



Agronomická
fakulta

Mendelova
univerzita
v Brně



**Možnosti využití NIR spektroskopie pro stanovení
vybraných parametrů u brambor**

Diplomová práce

Vedoucí práce:
doc. Ing. Radim Cerkal, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Alena Balarinová

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Alena Balarinová**
Studijní program: Zemědělská specializace
Obor: Zemědělské inženýrství
Konzultant: Ing. Eliška Šišperová, Ph.D.
Název tématu: **Možnosti využití NIR spektroskopie pro stanovení vybraných parametrů u brambor**
Rozsah práce: 60 stran vč. příloh

Zásady pro vypracování:

1. Zpracování literárního přehledu z oblasti NIR spektroskopie.
2. Získání výsledků měřením na NIR a jejich porovnání s výsledky klasických laboratorních analýz.
3. Vyhodnocení výsledků experimentální části práce, porovnání metod, zhodnocení možností využití NIR spektroskopie v dané oblasti.

Seznam odborné literatury:

1. ČEPL, J. a kol. *Konzumní brambory na poli, zahradě a v kuchyni*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský, 2009. 206 s. ISBN 978-80-86940-23-6.
2. KADLEC, P. a kol. *Technologie potravin I*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. 300 s. ISBN 978-80-7080-509-1.
3. OZAKI, Y. – MCCLURE, W F. *Near infrared spectroscopy in food science and technology*. Hoboken, NJ. 2006. ISBN 9780470047705, 9780471672012. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/0470047704>.
4. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. : 1. 2. vyd. Tábor: OSSIS, 2002. 331 s. ISBN 80-86659-00-3.

Datum zadání diplomové práce: říjen 2012

Termín odevzdání diplomové práce: duben 2014


Bc. Alena Balarinová
Autorka práce




doc. Ing. Radim Cerkal, Ph.D.
Vedoucí práce


prof. Ing. Miroslav Jůzl, CSc.
Vedoucí ústavu


prof. Ing. Ladislav Zeman, CSc.
Děkan AF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Možnosti využití NIR spektroskopie pro stanovení vybraných parametrů u brambor vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....
podpis

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu své práce doc. Ing. Radimu Cerkalovi, Ph.D. za odborné vedení práce, metodickou pomoc, konzultace a za cenné rady při vypracování mé diplomové práce.

Dále potom své vedoucí RNDr. Radvaně Šulové, Ph.D. z ÚKZÚZ Brno za ochotu a vstřícnost a také možnost vypracování si zde své experimentální části, své rodině za podporu při studiu a v neposlední řadě také i Mgr. Davidovi Čižmárovi, Ph.D. za velmi cenné rady týkající se NIR spektroskopie.

ABSTRAKT

Trendem současné doby v analytické chemii je zavádění instrumentálních metod, které jsou rychlé a ekonomicky nenáročné. Tento proces se samozřejmě nevyhnul ani oblasti chemie brambor, a to použitím optické metody – NIR spektroskopie. Diplomová práce se proto zaměřuje na analýzu základních nutričních a nejčastěji stanovovaných parametrů bramborových hlíz (sušina, škrob, dusíkaté látky a redukující cukry) s použitím laboratorních referenčních metod a jejich následný převod na tuto novou analytickou metodu vytvořením vhodných kalibračních modelů. Rovněž je část práce věnována statistickému porovnání obou analytických metod za účelem zjištění, zda lze tyto metody vzájemně nahradit.

Měřením bylo zjištěno, že některé parametry lze NIR spektroskopií nahradit, zatímco u jiných převod není vhodný. Konkrétně parametry škrob, N-látky nebo sušina měly hodnoty korelačních koeficientů (R) 0,901; 0,806 a 0,977, což znamená vyhovující kalibrační modely. Kdežto na parametry cukry, cukry po hydrolýze s hodnotami korelačních koeficientů 0,769 a 0,786 není možné metodu NIR spektroskopie aplikovat. Modely pro tyto stanovení nejsou vhodné.

Klíčová slova: brambory, NIR spektroskopie, kalibrační model, chemometrie, odrůda, referenční metoda

ABSTRACT

Current trends in analytical chemistry is the introduction of instrumental methods that are quick and economical. This process is obviously not avoid potato field of chemistry, using optical methods - NIR spectroscopy. This thesis therefore focuses on the analysis of basic nutrition and most of all the determined parameters of potato tubers (dry matter, starch, N-substances and reducing sugars) using laboratory reference methods and their subsequent transfer to this new analytical method by creating appropriate calibration models. It is also part of the work is devoted to the statistical comparison of both analytical methods in order to determine whether these methods can replace each other.

The measurement has been found that some parameters NIR spectroscopy can be replaced, while in others the conversion is not suitable. Specifically parameters starch, N-substances or dry matter had correlation coefficients (R) 0.901; 0.806 and 0.977, meaning satisfactory calibration models. Whereas on parameters carbohydrates, carbohydrates after hydrolysis with the values of correlation coefficients 0.769 and 0.786 is impossible to apply the method of NIR spectroscopy. Models for determining these are not suitable.

Keywords: potatoes, NIR spectroscopy, calibration model, chemometrics, variety, reference method

Obsah

1	ÚVOD	9
2	CÍL PRÁCE	10
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
3.1	Brambory	11
3.1.1	Historie a současnost.....	11
3.1.2	Botanická a morfologická charakteristika.....	12
3.1.2.1	Anatomická stavba bramborové hlízy	12
3.1.2.2	Chemické složení bramborové hlízy	14
3.1.3	Tržní odrůdy brambor a požadavky na jejich jakost	20
3.1.4	Historie šlechtění brambor v ČR.....	22
3.1.5	Odrůdy pěstované v České republice a jejich testování.....	23
3.2	NIR spektroskopie (Near-infrared Spectroscopy) – rychlý nástroj pro stanovení kvality hlíz brambor	26
3.2.1	Historie spektroskopie.....	26
3.2.2	Základní principy infračervené spektroskopie	28
3.2.3	Blízká červená spektroskopie (NIRS).....	29
3.2.3.1	Technika měření	30
3.2.3.2	Spektrometry	31
3.2.3.3	Výhody a nevýhody NIR spektroskopie.....	35
3.2.4	Chemometrie	36
3.2.5	Kalibrace	37
3.2.5.1	Tvorba kalibračního modelu.....	37
3.2.5.2	Metody kvantitativní analýzy	38
3.2.5.3	Optimalizace kalibračního modelu.....	40
3.2.5.4	Parametrický test	42
4	MATERIÁL A METODIKA	43
4.1	Referenční metody	45
4.1.1	Stanovení vlhkosti (sušiny)	45
4.1.2	Stanovení obsahu škrobu.....	46
4.1.3	Stanovení obsahu dusíkatých látek	47
4.1.4	Stanovení obsahu cukrů	48
4.2	Stanovení NIR spektroskopií	51

4.2.1	Specifikace přístroje	51
4.2.2	Postup měření	51
5	VÝSLEDKY	51
5.1	Sušina (tvorba kalibračního modelu)	52
5.1.1	Výsledný kalibrační model - SUŠINA	55
5.2	Škrob (tvorba kalibračního modelu)	56
5.2.1	Výsledný kalibrační model - ŠKROB	56
5.3	N-látky (tvorba kalibračního modelu)	57
5.3.1	Výsledný kalibrační model - N-LÁTKY	57
5.4	Cukry - bez hydrolýzy (tvorba kalibračního modelu)	58
5.4.1	Výsledný kalibrační model - CUKRY (bez hydrolýzy).....	58
5.5	Cukry - po hydrolýze (tvorba kalibračního modelu)	59
5.5.1	Výsledný kalibrační model - CUKRY (po hydrolýze).....	59
5.6	Externí validace	60
6	DISKUZE.....	63
7	ZÁVĚR.....	66
	POUŽITÁ LITERATURA.....	67
	SEZNAM OBRÁZKŮ	73
	SEZNAM TABULEK.....	74
	SEZNAM ZKRATEK	76
	PŘÍLOHY.....	77

1 ÚVOD

Brambory jsou ve světě významnou hospodářskou plodinou. Po pšenici, rýži a kukuřici se řadí na čtvrté místo v celosvětové spotřebě potravin rostlinného původu. Jejich využití je nejen pro potravinářské účely, ale také jako krmiva a zdroje pro průmyslovou výrobu škrobu a lihu. V zeměpisné oblasti mírného pásma se jedná o jednu z nejvýznamnějších potravin vůbec.

Bramborové hlízy jsou složeny z velkého množství důležitých chemických látek, v první řadě se jedná o sacharidy složité – škrob, jednoduché – glukóza, fruktóza, nebo sacharóza (první dva jsou označovány jako redukující cukry a jejich vyšší obsah je problematický při tepelném zpracování (hnědnutí produktů)). Kromě těchto základních stavebních složek lze v hlízách nalézt dusíkaté látky, vlákninu, polyfenoly nebo alkaloidy. Důležitou součástí jsou i minerální látky, a to hlavně zásaditý draslík nebo například vitamíny (C). Právě jeho příjem je v souvislosti s množstvím brambor, které lidé zkonsumují, velmi důležitý.

Z pohledu analytika v zemědělské laboratoři je nezbytné znát chemické složení bramborových hlíz – jejich základních komponent, jako jsou již dříve zmiňovaný škrob, sušina, dusíkaté látky nebo cukry. Zároveň se v dnešní době čím dál častěji objevuje snaha stanovit právě tyto základní parametry co nejrychleji a nejekonomičtěji.

NIR spektroskopie je spektrální analytická metoda, která je založena na absorpci nebo reflexi elektromagnetického záření vzorkem. Výstupem této metody je spektrum, které je pro každou látku vždy jedinečné. Toho lze využít při vyhodnocování, respektive kvantifikaci těchto látek. Výhodou NIR spektroskopie je schopnost měřit simultánně více parametrů během jednoho měření. Obecně lze říci, že se jedná o relativně novou analytickou metodu, která se neustále vyvíjí a v posledních letech zažívá velký rozmach. Stává se tak běžně používanou v analytických laboratořích a provozech potravinářského, farmaceutického a chemického průmyslu a samozřejmě i v zemědělství.

Diplomová práce se věnuje stanovení výše zmíněných základních složek v hlízách brambor nejprve referenčními metodami, poté řeší vytvoření vhodných kalibračních modelů z výsledků získaných těmito referenčními metodami a nakonec ověřuje predikční schopnosti vytvořených kalibračních modelů a jejich následnou použitelnost v praxi.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo:

- ◆ Prostudovat odbornou literaturu k danému tématu a vypracovat aktuální literární přehled,
- ◆ nastínit možné směry vývoje analýzy hlíz brambor NIR spektroskopii dle nejnovějších vědeckých poznatků,
- ◆ stanovit základní chemické složky bramborových hlíz laboratorními referenčními metodami,
- ◆ vytvořit vhodné kalibrační modely z výsledků referenčních metod,
- ◆ ověřit predikční schopnosti vytvořených modelů a jejich využitelnost v praxi.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Brambory

3.1.1 Historie a současnost

Brambory byly (dle archeologických nálezů) pěstovány již od 2. století n. l., a to nejprve na území dnešního Peru, v západní části Jižní Ameriky. Jednalo se zde o hlavní zdroj obživy obyvatel. Do Evropy se brambory dostávají s mořeplavci koncem 16. století, a jejich pěstování se velmi rozšiřuje po zjištění, že uживí obyvatelstvo více než obiloviny. K největšímu rozmachu pěstování dochází v první polovině 19. století. V této době se navíc začíná zvyšovat poptávka po „průmyslových“ bramborách – výroba škrobu a lihu (Hrabě a kol., 2005). Je známým faktem, že zpočátku Evropané neuměli brambory potravinářsky využít (převládala obava, že se jedná o jedovatou rostlinu), a proto plnily pouze funkci ozdobnou (Čabajová, 2009).

V současné době jsou brambory pro své mnohostranné využití velmi významnou hospodářskou plodinou, mající vysoký výnosový potenciál. Slouží především jako potravina (trojná funkce brambor – objemová, sytící, ochranná), krmivo pro zvířata i jako průmyslový „zdroj“ (Hrabě a kol., 2005). Jsou pěstovány ve většině zemí mírného pásma (převážně v podhorských oblastech) a jejich světová produkce se pohybuje kolem 300 milionů tun ročně (Hejtmánková, 2011).

Dle údajů Ministerstva zemědělství se v České republice v roce 2013 brambory pěstovaly na ploše 29 301 ha a sklizeno bylo celkem 646 871 t (z toho 30 463 t brambor raných, 555 778 t ostatních a 60 630 t brambor sadbových), průměrný výnos se pohyboval kolem 22,08 t/ha (v severní Americe nebo západní Evropě se uvádí výnos až 40 t/ha). Celkově lze říci, že se jedná o nižší produkci oproti předchozím rokům, i když hektarový výnos byl průměrný, z důvodu snížení produkční plochy, která je nejnižší za posledních 9 let; kol. autorů, 2014; Litaladio, Castaldi, 2009).

Současná spotřeba brambor v ČR ke konzumním účelům činí asi 69 kg/osobu/rok. Trend spotřeby je klesající (data z roku 2012, pokles o 1,4 kg/os/rok oproti 2011), (Hrbek, Kobes; 2013). Příčiny poklesu spotřeby je třeba hledat v současném životním stylu lidí (jsou to např. zdlouhavá příprava, skladování ve městech–bytech, a v neposlední řadě rostoucí konzumace polotovarů). Oproti tomu lze pozorovat značný

nárůst prodeje výrobků z brambor (předvařené brambory, hranolky, krokety, chipsy apod.; Hrabě a kol., 2005).

3.1.2 Botanická a morfologická charakteristika

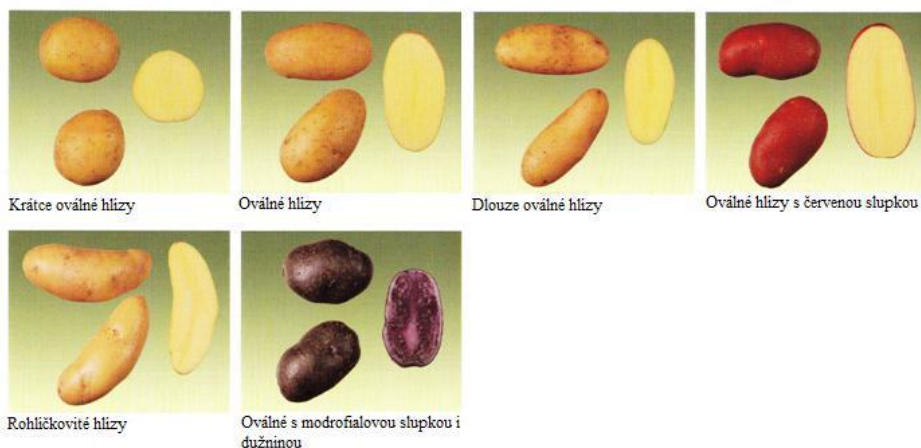
Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.) je jednoletá hlíznatá plodina (okopanina), řadí se do čeledi lilkovitých (Solanaceae). Dorůstá výšky 60–100 cm, její listy jsou lichozpeřené, mírně ochlupené a mají 3–5 párů vejčitých až okrouhlých lístků. Květy mohou mít různé barvy, např. růžové a fialové, ale nejčastěji jsou bílé se sytě žlutými až oranžovými prašníky. Plody jsou zelené až žlutozelené bobule mající velikost 2–4 cm. Nutno připomenout, že plody jsou využívány především ve šlechtitelské oblasti (výchozí materiál pro nové odrůdy), nikoliv k potravě.

Podzemní část je tvořena svazčitými kořeny s hlízami různých, nejčastěji kulatých až elipsoidních tvarů.

Morfologické znaky brambor, jako tvar trsu (listový – velké četné listy, stonek listy zakryt nebo stonkový – stonek viditelný, listy drobné), výška stonku (nízký, středně vysoký, vysoký a velmi vysoký), tvar stonku (hrnatý, oválný, tříboký), tvar listu, barva květu, doba nasazení bobulí nebo tvar, barva a celkový vzhled hlízy jsou charakteristické pro konkrétní odrůdy a slouží jako rozpoznávací znaky mezi nimi (Hodonská, 2008; Slaměniková, 2010).

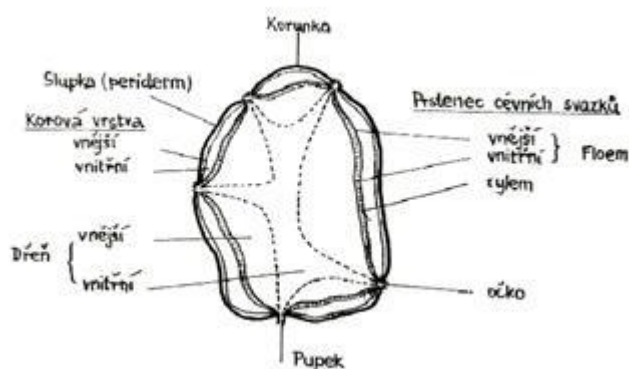
3.1.2.1 Anatomická stavba bramborové hlízy

Bramborová hlíza je zkrácený, zdužnatělý konec stolonu (metamorfovaný stonek bez obsahu chlorofylu), ve kterém rostlina shromažďuje zásobní látky. Na hlíze lze rozeznat tzv. pupkovou část, která je připojena ke stolonu a k ní protilehlou část korunkovou. Hodnotí se tvar hlízy (podle poměru délky k šířce), plnost hlíz (poměr šířky k výšce, tj. tloušťce), vyrovnanost v tvaru, barva a vzhled slupky, barva dužniny, hloubka oček a barva klíčků. Jako další důležitý odrůdový znak je bráno rozložení hlíz pod trsem (rozptýlené až kompaktní) a nasazení hlíz pod trsem (Valová, 2007; Hodonská, 2008).



Obr. 1: Tvary hlíz (upraveno dle Čepl a kol., 2009)

Bramborovou hlízu lze anatomicky rozdělit do několika zón (viz obr. 2).



Obr. 2: Řez bramborovou hlízou (Valová, 2007)

Vnější obal hlízy tvoří slupka (tzv. periderm), který je tvořen zkorovatělými buňkami (hnědé zabarvení slupky). Je asi 1/6–1/8 mm tlustá. Její funkce je ochrana hlízy před ztrátou vlhkosti a infekcí plísní.

Pod obalem hlízy následuje tzv. korová vrstva, která má dvě zóny. První zóna, ležící hned pod peridermem, je asi 2 mm silná a je tvořena malými buňkami chudými na škrob, ale bohatými na bílkoviny. Druhá, navazující zóna, která sahá až k cévním svazkům, je tvořena parenchymálními buňkami bohatými na škrob.

Po korové vrstvě následuje vrstva cévních svazků (na řezu hlízy je patrná jako prstenec). Je tvořena vnějším lýkem (vnější floem), jímž jsou vedeny organické látky, vnitřním lýkem (vnitřní floem) a tzv. xylemem, který zajišťuje vodní transport látek.

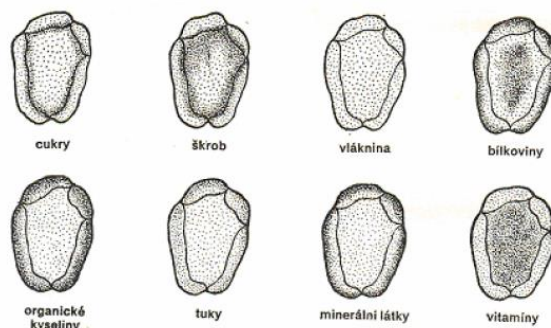
Na cévní svazky dále navazuje vnější dřev s velkými vodnatými buňkami a na ni vnitřní dřev, která se jeví jako tmavé jádro hlízy. Dřev je tvořena 0,1–0,2 mm velkými parenchymálními buňkami. Buněčná stěna je na vnitřní straně tvořena celulosou, mezicelulózovými vlákny a na vnější pak pektiny, hemicelulosami a proteiny (Pelikán, 2002; Valová, 2007).

3.1.2.2 Chemické složení bramborové hlízy

Chemické složení bramborových hlíz je značně diferencované. Důvodem je, že obsah jednotlivých složek není stálý, ale mění se s řadou faktorů, jako jsou například odrůda, půdně-klimatické poměry, hnojení, pěstební technologie, stupeň zralosti při sklizni nebo podmínky skladování. Obecně lze říci, že hlíza z biochemického hlediska obsahuje mnoho sloučenin nebo komplexů sloučenin, které se neustále mění (Hrabě a kol., 2005).

Hlíza obsahuje tyto základní složky – vodu, škrob, cukry, N-látky, vlákninu, tuk a minerální látky. Kromě nich obsahuje i jiné důležité složky, které ovlivňují chuť; nutriční a biologickou hodnotu hlíz brambor. Mezi ně se řadí například vitamíny, polyfenoly, alkaloidy, organické kyseliny a další. Všechny již výše zmíněné složky nejsou v hlíze vždy stejnoměrně uloženy. Tuky, minerální látky, organické kyseliny nebo alkaloidy jsou převážně v korové vrstvě, vlákninu lze nalézt ve slupce, sacharidy v oblasti cévních svazků, N-látky pod slupkou a škrob po obou stranách cévních svazků, tzv. kambiálního kruhu (Hrabě a kol., 2005; Hodonská, 2008).

Zastoupení jednotlivých látek v hlíze lze vidět na obr. 3.



Obr. 3: Zastoupení jednotlivých živin v bramborové hlíze (Valová, 2007)

◆ Voda

Voda v hlíze zaujímá největší podíl, a to přibližně 76 hm. % v čerstvé hmotě (č. h.). V rostlině má funkci hlavně metabolickou (biosyntéza organických sloučenin, doprava asimilátů a metabolitů, regulace teploty; Hrabě a kol., 2005). Právě kvůli vysokému obsahu vody jsou brambory oproti například obilovinám více citlivé na podmínky skladování a mohou se rychleji kazit (Čabajová, 2009).

◆ Sušina

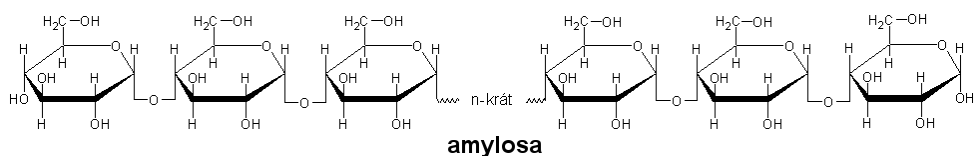
Sušina významně ovlivňuje kvalitu produktu a rentabilitu zpracování hlízy jako takové. Sušina hlízy se v průměru pohybuje okolo 24 % (13–37 %) č. h., přičemž je tvořena ze 70 % škrobem, 9,5 % N-látkami, 3 % sacharidy, 2,5 % organickými kyselinami, 2,5 % minerálními látkami, 1 % tuku a asi 0,5 % vitamínů. Sušina není stálou veličinou, o jejím obsahu rozhoduje mnoho faktorů. Například již během pěstování se obsah sušiny v hlízách zvyšuje, největší intenzita tvorby sušiny je v období mezi plným květem a odkvětem rostliny, poté se intenzita snižuje (Hrabě a kol., 2005; Litaladio, Castaldi 2009). Obecně platí, že kultivary dozrávající dříve mají nižší obsah sušiny než ty, které dozrávají později (Hejtmánková, 2011).

◆ Sacharidy

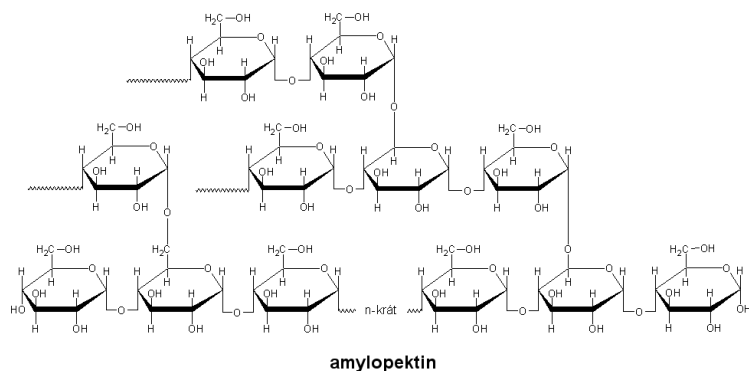
a) Škrob

Škrob lze označit jako nejvýznamnější složku hlízy. Jde o zásobní polysacharid (pohotová zásoba glukózy). Průměrný obsah škrobu v bramborách je kolem 17 % (přesněji se jedná o rozmezí asi 13–24 % podle odrůdy, agrotechniky nebo klimatických podmínek). U průmyslových brambor je obsah vyšší než 18 %. Škrobová zrna lze nalézt převážně v parenchymu po obou stranách kambiálního prstence, mají elipsovité tvar a mohou se pohybovat velikostně asi od 15 do 100 μm . Nejvíce škrobu mají středně velké hlízy. Obsah škrobu a velikost škrobových zrn je velmi důležitý faktor pro průmyslové zpracování – například vyšší obsah škrobu je vhodnější pro smažené výrobky (Hrabě a kol., 2005; Čepl a kol., 2012).

Bramborový škrob se skládá ze dvou polysacharidů, a to amylopektinu (80 %) a amylozy (20 %), které jsou tvořeny několika tisíci až desetitisíci molekulami glukózy. Obě složky se liší velikostí a uspořádáním D-glukózových řetězců. Z tohoto také vyplývají jejich rozdílné fyzikálně-chemické vlastnosti (Čabajová, 2009).



Obr. 4: Amylóza (lineární α -D-(1 \rightarrow 4)-glukan, stupeň polymerace je 1000–4500 glukózových jednotek; Machačný, 2007)



Obr. 5: Amylopektin (řetězce D-glukózových jednotek vázaných α -(1 \rightarrow 4) vazbou, na ně se po cca 25 jednotkách větví vazbou α -(1 \rightarrow 6) postranní řetězce. Stupeň polymerace je 50 000 až 1 000 000 glukózových jednotek; Machačný, 2007)

b) Ostatní polysacharidy

Kromě škrobu lze v bramborových hlízách nalézt i další polysacharidy, jako například celulózu, hemicelulózu, pektiny, hexózy a pentózy. Jsou označovány jako vláknina a vytvářejí buněčné stěny i mezibuněčné součásti (stavební polysacharidy). Ve 100 g brambor je cca 2,2 g vlákniny (Čabajová, 2009).

c) Cukry

Obsah cukrů v hlíze brambor je poměrně nízký (asi 0,5 % č. h.), ale z technologického hlediska velmi významný. Nejvíce se vyskytují sacharóza, glukóza a fruktóza. Poslední dva se nejčastěji označují jako **redukující cukry**, jejich obsah je v bramborách často kontrolován. Obsah sacharózy se pohybuje od 0,09–0,25 % v sušině, glukózy 0,02–0,2 % a fruktózy 0,11–0,4 %. Množství cukrů, stejně jako škrobu, ovlivňují faktory, jako jsou vegetační podmínky, stáří hlíz, odrůda ale také skladovací teplota (Slaměnková, 2010). Při teplotě kolem 10–20 °C je obsah cukrů nízký (viz výše), klesne-li teplota pod 10 °C, dochází ke zvýšení obsahu redukujících cukrů, ale i sacharózy.

Redukující cukry mají důležitý význam u výroby produktů z brambor. Vyšší množství nepříznivě ovlivňuje barvu, chuť i skladovatelnost výrobků. Důvodem tohoto jevu je tzv. *Maillardova reakce*, ke které dochází za tepla, kdy redukující cukry reagují s aminokyselinami za vzniku hnědých meziproduktů (Hodonská, 2008; Čepl a kol., 2012). Příkladem mohou být např. smažené lupínky, kdy hnědý v tomto případě neznamena spálený. U brambor, které jsou upraveny ke konzumu, se cukry podílí na zjemnění chuti a na jejich vůni (Čabajová, 2009).

◆ Dusíkaté látky (N-látky)

N-látky jsou jedny z nejdůležitějších komplexů sloučenin brambor, jejich obsah je asi 2,0 % č. h. Nejvýznamnější složkou komplexu je čistá bílkovina. Její obsah se pohybuje mezi 0,5–1,2 % z celkového dusíku. Nebílkovinný dusík tvoří volné aminokyseliny (3,4 %), amidy, bazické dusíkaté sloučeniny, glykoderiváty cholinu a purinové deriváty adeninu (Vokál a kol., 2004). Skladováním se obsah N-látek výrazněji nemění, ovšem vysoké dávky dusíku při hnojení mohou způsobit zvýšení obsahu dusičnanů (Hodonská, 2008). Podíl bílkovin na obsahu N-látek se může pohybovat ve velkém rozmezí (34–70 %), tato hodnota kolísá hlavně vlivem podmínek prostředí nebo odrůdy (Čabajová, 2009).

◆ Bílkoviny

Bramborová bílkovina je tvořena hlavně globuliny (tuberin), lze zde ale nalézt také albuminy (tuberinin), protaminy a gluteiny (oba méně). Proto je po biologické stránce velmi hodnotná (Hodonská, 2008). Příznivá je i skladba aminokyselin a hodnoty indexu esenciálních aminokyselin, které se pohybují kolem 83 % vaječného standardu, ceněné je vysoké zastoupení lyzinu (Čepl a kol., 2012).

◆ Lipidy

Obsah tuku v hlízách brambor je velice nízký – asi 0,1 % č. h. a jeho největší množství se nachází v peridermu hlízy. Převládají nenasycené mastné kyseliny – linolová (50 %), linolenová (20 %), palmitová (20 %) a stearová (5 %). Celkově jsou lipidy stabilní, uvádí se ale, že pozdní brambory mají nižší podíl tuku než rané (Čepl a kol., 2009).

◆ Minerální látky

Minerální látky se ve hlíze nachází hlavně ve slupce a pod ní. Biologický význam těchto látek spočívá hlavně v tom, že se jedná převážně o látky zásaditého charakteru (K, Na, Ca, Mg), které jsou zastoupeny v poměru 70 : 30 proti látkám kyselým (P, S, Cl, Si). Tímto přispívají k vyrovnaní acidobazické rovnováhy v lidském organismu (Hrabě a kol., 2005).

Obecně nejvýznamnějším prvkem je draslík, kromě jeho důležité role při vytváření chuti, vytváří z brambor zásaditou potravinu a vyvažuje kyselé složky stravy, jako je maso nebo tuky. Draslík představuje polovinu všech minerálních látek v hlíze. Průměrný obsah min. látek je 1,1 % č. h. (Čabajová, 2009; Čepl a kol., 2012).

◆ Vitaminy

Nejdůležitějším vitaminem obsaženým v bramborách je vitamin C (kyselina askorbová), který se nachází převážně v oblasti cévních svazků a v korunkové části hlízy. Jeho obsah je asi 10 až 30 mg ve 100 g č. h. a klesá při dozrávání, stejně jako při skladování nebo kulinářské úpravě (uvádí se ztráty při vaření 5–30 %). Vitamin C je významným antioxidantem, navíc v bramborách se mu věnuje velká pozornost, a to z důvodu velkého podílu na lidské výživě. Dokonce i ve vařených bramborách zůstává v průměru asi 130 mg/kg. Z toho vyplývá, že při šetrné úpravě je konzumace asi 300 g brambor schopna pokrýt až 50 % doporučené denní dávky vitaminu C.

Dalšími významnými zástupci vitaminů obsažených v hlízách brambor jsou: kyselina nikotinová, thiamin (vitamin B1), riboflavin (vit. B2), niacin (vit. B3) a dále pak provitamin A (β -karoten), pyridoxin (vit. B6) nebo kyselina pantotenová. Skladování a zpracování brambor se na změně obsahu těchto vitaminů podílí výrazně méně než na zmíněném vitaminu C (Slaměnková, 2010; Čabajová, 2009).

◆ Glykoalkaloidy (GA)

Glykoalkaloidy, jinak také označovány jako steroidní alkaloidy, byly dříve nazývány pojmem solanin. Jedná se o přirozené toxiny, které se nachází ve všech částech rostliny. Nejvyšší hladiny byly naměřeny ve květech, nezralých bobulích, mladých listech a klíčcích, zatímco v hlízách jich bylo zjištěno velmi málo. Nejvíce jich obsahuje korová vrstva a slupka. Obecně platí, že obsah glykoalkaloidů je ovlivňován stupněm zralosti (nezralé hlízy mají vyšší obsahy), vegetačními podmínkami (suché prostředí = vyšší obsah), mechanickým poškozením (také zvýšení) nebo genetickými

predispozicemi. U většiny kulturních brambor je rozmezí naměřených hodnot glykoalkaloidů mezi 12–150 mg/kg č. h., přičemž hygienický limit činí 200 mg/kg. Tepelnou úpravou dochází k vyloučení asi 30–50 % GA (Hrabě a kol., 2005). Důležité je ale zmínit, že GA jsou velmi stabilní. Odolávají jak mražení, tak sušení, nerozkládají se ani v páře, pečením ani mikrovlnných ohřevem. K tepelné degradaci dochází až při teplotách kolem 230–280 °C. Jsou ale rozpustné ve vodě, což je výhodné jak při technologickém zpracování, tak při běžném vaření (Zrůst a kol., 2003).

Hlavní alkaloidy jsou solanin a chakonin, společně představují asi 95 % celkových GA v hlíze brambor (Hrabě a kol., 2005).

◆ Karotenoidy a jiné pigmenty

Karotenoidy jsou nositelem žlutého zbarvení dužniny hlízy, zelené zbarvení je dáno tvorbou chlorofylu (tzn. přeměnou leukoplastů na chloroplasty a to pod slupkou do hloubky 3 mm; Čepl a kol., 2012).

Hlavními karotenoidy obsaženými v hlízách brambor jsou lutein, zeaxantin, violaxantin, α -karoten a β -karoten. U některých odrůd je dnes běžné zbarvení slupky nebo i dužniny červeně nebo modře, to je způsobeno skupinou látek zvaných antokyany (ze skupiny flavonoidních barviv). Takto barevné odrůdy jsou pro spotřebitele v České republice relativní novinkou, důležitým faktem ale je, že tento typ brambor vykazuje vysokou antioxidační aktivitu obdobně jako jiné druhy zbarvené zeleniny (př. červená řepa, mrkev, rajčata, apod.; Slaměnková, 2010; Ezekiel, 2013). Hladina antioxidantů je pak u těchto brambor 2x až 3x vyšší. Obsah karotenoidů je obdobně jako jiných složek ovlivněn ročníkem a odrůdou (Lachman a kol., 2005). Ezekiel a kol. (2013) navíc uvádí, že fialové nebo červené odrůdy brambor mají dvakrát vyšší koncentraci flavonoidů než žluté nebo bílé odrůdy a jejich koncentrace je mnohem vyšší ve slupce.

Pozn. V České republice je od roku 2005 registrována fialová odrůda Valfi, vyšlechtěná ve VÚB Havlíčkův Brod. Jedná se o speciální poloranou až polopozdní odrůdu s modrofialovou slupkou i dužninou (Čepl a kol., 2012; Hejtmánková, 2011).



Obr. 6: Fialová odrůda brambor – Valfi (Čepl a kol., 2012)

◆ Organické kyseliny

Uvádí se, že průměrný obsah organických kyselin je asi do 1 % hmotnosti hlízy. Patří sem například kyselina citronová, isocitronová, jablečná, vinná, šťavelová, pyrohroznová apod. Všechny tyto kyseliny mají vliv na aciditu buněčné šťávy (pH se pohybuje mezi 5,6–6,5) a jeho pufovací funkci. Zajímavé jsou změny obsahů kyselin citronové a jablečné (až 1 % v čerstvé hmotě), zatímco obsah jedné narůstá, druhé se snižuje, z toho vyplývá možná přeměna jedné za druhou (Hrabě a kol., 2005).

◆ Látky vykazující antioxidační aktivitu

Brambory obsahují nespočet látek s antioxidační aktivitou, mezi něž patří např. polyfenoly, vitamin C, lipofilní karotenoidy, α -tokoferol nebo také selen a jiné. Tyto látky dělají z brambor, pro jejich zastoupení v lidské výživě, bohatý zdroj antioxidantů.

Ve střední Evropě jsou upřednostňovány hlavně odrůdy se žlutou barvou dužniny, zatímco v jiných zemích je zájem i o barevné kultivary. Tyto odrůdy (červené, modré zabarvení), jak již bylo zmíněno, mají vyšší antioxidační schopnosti, které jsou způsobeny obsahem antokyanových barviv (Čabajová, 2009).

3.1.3 Tržní odrůdy brambor a požadavky na jejich jakost

Rozdělení konzumních brambor uvádí komoditní vyhláška MZe ČR č. 291/2010 Sb., (definice jednotlivých druhů – rané, pozdní, žlutomasé apod.), upravuje také požadavky na jakost těchto konzumních brambor, tzn. musí odpovídat deklarované odrůdě, být zdravé, nepoškozené, čisté, pevné, nedeformované, suché, bez hniloby či hnědých skvrn vzniklých teplem, dále bez zeleného zabarvení, dutosti

a rzivosti hlíz, bez strupovitosti. Nesmí být namrzlé, mít klíčky delší 3 mm nebo barevné skvrny pod slupkou do hloubky 5 mm.

Navíc je zde uveden přípustný počet a velikost vad u konzumních brambor (př. velikost prasklin, deformace, zavadlé hlízy, nárůstky, požerky, otoky, naklíčenost, plíseň, mechanické příměsi, jiná odrůda, karanténní choroby apod.)

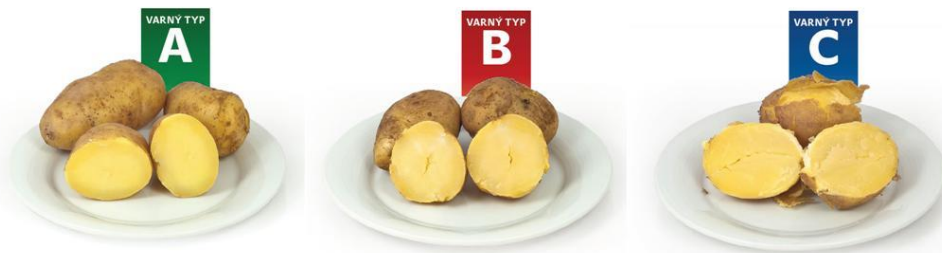
Oproti tomu je v praxi častěji používáno jiné rozdělení, a to dle spotřebitelského užití. Brambory se dělí na:

- 1) Brambory nové – obchoduje se s nimi od 1. 1.–15. 5. roku sklizně. Mají pevnou, neloupající se slupku. Pěstují se v Egyptě, Maroku, Itálii, Španělsku a Řecku. Jedná se o typické rané brambory převážně pro zpestření nabídky trhu. Spotřeba těchto brambor je asi 0,2–0,8 kg/os/rok.
- 2) Brambory rané (konzumní rané) – sklizeny v rozmezí 16. 5.–30. 6. před ukončením vegetace. Mají ještě nedozrálou, loupající se slupku. Produkce v ČR je asi 50 000 t a po zohlednění zahraničního obchodu se jejich průměrná spotřeba pohybuje mezi 6–7 kg/os/rok. Nakupují se pro přímou spotřebu.
- 3) Brambory konzumní ostatní (konzumní pozdní) – sklizeny od 1. 7. Jsou určeny pro letní, podzimní i zimní konzum (resp. pro dlouhodobé skladování až do jara). Využívají se také pro zpracování na výrobky a polotovary. Průměrná roční spotřeba činí asi 63–65 kg/osobu (kolísá v závislosti na ceně; Čepel a kol., 2012). Tyto brambory se dále dělí podle varných typů (viz tabulka 1).

Tabulka 1: Rozdělení brambor dle varných typů (včetně nekonzumního D) (Vokál a kol., 2004)

Varný typ	Konzistence	Užití
A	Pevná, nerozvařivá, lojovitá, příjemně vlhká, jemná struktura	Do salátů, jako příloha
B	Polopevná, polomoučná, nerozvařivá nebo slabě rozvařivá, vlhká až sušší	Pro přípravu jídel všeho druhu, jako příloha
C	Měkká, moučná, středně rozvařivá, středně vlhká až suchá	Hlavně příprava těst a kaší
D	Hrubá, silně moučná, silně rozvařivá	Nevhodný ke konzumu

Pozn. Kromě jednoduchého rozdělení A, B, C se pro přesnější definici jednotlivých odrůd využívají i mezistupně, a to AB, BA, BC, CB (Čepel a kol., 2012).



Obr. 7: Varné typy konzumních brambor (Čepl a kol., 2012)

Obecně tedy platí, že brambory lze rozdělit podle způsobu jejich využití do dvou základních skupin, a to:

- a) Brambory pro přímý konzum (převážně varné typy A a B),
- b) brambory pro zpracování na potravinářské výrobky (kdy jsou technologické hodnoty vázány na chemické složení a současně na fyzikálně chemické vlastnosti jednotlivých složek hlízy – typ C; Hodonská, 2008).

Na výslednou úroveň stolní hodnoty, resp. jednotlivých složek tohoto komplexního kvalitativního znaku, působí mnoho faktorů. Nejvýznamnějším z nich je odrůda (asi 76 %). Výsledkem hodnocení (viz kap. 3.1.5) je zařazení odrůdy do správného varného typu, který určuje vhodnost pro přípravu jednotlivých pokrmů (Čepl a kol., 2012). Z výzkumů vyplývá, že vyšší stolní hodnoty mají často hlízy varného typu A a vyšší obsah škrobu a sušiny silně negativně ovlivňuje stolní jakost hlíz (Domkářová a kol., 2003).

3.1.4 Historie šlechtění brambor v ČR

Novodobá historie brambor a jejich šlechtění je známo jen asi 20 let. Během této doby začaly velké změny – měnila se odrůdová skladba, způsob pěstování i prodeje. Dříve bylo běžné, že se brambory kupovaly po pytlích a to hlavně na podzim na uskladnění, byly netříděné a nečištěné s příměsí hlíny. Odrůda zde velkou roli nehrála. V 90. letech minulého století se začínají brambory prodávat prané, kartáčované a balené v sáčcích nebo sítkách. Zatímco dříve bylo asi 40 odrůd pro všechny směry využití, od 90. let (hlavně díky německým a holandským firmám) se jejich počet blížil 150 (Čepl a kol., 2012). V současné době jich je dle Společného katalogu odrůd desetkrát

více. Předpokládá se, že nabízený sortiment se bude nadále rozšiřovat, i když pravděpodobně volnějším tempem, než tomu bylo v 90. letech (Houba, 2004).

3.1.5 Odrůdy pěstované v České republice a jejich testování

V České republice je možné pěstovat jak odrůdy registrované u nás (Státní odrůdová kniha ÚKZÚZ: 2014–141 odrůd), tak odrůdy registrované v ostatních zemích Evropské unie (Společný katalog odrůd zemědělských rostlin: asi 1500 odrůd). Ve skutečnosti je to ale pouze malá část, která je nabízena na trhu s osivem a sadbou. V ČR převažují odrůdy varného typu B, důvodem je malé množství odrůd typu A a nezáměr o odrůdy typu C. V současné době je asi pět nejrozšířenějších konzumních odrůd brambor (tabulka 2; Čepl a kol., 2012).

Tabulka 2: Nejrozšířenější konzumní brambory v ČR v roce 2012 (Čepl a kol., 2012)

Odrůda	Ranost	Varný typ	Země původu
Adéla	Raná	B	CZ
Marabel	Raná	BA-B	D
Impala	Velmi raná	B	NL
Dali	Raná	BA	D
Princess	Raná	BA	D

Sortiment prodávaných odrůd se samozřejmě mění s poptávkou zákazníka, stále ale existuje skupina osvědčených (stabilních) odrůd, u kterých jsou změny relativně malé (Čepl a kol., 2012). Ze seznamu doporučených odrůd pro rok 2014 vyplývá, že ve Státní odrůdové knize je aktuálně zapsáno 34 odrůd velmi raných (VR), 41 odrůd raných (R), 43 poloraných (PR) a 23 odrůd polopozdních (PP) až pozdních (P). V roce 2014 byly nově registrovány 4 odrůdy (Čermák, 2014) a to Bropanna (VR, B), Mariannka (VR, B), Granada (PR, B), ZUZA HR 5/37 (PR, B).

Brambory se hodnotí podle metodik seznamu doporučených odrůd (SDO), jsou kontrolovány vlastnosti jednotlivých odrůd, jako například výnos hlíz, škrobnatost (pro rozdělení na zpracování na hranolky, lupínky, suché výrobky a škrob), odolnost proti chorobám a škůdcům (hádátka bramborové, rakovina bramboru, virové choroby, plíseň bramboru na nati, skládková hniloba, šednutí dužniny), vegetační doba,

dynamika nárůstu hlíz, počet hlíz, klíčení na skládce, velikost a tvar hlíz, barva dužniny, kvalita tvaru, hladkost slupky, barva hranolků a lupínek, glykoalkaloidy apod. Dále probíhá kontrola znaků stolní hodnoty vařených hlíz a to: konzistence, struktura, moučnatost, vlhkost, nedostatky v chuti, tmavnutí vařených hlíz, stabilita kvality, varný typ – viz výše (Čermák, 2014).

V ÚKZÚZu se brambory zkouší podle tzv. Metodiky zkoušek užitné hodnoty. Jedná se o předpis zahrnující řadu zkoušení a pozorování jak na poli, tak v laboratorních podmínkách. V jednotlivých fázích vývoje rostliny se kontrolují požadované parametry. Po agrotechnických přípravách na poli se provádí pozorování rostlin za vegetace. Zde se hodnotí například narašení a naklíčení hlíz, datum vzejití a rychlost počátečního růstu a po vzejití následně počet vzešlých a zakrslých trsů (na parcele). Nakonec potom zralost a ukončení vegetace.

Jednou z nejdůležitějších kontrol je kontrola na přítomnost chorob a škůdců. Pro každou chorobu a škůdce je dána růstová fáze, při které je plodina hodnocena. V protokolech jsou původci poškození řazeni podle důležitosti: jako první virózy, za nimi bakteriózy, mykózy a škůdci. Pro jednoznačné určení virů se používají speciální biochemické testy.

Další kontroly probíhají v období sklizně. Eviduje se termín sklizně, hmotnost sklizně, výnos tržních hlíz (t/ha) a výnos hlíz (t/ha). Provádí se fyzikální (mechanické) rozbory a subjektivní hodnocení, např. velikostní podíl hlíz, obsah škrobu (%) a skladovatelnost. Následuje detailní popsání hlíz (velikost, vyrovnanost velikosti a tvarem, hloubka oček, postavení pupku, kvalita tvaru, barva dužniny, pevnost, barva a hladkost slupky, tvar hlíz – téměř vše stupnicí 1–9). Po tomto popisu se provádí zkoušky odolnosti hlíz proti mechanickému poškození, jejich skladovatelnosti nebo zkoušky vhodnosti hlíz k mytí.

Nakonec se pokračuje již výše zmíněnými zkouškami stolní hodnoty (1–9) a chemickou analýzou (viz níže).

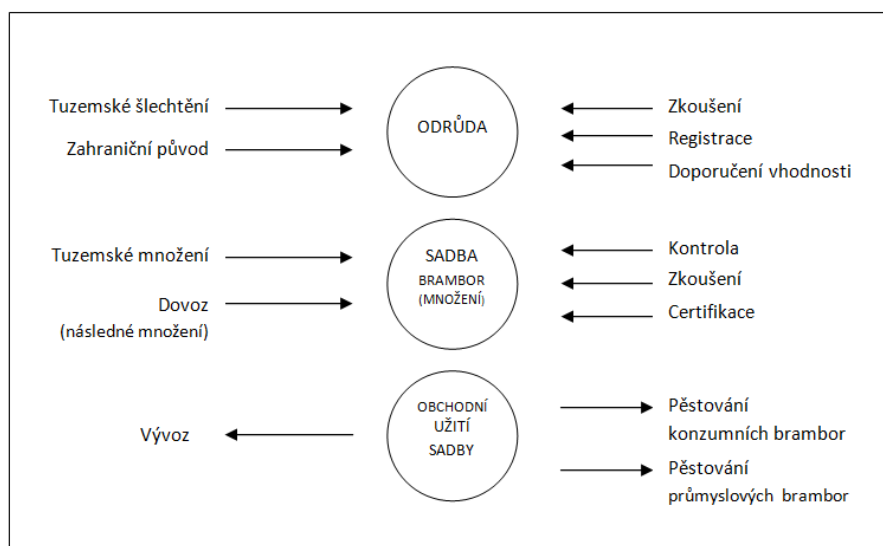
Celkově se jedná o velmi obsáhlé hodnocení zahrnující mnoho parametrů a vlastností, jehož výsledkem je protokol o dané odrůdě (Čermák, 2013).

Po tomto zkoušení, které je víceleté, je odrůdě na základě zmíněných kritérií přidělena kategorie doporučení (SDO) a je zařazena do Státní odrůdové knihy. Zde jsou u každé odrůdy informace o jejím udržovateli, zástupci v ČR, ochraně práv, stejně jako

datum registrace a užitkový směr (konzum, smaž, hra, atd.) Mimo to je zde také uveden stupeň rezistence na rakovinu brambor a háďátko, a to bodovým hodnocením 1–9. Zároveň je odrůda zavedena do Společného katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin platného pro celou EU (Čermák, 2014).

Společný katalog odrůd je sestavován v souladu se zásadami směrnice Rady 2002/53/ES. Jeho základem jsou národní katalogy odrůd všech členských států a je vydáván v Úředním věstníku Evropské unie.

Sadba je uváděna do oběhu na základě zákona č. 219/2003 Sb. (stanovuje, že sadba brambor, a to jak porost, tak i rozmnožovací materiál, musí projít uznávacím řízením). Na ni navazuje vyhláška č. 129/2012 Sb., která stanovuje podrobnosti o uvádění sadby pěstovaných rostlin do oběhu a konkrétní hodnoty, které musí množitelský porost i sadba pro uznání a uvádění do oběhu splňovat. Dále platí vyhláška č. 61/2011 Sb., která stanovuje požadavky na odběr vzorků, postupy a metody zkoušení sadby. Na Evropské úrovni se uvádění sadby brambor na trh věnuje směrnice Rady 2002/56/ ES.



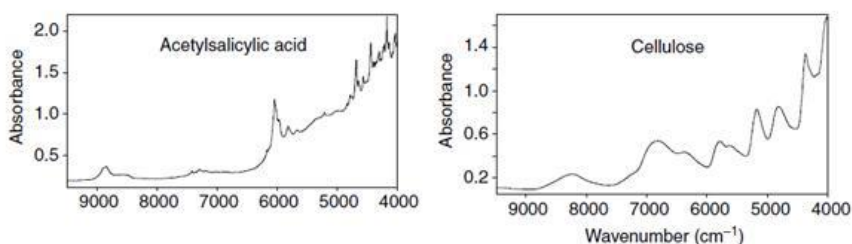
Obr. 8: Schéma šlechtění, kontroly a využití brambor (Houba, 2004)

3.2 NIR spektroskopie (Near-infrared Spectroscopy) – rychlý nástroj pro stanovení kvality hlíz brambor

3.2.1 Historie spektroskopie

Objevení infračerveného záření (infrared – IR) se datuje do roku 1800, kdy sir William Herschel (britský astronom a skladatel) objevil infračervenou oblast elektromagnetického spektra. Infračervená spektroskopie však byla ještě dlouhou dobu nevyužita, a to hlavně z důvodu nedostatku vhodných detekčních zařízení.

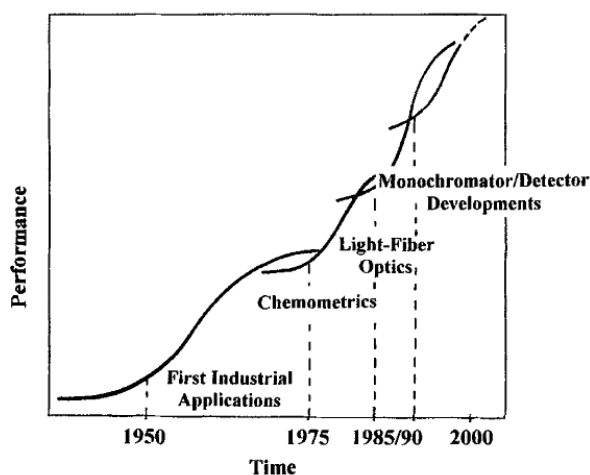
Už na počátku 20. století bylo zjištěno, že neexistují dvě látky, které by měly stejné spektrum, a to i v případě stejného počtu atomů. Jinými slovy, každá sloučenina má svůj jedinečný „otisk prstu“ – tzv. „fingerprint“. I přesto ale bylo potvrzeno, že například látky mající ve své struktuře OH skupinu, vykazují podobná spektra při určité vlnové délce. Díky tomu bylo charakterizováno mnoho chemických skupin. Vznikl tak nový nástroj pro vědecké pracovníky v chemii – spektroskopie, díky níž mohli získat informace o strukturách sloučenin (Gremlich, Yan, 2001; Burns, Ciurczak, 2008).



Obr. 9: „Fingerprint“ (spektra kyseliny acetylsalicylové (farmacie), celulóza (zemědělství); Burns, Ciurczak, 2008)

Po druhé světové válce, kdy se IR spektrometry staly běžně dostupnými, byly tyto přístroje používány k vytváření ohromných knihoven infračervených spekter – primárně organických sloučenin (Gremlich, Yan, 2001). Ve druhé polovině 20. století vědečtí pracovníci v zemědělství poznali obrovský potenciál této metody (Siesler a kol., 2006). Poté se k nim postupně přidávají odborníci z potravinářského a chemického průmyslu. Při analýze potravin se ukazuje jeho všestranné využití, protože potraviny jsou z více než 99 % složeny z bílkovin, tuků a vody a přesně tyto složky, resp. jejich funkční skupiny, je možné tímto způsobem dobře stanovit (Kozelková, 2012).

O technologickém pokroku IR spektroskopie, resp. uží NIR spektroskopie, lze ovšem hovořit až s vývojem přístrojového vybavení a jeho průmyslovém využití. Konkrétně právě NIR spektroskopie byla po poměrně dlouhou dobu nabízena pouze jako přídatné zařízení k UV/VIS nebo MIR spektrometrům. Tato situace se dramaticky změnila kolem roku 1980, kdy se přístroje pracující pouze v NIR spektrální oblasti staly široce dostupné (Siesler a kol., 2006).



Obr. 10: Vývoj NIR spektroskopie v závislosti na vývoji technického vybavení (Siesler a kol., 2006)

V dnešní době je uplatnění NIR spektroskopie mnohem širší, a to jak v kvalitativní, tak kvantitativní analytice. Je možné stanovit také některé senzorní nebo fyzikálně-chemické parametry. Uplatňuje se rovněž pro hodnocení kvality a autenticity surovin, meziproductů i potravin (Kozelková, 2012).

Moderní IR/NIR spektroskopie je (kromě technického vybavení) také velmi závislá na nových poznatcích a vývojích na poli výpočetní techniky. Z tohoto důvodu plyne, že tato nová metoda má všechny předpoklady se i nadále rozvíjet (Burns, Ciurczak, 2008; Míka, 2008).

Pozn. V roce 1993 byl založen časopis *Journal of Near Infrared Spectroscopy* – první časopis věnující se výhradně této problematice (Kozelková, 2012).

3.2.2 Základní principy infračervené spektroskopie

Infračervená (IR) spektroskopie je spektrální metoda, která je založena na interakci elektromagnetického záření s hmotou vzorku, při které dochází ke změně energetického stavu molekuly. V IR spektroskopii se tohoto procesu účastní celá molekula, a proto se IR spektroskopie řadí mezi jednu z metod molekulové spektroskopie. IR spektrální oblast je vymezena vlnovými délkami (λ) 700 nm až 1 mm (Kania, 2007).

Kromě vlnové délky je možné se také setkat s jednotkou vlnočet ν (cm^{-1}), udávanou vztahem: $\nu = \frac{1}{\lambda}$

IR oblast se dále dělí na tři oblasti – viz tabulka 3 (Kozelková, 2012).

Tabulka 3: Rozdělení IR oblasti (Kozelková, 2012)

Oblast	Vlnová délka λ (nm)	Vlnočet ν (cm^{-1})
Blízká infračervená	730–2 500	14 300–4 000
Střední infračervená	2 500– $5 \cdot 10^4$	4 000–200
Daleká infračervená	$5 \cdot 10^4$ – 10^6	200–10

Od těchto spektrálních oblastí se odvozují tři základní metody infračervené spektroskopie – MIR (mid-infrared / střední oblast), NIR (near-infrared / blízká oblast), FIR (far-infrared / daleká oblast). Signály ve všech těchto metodách mohou být pozorovány jako důsledek molekulárních vibrací (Burns, Ciurczak, 2008).

Princip: Každá molekula při změně elektronového stavu mění i své vibrační a rotační stavy (Kukačková, 2001). Je důležité si uvědomit, že atomy jsou v molekulách spojeny pružnými vazbami, čili jedná se zde o systém atomů, který je schopen určité vibrace (Kania, 2007). Tento vibrační pohyb lze v nejjednodušším případě dvouatomové molekuly popsat modelem tzv. harmonického oscilátoru, ve skutečnosti se ale molekula chová jako oscilátor anharmonický. Na víceatomovou molekulu lze proto nahlížet jako na soubor několika nezávislých anharmonických oscilátorů, z nichž každý kmitá s jinou frekvencí, jsou však na sebe vázány a navzájem se ovlivňují. Amplitudy výchylek atomů jsou pro jednotlivé normální vibrace různé a často lze vibrační pohyb dané molekuly lokalizovat, určit funkční skupinu nebo vazbu. Tato skutečnost umožnila na základě empirických zkušeností sestavit tabulky vlnočtů charakteristických vibrací pro určité skupiny a vazby (Kukačková, 2001; Míka a kol., 2008). Toho využívá

pro identifikaci a určování chemické struktury MIR spektroskopie (Kania, 2007). NIR spektroskopie je používána hlavně ke kvantitativní analýze.

Obecně lze tedy říci, že IR spektra sledují závislost transmitance nebo absorbance na vlnočtu absorbovaného záření, výsledná spektra jsou pásová a tyto pásy odpovídají různým typům vibračních přechodů. Rotační přechody zde mají pouze malý význam. IR spektrum, přesněji MIR A FIR se dělí na dvě oblasti:

- a) Oblast charakteristických (skupinových) vibrací: $4000\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$. Oblast je využívána pro identifikaci funkčních skupin v molekule.
- b) Oblast otisku palce („fingerprint“): $100\text{--}400\text{ cm}^{-1}$. Využití k identifikaci konkrétní organické látky (Kozelková, 2012).

Výhodou IR je možnost měření vzorků ve všech skupenstvích – plynné (plynová kyveta), kapalná (kyvety, tenký film), pevné (technika KBr tablet, tenkého filmu nebo reflektanční technika; Kozelková, 2012).

3.2.3 Blízká infračervená spektroskopie (NIRS)

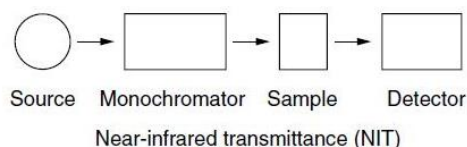
NIR spektroskopie je moderní nedestruktivní analytická metoda, která pro svá měření využívá interakce mezi dopadajícím infračerveným zářením a tenkou vrstvou materiálu vzorku. Fyzikálně je tato metoda založena na absorpci či reflexi elektromagnetického záření (obvykle o vlnové délce $800\text{--}2\ 500\text{ nm}$, tj. $12\ 500\text{--}4\ 000\text{ cm}^{-1}$), ve které materiál v závislosti na složení pohlcuje (transmitance) či odráží (reflektance) specifické vlnové délky (Kozelková, 2012; Míka, 2008).

NIR spektra jsou tvořena převážně absorpčními pásy skupin, které obsahují chemické vazby: C–H (tuky, oleje, sacharidy), O–H (voda, alkoholy) a N–H (bílkoviny; Kozelková, 2012). Metoda je vhodná pro měření sledovaných látek v koncentracích vyšších než 1 g/kg , nelze ji tedy použít pro měření stopových množství, ale spíše ke stanovení majoritních složek ve vzorku. Výhodou této metody je, že umožňuje simultánní měření sledovaných parametrů, a to v pevném, kapalném nebo plynném skupenství. Pro konkrétní měření je ovšem vhodné zvolit správné uspořádání a technické vybavení (Míka, 2008).

3.2.3.1 Technika měření

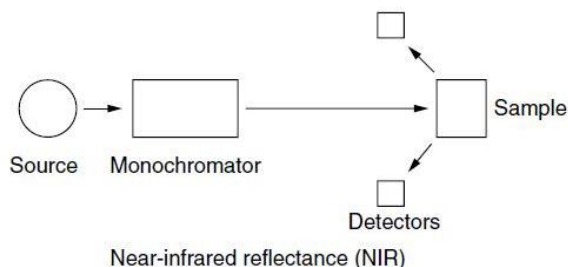
Techniky měření NIR spekter lze rozdělit na několik typů:

- a) Technika měřící absorpci záření po průchodu vzorkem – **transmittance** – použití pro kapalné, resp. kašovitě vzorky.



Obr. 11: Transmittance (Burns, Ciurczak, 2008)

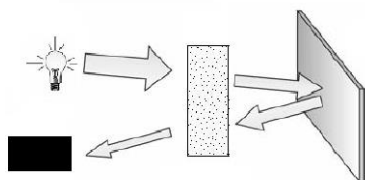
- b) Technika měřící absorpci záření po odrazu paprsku od povrchu vzorku – **difúzní reflektance** – hlavní technika pro měření tuhých a suchých vzorků tvořených malými částicemi; přístroje měřící touto technikou využívají nejčastěji více než jeden detektor k zaznamenání co největší části odraženého záření. U většiny dnešních přístrojů dopadá záření kolmo na povrch vzorku a zaznamenává se záření odražené v úhlu 45°, spektra tudíž obsahují minimální nebo téměř žádnou část odraženého záření.



Obr. 12: Difúzní reflektance (Burns, Ciurczak, 2008)

- c) Technika měřící absorpci záření po odrazu paprsku od povrchu vzorku – **spekulární reflektance** – technika je používána k měření nerovnosti povrchu, vychází z principu, že úhel odrazu se rovná úhlu dopadu a na dokonale hladkém povrchu by proto neměla být vzorkem absorbována žádná energie. Nerovnosti na povrchu vzorku ale způsobují odklon odraženého paprsku záření. Tato odchylka je měřena a lze tak získat informaci o povrchu vzorku. Protože ale téměř nedochází k žádné interakci se vzorkem, metoda není vhodná ke zjišťování informací o složení vzorku.

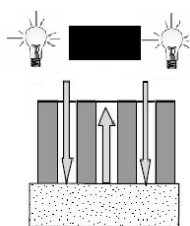
- d) Technika měřící absorpci záření po vícenásobném průchodu – **transreflektanční uspořádání** – záření prochází vzorkem dvakrát a teprve poté dopadá na detektor. Technika může být použita pro měření čirých nebo zakalených kapalin.



Transfektance

Obr. 13: Transreflektance (Kozelková, 2012)

- e) Technika měřící absorpci záření po průchodu vzorkem – **interaktance** – je zaznamenáno pouze záření prošlé vzorkem (spektra neobsahují odražené záření), ideální je použít přístroj schopný vyzařovat energii a zároveň ji snímat přímo z povrchu vzorku. Lze takto měřit podpovrchové charakteristiky vzorků ve větší hloubce, př. ovoce. Této techniky využívá i vláknová optika (sondy) (Kukačková, 2001; Kozelková, 2012).



Interaktance

Obr. 14: Interaktance (Kozelková, 2012)

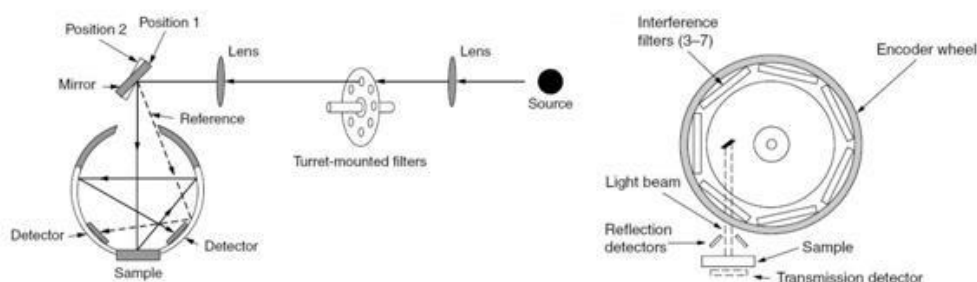
3.2.3.2 Spektrometry

Spektrometry lze dle optického systému rozdělit do čtyř základních skupin. Nejstarším typem jsou filtrové přístroje, dále potom přístroje disperzní a nejnovější přístroje s Fourierovou transformací a AOTS.

➤ Filtrové přístroje

Prvotní přístroje používané k analýze zemědělských produktů pracovaly s pevnými filtry a úzce vymezeným rozsahem vlnových délek. Rozsah měření a vlnových délek tak závisel na těchto filtrech. Například v roce 1968 se za využití 6 filtrů používal NIR spektrometr ke stanovení obsahu bílkovin, vody v zrně obilovin; oleje a vody

v sojových bobech. Později byly komerční přístroje vybaveny filtry umístěnými na vodorovném otočném kotouči. Principem všech bylo měření světla odraženého od povrchu vzorku umístěného v kyvetě (Kukačková, 2001; Míka, 2008).

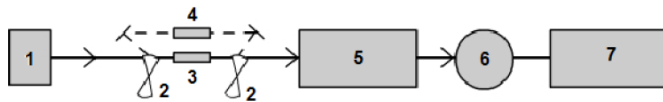


Obr. 15 a 16: Schémata filtrových spektrometrů (Burns, Ciurczak, 2008)

➤ Disperzní spektrometry

Největší rozvoj disperzních přístrojů přichází až v období po druhé světové válce, i když počátky lze nalézt už na konci 19. století.

Záření, které vychází ze zdroje, kterým je rozžhavená tyčinka (např. Nernstova tyčinka) je pomocí zrcadel rozdělena na dva stejné svazky paprsků tzv. měrný a srovnávací. Tyto paprsky jsou po průchodu kyvetovým prostorem prostřednictvím rotujícího půlkruhového zrcadla střídavě přiváděny na vstupní štěrbinu monochromátoru. Takto vymezený svazek záření se pak přivádí na detektor (termočlánek – vyroben nejčastěji ze Sb+Bi nebo Pb+Ag, dnes pyroelektrické př. TGS, DTGS nebo polovodičové př. PbS a MCT – vynikají vysokou citlivostí a rychlou odezvou). Vlnová délka záření dopadajícího na detektor je měněna natočením disperzního prvku. Nastavení šířky štěrbinu vytváří požadované monochromatické záření. Takto se postupně na detektor přivádí celé spektrum vlnových délek a díky rotaci zrcadla je na detektor střídavě přiveden měrný a srovnávací paprsek. Moderní analyzátory pracují s tzv. poměrovým záznamem, tzn. signál každého svazku je vyhodnocován samostatně, většinou v digitalizované formě. Tyto přístroje mají ale vzhledem ke své konstrukci několik nevýhod, a to: malá optická propustnost spektrometru (nízká citlivost u vzorků s vysokou absorpční schopností záření), rušivý vliv rozptýleného světla, vysoký počet pohyblivých částí (mechanická poruchovost), malá rychlost záznamu spektra, absence vnitřní kalibrace přístroje, zahřátí vzorku (Kukačková, 2001; Kozelková, 2012).

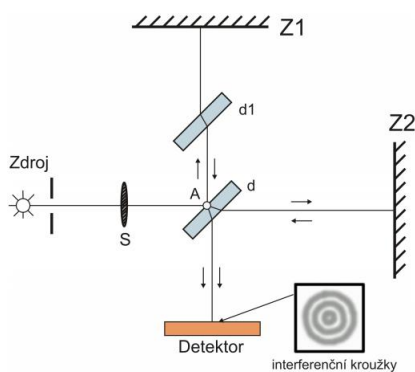


Obr. 17: Schéma jednopaprskového disperzního spektrometru (Klouda, 2003)

(1–zdroj záření, 2–rotující zrcadlové segmenty, 3–kyveta se vzorkem, 4–srovnávací prostředí, 5–monochromátor, 6–detektor, 7–vyhodnocovací zařízení)

➤ FT NIR spektrometry (Fourierova transformace)

V současné době se jedná o nejrozšířenější typ používaných spektrometrů. Tyto přístroje pracují na principu interference záření, kdy se získaný signál tzv. interferogram převede na spektrum matematickou operací tzv. Fourierovou transformací. Velmi významně se tak zvýší citlivost, vlnočtová přesnost, rychlost a možnosti rozlišení. Metoda IR spektroskopie s FT je založena na spojení interferometru (nejběžněji Michelsonova typu – obr. 18) s citlivým detektorem a počítačem. Oproti disperznímu přístroji má tu výhodu, že stejný vzorek je proměřen za stejnou dobu vícekrát a díky tomu je lepší výsledný poměr signálu a šumu, a navíc na jeho detektor dopadá většina emitovaného záření, a proto lze používat i techniky s energetickými ztrátami (Čižmár, 2006).



Obr. 18: Michelsonův interferometr (Rýc, 2011)

($Z_{1,2}$ –zrcadla, d –dělič paprsků, S –clona, A –bod rozdělení paprsku na dva, d_1 –kompenzační destička)

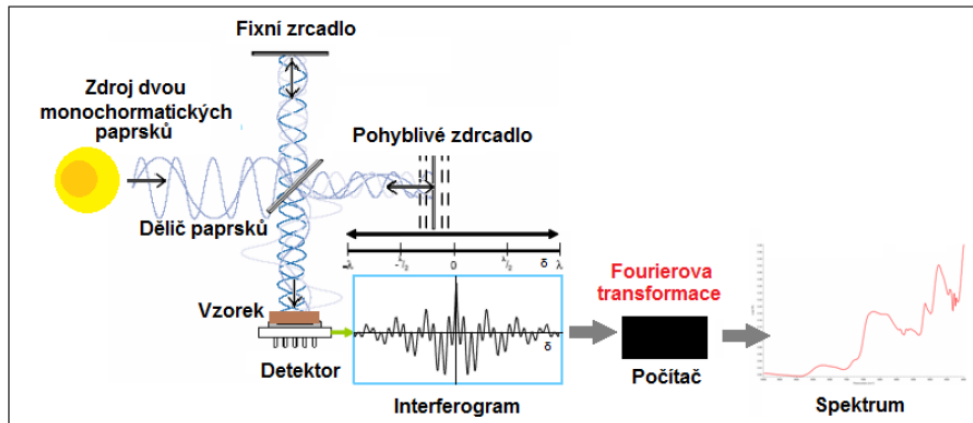
Princip: ze zdroje vychází záření přes clonu (usměrnění), na bodě A dochází k jeho rozdělení na dva paprsky. Jeden z těchto paprsků se odrazí a směřuje k zrcadlu Z_1 (fixní), od něž se odrazí a vrací zpět, druhý paprsek se láme, prochází děličem a směřuje k zrcadlu Z_2 (pohyblivé). Od něj se také odráží a vrací do bodu A stejně jako

paprsek přicházející od zrcadla Z_1 ; zde se oba rekombinují. Protože paprsek, který se odrazí na zrcadle Z_2 prochází děličem třikrát, může být mezi bod odrazu a zrcadlo Z_1 vložena kompenzační destička (d_1) – není u všech přístrojů, závisí na typu děliče.

Po opětovném setkání obou paprsků dochází k jejich interferenci, ta se může projevit zesílením nebo zeslabením záření. To zda dojde k tzv. konstruktivní nebo destruktivní interferenci určuje vzdálenost zrcadla Z_2 . Pokud je vzdálenost mezi bodem A a oběma zrcadly stejná (optický dráhový rozdíl je nulový, příp. celistvý násobek vlnové délky dopadajícího záření), dochází k maximálnímu zesílení záření, pokud je ale optický dráhový rozdíl nenulový (tzn. různé vzdálenosti zrcadel od bodu A), tím pádem svazky obou paprsků z obou ramen interferometru nejsou ve fázi, dochází k destrukci a zeslabení záření (Rýc, 2011; Kukačková, 2001).

Pro polychromatický svazek je signál detektoru součtem všech konstruktivních a destruktivních interferencí každé frekvence. Výsledkem měření není spektrum, ale tzv. multiplexní interferogram. Všechny frekvence, které nejsou absorbovány při průchodu vzorkem, jsou přivedeny na detektor. Takto získaný interferogram tak obsahuje všechny spektrální informace, ale bohužel ve formě, která není přímo srozumitelná. Je proto nutné jej převést (za použití výpočetní techniky) tzv. **Fourierovou transformací** na jednoduché spektrum (viz obr. 19). Typická NIR spektra mají lineárně rostoucí charakter od kratších k delším vlnovým délkám (Kukačková, 2001; Kozelková, 2012).

Jako zdroj záření se v NIR spektroskopie používá wolframová nebo halogenová žárovka, význam clony je ve vytvoření svazku rovnoběžných paprsků. Dělič paprsků musí mít jak vysokou propustnost, tak i reflexi; nejčastěji se používají tenké filmy materiálu s vysokým indexem lomu nanesené na vhodný nosič. V NIR oblasti je používán oxid železitý, fixovaný na zabroušeném okénku z fluoridu vápenatého nebo křemene. Správná funkce celého interferometru závisí na velmi přesně řízeném pohybu zrcadla. Již při nepatrném výkyvu zrcadla mohou svazky interferovat. Poloha zrcadla je kontrolována helium-neonovým laserem, který zajišťuje rychlé a přesné kmity. K detekci se používají fotovodivostní detektory – př. PbS, PbSe nebo InGaAs. Požadavek na všechny detektory je rychlá odezva, protože audiofrekvenční signál zpracováváný detektorem dosahuje velmi vysokých frekvencí (Kukačková, 2001; Kozelková, 2012).



Obr. 19: Schematické znázornění interference dvou monochromatických vlnění a jeho převedení na spektrum (Klouda, 2003)

➤ AOTS spektrometry

AOTS přístroje se vyznačují akustickým snímáním spekter. Ta jsou získávána interakcí ultrazvukových vln způsobujících frekvenční vibrace v TeO_2 krystalu. Doba snímání je v mikrosekundách. Jedná se o spolehlivé systémy a to z důvodu nepřítomnosti mechanicky pohyblivých částí. Přístroj je proto vhodný jak pro analýzu výroby, tak do laboratoří. Jedná se o jednu z nejnovějších technologií v NIR spektroskopii (Čižmár, 2006).

3.2.3.3 Výhody a nevýhody NIR spektroskopie

Výhody:

- rychlost (řádově několik minut)
- nedestruktivní metoda (vzorky lze použít pro další analýzy)
- bez speciální přípravy vzorků, použití chemikálií, bez odpadu
- jedno spektrum lze využít ke kvantitativnímu stanovení řady parametrů (viz experimentální část)
- snadná obsluha
- šetrné zacházení s životním prostředím – není spotřeba chemikálií
- lze měřit přes transparentní obaly (vhodné pro on-line kontroly kvality surovin, meziproductů i finálních výrobků)
- vhodná i pro analýzu vzorků s vysokým obsahem vody (viz experimentální část)
- poskytuje obdobně přesné výsledky jako referenční metody, podle nichž je přístroj kalibrován (Kukačková, 2001; Míka, 2008)

Nevýhody:

- nelze použít pro stanovení minoritních látek, detekční limit je uváděn 0,1 % (nižší citlivost i než IR spektroskopie)
- sekundární metoda – závislost na laboratorních referenčních metodách
- obtížná interpretace spekter a statistické zpracování experimentálních dat (Kozelková, 2012; Míka, 2008)

3.2.4 Chemometrie

Spektra v NIR spektroskopii jsou díky velkému množství dat velmi obtížná na interpretaci, a proto je potřeba k jejich dalšímu zpracování a vyhodnocování použít chemometrické metody. Chemometrie je disciplína využívající matematické a statistické metody pro výběr nejlepšího postupu a zpracování velkého množství dat chemické analýzy (Míka, 2008).

Rozvoj chemometrických metod nastává v 70. letech minulého století. Jedná se hlavně o zpracování vícerozměrných souborů dat, používání faktorové analýzy nebo multikriteriální rozhodování apod. (Kukačková, 2001).

Hlavním cílem v NIR spektroskopii je vytvořit funkční kalibrační model a získat tak propracovaný systém pro statistické vyhodnocení získaných výsledků. Pro kvantitativní analýzu se nejčastěji používají moderní vyhodnocovací metody na principu vícenásobné lineární regrese např. regrese hlavních komponent (PCR – principal component regression) nebo metoda částečných nejmenších čtverců (PLS – partial least squares).

Je-li požadavek na identifikaci a kvalifikaci neznámého vzorku je možné zvolit např. metodu hlavních komponent (PCA – principal component analysis), která využívá shodnosti vzorku se standardem, resp. jeho zařazení do charakterově nejbližší předem definované třídy (Siesler a kol., 2006; Kozelková, 2012).

Jelikož tato práce se týká stanovení koncentrací vybraných parametrů a převedení těchto stanovení na metodu NIR spektroskopie, bude další část kapitoly věnována převážně kvantitativní analýze.

3.2.5 Kalibrace

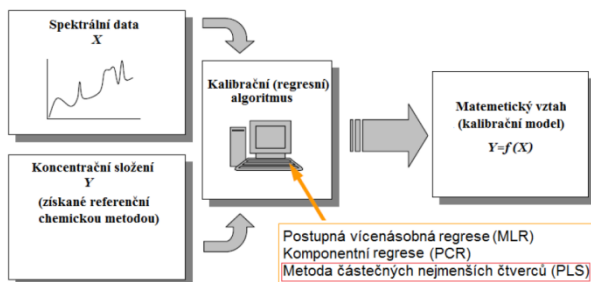
Pojem kalibrace se používá k popsání postupu transformace NIR absorpcí do hodnot laboratorní referenční metody, jinými slovy – jedná se o kroky potřebné pro odhad matematického vztahu mezi optickými vlastnostmi vzorku a jeho chemickým složením (Míka, 2008; Kozelková, 2012).

3.2.5.1 *Tvorba kalibračního modelu*

Jelikož NIR spektroskopie je sekundární metoda – tzn. vztažená k metodě referenční, je nutno pro vyhodnocování spekter nejprve sestavit vhodný kalibrační model. Je důležité si uvědomit, že nelze očekávat větší přesnost NIR analýzy než je přesnost metody standardní, se kterou se srovnává, lze ji ovšem zvýšit rozšířením kalibračních modelů o další standardy (Míka, 2008; Kozelková, 2012). Pro kalibraci je nutné vybrat nejméně 30 vzorků, které jsou použity jako kalibrační standardy. Tyto vzorky se stanoví referenční metodou a hodnoty jsou použity pro vytvoření kalibrace. Měla by být dodržena tato pravidla:

- a) vybrané vzorky by měly co nejvíce, stejnoměrně a typicky charakterizovat vlastnosti všech vzorků (tzn. i příprava /sušení, mletí, skladování/ by měla být co nejvíce podobná přípravě vzorků, které se budou měřit referenční metodou),
- b) koncentrační rozsah parametrů kalibračních vzorků by měl odpovídat koncentračním rozsahům stanovovaných parametrů ve vzorcích,
- c) v případech, pokud je koncentrační rozpětí úzké, je nutné použít vzorky s co nejširším koncentračním škálou, které zpřesní a usnadní stanovení,
- d) referenční hodnoty by měly vycházet z přesných rozborů, provedených nejčastěji duplicitně a zprůměrovaných, které zároveň vyhovují toleranci (Míka, 2008; Kukačková, 2001).

Pro tvorbu kalibračního modelu je nutné mít vhodné softwarové vybavení k tvorbě kalibračních modelů a rovněž také k ovládání přístroje a ukládání naměřených spekter. Základem kalibrace je získat závislost mezi spektrální informací a složením vzorku (Kozelková, 2012).



Obr. 20: Schéma tvorby kalibrace (Kozelková, 2012 – zdroj Hurburg, Igne, 2010)

3.2.5.2 Metody kvantitativní analýzy

- Lambert-Beerův zákon

Jako nejjednodušší metodu lze označit vytvoření kalibračního modelu na základě klasického Lambert-Beerova zákona, pro který platí, že za určitých předpokladů se absorbance u zvoleného spektrálního pásu zvyšuje přímo úměrně s koncentrací (lineární závislost):

$$A = \varepsilon \cdot d \cdot c$$

A ... absorbance naměřená při dané vlnové délce (frekvenci)

ε ... absorpční koeficient (konstanta pro danou látku a frekvenci)

c ... koncentrace dané látky

d ... optická dráha měření dané látky (např. tloušťka kyvety)

Výhodou této metody je její snadné pochopení a také to, že pro její použití není potřeba mnoho standardů. Nevýhodou je její nepoužitelnost v případě překrývání pásů, a pokud je závislost nelineární. Tímto způsobem lze řešit pouze jednoduché analytické problémy, což může být vzhledem k častým překryvům NIR spekter problém (Kozelková, 2012).

- Metoda částečných nejmenších čtverců (PLS)

Jelikož hodnocení spekter pomocí plochy absorpčních pásů pro charakterizaci a identifikaci chemických sloučenin lze zařadit do analýzy vícerozměrných dat, jako řešení je uplatňován maticový model. Řádky matice představují zkoumané vzorky a sloupce sledované znaky. U statistické analýzy se poté zkoumá přítomnost vybočujících bodů, předpoklady normality, provádí se standardní statistické testy. Vychází se z tzv. metody hlavních komponent (PCA). Její myšlenka spočívá v lineární

transformaci původního souřadnicového systému do souřadnicového systému tzv. hlavních komponent. Ty jsou vzájemně nekorelované a vybrány tak, aby poskytovaly co největší množství informací. Každý objekt má tak nové souřadnice. Vyskytují-li se v matici vysoké korelace mezi faktory (tzv. multikolinearita) používá se pro hodnocení často metoda PLS (kombinace PCA a vícerozměrné lineární regrese). PLS využívá tzv. latentních vektorů (analogie hlavních komponent) k vyjádření jak závisle, tak nezávisle proměnných (Meloun, Militký, 2004).

Jedná se o jednu z nejvyužívanějších metod v NIR spektroskopii. Je multikomponentní, to znamená, že pracuje s celým spektrem (nebo širšími spektrálními úseky) a je založena na kompresi dat (redukce spektrálních dat do několika málo proměnných). Tímto krokem dojde k odstranění balastních spektrálních informací (Kukačková, 2001; Kozelková, 2012). Pro použití této metody jsou potřebné dvě skupiny standardů: standardy kalibrační a standardy validační. Kalibrační jsou použity pro konstrukci kalibračního modelu a validační pro zjištění predikčních schopností tohoto modelu. Počet validačních standardů by měl tvořit pětinu až třetinu počtu kalibračních. Všechny standardy musí obsahovat všechny stanovované analyty a koncentrace těchto látek se musí měnit nezávisle. V běžné praxi se jako standardy používají reálné vzorky, u nichž se nejprve analyzují parametry referenční metodou a takto získaná data se použijí jako vstupní kvantitativní data. Naměřená spektra se pak použijí pro konstrukci kalibračního modelu.

Pokud je kalibrační model správně vypracován, měla by mít tato regrese jednotkovou směrnici se statisticky nevýznamným absolutním členem (Nicolai a kol., 2007; Míka, 2008).

Výhody této metody jsou: možnost vytvářet kalibrace za použití pásů či regionů, které se silně překrývají; schopnost řešit interference neznámých komponent (např. nečistot); u výpočtů využití všech datových bodů v analyzovaném regionu. Dvě hlavní nevýhody této metody spočívají v tom, že vyžaduje velké množství standardů (čímž se ale zvyšuje její přesnost) a pochopení jejího matematického principu je velmi obtížné (Kozelková, 2012).

Výše zmíněná metoda je dnes běžným softwarovým vybavením dodávaným k NIR analyzátorům. Kalibrace jsou v nich zpracovávány částečně automaticky, úkolem analytika je tedy pouze navolit vhodnou kalibrační metodu, oblast vlnových délek vhodnou pro stanovované parametry, možnosti vyhlazení spekter a další úkony vedoucí

k co nejlepší kalibraci, a ve výsledku posoudit spolehlivost vytvořeného kalibračního modelu (Kukačková, 2001).

3.2.5.3 *Optimalizace kalibračního modelu (Posouzení spolehlivosti kalibrace)*

Při tvorbě kalibračního modelu je hlavním cílem vytvořit takovou kalibraci, aby její predikční schopnosti byly co nejlepší. Pro optimalizaci kalibrace slouží mnoho matematických algoritmů, například korekce SNV, korelační koeficienty (kalibrační, křížové validace), chyby měření RMSEC, RMSECV, derivace spekter, diagnostika PRESS, test outlierů atd. a v neposlední řadě i validace modelu.

a) SNV (standard normal variate)

Korekce sloužící k eliminaci vlivu velikosti částic, každé individuální spektrum je normalizováno na nulový průměr a jednotku rozdílu (Nicolai a kol., 2007).

b) Derivace spekter

Derivace jsou často používány k odstranění posunů základní linie a píků. První derivace patří k nejvíce používané z důvodu oprav jak aditivních tak znásobených efektů. Bývá obvykle počítána dle vhodného algoritmu a jeho volba je důležitá, nesmí dojít k zesílení spektrálního šumu (Nicolai a kol., 2007).

c) Korelační koeficient (R)

Korelační koeficient je mírou lineární závislosti mezi naměřenými spektry a referenčními hodnotami. Pohybuje se v rozmezí od -1 (dokonalá negativní závislost) do +1 (dokonalá pozitivní závislost). V některých situacích se uvádí jeho druhá mocnina – tzv. koeficient determinace (R^2), ta v zásadě představuje procento objasnění odlišnosti odpovědi proměnné v kalibraci/validaci (Kozelková, 2012; Nicolai a kol., 2007).

d) RMSEC

Střední kvadratická chyba kalibrace. Vypočítá se:

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_c} (\hat{x}_i - x_i)^2}{n_c}}$$

kde: n_c ... počet kalibračních standardů

\hat{x}_i ... predikovaná hodnota i-tého standardu

x_i ... vypočtená hodnota i-tého standardu

e) RMSECV

Pokud je při tvorbě kalibračního modelu používána křížová validace, je predikční chyba kalibrace definována jako střední kvadratická chyba křížové validace (RMSECV). Hodnota poskytuje průměrnou nejistotu, která může být očekávána pro stanovení dalších vzorků (Nicolai a kol., 2007).

Vypočítá se:

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_p} (\hat{y}_i - y_i)^2}{n_p}}$$

kde: n_p ... počet validačních standardů

\hat{y}_i ... predikovaná hodnota i-tého standardu

y_i ... vypočtená hodnota i-tého standardu

f) PRESS (predicted residual sum of squares)

Tato diagnostická funkce se používá ke zjištění optimálního počtu PLS faktorů. Optimální počet faktorů odpovídá oblasti okolo minima v tzv. PRESS křivce. Je ovšem vhodné zvolit menší počet těchto faktorů, protože příliš vysoký počet snižuje kvalitu predikce pro jiná než kalibrační měření. Kalibrační model pak totiž zahrnuje větší podíl šumu a popisuje stále dokonaleji kalibrační data včetně chyb a nahodilých jevů. Nevhodný je samozřejmě i model s malým množstvím faktorů, kdy nejsou dostatečně využity veškeré dostupné informace (Kukačková, 2012).

g) Spectrum outlier

Diagnostika slouží k identifikaci odlehlých standardů za použití Chauvenetova testu. Outlierem mohou být označovány vzorky, u kterých mohlo dojít k různým chybám jako například k překlepům při vkládání hodnot, při přenosu souborů, chybami na rozhraních, disfunkcí snímače či jeho znečištěním, špatným výběrem vzorků nebo jejich nevhodnou přípravou apod. Vzorek může být outlier podle X-ové proměnné, Y-ové nebo obou. Nemusí však nastat ani jeden z těchto případů, i přes to se ale vzorek může stát outlierem při přepočtu korelace X-Y. Závěrem lze říci, že pokud hodnota outlieru ovlivňuje regresní model, musí být odstraněna (Nicolai a kol., 2007).

Existuje několik možností validací, nejpoužívanější jsou tyto dvě:

- validace pomocí nezávislého souboru vzorků o známém složení, které nebyly zahrnuty do kalibračního souboru tzv. **externí validace** (s koncentracemi parametrů

zjištěnými referenčními metodami se porovnávají koncentrace parametrů predikované kalibračními modely),

- křížová validace (cross validation) – tzv. **interní validace**

Používá se v případě, pokud není k dispozici nezávislý soubor vzorků. Kontrola spočívá ve vyloučení určitého vzorku (tzv. full cross validation) nebo nějaké skupiny vzorků (tzv. segmented cross validation) z kalibračního souboru. Tento vzorek nebo skupina je ponechána pro validaci a zbytek pro kalibraci. Tento postup je opakován, dokud všechny vzorky/skupiny nejsou použity pro validaci alespoň jednou (Míka, 2008; Nicolaï a kol., 2007).

Kalibrační modely jsou označovány jako robustní, jestliže neznámé změny vnějších faktorů nezpůsobí změnu predikční přesnosti (Nicolaï a kol., 2007).

3.2.5.4 *Parametrický test*

K porovnání párových hodnot výsledků testovaných a výsledků referenčních se využívá t-testu. Pokud je vypočtená hodnota t menší než tabelovaná teoretická hodnota pro $(n-1)$ stupňů volnosti, pak je potvrzena nulová hypotéza (Kukačková, 2001).

- Studentův t-test

Používá se u menších souborů dat (méně než 30).

Výpočet:

$$t = |\bar{X}_A - \bar{X}_B| \sqrt{\frac{n \cdot (n - 1)}{\sum (D_i - \bar{D})^2}}$$

Co se týče budoucnosti tvorby kalibrací i samotné NIR metody, jsou dnes vyvíjeny nové postupy i algoritmy, příkladem KPLS (kernel partial least squares) nebo LS-SVM (least squares – support vector machines). Principiální problémy pro metodu NIR spektroskopie bude i nadále získání reprezentativní skupiny vzorků, jejich příprava a standardizace (stejně podmínky pro různé laboratoře – tzn. velikost odebraného vzorku, teplota uschování, homogenizace, referenční metody). Důležité je i rozšíření metod pro porovnání a optimalizace pro on-line systémy (López a kol., 2013).

4 MATERIÁL A METODIKA

Pro analýzy vybraných parametrů u brambor byla vybrána velká skupina odrůd brambor různých sortimentů (R, VR, PR, PP, P) a varných typů – A, B a C. Nejprve byly vzorky analyzovány laboratorními referenčními metodami a výsledky těchto měření byly použity jako kalibrační hodnoty pro tvorbu kalibračních modelů pro NIR spektroskopii (hodnoty viz tabulky 16–35; Přílohy). Celé postupy měření se nachází níže. Referenčními metodami byly stanovovány 4 základní parametry – sušina (gravimetricky), N-látky dle Kjeldahla, cukry (titračně dle Luff–Schoorla) a škrob (polarimetricky). Pro stanovení byly použity jednotné pracovní postupy Národní referenční laboratoře ÚKZÚZ Brno, vycházející z platných ČSN nebo ISO norem, případně z Úředního věstníku Evropské unie L54 z roku 2009.

Tabulka 4: Přehled stanovovaných parametrů včetně zjištěných koncentrací

Parametr	n	Koncentrační rozsah	Průměr
Sušina	116	13,29 – 35,56 %	22,25%
Škrob	116	58,01 – 80,01 %/s	71,76 %/s
N-látky	116	5,55 – 11,44 %/s	8,93 %/s
Cukry bez hydrolýzy	116	0,03 – 7,94 %/s	2,44 %/s
Cukry po hydrolýze	116	0,12 – 10,32 %/s	3,77 %/s

Legenda tabulky: %/s – obsah sledovaného parametru v % přepočtený na obsah sušiny

Shromažďování dat pro tvorbu kalibračních modelů probíhalo po dobu tří let.

Harmonogram:

1. V roce 2012 byly analyzovány vzorky:

- Velmi rané (1-12)
- Rané (13-24)
- Polorané (25-36)
- Polopozdní až pozdní (37-50)

(číselné označení vzorků odpovídá označení v tabulkách 16, 21, 26, 31 – Přílohy)

Tyto vzorky byly dodané brněnskou laboratoří a sloužili k vytvoření prvního kalibračního modelu. Řadily se do skupin více škrobnatých (B) až velmi škrobnatých (C).

2. V roce 2013 byly analyzovány vzorky brambor (rané a velmi rané) pocházející z testovacích polí v Lípě, které sloužily k doplnění a zpřesnění kalibračního modelu. Další vzorky pocházely z maloobchodní sítě.

3. V roce 2014 byly analyzovány vzorky brambor pocházející z oblasti Lípy ve dvou etapách – nejprve rané a velmi rané; a poté raný, poloraný a polopozdní škrobnatý sortiment.

4.1 Referenční metody

4.1.1 Stanovení vlhkosti (sušiny)

Vlhkost brambor se stanovuje dle normy ČSN 46 70 92-3.

Postup:

Příprava vzorku

Vzorky brambor byly nejprve očištěny od případných nečistot (hlína, drobné kamínky, apod.), omyty vodou a ihned osušeny, aby nedocházelo ke zvýšení vlhkosti vzorku. Celé hlízy byly nakrájeny na menší části a rozmixovány na homogenní kaši v mixeru. Takto upravené vzorky byly převedeny do tmavých prachovnic a ihned použity k analýzám.

Vlhkost

Dobře promíchaný vzorek byl navážen na analytických vahách do tří předem přesušených a převážených vysoušeček, byla zaznamenána jeho přesná hmotnost (v rozmezí 5–7 g) a vzorek byl umístěn do sušárny. Nejprve byl předsušen při 55 °C po dobu 5 hodin (otevřené odvětrávání sušárny) a poté dosušen 3 hodiny při 105 °C (uzavření odvětrávací klapky). Po uplynutí této doby byly vysoušečky umístěny do exsikátoru do zchladnutí na laboratorní teplotu. Poté byly opětovně převáženy a byl proveden výpočet dle vzorce:

$$X = \frac{m_0 - m_1}{m_0} * 100$$

m_0 ... hmotnost zkušební vzorku v g

m_1 ... hmotnost zkušební vzorku po vysušení v g

Sušina byla vypočítána:

$$Y = 100 - X$$

Jednotkou obou parametrů jsou %.

Výsledek se uvádí jako aritmetický průměr ze tří stanovení (tři se provádí z důvodu větších odchylek, pokud by bylo nutné hodnotu vyloučit). I tak ovšem musí být splněn požadavek na opakovatelnost. V opačném případě se provede opakování měření.

Opakovatelnost pro stanovení sušiny u brambor činí 0,9 % abs.

4.1.2 Stanovení obsahu škrobu

Všechny následující metody vychází z Nařízení Komise (ES) 152/2009 zveřejněné v Úředním věstníku EU dne 27. 1. 2009.

Princip:

Škroby se stanovují polarimetricky (změření optické otáčivosti) po hydrolýze kyselinou chlorovodíkovou a odstranění bílkovin Carrezovými činidly.

Postup:

(dle Úředního věstníku Evropské unie, L 54/47-49, 2009)

Do Kohlrauschovy nebo cukrovarnické baňky se naváží 10 g připravených (namixovaných a důkladně promíchaných) brambor. Přidá se nadvakrát 25 ml 0,116M roztok kyseliny chlorovodíkové (prvních 25 ml – promíchání obsahu baňky, druhých 25 ml – omytí stěn baňky). Baňka se vloží do vroucí lázně a vaří se 15 minut (první 3 minuty se v lázni míchá, dále se promíchává v pravidelných intervalech). Po vyjmutí z lázně se ke vzorku přidá asi 20 ml destilované vody a ochladí se ve vodní lázni. Po vytemperování na laboratorní teplotu se k obsahu baňky přidá 5 ml Carrezova činidla I, obsah se minutu míchá, poté se přidá 5 ml Carrezova činidla II a opět se minutu míchá. Poté vzorek 15 minut stojí a po uplynutí této doby je doplněn po rysku a přefiltrován. Filtrace se opakuje, dokud není filtrát čirý. Hotový filtrát se měří na polarimetru za použití polarimetrické trubice.

Po zjištění optické otáčivosti je spočítán obsah škrobu v % podle vztahu:

$$x = \frac{5000 * \alpha_1 * k}{m_1 * \alpha_D^{20}}$$

m_1 ... hmotnost navážky vzorku v g (10 g)

α_1 ... úhel otáčení v kruhových stupních, zjištěný na polarimetru

α_D^{20} ... měrná optická otáčivost čistého škrobu ve stupních (bramborový škrob – 195,4)

k ... 0,34620 – konstanta pro přepočet stupňů (1° mezinárod. = 0,34620° kruh.)

Výsledek se opět udává jako aritmetický průměr ze dvou paralelních stanovení. Musí být splněna podmínka opakovatelnosti. Výsledek se vyjadřuje na 2 desetinná místa.

Tabulka 5: Opakovatelnost pro stanovení obsahu škrobu (Věstník EU L54; 2009)

Koncentrační hladina	Opakovatelnost
< 40,0 %	0,4 % abs.
≥ 40,0 %	1,0 % rel.

4.1.3 Stanovení obsahu dusíkatých látek

Princip: Dusíkaté látky jsou stanoveny metodou dle Kjeldahla. Vzorek se mineralizuje horkou kyselinou sírovou za přídavku katalyzátoru, tento kyselý roztok je dále alkalizován roztokem hydroxidu sodného. Vydestilovaný amoniak je jímán do odměřeného množství kyseliny borité a přebytek se titruje standardním roztokem kyseliny sírové (ČSN ISO 1871).

Postup:

(dle Úředního věstníku Evropské unie L 54/15-19, 2009)

Do bezpopelového filtračního papíru se naváží 5 g vzorku a umístí se do mineralizačních trubic. Trubice se nechají vysušit přes noc při teplotě 105 °C. Druhý den se ke vzorkům přidá 12 ml koncentrované bezdusíkaté kyseliny sírové, a pak se opatrně přidává peroxid vodíku. Vzorek silně šumí a ohřívá se. Peroxid se přidává do doby, než se rozloží filtrační papír a roztok v mineralizační trubici je žlutý. Poté se provede mineralizace v mineralizačním bloku Kjelttherm za přidání katalyzátorů (ve formě tablety). Jedná se o dvě tablety – Kjeltabs ST (3,5 g K₂SO₄ a 3,5 mg Se) a Kjeltabs CK (3,5 g K₂SO₄ a 0,4 g CuSO₄.5H₂O).

Jakmile se roztok stane čirým (světle zelené zbarvení) je provedena parní destilace spojená s titrací v přístroji Kjelttec (tzn. k mineralizátu se přidá 15 ml destilované vody, umístí se do zařízení, dále se přidá 50 ml 40% roztoku hydroxidu sodného a provede se destilace vodní parou. Uvolněný amoniak se jímá do 4% roztoku kyseliny borité s indikátorem a titruje se odměrným roztokem 0,1M kyseliny sírové.) Destilace se provádí postupně pro každou jednotlivou trubici a výsledky se okamžitě vyhodnocují.

Výsledek se opět udává jako aritmetický průměr ze dvou paralelních stanovení. Musí být splněna podmínka opakovatelnosti. Opakovatelnost metody je dána koncentrační hladinou. Výsledek se vyjadřuje na 2 desetinná místa.

Tabulka 6: Opakovatelnost pro stanovení N-látek (Věstník EU L54; 2009)

Obsah N-látek	Opakovatelnost
< 20 %	0,2 % abs.
20 – 40 %	1,0 % rel.
> 40 %	0,4 % abs.

4.1.4 Stanovení obsahu cukrů

Princip: Stanovení cukrů se provádí titračně dle Luff-Schoorla. Redukující cukry redukuje za varu v alkalickém prostředí měďnatou sůl na oxid měďný. Nezareagovaný přebytek měďnaté soli se stanoví jodometricky.

Redukující cukry (glukóza a fruktóza) se stanovují nejprve samostatně bez hydrolýzy a poté i po hydrolýze, při které dojde k rozštěpení sacharózy právě na tyto dva monosacharidy.

Postup:

(dle Úředního věstníku Evropské unie, L 54/42-45, 2009)

Do 250ml odměrné baňky se naváží 5 g brambor. Přidá se 200 ml 40% roztoku etanolu a baňka se hodinu protřepává na laboratorní třepačce. Po uplynutí této doby jsou ke vzorku přidány Carrezova činidla (5 ml Carrez I, minutu promíchat; 5 ml Carrez II a opět minutu promíchat). Baňka se poté doplní etanolem (40%) po rysku a obsah se filtruje do 200ml odměrné baňky (zbytek nad 200 ml se vyhodí). Obsah této baňky se přelije do kádinky a provede se odpaření etanolu na poloviční objem (tj. na 100 ml). Takto zakoncentrovaný roztok se opět převede do 200ml odměrné baňky a za proplachování vařící destilovanou vodou se doplní po rysku. Vzorek se umístí do chladna do druhého dne.

Po vytemperování vzorku je:

- a) vzorek rovnou odebrán k titraci (postup níže)
- b) provedena hydrolýza vzorku

ad b) Z baňky se odpipetuje 50 ml roztoku a převede do 100ml odměrné baňky, přidají se asi tři kapky indikátoru (methyloranž), a několik kapek 4M kyseliny chlorovodíkové (jako při titraci – změna barvy). Poté se přidá 15 ml 0,1M roztoku kyseliny chlorovodíkové a baňka se na 30 minut umístí do vroucí lázně. Poté se ochladí a opět nechá vytemperovat. Přidá se 15 ml 0,1M hydroxidu sodného, promíchá, doplní destilovanou vodou po rysku a opět promíchá. Takto je získán vzorek pro titraci po hydrolýze.

Titrace:

Z obou vzorků (s i bez hydrolýzy) se odpipetuje 25 ml do varné baňky (250ml), přidají se varné kuličky, 25 ml Luff-Schoorlova činidla a baňka se umístí do varného hnízda pod zpětný chladič a vaří 10 minut (činidlo se přidává až těsně před vařením). Je nutné, aby k varu došlo do 2 minut, poté se ohřev hnízda upraví na střední intenzitu a nechá se dále vařit. Po 10 minutách se vzorek odstaví a ihned zchladí pod proudem vody. Přidá se 10 ml roztoku jodidu draselného (300 g/l; čerstvý), 25 ml 3M kyseliny sírové a titruje se 0,1M thiosíranem sodným do světle žlutého zbarvení. Poté se přidají 3 ml škrobového roztoku (5 g/l), vzorek se tímto zbarví do černa, dotitruje se do krémové barvy a odečte se spotřeba. Stejným způsobem se titruje i slepý vzorek. Proveďte se stanovení faktoru a spočítá obsah cukrů jak bez hydrolýzy, tak po ní.

Výpočet:

Obsah přímo redukujících (X) případně veškerých redukujících cukrů (Y) se vyjádří jako obsah glukózy ve vzorku. Vypočítá se podle vzorce:

$$X(Y) = \frac{m_2}{10 * m_1}$$

m_2 ... hmotnost glukózy (případně příslušného redukujícího cukru, dle požadavku na vyjádření) zjištěná z tabulky 7 na základě rozdílu spotřeb odměrného roztoku thiosíranu sodného při titraci vzorku a slepého pokusu (mg)

m_1 ... hmotnost alikvotního podílu navážky vzorku (g)

Tabulka 7: Rozdíl spotřeb odměrného roztoku Na₂S₂O₃ (Věstník EU L54; 2009)

Na ₂ S ₂ O ₃ 0,1 mol/l	Glukóza, fruktóza, invertní cukry C ₆ H ₁₂ O ₆	
	ml	mg
1	2,4	2,4
2	4,8	2,4
3	7,2	2,5
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,6
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,7
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,8
15	38,5	2,8

Výsledek je aritmetickým průměrem dvou získaných hodnot, pokud jsou splněny požadavky na opakovatelnost. Výsledek se vyjadřuje na 2 desetinná místa.

Tabulka 8: Opakovatelnost pro stanovení cukrů (Věstník EU L54; 2009)

Koncentrační hladina	Opakovatelnost
od 1,5 do 10 %	0,3 % abs.
nad 10 %	3 % rel.

4.2 Stanovení NIR spektroskopii

4.2.1 Specifikace přístroje

Měření byla prováděna na přístroji FT-NIR Nicolet Antaris spektrometru firmy Termo Electron Scientific Instruments LLC (obr. 24–Přílohy), za použití transreflektanční kyvety (obr. 25–Přílohy) s výškou reflexní plochy 1 mm a rozlišením 2 cm^{-1} . FT-NIR spektrometr se skládá ze zdroje záření, v našem případě se jedná o Quartz-halogenový NearIR zdroj bílého světla s vysokou energií. Velmi důležité je složení optického systému přístroje, interferometru (MagnaFlex) a detektoru InGaAs. Interferometr MagnaFlex je dlouhodobě stabilní, ovládaný elektromagneticky, bez tření, jehož optickou dráhu je možné optimalizovat funkcí autotune. Detektor InGaAs snímá měření v rozsahu $12\,000\text{--}3\,800 \text{ cm}^{-1}$ tj. $833\text{--}2\,630 \text{ nm}$, s nezaměnitelnou pozicí, bez nutnosti chlazení. Pro kontrolu přesnosti měření vlnových délek je v přístroji umístěn referenční laser He/Ne.

NIR spektrometr je ovládán softwarem Result Integration (měření vzorků) a TQ Analyst (zpracování experimentálních dat, vývoj kalibračních modelů).

4.2.2 Postup měření

Nejprve je nutné v programu Result Integration zvolit vhodné podmínky měření (tzv. workflow). Jedná se o počet scanů, v mém případě 120, dále rozlišení detektoru (2 cm^{-1}), jeho zesílení na signálu atd.

Před samotným měřením vzorků je důležitá kontrola funkčnosti přístroje (autodiagnostika), která se provádí dle doporučení výrobce. Po tomto kroku je možné začít měřit vzorky – tzn. očištěné, namixované a důkladně homogenizované brambory (postup přípravy vzorku viz kapitola 4.1.1) jsou měřeny v transreflektanční kyvetě. Měření je vhodné provádět alespoň ve čtyřech opakováních z důvodu vysoké nehomogenity vzorku. Získaná spektra se dále upravují a vyhodnocují programem TQ Analyst, kterým se provádí vývoj a optimalizace kalibračního modelu a následně i vyhodnocení výsledků analyzovaných vzorků.

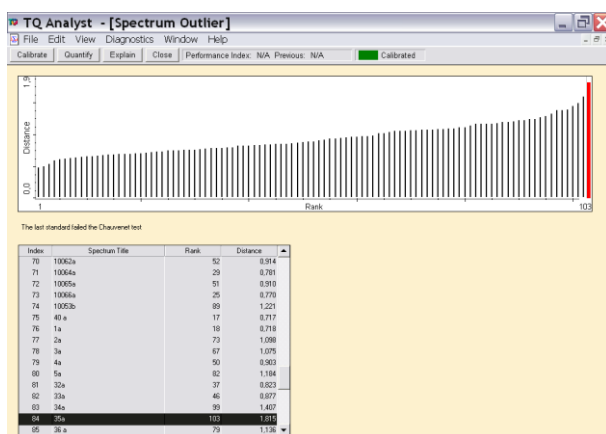
5 VÝSLEDKY

5.1 Sušina (tvorba kalibračního modelu)

U tvorby kalibračního modelu pro parametr **sušina** se postupovalo tímto způsobem: nejprve byl zvolen PLS algoritmus kvantitativní analýzy, dále vloženy veškeré referenční hodnoty, a poté se již začalo se samotnou optimalizací modelu.

Následovala úprava spekter na ovlivnění velikosti částic, a to použitím matematické korekce SNV. Tato funkce slouží k eliminaci vlivu velikosti částic. Snímání bylo nastaveno v celém rozsahu vlnových délek (4 000–10 000 cm^{-1}). Dále byla případně zvolena či nezvolena 1. derivace a vyhlazení spekter dle aktuální chyby RMSECV a hodnoty koeficientu R získané během procesu kalibrace a křížové validace.

Pro vyloučení odlehlých hodnot, případně atypických spekter byla použita diagnostika Spectrum outlier. Ta, za použití Chauvenetova testu, navrhuje spektra nevhodná pro kalibrační model. Na základě těchto návrhů byla proto spektra odebrána (viz vzorek Presto – rok 2014 – neshoda ve všech parametrech – obr. 27–Přílohy).

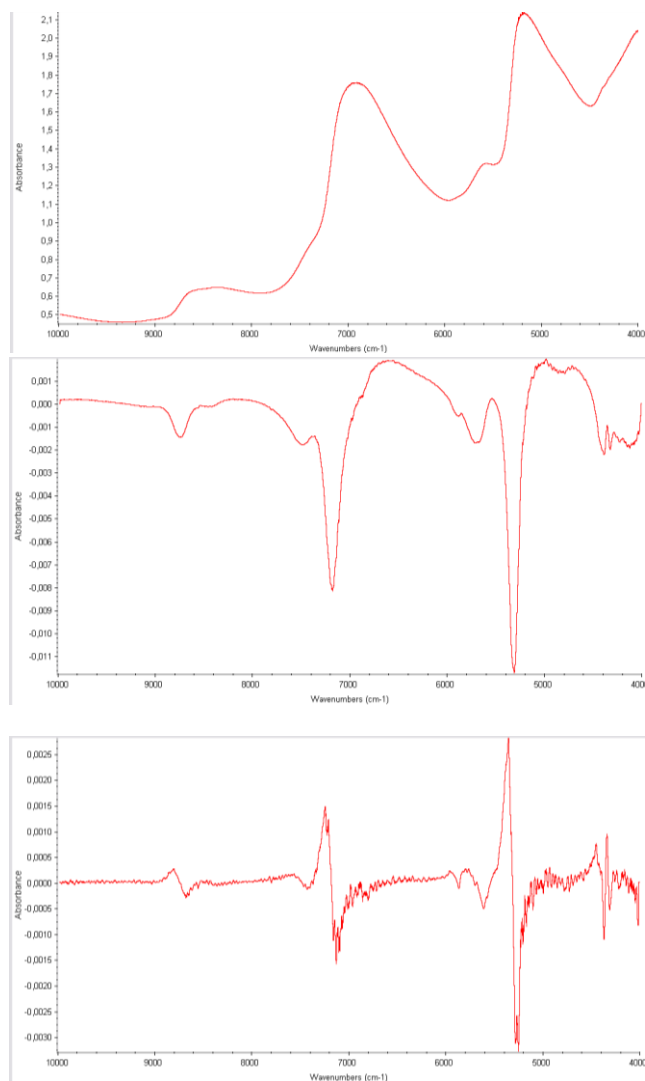


Obr. 21: Diagnostika – Spectrum outlier

Zároveň byla provedena kontrola odlehlých výsledků dle křížové validace. Ke kontrole v tomto případě posloužil graf diferencí výsledků (referenčních a predikovaných).

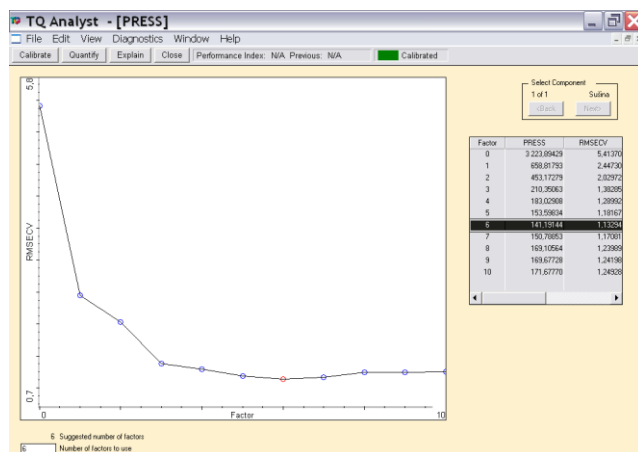
Výsledkem všech těchto úprav bylo zjištění hodnot korelačních koeficientů R (kalibrace a křížové validace) a jejich chyb RMSEC (chyba kalibrace), RMSECV (chyba křížové validace). Dle těchto hodnot se model postupně optimalizoval použitím 1. derivace a vyhlazením spekter dle Norrisova derivačního filtru. Pokud by po tomto kroku nedošlo ke zlepšení koeficientů resp. chyb, nebyla by 1. derivace při modelování

použita (viz kalibrační model pro stanovení cukrů, škrobu). 2. derivace nebyla provedena z důvodu velké chyby stanovení.



Obr. 22: Neupravené spektrum, 1. derivace spektra, 2. derivace spektra

Dalším postupem byl výběr správného množství faktorů (hlavních komponent) v diagnostice PRESS. Bylo nutné zvolit takový počet, aby nedošlo k underfittingu (nedokonalé popsání kalibračního modelu) nebo overfittingu (kalibrační model obsahující rovněž významné množství kalibračního šumu), které způsobí zvýšení chyby kalibrace a křížové validace. Ke správnému rozhodnutí slouží poskytnutá tabulka chyb křížové validace pro každý jednotlivý počet faktorů. Důležitá je také kontrola průběhu křivky. Ideální tvar má klesající s minimem (tzn. nejmenší chyba) a opětovným nárůstem (zvětšení chyby). V případě jakéhokoliv atypického průběhu je nutné model dále optimalizovat.



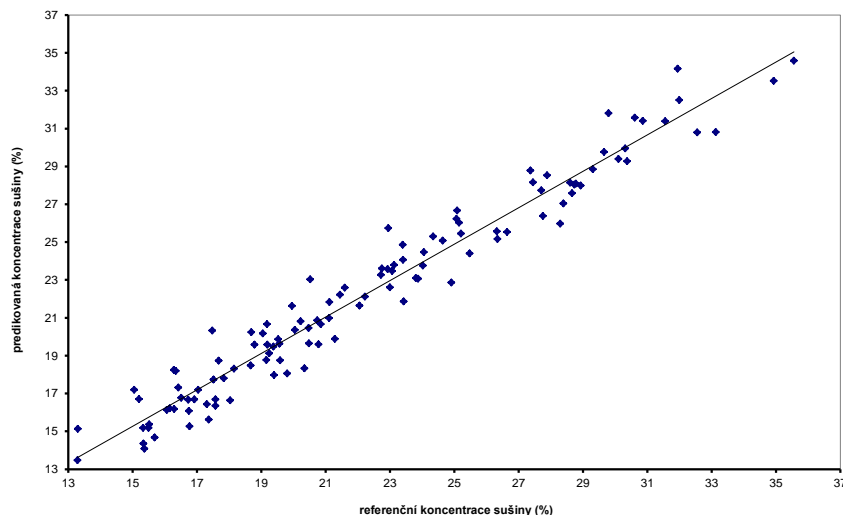
Obr. 23: Diagnostika PRESS pro parametr – sušina

Obecně platí, že po každé úpravě kvantitativních parametrů kalibračního modelu je nutné model rekalibrovat a optimalizovat.

Kontrola modelu byla provedena interní validací (v tomto případě se jednalo o zmiňovanou křížovou validací) a validací externí, za použití neznámých vzorků (nebyly použity na vývoj kalibračního modelu), ve které bylo provedeno porovnání dvou metod (laboratorní referenční metody vs. NIR) na shodnost rozdílů výsledků pomocí Studentova t-testu. Výsledky byly porovnány s kritickými hodnotami t_{α} pro hladinu významnosti 0,05.

5.1.1 Výsledný kalibrační model – SUŠINA

Graf 1: Kalibrační model pro parametr **Sušina** (na tomto a ostatních grafech jsou na ose x vyneseny koncentrace parametru zjištěné referenčními metodami, na ose y hodnoty predikované metodou NIR spektroskopie)



Tabulka 9: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – sušina

Algoritmus	PLS
Korekce	SNV (4 000–10 000 cm ⁻¹)
Úprava spekter	1. derivace
Region	4 500–8 800 cm ⁻¹
PLS faktory	6
R	0,977
RMSECV	1,130
Počet vzorků	115 + 1 Ignore
Koncentrace	13,47–34,58 %

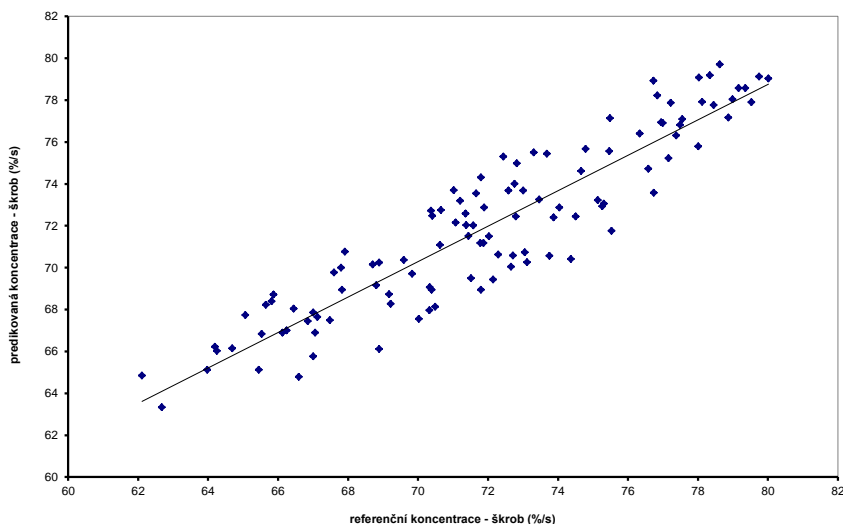
Jak je patrné z kvantitativních parametrů kalibračního modelu z tabulky 9, přesněji hodnoty korelačního koeficientu (R) a RMSECV jedná se o velmi kvalitní kalibrační model. Hodnota RMSECV je podobná chybě stanovení obsahu sušiny laboratorní referenční metodou, která je 0,9 % abs. Počet faktorů odpovídá optimálnímu množství, které se v našich podmínkách v ideálních případech pohybuje od 5 do 8. Jedná se o jednu z nejlepších kalibrací, díky níž byla predikce neznámých vzorků bezproblémová.

5.2 Škrob (tvorba kalibračního modelu)

Tvorba kalibračního modelu pro parametr škrob probíhala obdobným způsobem jako u parametru sušina a obsahovala všechny potřebné chemometrické metody pro vývoj a optimalizaci. Rozdíl oproti parametru sušina byl v tom, že spektra nebyla upravena 1. derivací a to z důvodu vysokého rozdílu mezi chybami RMSEC a RMSECV. Tento rozdíl poukazuje na robustnost metody a měl by být co nejnižší. Souhrnný přehled parametrů kalibračního modelu je znázorněn v tabulce 10.

5.2.1 Výsledný kalibrační model – ŠKROB

Graf 2: Kalibrační model pro parametr Škrob



Tabulka 10: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – škrob

Algoritmus	PLS
Korekce	SNV (4 000–10 000 cm ⁻¹)
Úprava	bez úprav
Region	4 060–7 640 cm ⁻¹
PLS faktory	6
R	0,901
RMSECV	1,910
Počet vzorků	111 + 5 ignore
Koncentrace	63,33–79,70 %/s

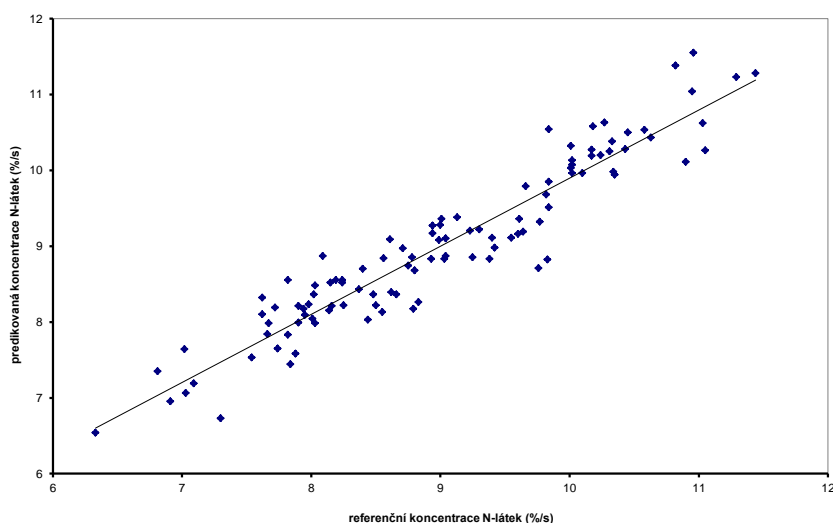
Z tabulky 10 je vidět, že chyba křížové validace RMSECV tohoto stanovení je 1,91. Tato chyba velmi úzce koreluje s chybou stanovení metodou NIR i u jiných plodin, např. pšenice setá (1,80). Pro stanovení neznámých vzorků brambor vyhovuje v plné míře.

5.3 N-látky (tvorba kalibračního modelu)

Tvorba modelu byla provedena stejným způsobem jako předchozí modely. V tomto případě se kalibrace lišila pouze počtem faktorů a vyřazených vzorků. Zvolený postup opět znázorňuje tabulka 11.

5.3.1 Výsledný kalibrační model – N-LÁTKY

Graf 3: Kalibrační model pro parametr N-látky



Tabulka 11: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – N-látky

Algoritmus	PLS
Korekce	SNV (4 000–10 000 cm^{-1})
Úprava	1. derivace
Region	4 460–8 840 cm^{-1}
PLS faktory	8
R	0,806
RMSECV	0,677
Počet vzorků	106 + 10 ignore
Koncentrace	6,54–11,55 %/s

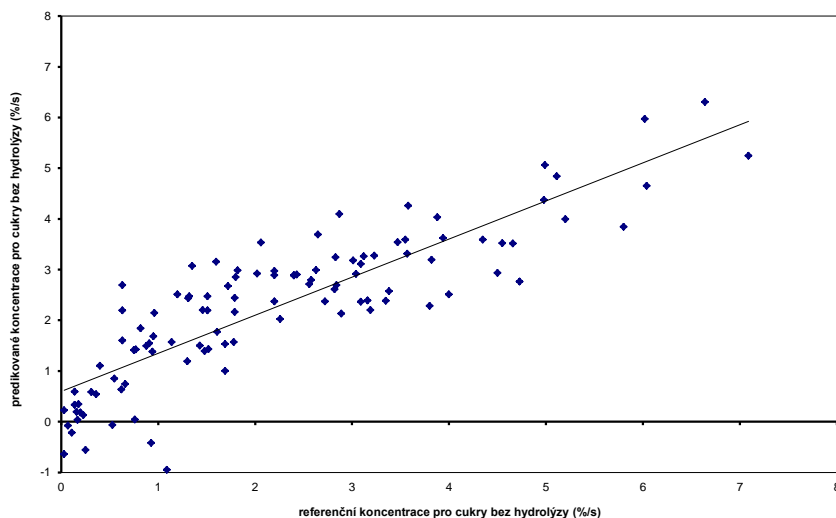
Z tabulky 11 je zřejmé, že byl vytvořen kalibrační model s nižší hodnotou korelačního koeficientu R (0,806) a vyšší chybou RMSECV (0,677). Tato chyba je asi 2x vyšší než chyba kterou lze získat u jiných plodin, např. pšenice setá. Tento fakt si lze pravděpodobně vysvětlit nehomogenitou vzorku.

5.4 Cukry – bez hydrolýzy (tvorba kalibračního modelu)

Tvorba kalibračního modelu probíhala opět dle stejného postupu jako u předchozích parametrů. V tomto případě opět nebyla zvolena úprava spektra 1. derivací. Postup znázorňuje tabulka 12.

5.4.1 Výsledný kalibrační model – CUKRY (bez hydrolýzy)

Graf 4: Kalibrační model pro parametr Cukry (bez hydrolýzy)



Tabulka 12: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – Cukry (bez hydrolýzy)

Algoritmus	PLS
Korekce	SNV (4 000–10 000 cm ⁻¹)
Úprava	bez úprav
Region	4 250–7 280 cm ⁻¹
PLS faktory	5
R	0,769
RMSECV	1,050
Počet vzorků	107 + 9 ignore
Koncentrace	-0,95–6,30 %/s

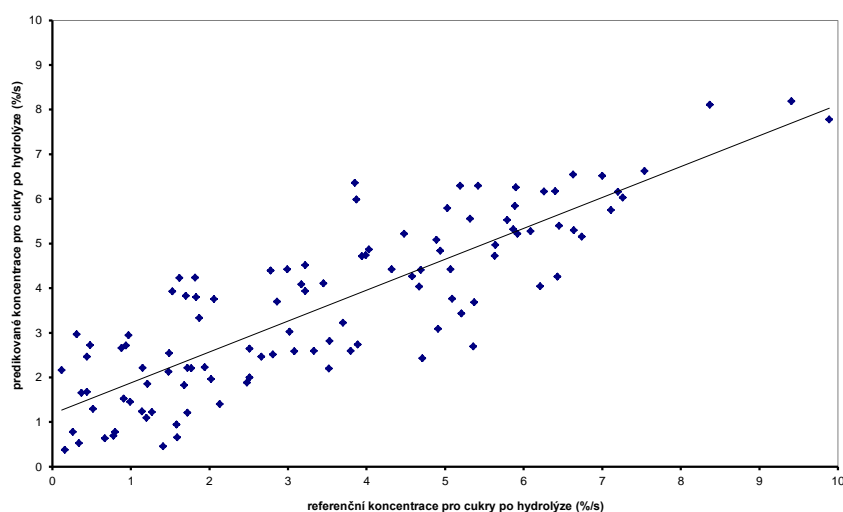
V tomto případě nebyla zvolena úprava spektra první derivací z důvodu atypického tvaru PRESS křivky, při kterém byly nabízeny pouze dva faktory a nedošlo by proto k dokonalému popsání variability celého systému. Bez derivace byl tedy optimalizován kalibrační model s 5-ti faktory. Chyba křížové validace se v tomto případě může jevit nízká (pouze okolo 1 %), ale s přihlédnutím na hodnotu R (0,769) není kalibrace pro stanovení tohoto parametru vhodná (viz diskuze). Jedním z důvodů je i nemožnost využití modelu při nízkých koncentracích tzn. u škrobnatých odrůd brambor, kdy se při přepočtu metoda NIR spektroskopie dostává až do záporných koncentrací (viz graf 4).

5.5 Cukry – po hydrolýze (tvorba kalibračního modelu)

Tvorba kalibračního modelu probíhala opět dle stejného postupu jako u předchozích parametrů. Ani v tomto případě nebyla zvolena úprava spektra 1. derivací. Postup znázorňuje tabulka 13.

5.5.1 Výsledný kalibrační model – CUKRY (po hydrolýze)

Graf 5: Kalibrační model pro parametr Cukry (po hydrolýze)



Tabulka 13: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – Cukry (po hydrolýze)

Algoritmus	PLS
Korekce	SNV (4 000–10 000 cm^{-1})
Úprava spekter	bez úprav
Region	4 230–8 800 cm^{-1}
PLS faktory	6
R	0,786
RMSECV	1,420
Počet vzorků	109 + 7 ignore
Koncentrace	0,37–8,18 %/s

Již z pohledu na kalibrační model je zřejmé, že se nejedná o optimální kalibraci; hodnoty jsou příliš odlehlé od spojnice. Dalším důkazem je i relativně vysoká chyba křížové validace a nízký korelační koeficient, z něhož dále plyne koeficient determinace (R^2) a z něj pravděpodobnost určení správných koncentrací u neznámých vzorků. Konkrétně v tomto případě bychom byli schopni predikovat pouze asi 62 % správných výsledků (viz diskuze). První derivace nebyla použita ze stejného důvodu jako v předchozím případě a to atypického tvaru PRESS křivky.

5.6 Externí validace

Pomocí statistické analýzy bylo provedeno porovnání dvou metod na základě Studentova t-testu. Tento test se používá pro srovnání výsledků dvou různých analytických metod (v mém případě referenční a metody NIR spektroskopie). Bylo provedeno testování shodnosti výsledků, na kterých se ověřovala nulová hypotéza, že rozdíl $|\bar{X}_A - \bar{X}_B|$ není statisticky významný na zvolené hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Vypočtená hodnota t byla porovnána s kritickou hodnotou t_α . Toto testování slouží zároveň jako externí validace pro převod stanovení vybraných parametrů na NIR.

V přílohách jsou zobrazeny tabulky (36–40) obsahující seznam neznámých vzorků použitých pro testování metody a zároveň také veškeré potřebné hodnoty pro následný výpočet t hodnoty Studentova testu. Jedná se o výsledky dvou metod (X_A, X_B), jejich rozdíly, průměrnou hodnotu z těchto rozdílů (\bar{D}) a v neposlední řadě také průměrné hodnoty výsledků (\bar{X}_A, \bar{X}_B).

- **Studentův t-test:**

Hladina významnosti: $\alpha = 0,05$

Kritická hodnota (13 vz): $t_\alpha = 1,782$

(Chajdiak, 1997)

Př. parametr – sušina:

$$t = |\bar{X}_A - \bar{X}_B| \sqrt{\frac{n \cdot (n - 1)}{\sum (D_i - \bar{D})^2}}$$

$$t = |29,59 - 29,31| \sqrt{\frac{13 \cdot 12}{8,98}}$$

$$t = 1,167$$

$$t_\alpha = 1,782$$

$$\underline{t \leq t_\alpha}$$

Tabulka 14: Shrnutí t-testu

Parametr	n	\bar{X}_A ref. (%/s)	\bar{X}_B NIR (%/s)	α	t	$t_{\alpha(0,05)}$
Sušina	13	29,59	29,31	0,05	1,16	1,782
Škrob	13	75,51	75,75	0,05	0,79	1,782
N-látky	13	7,70	7,80	0,05	0,86	1,782
Cukry	13	1,39	0,55	0,05	2,08	1,782
Cukry s hyd.	13	2,48	1,67	0,05	2,03	1,782

Jak lze vidět v tabulce 14 parametry jako sušina, škrob nebo N-látky mají vypočtené hodnoty t nižší než je kritická (tabulková) hodnota t_{α} . Lze tedy tvrdit, že referenční metody pro stanovení těchto parametrů a metoda NIR spektroskopie poskytují statisticky shodné výsledky. V případě stanovení cukrů se potvrdilo podezření, kdy hodnota chyby křížové validace (RMSECV) a korelační koeficient (R) poukazovali na nevhodný kalibrační model. Metody neposkytují statisticky shodné výsledky, neboť hodnoty t jsou vyšší než tabulkové t_{α} .

- **Interval spolehlivosti**

Pro stanovení intervalu spolehlivosti pro jednotlivé parametry bylo použito měření kontrolního vzorku (K_1), který byl denně připravován a analyzován NIR metodou. Celkově bylo naměřeno devět hodnot, ke kterým byl spočítán interval spolehlivosti. Ten korespondoval s výsledky měřených vzorků.

Intervalem spolehlivosti se nazývá rozmezí, v němž s určitou pravděpodobností (na zvolené hladině významnosti) leží průměrná hodnota měření.

Hladina významnosti – 0,05.

Výpočet:

$$L_{1,2} = \bar{x} \pm s \frac{t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$$

kde:

t_{α} ... kritická hodnota (pro 0,05) ... 2,306

n ... počet vzorků ... 9

\bar{x} ... průměrná koncentrace měřené složky

s ... směrodatná odchylka; vypočítá se dle vztahu:

$$s = \sqrt{\left\{ \frac{1}{n-1} \left[\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 \right] \right\}}$$

Tabulka 15: Intervaly spolehlivosti

Parametr (K ₁)	Sušina (%)	Škrob (%/s)	N-látky (%/s)	Cukry (%/s)	Cukry s h. (%/s)
	28,26	72,82	8,09	2,31	3,71
	28,78	73,53	8,08	2,11	3,36
	28,45	72,71	8,03	2,19	3,49
	28,25	72,14	8,06	1,71	4,04
	28,76	72,07	8,22	1,81	3,89
	28,63	73,82	8,36	1,98	3,24
	28,76	72,26	8,30	1,96	3,41
	28,43	73,29	8,45	1,91	3,49
	28,41	73,11	8,39	1,83	3,31
Průměr	28,60	72,95	8,29	2,06	3,72
Směrodatná odchylka	0,48	0,79	0,24	0,40	0,55
Interval spolehlivosti	± 0,37	± 0,60	± 0,19	± 0,31	± 0,42

V tabulce 15 lze vidět všechny naměřené hodnoty kontrolního vzorku včetně průměrných koncentrací, vypočtené směrodatné odchylky a i výsledné intervaly spolehlivosti.

6 DISKUZE

Bramborové hlízy jsou nehomogenním materiálem s velmi různorodým a proměnlivým složením (jak uvádí i Pelikán, 2002; Hrabě a kol., 2005; nebo Valová, 2007). Pro úspěšné stanovení všech parametrů bylo proto nutné zachovat při práci vždy stejné podmínky. Široká rozmezí u obsahů jednotlivých složek (například u sušiny od 13 až 35 % - obdobné hodnoty zmiňuje i Hrabě a kol., 2005) částečně stěžovala samotná stanovení, a to jak metodou klasickou tak NIR spektroskopií (obecně platí, a ve svém přehledu to uvádí i Lopéz a kol. (2013), že s tzv. mokrymi vzorky bývá u NIRS problém – řešením je proto velká variabilita měřících technik i možností modelování kalibračních modelů). V obou případech (ref. i NIRS) bylo z toho důvodu nutné udržet analyzovaný vzorek v homogenním stavu. Zvláště v případě NIR spektroskopie (v důsledku malé výšky reflexní plochy) muselo být měřeno pouze bramborové pyré bez jakýchkoliv větších částí brambor. V opačné situaci by byl predikovaný obsah zatížen hrubou chybou, jednalo by se o atypické spektrum.

Zajímavostí je v tomto případě několik aktuálních výzkumů snímání brambor, například Subedi s Walshem (2009) prováděli stanovení sušiny (jednalo se hlavně o brambory používané na výrobu lupínků), kdy nebyl pro stanovení použit mletý homogenizovaný vzorek, ale bramborové plátky tloušťky 1 cm. Měření bylo prováděno sondou na několika místech zmíněného plátku. Osobně se domnívám, že v takovém případě je nutné provést velké množství snímání z důvodu rozličného rozložení živin v hlíze bramboru, jak zmiňuje také Valová (2007), I proto bylo v mém případě zvoleno měření za stejných podmínek jako u ref. metody (tzn. mixovaný vzorek).

Další možnosti stanovení brambor ve zmiňovaném přehledu uvádí López a kol. (2013), kteří sumarizují tyto analýzy z minulých dekád (první analýza brambor NIR spektroskopií byla provedena roku 1988, jednalo se o vlhkost v chipsech). Do těchto výčtů autoři vytvořili tabulky pro hlavní výživové složky brambor a popsali tvorbu kalibračních modelů, tak jak byly provedeny – tzn. použitý algoritmus, validace, mód měření či výsledný koeficient determinace. Lze tak vidět, že měření stejného materiálu je NIR metodou možné v mnoha formách. Článek proto může sloužit jako podklad pro tvorbu kalibrací stejně jako porovnání pro modely již hotové. U NIR spektroskopie je totiž nutné volit nejenom co nejnižší chybu křížové validace (příp. predikce), a nejvyšší kalibrační koeficient, je ale především nutné vytvořit reálný model použitelný pro neznámé vzorky.

Co se týče odborné literatury, ta je mnohdy zaměřena na stanovení brambor pro potravinářské účely, jako například u Subediho a Walshe (2009), Ezekiel a kol. (2013) nebo Radyho a kol. (2014), tzn. jedná se buď již o hotové výrobky či polotovary, nebo je analýza prováděna na vzorcích loupaných a poté mletých a homogenizovaných. V mém případě se jednalo spíše o zemědělský pohled a tedy o vzorky celé včetně slupky, které byly umyty a dále zpracovány (viz postup přípravy vzorku). López a kol. (2013) navíc ve své práci uvádí, že nejmenší chyby predikce dosahovaly právě vzorky mixované a homogenizované.

Výsledná spektra všech změřených vzorků lze vidět na obr. 27 v Přílohách a je z nich patrné, že všechny mají standardní vzrůstající průběh, potvrzují tedy tvrzení Kukačkové (2001). Vytvořené kalibrační modely odpovídají přesností více či méně referenčním metodám. V případě sušiny se jedná o reálný model (ověření neznámými vzorky) kdy, jak již bylo zmíněno, chyba křížové validace odpovídá chybě stanovení referenční metodou. Zohledníme-li navíc korelační koeficient a z něj vypočtený koeficient determinace (R^2), jsme schopni odhadnout kolik % výsledků (u měření neznámých vzorků) jsme schopni správně predikovat ($R^2 \times 100$). Konkrétně u sušiny se jedná o 95,5 % výsledků. Pro ostatní parametry je to například 81,2 % pro škrob, ale také pouze asi 60 % pro obojí cukry (López a kol. uvádí R^2 0,43–0,82). Je tedy zřejmé, že vytvořený kalibrační model i přes snahu o co nejlepší optimalizaci, nepřinesl požadovaný výsledek a tato metoda není pro stanovení cukrů ať již bez hydrolyzy nebo s ní vhodná. Problému cukrů se věnoval už Hartmann (1998), ve své práci poukázal na velmi nejistý odhad u stanovení cukrů, a to například z důvodu nízkých obsahů a zároveň úzkého koncentračního rozsahu (viz kalibrační model cukry; cukry s h.). Zjistil také, že při analýze fruktózy a glukózy jednotlivě, metoda vykazovala vyšší chyby než při stanovení celkového obsahu těchto redukujících cukrů (stanovení fruktózy i glukózy společně bylo provedeno i mnou – metodou dle Luff-Schoorla). Důvodem (konkrétně pro glukózu) by mohla údajně být strukturální symetrie glukózy a škrobu. Stanovení cukrů tak zůstává předmětem zkoumání, který možná vyřeší nové technologie nebo možnosti vyhodnocení. V opačném případě bude nutné, v praxi, volit referenční metody.

Důvodem pro výběr různých odrůd brambor, pro mne byla, pokud možno, co nejširší škála koncentrací u stanovovaných parametrů. Pomocným prvkem bylo proto zařazení škrobnatých odrůd brambor, jelikož u nich koncentrace škrobů vzájemně silně koreluje s koncentrací cukrů. Jak již bylo zmíněno, tyto koncentrace byly tak nízké, že

při přepočtu na koncentraci predikovanou v několika případech vyšly hodnoty pod koncentračním rozsahem kalibračního modelu. Lze tak opět poukázat na zmiňovanou nejmenší možnou stanovitelnou koncentraci, kterou ve své metodice uvádí Míka (2008) a která činí 1 g/kg. Vzhledem k možnosti koupi barevných odrůd i v České republice, byla proměřena i fialová odrůda Blue star a sledován vliv její barvy na spektrum, koncentrace parametrů či jiné vlastnosti. Všechny zjištěné hodnoty byly ale srovnatelné s ostatními vzorky a ani její barevnost se žádným způsobem neprojevila ve spektru. Potvrdilo se tak, že barva vzorku není důležitá, jelikož barevné složení vzorku neovlivňuje měření v infračervené oblasti.

Optimalizace jednotlivých kalibračních modelů byla prováděna specializovaným softwarem, který umožňuje vybrat a nastavit co nejlepší podmínky pro vyladění modelu. I přesto bylo v některých případech (N-látky, cukry) nutné vyzkoušet různé varianty jako například vyhlazení segmentů spekter, zvolení konkrétních regionů spekter pro výpočet nebo vhodný počet PLS faktorů. Správnou kombinací těchto prvků se mi podařilo vymodelovat, obdobně jako jiným autorům – Subedi a Walsh (2009); Hartmann (1998), Ezekiel a kol. (2013); co nejlepší možné kalibrace (navíc reálně použitelné – kontrola na neznámých vzorcích pro externí validaci). Například právě u cukrů se pouze výběrem 1. derivace zvýšila chyba křížové validace RMSECV z 1,05 na 1,22. Je jisté, že po jakékoliv další recalibraci je nutné model opět optimalizovat. Přidáváním dalších vzorků se ale zvětšuje robustnost celého modelu a tím i jeho přesnost. Lze tedy tvrdit, že pro využití v praxi je modely možné stále upravovat a zvyšovat tím jejich predikční schopnosti.

Velmi důležitým faktem, který je nutné zde zmínit, je ten, že v našich podmínkách pracuje NIRS s koncentracemi látek v **sušině**. Pro porovnání výsledků s odbornou literaturou, například odborníků na brambory jako Hrabě a kol. (2005); Čepel a kol. (2009), Vokál a kol. (2004), která výsledky nejčastěji uvádí v původní hmotě, je tedy nutné zvolit přepočet ze sušiny zpět právě na původní hmotu. Tento výpočet není složitý a lze jej snadno provést v např. v MS Office Excelu, kam lze výsledky jednoduše exportovat.

7 ZÁVĚR

Tato diplomová práce ověřuje možnosti využití NIR spektroskopie pro stanovení hlavních parametrů u brambor. Popisuje stanovení laboratorními referenčními metodami a využití jejich výsledků pro tvorbu kalibračních modelů v NIR spektroskopii. Zároveň statisticky porovnává výsledky těchto stanovení.

Pro tvorbu modelů bylo analyzováno celkem 116 vzorků brambor různých odrůd, varného typu i ranosti. Vzorky byly stanoveny laboratorními referenčními metodami a zároveň byly měřeny metodou NIR spektroskopie. Vybranou PLS regresí byl vytvořen kalibrační model, který byl následně optimalizován korekcí SNV a vyhlazen pomocí Norrisova derivačního filtru při úpravě 1. derivací spekter. Spektrálně odlišné vzorky byly vyloučeny na základě Chauvenetova testu použitím diagnostiky Spectrum Outlier, při zohlednění vhodného množství PLS faktorů v diagnostice PRESS. Vytvořené kalibrační modely byly interně validovány křížovou validací a jejich predikční schopnost byla ověřena externí validací na 13-ti neznámých vzorcích. Studentovým t-testem pak bylo provedeno porovnání dvou metod na shodnost jejich výsledků.

Závěrem lze tedy říci, že ne všechny NIR kalibrační modely jsou vhodné pro nahrazení stávajících metod mokré chemie. Metodou NIR spektroskopie lze predikovat parametry – sušina, škrob a N-látky a je možné stanovení těchto parametrů laboratorními referenčními metodami metodou NIR spektroskopie nahradit. Kalibrační modely pro stanovení obsahů cukrů nejsou vhodné a proto je nahradit nelze.

Pro správné využití v praxi je navíc nutné kalibrační model neustále kontrolovat a aktualizovat (rekalibrovat) novými, atypickými nebo nějakým způsobem odlišnými vzorky, a tím ho kvalitativně i kvantitativně zlepšovat. A v případě, pokud by to bylo možné, hledat další možnosti stanovení komplikovaných parametrů (redukující cukry, redukující cukry po hydrolýze). To vše z důvodu snížení časové náročnosti analýzy a ekonomické úspory pro laboratoře v zemědělské oblasti.

POUŽITÁ LITERATURA

BURNS, D. A., CIURCZAK, E. W., 2008: *Handbook of Near-Infrared Analysis (Third edition)*. New York: CRC Press Taylor & Francis Group. 836 s. ISBN 978-0-8493-7393-0.

ČABAJOVÁ, K., 2009: *Rok brambor - 2008*. Brno. Diplomová práce. Nepubl. Masarykova univerzita. Lékařská fakulta. Vedoucí práce Halina Matějová. [online]. Dostupné z: http://is.muni.cz/th/136167/lf_m/. [vid. 9. 12. 2014].

ČEPL, J. a kol., 2009: *Konzumní brambory na poli, zahradě a v kuchyni*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. 203 s. ISBN 978-80-86940-23-0.

ČEPL, J. a kol., 2012: *Máme rádi brambory*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. 111 s. ISBN 978-80-7434-060-4.

ČERMÁK, V., 2013: *Metodika zkoušek užitné hodnoty*. Brno: ÚKZÚZ – Národní odrůdový úřad. 47 s. [online]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/file/112394/Brambor2013.pdf>. [vid. 15. 12. 2014]

ČERMÁK, V., 2014: *Seznam doporučených odrůd bramboru 2014*. Brno: ÚKZÚZ – Národní odrůdový úřad. 104 s. ISBN 978-80-7401-087-3.

ČIŽMÁR, D., 2006: *Využití NIR spektroskopie v zemědělské analytice*. Brno. Doktorská disertační práce. Nepubl. MZLU v Brně. Agronomická fakulta. Vedoucí práce Vlastimil Kubáň. 132 s.

DOMKÁŘOVÁ, J., HORÁČKOVÁ, V., HABĚTÍNEK, J., 2003: Úroveň a vývojové trendy stolní hodnoty odrůd *Solanum Tuberosum* L. v genofondu bramboru. s. 31–45. In: *Vědecké práce 14*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. 160 s.

ECKSCHLAGER, K. a kol., 1980: *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*. Praha: SNTL. 223 s.

EZEKIEL, R. a kol., 2013: Beneficial phytochemicals in potato – a review. *Food Research International*, 50 (2): 487–496. ISSN 0963-9969.

GREMLICH, H.-U., YAN, B., 2001: *Infrared and Raman spectroscopy of biological materials*. New York: Marcel Dekker Inc. 600 s. ISBN 0-8247-0409-6.

HARTMANN, R., BÜNING-PFAUE, H., 1998: NIR determination of potato constituents. *Potato Research*. 41 (4): 327–334. ISSN 1871-4528.

HEJTMÁNKOVÁ, K., 2011: *Vliv faktorů na obsah vybraných ukazatelů jakosti hlíz brambor*. Praha. Doktorská disertační práce. Nepubl. Česká zemědělská univerzita v Praze. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Katedra chemie. Vedoucí práce Jaromír Lachman.

HODONSKÁ, A., 2008: *Senzorická analýza brambor*. Zlín. Bakalářská práce. Nepubl. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Vedoucí práce Monika Černá.

HOUBA, M., 2004: *Sadba brambor*. Beroun: MH Beroun. 102 s. ISBN 80-86720-10-1.

HRABĚ, J., ROP, O., HOZA, I., 2005: *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická. 178 s. ISBN 80-7318-372-2.

HRBEK, J., KOBES, Z., 2013: *Spotřeba potravin*. In: Český statistický úřad. [online]. Dostupné z:

https://www.czso.cz/documents/10180/23207694/csu_tk_potraviny_prezentace.pdf/0045924e-4745-4499-a9b5-aaf26a780c6b?version=1.0. [vid. 7. 4. 2015].
a http://www.czso.cz/csu/tz.nsf/i/spotreba_potravin_klesa_20131205. aktualizováno: 5. 12. 2013. [vid. 2. 11. 2014].

HURBURGH, CH. R., IGNE, B., 2010: *The New Guidance Method for Calibration, Validation and Use of Near Infrared Analyzers*. Iowa State University. 24 s. [online]. Dostupné z: http://www.aocs.org/files/AMPresentation/37961_fulltext.pdf. [vid. 26. 3. 2015].

CHAJDIÁK, J. a kol., 1997: *Štatistické metódy v praxi*. Bratislava: Statis. [online]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/user-files/intranet/tabulky-1-1316614942.pdf>. [vid. 5. 3. 2015].

KANIA, P., 2007: *Infračervená spektrometrie*. Praha: VŠCHT. 41 s. [online]. Dostupné z: http://www.vscht.cz/anl/lach1/7_IC.pdf. [vid. 5. 1. 2015].

KLOUDA, P., 2003: *Moderní analytické metody*. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

- KOLEKTIV AUTORŮ, 2014: *Zemědělství 2013*. Praha: Ministerstvo zemědělství. 134 s. ISBN 978-80-7434-151-9. [online]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/324206/Publikace_Zemedelstvi_2013_web.pdf. <http://eagri.cz/public/web/mze/ministerstvo-zemedelstvi/vyrocnni-a-hodnotici-zpravy/publikace-zemedelstvi/zemedelstvi-2013.html>. [vid. 15. 3. 2015].
- KOZELKOVÁ, M., 2012: *Využití FT NIR spektroskopie v mlékárenském průmyslu*. Brno. Doktorská disertační práce. Nepubl. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta. Ústav technologie potravin. Vedoucí práce Květoslava Šustová.
- KUKAČKOVÁ, O., 2001: *Aplikační možnosti NIR spektroskopie při kontrole mléka a mlékárenských výrobků*. Doktorská disertační práce. Nepubl. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Ústav chemie a technologie sacharidů. Vedoucí práce Ladislav Čurda.
- LACHMAN, J., HAMOUZ, K., ORSÁK, M., 2005: Červeně a modře zbarvené brambory – významný zdroj antioxidantů v lidské výživě. *Chemické listy*. 99 (7): 474–482. ISSN 0009-2770.
- LÓPEZ, A. a kol., 2013: A review of the application of Near-Infrared Spectroscopy for the analysis of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 61 (23): 5413–5424.
- LUTALADIO, N., CASTALDI L., 2009: Potato: Hidden treasure. *Journal of Food Composition and Analysis*. 22 (6): 491–493. ISSN 0889-1575.
- MACHAČNÝ, J., 2007: *Vybrané chemické výroby*. Liberec. Podještědské gymnázium. [online]. Dostupné z: <http://pjlbc.cz/files/chv/slovník/skrob.html>. [vid. 16. 11. 2014].
- MELOUN, M., MILITKÝ, J., 2004: *Statistická analýza experimentálních dat*. Praha: Academia. ISBN 80-200-1254-0. 953 s. [online] Dostupné z: <http://meloun.upce.cz/docs/books/ucebnice-sken.pdf> [vid. 25. 3. 2015].
- MÍKA, V. a kol., 2008: *Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR)*. Výběr praktických aplikací v zemědělství. Metodika pro praxi. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i. 48 s. ISBN 978-80-87011-53-9.

- NICOLAÏ, B. M. a kol., 2007: Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*. 46 (2007):99–118. ISSN 0925-5214.
- PELIKÁN, M. a kol., 2002: *Technologie sacharidů*. Brno: MZLU. 152 s. ISBN 80-7157-407-4.
- RADY, A. M. a kol., 2014: The potential use of visible/near infrared spectroscopy and hyperspectral imaging to predict processing-related constituents of potatoes. *Journal of Food Engineering*. 135 (2014): 11–25.
- RÝC, J., 2011: *Michelsonův interferometr*. Brno. Diplomová práce. Nepubl. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií. Ústav automatizace a měřicí techniky. Vedoucí práce Zdeněk Havránek.
- SIESLER, H. W. a kol., 2006: *Near-Infrared Spectroscopy: Principals, Instruments, Applications*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH. 348 s. ISBN 3-527-30149-6.
- SLAMĚNÍKOVÁ, H., 2010: *Nové trendy ve výrobě bramborového škrobu a výrobky z něj*. Zlín. Bakalářská práce. Nepubl. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Ústav biochemie a analýzy potravin. Vedoucí práce Iva Burešová.
- SUBEDI, P. P., WALSH, K. B., 2009: Assessment of potato dry matter concentration using short-wave Near-Infrared Spectroscopy. *Potato Research*. 52 (1): 67–77. ISSN 1871-4528.
- VALOVÁ, B., 2007: *Vliv mědi a zinku na chemické složení bramborových hlíz*. Zlín. Diplomová práce. Nepubl. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Ústav potravinářského inženýrství. Vedoucí práce Otakar Rop.
- VOKÁL, B. a kol., 2004: *Technologie pěstování brambor*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací. 91 s. ISBN 80-7271-155-5.
- ZRŮST, J. a kol., 2003: Obsah glykoalkaloidů v potravinářských výrobcích z brambor. s. 145-153. In: *Vědecké práce 14*. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský. 160 s.

Legislativa:

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 152/2009 ze dne 27. ledna 2009, kterým se stanoví metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv. *Úřední věstník Evropské unie*. L 54. CS verze dokumentu z 26. 2. 2009. [online]. Dostupné z: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/;ELX_SESSIONID=84FNJb6p6JB0b2ywJQkflrTbhbK9QFMN4vNYG3J3JM6tFwqcpChX!1721778893?uri=CELEX:32009R0152. [vid. 20. 1. 2015].

ČSN 46 70 92-3: Metody zkoušení krmiv - Část 3: Stanovení obsahu vlhkosti. 1999.

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÉ UNIE L 54/47-49. [online]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/246736/_83_Stanoveni_obsahu_skrobu_Pril_IIIL.pdf. [vid. 20. 1. 2015].

http://eagri.cz/public/web/file/246153/_11_Stanoveni_obsahu_dusikatych_latek_Pril_IIC.pdf. [vid. 22. 1. 2015].

http://eagri.cz/public/web/file/246181/_81_Stanoveni_obsahu_cukru_Pril_IIIJ.pdf. [vid. 24. 1. 2015].

ČSN ISO 1871: Potraviny a krmiva - Obecné pokyny pro stanovení dusíku metodou podle Kjeldahla. 10/2010.

VYHLÁŠKA č. 291/2010 Sb., kterou se mění vyhláška č. 157/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování. *Sbírka zákonů*. 2010.

ZÁKON č. 219/2003 Sb., o uvádění do oběhu osiva a sadby pěstovaných rostlin a o změně některých zákonů (zákon o oběhu osiva a sadby). *Sbírka zákonů*. 2003.

VYHLÁŠKA č. 129/2012 Sb., o podrobnostech uvádění osiva a sadby pěstovaných rostlin do oběhu. *Sbírka zákonů*. 2012.

VYHLÁŠKA č. 61/2011 Sb., o požadavcích na odběr vzorků, postupy a metody zkoušení osiva a sadby. *Sbírka zákonů*. 2011.

SMĚRNICE RADY 2002/56/ES o uvádění sadby brambor na trh. *Úřední věstník L 193*. 20/07/2002, s. 0060 – 0073. [online]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32002L0056>. [vid. 10. 1. 2015].

SMĚRNICE RADY 2002/53/ES o Společném katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin. *Úřední věstník L 19*. 20/07/2002, s. 0001 – 0011. [online]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32002L0053>. [vid. 11. 1. 2015].

SEZNAM DOPORUČENÝCH ODRŮD. ÚKZÚZ Brno, 2014. [online]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/seznam-doporucenych-odrud/>. ©2009-2014, MZe. [vid. 11. 1. 2015].

STÁTNÍ ODRŮDOVÁ KNIHA. ÚKZÚZ Brno, 2014. [online]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/informace-o-odrudach/odrudy-registrovane-v-cr/seznam-odrud/>;
http://eagri.cz/public/web/file/247574/SO_NL_2014.pdf. ©2009-2014, MZe. [vid. 11. 1. 2015].

SPOLEČNÝ KATALOG ODRŮD ZEMĚDĚLSKÝCH ROSTLIN, (dle směrnice Rady 2002/53/ES). [online]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/informace-o-odrudach/spolecny-katalog-odrud/zemedelske-rostliny/>. ©2009-2014, MZe. [vid. 11. 1. 2015].

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Tvary hlíz (upraveno dle Čepl a kol., 2009).....	13
Obr. 2: Řez bramborovou hlízou (Valová, 2007)	13
Obr. 3: Zastoupení jednotlivých živin v bramborové hlíze (Valová, 2007).....	14
Obr. 4: Amylóza (lineární α -D-(1→4)-glukan, stupeň polymerace je 1000–4500 glukózových jednotek) (Machačný, 2007)	16
Obr. 5: Amylopektin (Řetězce D-glukózových jednotek vázaných α -(1→4) vazbou, na ně se po cca 25 jednotkách větví vazbou α -(1→6) postranní řetězce. Stupeň polymerace je 50 000 až 1 000 000 glukózových jednotek) (Machačný, 2007).....	16
Obr. 6: Fialová odrůda brambor – Valfi (Čepl a kol., 2012)	20
Obr. 7: Varné typy konzumních brambor (Čepl a kol., 2012).....	22
Obr. 8: Schéma šlechtění, kontroly a využití brambor (Houba, 2004).....	25
Obr. 9: „Fingerprint“ (spektra kyseliny acetylsalicylové (farmacie), celulóza (zemědělství) (Burns, Ciurczak, 2008)	26
Obr. 10: Vývoj NIR spektroskopie v závislosti na vývoji technického vybavení (Siesler a kol., 2006)	27
Obr. 11: Transmitance (Burns, Ciurczak, 2008).....	30
Obr. 12: Difúzní reflektance (Burns, Ciurczak, 2008)	30
Obr. 13: Transreflektance (Kozelková, 2012)	31
Obr. 14: Interaktance (Kozelková, 2012)	31
Obr. 15 a 16: Schémata filtrových spektrometrů (Burns, Ciurczak, 2008)	32
Obr. 17: Schéma jednopaprskového disperzního spektrometru (Klouda, 2003).....	33
Obr. 18: Michelsonův interferometr (Rýc, 2011)	33
Obr. 19: Schematické znázornění interference dvou monochromatických vlnění a jeho převedení na spektrum (Klouda, 2003).....	35
Obr. 20: Schéma tvorby kalibrace (Kozelková, 2012 – zdroj Hurburg, Igne, 2010)	38
Obr. 21: Diagnostika – Spectrum outlier	52
Obr. 22: Neupravené spektrum, 1. derivace spektra, 2. derivace spektra.....	53
Obr. 23: Diagnostika PRESS pro parametr – sušina	54
Obr. 24: Spektrometr Nicolet Antaris	85
Obr. 25: Transreflektanční kyveta pro měření vzorků brambor	85
Obr. 26: Výběr vhodného regionu	86
Obr. 27: Spektra všech vzorků (včetně nevyhovujícího Presto – rok 2014)	86

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Rozdělení brambor dle varných typů (Vokál, 2004)	21
Tabulka 2: Nejrozšířenější konzumní brambory v ČR v roce 2012 (Čepl a kol., 2012)	23
Tabulka 3: Rozdělení IR oblasti (Kozelková, 2012)	28
Tabulka 4: Přehled stanovovaných parametrů včetně zjištěných koncentrací	43
Tabulka 5: Opakovatelnost pro stanovení obsahu škrobu (Věstník EU L54; 2009)	46
Tabulka 6: Opakovatelnost pro stanovení N-látek (Věstník EU L54; 2009)	47
Tabulka 7: Rozdíl spotřeb odměrného roztoku Na ₂ S ₂ O ₃ (Věstník EU L54; 2009).....	49
Tabulka 8: Opakovatelnost pro stanovení cukrů (Věstník EU L54; 2009)	50
Tabulka 9: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – sušina	55
Tabulka 10: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – škrob	56
Tabulka 11: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – N-látky.....	57
Tabulka 12: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – Cukry (bez hydrolýzy) ...	58
Tabulka 13: Kvantitativní parametry kalibračního modelu – Cukry (po hydrolýze)	59
Tabulka 14: Shrnutí t-testu	60
Tabulka 15: Intervaly spolehlivosti	62
Tabulka 16: 1. kalibrace 2012 – sušina.....	77
Tabulka 17: Rekalibrace 2012 – sušina (s názvem odrůdy)	77
Tabulka 18: Rekalibrace 2013 – sušina	78
Tabulka 19: Rekalibrace 2014 – sušina	78
Tabulka 20: Rekalibrace 2014 – sušina (škrobnatý sortiment).....	78
Tabulka 21: 1. kalibrace 2012 – škrob.....	79
Tabulka 22: Rekalibrace 2012 – škrob (s názvem odrůdy)	79
Tabulka 23: Rekalibrace 2013 – škrob	80
Tabulka 24: Rekalibrace 2014 – škrob	80
Tabulka 25: Rekalibrace 2014 – škrob (škrobnatý sortiment).....	80
Tabulka 26: 1. kalibrace 2012 – N-látky	81
Tabulka 27: Rekalibrace 2012 – N-látky (s názvem odrůdy).....	81
Tabulka 28: Rekalibrace 2013 – N-látky.....	82
Tabulka 29: Rekalibrace 2014 – N-látky.....	82
Tabulka 30: Rekalibrace 2014 – N-látky (škrobnatý sortiment)	82
Tabulka 31: 1. kalibrace 2012 – cukry	83

Tabulka 32: Rekalibrace 2012 – cukry (s názvem odrůdy)	83
Tabulka 33: Rekalibrace 2013 – cukry	84
Tabulka 34: Rekalibrace 2014 – cukry	84
Tabulka 35: Rekalibrace 2014 – cukry (škrobnatý sortiment)	84
Tabulka 36: Statistické porovnání metod – sušina	86
Tabulka 37: Statistické porovnání metod – škrob	87
Tabulka 38: Statistické porovnání metod – N-látky	87
Tabulka 39: Statistické porovnání metod – cukry (bez hydrolýzy).....	88
Tabulka 40: Statistické porovnání metod – cukry s hydrolýzou	88

SEZNAM ZKRATEK

č. h.	čerstvá hmota
GA	glykoalkaloidy
ÚKZÚZ	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
MZe	Ministerstvo zemědělství
VÚB	Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod
SDO	Seznam doporučených odrůd
ČSN	Česká technická norma (dříve Československá norma)
ISO	International Organization for Standardization (Mezinárodní organizace pro normalizaci)
UV/VIS	ultraviolet/visible (ultrafialová/viditelná oblast záření)
IR	infrared (infračervené záření)
NIR	near-infrared (blízká oblast infračerveného záření)
MIR	mid-infrared (střední oblast infračerveného záření)
FIR	far-infrared (daleká oblast infračerveného záření)
AOTS	acousto-optical tunable spectrometer/scopy (akustické přístroje)
FT	Fourierova transformace
TGS	detektor – triglycinsulfát
DTGS	detektor – deuterovaný triglycinsulfát
MCT	detektor – mercury-cadmium-telluride
PLS	partial least-squares (metoda částečných nejmenších čtverců)
KPLS	kernel partial least-squares (k. metoda nejmenších čtverců)
LS-SVM	least squares – support vector machines
SNV	standard normal variate (normalizovaná optická dráha)
RMSEC	root-mean-square error of calibration (střední kvadratická chyba kalibrace)
RMSECV	root-mean-square error of cross validation (střední kvadratická chyba křížové validace)
R	korelační koeficient
PRESS	predicted residual sum of squares
PCA	principal component analysis (analýza hlavních komponent)

PŘÍLOHY

Tabulka 16: 1. kalibrace 2012 – sušina

2012				
Číslo vzorku	Sušina [%]			Průměrná hodnota [%]
1	20,37	20,75	20,31	20,48
2	25,24	24,89	25,32	25,15
3	20,53	20,33	20,62	20,49
4	22,40	22,08	22,22	22,23
5	21,25	21,02	21,05	21,11
6	24,72	24,69	24,52	24,64
7	25,58	25,41	25,44	25,48
8	23,55	23,38	23,27	23,40
9	24,24	24,07	23,77	24,03
10	21,13	21,02	21,21	21,12
11	19,28	19,19	19,07	19,18
12	22,74	22,69	22,82	22,75
13	20,81	20,55	20,86	20,74
14	23,17	22,94	23,27	23,13
15	20,60	20,57	20,40	20,52
16	21,69	21,56	21,54	21,60
17	32,62	32,57	32,49	32,56
18	32,04	31,72	32,24	32,00
19	23,15	22,86	23,00	23,00
20	19,26	19,19	19,12	19,19
21	28,98	29,00	28,81	28,93
22	24,03	23,77	23,84	23,88
23	28,47	28,42	28,32	28,40
24	22,95	22,61	22,60	22,72
25	25,35	25,02	25,25	25,21
26	23,99	23,59	23,86	23,81
27	23,10	22,91	22,85	22,95
28	24,18	24,54	24,32	24,35
29	35,48	35,51	35,69	35,56
30	24,17	24,08	23,94	24,06
31	25,05	25,33	24,90	25,09
32	28,79	28,37	28,63	28,60
33	23,46	23,41	23,35	23,41
34	30,75	30,98	30,84	30,86
35	24,14	23,55	23,30	23,66
36	22,02	22,10	22,06	22,06
37	23,25	22,96	22,99	23,07
38	28,24	28,62	28,04	28,30
39	30,20	30,52	30,25	30,32
40	35,04	34,89	34,85	34,93

Pozn. sklizeň 2012 (bez názvu odrůdy)

(tvorba 1. kalibračního modelu)

2012				
Číslo vzorku	Sušina [%]			Průměrná hodnota [%]
41	33,10	33,15	33,14	33,13
42	31,93	32,13	31,78	31,95
43	25,25	25,01	24,95	25,07
44	22,98	23,05	22,77	22,93
45	31,46	31,66	31,56	31,56
46	26,86	26,37	26,70	26,64
47	26,35	26,32	26,38	26,35
48	24,99	24,90	24,85	24,91
49	20,31	19,95	19,88	20,05
50	21,01	20,72	20,81	20,85

Tabulka 17: Rekalibrace 2012 – sušina

(s názvem odrůdy)

2012				
Název odrůdy	Sušina [%]			Průměrná hodnota [%]
Raketa	17,34	17,59	17,50	17,48
Velox	19,38	19,40	19,41	19,40
Presto	16,78	16,82	16,66	16,75
Marika	16,22	16,04	15,95	16,07
Magda	19,25	19,30	18,93	19,16
Solist	19,48	19,36	19,29	19,38
Valetta	16,19	16,17	16,13	16,16
Saline	19,50	19,18	19,08	19,25
Capri	18,36	18,00	17,76	18,04
Primarosa	16,65	16,56	16,31	16,51
Dali	16,51	16,46	16,31	16,43
Secura	18,88	18,80	18,68	18,79
Adéla	17,03	17,04	17,04	17,04
Marabel	17,34	17,41	17,36	17,37
Santana	20,39	20,38	20,28	20,35
Belana	19,58	19,45	19,73	19,59
Annabelle	16,92	16,92	16,91	16,92
Barbora	17,85	18,45	18,17	18,16
Bohemia	18,47	18,60	18,99	18,69
Solo	19,95	20,01	19,92	19,96

Tabulka 18: Rekalibrace 2013 - sušina

2013				
Název odrůdy	Sušina [%]			Průměrná hodnota [%]
Agáta-t.s.	15,43	17,20	16,23	16,29
Barber	18,09	17,61	17,34	17,68
Carre	18,04	17,83	17,64	17,84
O-tržní síť	17,81	17,31	17,62	17,58
Vivaldi	13,42	13,26	13,22	13,30
Everest	20,91	20,74	20,69	20,78
Monika	18,55	18,63	18,82	18,67
Presto	20,04	19,74	19,64	19,81
Solist	20,14	20,16	20,38	20,23
Suzan	21,63	21,13	21,10	21,29
Velox	19,50	18,94	18,72	19,05
Alice	16,98	17,69	18,08	17,58
Dicolora	16,68	16,73	16,79	16,73
Secura	19,80	19,73	19,05	19,53
Ramos	19,69	19,50	19,52	19,57

Tabulka 19: Rekalibrace 2014 - sušina

2014				
Název odrůdy	Sušina [%]			Průměrná hodnota [%]
Velox	16,18	16,33	16,54	16,35
Presto	14,78	14,63	14,78	14,73
Monika	15,42	15,44	15,13	15,33
Berber	17,82	17,30	17,43	17,52
Bellarosa	16,37	16,37	16,15	16,30
Flavia	15,16	15,13	14,86	15,05
Everest	15,65	15,53	15,37	15,52
Suzan	17,44	17,21	17,27	17,31
Primarosa	15,66	15,47	15,38	15,50
Capri	15,20	15,13	15,27	15,20
Alice	13,31	13,34	13,21	13,29
Julinka	15,73	15,66	15,68	15,69
Annabelle	15,51	15,30	15,31	15,37
Secura	16,88	16,80	16,63	16,77
Ramos	15,46	15,24	15,32	15,34
Blue Star-t.s.	21,49	21,28	21,57	21,45

Tabulka 20: Rekalibrace 2014 - sušina

(škrobnatý sortiment)

2014				
Název odrůdy	Sušina [%]			Průměrná hodnota [%]
Tomesa	28,98	28,82	28,54	28,78
David	30,87	30,75	30,22	30,61
Verdi	27,89	27,67	27,58	27,71
Krumlov	27,82	27,83	27,64	27,76
Westamul	30,65	30,19	30,29	30,38
Arabela	28,92	28,74	28,54	28,73
Bernard	28,76	28,66	28,57	28,66
Borek	29,90	29,76	29,32	29,66
Dominátor	26,57	26,32	26,11	26,33
Fabia	27,51	27,22	27,39	27,37
Ornella	27,71	27,30	27,33	27,45
Poutník	28,18	27,71	27,79	27,89
Priamos	29,31	29,32	29,30	29,31
Rebel	29,92	29,86	29,61	29,80
Verne	30,22	30,04	30,07	30,11

Tabulka 21: 1. kalibrace 2012 – škrob

2012				
Číslo vzorku	Škrob [%]		Průměrná hodnota [%]	Škrob/s [%]
1	14,79	14,53	14,66	71,58
2	17,81	17,72	17,77	70,66
3	14,26	14,26	14,26	69,59
4	16,83	16,74	16,79	75,53
5	14,79	14,97	14,88	70,49
6	17,89	17,81	17,85	72,44
7	19,05	19,31	19,18	75,27
8	16,57	16,74	16,66	71,20
9	17,10	16,74	16,92	70,41
10	14,71	14,53	14,62	69,22
11	13,64	13,73	13,69	71,38
12	16,30	16,03	16,17	71,08
13	14,62	14,97	14,80	71,36
14	16,92	16,74	16,83	72,76
15	14,53	14,35	14,44	70,37
16	14,97	14,79	14,88	68,89
17	25,87	26,22	26,05	80,01
18	24,72	24,45	24,59	76,84
19	16,48	16,57	16,53	71,87
20	12,67	12,58	12,63	65,82
21	21,88	21,79	21,84	75,49
22	17,81	17,54	17,68	74,04
23	22,24	22,32	22,28	78,45
24	16,65	16,83	16,74	73,68
25	18,25	18,34	18,30	72,59
26	17,54	17,63	17,59	73,88
27	17,36	17,27	17,32	75,47
28	18,78	18,96	18,87	77,49
29	28,26	27,91	28,09	78,99
30	17,98	18,25	18,12	75,31
31	18,25	18,60	18,43	73,46
32	20,20	20,20	20,20	70,63
33	17,36	17,45	17,41	74,37
34	23,74	23,92	23,83	77,22
35	18,07	17,89	17,98	76,74
36	15,95	16,12	16,04	72,71
37	17,27	17,10	17,19	74,51
38	21,08	21,17	21,13	74,66
39	24,01	23,30	23,66	78,03
40	27,73	27,82	27,78	79,53

Pozn. sklizeň 2012 (bez názvu odrůdy)

(tvorba 1. kalibračního modelu)

2012				
Číslo vzorku	Škrob [%]		Průměrná hodnota [%]	Škrob/s [%]
41	25,51	25,51	25,51	77,00
42	24,80	25,25	25,03	78,34
43	18,25	18,51	18,38	73,31
44	17,27	17,19	17,23	75,14
45	24,98	24,80	24,89	78,87
46	19,05	18,78	18,92	71,02
47	18,96	18,87	18,92	71,80
48	16,21	16,21	16,21	65,07
49	14,09	13,91	14,00	69,83
50	15,15	15,15	15,15	72,66

Tabulka 22: Rekalibrace 2012 – škrob

(s názvem odrůdy)

2012				
Název odrůdy	Škrob [%]		Průměrná hodnota [%]	Škrob/s [%]
Raketa	11,87	11,87	11,87	67,91
Velox	14,26	14,35	14,31	73,76
Presto	11,87	11,69	11,78	70,33
Marika	10,98	11,16	11,07	68,89
Magda	14,44	14,62	14,53	75,84
Solist	14,00	13,82	13,91	71,78
Valetta	10,63	10,54	10,59	65,53
Saline	13,55	13,55	13,55	70,39
Capri	13,29	13,11	13,20	73,17
Primarosa	11,52	11,60	11,56	70,02
Dali	11,07	10,81	10,94	66,59
Secura	12,93	12,93	12,93	68,81
Adéla	10,72	10,63	10,68	62,68
Marabel	11,16	11,16	11,16	64,25
Santana	14,79	14,62	14,71	72,29
Belana	13,55	13,55	13,55	69,17
Annabelle	11,16	11,25	11,21	66,25
Barbora	12,05	11,96	12,01	66,13
Bohemia	12,23	12,31	12,27	65,65
Solo	14,44	14,26	14,35	71,89

Tabulka 23: Rekalibrace 2013 - škrob

2013				
Název odrůdy	Škrob [%]		Průměrná hodnota [%]	Škrob/s [%]
Agáta-t.s.	10,98	11,12	11,05	67,83
Barber	12,76	12,49	12,63	71,44
Carre	12,85	12,67	12,76	71,52
O-tržní síť	12,05	11,78	11,92	67,80
Vivaldi	8,59	8,42	8,51	63,98
Everest	15,33	15,02	15,18	73,05
Monika	12,62	12,62	12,62	67,60
Presto	14,44	14,09	14,27	72,03
Solist	14,88	14,66	14,77	73,01
Suzan	15,50	15,50	15,50	72,80
Velox	13,38	13,42	13,40	70,34
Alice	11,69	11,87	11,78	67,01
Dicolora	10,85	10,63	10,74	64,20
Secura	13,29	13,55	13,42	68,71
Ramos	12,85	12,93	12,89	65,87

Tabulka 24: Rekalibrace 2014 - škrob

2014				
Název odrůdy	Škrob [%]		Průměrná hodnota [%]	Škrob/s [%]
Velox	11,87	11,60	11,74	71,80
Presto	9,48	9,12	9,30	63,14
Monika	10,45	10,10	10,28	67,06
Berber	12,85	12,76	12,81	73,12
Bellarosa	10,81	11,07	10,94	67,12
Flavia	9,97	9,74	9,86	65,51
Everest	9,66	9,61	9,64	62,11
Suzan	12,58	12,40	12,49	72,15
Primarosa	10,41	10,50	10,46	67,48
Capri	10,10	10,10	10,10	66,45
Alice	7,80	7,62	7,71	58,01
Julinka	10,19	10,10	10,15	64,69
Annabelle	10,19	9,92	10,06	65,45
Secura	11,25	11,16	11,21	66,85
Ramos	10,28	10,28	10,28	67,01
Blue Star-t.s.	15,24	15,50	15,37	71,66

Tabulka 25: Rekalibrace 2014 – škrob (škrobnatý sortiment)

2014				
Název odrůdy	Škrob [%]		Průměrná hodnota [%]	Škrob/s [%]
Tomesa	22,01	21,93	21,97	76,34
David	24,54	24,27	24,41	79,75
Verdi	21,35	21,08	21,22	76,58
Krumlov	21,57	21,39	21,48	77,38
Westamul	24,14	23,96	24,05	79,16
Arabela	22,50	22,06	22,28	77,55
Bernard	21,00	20,73	20,87	72,82
Borek	23,12	23,21	23,17	78,12
Dominátor	20,69	20,38	20,54	78,01
Fabia	20,64	20,29	20,47	74,79
Ornella	21,35	21,00	21,18	77,16
Poutník	21,44	21,35	21,40	76,73
Priamos	23,30	23,21	23,26	79,36
Rebel	23,65	23,21	23,43	78,62
Verne	23,30	23,03	23,17	76,95

Tabulka 26: 1. kalibrace 2012 – N-látky

2012				
Číslo vzorku	N-látky [%]		Průměrná hodnota [%]	N-látky/s [%]
	1	1,99		
2	2,36	2,38	2,37	9,42
3	2,07	2,06	2,07	10,10
4	1,61	1,61	1,61	7,24
5	1,74	1,74	1,74	8,24
6	1,89	1,89	1,89	7,67
7	2,10	2,10	2,10	8,24
8	1,84	1,88	1,86	7,95
9	2,17	2,15	2,16	8,99
10	1,91	1,90	1,91	9,04
11	1,95	1,95	1,95	10,17
12	1,96	1,99	1,98	8,66
13	1,81	1,82	1,82	8,78
14	2,20	2,21	2,21	9,55
15	1,67	1,67	1,67	8,14
16	1,94	1,92	1,93	8,94
17	2,11	2,13	2,12	6,51
18	2,51	2,53	2,52	7,88
19	2,05	2,09	2,07	9,00
20	1,92	1,92	1,92	10,01
21	2,52	2,54	2,53	8,75
22	2,24	-	2,24	9,38
23	2,23	2,29	2,26	7,96
24	1,98	1,98	1,98	8,71
25	2,48	2,48	2,48	9,84
26	2,02	1,99	2,01	8,40
27	1,92	1,92	1,92	8,37
28	2,39	2,39	2,39	9,82
29	2,24	2,26	2,25	6,33
30	1,68	1,69	1,69	7,02
31	2,46	2,45	2,46	9,76
32	2,94	2,91	2,93	10,24
33	2,09	2,10	2,10	8,93
34	2,35	2,35	2,35	7,62
35	1,69	1,73	1,71	7,30
36	1,79	1,80	1,80	8,16
37	2,55	2,55	2,55	11,05
38	2,56	2,54	2,55	9,01
39	2,56	2,57	2,57	8,44
40	2,64	2,69	2,67	7,62

Pozn. sklizeň 2012 (bez názvu odrůdy)

(tvorba 1. kalibračního modelu)

2012				
Číslo vzorku	N-látky [%]		Průměrná hodnota [%]	N-látky/s [%]
	41	1,85		
42	2,00	2,02	2,01	6,29
43	1,97	1,99	1,98	7,90
44	1,76	1,77	1,77	7,72
45	2,22	2,23	2,23	7,03
46	2,27	2,25	2,26	8,48
47	2,06	2,06	2,06	7,82
48	2,44	2,46	2,45	9,84
49	2,04	2,03	2,04	10,17
50	2,27	2,34	2,31	11,03

Tabulka 27: Rekalibrace 2012 – N-látky

(s názvem odrůdy)

2012				
Název odrůdy	N-látky [%]		Průměrná hodnota [%]	N-látky/s [%]
	Raketa	1,69		
Velox	1,67	1,65	1,66	8,56
Presto	1,54	1,53	1,54	9,13
Marika	1,61	1,61	1,61	10,02
Magda	1,57	1,57	1,57	8,19
Solist	1,59	1,58	1,59	8,15
Valetta	1,60	1,64	1,62	10,02
Saline	1,98	1,99	1,99	10,34
Capri	1,86	1,87	1,87	10,31
Primarosa	1,67	1,69	1,68	10,18
Dali	1,71	1,69	1,70	10,35
Secura	1,96	1,95	1,96	10,43
Adéla	1,79	1,77	1,78	10,45
Marabel	1,89	1,88	1,89	10,82
Santana	1,80	1,84	1,82	8,94
Belana	1,88	1,89	1,89	9,60
Annabelle	1,79	1,78	1,79	10,58
Barbora	2,05	2,03	2,04	11,23
Bohemia	1,86	1,87	1,87	10,01
Solo	2,05	2,05	2,05	10,27

Tabulka 28: Rekalibrace 2013 – N-látky

2013				
Název odrůdy	N-látky [%]		Průměrná hodnota [%]	N-látky/s [%]
Agáta-t.s.	1,57	1,57	1,57	9,64
Barber	1,42	1,41	1,42	8,03
Carre	1,57	1,57	1,57	8,80
O-tržní síť	1,41	1,41	1,41	8,02
Vivaldi	1,23	1,23	1,23	9,25
Everest	1,79	1,78	1,79	8,61
Monika	1,27	1,28	1,28	6,80
Presto	1,58	1,57	1,58	7,98
Solist	1,71	1,75	1,73	8,55
Suzan	1,50	1,51	1,51	7,09
Velox	1,46	1,46	1,46	7,66
Alice	1,25	1,25	1,25	7,11
Dicolora	1,47	1,47	1,47	8,79
Secura	1,57	1,58	1,58	8,09
Ramos	1,83	1,84	1,84	9,40

Tabulka 30: Rekalibrace 2014 – N-látky

(škrobnatý sortiment)

Tabulka 29: Rekalibrace 2014 – N-látky

2014				
Název odrůdy	N-látky [%]		Průměrná hodnota [%]	N-látky/s [%]
Velox	1,58	1,58	1,58	9,66
Presto	1,37	1,37	1,37	9,30
Monika	1,70	1,66	1,68	10,96
Berber	1,49	1,49	1,49	8,50
Bellarosa	1,83	1,85	1,84	11,29
Flavia	1,63	1,65	1,64	10,90
Everest	1,63	1,67	1,65	10,63
Suzan	1,62	1,60	1,61	9,30
Primarosa	1,43	1,42	1,43	9,23
Capri	1,72	1,73	1,73	11,38
Alice	1,51	1,53	1,52	11,44
Julinka	1,62	1,62	1,62	10,33
Annabelle	1,54	1,53	1,54	10,02
Secura	1,65	1,65	1,65	9,84
Ramos	1,69	1,67	1,68	10,95
Blue Star-t.s.	1,85	1,84	1,85	8,62

2014				
Název odrůdy	N-látky [%]		Průměrná hodnota [%]	N-látky/s [%]
Tomesa	2,58	2,61	2,60	9,03
David	2,38	2,41	2,40	7,84
Verdi	2,65	2,64	2,65	9,56
Krumlov	2,16	2,17	2,17	7,82
Westamul	2,26	2,31	2,29	7,54
Arabela	2,38	2,36	2,37	8,25
Bernard	2,59	2,59	2,59	9,04
Borek	2,03	2,00	2,02	6,81
Dominátor	1,83	1,81	1,82	6,91
Fabia	2,66	2,72	2,69	9,83
Ornella	2,20	2,20	2,20	8,01
Poutník	2,23	2,24	2,24	8,03
Priamos	2,27	2,26	2,27	7,74
Rebel	2,61	2,65	2,63	8,83
Verne	2,37	2,38	2,38	7,90

Tabulka 31: 1. kalibrace 2012 – cukry

2012	Redukující cukry			
Číslo vzorku	Bez hydrolýzy [%]	Bez hydrol./s [%]	S hydrolýzou [%]	S hydrol./s [%]
1	0,13	0,63	0,09	0,44
2	0,36	1,43	0,03	0,12
3	0,64	3,12	0,57	2,78
4	0,14	0,63	0,07	0,31
5	0,96	4,55	0,68	3,22
6	0,36	1,46	1,32	5,36
7	0,56	2,20	0,77	3,02
8	0,89	3,80	1,22	5,21
9	0,96	4,00	1,18	4,91
10	0,75	3,55	0,68	3,22
11	0,54	2,82	0,71	3,70
12	1,36	5,98	1,69	7,43
13	0,59	2,84	0,58	2,80
14	0,63	2,72	0,41	1,77
15	0,97	4,73	0,78	3,80
16	0,94	4,35	0,99	4,58
17	0,08	0,25	0,12	0,37
18	0,24	0,75	0,51	1,59
19	0,65	2,83	0,73	3,17
20	0,98	5,11	1,08	5,63
21	0,18	0,62	0,33	1,14
22	0,15	0,63	0,21	0,88
23	0,22	0,77	0,36	1,27
24	0,76	3,35	0,80	3,52
25	0,51	2,02	0,89	3,53
26	0,36	1,51	0,41	1,72
27	0,37	1,61	0,10	0,44
28	0,04	0,16	0,04	0,16
29	0,11	0,31	0,17	0,48
30	0,62	2,58	0,45	1,87
31	0,33	1,32	0,63	2,51
32	0,19	0,66	0,33	1,15
33	0,60	2,56	0,70	2,99
34	0,17	0,55	0,28	0,91
35	0,74	3,16	0,78	3,33
36	0,58	2,63	0,76	3,45
37	0,35	1,52	0,58	2,51
38	0,31	1,10	0,55	1,94
39	0,33	1,09	0,52	1,72
40	0,59	1,69	0,93	2,66

Pozn. sklizeň 2012 (bez názvu odrůdy)

(tvorba 1. kalibračního modelu)

2012	Redukující cukry			
Číslo vzorku	Bez hydrolýzy [%]	Bez hydrolýzy/s [%]	S hydrolýzou [%]	S hydrol./s [%]
41	0,50	1,51	0,82	2,48
42	0,29	0,91	0,45	1,41
43	0,80	3,19	1,18	4,71
44	0,34	1,48	0,34	1,48
45	0,30	0,95	0,47	1,49
46	0,45	1,69	0,82	3,08
47	0,47	1,78	0,74	2,81
48	0,75	3,01	1,47	5,90
49	0,58	2,89	0,78	3,89
50	0,20	0,96	0,32	1,53

Tabulka 32: Rekalibrace 2012 – cukry

(s názvem odrůdy)

2012	Redukující cukry			
Název odrůdy	Bez hydrolýzy [%]	Bez hydrolýzy/s [%]	S hydrolýzou [%]	S hydrol./s [%]
Raketa	0,42	2,40	0,89	5,09
Velox	0,35	1,80	0,33	1,70
Presto	0,66	3,94	0,85	5,07
Marika	0,80	4,98	0,72	4,48
Magda	0,23	1,20	0,31	1,62
Solist	0,47	2,43	1,04	5,37
Valetta	1,26	7,80	1,66	10,27
Saline	0,35	1,82	0,95	4,94
Capri	0,61	3,38	0,33	1,83
Primarosa	0,64	3,88	0,30	1,82
Dali	0,82	4,99	0,89	5,42
Secura	0,58	3,09	0,75	3,99
Adéla	1,03	6,04	1,13	6,63
Marabel	0,62	3,57	1,12	6,45
Santana	0,18	0,88	0,42	2,06
Belana	0,47	2,40	0,79	4,03
Annabelle	0,88	5,20	1,14	6,74
Barbora	0,29	1,60	0,88	4,85
Bohemia	1,26	6,74	1,16	6,21
Solo	0,26	1,30	0,57	2,86

Tabulka 33: Rekalibrace 2013 - cukry

2013	Redukující cukry			
Název odrůdy	Bez hydrolýzy [%]	Bez hydrol./s [%]	S hydrolýzou [%]	S hydrol./s [%]
Agáta-t.s.	0,43	2,65	0,85	5,19
Barber	0,32	1,79	0,83	4,67
Carre	0,24	1,35	0,69	3,87
0-tržní síť	0,67	3,82	1,02	5,79
Vivaldi	0,88	6,64	1,11	8,37
Everest	0,17	0,82	1,23	5,92
Monika	0,84	4,50	1,24	6,64
Presto	0,26	1,31	0,93	4,69
Solist	0,23	1,14	1,14	5,64
Suzan	0,20	0,94	0,92	4,32
Velox	0,42	2,20	1,22	6,40
Alice	0,63	3,58	1,23	7,00
Dicolora	1,24	7,41	1,67	9,98
Secura	0,43	2,20	1,19	6,09
Ramos	0,35	1,79	0,42	7,26

Tabulka 34: Rekalibrace 2014 - cukry

2014	Redukující cukry			
Název odrůdy	Bez hydrolýzy [%]	Bez hydrol./s [%]	S hydrolýzou [%]	S hydrol./s [%]
Velox	0,30	1,83	0,87	5,32
Presto	1,17	7,94	1,52	10,32
Monika	0,73	4,76	0,96	6,26
Berber	0,33	1,88	0,69	3,94
Bellarosa	0,28	1,72	0,82	5,03
Flavia	0,34	2,26	1,27	8,44
Everest	0,32	2,06	1,17	7,54
Suzan	0,60	3,47	1,02	5,89
Primarosa	0,50	3,23	0,91	5,87
Capri	0,47	3,09	1,08	7,11
Alice	0,80	6,02	1,25	9,41
Julinka	0,91	5,80	1,13	7,20
Annabelle	1,09	7,09	1,52	9,89
Secura	0,51	3,04	0,82	4,89
Ramos	0,44	2,87	0,59	3,85
Blue Star-tržní síť	1,00	4,66	1,38	6,43

Tabulka 35: Rekalibrace 2014 – cukry (škrobnatý sortiment)

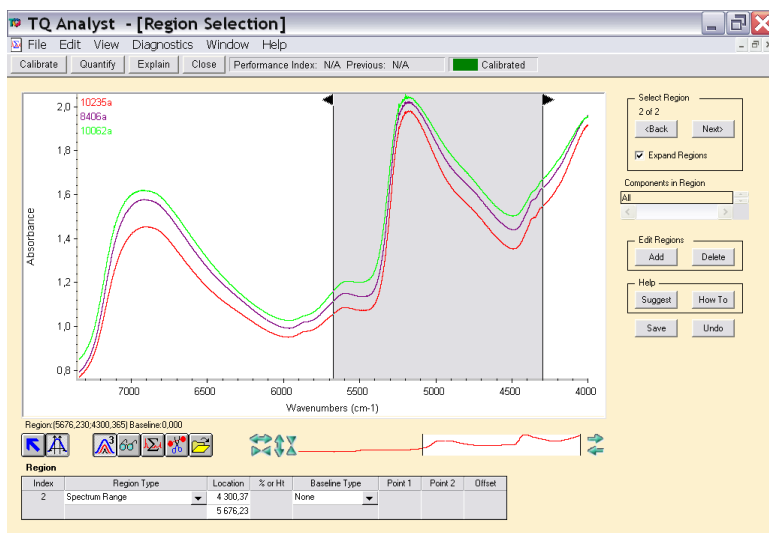
2014	Redukující cukry			
Název odrůdy	Bez hydrolýzy [%]	Bez hydrolýzy/s [%]	S hydrolýzou [%]	S hydrol./s [%]
Tomesa	0,01	0,03	0,27	0,94
David	0,11	0,36	0,37	1,21
Verdi	0,11	0,40	0,27	0,97
Krumlov	0,21	0,76	0,56	2,02
Westamul	0,01	0,03	0,51	1,68
Arabela	0,04	0,14	0,15	0,52
Bernard	0,04	0,14	0,61	2,13
Borek	0,02	0,07	0,10	0,34
Dominátor	0,06	0,23	0,26	0,99
Fabia	0,03	0,11	0,22	0,80
Ornella	0,05	0,18	0,07	0,26
Poutník	0,26	0,93	0,44	1,58
Priamos	0,06	0,20	0,23	0,78
Rebel	0,05	0,17	0,20	0,67
Verne	0,16	0,53	0,36	1,20



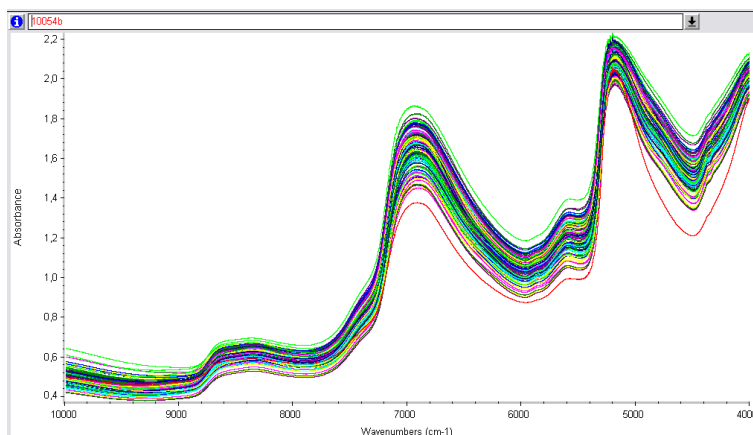
Obr. 24: Spektrometr Nicolet Antaris



Obr. 25: Transreflektanční kyveta pro měření vzorků brambor



Obr. 26: Výběr vhodného regionu



Obr. 27: Spektra všech vzorků (včetně nevyhovujícího Presto – rok 2014)

Tabulka 36: Statistické porovnání metod – sušina

Sušina								
n	Referenční X_A	NIR X_B	rozdíl D_i $X_A - X_B$	\bar{D}	$(D_i - \bar{D})^2$	$\sum (D_i - \bar{D})^2$	\bar{X}_A	\bar{X}_B
1	23,76	23,85	-0,09	0,27	0,13	8,98	29,59	29,31
2	28,09	27,18	0,91		0,41			
3	23,39	24,10	-0,71		0,97			
4	24,99	24,36	0,63		0,13			
5	27,20	28,96	-1,76		4,13			
6	32,23	31,90	0,33		0,00			
7	26,72	26,96	-0,24		0,26			
8	31,31	30,56	0,75		0,23			
9	26,52	25,03	1,49		1,48			
10	37,16	36,36	0,80		0,28			
11	34,00	33,23	0,77		0,25			
12	35,92	36,18	-0,26		0,28			
13	33,33	32,41	0,92		0,42			

Tabulka 37: Statistické porovnání metod – škrob

Škrob								
n	Referenční X_A	NIR X_B	rozdíl D_i $X_A - X_B$	\bar{D}	$(D_i - \bar{D})^2$	$\Sigma (D_i - \bar{D})^2$	\bar{X}_A	\bar{X}_B
1	72,52	72,94	-0,42	-0,24	0,03	14,22	75,51	75,75
2	78,39	76,29	2,11		5,52			
3	71,95	71,92	0,03		0,07			
4	75,15	75,02	0,14		0,14			
5	77,21	76,48	0,73		0,96			
6	77,78	79,71	-1,93		2,84			
7	71,44	72,84	-1,40		1,34			
8	75,69	76,53	-0,84		0,36			
9	74,02	75,34	-1,32		1,16			
10	77,72	77,68	0,04		0,08			
11	79,09	78,20	0,89		1,29			
12	78,06	78,97	-0,91		0,44			
13	72,58	72,87	-0,29		0,00			

Tabulka 38: Statistické porovnání metod – N-látky

N-látky								
n	Referenční X_A	NIR X_B	rozdíl D_i $X_A - X_B$	\bar{D}	$(D_i - \bar{D})^2$	$\Sigma (D_i - \bar{D})^2$	\bar{X}_A	\bar{X}_B
1	8,29	7,92	0,37	-0,10	0,22	2,08	7,70	7,80
2	9,18	8,92	0,27		0,13			
3	6,37	6,82	-0,45		0,12			
4	7,68	8,23	-0,55		0,20			
5	7,54	7,96	-0,42		0,10			
6	8,25	7,82	0,43		0,28			
7	10,44	9,84	0,60		0,49			
8	7,82	8,32	-0,50		0,16			
9	7,62	7,89	-0,27		0,03			
10	6,40	6,61	-0,21		0,01			
11	6,79	6,76	0,03		0,02			
12	5,35	5,99	-0,64		0,29			
13	8,43	8,38	0,05		0,02			

Tabulka 39: Statistické porovnání metod – cukry (bez hydrolyzy)

cukry bez hyd.								
n	Referenční X_A	NIR X_B	rozdíl D_i $X_A - X_B$	\bar{D}	$(D_i - \bar{D})^2$	$\sum (D_i - \bar{D})^2$	\bar{X}_A	\bar{X}_B
1	2,78	0,52	2,26	0,85	1,99	25,26	1,39	0,55
2	0,46	0,41	0,05		0,64			
3	5,13	0,82	4,31		11,98			
4	1,16	0,14	1,02		0,03			
5	1,36	0,27	1,09		0,06			
6	0,28	0,52	-0,24		1,18			
7	1,20	1,03	0,17		0,46			
8	1,31	0,23	1,08		0,05			
9	3,09	0,57	2,52		2,79			
10	0,48	1,46	-0,98		3,34			
11	0,18	0,11	0,07		0,61			
12	0,28	0,64	-0,36		1,46			
13	0,42	0,38	0,04		0,65			

Tabulka 40: Statistické porovnání metod – cukry s hydrolyzou

cukry s hyd.								
n	Referenční X_A	NIR X_B	rozdíl D_i $X_A - X_B$	\bar{D}	$(D_i - \bar{D})^2$	$\sum (D_i - \bar{D})^2$	\bar{X}_A	\bar{X}_B
1	3,41	3,30	0,11	0,81	0,49	24,74	2,48	1,67
2	1,14	0,89	0,25		0,32			
3	4,36	3,11	1,26		0,20			
4	1,72	2,19	-0,47		1,64			
5	1,80	1,71	0,09		0,52			
6	0,43	0,25	0,18		0,40			
7	1,05	1,64	-0,59		1,97			
8	1,56	1,34	0,22		0,35			
9	4,00	1,12	2,88		4,28			
10	2,07	2,39	-0,32		1,27			
11	1,29	1,00	0,30		0,27			
12	3,93	1,06	2,87		4,24			
13	5,52	1,74	3,78		8,81			