

УДК 004.631.527.8

ОПТИМІЗАЦІЯ ОЦІНОК СОРТІВ ПШЕНИЦІ НА ТВЕРДОЗЕРНІСТЬ ІНФРАЧЕРВОНОЮ СПЕКТРОМЕТРІЄЮ ПРИ РІЗНИХ ТИПАХ РОЗМЕЛУ

ХОХЛОВ О.М.,

Селекційно-генетичний інститут –
Національний центр
насіннезнавства
та сортовивчення
(м. Одеса)

Вступ. Одна із ключових ознак якості, що слугує також для ідентифікації – генетично обумовлена твердозерність (hardness), – ефективно визначається на NIR-аналізаторах, оскільки твердозерний (hard) та м'якозерний (soft) типи значно відрізняються один від одного крупністю часток борошна й, таким чином – загальною світловідбивною здатністю (2, 4, 6, 7). Тому NIR-метод із базовою довжиною хвилі 1680нм визнано одним із міжнародних стандартів при аналізі твердозерності (ААСС 39-70А).

З іншого боку, пов'язана із твердозерністю варіація крупності часток через значну модифікацію спектрів є відчутною перешкодою, з якою стикаються при визначенні низки інших важливих показників якості – вмісту білка, жиру, крохмалю тощо. Тому були розроблені спеціальні лабораторні млинки з високим ступенем розмелу й покращеними однорідністю та повторюваністю гранулометричного складу продуктів помелу. У ряду інструментів застосовуються також такі математичні перетворення спектрів, що нівелюють вплив розміру часток. Очевидно, що ці заходи можуть негативно позначитися на ефективності визначення твердозерності. Тому оцінка цієї ознаки з одночасним аналізом інших показників якості зерна на аналізаторах NIR-типу потребує пошуку прийнятних компромісів. Крім того, при роботі із млинками різного типу актуальною є уніфікація або принаймні близькість оцінок твердозерності – як у плані рангів, так і абсолютних величин.

Матеріал і методи. В експерименті 1 вивчали 7 зразків зерна, 6 з яких є ботанічно м'якими червонозерними пшеницями різних типів і рівнів твердозерності, і 1 зразок твердої пшениці (дурум) як модель дуже високого рівня твердозерності. Створена О.І Рибалкою (СГ) шляхом віддалених схрещувань форма supersoft була використана як еталон крайнього рівня м'якозерності. Еталоном „помірної” твердозерності обрано широко відомий сорт Альбатрос одеський. Для експерименту 2 добрали 15 зразків, які не тільки перекривають практично весь діапазон ознаки hardness, а й контрастно різняться

ся за кольором зерна, його морфологією, вмістом білка та іншими показниками, що в цілому могло вплинути на оптичні характеристики при оцінках NIR- методом і тим самим створити додаткові проблеми. Це, перш за все, сорт Nugaines та лінії Б-16 з екзотичним забарвленням зерна, створені нами ще у 80-і роки для маркування зерна кормових сортів. Загальна характеристика матеріалу в табл. 1.

Еталонні визначення твердозерності проведені на приладі АДП-1, робота якого ґрунтується на оцінці газопроникної здатності стандартно ущільненого шару розмеленого матеріалу з подальшим обчисленням питомої поверхні та середнього розміру часток. Прилад експлуатували у відповідності з робочою інструкцією до нього та методичних рекомендацій стосовно використання приладу для визначення твердозерності в селекції пшениці (3). Наважка складала 5 г для всіх варіантів розмелу.

Лабораторні млинки. Досліджено 4 млинки різного типу.

1) МУЛ. Застарілий на сьогодні млинок із механізмом конусного типу. Тонина розмелу регулюється плавною зміною робочого зазору. Стандартизація режимів обмежена. Ми мололи при двох крайніх режимах, які визначали як „крупно” (МУЛ-к) та „дрібно” (МУЛ-д).

2) QC-114. Млинок із комплекту інфрачервоного аналізатора Інфрарід-61. Ніж молоткового типу. Камера вертикальна із прямим виводом продуктів помелу в приймальний контейнер. Тонина розмелу визначається параметрами змінних сит. Використано 3 сита з комплекту з таким маркуванням:

„1/60” – 60 отворів діаметром близько 1,0 мм;

„13/100” – 100 отворів „-”, 1,3 мм;

„2” – 100 отворів „-”, 2,0 мм.

У тексті застосували скорочені назви цих режимів, а саме QC-10, QC-13 і QC-20, відповідно.

3) КТ-3100 фірми Falling Number. Широко розповсюджений у світі млин. Ніж молоткового типу. Камера вертикальна, продукти розмелу виводяться через циклон. Діаметр отворів сита 0,8 мм.

4) -1. Російський аналог широко відомого млинка Cyclotec фірми Tecator. На сьогодні один із найбільш розповсюджених млиноків, рекомендований для інфрачервоної спектроскопії. Застосовували 2 сита з отворами 0,8 мм та 1,0 мм. Скорочена назва варіантів ЛМЦ-08 та ЛМЦ-10, відповідно.

Таким чином, загальне число варіантів розмелу складало 8.

Метод інфрачервоної спектроскопії. Усі дані отримано на скануючому спектрофотометрі NIR-типу Інфрарід-61М виробництва Labor MIM, Угорщина. Робочий діапазон довжин хвиль 1300-2400 нм, сканування із кроком від 2 нм (ми обмежилися 4 нм). Оснащений інтерфейсом та програмним пакетом, розробленим АО Інтерагротех (Росія) для роботи з персональним комп'ютером. Пакет дає можливість проводити аналіз, трансформацію спектрів, градування та інші операції. Із 10 доступних видів представлення спектрів у наших дослідженнях використані основні три:

R_i - коефіцієнт відбиття зразка відносно еталона у i-й точці спектру;

Таблиця 1. Характеристика досліджених пшениць

Назва	Експерименти	Ботанічний вид	Hard/soft	Колір зерна
Перлина Одеська	1,2	дурум	-	білий
Nugaines	2	м'яка	soft	білий
SP-952	2	"-"	soft	червон.
Supersoft	1,2	"-"	soft	червон.
Альбатрос Одеський	1,2	"-"	hard	червон.
Б-16	1,2	"-"	hard	червон.
Б-16bg	2	"-"	hard	"житній"
Б-16pp	2	"-"	soft	пурпур.
Еритроспермум 549Л92	2	"-"	hard	червон.
Еритроспермум 93041	2	"-"	hard	червон.
Еритроспермум 949	1	"-"	hard	червон.
Київська остиста	2	"-"	hard	червон.
Лада	2	"-"	hard	червон.
Мирлебен	2	"-"	soft	червон.
МНЗ-7015	2	"-"	hard	червон.
Одеська червоно колоса	2	"-"	hard	червон.
Якорь Од., лін.1	1	"-"	hard	червон.
Якорь Од., лін.2	1	"-"	soft	червон.

Таблиця 2. Характеристики дисперсності млива в залежності від способу розмелу

Варіанти розмелу	Питома поверхня, см ² /г	Середній розмір часток, мкм
ЛМЦ-08	3868	18.3
ЛМЦ-10	3622	19.4
КТ-3100	2827	25.3
МУЛ-д	2314	33.2
QC-10	1814	42.2
QC-13	1417	51.7
QC-20	1078	69.4
МУЛ-к	915	87.4
НІР ₀₅	370	5.0

$OD_i = \log 1/R_i$ - оптична густина;

$d \cdot OD_i = OD(\lambda_i + D/2) - OD(\lambda_i - D/2)$ - перша похідна оптичної густини для довжини хвилі λ , обрана величина $D = 8$ нм;

Статистичний аналіз. Попередня оцінка та підготовка спектральних даних до аналізу й частково градування виконувалася засобами програмного пакету із супроводу аналізатора. Подальші підготовчі операції: групування, визначення середніх та інших статистичних параметрів мінливості, візуалізацію даних виконували переважно засобами Excel із пакету Microsoft Office for Windows. Кореляційний та регресійний аналізи, одно- та багатовимірний дисперсійний аналіз проводили відповідними інструментами із програмного пакету Agrobases 21 (фірма Agropomix, Канада).

Результати досліджень. В експерименті 1 застосуванням різних млиноків та режимів їхньої роботи була досягнута значна варіація величин питомої поверхні та середнього розміру часток – різниця між крайніми варіантами в абсолютних величинах майже 4-кратна (табл.

Таблиця 3. Параметри сортової варіації оптичної густини в залежності від типу розмелу

Млинок	Середнє	Min	Max	Діапазон	НІР ₀₅	Диф.здатн.	F _{сорт}
ЛМЦ_08	5.01	3.17	7.02	3.85	0.037	104.1	10927
ЛМЦ_10	5.61	3.14	7.89	4.75	0.042	113.1	11756
КТ_3100	9.18	5.36	12.09	6.73	0.063	106.8	11802
QC_10	10.38	6.30	13.88	7.58	0.068	111.5	14132
МУЛ_д	10.45	6.81	14.21	7.40	0.070	105.7	11974
QC_13	12.35	7.73	15.41	7.68	0.072	106.7	12289
QC_20	15.98	10.17	19.91	9.74	0.077	126.5	16572
МУЛ_к	19.15	13.50	22.96	9.46	0.078	121.3	16194

Таблиця 4. Сортові відмінності при різних методах визначення та типах розмелу, шкала уніфікована

Зразки	АДП	QC_10	QC_13	QC_20	ЛМЦ_08	ЛМЦ_10	МУЛ_д	МУЛ_к	КТ-3100
Supersoft	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Якорь soft	41	25	35	36	29	35	26	36	34
Якорь hard	62	60	59	57	57	59	58	66	67
Б-16	62	58	65	59	51	55	54	50	61
Альбатрос од.	70	70	70	70	70	70	70	70	70
Еритр. 949	72	70	73	64	65	69	75	71	75
Перлина од.	88	86	83	78	93	91	95	81	90

2). Це відповідно вплинуло на оптичні властивості продуктів помелу. Жоден із різних принципів розмелу не призвів до більш-менш виразної специфіки в спектрах, за винятком рівня абсолютних значень. Це виразилося також у дуже сильних кореляційних залежностях спектрів між собою (індивідуальні коефіцієнти не нижче 0,994) та тісних регресіях із лінією середніх спектрів. З точки зору вираженості варіації зразків за розміром часток спектри відбиття та оптичної густини були рівноцінними. Проте для спектрів відбиття ці залежності мають виражений криволінійний характер, і це суттєво ускладнює як прогностичні побудови спектрів по деякому числу спільних точок, так і відповідні адаптації градувань, виконаних в інших умовах. Трансформовані ж до оптичних густин спектри показують між собою майже ідеальні лінійні залежності. Це в принципі спрощує перенос градувань, вимагаючи меншої кількості опорних точок. У практичному плані це значна перевага. Слід зазначити, що мається на увазі перш за все трансформація градувань, виконаних на цьому ж приладі. При переносах же із приладу на прилад виникає необхідність урахувати ще й взаємну індивідуальну специфіку шкал, що може зробити перенос градувань не менш складним, ніж повне переградування.

Трансформування спектрів до похідних різного порядку використовується як прийом нівелювання впливу розміру часток. Дослідження спектрів першої похідної оптичної густини показало дієвість прийому: на переважній своїй довжині спектри майже зливаються, помітні різниці сконцентровані переважно в нечисленних пікових областях. Розрахунки показали, що трансформовані спектри 1-ї похідної все ж зберігають

досить інформації про різницю в розмірі часток і цю інформацію можна вилучати при градуваннях. У цілому індивідуальні спектри 1-ї похідної пов'язані між собою лінійно, але не так тісно й складнішим чином, ніж розглянуті вище спектри оптичної густини. Крім того, окремі точки й цілі їхні ланцюжки значно відхиляються від прямих, а відповідні коефіцієнти кореляції помітно грубіші, ніж при розглянутих вище двох представленнях спектрів. Більша „зашумленість” спектрів похідних відома в літературі (1). Особливу проблему це становить у інструментів відносно невисоких класів.

Профілі спектрів, побудованих у розрізі сортів, мають високу подібність до спектрів по млинках. Амплітуда мінливості по сортах приблизно вдвічі менша амплітуди, обумовленої режимами розмелу. Зазначимо також, що обумовлена сортами різниця у крупності часток не привносить ніякої видимої специфіки у спектри в порівнянні з різницею, обумовленою режимами розмелу. Сказане справедливе й для двох інших представлень спектрів, R та d·OD. Проте, порівнюючи дані, отримані оптичним (Інфраред) та неоптичним (АДП) методами, ми звернули увагу на те, що при загально високих кореляціях між ними відповідні коефіцієнти регресії (b) суттєво залежать від того, які саме різниці розглядаються. Для даних по млинках коефіцієнт регресії b становив 1,89 при величині стандартної похибки 0,16, для середніх по сортах – 2,96 та 0,18, відповідно. Тобто, при одній і тій же різниці в крупності часток оптична густина реагує значимо крутіше, коли різниця обумовлена генотипом. Найбільш імовірно, це є наслідком неоднакової природи різниць. У випадку із млинками різниця полягає в різному ступені подрібненості часток. Сортова ж різниця пов'язана з різним вмістом вільних крохмальних зерен, тому її не вдається в повній мірі промодельовувати режимами розмелу.

Для оцінки здатності визначати рівень твердозерності за інфрачервоними спектрами застосували два підходи (експерименти 1 та 2, відпов.). У першому з них оптичні дані брали з області, близької до довжини хвилі 1680, базової при аналізі твердозерності. НІР при цьому відбивала „короткострокові” шуми, тобто потенціал спектрофотометра, без урахування інших джерел шумів. Для економії місця в статті обмежимося результатами,

● МЕТОДИ ПОЛЬОВИХ ДОСЛІДІВ ●

отриманими для оптичної густини; вони були найбільш виразними.

Як випливає з табл. 3, найбільшими абсолютними величинами та амплітудою міжсорткової варіації вирізняються млинки й режими із грубим розмелом. Проте за реальною диференційною здатністю, визначеною як відношення розмаху до величини $НІР_{05}$ перевага цих варіантів невелика. Так, за критерієм F, який характеризує сортоспецифічну компоненту загальної дисперсії, перевага „найкрупніших” варіантів розмелу, МУЛ-к та QC-20, над „найдрібнішими” (ЛМЦ-08 та ЛМЦ-10) становить близько 1,5 рази.

Кореляційний аналіз показав високу ступінь узгодженості оцінок сортоспецифічних рівнів твердозерності, отриманих при різних варіантах розмелу в порівнянні як між собою, так і з оцінками, отриманими стандартним методом, з використанням приладу АДП-1. Завдяки лінійному характеру цих зв'язків, легко досягти близькості абсолютних оцінок. У табл. 4 показані результати стандартизації шкал за еталонними сортами, як було запропоновано нами раніше (5). Еталонами були Альбатрос (70 од.) та supersoft (20 од.), із наведених даних випливає, що при оцінках селекційного матеріалу на твердозерність методом NIR задовільних результатів можна досягти при використанні будь-якого млинки із досліджених.

Метою другого підходу було порівняти ефективність інфрачервоного методу зі стандартним (АДП-1) у типовому польовому досліді (експеримент 2), у якому $НІР$ відображала суму всіх шумів. Ана-

Таблиця 5. Сортів відмінності ознаки твердозерності в уніфікованій шкалі та диференційна здатність у залежності від методу визначення

Сортозразок	АДП	NIR
Supersoft	20	20
Мирлебен	27	28
Nugaines	33	30
Б-16pp	33	36
SP-952	39	39
МНЗ-7015	57	63
Б-16bg	62	69
Б-16	65	68
Лада	67	68
Альбатрос Одеський	70	70
Еритроспермум 93041	70	74
L549	72	72
Київська остиста	76	81
Одеська червоноколоса	77	79
Перлина Одеська	79	95
Мінімум	20.1	20.0
Максимум	78.5	95.2
Розмах	58.5	75.2
$НІР_{05}$	6.5	4.2
Диференційна здатність	8.9	17.8

лізатор Інфрарід-61М був попередньо проградуований нами за процедурою частинних найменших квадратів (PLS), яка оптимально використовує інформацію всього спектру, а не тільки „базового” діапазону. Для більшої зручності дані, отримані кожним із методів, приведені до уніфікованої шкали відносно пари еталонів Альбатрос-supersoft, як і в таблиці 4. Результати наведені в таблиці 5.

Вищу роздільну здатність при оцінці сортоспецифічного рівня твердозерності показав метод NIR, який міг розпізнати близько 18 градацій, при 9 у стандартного методу. За результатами обидва методи тісно корелюють між собою ($r=0,985$), показують близький розподіл сортів у межах кожної із груп твердозерності та чітко виражений розрив між групами, який припадає на діапазон 40-60 од.

Висновки. 1. Із двох методів визначення сортоспецифічного рівня твердозерності пшениці (hardness) кращим за диференційною здатністю виявився метод інфрачервоної спектрометрії в режимі відбиття (NIR). Він удвоє перевершив стандартний неоптичний метод (прилад АДП-1) за кількістю груп, що достовірно розділяються, із близькості до отриманих на АДП рангами сортів ($r = 0,985$).

2. Усі 4 лабораторні млинки (КТ-3100, ЛМЦ-1, QC-114 та МУЛ), застосовані в різних режимах, виявилися досить

близькими в сенсі вираження сортових відмінностей за твердозерністю, незважаючи на принципово різні механізми розмелу та багатократно різницю в кількісних параметрах розмеленого матеріалу. Це справедливо при застосуванні як методу NIR, так і стандартного неоптичного методу АДП.

3. Оптична густина (OD) видається найбільш прийнятною формою вираження спектральних даних NIR, яка забезпечує високу коректність у ранжуванні сортів та прості лінійні залежності між спектрами з відповідно простою адаптацією градувань. Спектри відбиття (R) мають не гіршу роздільну здатність у порівнянні зі спектрами оптичної густини, але через нелінійні залежності адаптація градувань суттєво складніша. Тому застосування цього типу вираження спектрів допустиме при умові сталої процедури розмелу зерна (тип млинки, режими його роботи). Спектри першої похідної оптичної густини ($d'OD$) теж несуть інформацію про крупність часток та, відповідно, твердозерність. Проте інформація ця „приглушена”, а також несе більше випадкових шумів у порівнянні зі спектрами R та OD.

4. Показана практична можливість застосування нормованих відносно сортів-еталонів шкал для стандартного, незалежно від методу, вираження генетично обумовленої твердозерності.

Бібліографія

- Крищенко В.П. Ближняя инфракрасная спектроскопия. 1997. М. КРОН-ПРЕСС. 638 с.
- Муллард. И. Использование спектрального анализа в ближней инфракрасной области в сельском хозяйстве //Применение спектроскопии в ближней инфракрасной области для анализа зерна и других сельскохозяйственных продуктов. 1986. М. ЦИНАО. С. 4-23.
- Определение крупнообразующей способности сортов пшеницы //Методы оценки технологических качеств зерна. 1971. М. ВАСХНИЛ. С. 121-124.
- Хохлов А.Н. Выбор оптимальных параметров работы анализатора «Инфрарид-61» при определении белковости, дисперсности и влажности шрота // Научно-технический бюллетень ВСГИ. Одесса, 1988. Вып. 2 (68). С. 50-58.
- Хохлов О.М. Генетично обумовлена твердість зерна м'якої пшениці (T.aestivum): стан і перспективи досліджень в Україні// 36. наук. праць СГІ НАЦ НАІС. — Одеса, 2002. - Вип. 2(42). - С. 9-29.
- Norris K.H., Hrushka W.R., Bean M.M., Slaughter D.C. A definition of wheat hardness using near infrared reflectance // Cereal Foods World. 1989. 34, 9. P. 696-705.
- Osborn B.G., Fearn T. Collaborative evaluation of near infrared analysis for determination of protein, moisture and hardness in wheat // J.Sci.Food.Agric. 1983. 34. P. 1011-1017

Анотація

У двох експериментах порівнювали ефективність визначення сортоспецифічної твердозерності пшениці інфрачервоним (NIR) та неоптичним (АДП) методами на фоні 8 варіантів розмелу. Знайдено, що із трьох досліджених форм вираження спектральних даних найбільш практичною є оптична густина. Показано, що деякі специфічні проблеми коректності рангів можна вирішити ретельним підбором зразків для градувань та належним врахуванням шумів. Продемонстрована практична можливість переведення результатів, отриманих будь-яким із досліджених методів у шкалу, уніфіковану відносно сортів-еталонів.

Анотация

В двух экспериментах сравнивали эффективность определения сортоспецифической твердозерности пшеницы инфракрасным (NIR) и неоптическим (АДП) методами на фоне 8 вариантов размела. Найдено, что из трех исследованных форм выражения спектральных данных самой практичной является оптическая плотность. Показано, что некоторые специфические проблемы корректности рангов можно решить тщательным подбором градуировочных образцов и должным учетом шумов. Продемонстрирована практическая возможность перевода результатов любого из исследованных методов в шкалу, унифицированную относительно сортов-эталонов.

Annotation

In two experiments, comparative studies of NIR infrared spectroscopy methods of grain hardness measuring relative to standard non-optical method (ADP instrument) were carried out at 8 modes of grinding. Optical density (OD) was determined as the most efficient mode of spectra expression. Some specific problems may be solved partially by using carefully selected calibration sets, and also by proper revealing and correction of noises in every special case. Prospects of unified scales building, based on standard varieties were shown.