充分搅拌均匀,注意装样手法,在仪器预热4小时后开始测定。

三、仪器数据处理要点

1. 该仪器用三位LED数字表头显示, 精确到小数点后一位。玉米种子中赖氨酸含量一般为 0.35 ± 0.10 克赖氨酸/100克样品(绝干), 所以应测到小数点后第三位数字。为了提高仪器的测值精度, 在标定仪器时, 将常规测定结果乘以100的数值代入计算, 并将此计算值输入到计算机中。在测定样品时, 将仪器显示值除以100即为实际值。例如, 常规值为0.31克赖氨酸/100克样品(绝干), 乘以100应为31.0, 作为标定时的数据。在测样时仪器读值28.4, 则实际测定结果应除以100而为0.28克赖氨酸/100克样品(绝干)。

2. 在进行上述处理后进行回归计算时, 有可能使 K_0 值超出两位整数, 而仪器显示的整数位只有两位。在标定仪器时截距值 K_0 若超过100, 则其值可以相应减去某值(常数)输入到计算机中以便仪器最大测值不超过表头读值。在测样时, 实际值应加上此常数值。例如, 定标计算值 K_0 为112.4, 实际输入计算机的 K_0 值可减去20, 即92.4。测样时显示值若为12.1, 实际数字应加上20, 即为32.1, 实际测定结果应除以100而为0.32克赖氨酸/100克样品(绝干)。

四、仪器标定及测定结果

1. 仪器标定数据(见表1)

表1 GQA-31型谷物品质分析仪测试数据表

序 号	样品名称	ΔOD_1	ΔOD_2	ΔOD_3	标 定 用 数 值		实 际 数 值		
					常规值	引测测值	常规值	引测测值	绝对误差
1	I-NK	-65.4	111.1	-56.8	23.8	26.2	0.24	0.26	-0.02
2	I-P	-63.1	114.2	-54.2	24.0	23.8	0.24	0.24	0.00
3	I-CK	-65.4	111.7	-54.4	24.0	26.2	0.25	0.26	-0.01
4	I-K	-64.2	107.6	-54.1	25.2	28.3	0.25	0.28	-0.03
5	I-K	-65.5	111.7	-56.0	25.2	26.0	0.25	0.26	-0.01
6	I-CK	-64.0	111.2	-52.5	25.2	26.2	0.25	0.26	-0.01
7	I-NPK	-63.9	108.6	-56.6	26.2	27.2	0.26	0.27	-0.02
8	I-P	-65.3	110.6	-57.3	26.1	26.4	0.26	0.27	-0.01
9	标 4	-67.8	112.3	-54.2	26.0	26.7	0.26	0.27	-0.01
10	标 17	-60.0	111.8	-35.6	27.4	26.9	0.27	0.27	0.00
11	I-N	-65.9	108.4	-54.6	27.2	28.4	0.27	0.28	-0.01
12	标 27	-59.2	107.4	-54.1	27.2	26.6	0.27	0.27	0.00
13	I-NPK	-66.6	109.0	-55.5	28.1	28.1	0.28	0.28	0.00
14	I-NK	-65.7	109.1	-54.9	28.1	27.6	0.28	0.28	0.00
15	I-NP	-64.7	107.0	-56.8	28.2	28.5	0.28	0.29	-0.01
16	I-PK	-64.3	108.9	-53.9	29.0	27.6	0.29	0.28	0.01
17	I-NP	-64.1	107.7	-55.0	29.2	28.1	0.29	0.28	0.01
18	标 2	-66.0	112.0	-54.5	26.7	26.2	0.29	0.26	0.03
19	标 22	-73.0	109.7	-58.4	30.1	29.6	0.30	0.30	0.00
20	标 26	-66.4	110.8	-56.2	30.1	26.8	0.30	0.27	0.03
21	标 30	-69.1	112.2	-36.0	29.8	29.9	0.30	0.30	0.00
22	标 5	-60.1	103.1	-46.0	30.6	30.8	0.31	0.31	0.00
23	I-NP	-63.0	103.4	-57.0	31.2	30.1	0.31	0.30	0.01
24	标 11	-65.2	107.6	-55.6	30.4	28.5	0.30	0.29	0.01
25	标 7	-69.5	106.0	-40.0	33.3	33.4	0.33	0.33	0.00
26	标 9	-66.1	100.0	-55.7	33.0	33.5	0.33	0.34	-0.01

2. 多元回归结果

$Y(\%) = 79.63 - 36.9 \times (\Delta OD_1) - 62.3 \times (\Delta OD_2) + 14.7 \times (\Delta OD_3)$ $r = 0.8629$ 其中y值为显示数值; 79.63、-36.9、-62.3、14.7分别为 K_0 、 K_1 、 K_2 、 K_3 的回归常数; ΔOD_1 、 ΔOD_2 、 ΔOD_3 分别为样品的三个光密度值的一阶导数值。

3. 检验样品

表2 检 验 样 品 数 据

序 号	样品名称	常 规 值	引机测值	绝对误差	序 号	样品名称	常 规 值	引机测值	绝对误差
1	I—PK	0.24	0.23	0.01	6	Ⅱ—N	0.27	0.27	0.00
2	I—CK	0.23	0.22	0.01	7	标 3	0.28	0.28	0.00
3	I—K	0.26	0.24	0.02	8	标 28	0.29	0.29	-0.01
4	Ⅱ—PK	0.26	0.25	0.01	9	标 14	0.32	0.30	0.02
5	Ⅱ—P	0.27	0.27	0.00	10	标 15	0.30	0.31	-0.01

* 常规值及引机测值的单位是克赖氨酸/100克样品(绝干)

取标22号样品测定8次, 每次测定间隔2分钟, 其结果如表3。

表3 重 复 测 定 数 据

次 数	1	2	3	4	5	6	7	8
测 值	0.30	0.30	0.30	0.29	0.30	0.30	0.29	0.30
绝对误差	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00

标22号样品常规值为0.30克赖氨酸/100克样品(绝干)。实测 $\bar{X} = 0.30$, $CV\% = 1.56\%$

五、讨 论

由定标结果可以看出, 相关系数 $r = 0.8629$ 与文献报道值相近。最大绝对误差 ≤ 0.03 , 符合一般分析结果误差范围中规定的参考值。样品重复测定结果, 变异系数为 $CV\% = 1.56\%$ 。说明此定标准确, 测样精密度高, 方法可靠。

(上接第60页)

参 考 文 献

(1) 华中农学院土化系农化教研室编: 《微量元素营养与微肥施用》, 湖北农业机械印刷厂出版, 1984, 10。
(2) 中国科学院南京土壤研究所: 《主要作物营养失调症状图谱》, 农业出版社, 1982, 12。