

Научная статья

УДК 633.853.494:581.192.2

DOI: 10.25230/2412-608X-2023-2-194-40-50

## Определение содержания масла и основных жирных кислот семян рапса озимого с помощью ИК-спектрометрии

Сергей Григорьевич Ефименко

Светлана Константиновна Ефименко

Лолита Олеговна Усатенко

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

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

**Аннотация.** Спектроскопия ближнего инфракрасного отражения (NIRS) была использована для оценки биохимических показателей в семенах рапса озимого. Цель исследований – разработка градуировочных моделей для ИК-анализатора MATRIX-I по определению в целых семенах рапса массовой доли масла, содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле семян. Исследования проводили в лаборатории биохимии на образцах рапса озимого, выращенных в 2015–2022 гг. в условиях центральной зоны Краснодарского края. Масличность определяли на ЯМР-анализаторе АМВ1006М (Россия). Содержание олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле анализировали хроматографическим методом на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» на капиллярной колонке SolGelWax 30 м × 0,25 мм × 1,0 мкм с автоматическим дозатором жидких проб ДАЖ2М. 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 = 0,36 %, R<sup>2</sup> = 98,0 и RPD = 7,0), по содержанию олеиновой (RMSEP = 0,70 %, R<sup>2</sup> = 98,6 и RPD = 8,4), линолевой (RMSEP = 0,74 %, R<sup>2</sup> = 97,3 и RPD = 6,1) и линоленовой (RMSEP = 0,28 %, R<sup>2</sup> = 97,2 и RPD = 6,0) жирных кислот в масле семян рапса озимого. В программе OPUS LAB получена методика «Рапс 51» для массового исследования на основе разработанных градуировочных моделей по определению массовой доли масла, содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле в целых семенах

рапса озимого для ИК-спектрометрии в средней пробе (9–20 г) в кювете диаметром 51 мм. Эта методика позволяет проводить экспресс-оценку селекционного материала в семенах рапса с производительностью более 100 образцов за рабочую смену.

**Ключевые слова:** семена, рапс озимый, масличность, олеиновая, линолевая, линоленовая жирные кислоты, ИК-спектрометрия, градуировочная модель

*Для цитирования:* Ефименко С.Г., Ефименко С.К., Усатенко Л.О. Определение содержания масла и основных жирных кислот семян рапса озимого с помощью ИК-спектрометрии // Масличные культуры. 2023. Вып. 2 (194). С. 40–50.

UDC 633.853.494:581.192.2

### The determination of oil content and the main fatty acid contents in oil of winter rapeseed seeds using IR-spectrometry

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

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

**Usatenko L.O.**, post-graduate student

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

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

**Abstract.** Near-infrared spectroscopy (NIRS) was used to estimate biochemical traits in winter rapeseed seeds. The purpose of the research was to develop graduating models for an IR-analyzer MATRIX-I to determine oil content and contents of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in oil in seeds. 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 the seeds of winter rapeseed cultivated in 2015–2022 in the central zone of the Krasnodar region. 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 chromatographic method on a gas chromatograph “Chromatek-Kristall 5000” on a capillary column SolGelWax 30 m × 0.25 mm × 1.0 μm with automatic dripper of liquid samples DAZh2M. 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 = 0.36%, R<sup>2</sup> = 98.0, and RPD = 7.0); contents of oleic (RMSEP = 0.70%, R<sup>2</sup> = 98.6, and RPD = 8.4), linoleic (RMSEP =

0.74%,  $R^2 = 97.3$ , and  $RPD = 6.1$ ), and linolenic (RMSEP = 0.28%,  $R^2 = 97.2$ , and  $RPD = 6.0$ ) fatty acids. The methodic "Rapeseed 51" for mass studying based on the developed graduating models for determination of oil content, contents of oleic, linoleic, and linolenic fatty acids in oil in unbroken seeds of winter rapeseed 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 winter rapeseed seeds per an operating shift.

**Key words:** seeds, winter rapeseed, oil content, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid, IR-spectrometry, graduating model

**Введение.** Озимый рапс (*Brassica napus* L.) является одним из важнейших масличных растений, используемых в качестве продукта питания и корма для животных, а также технического сырья в производстве таких материалов, как биотопливо, лаки, смазочные материалы, пестициды, газетные чернила, синтетический каучук, мыло, промышленные масла.

В последние годы наряду с подсолнечником и соей рапс приобретает все большую значимость. Для России рапс – одна из перспективных сельскохозяйственных культур, которую можно возделывать во многих регионах, именно поэтому площади с посевами этой культуры растут с каждым годом.

В кормлении сельскохозяйственных животных используются как семена рапса, так и продукты его переработки – масло, шрот и жмых [1]. Мука из семян рапса обладает высокой энергетической, протеиновой и биологической ценностью. В ней содержится лизин, отмечается богатое содержание серосодержащих аминокислот метионина и цистеина [2]. Рапсовый шрот можно рассматривать как источник холина, биотина, фолиевой кислоты, тиамина, кальция, железа, фосфора, магния. Кормовая ценность рапсового жмыха превышает ценность шрота из-за большего содержания жира [1].

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 семян рапса входит 14 жирных кислот [3]. Содержащиеся в рапсовом масле в наибольшем количестве ненасыщенные олеиновая, линолевая и линоленовая жирные кислоты регулируют синтез простагландинов, оказывают положительное влияние на воспроизводительные функции организма животных. К тому же линолевая и линоленовая кислоты являются незаменимыми, то есть не синтезируются в организме человека [4]. Рапсовое масло, богатое этими омега-6 и омега-3 жирными кислотами, широко используется человеком, является одним из видов масла, которое полезно для здорового развития нервной системы и функций мозга.

По физико-химическим показателям высокоолеиновое рапсовое масло приближается к оливковому, но отличается от него как по суммарному содержанию токоферолов, так и по их составу. Если токоферолы оливкового масла представлены на 90 % альфа- и на 10 % гамма-формами при их общем содержании 111–150 мг/кг, то токоферольный комплекс рапсового высокоолеинового масла включает 65–70 % гамма-формы при общем содержании 630–820 мг/кг, обладающей высокой антиоксидантной активностью. На долю альфа-формы с присущей для нее витаминной активностью приходится порядка 30–35 % общего содержания токоферолов в этом масле [5].

Сдерживающим фактором использования семян рапса является наличие в них антипитательных глюкозинолатов и эруковой жирной кислоты. Благодаря селекции рапса были достигнуты значительные изменения за счет увеличения урожайности и масличности при одновременном увеличении содержания белка в шроте. Также удалось вывести сорта рапса «00»-го типа с низким содержанием эруковой кислоты (не более 2 %) и глюкозинолатов в шроте (не более 25 мкмоль/г семян) [6].

Во ВНИИМКе селекция рапса активно ведётся с 1983 г., за это время создано 40 сортов рапса и сурепицы [7]. За 40-летний период селекционной работы во ВНИИМК было выведено и районировано 11 сортов рапса озимого. Первые отечественные высокоолеиновый сорт и межлинейный гибрид на основе ЦМС проходят Госсортоиспытание. Приоритетными направлениями исследований по селекции рапса и сурепицы на перспективу являются: высокая продуктивность сортов и гибридов на основе ЦМС, высокая масличность и качество масла и белка, селекция на устойчивость к основным болезням, устойчивость к абиотическим факторам среды (зимостойкость для озимого), устойчивость к полеганию и осыпавости, а также технологичность возделывания культуры [8].

Для проведения эффективной селекционной работы требуется комплексная биохимическая оценка семян рапса озимого по основным биохимическим признакам, таким как массовая доля масла, содержание олеиновой, линолевой, линоленовой, эруковой жирных кислот и глюкозинолатов.

Массовая оценка селекционного материала рапса по масличности ранее проводилась в отделе физических методов исследований ВНИИМК с помощью ЯМР-анализатора АМВ1006 М по ГОСТ 8.597-2010 [9].

Альтернативным методом определения масличности и других признаков, в связи с задачами селекции на современном этапе, является использование спектральных приборов нового поколения, которые позволяют одновременно контролировать несколько биохимических показателей, тем самым увеличивая производительность труда. Исследования в ближнем инфракрасном диапазоне с применением математических методов многомерного анализа данных лежат в основе методик экспресс анализа различных показателей. Преимущества использования ИК-спектрометрии способствуют активному ис-

пользованию этого метода, особенно в селекционных целях.

Возможности спектроскопии отражения в ближней инфракрасной области для одновременного определения содержания масла и жирно-кислотного состава в семенах рапса изучались многими зарубежными авторами [2; 10; 11; 12]. Результаты этих исследований показали, что с помощью ИК-спектроскопии возможна надежная оценка содержания масла в семенах и основных жирных кислот в масле.

Для ИК-спектрометрии 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. [13].

В лаборатории биохимии ВНИИМК уже проведены исследования по освоению ИК-анализатора MATRIX-I фирмы Bruker Optics (Германия). Были разработаны градуировочные модели для одновременного определения содержания олеиновой, линолевой и линоленовой жирных кислот в масле целых семян отдельных самоопыленных растений [14]. С освоением ИК-анализатора стало возможно выполнять исследования без потерь количества семян. Прежде для определения жирно-кислотного состава масла использовалась (разрушалась) часть семян для химического анализа хроматографическим методом.

Ранее также для оценки показателей качества селекционного материала в целых семенах горчицы и льна масличного были разработаны градуировочные модели для ИК-анализатора MATRIX-I. Полученные погрешности определений содержания масла и влаги в семенах по градуировочным моделям с помощью ИК-спектрометрии незначительно превысили стандартные методы [15; 16].

На основании полученных нами ранее данных была поставлена задача разработать градуировочные модели для ИК-

анализатора MATRIX-I по определению в целых семенах рапса озимого массовой доли масла, содержания основных жирных кислот. Цель исследований – разработка методики на основе апробированных градуировочных моделей для ИК-анализатора MATRIX-I, позволяющая проводить комплексную биохимическую оценку в целых семенах рапса озимого в средней пробе (9–20 г) в кювете диаметром 51 мм одновременно по четырем биохимическим показателям – масличности, содержанию олеиновой, линолевой, линоленовой жирных кислот масла.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служили сорта, линии и гибриды рапса озимого (*Brassica napus*) рабочей коллекции отдела селекции рапса и горчицы, выращенные в 2015–2022 гг. в условиях центральной зоны Краснодарского края.

Массовую долю масла в семенах рапса определяли на российском приборе – ЯМР-анализаторе АМВ1006 М [9]. Состав жирных кислот в масле семян анализировали хроматографическим методом на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» российского производства с автоматическим дозатором жидких проб ДАЖ2М на капиллярной колонке SolGel-Wax 30 м × 0,25 мм × 1,0 мкм [17]. Спектры каждого образца регистрировались в трех повторениях с пересыпанием в кювете диаметром 51 мм (навеска 9–20 г) в спектральном диапазоне 4000–12200 см<sup>-1</sup> с разрешением 16 см<sup>-1</sup>, в соответствии с руководством на программное обеспечение OPUS ИК-спектрометра MATRIX-I фирмы Bruker Optics, Германии.

**Результаты и обсуждение.** Формирование калибровочных и проверочных партий образцов для построения градуировочных моделей для определения масличности семян рапса проводили в течение восьми лет. Накапливали спектральные данные образцов рапса озимого. Для расширения диапазона изменчивости, статистических данных и возможности комплексно оценивать весь озимый се-

лекционный материал были привлечены разнообразные образцы, включающие желтосемянные, высокоолеиновые, родительские линии гибридов рапса озимого. Это связано с тем, что на спектральные данные большое влияние оказывают условия и год выращивания, а также генотипы образцов. Дополнительно ранее было установлено, что по массе и размеру семена рапса озимого и ярового существенно отличаются. Этот факт не позволил создать удовлетворительную градуировочную модель по определению массовой доли масла в семенах рапса обеих жизненных форм.

За годы исследований было разработано более 20 рабочих градуировочных моделей по определению масличности в семенах рапса озимого. Определен принцип подбора проверочных и калибровочных образцов из поступающих на биохимическую оценку партий нового урожая. Проверочная партия формируется в конце июля при поступлении образцов нового урожая – для уточнения погрешности определения и корректировки градуировочной модели. Калибровочная партия формировалась по результатам массовой оценки и отбора уникальных образцов по диапазону изменчивости и с определенной дискретностью по масличности, чтобы наполнить равномерность разрабатываемой модели новыми образцами ежегодно.

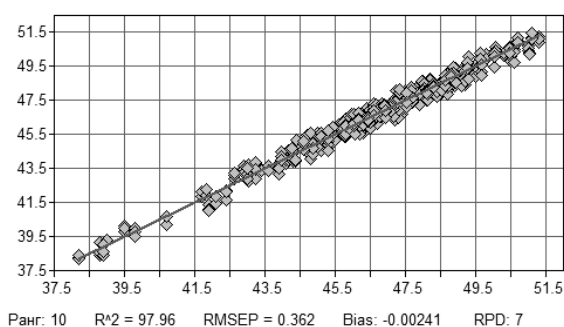
За 8 лет исследований было отобрано 336 образцов семян рапса озимого, из них 46 образцов желтосемянного рапса и 51 образец высокоолеинового сизосемянного рапса озимого с варьированием показателей масличности от 37,50 до 51,92 %.

Для определения массовой доли масла и влажности стандартным методом на ЯМР-анализаторе АМВ1006 М были взяты образцы семян объемом 25 см<sup>3</sup>. Затем снимали спектры отражения в ближнем инфракрасном диапазоне на ИК-анализаторе MATRIX-I в трех повторениях с пересыпанием, что позволяет максималь-

но учитывать как однородность пробы, так и её разнокачественность.

Градуировочную партию образцов программно разделили на две почти равноценные партии образцов – калибровочную и тестовую. Разделение позволяло значительно сократить время на разработку моделей – почти в 5 раз. Выбор удовлетворительной по использованию модели основывался на четырех факторах: величине среднеквадратичной ошибки калибровки RMSEP и RPD, количестве рангов, коэффициенте детерминации и методе предобработки.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной и частичного удаления отдельных спектров образцов рапса озимого была построена градуировочная модель Rape\_51\_Oil, представленная на рисунке 1.



*Рисунок 1* – График предсказанных значений содержания масла в семенах рапса озимого (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания масла в семенах (ось X) градуировочной модели Rape\_51\_Oil

Количество удаленных спектров составило 16 штук из 1008 сохраненных спектральных данных, что не превышает 1,6 % от общего числа. Это способствовало построению качественной градуировочной модели по масличности семян. При высоком коэффициенте детерминации – 97,96 – данная модель имела 10 рангов в многофакторном анализе. Предполагаем, что это связано в большей степени с раз-

мером семян рапса озимого, а также высокой точностью и стабильностью по годам определения масличности с помощью ЯМР-анализатора AMB1006 M на образцовой установке.

Среднеквадратичная погрешность предсказания (RMSEP) данной модели составила 0,362 %, что дает уверенность в удовлетворительной оценке получаемых предсказаний результатов анализа масличности семян.

Показатель RPD (Residual Prediction Deviation – значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на рисунке 1), разработанной градуировочной модели оценивает устойчивость полученной зависимости. Разработанная модель Rape\_51\_Oil по определению масличности в целых семенах рапса имеет значение RPD 7,0 единиц при высоком коэффициенте детерминации R<sup>2</sup> – 97,96, что соответствует высокой оценке устойчивости. Однако полученный опыт по разработке градуировочных моделей показывает, что основным критерием применения искомой модели являются полученные погрешности проверочной партии.

Проверочная партия была подобрана по содержанию масла в семенах рапса по результатам массовой оценки селекционного материала урожая 2022 г. Предварительно отобранная по объему и повторно проанализированная по ГОСТ 8.597-2010 проверочная партия была сформирована в том же диапазоне изменения масличности, что и при разработке искомой зависимости (табл. 1).

Средние значения масличности семян проверочной партии, полученные разными методами, практически полностью совпали, а среднее значение (по модулю) отклонения составило 0,26 % в абсолютных единицах из 17 образцов. Согласно ГОСТ 32749-2014 среднее значение отклонения не должно превышать погрешности стандартного метода, которая составляет не более 0,6 % [17].

Таблица 1

**Сравнительный анализ масличности семян рапса озимого разными физическими методами**

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2023 г.

№ образца	Масличность, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
	ЯМР	спектральный		
1	42,31	41,87	0,44	1,04
2	43,68	43,53	0,15	0,34
3	43,81	44,02	-0,21	0,48
4	44,14	43,94	0,20	0,45
5	44,42	44,63	-0,21	0,47
6	44,95	45,11	-0,16	0,36
7	45,12	45,58	-0,46	1,02
8	45,96	46,13	-0,17	0,37
9	46,27	45,72	0,55	1,19
10	46,89	46,76	0,13	0,28
11	47,73	47,88	-0,15	0,31
12	48,07	47,89	0,18	0,37
13	48,82	48,95	-0,13	0,27
14	49,03	48,98	0,05	0,10
15	49,79	49,46	0,33	0,66
16	50,38	50,99	-0,61	1,21
17	51,40	51,69	-0,29	1,04
Диапазон	42,31–51,40	41,87–51,69	-0,61–0,55	0,10–1,21
Среднее	46,33	46,34	0,26	0,56

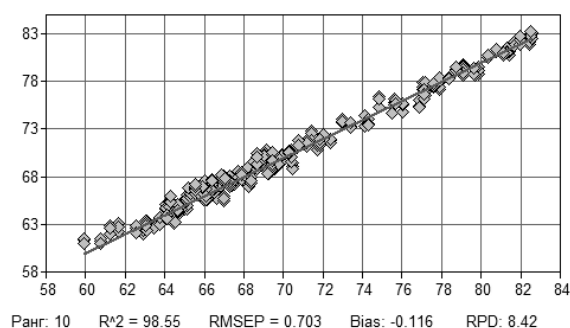
Таким образом, разработанная градуировочная модель Rare\_51\_Oil соответствует всем параметрам для качественного определения массовой доли масла в целых семенах рапса озимого в средней пробе.

К основным жирным кислотам масла семян безэруковых образцов 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 жирных кислот.

Образцы семян калибровочной партии урожая 2020–2022 гг. после снятия спектров были проанализированы хроматографическим методом. Из подготовленных образцов семян было получено масло с помощью лабораторного пресса, которое затем подвергалось химическому анализу для получения метиловых эфиров жирных кислот. После хроматографирования подготовленных проб по характерным пикам были рассчитаны результаты

измерения по 14 жирным кислотам. Диапазон изменчивости содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса озимого составил от 59,91 до 82,56 %. Градуировочная модель была разработана на основании 244 образцов по 732 спектрам и проверена на независимой проверочной партии из 17 образцов семян рапса озимого урожая 2022 г.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной + MSC в диапазоне ближней инфракрасной спектроскопии была построена градуировочная модель Rare\_51\_18 : 1 (рис. 2).



**Рисунок 2** – График предсказанных значений содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания олеиновой кислоты в масле (ось X) градуировочной модели Rare\_51\_18:1

В процессе разработки искомой градуировочной модели были удалены 11 отдельных спектров из списка зарегистрированных, что составило 1,5 % от общего количества.

Полученная модель по определению содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса по параметрам качества модели соответствует высокой оценке, по количеству рангов (10), соответствует количеству переменных при более тесных связях в многомерной зависимости. Среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP составила 0,703 %. Следовательно, можно будет ожидать, что на 95%-ном доверительном интервале абсо-

лютная ошибка не превысит 2,0 % единичного измерения. Коэффициент детерминации получился довольно высоким – 98,55 при значении RPD (значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на графике) = 8,42.

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

Таблица 2

**Сравнительный анализ содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса озимого различными методами**

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2023 г.

№ образца	Содержание олеиновой кислоты, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
	химический	спектральный		
1	62,88	63,67	-0,79	1,26
2	65,18	64,76	0,42	0,64
3	66,53	65,82	0,71	1,07
4	67,38	66,70	0,68	1,01
5	68,13	67,52	0,61	0,90
6	68,68	67,42	1,26	1,83
7	70,11	71,08	-0,97	1,38
8	71,13	69,95	1,18	1,66
9	72,31	72,63	0,32	0,44
10	74,03	74,87	-0,84	1,13
11	75,94	76,86	-0,92	1,21
12	77,26	78,43	-1,17	1,51
13	79,64	79,17	0,47	0,59
14	80,27	79,76	0,51	0,64
15	81,16	81,43	-0,27	0,33
16	81,61	82,57	-0,96	1,18
17	82,23	81,21	1,02	1,24
Диапазон	62,88–82,23	63,67–81,21	-1,17–1,26	0,00–2,35
Среднее	73,20	73,17	0,77	1,06

Анализ результатов проверочной партии по оценке качества градуировочной модели для семян рапса показал, что средние значения проверочной партии различными методами практически не отличается. Средняя ошибка определения составила 0,77 %, а ошибка единичного измерения не превысила 1,3 % в абсолютных единицах. Данные погрешности соответствуют критерию повторяемости для химического метода и тем более удовлетворительны для спектрального метода.

Таким образом, полученная градуировочная модель Rare \_51\_18 : 1 по определению содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса озимого по оценке проверочной партии независимых образцов показала достоверный результат. Поэтому для проведения экспресс-оценки селекционного материала по содержанию олеиновой кислоты в масле целых семян рапса необходимо использовать апробированную градуировочную модель Rare \_51\_18 : 1.

Второй по значимости и величине признака является линолевая жирная кислота масла семян рапса. Диапазон изменчивости содержания линолевой кислоты в масле семян рапса озимого составил от 5,34 до 23,99 %. Привлечение образцов высокоолеинового рапса позволило значительно расширить диапазон за счет низкого содержания у этих образцов линолевой кислоты – до 5,34 %.

Градуировочная модель по определению содержания линолевой кислоты в масле семян рапса была разработана на основании 738 зарегистрированных спектров и оценена на независимой партии из 17 образцов, представленных в таблице 3.

Таблица 3

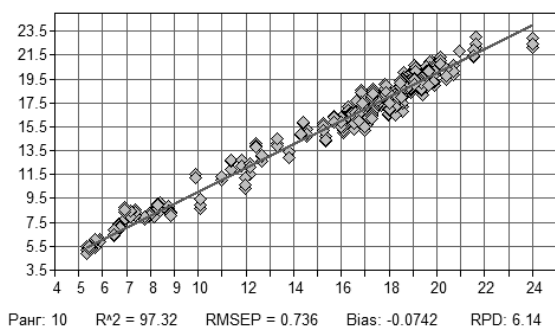
**Сравнительный анализ содержания линолевой кислоты в масле семян рапса различными методами**

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2023 г.

№ образца	Содержание линолевой кислоты, %		Разница, %	
	метод		абсолютная	относительная
	химический	спектральный		
1	20,78	19,84	0,94	4,52
2	19,28	20,11	-0,83	4,30
3	18,45	18,89	-0,44	2,38
4	17,82	17,13	0,69	3,87
5	17,23	18,83	-1,60	9,29
6	16,62	16,15	0,47	2,83
7	15,75	16,36	-0,61	3,87
8	14,86	14,75	0,11	0,74
9	13,71	12,53	1,18	8,61
10	11,75	12,68	-0,93	7,91
11	10,69	11,43	-0,74	6,92
12	8,41	9,43	-1,02	12,13
13	8,12	8,97	-0,85	10,47
14	7,67	7,04	0,63	8,21
15	6,81	7,47	-0,66	9,69
16	6,49	6,96	-0,47	7,24
17	5,72	6,57	-0,85	14,86
Диапазон	5,72–20,78	6,57–19,84	-1,60–1,18	0,00–11,46
Среднее	12,95	13,24	0,76	6,93

В процессе построения градуировочной модели по определению содержания линолевой кислоты были удалены семь отдельных спектров из списка зарегистрированных, что составило менее 1,0 %. Основным критерием отбора удовлетворительной модели была среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP, так как диапазон изменчивости составил 18,65 %, что почти в 1,3 раза меньше по сравнению с моделью для олеиновой кислоты.

В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной + MSC в диапазоне ближней инфракрасной спектроскопии 9000–4180 см<sup>-1</sup> была построена градуировочная модель Rare\_51\_18 : 2 (рис. 3).



**Рисунок 3** – График предсказанных значений содержания линолевой кислоты в масле семян рапса озимого (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания линолевой кислоты в масле (ось X) градуировочной модели Rare\_51\_18 : 2

Полученная модель по определению содержания линолевой кислоты в масле семян рапса по параметрам качества модели соответствует удовлетворительной оценке, количество рангов – 10. Среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP составила 0,736 %. Коэффициент детерминации получили высокий – 97,32 при значении RPD = 6,14.

Оценка проверочной партии семян в том же диапазоне изменчивости разработанной модели показала адекватность предсказанных значений (табл. 3). Анализ

результатов проверочной партии по оценке качества градуировочной модели по определению содержания линолевой кислоты в масле семян рапса показал, что средние значения проверочной партии, полученные различными методами, отличаются незначительно. Средняя ошибка предсказания составила 0,76 %, а единичные измерения не превысили 1,6 % в абсолютных единицах. Данные погрешности соответствуют критерию воспроизводимости для химического метода и применимы для спектрального анализа.

Таким образом, полученная градуировочная модель Rare\_51\_18 : 2 по определению содержания линолевой кислоты в масле семян рапса по результатам проверочной партии независимых образцов показала удовлетворительный результат. Поэтому для проведения экспресс-оценки селекционного материала по содержанию линолевой кислоты в масле целых семян рапса озимого необходимо использовать градуировочную модель Rare\_51\_18 : 2.

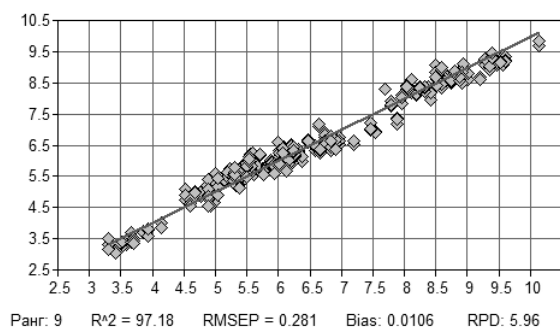
Линоленовая кислота является ещё одной важной кислотой в жирно-кислотном составе рапсового масла. С одной стороны, линоленовая кислота – это полиненасыщенная (эссенциальная) и так называемая ω-3 жирная кислота, а с другой, – легко окисляемая за счет трех двойных связей. Поэтому необходимо вести контроль содержания искомой кислоты на разных стадиях селекционной проработки материала.

Диапазон изменчивости содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса озимого составил от 3,31 до 10,13 %. Привлечение высокоолеиновых образцов рапса озимого позволило расширить диапазон за счет снижения содержания у этих образцов линоленовой кислоты до 3,31 %.

Градуировочная партия состояла из 242 образцов и на основании 726 зарегистрированных спектров была разработана градуировочная модель, в процессе которой были удалены 14, что составило менее 2,0 %.



В результате анализа спектральных данных методом предобработки первой производной в диапазоне ближней инфракрасной спектроскопии 9000–4100 см<sup>-1</sup> была построена градуировочная модель Rare\_51\_18 : 3 (рис. 4).



*Рисунок 4* – График предсказанных значений содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса озимого (ось Y) по сравнению с истинными значениями содержания линоленовой кислоты в масле (ось X) градуировочной модели Rare\_51\_18 : 3

Разработанная модель по определению содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса по параметрам качества модели соответствует удовлетворительной оценке, количество рангов 9. Однако среднеквадратичная ошибка предсказания RMSEP имела минимальное значение из всех представленных моделей – 0,281 %, следовательно, можно будет ожидать, что на 95%-ном доверительном интервале абсолютная ошибка единичных измерений составит не более 1,0 %. Коэффициент детерминации получился высоким – 97,18 при значении RPD = 5,96.

Это подтверждается полученными результатами испытаний проверочной партии по определению содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса при разработке модели (табл. 4). Их анализ показал, что средние значения проверочной партии, полученные различными методами, разнятся на 0,13 абсолютных единиц.

#### Сравнительный анализ содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса озимого различными методами

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2023 г.

№ образца	Содержание линоленовой кислоты, %		Разница, %	
	химический метод	спектральный метод	абсолютная	относительная
1	7,82	7,15	0,67	8,57
2	7,21	7,79	-0,58	8,04
3	6,81	6,27	0,54	7,78
4	6,34	5,84	0,50	7,89
5	6,06	5,67	0,39	6,44
6	5,74	5,87	-0,13	2,26
7	5,39	5,02	0,37	6,86
8	5,05	5,35	-0,30	5,94
9	4,88	4,66	0,22	4,51
10	4,39	4,01	0,38	8,66
11	4,07	4,71	-0,64	15,72
12	3,94	4,04	-0,10	2,54
13	3,90	3,54	0,36	9,23
14	3,73	3,26	0,47	12,60
15	3,67	3,39	0,28	7,63
16	3,55	3,42	0,13	3,66
17	3,46	3,79	-0,33	9,54
Диапазон	3,46–7,82	3,26–7,79	-0,64–0,67	2,26–15,72
Среднее	5,06	4,93	0,38	7,52

Средняя ошибка предсказания составила 0,38 %, а единичные измерения не превысили 1,0 % в абсолютных единицах. Относительная погрешность единичных измерений резко возросла и достигла 15,72 % в образце № 11 при значении признака 4,07 %, в среднем она составила 7,52 %. Такое повышение относительной погрешности связано с малой величиной признака. Полученные погрешности определения содержания основных жирных кислот в масле семян рапса соответствуют критерию воспроизводимости для химического метода и применимы для предварительного контроля селекционного материала.

Таким образом, полученная градуировочная модель Rare\_51\_18 : 3 по определению содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса по результатам проверочной партии независимых образцов показала удовлетворительный результат. Поэтому для проведения комплексной оценки селекционного материала по содержанию линоленовой кислоты в масле

целых семян рапса необходимо использовать градуировочную модель Rare\_51\_18 : 3.

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

Сравнительная характеристика, входящих в методику «Рапс 51» разработанных градуировочных моделей по одновременному определению искомым 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 рапса для ИК-спектрометрии**

ЦЭБ ВНИИМК, 2023 г.

Компонент	Ранг	R <sup>2</sup>	RMSEP	RPD	Предобработка	Количество калибровочных спектров, шт.
Масличность	10	97,96	0,362	7,00	Первая производная	1008
Олеиновая	10	98,55	0,703	8,42	Первая производная + MSC	732
Линолевая	10	97,32	0,736	6,14	Первая производная + MSC	732
Линоленовая	9	97,18	0,281	5,96	Первая производная + векторная нормализация	732

\*Примечание – качество хемометрических моделей зависит от выбора правильного числа необходимых факторов, что также называется рангом модели; R<sup>2</sup> – коэффициент детерминации; RMSEP – среднеквадратичная погрешность предсказания; RPD – значение остаточного отклонения предсказания для ранга, отображаемого на графике

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 = 0,36 %, R<sup>2</sup> = 98,0 и RPD = 7,0) и содержания олеиновой (RMSEP = 0,70 %, R<sup>2</sup> = 98,6 и RPD = 8,4), линолевой (RMSEP = 0,74 %, R<sup>2</sup> = 97,3 и RPD = 6,1) и линоленовой (RMSEP = 0,28 %, R<sup>2</sup> = 97,2 и RPD = 6,0) жирных кислот в масле семян рапса озимого.

**Заключение.** В программе OPUS LAB получена методика «Рапс 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 рапса озимого для ИК-спектрометрии в средней пробе (9–20 г) в кювете диаметром 51 мм. Эта методика позволяет проводить экспресс-оценку селекционного материала в семенах рапса с производительностью более 100 образцов за рабочую смену.

Список литературы

- Егорова Т.А., Ленкова Т.Н. Рапс (*Brassica napus* L.) и перспективы его использования в кормлении птицы (обзор) // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 50. – № 2. – С. 172–178.
- Velasco L., Möllers C. Nondestructive assessment of protein content in single seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy // Euphytica – 2002. – Vol. 123 – P. 89–93.
- ГОСТ 31663-2012. Масла растительные и жиры животные. Определение методом газовой хроматографии массовой доли метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 1–11.
- Friedt, W., Snowdon R. Oilseed rape // Handbook of Plant Breeding, Oil Crops. – 2009. – Vol. 4. – P. 91–126.
- 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.
- Buchner R. Approach to determination of HPLC response factors for glucosinolates // In: Glucosinolates in rapeseed: Analytical Aspects / Ed. by Wathelet J.P. – Martinus Nijhoff Publishers, 1987. – P. 50–58.
- 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.
- Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Стрельников Е.А., Сердюк В.В. Селекция рапса озимого во ВНИИМК: история и новые результаты (обзор) // Масличные культуры. – 2021. – Вып. 4 (188). – С. 87–95.
- 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.

10. Daun J.K., Clear K.M., Williams P. Comparison of three whole seed near-infrared analyzers for measuring quality components of canola seed // J. Am. Chem. Soc. – 1994. – Vol. 71. – P. 1063–1068.

11. 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. – № 3 (2). – P. 88–98.

12. Velasco L., Möllers C., Becker H. Estimation of seed weight, oil content and fatty acid composition in intact single seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy // Euphytica – 1999. – Vol. 106. – P. 79–85.

13. 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.

14. 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-спектрометрии // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2015. – Вып. 4 (164). – С. 35–40.

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

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

17. ГОСТ 31665-2012 Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот. – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 1–11.

## References

1. Egorova T.A., Lenkova T.N. Raps (*Brassica napus* L.) i perspektivy ego ispol'zovaniya v kormlenii ptitsy (obzor) // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. – 2015. – Т. 50. – № 2. – S. 172–178.

2. Velasco L., Möllers C. Nondestructive assessment of protein content in single seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy // Euphytica – 2002. – Vol. 123 – P. 89–93.

3. ГОСТ 31663-2012. Masla rastitel'nye i zhiry zhivotnye. Opredelenie metodom gazovoy khromatografii massovoy doli metilovykh efirov zhirnykh kislot. – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 1–11.

4. Friedt, W., Snowdon R. Oilseed rape // Handbook of Plant Breeding, Oil Crops. – 2009. – Vol. 4. – P. 91–126.

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

6. Buchner R. Approach to determination of HPLC response factors for glucosinolates // In: Glucosinolates in rapeseed: Analytical Aspects / Ed. by Wathelet J.P. – Martinus Nijhoff Publishers, 1987. – P. 50–58.

7. Gorlova L.A., Bochkareva E.B., Serdyuk V.V., Efimenko S.G. Napravleniya i rezultaty seleksii rapsa i surepitsy vo VNIIMK // Izvestiya TSKhA. – 2017. – Vyp. 2. – S. 20–33.

8. Bochkareva E.B., Gorlova L.A., Strel'nikov E.A., Serdyuk V.V. Seleksiya rapsa ozimogo vo VNIIMK: istoriya i novye rezultaty (obzor) // Maslichnye kul'tury. – 2021. – Vyp. 4 (188). – S. 87–95.

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

10. Daun J.K., Clear K.M., Williams P. Comparison of three whole seed near-infrared analyzers for measuring quality components of canola seed // J. Am. Chem. Soc. – 1994. – Vol. 71. – P. 1063–1068.

11. 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. – № 3 (2). – P. 88–98.

12. Velasco L., Möllers C., Becker H. Estimation of seed weight, oil content and fatty acid composition in intact single seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy // Euphytica – 1999. – Vol. 106. – P. 79–85.

13. ГОСТ 32749-2014 Semena maslichnye, zhmykhi i shroty. Opredelenie vlagi, zhira, proteina i kletchatki metodom spektroskopii v blizhney infrakrasnoy oblasti – М.: Стандартинформ, 2015. – 8 с.

14. Efimenko S.G., Efimenko S.K., Kucherenko L.A., Nagalevskaya Ya.A. Ekspress-otsenka soderzhaniya 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.

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

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

17. ГОСТ 31665-2012 Masla rastitel'nye i zhiry zhivotnye. Poluchenie metilovykh efirov zhirnykh kislot. – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 1–11.

## Сведения об авторах

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

**С.К. Ефименко**, вед. науч. сотр., канд. биол. наук

**Л.О. Усатенко**, аспирант

*Получено/Received*

19.04.2023

*Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed*

21.04.2023

*Получено после доработки/Manuscript revised*

24.04.2023

*Принято/Accepted*

26.04.2023

*Manuscript on-line*

30.06.2023