

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

Kierownik zadania: dr Krzysztof Michalski

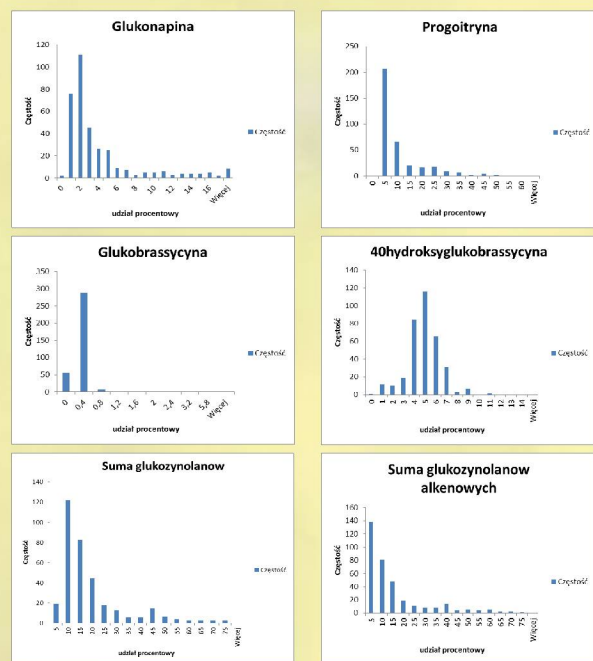
Temat badawczy 1 Określenie zmienności składu i zawartości glukozyolanów w próbkach nasion rzepaku

Zbrano 350 próbek nasion rzepaku pochodzących z materiałów własnych IHAR (Poznań) oraz Hodowli Roślin Strzelce (Małyszyn, UP Poznań, Borowo- Tabela 2) które poddano analizie referencyjnej na skład i zawartość glukozyolanów metodą chromatografii gazowej silylowych pochodnych desulfoglukozyolanów. (Raney i Macgregor (1990), Michalski (1995)). Probi wybrano tak aby w miarę możliwości pokrywały cały dostępny zakres zmienności chemicznej glukozyolanów. Widma skanowano w kuletkach refleksyjnych o pojemności 5 ml za pomocą spektrometru NIRS 6500 i programu ISISCAN (FOSS) w zakresie widma od 400 do 2500 nm. Do obliczeń użyto programu WINISI (FOSS).

Tabela 1. Zakres zmienności poszczególnych glukozyolanów oraz ich sumy i sumy glukozyolanów alkenowych (wyniki analizy referencyjnej)

Składnik	Zakres zmienności		Jedn.
	Minimum	Maximum	
Glukonapina	0,0	26,7	µM/g
Glukobrassicapina	0,1	11,3	µM/g
Progoitryna	0,1	49,5	µM/g
Napoleiferyna	0	0,6	µM/g
Glukobrassicyna	0,05	2,1	µM/g
4OH-glukobrassicyna	0	10,5	µM/g
Suma glukozyolanów alkenowych	0,1	70,6	µM/g
Suma glukozyolanów	0,5	74,0	µM/g

Rys.1 Histogramy rozkładu glukozyolanów w 350 próbkach nasion rzepaku zebranego w 2018 roku (wyniki podane w µM/g masy)



Mierniki dla tematu badawczego 1				
Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
	Liczba analiz chromatograficznych glukozyolanów	350	350	1,00

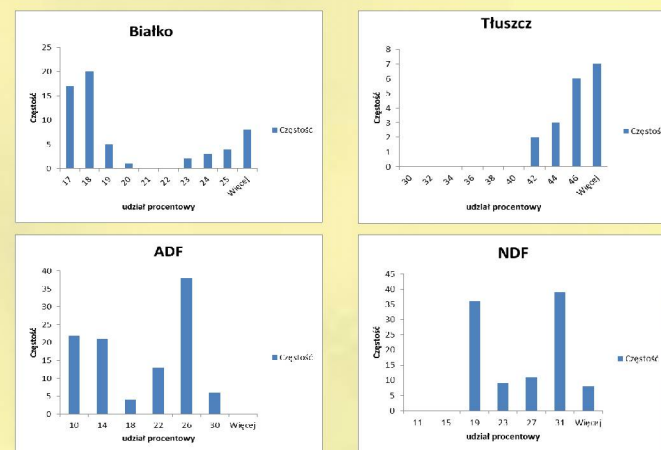
Temat badawczy 2. Określenie zmienności zawartości białka, tłuszczu i włókna w próbkach nasion.

Pobrano próbki nasion rzepaku z linii i odmian będących w opracowaniu w IHAR O/Poznań i spółkach IHAR z naciskiem na rzepak żółtonasienny w ilości 104 próbek. Zebrane próbki zeskanowano na spektrofotometrze NIRS 6500 i poddano analizie referencyjnej (analiza białka metodą Kjeldahla, analiza zawartości włókna metodą van Soesta, analiza zawartości tłuszczu na spektrometrze NMR model MQA 7005 oraz analiza referencyjna na ekstraktorze Soxhleta).

Tabela 3. Zakres zmienności białka, tłuszczu, NDF i ADF (wyniki analizy referencyjnej)

Składnik	Zakres zmienności		Jedn.
	Minimum	Maximum	
Białko	14,4	29,9	%
Tłuszcz	39,7	52	%
NDF	15,8	31,9	%
ADF	8,5	29,2	%

Rys.2 Histogramy białka, tłuszczu oraz frakcji włókna (NDF i ADF) w próbkach rzepaku zebranego w 2018 roku (wyniki podane w % masy)



Mierniki dla tematu badawczego 2				
Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
	Liczba analiz chemicznych próbek nasion na zawartość białka	104	104	1,00
	Liczba analiz chemicznych próbek nasion na zawartość tłuszczu	104	104	1,00
	Liczba analiz chemicznych próbek nasion na zawartość, włókna	104	104	1,00

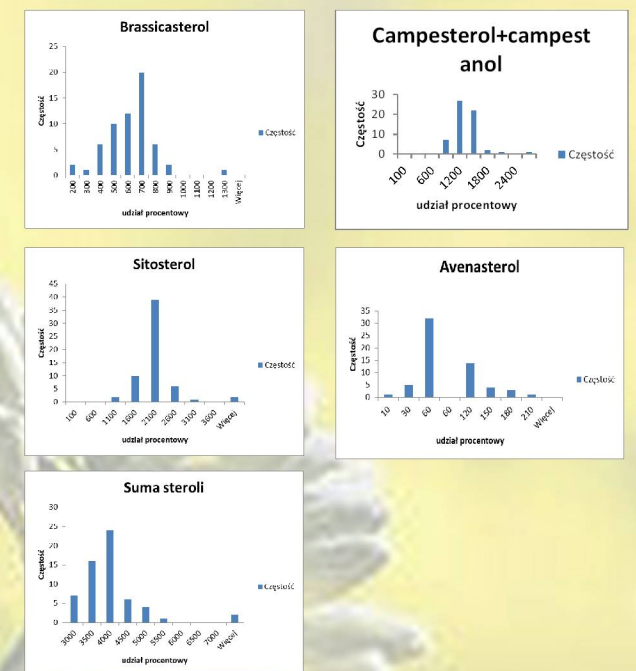
Temat badawczy 3: Określenie zmienności w składzie i zawartości podstawowych steroli w oleju.

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 Agilent 7890). Widma z wynikami posłużyły do poszerzenia bazy danych która pozwoli wykonać wstępną estymację kalibracji.

Tabela 4. Zakres zmienności sumy steroli (wyniki analizy referencyjnej)

Składnik	Zakres zmienności		Jedn.
	Minimum	Maximum	
Suma steroli	1412,5	7819,4	ppb

Rys.3 Histogramy zawartości steroli w próbkach rzepaku zebranego w 2018 roku (wyniki podane w ppb)



Mierniki dla tematu badawczego 3				
Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
1	Liczba analizowanych próbek oleju wyekstrahowanego z nasion rzepaku na skład i zawartość podstawowych steroli roślinnych	60	60	1,00

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

Cel tematu badawczego 4 Opracowanie cząstkowych kalibracji do oszacowania błędów metody i wykorzystania otrzymanych równań do selekcji próbek. Cel zrealizowano w całości. Materiały i metody Zebrane widma z wynikami referencyjnymi z lat 2014-2018 użyto do wyliczenia kalibracji na oznaczane parametry. W tabeli 8 zestawiono wyniki błędów kalibracji i walidacji na próbkach zebranych w latach 2014-2017 oraz 2014-2018. Rys 4 pokazuje szczegóły kalibracji oraz prezentuje wykresy kalibracyjne dla poszczególnych składników.

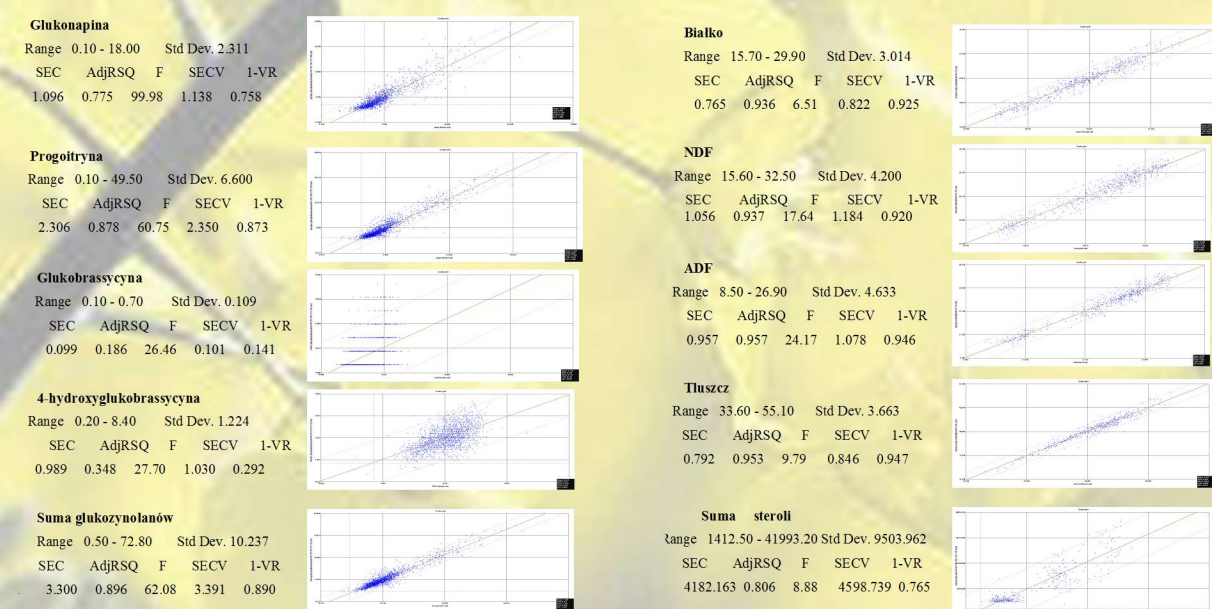
Tabela 8 Wartości błędów kalibracji cząstkowych

Składnik	Błąd walidacji 2014-2017	Błąd walidacji skróconej 2014-2017	Błąd walidacji 2014-2018	Błąd walidacji skróconej 2014-2018	Dokładność 14-16 do 14-17	Jednostka
Glukonapina	0,82	0,87	1,1	1,1	-	µM/g
Progoitryna	2,0	2,0	2,3	2,3	-	µM/g
Glukobrassicyna	0,1	0,1	0,1	0,1	=	µM/g
4-hydroxyglukobrassicyna	0,95	1	1	1	-	µM/g
Suma glukozyolanów	2,5	2,6	3,3	3,4	-	µM/g
Suma steroli	3600	4300	4100	4600	-	ppb
Białko	0,7	0,8	0,76	0,86	-	% masy
Tłuszcz	0,6	0,7	0,8	0,85	-	% masy
NDF	1	1,1	1	1,1	=	% masy
ADF	0,8	1,0	0,96	1,1	-	% masy

Dyskusja i wnioski

Jakość kalibracji oceniamy wykorzystując parametry statystyczne takie jak błąd kalibracji (SEC) liczone dla równania, współczynnik korelacji (AdjRSQ - choć ten zależy w dużym stopniu od zakresu chemicznego) oraz błąd walidacji skróconej (SECV) lub błąd walidacji w zbiorze próbek 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). Próbkę z 2017 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 mikromol/g nasion jej staje się nieliniowa. 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 2014-16 i 2014-17 pokazuje stabilizację dokładności dla glukozyolanów, poprawę dokładności dla steroli oraz NDF i ADF i lekkie pogorszenie dla tłuszczu

Rys. 4 Wyniki (próbki 2014-2018) kalibracji dla glukozyolanów, białka, tłuszczu, NDF i ADF oraz Sumy steroli (SEC - błąd kalibracji AdjRSQ - współkorelacji F-test Snedecora, SECV - błąd walidacji skróconej, 1-VR - współkorelacji walidacji)



Mierniki dla tematu badawczego 4				
Lp.	miernik	wartość miernika podana w opisie zadania	wartość miernika zrealizowana	Stopień realizacji zadania
	Wyliczone błędy dla poszczególnych składników chemicznych będących przedmiotem kalibracji	10	10	1,00