

Gatunek rośliny, której dotyczy sprawozdanie: Rzepak

Autor/autorzy:

Krzysztof Michalski, Renata Daleka, Mariola Ebertowska, Czesława Fink, Justyna Karauda

Afiliacja: Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy (IHAR-PIB), Radzików, Oddział w Poznaniu Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych

Adres korespondencyjny, adres e-mail i nr telefonu Kierownika Tematu: dr Krzysztof Michalski Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy (IHAR-PIB), Radzików, Oddział w Poznaniu Zakład Genetyki i Hodowli Roślin Oleistych ul. Strzeszyńska 36 60-479 Poznań Tel 61 8464207 email: km2@nico.ihar.poznan.pl

Informacja o dotacji: Prace zostały wykonane w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej na podstawie § 9 ust. 1 i ust. 6 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015 r. w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. poz. 1170 z późniejszymi zmianami) nr decyzji HOR.hn.802.3.2019 Zadanie nr 55

Tytuł zadania w języku polskim: Opracowanie modeli kalibracyjnych dla spektrometru NIRS o zakresie widma 400-2500 nm dla oznaczania glukozynolanów, białka, NDF, ADF oraz steroli i badania zmienności tych związków w roślinach oleistych

Tytuł zadania w języku angielskim: Development of calibration models for NIRS spectrometer working in range 400-2500 nm destined to evaluate and study of variability glucosinolates, protein, NDF, ADF and sterols content in oilseeds.

Słowa kluczowe w porządku alfabetycznym (do 7 słów): rzepak, NIRS, analiza, glukozynolany, białko, włókno

Tekst: Temat badawczy 1 **Określenie zmienności składu i zawartości glukozynolanów w próbkach nasion rzepaku.**

Celem tematu jest rozbudowanie bazy danych o widma próbek nasion rzepaku reprezentatywnych dla zawartości glukozynolanów w 2019 roku. Analiza glukozynolanów w nasionach rzepaku wykonywana jest metodą chromatografii gazowej silylowych pochodnych desulfoglukozynolanów (metoda ze wzorcem wewnętrznym - glukotropeoliną), Dane spektralne zbierane były za pomocą spektrometru NIRS 6500 i programu ISISCAN (FOSS). Zakres widma wynosi od 400 do 2500 nm. Do obliczeń użyto programu WINISI (FOSS).

Zebrany zbiór próbek obejmuje zmienność występująca w roku 2019 w obszarze Polski zachodniej (Borowo, Małyszyn Poznań), co pozwala wprowadzić do kalibracji zmienność geograficzną i gwarantuje bardziej równomierne wypełnienie kalibrowanego zakresu. Zbiór kalibracyjny zawierający próbki reprezentatywne dla całej populacji i obejmujący dane z kilku lat pozwala na otrzymanie równań bardziej odpornych na nieprzewidziane zmiany składu mierzonych próbek. W 2019 udało się dodać próbki o dużej zawartości glukozynolanów (do 99 mikromol/g nasion). Całkowity udział próbek o skrajnych wartościach jest niewielki w danej populacji, co wymaga przebadania możliwie dużego zbioru próbek, aby zapewnić dostateczną liczbę próbek o pożądanym składzie chemicznym

Temat badawczy 2. **Określenie zmienności zawartości białka, tłuszczu i włókna w próbkach nasion.**

Celem tematu jest wyselekcjonowanie we współpracy z hodowcami próbek rzepaku cechujących się zróżnicowaną zawartością białka w nasionach, zeskanowanie widm tychże oraz ich analiza referencyjna. W roku 2019 pozyskano do celów kalibracyjnych 104 próbki rzepaku o zróżnicowanych cechach jakościowych zebranych w różnych miejscowościach (Borowo, Małyszyn, Poznań).. Zebrane próbki poddano analizie referencyjnej (analiza białka metodą Kjeldahla, analiza zawartości włókna metodą van Soesta, analiza zawartości tłuszczu na spektrometrze NMR model MQA 7005). Wybrane próbki obejmują zmienność występująca w roku 2019 w obszarze Polski zachodniej (Borowo, Poznań, Małyszyn) , co pozwala wprowadzić do kalibracji zmienność geograficzną i gwarantuje równomierne wypełnienie kalibrowanego zakresu, a w efekcie pozwala na otrzymanie równań odpornych na nieprzewidziane zmiany składu mierzonych próbek.

Pozyskano próbki o wysokiej zawartości tłuszczu (49,0%) a także zadowalającą zmienność zawartości włókna NDF i ADF oraz białka. Próbki w połączeniu z danymi z roku 2014 - 2018 pozwalają wyliczyć równania kalibracyjne dla oznaczanych parametrów z dokładnością wystarczającą do celów pomiarowych.

Temat badawczy 3: **Określenie zmienności w składzie i zawartości podstawowych steroli w oleju.**

Pobrano próbki nasion rzepaku z linii i odmian będących w opracowaniu w IHAR O/Poznań i spółkach IHAR oraz z kolekcji odmian rzepaku w ilości 60 próbek. Zebrane próbki zeskanowano na spektrofotometrze NIRS 6500 i poddano analizie referencyjnej (analiza steroli w oleju metodą chromatografii gazowej na chromatografie HP7890a). Wybierając próby do zbioru kierowano się pochodzeniem próbek i zawartością steroli w próbce – preferowane były zróżnicowane zawartości steroli.. Zebrany zbiór z lat 2014-2019 został wykorzystany do estymacji możliwości stworzenia równania. Otrzymane kalibracje pozwalają sądzić iż przynajmniej niektóre sterole (cholesterol, campestanol, avenasterol) nadają się do kalibracji.

Temat badawczy 4: **Opracowanie cząstkowych kalibracji NIRS, aby oszacować błąd metody.**

Zebrane widma z wynikami referencyjnymi z lat 2014-2019 użyto do wyliczenia kalibracji na oznaczane parametry. W tabeli 1 zestawiono wyniki błędów kalibracji i walidacji na próbkach zebranych w latach 2014-2019.

Tabela 1 Wartości błędów kalibracji cząstkowych

Składnik	Błąd kalibracji 2014-2018	Błąd walidacji skrośnej 2014-2018	Błąd kalibracji 2014-2019	Błąd walidacji skrośnej 2014-2019	Dokładność 14-18 do 14-19	jednostki
Glukonapina	1,1	1,1	1,3	1,3	-	µM/g
Progoitryna	2,3	2,3	2,3	2,4	-	µM/g
Glukobrassycyna	0,1	0,1	0,1	0,1	=	µM/g
4-hydroxyglukobrassycyna	1	1	.997	1,26	-	µM/g
Suma glukozyzolanów	3,3	3,4	3,7	3,8	--	µM/g
Suma steroli	4100	4600	3500	3800	++	ppb
Białko	0,76	0,86	1,0	1,0	-	% masy
Tłuszcz	0,8	0,85	1,1	1,2	--	% masy
NDF	1	1,1	1,4	1,6	-	% masy
ADF	0,96	1,1	1,3	1,4	-	% masy

Dyskusja i wnioski

Jakość kalibracji ocenia się wykorzystując parametry statystyczne takie jak błąd kalibracji (SEC)liczony dla równania, współczynnik korelacji (Adj RSQ - choć ten zależy w dużym stopniu od zakresu chemicznego) oraz błąd walidacji skróśnej(SECV) lub błąd walidacji na zbiorze prób nie należących do zbioru kalibracyjnego (SEV).

Otrzymane wyniki kalibracyjne dla glukozyzolanów dobrze estymują zawartość głównych glukozyzolanów. Błąd pomiaru jest mniejszy od raportowanych w literaturze (ok.4 μ M/g).

Próbki z 2019 pozwoliły poszerzyć zakres zmienności choć odbyło się to kosztem nieco mniejszej dokładności równania. Jednym z powodów takiej sytuacji jest pogorszenie dokładności analizy referencyjnej- powyżej 40 mikromoli/g nasion staje się nieliniowa. Współczynnik korelacji jest stosunkowo niski co wiąże się z zakresem dostępnej zmienności (większość próbek to próbki niskiej zawartości glukozyzolanów).

Stworzony zbiór kalibracyjny praktycznie pokrywa całą zmienność glukozyzolanów w rzepaku i może być podstawą do równania selekcyjnego.

Również dokładność równań dla białka, tłuszczu, włókna ADF i NDF jest wystarczająca dla ich praktycznego użytkowania.

Sterole nadal wymagają ulepszenia poprzez powiększenie bazy danych.

Porównanie błędów dla zbioru 2014-18 , 2014-19 pokazuje stabilizację dokładności dla glukozyzolanów, poprawę dokładności dla steroli oraz NDF i ADF i lekkie pogorszenie dla tłuszczu .

Porównując wyniki kalibracji z poprzednich lat z obecnymi można uznać iż kalibracje się stabilizują i stają się odporne na losowe próbki.