

Научная статья

УДК 581.192.2:633.853.492

DOI: 10.25230/2412-608X-2022-1-189-34-44

Экспресс-оценка массовой доли масла и содержания основных жирных кислот в семенах сурепицы с помощью ИК-спектроскопии

Сергей Григорьевич Ефименко

Светлана Константиновна Ефименко

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17
efimenko-km@yandex.ru

Ключевые слова: семена, сурепица, масличность, олеиновая, линолевая и линоленовая жирные кислоты, ИК-спектроскопия, градуировочная модель

Для цитирования: Ефименко С.Г., Ефименко С.К. Экспресс-оценка массовой доли масла и содержания основных жирных кислот масла в семенах сурепицы с помощью ИК-спектроскопии // Масличные культуры. 2022. Вып. 1 (189). С. 34–44.

Аннотация. Спектроскопия ближнего инфракрасного отражения (NIRS) была использована для оценки биохимических показателей в семенах сурепицы. Целью исследований была разработка градуировочных моделей для ИК-анализатора MATRIX-I по определению в целых семенах сурепицы (озимой и яровой) массовой доли масла, содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле семян. Исследования проводили в лаборатории биохимии ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК на образцах сурепицы, выращенных в 2019–2021 гг. в условиях центральной зоны Краснодарского края и южной лесостепи Западной Сибири. Масличность определяли на ЯМР-анализаторе AMV 1006M (Россия). Содержание олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле рассчитывали методом процентной нормализации хроматографического анализа на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» на капиллярной колонке SolGelWax 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм с автоматическим дозатором жидких проб. Были получены наилучшие показатели качества градуировочных моделей (среднеквадратичная

ошибка прогноза, коэффициент детерминации и значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на графике) по определению масличности (RMSEP = 0,25 %, $R^2 = 98,5$ и RPD = 8,2), по содержанию олеиновой (RMSEP = 0,59 %, $R^2 = 98,9$ и RPD = 9,7), линолевой (RMSEP = 0,66 %, $R^2 = 95,4$ и RPD = 4,7) и линоленовой (RMSEP = 0,37 %, $R^2 = 98,0$ и RPD = 7,1) жирных кислот. В программе OPUS LAB получена методика «Сурепица 51» для массового исследования на основе разработанных градуировочных моделей по определению массовой доли масла, содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот масла в целых семенах сурепицы для ИК-спектроскопии в средней пробе (9–20 г) в кювете диаметром 51 мм. Эта методика позволяет проводить экспресс-оценку селекционного материала в семенах сурепицы с производительностью более 100 образцов за рабочую смену.

UDC 581.192.2:633.853.492

Express-estimation of oil content and the main fatty acid contents in oil of turnip rape seeds using IR-spectrometry.

S.G. Efimenko, head of the lab., leading researcher, PhD in biology

S.K. Efimenko, leading researcher, PhD in biology

V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops

17 Filatova str., Krasnodar, 350038 Russia
efimenko-km@yandex.ru

Key words: seeds, turnip rape, oil content, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid, IR-spectrometry, graduating model

Abstract. Near-infrared spectroscopy (NIRS) was used to estimate biochemical traits in turnip rape seeds. The purpose of the research was to develop graduating models for an IR-analyzer MATRIX-I for determination of oil content and contents of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in oil in unbroken seeds of turnip rape. The research was conducted in the biochemistry laboratory of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, Krasnodar. An object of the research was turnip rape seeds cultivated in 2019–2021 in the central zone of the Krasnodar region and in the southern forest-steppe of the Western Siberia. Oil content was determined on a NMR-analyzer AMV 1006M (Russia). Contents of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in oil were calculated by a method of percentage normalization of chromatographic analysis on a gas chromatograph “Chromatek-Kristall 5000” on a capillary column SolGelWax 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm with automatic dripper of liquid samples. We obtained the best results on quality of the graduating models (root mean square error of prediction, R determination, and a meaning of a residual deviation of prediction for a rank reflected on

a diagram) on determination of oil content (RMSEP = 0.25%, $R^2 = 98.5$, and RPD = 8.2), contents of oleic (RMSEP = 0.59%, $R^2 = 98.9$, and RPD = 9.7), linolic (RMSEP = 0.66%, $R^2 = 95.4$, and RPD = 4.7), and linolenic (RMSEP = 0.37%, $R^2 = 98.0$, and RPD = 7.1) fatty acids. The methodic "Turnip rape 51" for mass studying based on the developed graduating models for determination of oil content, contents of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in unbroken turnip rape seeds for IR-spectrometry in a middle sample (9–20 g) in cuvette with diameter 51 mm was obtained in a program OPUS LAB. This method allows conducting express-estimation of more than 100 samples of turnip rape seeds per an operating shift.

Введение. Во ВНИИМКе селекция рапса и сурепицы активно ведётся с 1983 г., за это время создано 40 сортов рапса и сурепицы. В настоящее время селекционная работа направлена на создание высокопродуктивных, высокомасличных линейных сортов с изменённым жирно-кислотным составом масла, с желтой окраской семенной оболочки, с улучшенной питательной ценностью шрота, устойчивых к болезням и полеганию [1]. Все созданные сорта сурепицы характеризуются высокой масличностью семян 50–52 % и имеют стабильно желтый цвет с различными оттенками. По жирно-кислотному составу масла (менее 0,5 % эруковой кислоты) и содержанию глюкозинолатов (11–14 мкмоль/г) в семенах образцы сурепицы озимой и яровой полностью соответствуют стандартам качества, предъявляемым к сортам типа «000».

Сурепица озимая (*Brassica rapa* var. *oleifera biennis*) по Е.Н. Синской – один из подвидов европейского вида репы, характеризующийся тонким несъедобным корнем, продолжительной стадией яровизации, высокой зимостойкостью. Желто-семянная озимая сурепица обладает высокой урожайностью и коротким (в сравнении с рапсом озимым) вегетационным периодом, а также является источником высококачественного пищевого растительного масла и уникальным компонентом корма для птицеводческой отрасли сельского хозяйства [2].

Семена сурепицы яровой содержат 40–47 % масла, 21–27 % белка. Выход жмыха

при переработке семян составляет 55–58 %. В нем содержится до 38–45 % белка, не уступающего по количеству незаменимых аминокислот соевому. Масло сурепицы очень востребовано в птицеводстве за счет оптимального соотношения ω -3 и ω -6 жирных кислот. Сурепица, в отличие от рапса, содержит более тонкие оболочки семян и меньший процент клетчатки, что повышает её роль в кормлении животных и птицы [3].

Сурепное масло обладает уникальной композицией жирных кислот и сопутствующих соединений и по праву, благодаря сбалансированному составу и высокой пищевой ценности, может быть отнесено к продуктам здорового питания. К потребительским достоинствам масла из семян сурепицы следует отнести высокое, по сравнению с подсолнечным и соевым маслами, содержание каротиноидов и токоферолов. Токоферольный состав этого масла представлен в основном α - и γ -изо-мерами, что обуславливает высокий уровень окислительной стабильности масла в процессе хранения [4].

Для проведения эффективной селекционной работы требуется комплексная биохимическая оценка семян сурепицы по основным признакам: массовой доли масла и глюкозинолатов, содержанию oleиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот.

Спектроскопия ближнего инфракрасного отражения (NIRS) была использована для оценки биохимических компонентов в целых семенах неоднородных по цвету семенной оболочки нескольких поколений генотипов трех видов *Brassica* (*B. juncea*, *B. napus* и *B. rapa*). Были получены удовлетворительные результаты, доказывающие надежность калибровочных уравнений [5].

Массовая оценка селекционного материала сурепицы по масличности проводилась в отделе физических методов исследований ВНИИМК с помощью ЯМР-анализатора АМВ-1006 М по ГОСТ 8.597-2010 [6].

В связи с задачами селекции на современном этапе альтернативным методом определения масличности и других признаков является использование спектральных приборов нового поколения, которые позволяют одновременно контролировать несколько биохимических показателей, тем самым увеличивая производительность труда.

Для ИК-спектromетрии в последние годы был разработан ГОСТ 32749-2014 «Семена масличные, жмыхи и шроты. Определение влаги, жира, протеина и клетчатки методом спектроскопии в ближней инфракрасной области», который введен с 2015 г. [7].

В лаборатории биохимии ВНИИМК уже были проведены исследования по освоению ИК-анализатора MATRIX-I фирмы Bruker Optics (Германия) и разработаны градуировочные модели для одновременного определения содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле семян рапса. Предварительную оценку селекционного материала по жирно-кислотному составу масла целых семян отдельных самоопыленных растений теперь стало возможно выполнять без потерь их количества [8]. Прежде для определения жирно-кислотного состава масла часть семян подвергали химическому анализу хроматографическим методом.

Также для оценки показателей качества селекционного материала в целых семенах белой, черной, сарептской яровой и озимой горчицы и масличного льна были разработаны градуировочные модели для MATRIX-I. Полученные погрешности определений содержания массовой доли масла и влаги в семенах по градуировочным моделям с помощью ИК-спектromетрии незначительно превысили стандартные методы. Это дает возможность проводить массовую оценку селекционного материала и анализировать целые семена горчицы и масличного льна с отдельных растений из ранних питомников [9; 10].

На основании полученных ранее данных была поставлена задача разработать

градуировочные модели для ИК-анализатора MATRIX-I по определению в целых семенах сурепицы озимой и яровой массовой доли масла и содержания в нем олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот. Цель исследований – разработка методики на основе градуировочных моделей для ИК-анализатора MATRIX-I, позволяющей проводить экспресс-оценку в целых семенах сурепицы в средней пробе (9–20 г) в кювете диаметром 51 мм одновременно по четырем биохимическим показателям – масличности, содержанию олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот масла.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили семена сурепицы озимой и яровой (*Brassica napus* var. *oleifera*), а также желтосемянного и сизосемянного высокоолеинового рапса озимого и ярового, выращенные в 2019–2021 гг. в условиях центральной зоны Краснодарского края и южной лесостепи Западной Сибири.

Определение масличности проводили на российском приборе – ЯМР-анализаторе АМВ-1006 М [6]. Содержание жирных кислот в масле семян сурепицы определяли хроматографическим методом на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» российского производства с автоматическим дозатором ДАЖ-2М на капиллярной колонке SolGelWax 30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм [11; 12]. Спектры каждого образца регистрировались в трех повторениях с пересыпанием в кювете диаметром 51 мм (навеска 9–20 г) в спектральном диапазоне 4000–12200 см⁻¹ с разрешением 16 см⁻¹, в соответствии с руководством на программное обеспечение OPUS ИК-спектromетра MATRIX-I фирмы Bruker Optics производства Германии.

Результаты и обсуждение. Формирование калибровочных и проверочных партий образцов для построения градуировочных моделей определения масличности и жирно-кислотного состава семян сурепицы проводили в течение трех лет. Накапливали спектральные данные образцов сурепицы яровой и озимой, а так-

же для расширения диапазона изменчивости были привлечены образцы желтосемянного и высокоолеинового сизого рапса озимого и ярового для статистической обработки. Это связано с тем, что на спектральные данные большое влияние оказывают условия, зона и год выращивания, а также генотипы образцов. Этот факт был наглядно представлен при проверке градуировочных моделей по определению массовой доли масла в семенах масличного льна [10].

Было отобрано 136 образцов семян сурепицы, которые были представлены двумя жизненными формами (озимой и яровой), а также были привлечены 96 образцов желтосемянного и 21 образец высокоолеинового сизосемянного рапса озимого и ярового. Дополнительно была подобрана проверочная партия из 17 образцов семян, не использованных в калибровочной партии. За три года исследований были отобраны образцы с массовой долей масла в семенах от 42,7 до 52,8 %. Предварительные исследования показали, что объединение всех образцов в одну градуировочную модель позволило повысить устойчивость такой модели за счет максимально широкого диапазона изменчивости признака массовой доли масла в семенах сурепицы.

Объем образца для определения массовой доли масла и влажности стандартным методом на ЯМР-анализаторе АМВ1006М составлял 25 см³. После анализа на масличность образцы стабилизировали по температуре и снимали спектры отражения в ближнем инфракрасном диапазоне на ИК-анализаторе MATRIX-I в трех повторениях.

На этапе подготовки к разработке градуировочной модели воспользовались возможностью ПО OPUS (программное обеспечение OPUS к ИК-анализатору MATRIX-I) разделять градуировочную партию образцов на две почти равноценные партии образцов – калибровочную и тестовую. Разделение позволяло почти в 5 раз сократить время на разработку моделей. Выбор определенной модели основывался на четырех факторах: величина

среднеквадратичной ошибки калибровки RMSEP, количество рангов, коэффициент детерминации и метод предобработки.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки – первая производная + векторная нормализация – и частичного удаления отдельных спектров образцов была построена градуировочная модель Turnip_51_Oil (рис. 1).

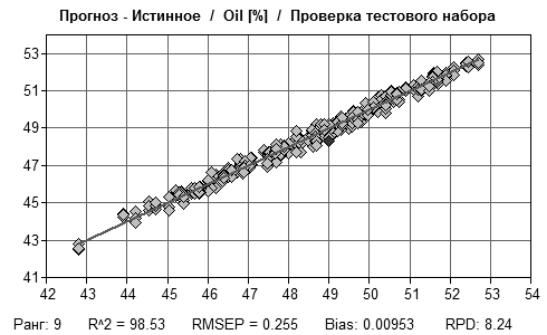


Рисунок 1 – График предсказанных значений содержания масла в семенах сурепицы и желтосемянного рапса (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания масла в семенах (ось X) градуировочной модели Turnip_51_Oil

Выращенные в различных условиях озимые и яровые формы сурепицы и желтосемянного рапса значительно различаются по цвету и форме семян. Это способствовало построению качественной градуировочной модели по масличности семян. При высоком коэффициенте детерминации (98,53) данная модель имела девять рангов в многофакторном анализе. Предполагаем, что это связано в большей степени с размером семян масличных культур – сурепицы и желтосемянного рапса, а также высокой точностью определения масличности с помощью ЯМР-анализатора АМВ-1006 М на образцовой установке [6].

Среднеквадратичная погрешность предсказания (RMSEP) данной модели составила 0,255 %, что дает уверенность в удовлетворительной оценке по повторяемости получаемых результатов анализа масличности семян.

Показатель RPD (Residual Prediction Deviation – значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на графике 1) разработанной градуировочной модели оценивает устойчивость полученной зависимости. Разработанная модель Turnip_51_Oil по определению масличности в целых семенах сурепицы и желтосемянного рапса имеет значение RPD – 8,24 единиц при высоком коэффициенте детерминации R^2 – 98,53, что соответствует высокой оценке устойчивости.

Для испытания полученной градуировочной модели по определению массовой доли масла была подобрана проверочная партия семян сурепицы по результатам массовой оценки селекционного материала урожая 2021 г. Предварительно проанализированная по ГОСТ 8.597-2010 [6] проверочная партия была сформирована в том же диапазоне изменения масличности, что и при разработке искомой зависимости (табл. 1).

Таблица 1

Сравнительный анализ масличности семян сурепицы разными физическими методами

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2021 г.

№ образца	Масличность, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
ЯМР	спектральный			
1	42,7	43,1	-0,4	0,94
2	44,4	44,3	0,1	0,23
3	44,4	44,9	-0,5	1,13
4	44,5	44,6	-0,1	0,22
5	44,8	45,2	-0,4	0,89
6	45,4	45,9	-0,5	1,10
7	45,7	45,5	0,2	0,44
8	46,1	46,4	-0,3	0,65
9	46,3	47,0	-0,7	1,51
10	46,9	46,9	0	0,00
11	47,6	47,9	-0,3	0,63
12	47,7	48,1	-0,3	0,84
13	48,4	48,7	-0,3	0,62
14	48,6	48,9	-0,3	0,62
15	49,6	49,7	-0,1	0,20
16	50,3	50,4	-0,1	0,20
17	50,6	50,7	-0,1	0,20
Диапазон	42,7–50,6	43,1–50,7	-0,7–0,2	0,00–1,51
Среднее	46,7	46,7	0,28	0,61

Необходимо отметить, что при формировании проверочной партии были использованы семена сурепицы яровой

различного происхождения со значениями искомого показателя 42,7–50,6 %.

Средние значения масличности семян проверочной партии, полученные разными методами, полностью совпали, а среднее значение (по модулю) отклонения составило 0,28 % в абсолютных единицах для 17 образцов. Согласно ГОСТ 32749-2014 среднее значение отклонения не должно превышать погрешности стандартного метода [14]. Границы абсолютной погрешности для массовой доли сырого жира в диапазоне от 20 до 40 % составляют 1,5 % и в диапазоне от 40 до 60 – 2,0 %. В соответствии с данными, представленными в таблице 1, границы абсолютной погрешности полученных результатов были существенно ниже и составили от 0,7 до 0,2 %.

Таким образом, разработанная градуировочная модель Turnip_51_Oil соответствует всем параметрам качественной оценки семян сурепицы для определения массовой доли масла в целых семенах двух жизненных форм. Данный метод позволяет определять масличность семян с высокой скоростью – более 100 образцов за рабочую смену.

Согласно Межгосударственному стандарту – ГОСТ 30623-2018 Масла растительные и продукты со смешанным составом жировой фазы. Метод обнаружения фальсификации, введенному с 1 января 2020 г., в состав масла сурепицы и рапса входит 13 жирных кислот.

К основным жирным кислотам масла сурепицы и рапса относятся олеиновая, линолевая и линоленовая; на долю первой приходится от 57,1 до 81,6 %, на линолевую – 7,3–24,1 %, а на полиненасыщенную линоленовую – от 2,2 до 13,1 %, что вместе составляет 91–93 % от суммы всех основных кислот. Также в состав масла сурепицы и рапса входит эруковая кислота в незначительном количестве (0,01–0,80 %). В процессе исследований было обнаружено семь образцов с повышенным содержанием эруковой кислоты в масле – в пределах 1,5–17,8 %. Однако при разработке градуировочных моделей с участием этих образцов программное

обеспечение (ПО Quant+) предлагает удалить спектры этих образцов из списка спектров в связи со значительными отклонениями предсказанных значений от истинных. Поэтому нам не удалось использовать образцы с повышенным содержанием эруковой кислоты в масле семян как рапса [8], так и сурепицы при разработке градуировочных моделей по определению содержания олеиновой кислоты. Можно предположить, что спектральные данные отражения целых семян рапса и сурепицы не различаются по олеиновой и эруковой кислотам, что приводит к невозможности их разделить, при этом они частично суммируются. Это приводит к значительным погрешностям определения олеиновой кислоты в образцах с повышенным содержанием эруковой кислоты, следовательно, такие спектры необходимо исключать.

В связи с вышеизложенным была поставлена задача разработать градуировочные модели для ИК-спектрометрии по определению содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот масла семян сурепицы озимых и яровых форм, желтосемянного и сизосемянного высокоолеинового рапса. Использование семян рапса позволило значительно расширить диапазон изменчивости градуировочных образцов по признаку состава жирных кислот и в частности основных жирных кислот.

Диапазон вариаций содержания олеиновой кислоты в масле семян сурепицы, желтосемянного и сизосемянного высокоолеинового рапса озимого и ярового составил от 57,1 до 81,6 %. Все отобранные и подготовленные образцы семян перед снятием спектров были проанализированы на ЯМР-анализаторе по определению масличности и влажности. В течение первого или второго дня исследования после снятия спектров на приборе MATRIX-I в трехкратной повторности образцы семян подвергались химическому анализу для получения жирно-кислотного состава по 13 жирным кислотам хроматографическим методом. Градуировочная модель была разработана на основании 253 образцов по 759 спектрам и

проверена на независимой проверочной партии из 17 образцов сурепицы.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной + векторной нормализации в диапазоне ближней инфракрасной спектрометрии была построена градуировочная модель Turnip_51_18 : 1 (рис. 2).

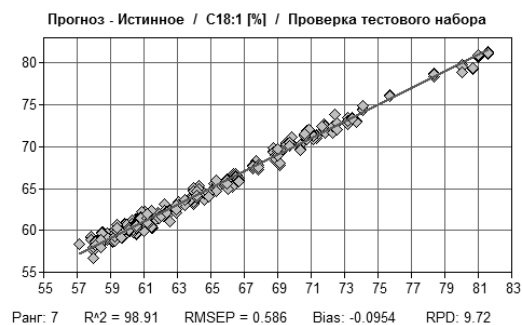


Рисунок 2 – График предсказанных значений содержания олеиновой кислоты в масле сурепицы (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания олеиновой кислоты в масле сурепицы (ось X) градуировочной модели Turnip_51_18 : 1

В процессе разработки искомой градуировочной модели были удалены 36 отдельных спектров из списка зарегистрированных спектров, что составило 4,7 %. Это было обусловлено выбором из трех основных критериев отбора приемлемой модели – количество рангов, среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP и коэффициент детерминации R^2 . В данном эксперименте удалось в первую очередь снизить количество рангов при одинаковой величине среднеквадратичной ошибки предсказания RMSEP.

Полученная модель по определению содержания олеиновой кислоты в масле семян сурепицы по параметрам качества модели соответствует высокой оценке, по количеству рангов (здесь 7) – меньшему количеству переменных при более тесных связях в многомерной зависимости. Среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP составила 0,586 %. Следовательно, можно будет ожидать, что на 95 %-ном доверительном интервале абсолютная

ошибка не превысит 1,6 % единичного измерения. Коэффициент детерминации получился довольно высоким – 98,91 при значении RPD 9,72.

Для подтверждения качества разработанной модели в ИК-спектрометрии используется прямое практическое испытание – исследование проверочной партии семян в том же диапазоне изменчивости, что и при разработке модели (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ содержания олеиновой кислоты масла семян сурепицы различными методами

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2021 г.

№ образца	Содержание олеиновой кислоты, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
	химический	спектральный		
1	65,0	64,6	0,4	0,62
2	65,3	65,5	-0,2	0,31
3	65,6	65,9	-0,3	0,46
4	66,3	66,7	-0,4	0,60
5	69,6	69,3	0,3	0,43
6	70,0	69,9	0,1	0,14
7	70,4	70,3	0,1	0,14
8	70,6	70,8	-0,2	0,28
9	70,7	69,8	0,9	1,27
10	70,9	72,3	-1,4	1,97
11	71,2	70,6	0,6	0,84
12	71,5	71,0	0,5	0,70
13	71,6	71,4	0,2	0,28
14	71,6	71,6	0,0	0,00
15	71,9	71,4	0,5	0,70
16	72,3	74,0	-1,7	2,35
17	72,4	73,9	-1,5	2,07
Диапазон	65,0–72,4	64,6–73,9	-1,7–0,9	0,00–2,35
Среднее	69,8	69,9	0,55	0,77

Анализ результатов проверочной партии по оценке качества градуировочной модели для сурепицы показал, что средние значения проверочной партии, полученные различными методами, практически совпадают. Средняя ошибка предсказания составила 0,55 %, а ошибка единичного измерения не превысила 1,6 % в абсолютных единицах, за исключением образца № 16, и менее 3 % в относительном выражении. Данные погрешности соответствуют критерию воспроизводимости для химического метода и тем более приемлемы для спектрального метода.

Таким образом, полученная градуировочная модель Turnip_51_18 : 1 по определению содержания олеиновой кислоты в масле семян сурепицы по результатам проверочной партии независимых образцов показала приемлемый результат. Поэтому для проведения экспресс-оценки селекционного материала по содержанию олеиновой кислоты в масле целых семян сурепицы необходимо использовать эту модель.

Второй по значимости и величине признака является линолевая жирная кислота масла семян сурепицы. Диапазон изменчивости содержания линолевой кислоты в масле семян сурепицы, желтосемянного и сизосемянного высокоолеинового рапса озимого и ярового составил от 7,35 до 24,14 %. Привлечение образцов высокоолеинового рапса позволило значительно расширить диапазон за счет снижения содержания у этих образцов линолевой кислоты до 7,35 %.

Градуировочная модель по определению содержания линолевой кислоты в масле семян сурепицы была разработана на основании 759 зарегистрированных спектров.

В процессе построения градуировочной модели по определению содержания линолевой кислоты были удалены 20 отдельных спектров из списка зарегистрированных спектров, что составило 2,6 %. Основным критерием отбора приемлемой модели была среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP, так как диапазон изменчивости составил 16,8 %, что почти в два раза меньше по сравнению с олеиновой кислотой.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной + векторной нормализации в диапазоне ближней инфракрасной спектрометрии 9000–4180 см⁻¹ была построена градуировочная модель Turnip_51_18 : 2 (рис. 3).

Полученная модель по определению содержания линолевой кислоты в масле семян сурепицы по параметрам качества модели соответствует удовлетворительной оценке, количество рангов – здесь 9. Среднеквадратичная ошибка предсказа-

ния RMSEP составила 0,665 %, следовательно, можно ожидать на 95 %-ном доверительном интервале абсолютную ошибку не более 1,8 %. Коэффициент детерминации получился относительно высоким – 95,38 при значении RPD 4,7.

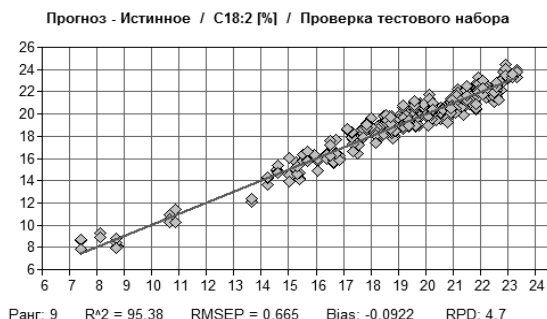


Рисунок 3 – График предсказанных значений содержания линолевой кислоты в масле сурепицы (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания линолевой кислоты в масле сурепицы (ось X) градуировочной модели Turnip_51_18 : 2

Были проведены испытания разработанной модели на проверочной партии семян в том же диапазоне изменчивости, что и при её разработке (табл. 3).

Таблица 3

Сравнительный анализ содержания линолевой кислоты масла семян сурепицы различными методами

г. Краснодар, ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2021 г.

№ образца	Содержание линолевой кислоты, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
	химический	спектральный		
1	15,3	14,0	1,3	8,50
2	15,7	13,9	1,8	11,46
3	16,1	17,7	-1,6	9,94
4	16,2	16,6	-0,4	2,47
5	16,4	17,3	-0,9	5,49
6	16,4	17,6	-1,2	7,32
7	16,7	17,7	-1,0	5,99
8	16,9	17,3	-0,4	2,37
9	17,0	16,6	0,4	2,35
10	17,0	18,2	-1,2	7,06
11	17,3	18,4	-1,1	6,36
12	17,5	17,9	-0,4	2,29
13	17,6	18,3	-0,7	3,98
14	18,7	20,4	-1,7	9,09
15	19,1	19,6	-0,5	2,62
16	19,1	19,1	0,0	0,00
17	20,0	20,1	-0,1	0,50
Диапазон	15,3–20,0	14,0–20,1	-1,7–1,8	0,00–11,46
Среднее	17,2	17,7	0,86	5,16

Анализ результатов проверочной партии по оценке качества градуировочной модели по определению содержания линолевой кислоты в масле семян сурепицы показал, что средние значения проверочной партии, полученные различными методами, отличаются незначительно. Средняя ошибка предсказания составила 0,86 %, а единичные измерения не превысили 1,8 % в абсолютных единицах. Данные погрешности соответствуют критерию воспроизводимости для химического метода и тем более приемлемы для спектрального.

Таким образом, полученная градуировочная модель Turnip_51_18 : 2 по определению содержания линолевой кислоты в масле семян сурепицы по результатам проверочной партии независимых образцов показала удовлетворительный результат. Поэтому для проведения экспресс-оценки селекционного материала по содержанию линолевой кислоты в масле целых семян сурепицы необходимо использовать эту модель.

Последней из основных жирных кислот масла семян сурепицы является линоленовая, однако по практической ценности она выходит на первую позицию. С одной стороны, линоленовая кислота – это полиненасыщенная (эссенциальная) и так называемая ω-3 жирная кислота, с другой, – легко окисляемая за счет трех двойных связей. Поэтому необходимо вести контроль содержания искомой кислоты на разных стадиях селекционной проработки материала.

Диапазон изменчивости содержания линоленовой кислоты в масле семян сурепицы озимой и яровой составил от 2,22 до 13,14 %. Привлечение образцов высокоолеинового рапса позволило расширить диапазон за счет снижения содержания у этих образцов линоленовой кислоты до 2,22 %.

Градуировочная партия состояла из тех же 253 образцов и на основании 759 зарегистрированных спектров была разработана градуировочная модель, в процессе разработки которой пришлось удалить 27 спектров.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной в диапазоне ближней инфракрасной спектроскопии 9000–4100 см⁻¹ была построена градуировочная модель Turnip_51_18 : 3 (рис. 4).

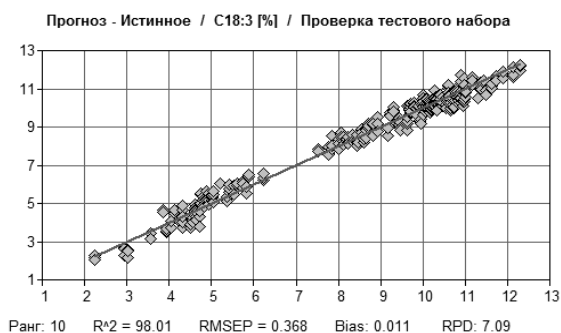


Рисунок 4 – График предсказанных значений содержания линоленовой кислоты в масле сурепицы (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания линоленовой кислоты в масле сурепицы (ось X) градуировочной модели Turnip_51_18 : 3

Разработанная модель по определению содержания линоленовой кислоты в масле семян сурепицы по параметрам качества модели соответствует хорошей оценке, количество рангов – здесь 10. Однако среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP имела минимальное значение из всех жирных кислот – 0,368 %. Следовательно, можно ожидать на 95 %-ном доверительном интервале абсолютную ошибку не более 1,0 %, а коэффициент детерминации получился высоким – 98,01 при значении RPD 7,09.

Анализ результатов, полученных по всем трем градуировочным моделям по определению основных жирных кислот, позволил сделать противоречивый вывод, что уменьшение диапазона изменчивости признака разрабатываемой модели приводит к ухудшению показателей устойчивости последней. Для модели по линоленовой кислоте это утверждение не работает, диапазон уменьшился до 10,9 единиц, а показатели качества значительно лучше, чем у модели по линоленовой кислоте.

Это подтверждается результатами, полученными в ходе испытаний проверочной партии, по определению содержания линоленовой кислоты в масле семян сурепицы при разработке модели (табл. 4).

Таблица 4

Сравнительный анализ содержания линоленовой кислоты масла семян сурепицы различными методами

г. Краснодар, ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2021 г.

№ образца	Содержание линоленовой кислоты, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
	химический	спектральный		
1	3,9	3,2	0,7	17,95
2	4,2	3,4	0,8	19,05
3	4,4	3,9	0,5	11,36
4	4,4	4,3	0,1	2,27
5	4,5	4,3	0,2	4,44
6	4,7	4,3	0,4	8,51
7	4,9	4,7	0,2	4,08
8	5,2	4,8	0,4	7,69
9	5,6	5,0	0,6	10,71
10	5,9	5,3	0,6	10,17
11	6,6	6,1	0,5	7,58
12	7,4	6,9	0,5	6,76
13	7,6	7,3	0,3	3,95
14	7,9	7,6	0,3	3,80
15	8,5	7,6	0,9	10,59
16	9,5	8,5	1,0	10,53
17	10,3	10,5	-0,2	1,94
Диапазон	3,9–10,3	3,2–10,5	-0,2–1,0	1,94–19,05
Среднее	6,2	5,7	0,48	8,32

Анализ результатов проверочной партии по оценке качества градуировочной модели по линоленовой кислоте в масле сурепицы показал, что средние значения проверочной партии, полученные различными методами, отличаются на 0,5 абсолютных единиц, и это значение составляет 8 % относительных единиц, что связано с малой величиной признака. Средняя ошибка предсказания составила 0,48 %, а единичные измерения не превысили 1,0 % в абсолютных единицах. Относительная погрешность единичных измерений резко возросла и достигла в образце № 2 19,05 % при величине признака 4,2 % и в среднем составила 8,32 %. Полученные погрешности определения содержания основных жирных кислот масла сурепицы соответствуют критерию воспроизводимости для химического метода и приемлемы для оперативного контроля селекционного материала.

Таким образом, полученная градуировочная модель Turnip_51_18 : 3 по опреде-

лению содержания линоленовой кислоты в масле семян сурепицы имеет наименьшую среднюю абсолютную ошибку среди основных жирных кислот образцов проверочной партии. Привлечение образцов желтосемянного и сизосемянного высокоолеинового рапса озимого и ярового позволило значительно расширить диапазон изменчивости состава жирных кислот, в частности линоленовой кислоты. Поэтому для проведения экспресс-оценки селекционного материала по содержанию линоленовой кислоты в масле целых семян сурепицы необходимо использовать градуировочную модель Turnip_51_18 : 3.

После получения удовлетворительных значений результатов разработки градуировочных моделей по искомым показателям была разработана методика «Сурепица 51» в программе OPUS LAB для рутинного анализа по одновременно определению массовой доли масла, содержанию олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот масла в целых семенах сурепицы.

Сравнительная характеристика входящих в методику «Сурепица 51» разработанных градуировочных моделей по одновременному определению искомых показателей для ИК-анализатора MATRIX-I представлена в таблице 5.

Таблица 5

Характеристика градуировочных моделей по определению масличности, олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот масла в семенах сурепицы для ИК-спектрометрии

г. Краснодар, ЦЭБ ВНИИМК, 2021 г.

Компонент	Ранг	R ²	RMSEP	RPD	Предобработка	Количество калибровочных спектров, шт.
Масличность	9	98,53	0,255	8,2	Первая производная + векторная нормализация	687
Олеиновая	7	98,91	0,586	9,7	Первая производная + векторная нормализация	759
Линолевая	9	95,38	0,665	4,7	Первая производная + векторная нормализация	759
Линоленовая	10	98,01	0,368	7,1	Первая производная + векторная нормализация	759

*Примечание – качество хемометрических моделей зависит от выбора правильного числа необходимых факторов, что также называется рангом модели; R² – коэффициент детерминации; RMSEP – среднеквадратичная погрешность предсказания; RPD – значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на графике

Заключение. Таким образом, были получены наилучшие показатели качества градуировочных моделей (среднеквадратичная ошибка прогноза, коэффициент детерминации и значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на графике) по определению масличности (RMSEP = 0,25 %, R² = 98,5 и RPD = 8,2), по содержанию олеиновой (RMSEP = 0,59 %, R² = 98,9 и RPD = 9,7), линолевой (RMSEP = 0,66 %, R² = 95,4 и RPD = 4,7) и линоленовой (RMSEP = 0,37 %, R² = 98,0 и RPD = 7,1) жирных кислот.

В программе OPUS LAB получена методика «Сурепица 51» для массового исследования на основе разработанных градуировочных моделей по определению массовой доли масла, содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот масла в целых семенах сурепицы для ИК-спектрометрии в средней пробе (9–20 г) в кювете диаметром 51 мм. Эта методика позволяет проводить экспресс-оценку селекционного материала в семенах сурепицы с производительностью более 100 образцов за рабочую смену.

Список литературы

1. Горлова Л.А., Бочкарёва Э.Б., Сердюк В.В., Ефименко С.Г. Направления и результаты селекции рапса и сурепицы во ВНИИМК // Известия ТСХА. – 2017. – Вып. 2. – С. 20–33.
2. Бочкарева Э.Б., Горлов С.Л., Горлова Л.А., Сердюк В.В. Селекция желтосемянной сурепицы озимой во ВНИИМК // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2015. – Вып. 3 (163). – С. 44–49.
3. Воловик В.Т., Сергеева С.Е., Леонидова Т.В., Коровин Л.М. Направление селекции сурепицы в ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» // Сб. статей Всероссийской научной конференции с международным участием: Растениеводство и луговодство / Под ред. А.В. Шитиковой. – М.: Изд-во «ЭйПиСиПаблшинг», 2020. – С. 513–517.
4. Быкова С.Ф., Давиденко Е.К., Ефименко С.Г., Ефименко С.К. Перспективы развития сырьевой

базы масложирового комплекса России // Пищевая промышленность. – 2017. – № 5. – С. 20–24.

5. Deepak Prem, Kadambari Gupta, Gautam Sarkar, Abha Agnihotri. Determination of oil, protein and moisture content in whole seeds of three oleiferous *Brassica* species using near-infrared reflectance spectroscopy // Journal of Oilseed Brassica. – 2012. – No 3 (2). – P. 88–98.

6. ГОСТ 8.597-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Семена масличных культур и продукты их переработки. Методика выполнения измерений масличности и влажности методом импульсного ядерного магнитного резонанса. – М.: Стандартинформ, 2011. – 12 с.

7. ГОСТ 32749-2014 Семена масличные, жмыхи и шроты. Определение влаги, жира, протеина и клетчатки методом спектроскопии в ближней инфракрасной области. – М.: Стандартинформ, 2015. – 8 с.

8. Ефименко С.Г., Ефименко С.К., Кучеренко Л.А., Нагалева Я.А. Экспресс-оценка содержания основных жирных кислот в масле семян рапса с помощью ИК-спектроскопии // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2015. – Вып. 4 (164). – С. 35–40.

9. Ефименко С.Г., Ефименко С.К. Определение содержания масла и влаги в семенах горчицы с помощью ИК-спектроскопии // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 4 (180). – С. 36–44.

10. Ефименко С.Г., Ефименко С.К. Экспресс-оценка содержания масла и влаги в семенах масличного льна с помощью ИК-спектроскопии // Масличные культуры. – 2020. – Вып. 3 (183). – С. 63–70.

11. ГОСТ 31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. – 11 с.

12. ГОСТ Р 31665-2012 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. – 11 с.

References

1. Gorlova L.A., Bochkareva E.B., Serdyuk V.V., Efimenko S.G. Napravleniya i rezul'taty selektsii rapsa i surepitsy vo VNIIMK // Izvestiya TSKhA. – 2017. – Vyp. 2. – S. 20–33.

2. Bochkareva E.B., Gorlov S.L., Gorlova L.A., Serdyuk V.V. Seleksiya zheltosemyannoy surepitsy ozimoy vo VNIIMK // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2015. – Vyp. 3 (163). – S. 44–49.

3. Volovik V.T., Sergeeva S.E., Leonidova T.V., Korovin L.M. Napravlenie selektsii surepitsy v FNTs «VIK im. V.R. Vil'yamsa» // Sb. statey Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem: Rasteniyevodstvo i

lugovodstvo / Pod red. A.V. Shitikovoy. – M.: Izd-vo «EypisiPUBLISHING», 2020. – S. 513–517.

4. Bykova S.F., Davidenko E.K., Efimenko S.G., Efimenko S.K. Perspektivy razvitiya syr'evoy bazy maslozhirovogo kompleksa Rossii // Pishchevaya promyshlennost'. – 2017. – № 5. – S. 20–24.

5. Deepak Prem, Kadambari Gupta, Gautam Sarkar, Abha Agnihotri. Determination of oil, protein and moisture content in whole seeds of three oleiferous *Brassica* species using near-infrared reflectance spectroscopy // Journal of Oilseed Brassica. – 2012. – No 3 (2). – R. 88–98.

6. ГОСТ 8.597-2010 Gosudarstvennaya sistema obespecheniya edinstva izmereniy. Semena maslichnykh kul'tur i produkty ikh pererabotki. Metodika vpolneniya izmereniy maslichnosti i vlazhnosti metodom impul'snogo yadernogo magnitnogo rezonansa. – M.: Standartinform, 2011. – 12 s.

7. GOST 32749-2014 Semena maslichnye, zhmykhi i shroty. Opredelenie vlagi, zhira, proteina i kletchatki metodom spektroskopii v blizhney infrakrasnoy oblasti. – M.: Standartinform, 2015. – 8 s.

8. Efimenko S.G., Efimenko S.K., Kucherenko L.A., Nagalevskaya Ya.A. Ekspress-otsenka sodержaniya osnovnykh zhirnykh kislot v masle semyan rapsa s pomoshch'yu IK-spektrometrii // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2015. – Vyp. 4 (164). – S. 35–40.

9. Efimenko S.G., Efimenko S.K. Opredelenie sodержaniya masla i vlagi v semenakh gorchitsy s pomoshch'yu IK-spektrometrii // Maslichnye kul'tury. – 2019. – Vyp. 4 (180). – S. 36–44.

10. Efimenko S.G., Efimenko S.K. Ekspress-otsenka sodержaniya masla i vlagi v semenakh maslichnogo l'na s pomoshch'yu IK-spektrometrii // Maslichnye kul'tury. – 2020. – Vyp. 3 (183). – S. 63–70.

11. GOST 31663-2012. Masla rastitel'nye i zhiry zhivotnye. Opredelenie metodom gazovoy khromatografii massovoy doli metilovykh efirov zhirnykh kislot. – M.: Standartinform, 2013. – 11 s.

12. GOST R 31665-2012 Masla rastitel'nye i zhiry zhivotnye. Poluchenie metilovykh efirov zhirnykh kislot. – M.: Standartinform, 2013. – 11 s.

Сведения об авторах

С.Г. Ефименко, зав. лаб., вед. науч. сотр., канд. биол. наук
С.К. Ефименко, вед. науч. сотр., канд. биол. наук

Получено/Received

25.02.2022

Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed

09.02.2022

Получено после доработки/Manuscript revised

09.02.2022

Принято/Accepted

17.03.2022
Manuscript on-line
30.05.2022