

**Zeitschrift:** Archives des sciences et compte rendu des séances de la Société  
**Herausgeber:** Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève  
**Band:** 47 (1994)  
**Heft:** 3: Archives des Sciences

**Artikel:** Examen par la résonance magnétique nucléaire (RMN) de graines de moutarde intactes  
**Autor:** Lenk, Rudolf / Degli Agosti, Robert / Greppin, Hubert  
**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-740193>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 14.03.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Communication présentée à la séance du 16 juin 1994

## EXAMEN PAR LA RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE (RMN) DE GRAINES DE MOUTARDE INTACTES

PAR

**Rudolf LENK\*, Robert DEGLI AGOSTI\* & Hubert GREPPIN\***

### ABSTRACT

**NMR examination of intact mustard seeds.** - Using a new method of "susceptibility matching" by  $\text{CCl}_4$  we found that the Proton Nuclear Magnetic Resonance (N.M.R.) spectrum of the intact mustard (*Sinapis alba* L.) seeds consists of N.M.R. lines, originating from oil microdroplets surrounded by a solid structure.

**Key-words:** *Sinapis alba* L., Nuclear Magnetic Resonance (N.M.R.), Susceptibility matching, Oil microdroplets.

### INTRODUCTION

L'utilité de la Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N.) pour l'étude des graines végétales est bien établie (Grange *et al.*, 1980, Ratkovic, 1987, Ishida *et al.*, 1988, Degli Agosti *et al.*, 1991, Lenk *et al.*, 1991, Degli Agosti *et al.*, 1992, Lenk, 1993).

Dans un travail précédent, nous avons étudié par la R.M.N. la mobilité des molécules de l'eau dans les graines d'avoine et d'orge (Degli Agosti *et al.*, 1991, 1992). Les graines non germées possèdent une faible concentration en molécules d'eau, avec une dynamique moléculaire très restreinte. Par conséquent la raie spectrale est large comme dans les solides et les temps de relaxation sont courts.

Les graines de moutarde appartiennent à la catégorie des oléagineux, où la composante rapide de la dynamique moléculaire est surtout déterminée par celle des molécules d'huile.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des graines de moutarde (*Sinapis alba* L., diam.  $2.1 \pm 0.2$  mm), entières ou broyées en poudre, ont été mises directement dans les tubes standard (5 mm) de R.M.N. Pour des raisons spectroscopiques, nous avons élaboré une nouvelle méthode d'"adap-

---

\*Laboratoire de Biochimie et Physiologie végétales, Pavillon des Isotopes, 20, Bd d'Yvoy, CH-1211 Genève 4

tation des susceptibilités" ("susceptibility matching") dans l'échantillon étudié. Ce problème, posé par Zimmerman & Forster (1957), est dû au fait que la différence des susceptibilités entre les graines et leur environnement contribue sensiblement à l'augmentation de l'inhomogénéité du champ magnétique dans l'échantillon et, par conséquent, augmente la largeur de la raie R.M.N.

Dans notre cas nous avons réduit le gradient des susceptibilités en remplissant l'espace entre les graines avec des liquides ne contenant pas de protons: l'eau lourde, l'hexafluorobenzène ( $C_6F_6$ ) et le tétrachlorure de carbone ( $CCl_4$ ).

Ceci est schématiquement présenté dans la figure 1.

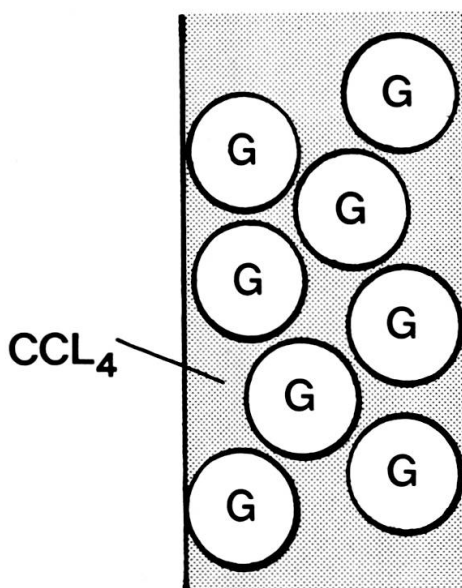


FIG. 1.

"Adaptation des susceptibilités" ("susceptibility matching") par le  $CCl_4$  liquide dans les graines de moutarde (G).

Pour comparer les résultats, nous avons aussi mesuré le spectre R.M.N. de l'huile, extraite de la moutarde à l'aide d'éther de pétrole, et celui de la poudre restante. Selon Stefanov *et al.* (1984) l'huile chez la moutarde est essentiellement composée de glycérides avec une composition en acides gras d'acides érucique, linoléique et oléique.

Les spectres en R.M.N. ont été mesurés sur un spectromètre Hitachi-Perkin-Elmer 24 A à 60 MHz dans des tubes standard R.M.N. (diam. 5 mm). Pour compléter les résultats nous avons aussi mesuré la relaxation des spins sur un appareil construit par nos soins travaillant à 25 MHz et déjà décrit (Degli Agosti *et al.*, 1992). Le temps de relaxation longitudinale  $T_1$  est obtenu par la méthode de l'"inversion-recovery" grâce à la séquence de deux impulsions des radiofréquences  $180^\circ - T - 90^\circ$ , où T est l'intervalle entre deux impulsions (Lenk, 1993).

## RÉSULTATS

Le contenu en eau des graines de moutarde, déterminé par la méthode gravimétrique (poids frais, poids sec) est de 6%. Le contenu en huile est de 24 % du poids frais.

Les spectres R.M.N. des protons à 60 MHz sont présentés dans la figure 2. Le spectre A est déterminé par les protons dans les graines de moutarde intactes; le spectre B par les graines plongées dans du  $\text{CCl}_4$  et le spectre C est celui de l'huile extraite des graines. La comparaison de ces résultats montre la ressemblance des spectres A, B et C, malgré la différence des largeurs de raie. Dans le spectre B, "adapté" par le  $\text{CCl}_4$ , les raies spectrales sont plus étroites que dans le cas A.

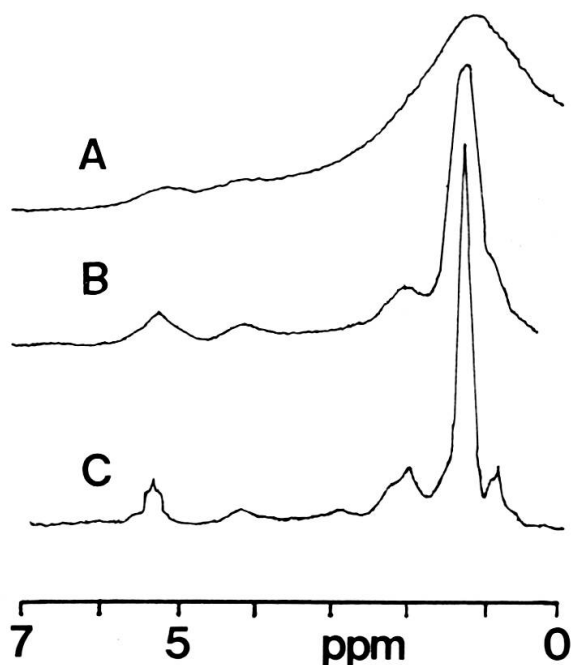


FIG. 2.

Spectres R.M.N.: A) Graines de moutarde intactes. B) Graines de moutarde entourées par le  $\text{CCl}_4$ . C) Huile extraite de graines de moutarde.

Le passage entre les spectres A et B est réversible, c'est-à-dire: après avoir éliminé le  $\text{CCl}_4$ , les graines de moutarde donnent à nouveau le spectre A et vice-versa.

Dans le spectre C on peut identifier des raies à 0.9 ppm, 1.33 ppm, 1.60 ppm, 2.1 ppm, 2.3 ppm, 2.8 ppm, 4.2 ppm et un multiplet, centré à 5.3 ppm.

L'"adaptateur de susceptibilités"  $\text{CCl}_4$  se révèle plus adéquat que les autres liquides utilisés.  $\text{D}_2\text{O}$  contient toujours un pourcentage de  $\text{H}_2\text{O}$  et il y a un problème avec l'échange du deutérium avec les protons. Dans l'hexafluorobenzène la présence des noyaux du fluor contribue à l'élargissement des raies spectrales.

Les spectres R.M.N. de moutarde ne manifestent aucune anisotropie. Ceux des graines déshydratées sont identiques à ceux des graines non déshydratées (résultats non présentés). La poudre extraite de graines n'a donné aucun spectre en R.M.N. Le  $\text{CCl}_4$  avec lequel les graines ont été mesurées n'a pas donné, non plus, aucun spectre R.M.N.

L'huile végétale d'usage domestique (huile d'arachide) donne un spectre R.M.N. très semblable à celui obtenu avec l'huile extraite de graines de moutarde (Fig. 2 C).

Les temps de relaxation longitudinale ( $T_1$ ) sont pour les graines intactes égaux à  $92 \pm 2$  msec et à  $96 \pm 2$  msec pour les graines entourées par le  $\text{CCl}_4$ . Le  $T_1$  de l'huile extraite des graines vaut  $103 \pm 3$  msec.

Pour comparaison, dans les graines non oléagineuses les temps de relaxation  $T_1$  sont plus courts. Par exemple, pour l'avoine (*Avena sativa* L.) non germée  $T_1$  vaut 26 msec, tandis que dans les graines de haricot (*Phaseolus vulgaris*),  $T_1$  vaut 7.5 msec seulement.

## DISCUSSION

La comparaison spectrale présentée dans la figure 2 montre que le spectre R.M.N. des graines intactes est entièrement déterminé par les molécules d'huile. Le signal à 0.9 ppm correspond aux trois protons des groupes  $\text{CH}_3$ , tandis que la raie à 2.8 ppm a son origine dans les deux groupes méthylènes (protons du fragment [= CH-CH<sub>2</sub>-CH =]) que l'on trouve aussi dans l'acide linoléique.

Enfin, la faible différence des temps de relaxation  $T_1$  des graines et de l'huile (93 contre 103 msec) indique que l'élargissement significatif des raies est surtout déterminé par les gradients de susceptibilités, tandis que la dynamique des molécules d'huile, piégées dans les graines de moutarde, est peu modifiée. Selon le modèle présenté par Huang (1992), les microgouttelettes d'huile ("oil bodies") sont des sphères avec un diamètre  $D$  entre  $2.10^{-5}$  et  $2.5.10^{-4}$  cm. Cet espace est suffisamment grand pour permettre à la majorité des molécules d'huile d'exécuter des mouvements browniens divers sans aucune contrainte, comme le suggèrent nos mesures des temps de relaxation longitudinale. Seulement la dynamique de la petite minorité des molécules d'huile qui se trouvent près de l'interface limitant l'espace de la microgouttelette est ralentie.

Le diamètre des microgouttelettes  $D$  peut être estimé en utilisant la formule

$$D = 2 \Delta / (1 - \sqrt[3]{1 - p})$$

où  $p$  est la portion des molécules d'huile immobilisées sur la microcouche à la limite de la microgouttelette et  $\Delta$  est l'épaisseur de cette microcouche. Pour  $\Delta = 5.10^{-7}$  cm et  $p = 0.01$  on a  $D = 3.10^{-4}$  cm, valeur qui est comparable au modèle de Huang.

Compte tenu de la réversibilité du passage entre les spectres A et B (Fig. 2), l'action de  $\text{CCl}_4$  est entièrement limitée à la surface des graines. Elle n'affecte pas leur intérieur de ce point de vue.

On ne trouve aucun pic d'eau dans les spectres étudiés. Ceci est confirmé par la mesure des graines déshydratées. Sa concentration est relativement petite (6 %) et les

molécules sont piégées dans la matrice solide des macromolécules et, par conséquent, leur dynamique est bloquée. Ainsi la raie spectrale de l'eau est large et ne dépasse pas la ligne de base.

La méthode de l'"adaptation des susceptibilités" à l'aide du  $\text{CCl}_4$  doit certainement pouvoir être utilisée à d'autres graines végétales.

## RÉSUMÉ

En utilisant une nouvelle méthode d'"ajustement des susceptibilités" par le  $\text{CCl}_4$  dans l'échantillon mesuré nous avons trouvé que le spectre de la Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N.) des protons des graines intactes de moutarde (*Sinapis alba* L.) est déterminé par les raies des microgouttelettes d'huile entourées par la structure solide de la graine.

## BIBLIOGRAPHIE

- DEGLI AGOSTI, R., LENK, R. & GREPPIN, H. 1991. Etude par la Résonance Magnétique Nucléaire de la germination d'une céréale. *Archs Sci. Genève*, 44:235-243.
- DEGLI AGOSTI, R., LENK, R. & GREPPIN, H. 1992. Proton Spin Relaxation study of the germination of barley grains. *Archs Sci. Genève*, 45:61-68a.
- GRANGE, A., DUPANLOUP, A. & BÉNÉ, G. 1980. Evolution du temps spin réseau des protons de l'eau biologique au cours de la maturation des graines de haricot. *Compt. Rend. Hebd. Acad. Sci. Paris*, 291:307-309.
- HUANG, A.H.C. 1992. Oil bodies and oleosins in seeds. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43:177-200.
- ISHIDA, N., KANO, H., KOBAYASHI, T. & YOSHIDA, T. 1988. The analysis of physical states of water in soybean seeds by N.M.R. *Agric. Biol. Chem.*, 52:2777-2781.
- LENK, R. 1993. *Biophysical Aspects of N.M.R.* Verlag Dr Kovac, Hamburg.
- LENK, R., DEGLI AGOSTI, R. & GREPPIN, H. 1991. Etude par la R.M.N. de la germination de la graine d'avoine. *Biol. Plant. Praha*, 33:501-504.
- RATKOVIC, S. 1987. Proton N.M.R. of maize seed water: the relationship between spin-lattice relaxation time and water content. *Seed Sci. Technol.*, 15:147-150.
- STEFANOV, L., KHADZHINSKY, TS. & PALAVEEVA, TS. 1984. Characteristics of the seeds of *Sinapis alba*. *Chem. Abstr.*, 101:150139v.
- ZIMMERMAN, J.R. & FORSTER, M.R. 1957. Standardization of N.M.R. High Resolution Spectra. *J. Phys. Chem.*, 61:282-289.