

Afdeling Algemene Chemie 1986-09-29
RAPPORT 86.82

Onderwerp: Oriënterend onderzoek naar de
 mogelijkheid om met behulp
 van NIRS het gehalte aan olie
 en γ -linoleenzuur in teunis-
 bloemzaad te bepalen.

Verzendlijst: directeur, directie VKA, sektorhoofd, directie DLO,
 Miedema (CAD KW), Rynja, Wolsink (IBVL), ten Hag (PAGV),
 Wander (Proefboerderij "Rusthoeve"), Scheffers (LU,
 vakgroep plantentaxonomie), afdeling AC (3x), cir-
 culatie, v.d. Worp, De Ruig, Huf.

RAPPORT 86.82

Pr.nr. 505.6050

Project: Ontwikkeling methoden van onderzoek van voedings- en voeder-
middelen met behulp van NIRS.

Onderwerp: Oriënterend onderzoek naar de mogelijkheid om met behulp
van NIRS het gehalte aan olie en γ -linoleenzuur in
teunisbloemzaad te bepalen.

Doel:

Nagaan of met behulp van NIRS het gehalte aan olie en γ -linoleenzuur
in teunisbloemzaad voldoende nauwkeurig te bepalen is.

Samenvatting:

Van 21 monsters teunisbloemzaad zijn met behulp van verschillende
rekenmethoden correlatieberekeningen uitgevoerd tussen de chemisch
bepaalde gehalten aan olie en γ -linoleenzuur en nabij- infrarood
reflectiewaarden van de monsters, gemeten bij 350 verschillende
golflengten tussen 1100 en 2500 nm.

Conclusie:

Met NIRS kunnen de gehalten aan olie en γ -linoleenzuur in teunis-
bloemzaad - zonder enige vorm van monstervoorbereiding - voor routine-
matig onderzoek voldoende nauwkeurig bepaald worden. Voor het olie-
gehalte werd een standaarddeviatie berekend van 0,5% bij een range van
12,3-22,0%. Voor het gehalte aan γ -linoleenzuur was de standaard-
deviatie 0,07% bij een range van 1,45-2,20%.

Voor een meer algemeen bruikbare ijklijn is uitbreiding van de
monsterijkset met ca. 30 monsters gewenst.

Verantwoordelijk : drs N.G. van der Veen. 

Medewerkers/samenstellers: A.J. van Munsteren, R. Frankhuizen. 

Projectleider : R. Frankhuizen. 

1. Inleiding

In het kader van uitbetaling naar kwaliteit is het voor de farmaceutische industrie van belang het gehalte te kennen van het γ -linoleenzuurgehalte in de olie van teunisbloemzaad. Oriënterend onderzoek laat zien dat het betreffende vetzuur gaschromatografisch goed te bepalen is (1). De daarvoor uit te voeren vetextractie, als ook de gaschromatografische bepaling is arbeidsintensief en dus duur. Uit het onderzoek blijkt dat het γ -linoleenzuurgehalte in het zaad goed correleert met het oliegehalte. Daarom kan waarschijnlijk met een bepaling van het totaal oliegehalte worden volstaan.

Om verdere reductie van de analysetijd c.q. kosten te verkrijgen is nagegaan of met behulp van Nabij Infrarood Reflectie Spectroscopie (NIRS) het gehalte aan olie en γ -linoleenzuur in teunisbloemzaad voldoende nauwkeurig te bepalen is.

2. Materiaal en methoden

2.1 Monsters

Voor het oriënterend onderzoek zijn 21 monsters teunisbloemzaad van de proefboerderij "Rusthoeve" gebruikt (tabel 1). 5 van deze monsters (A1, A2, B1, B2 en O) waren mengmonsters en bevatten veel kaf e.d.

2.2 Chemische analyse

Het oliegehalte is bepaald volgens Intern Analysevoorschrift A 104 (extractie m.b.v. petroleumether).

Het γ -linoleenzuurgehalte van de olie is bepaald volgens NEN 6302/6334 (gaschromatografisch met behulp van een capillaire kolom in plaats van een gepakte kolom).

2.3 Apparatuur

De NIR-apparatuur bestond uit een Technicon Infra Alyzer-500 (IA-500), gekoppeld aan een HP-1000 minicomputer. Dit instrument is een computer-gestuurde spectrofotometer, uitgerust met een monochromator met behulp waarvan spectra werden opgenomen over een golflengtegebied van 1100-2500 nm. Hierbij werd om de 4 nm de reflectie gemeten.

Voor een meer uitgebreide beschrijving van deze apparatuur en het gebruik in de praktijk wordt verwezen naar het "Operation Manual" van de Infra Alyzer-500 (2).

Tabel 1. Gehalte aan olie, γ -linoleenzuur in olie en γ -linoleenzuur in zaad van Teunisbloemen.

Monsternummer	% olie	% γ -linoleen- zuur in olie	% γ -linoleen- zuur in zaad
4726	20.1	10.1	2.03
4727	21.3	10.2	2.17
4728	14.0	11.3	1.58
4729	19.0	10.5	1.99
4730	15.2	11.0	1.67
4731	20.4	10.2	2.08
4732	20.5	10.1	2.07
4733	13.0	11.5	1.50
4734	21.5	10.2	2.19
4735	22.0	10.0	2.20
4736	12.8	11.5	1.47
4737	18.1	10.3	1.86
5129	18.5	10.1	1.87
5130	16.6	10.0	1.66
5131	19.4	9.7	1.88
5132	18.6	9.9	1.84
A1	18.5	10.4	1.92
A2	12.3	11.8	1.45
B1	18.9	10.8	2.04
B2	14.1	11.4	1.61
O	17.1	11.1	1.89

2.4 NIRS analyse

De monsters zijn, zonder enige vorm van monstervoorbereiding, bij gebruik van een gesloten monstercup in enkelvoud ingelezen. De reflectiewaarden van de metingen verkregen bij gebruik van 350 golflengten werden opgeslagen op een "fixed hard disc" in de $\log 1/R$ (R =reflectie) vorm.

Met behulp van een "multiple lineaire regressie" programma (programma: "all combination search") werden golflengten geselecteerd en calibratiefactoren berekend die in combinatie de hoogste multiple correlatiecoëfficiënt (R) en de laagste standaardafwijking van de verschillen gaven (SEE = standard error of estimate) tussen de NIR-waarden en de chemisch bepaalde gehalten. Tevens werd nagegaan of met 1e of 2e afgeleide spectra betere resultaten verkregen konden worden.

3. Resultaten

3.1 Olie

Voor de bepaling van het oliegehalte werden de beste resultaten verkregen met een "all combination" berekening met 4 golflengten (tabel 2). Hiermee werd een multiple correlatiecoëfficiënt berekend tussen het oliegehalte bepaald met de referentiemethode en het oliegehalte bepaald met de IA-500 van 0,99 met een standaardafwijking van de verschillen (SEE) van 0,51%. De oliegehalten van de monsters varieerden van 12,3% tot 22,0%. Bij de calibratieprocedure gaf golflengte 2140 nm de hoogste lineaire correlatie (0.68).

Bij deze golflengte ligt o.a. het absorptiemaximum voor de combinatiebanden van de C-H rekvibraties (3,4) en voor de C-H buigvibraties in de groep. $CH=CH$. (3,5,6,7).

Tabel 2. Nabij infrarood reflectie - gegevens van olie in teunisbloemzaad verkregen met de IA-500.

Rekenwijze	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	R	SEE
step-up	2140	2116	2228	2200	0,95	1,05
All combination	1128	1352	1380	1982	0,99	0,51
1e afgeleide	1372	1720			0,98	0,70
2e afgeleide	1344	1484			0,98	0,67

3.2 γ -linoleenzuurgehalte in zaad.

Van het γ -linoleenzuurgehalte in zaad werd m.b.v de all combination rekenmethode bij gebruik van 3 golflengten een multiple correlatiecoëfficiënt berekend van 0,96 met daarbij een standaardafwijking van de verschillen van 0,067% (tabel 3). De γ -linoleenzuurgehalten in het zaad varieerden van 1,45 - 2,20%.

Bij de calibratieprocedure gaf golflengte 2140 nm (evenals bij de calibratieprocedure van olie!) de hoogste lineaire correlatie (0,58).

Tabel 3: Nabij infrarood reflectie - gegevens van γ -linoleenzuur in teunisbloemzaad verkregen met de IA-500.

Rekenwijze	λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	R	SEE
step-up	2140	2108	2144	2092	0,95	0,082
All combination	1352	1380	1884		0,96	0,067
1e afgeleide	1656	2464			0,97	0,067
2e afgeleide	1344	1748			0,96	0,068

4. Discussie

Zowel de keuze van de geselecteerde golflengten voor de bepaling van olie m.b.v. NIRS als de correlatiecoëfficiënt met daarbij een - voor routinematig gebruik acceptabele - standaardafwijking van de verschillen wijzen op een kwantitatieve toepassing van NIRS voor de bepaling van olie in teunisbloemzaad.

Hierbij is monstervoorbereiding overbodig. Wel is geconstateerd dat aanwezigheid van veel kaf e.d. de bepaling negatief beïnvloedt. De berekende resultaten kunnen dan ook nog verbeterd worden door die monsters met veel kaf (mengmonsters) buiten de calibratieprocedure te laten. Een verdere verbetering kan verkregen worden door de inlezing in meervoud (triplo) uit te voeren.

Hoewel bij het "step-up" programma de voor de hand liggende golflengte van 2140 nm wordt meegenomen, ontbreekt deze in de "all combination" berekening (tabellen 2 en 3). De in deze berekening gekozen golflengten lijken overeen te komen met die van de boventonen van de CH-rekvibraties.

Omdat het γ -linoleenzuurgehalte in het zaad een hoge correlatie vertoont met het oliegehalte (0,98, fig 2), is het niet duidelijk of de berekende correlatie voor de bepaling van γ -linoleenzuur met NIRS afkomstig is van de olie-gehalten of de γ -linoleenzuurgehalten. Ook de golflengtekeuze (tabel 2 en 3) en de correlatiediagrammen van γ -linoleenzuur en olie (fig 1) geven hierin geen duidelijkheid. Onderzoek aan zuiver γ -linoleenzuur kan hierin wellicht opheldering geven. Oriënterend onderzoek naar de bepaling van de vetzuursamenstelling van verschillende oliën en vetten m.b.v. NIRS sluit een kwantitatief gebruik van NIRS voor de bepaling van een aantal karakteristieken van vetzuren echter niet uit. Verrassend hoge correlatiecoëfficiënten worden bij dit onderzoek berekend voor o.a. de bepaling van γ -linoleenzuur ($R = 0,95$).

Nader onderzoek omtrent de specifieke golflengtekeuze bij de bepaling van γ -linoleenzuur is gewenst.

Het beschreven onderzoek heeft niet tot doel gehad een "universeel" toepasbare ijklijn te ontwikkelen. Indien dit wenselijk is is uitbreiding van de bestaande calibratieset met ca. 30 monsters nodig.

5. Conclusie

- Kwantitatieve bepaling van het oliegehalte en het gehalte aan γ -linoleenzuur van teunisbloemzaad m.b.v. NIRS is goed mogelijk (SEE= 0,51% resp. 0,067%).
- De nauwkeurigheid van de bepaling wordt negatief beïnvloed door de aanwezigheid van kaf e.d. in het monster.
- Er zijn aanwijzingen dat de bepaling van het γ -linoleenzuurgehalte in teunisbloemzaad m.b.v. NIRS niet (alleen) gebaseerd is op de hoge correlatie tussen het oliegehalte en het gehalte aan γ -linoleenzuur in de olie.

Literatuur

1. RIKILT rapport 86.83 Bepaling van het oliegehalte en γ -linoleenzuur halte in teunisbloemzaden.
2. Operation Manual Technicon Infra Alyzer-500 Publication no. TA 8-2512-00.
3. R.B. Roy and I. Bahl, Theoretical basis for the analysis of fats and oils by NIRA. Presented at the 2nd Annual NIRA symposium. Technicon Corporation 511 Benedict Avenue Tarrytown, NY 10591 june 1982.
4. H. Mark, Unpublished results.
5. D.P. Law and R. Tkachuk, Cereal Chem 54 (1977) 256.
6. O.H. Wheeler, Chem. Rev. 59 (1959) 629.
7. R.F. Godda, Adv. Anal. Chem. Instrum.1 (1960) 347.

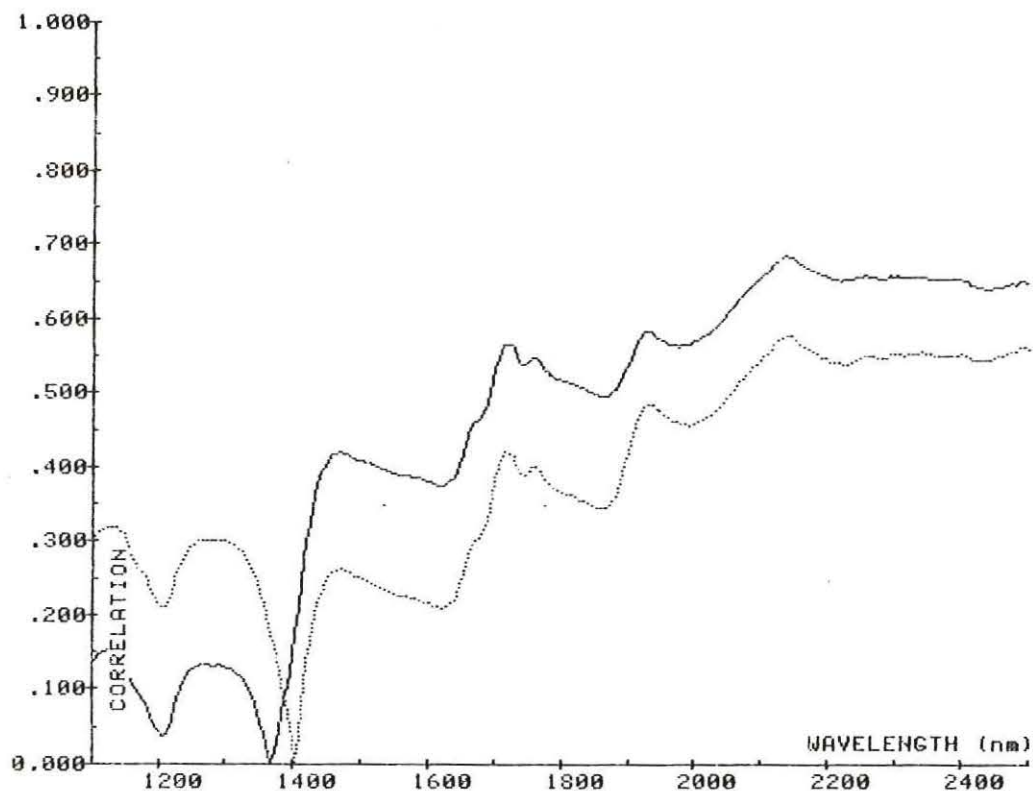


Fig 1. Correlatiediagram oliegehalte (---) en γ -linoleenzuur (....) in teunisbloemzaad versus absorptie bij 350 golflengten.

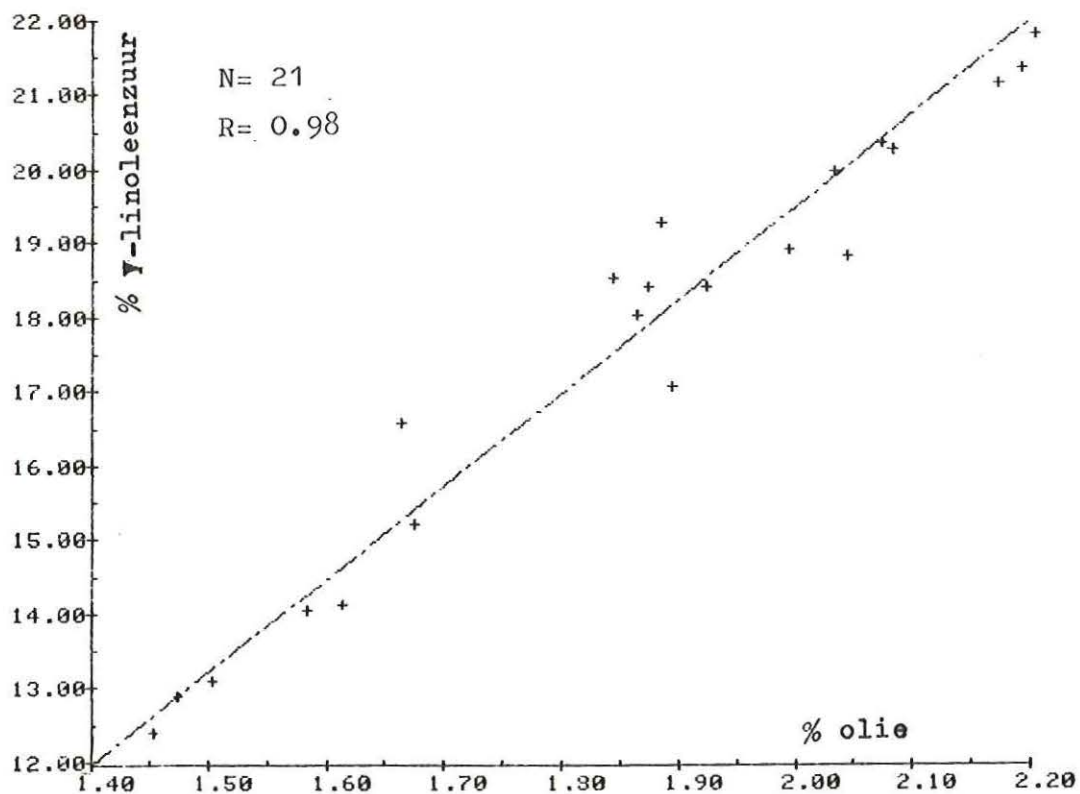


Fig 2. Verband tussen oliegehalte en γ -linoleenzuur in teunisbloemzaad.