

**Opracowanie modeli kalibracyjnych dla spektrometru NIRS o zakresie widma 400-2500 nm dla oznaczania glukozyolanów, 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 glukozyolanów w próbkach nasion rzepaku.**

Celem tematu jest rozbudowanie bazy danych o widma próbek nasion rzepaku reprezentatywnych dla zawartości glukozyolanów w 2016 roku. Analiza glukozyolanów w nasionach rzepaku wykonywana jest metodą chromatografii gazowej silylowych pochodnych desulfogukozyolanów ( 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).

Zebrany zbiór próbek obejmuje zmienność występująca w roku 2016 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. 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 2016 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).

Wybierając próby do zbioru kierowano się pochodzeniem próbek – starano się wyszukać próbki o maksymalnie zróżnicowanej zawartości białka, tłuszczu i włókna opierając się na pochodzeniu. Zbiór obejmuje zmienność występująca w roku 2016 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 (53,3%) a także zadowalającą zmienność zawartości włókna NDF i ADF oraz białka. Próbki w połączeniu z danymi z roku 2014 i 2015

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 z lat 2014-2016 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 2014-2016 użyto do wyliczenia kalibracji na oznaczane parametry. W tabeli 1 zestawiono wyniki błędów kalibracji i walidacji na próbkach zebranych w latach 2014-2016.

Tabela 1 Wartości błędów kalibracji cząstkowych i ich porównanie z błędami z kalibracji 2015-2014

Składnik	Błąd kalibracji 2014-2015	Błąd walidacji skrośnej 2014-2015	Błąd kalibracji 2014-2016	Błąd walidacji skrośnej 2014-2016	Dokładność 14-15 do 14-16	jednostki
Glukonapina	0,6	0,6	0,6	0,6	=	µM/g
Progoitryna	1,3	1,5	1,3	1,4	+	µM/g
Glukobrassycyna	0,1	0,1	0,1	0,1	=	µM/g
4-hydroxyglukobrassycyna	0,6	0,7	0,8	0,8	-	µM/g
Suma glukozyolanów	1,9	2,3	2,0	2,2	=	µM/g
Suma steroli	5700	6400	4100	5300	++	ppb
Białko	0,7	0,7	0,6	0,7	=	% masy
Tłuszcz	0,4	0,5	0,7	0,7	--	% masy
NDF	1,2	1,3	1	1,3	+	% masy
ADF	1	1,1	0,9	1	+	% masy

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 skrośnej(SECV) lub błąd walidacji na zbiorze prób nie należących do zbioru kalibracyjnego (SEV).

Otrzymane wyniki kalibracyjne dla glukozyolanów dobrze estymują zawartość głównych glukozyolanów. 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 niskiej zawartości glukozyolanów).

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 2014-15 i 2014-16 pokazuje stabilizację dokładności dla glukozyolanów, poprawę dokładności dla steroli oraz NDF i ADF i lekkie pogorszenie dla tłuszczu

