

POUŽITÍ SPEKTRÁLNÍCH A SEPARAČNÍCH METOD K HODNOCENÍ JAKOSTI HOŘČICE BÍLÉ (*Sinapis alba* L.)

LENKA ENDLOVÁ^{a,b}, VIKTOR VRBOVSKÝ^{a,b} a ANDREA RYCHLÁ^{a,b}

^a OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Hamerská 698, 756 54 Rožnov-Zubří, ^b OSEVA PRO s.r.o., Purkyňova 10, 747 43 Opava, Česká republika
endlova@oseva.cz

Došlo 19.10.23, přijato 9.11.23.

Bylo provedeno hodnocení jakostních parametrů (obsah glukosinolátů, oleje a skladba mastných kyselin) vzorků semen a listů hořčice bílé. V případě semen hořčic byl celkový obsah glukosinolátů vyšší než v listech hořčic a hlavním glukosinolátem byl zjištěn sinalbin. Z analýzy zastoupení mastných kyselin v oleji vyplývá, že u starších materiálů dominovala eruková kyselina. Nové odrůdy hořčice bílé obsahují méně erukové kyseliny a bylo by možné je využít i ke konzumním účelům. Byla ověřena použitelnost metody spektroskopie v blízké infračervené oblasti s Fourierovou transformací k rutinnímu hodnocení vzorků semen hořčic a pro potřeby předběžného screeningu ve šlechtitelských programech hořčice bílé.

Klíčová slova: olejiny, hořčice bílá, mastné kyseliny, glukosinoláty, sinalbin

Úvod

Hořčice patří k rostlinám využívaným člověkem od nepaměti. První zmínky o pěstování hořčic a uplatnění této plodiny jako pochutiny a koření jsou známy již z období před 3000 lety. Hořčice bílá (*Sinapis alba* L.) patří spolu s řepkou a mákem k nosným olejninám naší produkce a její pěstební plocha se v posledních pěti letech pohybovala okolo 15 tisíc ha s průměrným výnosem semen 1 až 2 t ha⁻¹. Pěstování i šlechtění hořčic se u nás dělí na dva základní směry, a to na odrůdy semenné a pícní. Odrůdy pícní se používají jako meziplodiny k produkci biomasy pro účely zeleného hnojení, pro fyto-sanitární účinek a ochranu před erozí. Druhou oblastí zájmu je pěstování semenných odrůd hořčic, kde se klade důraz na vysoký výnos semen, dobrý zdravotní stav, vyrovnané dozrávání a jakost semen. Semena těchto odrůd hořčic se používají jako koření pro konzervaci zeleniny a průmyslově zpracovaná (rozdrcená a rozemletá) se využívají pro výrobu pochutiny – hořčice (plnotučné, kremžské a speciální), kdy palčivá chuť je způsobena obsahem glukosinolátů¹⁻⁴. Semena hořčice bílé obsahují 27 až 35 % bílkovin, 12 až 18 % sacharidů a v průměru 26 % oleje (při 8% vlhkosti semen). Hlavní mastné kyseliny (MK) hořčičného oleje jsou olejová, linolová, linolenová, eikosenová a eruková kyselina. Hořčičný olej se u nás jako jedlý olej dosud používal jen minimálně, ve srovnání s asijskými zeměmi, v důsledku vyššího obsahu nutričně nežádoucí erukové kyseliny (C₂₂H₄₂O₂). Ta ve vyšších koncentracích vykazuje negativní účinky na lidský organismus (myokarditida, akumulace lipidů v srdci, zvýšení cholesterolu).

V poslední době se vlivem šlechtění obsah této kyseliny v hořčičných semenech podařilo u některých odrůd výrazně snížit. V semenech hořčice jsou dále přítomny sekundární metabolity glukosinoláty (GSL), které se vyskytují ve všech částech rostlin hořčic po celou dobu vegetace a jejich obsah kolísá během vývoje rostliny a v závislosti na průběhu počasí. Chemická struktura GSL je odvozena od thioglukosy a aminokyseliny, kdy postranní řetězec aromatiky je podle výchozí aminokyseliny alifatický nebo aromatický a ovlivňuje jejich biologickou aktivitu. Degradční produkty GSL (nitrily, thiokyanáty, isothiokyanáty) dodávají rostlinným pletivům typické aroma a štiplavou až velice pikantní chuť. Zároveň vykazují antinutriční účinky, což omezuje použití semen pro krmivářské účely, protože snižují stravitelnost a chutnost krmiv. Naproti tomu se pro svou biocidní aktivitu dají GSL a produkty jejich hydrolýzy využít jako alternativa k syntetickým přípravkům pro kontrolu škůdců a chorob. V řadě studií jsou popsány antikarcinogenní účinky rozkladných produktů GSL, zejména isothiokyanátů. V hořčici bílé je hlavním GSL sinalbin (4-hydroxybenzylglukosinolát), jehož koncentrace v průběhu růstu rostliny výrazně stoupá především v generativních orgánech³⁻⁷.

Cílem této práce bylo provést hodnocení jakostních parametrů vzorků semen a zelené hmoty (listů) hořčice bílé, které pocházely z kolekce olejnin Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity (NP) a ze šlechtitelského programu hořčice bílé firmy OSEVA PRO s.r.o., Výzkumný ústav olejnin Opava (VÚO). NP je zaměřen na uchování nejvyšších genotypů vybraných zemědělských druhů

a kromě realizace základního polního hodnocení jsou položky popisovány i z pohledu jakostních parametrů produkce. Šlechtění odrůd hořčic určených k produkci semen má v České republice dlouhou historii a je na vysoké úrovni. Ve VÚO byly vyšlechtěny odrůdy hořčice bílé Olga, Otava a hořčice sarepské Oportuna a Opaleska, přičemž šlechtitelská činnost u obou druhů nadále intenzivně pokračuje i za využití moderních biotechnologických postupů. Jakostní parametry hořčičných semen jsou uvedeny v normě ČSN 46 2300-4, která stanoví podmínky pro dávky semen hořčice bílé, určených pro výrobu olejů a hořčic. Při výrobě stolní hořčice je významným parametrem výběr suroviny – kvalitních hořčičných semen. Norma vyžaduje surovinu o maximální přípustné vlhkosti 10 % s max. 8 % příměsí, 1 % nečistot a obsahem oleje 25 % při 10% vlhkosti semen. Hodnocení jakostních parametrů je důležitou součástí šlechtění nových odrůd hořčice bílé, přičemž je kladen důraz na snižování antinutričních látek (eruková kyselina, GSL) za současné snahy o zvyšování olejnatosti semen. Sledování profilu jakosti semen zahrnuje při šlechtění a hodnocení kolekce hořčice bílé v NP velmi rozsáhlé hodnocení (např. stanovení obsahu oleje, glukosinolátů a skladby mastných kyselin v oleji), pro něž se ve VÚO používá metoda spektroskopie v blízké infračervené oblasti s Fourierovou transformací (FT-NIR), vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), plynová chromatografie (GC), Soxhletova extrakce oleje a gravimetrie^{3–8}.

Experimentální část

Vzorky

K experimentálním účelům byly použity vzorky listů hořčice bílé (byly odebrány nepoškozené listy ve fázi BBCH 19, což představuje vývojovou fázi šesti a více vyvinutých pravých listů) pro analýzu HPLC a semenné vzorky, které byly po sklizni vyčištěny a analyzovány metodami FT-NIR, HPLC, GC, Soxhletovy extrakce a gravimetrie. Rostlinný materiál pocházel z polních maloparcelních odrůdových pokusů ze šlechtitelského programu VÚO a pokusů s genovými zdroji kolekce olejnin NP.

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Stanovení obsahu GSL vycházelo z normy ČSN EN ISO 9167-1, která definuje stanovení GSL ve formě desulfoglukosinolátů⁹. Vzorky listů hořčic byly před samotnou analýzou nůžkami nastříhány na tenké proužky bez žilnatin, vzorky semen byly pomlety a oba typy vzorků byly ihned naváženy z důvodu degradace GSL. Do zkumavek bylo naváženo 200 mg pomletých semen nebo 1 g listů hořčic a GSL byly opakovaně extrahovány ze vzorku 70% methanolem na termostatické vodní lázni při 80 °C. Poté následovalo čištění a enzymatická desulfatace extraktu na iontoměničích pomocí SPE kolonek. Pro extrakci tuhou fází (Solid phase extraction – SPE) byly použity kolonky Strata SAX 3 ml/500 mg (Macherey-Nagel, Německo)

a k enzymatické desulfataci 0,2% roztok sulfatasy typ H-1 (Sigma-Aldrich, Německo). Kolonky byly kondicionovány dvakrát 2 ml methanolu a dvakrát 2 ml demineralizované vody. Po kvantitativním nanesení celkového objemu vzorku na kolonku bylo aplikováno 75 μ l 0,2% roztoku sulfatasy, která působila 6 hodin. Desulfoglukosinoláty byly eluovány dvakrát 2 ml demineralizované vody. Pro stanovení obsahu desulfoglukosinolátů byl použit kapalinový chromatograf Dionex UltiMate3000 s detektorem diodového pole (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) a kolona s reverzní fází Synchronis C18 (100 mm, 2,1 mm, 3 μ m) za použití gradientové eluce a detekce v UV oblasti (229 nm). Mobilní fáze (MF) A byla ultračistá voda pro analytické účely a MF B 20% acetonitril. Od 0. do 11. minuty se podíl MF B lineárně zvyšoval z 5 % na 100 %, od 11. do 13. minuty se podíl MF B snížil na 5 % a ten byl nastaven až do konce měření, resp. do 16. minuty. Na kolonu bylo dávkováno 5 μ l vzorku, průtok mobilní fáze byl 0,55 ml min^{-1} a teplota na koloně byla 30 °C. Ke stanovení GSL byla použita metoda vnitřního standardu, kterým byl sinigrin (40 mmol l^{-1} , Sigma-Aldrich, Německo). Sinigrin (200 μ l) byl napipetován před doplněním roztoku vzorku po rysku do každého vzorku. Souběžně byl stanoven obsah vody ve vzorcích gravimetrickou metodou podle normy ČSN EN ISO 665. Po navážení 5 g vzorků semen a listů hořčic byly vzorky sušeny ve vysoušičkách do konstantní hmotnosti 4 hodiny při 103 °C (cit.¹⁰).

Plynová chromatografie

Sledování zastoupení jednotlivých MK v oleji ve vzorcích semen a segmentů semen hořčice bílé vycházelo z normy ČSN EN ISO12966-2, která definuje stanovení MK ve formě methylesterů¹¹. V případě vzorků celých semen byla před vlastním stanovením MK provedena extrakce oleje, následovalo zmýdelnění 0,5 g oleje hydroxidem sodným (0,5 M NaOH v methanolu) za vzniku alkalické soli a esterifikace pomocí suchého chlorovodíku v methanolu (3,125 M HCl v methanolu) zahříváním při 80 °C. Vzniklé lipofilní methylestery se extrahovaly do petroletheru. Příprava methylesterů MK ze segmentů semen hořčic byla realizována v mikrozkuvkách vložených do vialek za použití 50 μ l směsi isooktanu a isopropanolu, 50 μ l hydroxidu sodného (0,5 M NaOH v methanolu) a následnou extrakcí methylesterů do isooktanu. Pro identifikaci a stanovení obsahu methylesterů MK byl použit plynový chromatograf Master GC (DANI Instruments S.p.A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem. Separace probíhala na kapilární koloně FAME Wax 30 m, 0,32 mm, 0,25 μ m. Na kolonu byl dávkován 1 μ l roztoku methylesteru. Teplota injektoru byla 240 °C, teplota detektoru a pece byla 195 °C. Teplotní program GC separace: 195 °C, poté nárůst teploty o 5 °C min^{-1} na teplotu 240 °C a dále nárůst o 10 °C min^{-1} na konečných 250 °C. Celková doba analýzy byla 15 min. Jako mobilní fáze byl použit vodík s průtokem 1,8 ml min^{-1} . Kvalitativní analýza byla provedena porovnáním retenčních charakteristik

chromatogramů vzorku se standardní směsí FAME 13 Mix, C16–C24 (Restek GmbH, Německo) a kvantitativní analýza byla provedena metodou vnitřní normalizace poskytující procentuální zastoupení jednotlivých MK.

Soxhletova extrakce oleje

Stanovení obsahu oleje bylo provedeno extrakční metodou podle normy ČSN EN ISO 659 pomocí přístroje SOX THERM (Gerhardt, Německo), který patří mezi automatické extrakční systémy pracující na klasickém principu extrakce podle Soxhleta¹². Pomleté vzorky semen hořčic (3 g) se extrahovaly za předepsaných podmínek petroletherem v extrakčních patronách a obsah oleje se stanovil vázkově po oddestilování extrakčního činidla a vysušení získaného extraktu. Obsah oleje je definován jako všechny látky vyextrahované za podmínek popsanych v normě a vyjádřený v hmotnostních procentech z produktu, tak jak byl obdržen, nebo z vyčištěných semen.

FT-NIR spektroskopie

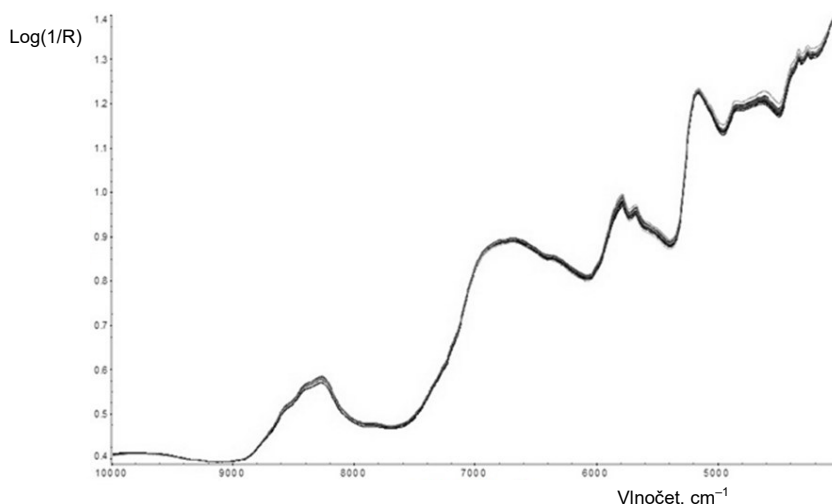
Měření vzorků semen hořčice bílé probíhalo na spektrometru FT-NIR Antaris II (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) na integrační sféře v režimu reflektance ve spektrálním rozsahu 10 000–4000 cm^{-1} pomocí programu Omnic for Antaris. Měření probíhalo v nepomletém vzorku semen hořčic a z hlediska šlechtění je velkým přínosem této metody její nedestruktivnost. Vzorky semen hořčic (0,5 až 20 g) byly proměřovány v rotačních kruhových kyvetách a výsledné spektrum každého vzorku bylo získáno zprůměrováním z 64 scanů s rozlišením 2 cm^{-1} (obr. 1). K rozboru se použil vzorek bez příměsí a nečistot a způsob úpravy vzorku před analýzou byl totožný s postupy, které byly použity při tvorbě kalibračních modelů jednotlivých jakostních parametrů. Vzorek se nadávkoval tak, aby vyplnil celou kyvetu a aby se eliminovaly vzduchové mezery

mezi částmi vzorku, které by mohly negativně ovlivnit správnost měření.

Výsledky a diskuse

Chromatografické stanovení obsahu glukosinolatů a mastných kyselin

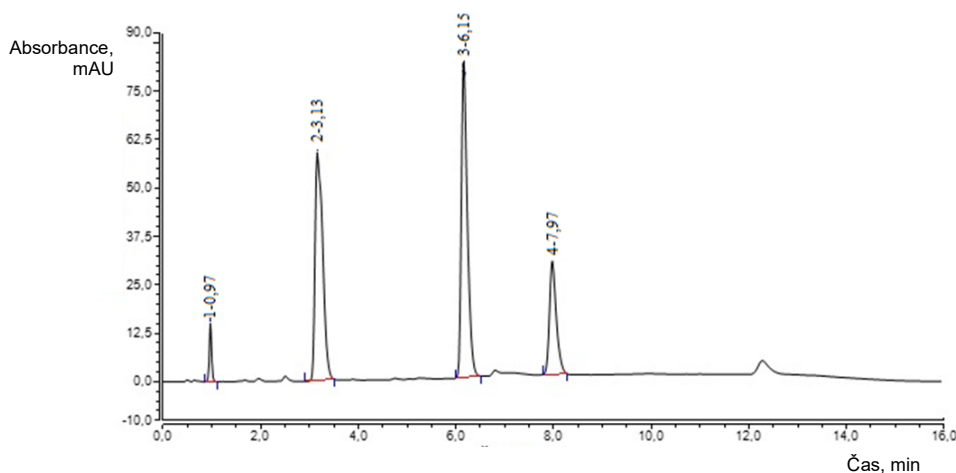
Ve 40 vzorcích listů a 89 vzorcích semen hořčice bílé byl stanoven obsah GSL. Oba typy vzorků pocházely z maloparcelních pokusů s genovými zdroji z NP a byly vybrány položky s odlišnými parametry produkce nadzemní biomasy, lišící se v morfologických znacích a fenologických charakteristikách, s cílem zjistit, zda se liší také v obsahu GSL. Ve vzorcích byly nalezeny čtyři hlavní GSL (tab. 1, obr. 2). Ze skupiny alifatických GSL to byly epi-progoitrin a glukonapin a z aromatických glukotropaeolin a sinalbin. Celkový obsah GSL byl vyšší v semenech oproti obsahu GSL v listech hořčic. V případě semen hořčic byl celkový obsah GSL v rozmezí 212,7 až 378,8 $\mu\text{mol g}^{-1}$ při 9% vlhkosti vzorku. V listech hořčic byl obsah GSL nižší 14,3 až 72,1 $\mu\text{mol g}^{-1}$ sušiny zelené hmoty a i rozdíl mezi jednotlivými vzorky byl větší. Dominantním GSL v semenech hořčic byl zjištěn sinalbin v rozsahu 207,1 až 383,2 $\mu\text{mol g}^{-1}$, který ve své práci rovněž uvádí Popová a spol. (cit.¹³). Ve vzorcích listů hořčice bílé převažoval, stejně jako v semenech hořčic, sinalbin v množství 6,7 až 65,1 $\mu\text{mol g}^{-1}$ a glukotropaeolin v množství 1,5 až 17,9 $\mu\text{mol g}^{-1}$. Mezi jednotlivými položkami hořčic z kolekce NP byly zjištěny signifikantní rozdíly v obsahu GSL. Odrůda hořčice bílé Warta obsahovala nejmenší množství GSL v listech z testovaných odrůd (14,3 $\mu\text{mol g}^{-1}$). Tyto výsledky korespondují s výsledky Krzymaňského a spol., kteří uvádějí, že tato odrůda byla vyšlechtěna jako materiál s nízkým obsahem erukové kyseliny a GSL v semeni¹⁴. Rozdíly v obsahu GSL v zelené hmotě jednotlivých vzorků byly natolik významné, že rutinní stanovo-



Obr. 1. FT-NIR spektra 20 vzorků hořčice bílé

Tabulka I
Obsahy glukosinolátů v semenech a listech hořčice bílé

Glukosinoláty	Semena hořčice bílé [$\mu\text{mol g}^{-1}$ vzorku při 9% vlhkosti vzorku]			Listy hořčice bílé [$\mu\text{mol g}^{-1}$ sušiny vzorku]		
	minimum	maximum	průměr	minimum	maximum	průměr
Sinalbin	207,1	383,2	302,2	6,7	65,1	31,2
Epi-progoitrin	1,6	6,2	3,9	0,1	1,5	0,4
Glukonapin	0,4	2,7	1,3	–	–	–
Glukotropaeolin	–	–	–	1,5	17,9	7,4
Σ Glukosinolátů	212,7	378,8	307,8	14,3	72,1	39,0



Obr. 2. Chromatogram glukosinolátů ve vzorku semene hořčice bílé: 1 – epi-progoitrin, 2 – sinigrin, 3 – sinalbin, 4 – glukonapin

vání tohoto parametru pro všechny položky kolekce NP by mohlo významně přispět k zhodnocení kolekce, především s ohledem na využití specifických materiálů ve šlechtitelském procesu. Právě vysoká variabilita daného znaku a její znalost je nezbytným výchozím prvkem šlechtitelského procesu a umožňuje efektivně stanovit perspektivní kombinace rodičovských genotypů, a tím zajistit dostatečnou variabilitu daného znaku v potomstvech. Zjištěné rozdíly v obsahu GSL umožňují dělit odrůdy na materiály s nižším nebo vyšším obsahem GSL v zelené hmotě. To lze zohlednit například při výběru odrůd hořčice za účelem ozdravování půd.

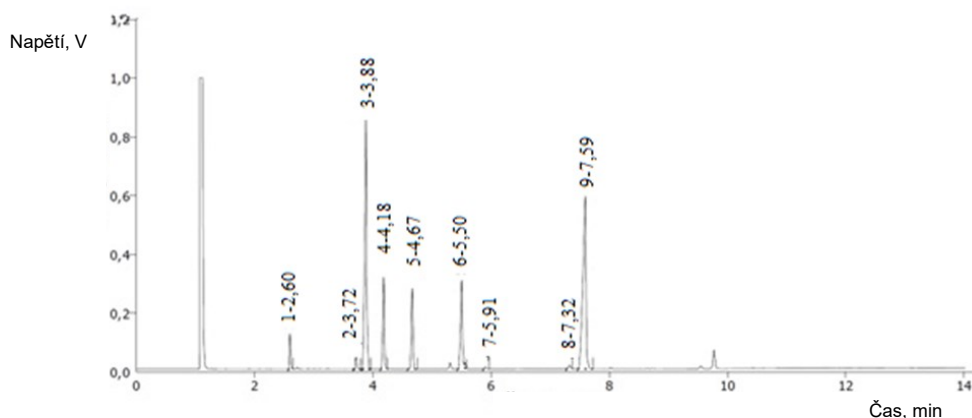
Ve 40 vzorcích semen hořčice bílé byl stanoven obsah oleje. Vzorky hořčic pocházely z kolekce NP, z níž byly vybrány položky s odlišnými parametry, s cílem zjistit, zda se liší také v obsahu oleje. Obsah oleje se ve vzorcích semen hořčic pohyboval v rozmezí 19,9 až 34,8 % při 8 % vlhkosti vzorku. Průměrná olejnatost byla 26 %, což koresponduje s výsledky Belta a spol., kteří uvádějí 26,0 až 27,1 % (cit.¹⁵). Šlechtitelským cílem u této plodiny je snížení obsahu mononenasyčené omega-9 MK erukové kyseliny v oleji. Byla vyvinuta minimalizační metoda, která by umožnila stanovit skladbu MK v segmentu seme-

ne hořčice a zároveň dopěstovat zbylou část segmentu téhož semene hořčice do zralé rostliny. Byly provedeny pokusy s rozdělením semen hořčic na část pro chemickou analýzu a na část, která si ponechala klíčivou schopnost. Odběrový řez byl veden v místech děloh, kde je uloženo největší množství zásobních látek. Rozdělená semena byla následně podrobena zkoušce klíčivosti a bylo zjištěno, že vzházení rostlin nebylo významně ovlivněno. Následně byla ve 140 vzorcích segmentů semen hořčice bílé, pocházejících ze šlechtitelského programu VÚO, analyzována skladba MK (tab. II, obr. 3). Zbylé části segmentů semen vzorků hořčic byly zasety, dopěstovány a byl stanoven obsah MK v 72 vzorcích semen (resp. izolovaném oleji). Byly stanoveny vzájemné závislosti mezi obsahy MK, zjištěnými v segmentu semene, a obsahy MK v hořčičném oleji získaném ze semen dopěstovaných rostlin. Pro hodnocení byl využit statistický program Statistica 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK, USA). Závislosti mezi obsahy MK byly sledovány korelační analýzou s výpočtem Pearsonových korelačních koeficientů. Byla zjištěna průkazná pozitivní korelace (p menší než 0,01) mezi obsahy palmitové, stearové, olejové, linolové, linolenové, eikosenové, eikosadienové, behenové a erukové kyseliny ($r = 0,614\text{--}0,916$)

Tabulka II

Obsahy mastných kyselin ve vzorcích segmentů semen hořčice bílé a hořčičného oleje

Mastné kyseliny	Segment semene [%]			Hořčičný olej [%]		
	minimum	maximum	průměr	minimum	maximum	průměr
Palmitová kyselina	2,5	9,2	3,6	1,8	4,9	2,9
Stearová kyselina	0,7	1,9	1,1	0,5	2,2	0,9
Olejová kyselina	13,7	64,5	29,2	12,1	70,9	29,4
Linolová kyselina	6,5	31,4	11,6	5,8	17,2	9,6
α -Linolenová kyselina	8,5	18,4	11,7	7,8	20,7	11,4
Eikosenová kyselina	1,1	14,4	9,4	1,1	14,1	9,0
Eikosadienová kyselina	0,1	0,7	0,3	0,1	0,4	0,3
Behenová kyselina	0,2	0,9	0,5	0,1	0,7	0,5
Eruková kyselina	0,1	50,8	32,0	0,1	60,8	35,5



Obr. 3. Chromatogram skladby mastných kyselin ve vzorku segmentu semene hořčice bílé: 1 – palmitová kyselina, 2 – stearová kyselina, 3 – olejová kyselina, 4 – linolová kyselina, 5 – α -linolenová kyselina, 6 – eikosenová kyselina, 7 – eikosadienová kyselina, 8 – behenová kyselina, 9 – eruková kyselina

stanovenými v segmentu semene a v semenech dopěstovaných rostlin. Z uvedené korelační analýzy vyplývá, že je daný postup uplatnitelný ve šlechtitelské praxi a mohl by vést k jejímu významnému zefektivnění díky včasné selekci požadovaných genotypů a eliminaci neperspektivních materiálů. Podobných postupů se dnes již prakticky využívá např. ve šlechtění řepky olejky ozimé, kde došlo k průkaznému zefektivnění tvorby materiálů se specifickým obsahem MK v oleji¹⁶. Uvedený postup byl v letech 2020 až 2022 prakticky využit ve šlechtění pro včasnou selekci nově vytvořených genotypů hořčice bílé z hlediska obsahu nežádoucí erukové kyseliny v oleji. Jako donor nízkého obsahu erukové kyseliny byla použita dříve zmiňovaná odrůda Warta, v následných potomstvech pak proběhly uvedené minimalizační analytické postupy stanovení skladby MK v segmentech semen. Analýza byla provedena celkem u 94 nově získaných genotypů. Obsah erukové kyseliny v tomto souboru byl zjištěn v intervalu 0,1 až 47,1 %, jako selekční kritérium byla stanovena hladina 0,3 % obsahu této MK v oleji. Uvedeným postupem bylo

identifikováno a vyselektováno 34 nově vytvořených genotypů pro další šlechtitelskou práci.

Využití FT-NIR spektroskopie k hodnocení jakosti hořčice bílé

Metoda FT-NIR je v současné době pro svoji časovou nenáročnost, nedestruktivnost a nižší náklady na analýzu běžně používanou metodou v celé řadě laboratoří, které se zabývají nejen šlechtěním plodin. Ve VÚO byly postupně vytvořeny kalibrační modely pěti jakostních parametrů hořčice bílé – obsah oleje, olejové, linolové, linolenové a erukové kyseliny (tab. III). Za účelem tvorby kalibračních modelů byly použity vzorky semen hořčic, které pocházely ze šlechtitelského programu VÚO a kolekce NP. Po nasnímání vzorků spektrometrem byly vzorky analyzovány pomocí laboratorních referenčních metod, které jsou na pracovišti validované (stanovení skladby MK pomocí GC, Soxhletova extrakce oleje). Kalibrační modely pro kvantitativní analýzu jakostních parametrů hořčice bílé

byly vyvinuty vhodnou regresní metodou s využitím chemometrického programu Thermo Scientific TQ Analyst (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) pomocí algoritmu Partial Least Squares (PLS, metoda částečných nejmenších čtverců) bez derivace. Optimální spektrální oblasti byly vybrány na základě diagnostiky „Statistical Spectra“ a pomocí diagnostik Spectrum Outlier, Leveragea Principal Component Scores byly ze souboru vyloučeny vzorky, které vykazovaly velkou odchylku mezi naměřenými a predikovanými hodnotami, nebo objevila-li se spektrální odchylka ve změřeném spektru. Byla vyjádřena standardní chyba kalibrace (Root mean square of calibration – RMSEC), korelační koeficient kalibrace (R), chyba křížové validace (Root mean square error of cross validation – RMSECV), hodnota korelačního koeficientu křížové validace (R_{CV}), chyba predikce (Root mean square error of prediction – RMSEP) a hodnota korelačního koeficientu predikce (R_P). Kalibrační model pro predikci obsahu oleje vykazoval široký rozsah znaku (19,9–34,8 %) a vysokou úroveň korelačních koeficientů (0,934–0,982). RMSEC byla pro olej 0,467, RMSECV 0,550 a RMSEP 0,624, což svědčí o vhodnosti modelu k praktickému použití. Singh¹⁷ udává hodnotu RMSEC 0,70, RMSECV 1,01 a korelační koeficient kalibrace 0,900. Kalibrační model pro predikci obsahu erukové kyseliny byl vytvořen ze 171 vzorků standardů a byl charakterizovaný velkým kalibračním rozsahem znaku (12,4–65,4 %). Korelační koeficienty dosáhly hodnot 0,915–0,963, RMSEC byla 1,560, RMSECV 2,010 a RMSEP 2,350. Byl nalezen větší rozptyl hodnot všech tří chyb, který mohl být způsoben nerovnoměrným rozložením koncentračního zastoupení kalibračních standardů v důsledku širokého rozsahu znaku. Kumar¹⁷ udává RMSEC 2,70 a R 0,972 a Singh¹⁸ udává RMSEC 0,73, RMSECV 0,80 a R 0,910. Vytvořené kalibrační modely budou v následujících letech kontinuálně doplňovány nejen o vzorky s menší četností, ale i o vzorky běžné, protože sklizňový rok, zejména pokud se průběh počasí významně liší od ročníků, ve kterých byly shromážděny kalibrační standardy, může mít na spektra a tím i na přesnost analýz vliv. Pomocí FT-NIR bylo v letech 2022 až 2023 vyhodnoceno 547 vzorků semen hořčice bílé pocházejících z NP a šlechtění VÚO (tab. IV). Využití metody FT-NIR umožnilo zefektivnit standardní hodnocení genetických

zdrojů kolekcí NP a také zlepšit výběr požadovaných genotypů během šlechtitelského procesu hořčice bílé.

Závěr

Bylo provedeno hodnocení jakostních parametrů (obsah GSL, oleje a skladba MK) vzorků semen a listů hořčice bílé, které pocházely z kolekce olejnin NP a z programu šlechtění ve VÚO. V případě semen hořčic byl celkový obsah GSL vyšší než v listech hořčic a dominantním GSL byl zjištěn sinalbin. Stanovená data mohou rozšířit spektrum deskriptorů v kolekci olejnin NP, které hodnotí významné parametry. Takto získaná data by mohla být přínosem především pro uživatele z řad šlechtitelů, kterým umožní zaměřit své programy na tvorbu genotypů se specifickými obsahy GSL (například vytvoření genotypů s vyšším potenciálem zaorané biomasy k ozdravení půdy nebo k využití hořčičných semen v krmivářství). Z analýzy zastoupení MK v hořčičném oleji vyplývá, že u starších materiálů z NP dominovala eruková kyselina, jejíž obsah znemožňuje větší využití oleje pro přímou lidskou výživu. Nové odrůdy hořčice bílé obsahují méně erukové kyseliny a bylo by možné je využít i ke konzumním účelům. Na tento směr šlechtění je zaměřen šlechtitelský program ve VÚO a analýza obsahu MK v segmentu semene hořčice je z praktického hlediska velice přínosná pro včasnou selekci požadovaných genotypů hořčice bílé. Práce dále prokázala vhodnost použití metody FT-NIR pro předběžné hodnocení jakosti genotypů ve šlechtění této plodiny a k získávání popisných charakteristik genových zdrojů kolekcí olejnin NP. Metoda FT-NIR je oproti laboratorním referenčním metodám výrazně rychlejší, levnější, méně náročná a nedestruktivní.

Výsledky byly získány v souvislosti s řešením projektu č. QK1910225 „Zavedení a využití komplexních biotechnologických postupů k charakterizaci a tvorbě genových zdrojů a dalších výchozích materiálů hořčic pro potravinářské a pícní účely“ (2019–2023), který byl realizován za finanční spoluúčasti MZe ČR – NAZV a v souvislosti s řešením Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity 51834/2017-MZE-17253/6.2.7 a institucionální podpory MZE-RO1823.

Tabulka III
Parametry kalibračních modelů hořčice bílé

Složka	Rozsah	n ^a	RMSEC ^b	R ^c	RMSECV ^d	R_{CV} ^e	RMSEP ^f	R_P ^g
Olej ^h , %	19,9–34,8	173	0,467	0,954	0,550	0,934	0,624	0,982
C18:1 ^{ch} , %	11,1–49,9	171	0,822	0,982	1,520	0,950	1,730	0,911
C18:2 ⁱ , %	6,4–13,3	175	0,512	0,932	0,622	0,844	0,678	0,887
C18:3 ^j , %	5,6–13,3	175	0,468	0,927	0,606	0,931	0,663	0,916
C22:1 ^k , %	12,4–65,4	171	1,560	0,915	2,010	0,963	2,350	0,936

^a Počet vzorků, ^b chyba kalibrace, ^c korelační koeficient kalibrace, ^d chyba křížové validace, ^e korelační koeficient křížové validace, ^f chyba predikce, ^g korelační koeficient predikce, ^h jednotka % při 8% vlhkosti vzorku, ^{ch} olejová kyselina, ⁱ linolová kyselina, ^j α -linolenová kyselina, ^k eruková kyselina

Tabulka IV
Obsahy jakostních parametrů ve vzorcích semen hořčice bílé

Jakostní parametr	Minimum	Maximum	Průměr
Olej, % při 8% vlhkosti	19,1	32,3	27,1
Olejevá kyselina, %	5,1	49,1	19,5
Linolová kyselina, %	5,7	11,1	8,3
α -Linolenová kyselina, %	8,7	17,1	10,9
Eruková kyselina, %	14,2	73,0	50,2

LITERATURA

- Zhang X., Liu T., Duan M., Song J., Li X.: *Front Plant Sci.* 4, 259 (2016).
- Zehnálek P.: *Seznam doporučených odrůd řepky olejky 2023*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, Národní odrůdový úřad, Brno 2023.
- Słomiński B. A., Kienzle H. D., Jiang P., Campbell L. D., Pickard M., Rakow G.: *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress, 26–29 September 1999, Canberra, Australia*, str. 416, Canberra 1999.
- Cools K., Terry L. A.: *Food Chem.* 30, 343 (2018).
- Kocira S., Hara P., Szparaga A., Czerwińska E., Beloev H., Findura P., Bajus P.: *Agriculture* 10, 1 (2020).
- Zukalová H., Vašák J., Kroutil P., Štranc P.: *Agricultura-Scientia-Prosperitas: Řepka a Mák 5 února 2004. ČZU v Praze, Česká republika*, str. 87, Praha 2004.
- Hernández F. A., Molina F. D. M., Klug T. V., Hernández G. B. M.: *J. Food Compos. Anal.* 110, 104546 (2022).
- ČSN 46 2300-4: *Olejnatá semena – Část 4: Semeno hořčice* (listopad 2006).
- ČSN EN ISO 9167: *Semeno řepky a pokrmy z řepky – Stanovení obsahu glukosinolatů – Metoda využívající vysokotlačnou kapalinovou chromatografii* (březen 2020).
- ČSN EN ISO 659: *Olejnatá semena – Stanovení obsahu oleje (Ref. metoda)* (únor 2011).
- ČSN EN ISO 12966-2: *Živočišné a rostlinné tuky a oleje – Plynová chromatografie methylesterů mastných kyselin – Část 2* (prosinec 2017).
- ČSN EN ISO 665: *Olejnatá semena – Stanovení vlhkosti a obsahu těkavých látek* (prosinec 2020).
- Popova I. E., Morra M. J.: *J. Food Compos. Anal.* 35, 120 (2014).
- Krzymański J., Piętko T., Krótka K., Bartkowiak-Broda I.: *Oilseed Crops* 35, 21 (2014).
- Belt D., Grygier A., Siger A., Kmiecik D., Spasibonek S., Rudzińska M.: *Appl. Sci.* 13, 2196 (2023).
- Endlová L., Vrbovský V., Klíma M.: *Minimalizační metoda stanovení obsahu mastných kyselin pro včasnou selekci šlechtitelských materiálů řepky olejné (Brassica napus L.)*. Certifikovaná metodika. OSEVA vývoj a výzkum, Opava 2019.
- Singh J., Sharma P. C., Sharma S. K., Kumar A.: *Plant Soil Environ.* 59, 478 (2013).
- Kumar S., Chauhan J. S., Kumar A.: *J. Food Sci. Technol.* 47, 690 (2010).

L. Endlová^{a,b}, V. Vrbovský^{a,b}, and A. Rychlá^{a,b}
(^aOSEVA Development and Research Ltd., Zubří, ^bOSEVA PRO Ltd., Opava, Czech Republic): **Application of Spectral and Separation Methods to Assess the Quality of White Mustard (*Sinapis alba* L.)**

Quality parameters (glucosinolate content, oil and fatty acid composition) of white mustard seeds and leaves were evaluated. The total glucosinolate content in the mustard seeds was higher than that in the leaves, and sinalbine was found to be the main glucosinolate in both cases. Analysis of the fatty acid content of the oil showed that erucic acid was predominant in the older genetic sources, while the new white mustard varieties contained less erucic acid. The results obtained showed that Fourier transform near-infrared spectroscopy can be used for routine evaluation of samples and for pre-screening purposes in white mustard breeding programmes.

Keywords: oilseeds, white mustard, fatty acids, glucosinolates, sinalbine

Acknowledgements

This work was supported by grants from the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant numbers: QK1910225; 51834/2017-MZE-17253/6.2.7 and MZE-RO1823).



Užití tohoto díla se řídí mezinárodní licencí Creative Commons Attribution License 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.cs>), která umožňuje neomezené využití, distribuci a kopírování díla pomocí jakéhokoliv média, za podmínky řádného uvedení názvu díla, autorů, zdroje a licence.