

Opracowanie modeli kalibracyjnych dla spektrometru NIRS o zakresie widma 400-2500 nm dla oznaczania glukozytanolów, białka, NDF, ADF oraz steroli i badania zmienności tych związków w roślinach oleistych.

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

Temat badawczy 1 Określenie zmienności składu i zawartości glukozytanolów w próbkach nasion rzepaku.

Celem tematu jest rozbudowanie bazy danych o widma próbek nasion rzepaku reprezentatywnych dla zawartości glukozytanolów w 2015 roku. Analiza glukozytanolów w nasionach rzepaku wykonywana jest metodą chromatografii gazowej silylowych pochodnych desulfogukozytanolów (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).

Ze względu na specyfikę metody NIRS liczy się fizyczna postać próbki. Równanie wyliczone dla zmielonej śrutki rzepakowej nie nadaje się do pomiaru nasion i odwrotnie. Widma zbierano z próbek całych nasion a ich przygotowanie do analizy polegało na usunięciu zanieczyszczeń. (Tolerowane jest do 3% obcego materiału).

Zebrane próbki obejmują zmienność występującą w roku 2015 w obszarze Polski zachodniej i północnej (Borowo, Małyszyn, Olsztyn), co pozwala wprowadzić do kalibracji zmienność geograficzną i gwarantuje bardziej równomierne wypełnienie kalibrowanego zakresu. 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. Próbki zebrane w roku 2015 charakteryzowały się mniejszą zmiennością zawartości glukozytanolów w stosunku do roku 2014, lecz udało się włączyć próbki z północno-wschodniego obszaru kraju, co zwiększa wariancję bazy danych.

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. Pobrano 104 próbki nasion rzepaku z linii i odmian będących w opracowaniu w IHAR O/Poznań i spółkach IHAR. Zebrane próbki poddano analizie referencyjnej (analiza białka metodą Kjeldahla, analiza zawartości włókna metodą van Soesta, analiza zawartości tłuszczu na spektrometrze NMR model MQA 7005).

Wybierając próby, starano się wyszukać próbki o maksymalnie zróżnicowanej zawartości białka, tłuszczu i włókna opierając się na pochodzeniu. Zbiór obejmuje zmienność występującą w roku 2015 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 białka (31%) oraz tłuszczu (50,8%) a także zadowalającą zmienność zawartości włókna NDF i ADF. Próbki w połączeniu z danymi z roku 2014 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 HP5890). Wybierając próby do zbioru kierowano się pochodzeniem próbek i zawartością steroli w próbce – preferowane były zróżnicowane zawartości steroli. Zebrany zbiór został wykorzystany do wstępnej 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 2014-2015 użyto do wyliczenia kalibracji na oznaczane parametry. W tabeli 1 zestawiono wyniki błędów kalibracji i walidacji na próbkach zebranych w latach 2014-2015.

Tabela 1 Wartości błędów kalibracji cząstkowych

Składnik	Błąd kalibracji	Błąd walidacji skrośnej	jednostki
Glukonapina	0,6	0,6	µM/g
Progoitryna	1,3	1,5	µM/g
Glukobrassyyna	0,08	0,09	µM/g
4-hydroxyglukobrassyyna	0,6	0,7	µM/g
Suma glukozyzolanów	1,9	2,3	µM/g
Suma steroli	5700	6400	ppb
Białko	0,7	0,7	% masy
Tłuszcz	0,4	0,5	% masy
NDF	1,2	1,3	% masy
ADF	1	1,1	% masy

Podstawowe parametry oceny równania to błąd kalibracji, współczynnik korelacji oraz błąd walidacji skrośnej. (Walidacja skrośna polega na wykorzystaniu tego samego zbioru danych do kalibracji i przetestowania otrzymanego równania. Zbiór danych dzieli się na kilka części i wydziela jedną z nich ze zbioru kalibracyjnego, następnie wylicza się równanie na pozostałych próbkach i sprawdza na wydzielonym podzbiórze. W następnym kroku wydzielony wcześniej podzbiór dołącza się do zbioru kalibracyjnego a odłącza się następny podzbiór i ponownie wykonuje się obliczanie kalibracji i testowanie. Cykl powtarza się aż wykorzystane zostaną wszystkie podzbiory. Błąd walidacji skrośnej (SECV) jest średnią błędów cząstkowych.

Otrzymane wyniki kalibracyjne dla glukozyzolanów dobrze estymują zawartość głównych glukozyzolanów. Błąd pomiaru jest mniejszy od raportowanych w literaturze (ok.4 µM/g). Współczynnik korelacji jest stosunkowo niski co wiąże się z zakresem dostępnej zmienności (większość próbek to próbki o niskiej zawartości glukozyzolanów).

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

Sterole nadal wymagają ulepszenia poprzez powiększenie bazy danych