

Projekt: 505.6050

Ontwikkeling methoden van onderzoek voor voedings- en voedermiddelen  
met behulp van NIRS (R. Frankhuizen).

Rapport 87.16

1987-02-20

Oriënterend onderzoek naar de bepaling  
van het gehalte aan glucosinolaten in  
raapzaad met behulp van NIRS

R. Frankhuizen, A.J. van Munsteren en  
N.G. van der Veen

Goedgekeurd door: dr H. Herstel

Afdeling Algemene Chemie

Medewerker: H.J. van der Kamp (afdeling KVC)

RIKILT

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten,  
Postbus 230, 6700 AE Wageningen.

VERZENDLIJST

Intern:

Directeur

Sectorhoofden

drs B.G. Muuse

H.J. van der Kamp

Projectbeheer

Afdeling Algemene Chemie (6x)

Bibliotheek

Circulatie

Extern:

Directie DLO

Directie VKA

ir M. Miedema (CAD/KD)

ir H. Toxopeus (SVP)

Agralin

drs ing. J.H. Wolsink (IBVL)

## ABSTRACT

Analysis of glucosinolates in whole rapeseed by near infrared reflectance spectroscopy

Oriënterend onderzoek naar de bepaling van het gehalte aan glucosinolaten in raapzaad met behulp van NIRS (in Dutch)

R. Frankhuizen, A.J. van Munsteren and N.G. van der Veen  
State Institute for Quality Control of Agricultural Products  
RIKILT, P.O.Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

3 figures, 2 tabels, 3 references, 1 annex

By using a research Near Infrared Reflectance Spectrometer (Technicon Infra Analyzer-500) some experiments were performed to study the possibility of NIRS to predict the glucosinolates content in whole rapeseed.

Investigations by Biston et al. and Renard et al. (presented at the CEC workshop, October 1986, Gembloux, Belgium) showed that NIRS can be used to quantitatively predict the glucosinolates content in whole rapeseed. Our investigations on 31 samples confirm this. Nevertheless, due to the small range of the glucosinolate contents in this sample set (8 - 42  $\mu\text{mol/g}$ ), more investigations are required, especially on the selection of the characteristic wavelengths and on the accuracy of the method in the region of the limit of 35  $\mu\text{mol/g}$  seed as set by the EC-commission for double zero rapeseed (small amounts of glucosinolates and erucic acid).

Keywords: Near infrared reflectance spectroscopy, NIRS, glucosinolates, rapeseed.

Abstract (referaat)

Samenvatting

|                            |   |
|----------------------------|---|
| 1. Inleiding               | 1 |
| 2. Materiaal en methode    | 1 |
| 3. Resultaten en discussie | 2 |
| 4. Conclusie               | 4 |
| Literatuur                 | 5 |
| Bijlage                    | 6 |

#### SAMENVATTING

Met behulp van een research Nabij Infrarood Reflectie Spectrometer (NIRS) (Technicon Infra-Alyzer 500) is oriënterend onderzoek uitgevoerd naar de bepaling van het gehalte aan glucosinolaten in raapzaad met behulp van NIRS. Uit onderzoek, uitgevoerd door Biston et al. (1) en Renard et al. (2) blijkt dat NIRS ingezet kan worden voor de kwantitatieve bepaling van glucosinolaten in raapzaad. Ons onderzoek met 31 monsters bevestigt dit. Niettemin maakt de geringe spreiding van de gehalten in de gebruikte monsterset (8 - 42  $\mu\text{mol/g}$ ) meer onderzoek noodzakelijk. In het bijzonder dient meer onderzoek te worden gedaan naar de keuze van de karakteristieke golflengten en naar de nauwkeurigheid van de methode in het gebied van de door de EG-commissie voorgestelde limiet van 35  $\mu\text{mol/g}$  voor dubbel nul raapzaad (laag gehalte aan glucosinolaten en erucazuur).

## 1. INLEIDING

Ter controle van het gehalte aan glucosinolaten in raapzaad heeft de EG-commissie in januari 1985 een gaschromatografische (GC) methode geaccepteerd als referentiemethode. Inmiddels is onder andere op het RIKILT onderzoek uitgevoerd met behulp van hoge druk vloeistof chromatografie (HPLC) (3). Deze methode biedt een aantal voordelen boven de GC methode en zal deze op korte termijn als referentiemethode gaan vervangen. Nochtans blijft er behoefte aan een snelle, eenvoudige routinemethode. Een techniek die wellicht hiervoor in aanmerking komt is de Nabij Infrarood Reflectie Spectroscopie (NIRS). Op een CEC workshop in oktober 1986 over glucosinolaten in raapzaad werden onder andere twee lezingen verzorgd over dit onderwerp (1,2). Conclusie van deze onderzoekers is dat met NIRS voldoende nauwkeurig het gehalte aan glucosinolaten in raapzaad is te bepalen. Doel van dit onderzoek is bevestiging van de conclusies van deze onderzoekers, teneinde een gezamenlijk advies aan de EG-commissie te verstrekken omtrent de mogelijke toepassing van NIRS als routinemethode voor de bepaling van glucosinolaten in raapzaad.

## 2. MATERIAAL EN METHODE

Met behulp van 34 monsters raapzaad, waarvan de glucosinolaatgehalten (zie bijlage) met de HPLC-methode (3) zijn bepaald, is een calibratie gemaakt met een research nabij infrarood spectrometer (Technicon Infra-Alyzer 500). Van deze monsters zijn in enkelvoud in een gesloten monstercup spectra in de  $\log 1/R$  vorm opgenomen over het golflengtegebied van 1100 nm - 2500 nm in stappen van 4 nm (fig. 1).

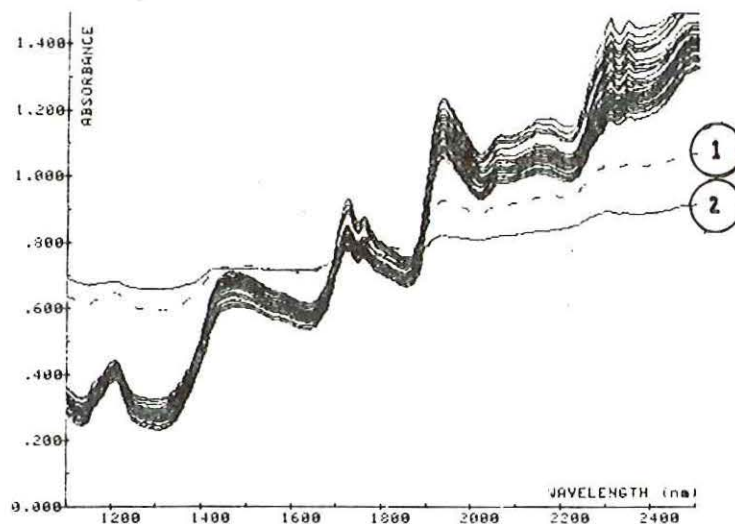


fig 1. Nabij Infrarood spectra van 34 monsters raapzaad  
(1 en 2 door indicator-kleurstof afwijkende spectra).

### 3. RESULTATEN EN DISCUSSIE

Twee van de 34 monsters gaven een dermate afwijkend spectrum dat deze in de berekening buiten beschouwing zijn gelaten (fig. 1). Dit bleek veroorzaakt te worden door een op het zaad aanwezige indicatorkleurstof, afkomstig van een ontsmettingsmiddel. In tabel 1 zijn de resultaten van de calibratieberekeningen vermeld. Een monster bevatte een dermate afwijkend gehalte aan glucosinolaten ten opzichte van andere monsters dat dit om statistische redenen eveneens buiten beschouwing is gelaten.

Tabel 1. Calibratieparameters voor de bepaling van het gehalte aan glucosinolaten met behulp van NIRS  
(n= 31, range 8,0 - 42,0  $\mu\text{mol/g}$ )

| Rekenmethode                              | Golflengten (nm) | R    | SEC ( $\mu\text{mol/g}$ ) |
|-------------------------------------------|------------------|------|---------------------------|
| step up                                   | 1128, 2120, 1116 | 0.82 | 6                         |
| all combination (n = 32 range 8.0 - 81.7) |                  |      |                           |
|                                           | 1618, 1632, 1646 | 0.90 | 7                         |
| all combination                           | 1898, 2024, 2052 | 0.88 | 5                         |
| 1e afgeleide                              | 2216, 1912, 1120 | 0.88 | 5                         |
| 2e afgeleide                              | 2196, 1692, 2128 | 0.87 | 5                         |

In fig. 2 zijn de gehalten aan glucosinolaten, bepaald met behulp van HPLC, uitgezet tegen de met NIRS voorspelde gehalten. Fig. 3 geeft een frequentieverdeling van de gehalten aan glucosinolaten in 31 monsters raapzaad.

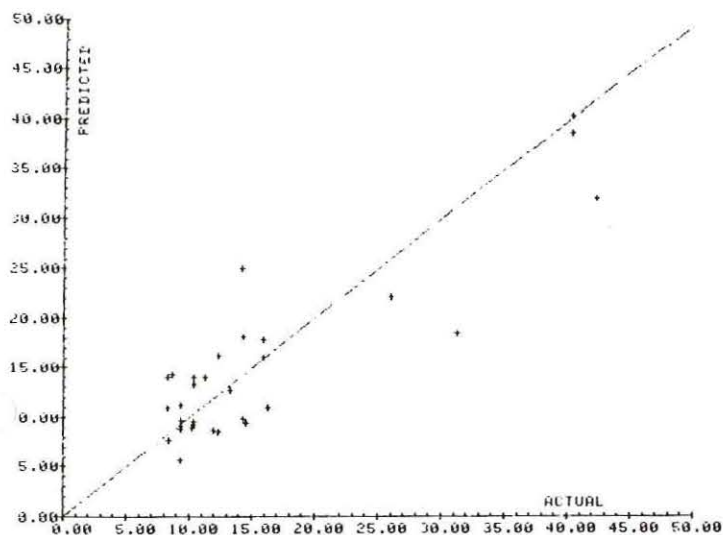


fig 2. Gehalten aan glucosinolaten in 31 monsters raapzaad bepaald met behulp van HPLC (actual) versus NIRS (predicted).

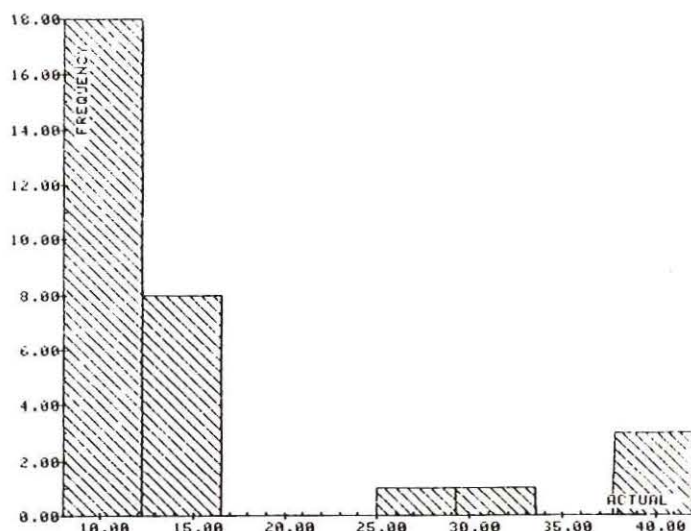


fig 3. Frequentieverdeling van de gehalten aan glucosinolaten in 31 monsters raapzaad.

De gehalten aan glucosinolaten in de onderzochte monsters variëren van 8 tot 42  $\mu\text{mol/g}$ , met een uitschieter van 82  $\mu\text{mol/g}$ . Deze gehalten liggen op de ondergrens van het toepassingsgebied van NIR. Daarnaast is de spreiding in de gehalten van de monsters erg klein en is de calibratiemonsterset verre van ideaal samengesteld (fig. 2 en fig. 3). Gelet op deze beide constateringën moeten de voor de 31 monsters berekende correlatiecoëfficiënten van 0,82 tot 0,88 met de daarbij behorende standaardafwijkingen van de verschillen van 5 tot 6  $\mu\text{mol/g}$  als verrassend goed geïnterpreteerd worden.

De verschillen in combinaties van golflengten, geselecteerd bij de verschillende berekeningen, zijn voor NIRS vrij normaal en hangen samen met de gebruikte rekenmethode. Opvallend is wel dat bij de "all combination" berekening met  $n = 32$  en een range van 8,0-81,7  $\mu\text{mol/g}$  nagenoeg dezelfde golflengten worden geselecteerd als waarvan Biston (1) en Renard (2) melding maken (4 tot 106, respectievelijk 7 tot 200  $\mu\text{mol/g}$ ). Toch is deze keuze wat vreemd omdat de golflengten zeer dicht bij elkaar en in een weinig specifiek (praktisch vlak) gedeelte van het NIRS spectrum van raapzaad liggen.

Indien hier werkelijk sprake is van enige specifieke absorptie dan is opname van nieuwe spectra met een kleinere stapgrootte in golflengte (1 nm) zeker op zijn plaats. Tevens dient bij het vervolgonderzoek de aanwezigheid van kaf in de monsters beperkt te worden i.v.m. de storende werking hiervan.

#### 4. CONCLUSIE

In dit onderzoek wordt voor gehalten aan glucosinolaten tot 42  $\mu\text{mol/g}$  een standaarddeviatie van 5  $\mu\text{mol/g}$  gevonden. Biston en Renard vonden een standaarddeviatie van respectievelijk 3 en 8  $\mu\text{mol/g}$ . Voordat een positief advies aan de EG-commissie betreffende de mogelijke toepassing van NIRS als routinemethode voor de bepaling van glucosinolaten in raapzaad wordt verstrekt is een uitgebreider onderzoek gewenst. Dit onderzoek moet met name gericht zijn op het beantwoorden van de vraag of NIRS voldoende specifiek en nauwkeurig is in het gebied van de voorgestelde limiet van 35  $\mu\text{mol/g}$  voor dubbel nul raapzaad.

## LITERATUUR

1. R. Biston, P. Dardenne, M. Cwikowski, J.P. Wathelet and M. Severin  
Analysis of quality parameters of whole rapeseed by NIRS. Proceedings  
CEC workshop glucosinolates in rapeseeds, analytical aspects.  
October 1-3, 1986, Gembloux (Belgium).
2. M. Renard, C. Bernard, M. Deschamps, V. Furtoss, M. Lila,  
A. Quinsac, J.M. Regnier and D. Ribaillier  
Glucosinolates analysis in whole rapeseed by near infrared  
reflectance spectroscopy. Proceedings CEC workshop glucosinolates  
in rapeseeds, analytical aspects. October 1-3, 1986, Gembloux  
(Belgium).
3. B.G. Muuse, H.J. van der Kamp  
Investigation on chemical methods of analysis for glucosinolates  
in rapeseed. RIKILT Wageningen, Report 86.108, 1986-11-15.

# BIJLAGE

Gehalten aan glucosinolaten in 34 verschillende monsters rapzaad bepaald met behulp van de HPLC methode.

| Monster<br>nummer | Monstercode | Glucosinolaten<br>( $\mu\text{mol/g}$ ) |
|-------------------|-------------|-----------------------------------------|
| 1                 | diplom      | 8.3                                     |
| 2                 | optima      | 8.1                                     |
| 3                 | lirasel     | 9.9                                     |
| 4                 | ariel       | 11.7                                    |
| 5                 | rally       | 12.3                                    |
| 6                 | lindora     | 15.6                                    |
| 7                 | tadem       | 13.9                                    |
| 8                 | ledos       | 15.6                                    |
| 9                 | librador    | 25.7                                    |
| 10                | elena       | 25.0                                    |
| 11                | garant      | 81.7                                    |
| 12                | 26077       | 14.2                                    |
| 13                | 26078       | 31                                      |
| 14                | 26079       | 11                                      |
| 15                | 24007       | 10                                      |
| 16                | 24006       | 10                                      |
| 17                | 24005       | 12                                      |
| 18                | 24004       | 9                                       |
| 19                | 24003       | 9                                       |
| 20                | 24002       | 13                                      |
| 21                | 23028       | 16                                      |
| 22                | 23029       | 8                                       |
| 23                | 23030       | 8                                       |
| 24                | 23419       | 14                                      |
| 25                | 23421       | 14                                      |
| 26                | 23421       | 9                                       |
| 27                | 23664       | 12                                      |
| 28                | 23665       | 9                                       |
| 29                | 23666       | 9                                       |
| 30                | 23667       | 10                                      |
| 31                | 23668       | 10                                      |
| 32                | 21810       | 42                                      |
| 33                | 21811       | 40                                      |
| 34                | 21812       | 40                                      |