

近红外光谱技术在检测转基因油菜籽中芥酸和硫甙上的应用研究

芮玉奎¹, 黄昆仑^{1,2}, 王为民³, 郭晶¹, 金银花¹, 罗云波^{1*}

1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083
2. 农业部农产品质量安全监督检验测试中心, 北京 100083
3. 农业部科技发展中心, 北京 100026

摘要 随着转基因食品的迅速发展,人们越来越关心其食用安全性。以转基因油菜及其亲本为实验材料,借助于近红外光谱仪对转基因油菜及其亲本中的芥酸和硫甙进行了测定分析:扫描区间为 12 000~4 000 cm^{-1} ,分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描次数为 64 次。结果显示近红外检测样品的结果与通用方法结果相近,说明通过扫描光谱加上数学和计算机软件分析,非常准确、方便的测定了转基因油菜中的芥酸和硫甙。结果表明,转基因油菜中的芥酸含量明显高于亲本中的含量,芥酸含量是非转基因亲本 1.5~2.0 倍;硫甙含量也表现出芥酸相同的规律,转基因油菜中显著高于其相应亲本,是亲本含量的 1.3~1.51 倍以上。所以,在转基因作物的育种过程中,在改善个别性状的同时,如何保持其他优良性状应当引起重视。

关键词 近红外光谱;转基因食品安全;检测;芥酸;硫甙

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2006)12-2190-03

引言

转基因食品安全越来越受到人们的广泛关注,目前关于转基因食品安全性的研究主要集中在外源蛋白和报告基因上。但是,外源基因的导入会直接打破原生物基因组,从而会引起其他相应的连锁反应,进而导致食品安全问题。其中非常重要的一方面就是引起生物中原有毒素含量的变化,例如油菜中的芥酸和硫甙、玉米中的植酸、棉籽中的棉酚等^[1]。

目前,测定油菜中芥酸的通用方法是应用气相色谱法^[2];测定硫甙的国际通用方法是液相色谱法^[3,4]。但是这些方法都是要破坏油菜籽的结构和去除油菜中其他的化学成分,程序复杂、影响因素较多;近年来随着近红外在农业上的应用^[5,6],国内外已经有人利用近红外等先进的分析仪器来测定芥酸、硫甙,取得了较好的结果^[7-11]。本文利用近红外技术对转基因油菜及其亲本种子中的芥酸、硫甙进行了测定,同时与国际通用的方法进行了比较,结果进一步论证了近红外光谱(NIRS)法测试油菜籽中硫甙含量的可行性和测试效果。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 油菜籽样品

转基因油菜籽(GT73-1, GT73-2)及其亲本(RT73-1, RT73-2)由美国杜邦公司提供。从全国范围内征集的 200 份材料中选出 137 份有代表性的材料组成样品集。样品集分为校正集和检验集,校正集样品用于建立芥酸、硫甙模型和模型的内部交叉验证,检验集样品用于模型的外部验证;样品集样品量为 50 $\text{g} \cdot (\text{Portion})^{-1}$ 。样品集样品 72 份,其中校正集样品 36 份;检验集样品 30 份。

1.1.2 仪器

实验所用仪器为 Verctor 22/N 型傅里叶变换近红外光谱仪(Bruker 公司);高效液相色谱采用 Agilent 1100 液相色谱仪, C_{18} 反相柱和紫外检测器;气相色谱采用 Agilent 6890E 气相色谱仪, FID 检测器。

1.2 方法

芥酸测定^[2]:气相色谱法,采用国家(际)标准(GB/T 17377—1998), ISO 5508:1990。

硫甙测定^[3,4]:液相色谱法,采用国际标准(ISO 9167—

收稿日期:2005-07-10, 修订日期:2005-10-20

基金项目:中国农业大学科研启动基金项目(2005028), 国家重点基础研究规划“973”项目(G199011701), 国家自然科学基金项目(30270934)资助

作者简介:芮玉奎, 1973 年生, 中国农业大学食品科学与营养工程学院讲师 *通讯联系人

1: 1992); 芥酸、硫甙标准值由农业部油料及制品质量监督检验测试中心提供。近红外光谱采集^[10, 11]: 近红外光谱采集, 扫描区间为 $12\ 500 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$, 分辨率 $4\ \text{cm}^{-1}$, 扫描次数为 64 次, 信噪比 (S/N) 10 000; 波长准确度为 $0.01\ \text{cm}^{-1}$ 。标准样品的近红外光谱采集后, 通过光谱预处理和 Bruker OPUS 软件包中的定量分析软件建立完整油菜籽芥酸、硫甙测定模型, 并对所建立的模型进行内部交叉法证实和外部检验集样品验证。

2 结果分析

2.1 芥酸含量

对样品集中的 72 份样品中芥酸含量进行了测定, 芥酸含量范围: $0.22\% \sim 39.47\%$; 转基因油菜及其亲本中芥酸含量如表 1 所示。所测 2 个转基因品种中芥酸含量均在 $3.48\% \sim 4.41\%$ 范围内, 而它们的亲本中芥酸含量只是在 $2.20\% \sim 2.31\%$ 范围内, 并且气相色谱法与近红外方法检测结果非常相近, 相差 2% 以内。

Table 1 Content of erucic acid in transgenic rapeseed and their parent(%)

品种	GC 法	NIRS 法	偏差
GT73-1	4.36	4.41	- 1.147
RT73-1	2.20	2.23	- 1.364
GT73-2	3.54	3.48	1.695
RT73-2	2.31	2.33	- 0.866

2.2 硫甙含量

对样品集中的 72 份样品中硫甙含量进行了测定, 硫甙含量范围: $19.7 \sim 133.7\ \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$; 转基因油菜及其亲本中硫甙含量如表 2 所示。所测 2 个转基因品种中硫甙含量均在 $33.71 \sim 35.67\ \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内, 而它们的亲本中硫甙含量只是在 $22.37 \sim 25.52\ \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内, 并且气相色谱法与近红外方法检测结果非常相近, 相差 3% 以内, 结果与芥酸

结果非常相似。

Table 2 Content of glucosinolate in transgenic rapeseed and their parent($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)

品种	HPLC 法	NIRS 法	偏差/ %
GT73-1	35.67	34.44	3.448
RT73-1	23.60	22.37	5.212
GT73-2	33.71	34.12	- 1.216
RT73-2	25.52	25.37	0.588

3 讨论

文章通过近红外方法对转基因油菜及其亲本中芥酸和硫甙含量进行了相应测定, 以验证转基因油菜籽的食用安全性, 同时借助国际通用的 GC 和 HPLC 方法对上述样品结果进行验证, 结果显示近红外是一种非常行之有效的检测方法。程序简单, 结果可靠, 最重要的是近红外可以在对油菜种子没有破坏的情况下检测其中的芥酸和硫甙, 为今后植物种子中毒素的检测提供了一种更先进的检测方法。

转基因食品作为一种新型食品类型, 虽然没有确凿的证据证明转基因食品是不安全的, 但是即使主张转基因食品安全的科学家也同样提醒人们对转基因食品进行系统的检测和标识, 而植物中毒素含量的变化是人们关注的重点之一。本文结果显示, 转基因油菜籽中的硫甙和芥酸含量比其亲本种子中的含量有了大幅度的提高, 与前人研究有相似之处^[1], 差别更明显, 例如 GT73-1 芥酸和硫甙的含量比非转基因亲本分别增加 98.2% 和 53.2%; 变化较小的 GT73-2 也分别增加 51.1% 和 32.1%, 这无疑会增加菜子油的毒害和饼粕的再利用。

虽然不能够通过两对品种的检测数据就说明转基因油菜甚至是转基因作物是不安全的, 但是这证明外源基因的插入可以引起到其他方面的变化, 这些变化可能会导致食品安全问题。所以, 在转基因作物的育种过程中, 在改善个别性状的同时, 如何保持其他优良性状应当引起重视。

参 考 文 献

- [1] HAN Jun-hua, YANG Yue-xin, WANG Zhu, et al (韩军花, 杨月欣, 王竹, 等). Journal of Hygiene Research (卫生研究), 2004, 33(6): 713.
- [2] GB/T 17377—1998.
- [3] ISO9167—1: 1992.
- [4] WU Xin-yong, SHEN Ren-feng (吴新镛, 沈任峰). Chinese Oil Plants (中国油料), 1990, 12(4): 34.
- [5] XU Guang-tong, YUAN Hong-fu, LU Wan-zhen (徐广通, 袁洪福, 陆婉珍). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2000, 20(2): 134.
- [6] YING Yi-bin, LIU Yan-de, FU Xia-ping (应义斌, 刘燕德, 傅霞萍). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2006, 26(1): 63.
- [7] WU Jian-guo, SHI Chun-mei, FAN Long-jiang (吴建国, 石春梅, 樊龙江). Journal of the Chinese Cereals and Oils Association (中国粮油学报), 2002, 17(2): 59.
- [8] WANG Duo-jia, ZHOU Xiang-yang, JIN Tong-ming, et al (王多加, 周向阳, 金同铭, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2004, 24(4): 447.
- [9] ZHANG Ye-hui, ZHAO Long-lian, LI Xiao-wei, et al (张晔晔, 赵龙莲, 李晓薇, 等). Acta Laser Biology Sinica (激光生物学报), 1998,

7(2): 138.

- [10] DING Xiao-xia, LI Pei-wu, LI Guang-ming, et al(丁小霞, 李培武, 李光明, 等). Chinese Journal of Oil Crop Sciences(中国油料作物学报), 2004, 26(3): 76.
- [11] Valescal L, Becker H C. Plant Breeding, 1998b, 117(B): 97.

Detection of Erucic Acid and Glucosinolate in Intact Rapeseed by Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy

RIU Yu-kui¹, HUANG Kun-lun^{1,2}, WANG Wei-min³, GUO Jing¹, JIN Yin-hua¹, LUO Yun-bo^{1*}

1. Laboratory of Food Technology of China Agricultural University, Beijing 100083, China
2. Supervision Inspection and Test Center of Farm Products of Agricultural Ministry, Beijing 100083, China
3. Center of Science and Technology of Agricultural Ministry, Beijing 100026, China

Abstract With the rapid development of transgenic food, more and more transgenic food has been pouring into the market, raising great concern about transgenic food's edible safety. To analyze the content of erucic acid and glucosinolate in transgenic rapeseed and its parents, all the seeds were scanned intact by continuous wave of near infrared diffuse reflectance spectrometry ranging from 12 000 to 4 000 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and 64 times of scanning. Bruker OPUS software package was applied for quantification, while the results were compared with the standard methods. The results showed that the method of NIRS was very precise, which proved that infrared diffuse reflectance spectroscopy can be applied to detect the toxins in transgenic food. On the other hand, the results also showed that the content of erucic acid in transgenic rapeseeds is 0.5-1.0 times higher than that of their parents, and the content of glucosinolate in transgenic rapeseeds is 1.3-0.6 times higher than that of their parents.

Keywords Near-infrared spectroscopy; Transgenic food safety; Detection; Erucic acid; Glucosinolate

(Received Jul. 10, 2005; accepted Oct. 20, 2005)

* Corresponding author

更 正

刊于本刊第 26 卷(2006 年)第 10 期(10 月出版)第 1923 页上的论文《基于迭代初始化遗传算法的光谱波段选择及其在感冒液多组分测定中的应用》,其中作者简介应为:“成 飙,1981 年生,浙江大学化学工程与生物工程学系博士研究生”,“陈德钊”应为“通讯联系人”。

特此更正。

《光谱学与光谱分析》期刊社

2006 年 12 月 8 日