

VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu

Barvitelnost škrobů jodovými párami

Bakalářská práce

Autor práce: **Lukášová Michaela**

Školitel: Mgr. Zdeňka Javůrková, Ph.D.

Brno 2016

Prohlášení studenta

Prohlašuji, že jsem předkládanou bakalářskou práci vypracovala zcela samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a veškeré podkladové materiály, z nichž jsem vycházela, uvádím v Seznamu literatury.

V Brně dne 31. 3. 2016

(vlastnoruční podpis studenta)

Poděkování

Ráda bych poděkovala především Mgr. Zdeňce Javůrkové Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi poskytla při zpracování bakalářské práce, dále pak MVDr. Mateji Pospiechovi Ph.D. za pomoc a odborné rady k programu analýzy obrazu, a také Bc. Anetě Reichové za ochotu a pomoc se zpracováním vzorků v laboratoři.

OBSAH

OBSAH	4
1. ÚVOD	6
1.1. CÍL PRÁCE	6
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	7
2.1. ŠKROB	7
2.1.1 Struktura škrobu	7
2.1.2 Význam a využití škrobu v potravinářství	9
2.1.3 Vlastnosti škrobu	10
2.1.4 Mikroskopická struktura škrobu	11
2.2 VÝROBKY ZE ŠKROBU A JEJICH MODIFIKACE	16
2.2.1 Technologie modifikovaných škrobů	16
2.2.2 Druhy modifikovaných škrobů	17
2.2.3 Mikroskopie modifikovaného škrobu	20
2.2.4 Význam modifikovaných škrobů v potravinářství	21
2.3 PRŮKAZ ŠKROBU V POTRAVINÁCH	22
2.3.1 Mikroskopické metody	22
2.3.2 Fyzikálně chemické metody	25
2.3.3 Analýza obrazu	25
3 MATERIÁL A METODIKA	28
3.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ	28
3.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ	28
3.2.1 Barvení párami nad krystalky jodu	28
3.3 POSTUP ANALÝZY OBRAZU	30
3.3.1 Získání obrazu	30
3.3.2 Zpracování obrazu	30

3.3.3	Prahování	32
3.3.4	Vlastní analýza obrazu	34
3.3.5	Statistické hodnocení	37
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	38
4.1	MIKROSKOPICKÉ SNÍMKY ŠKROBOVÝCH ZRN PO OBARVENÍ	38
4.2	HODNOCENÍ PARAMETRŮ PRO URČENÍ BARVITELNOSTI ŠKROBOVÝCH ZRN	41
4.2.1	Metoda hlavních komponent (PCA)	41
4.3	HODNOCENÍ BARVITELNOSTI ŠKROBOVÝCH ZRN	42
4.3.1	Suma hustoty	42
4.3.2	Maximální intenzita	45
4.3.3	Průměrná hustota	48
4.4	VÝZNAM POSUZOVÁNÍ BARVITELNOSTI ŠKROBOVÝCH ZRN POMOCÍ ANALÝZY OBRAZU	49
5	ZÁVĚR	51
6	POUŽITÁ LITERATURA	52
7	ABSTRAKT	57
8	ABSTRACT	58
9	PŘÍLOHY	59
9.1	SEZNAM TABULEK	59
9.2	SEZNAM OBRÁZKŮ	60
9.3	SEZNAM GRAFŮ	62

1. ÚVOD

Škrob byl člověku znám už od dávných dob jako potravina a využíván jako nejsnáze získatelný hydrofilní polymer, kterým v podobě vodného roztoku bylo možno slepovat nebo zahušťovat. Jeho hlavní úlohou je, že tvoří zásobárnu živin v rostlinách, kde je uložen ve formě škrobových zrn různých tvarů a velikostí. Po chemické stránce se škrob skládá z molekul amylozy a amylopektinu. Jejich zastoupení u jednotlivých druhů rostlin se poměrně odlišuje, obvykle ale převažuje amylopektin nad amylozou.

Díky výše zmíněnému chemickému složení škrobu se v potravinářském odvětví k jeho průkazu v surovinách a potravinách využívá mikroskopických metod, přesněji barvení jodovými roztoky nebo barvení v jodových parách. Jod se vyznačuje vysokou afinitou k amyloze a amylopektinu. Po vniknutí molekul jodu do jejich struktury dochází ke vzniku charakteristického zabarvení.

Škrob je přidáván do potravin záměrně ve formě jeho různé modifikace. Souhrnně se jim říká přídatné látky neboli aditiva a jejich přidávání do potravin je řízeno legislativou. Cílem je zlepšit některé vlastnosti výrobku a také usnadnění technologie jeho výroby.

Detekce škrobu v potravinách je velmi důležitá z hlediska falšování potravin, kdy se škrob používá jako náhrada dražších a kvalitnějších surovin (např. mouka v masných výrobcích). Kromě mikroskopických metod se k průkazu využívají i jiné druhy metod, například polarimetrie či spektrofotometrie. Nejčastěji se ale využívají právě mikroskopické metody spojené s použitím počítačové analýzy obrazu, jejíž hlavní výhody jsou snadná archivace obrazů v digitalizované podobě, možnosti úpravy kvality obrazu a následné získání a kvantitativní hodnocení různých dat charakterizujících zobrazené objekty.

1.1. CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je určit rozdíl intenzity obarvení jodovými párami mezi vybranými druhy nativních a modifikovaných škrobů za pomoci obrazové analýzy.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1. ŠKROB

Škroby patří z hlediska fyziologického a hospodářského mezi nejdůležitější polysacharidy rostlin. Vzniká jako metabolický produkt v chloroplastech listů zelených rostlin, kde je degradován na rozpustné sacharidy, z nichž je následně v zásobních orgánech rostlin (hlízy, oddenky, atd.) syntetizován škrob, který se ukládá v podobě škrobových zrn v amyloplastech rostlin (Pospiech, 2014c).

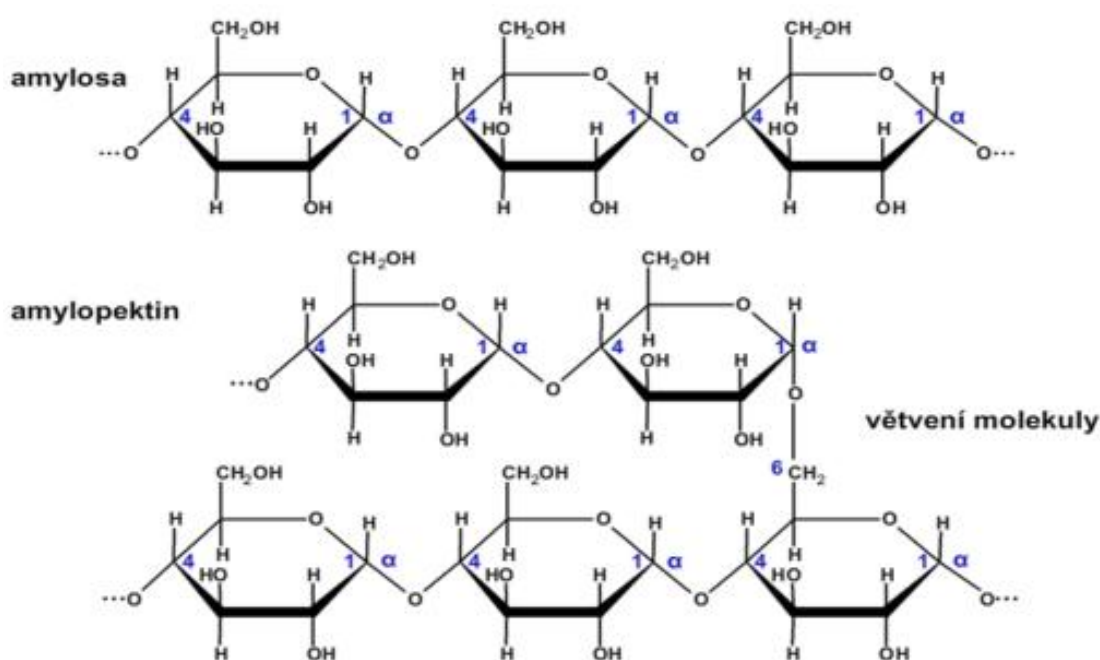
2.1.1 Struktura škrobu

Škrobová zrna se vyznačují semikrystalickou strukturou, která je tvořena krystalickou a amorfní oblastí. Krystalická oblast je spojená výhradně s molekulami amylopektinu, amorfní oblast tvoří především molekuly amyulózy. Základním stavebním kamenem těchto frakcí je molekula glukózy. Škrob je tedy glukan, jehož strukturní jednotky jsou v případě amyulózy spojeny $\alpha - 1,4$ glykosidickou vazbou a v případě amylopektinu se kromě této vazby vyskytuje i $\alpha - 1,6$ glykosidická vazba (Hrabě a kol., 2007; Janíková, 2011).

Amylóza (Obrázek 1) má lineární strukturu a skládá se z 25 – 1000 glukózových jednotek, které jsou spojeny $\alpha - 1,4$ glykosidickou vazbou (Pospiech, 2014c). K větvení dochází jen v omezené míře asi na deseti místech molekuly, postranní řetězce ale nebývají příliš dlouhé. U amyulózy dochází k esterifikaci kyselinou fosforečnou jen částečně, obsah fosforu se pohybuje v hodnotách cca 0,04 – 0,07% (Velíšek, 2002). Mezi charakteristické vlastnosti amyulózy patří rozpustnost v horké vodě a naopak nerozpustnost ve studeném vodném roztoku, ze kterého se po určité době stání vylučuje ve formě bílého prášku v důsledku jevu, který se nazývá retrogradace. Amylóza se jódem barví modře díky spirálové formě jejího řetězce (Kadlec, 2002). V přírodě se v čisté formě prakticky nevyskytuje, bývá doplňována určitým množstvím amylopektinu. Její celkový obsah ve škrobech je 20 – 25% (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

Amylopektin (Obrázek 1) se skládá z 50 000 – 1 000 000 glukózových jednotek také navzájem spojených $\alpha - 1,4$ glykosidickou vazbou podobně jako u amyulózy. Jejich

rozdílnost spočívá v tom, že u amylopektinu se nacházejí postranní řetězce, které se odvětvují glykosidickou vazbou $\alpha - 1,6$, a tím tvoří rozvětvenou strukturu (Velíšek, 2002). Na rozdíl od amylozy obsahuje větší množství kyseliny fosforečné (0,2 % fosforu), a to má za následek červenofialové zbarvení po reakci s jódem. Charakteristické vlastnosti amylopektinu jsou nerozpustnost v horké vodě a schopnost tvorby relativně stabilních (málo retrogradujících) vysoce viskózních koloidních roztoků a mazů (Kadlec, 2002). U většiny nativních škrobů amylopektin převažuje nad amylozou, a to v hodnotách kolem 75 – 80 % (Ošťádalová a Pokorná, 2014).



Obrázek 1: Znázornění $\alpha-1,4$ a $\alpha-1,6$ glykosidických vazeb amylozy (bez větvení) a amylopektinu (větvení)

Zdroj: www.studiumbiochemie.cz

Navzdory tomuto obvyklému zastoupení amylozy a amylopektinu ve škrobu byly vyšlechtěny speciální odrůdy některých rostlin (např. kukuřice nebo hrách) s vysokým podílem obou složek (Pelikán, 1999).

2.1.2 Význam a využití škrobu v potravinářství

Využití škrobu má velmi dlouhou historii. Stopy lepidel připravených z pšeničného škrobu byly nalezeny na egyptských papýrech datovaných kolem roku 3 500 př. n. l. Rovněž staré čínské písemnosti se dochovaly na materiálech vyrobených pomocí škrobu. Počátky průmyslové výroby škrobu v Evropě spadají do 16. a 17. století. Prudký vzestup jeho výroby byl v 19. století, rozvojem tzv. „průmyslové chemie škrobů“, tj. zpracováním nativního škrobu na rozmanitou škálu výrobků z něj, např. hydrolyzátů, modifikovaných škrobů, škrobových derivátů a technických dextrinů. V polovině 90. let minulého století bylo celosvětově vyráběno 35 – 40 milionů tun škrobu za rok, z toho 74 % kukuřičného, 10 % tapiokového, 8 % bramborového a 8 % pšeničného škrobu (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

Škrob se vyskytuje jako zásobní polysacharid u většiny rostlin, ale jen z jejich omezeného počtu se dá škrob prakticky vyrobit, respektive získat. Vyskytuje se v podobě škrobových zrn různé velikosti a struktury, která je charakteristická pro jednotlivé druhy rostlin. Škrobová zrna se nacházejí vždy ve volné formě, nejsou chemicky ani fyzikálně vázána na žádnou jinou složku. Proto se nejedná o výrobu jako takovou, ale o izolaci škrobu z různých, na něj bohatých, částí rostlin (Pospiech, 2014c).

Přestože se škroby vyskytují ve všech částech rostlin, z technologického hlediska jsou zajímavé hlízy a semena rostlin, přičemž je zásadní rozdíl mezi škrobem hlízovým a škrobem ze semen. Škrob bramborový, tj. škrob, který je uložený v hlízách, se vyskytuje v materiálu, jehož převážnou složku představuje voda. Tato zrna jsou poměrně velká, polydisperzní a nakypřená s rychlým vstupem vody do nitra zrna i ven. Naopak škroby v zrnech (pšenice, kukuřice) jsou uloženy na vrcholu rostliny, kde obsah vody činí nejvýše 20 %. Tyto škroby jsou většinou monodisperzní, drobné a vstup vody do nitra zrna je velmi pomalý (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

V podmínkách ČR se v současnosti nejčastěji využívá škrob z brambor (asi 70 %), z kukuřice (20 %) a z pšenice (10 %). V jiných oblastech světa se k získávání škrobu využívá také rýže. K potenciálním zdrojům škrobu patří i proso, orobinec, sója, žito a amarant, jehož získaný škrob lze v potravinářství využít jako zahušťovadlo (Pospiech, 2014c).

Výroba škrobu probíhá v pěti základních krocích:

- 1) přejímka, ukládání a čištění suroviny,
- 2) úprava suroviny do stavu, kdy je možná izolace škrobu,
- 3) vlastní izolace škrobu (vypírání),
- 4) rafinace škrobu,
- 5) předsoušení, sušení a finální úprava suchého škrobu, (Pospiech, 2014c).

2.1.3 Vlastnosti škrobu

Nativní škrob má podobu prášku bílé až slabě nažloutlé barvy bez chuti a zápachu. V suché formě je ho možno skladovat, má však hygroskopické vlastnosti, tedy schopnost pohlcovat okolní vlhkost (Ingr, 2001).

K nejvýznamnějším vlastnostem škrobu patří jeho schopnost mazovatění, tvorba gelu a retrogradace. Počáteční teplota mazovatění je od 60 °C a jedná se o reverzibilní děj. Po dosažení této teploty se mezimolekulární vodíkové můstky rozrušují, zrna se začínají prudce zvětšovat a dochází k difuzi uvolněné amylózy do roztoku. Hydratace pokračuje zvyšováním teploty, nabobtnalá škrobová zrna postupně ztrácejí svoji integritu a tento proces se nazývá mazovatění škrobu a je ireverzibilní. Viskozita vzrůstá uvolňováním amylózy a malého množství amylopektinu do roztoku a tím vzniká tzv. škrobový maz. V něm se nachází rozrušená zrna škrobu s amylózou a amylopektinem. Rychlost mazovatění závisí na množství vody, teplotě a na druhu a kvalitě škrobu. Naopak při ochlazování škrobových mazů dochází ke zpětné tvorbě vodíkových vazeb mezi molekulami amylózou a amylopektinem a při dostatečné koncentraci škrobu vzniká pevná síť, která obsahuje velké množství vody, a to tzv. škrobový gel. Nízká koncentrace škrobu dává vznik viskózních past a koloidním roztokům (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

Retrogradací rozumíme děj, který vzniká tvorbou intermolekulárních vodíkových vazeb, hlavně u lineárních vazeb amylózy, vedoucí k tvorbě dvoufázového prostředí látka – kapalina. Důvod retrogradace je ten, že škrobové gely, pasty a koloidní roztoky nejsou v termodynamické rovnováze. Největší vliv na rychlost průběhu a stupni retrogradace má obsah a polymerační stupeň amylózy, která je přítomná v prostředí. Dále má vliv také teplota, pH, obsah anorganických solí, povrchově aktivních látek atd.

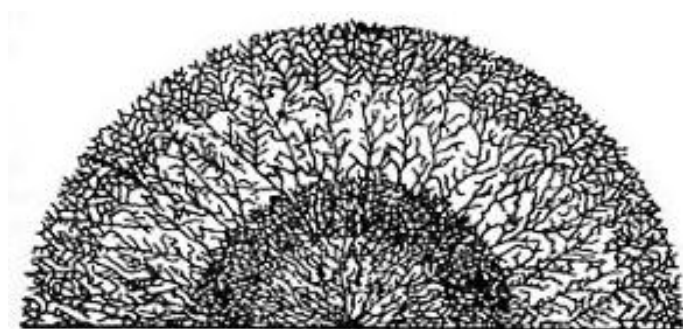
Retrogradace se nepříznivě projevuje hlavně na konzistenci chleba a pečiva při skladování a předchází se jí speciálními přísadami (Ošřádalová a Pokorná, 2014).

Tyto vlastnosti limitují použití nativních škrobů a z tohoto důvodu nemají tak velké technologické využití jako výrobky z nich (škrobové hydrolyzáty, modifikované škroby atd.) (Pospiech, 2014c).

2.1.4 Mikroskopická struktura škrobu

Škrob je velmi důležitým identifikačním činitelem při vyšetřování potravin a surovin rostlinného původu. Při mikroskopickém vyšetření masných výrobků jsou rostlinné součásti pravidelným a běžným nálezem. V těchto výrobcích se můžeme setkat především s různými druhy koření, mouk, ale i se zeleninou nebo houbami, jelikož zvýrazňují chuť, aroma a ovlivňují vzhled a konzistenci výrobku (Tremlová, 1998).

Granule škrobu (Obrázek 2) se vyznačují odlišnou ultrastrukturou v závislosti na rostlinném zdroji, mají ale společný obecný model, jehož základ tvoří radiálně uspořádané molekuly amylopektinu, které mají tvar disku, v nichž jejich neredukující konce směřují ven z granulí, a tím tvoří jejich povrch. Dále v oblastech neredukujících konců a středních částí řetězců dochází k tvorbě antiparalelních dvojitéch šroubovic s uspořádanou (krystalovou) trojrozměrnou strukturou. Neuspořádaná amorfnní struktura se nachází v oblastech větvení řetězců. Pravidelně dochází ke střídání krystalové a amorfnní oblasti (Velíšek, 2002).



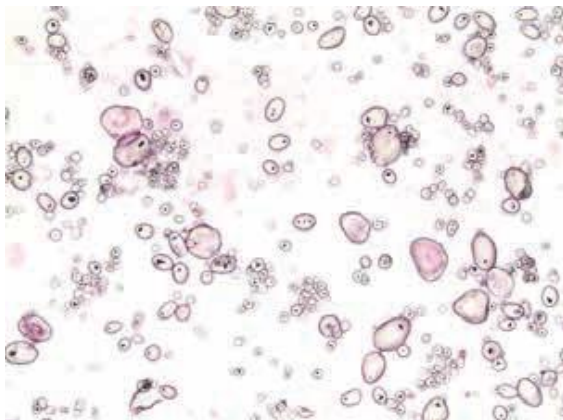
Obrázek 2: Sférokrystalická struktura částice škrobu

Zdroj: Pospíšil, 2013

Škrob, resp. škrobová zrna jednotlivých druhů rostlin se liší zejména svou velikostí, tvarem nebo vnitřním uspořádáním. Pod mikroskopem se u některých zrn zjišťuje také charakteristické vrstvení, které je uspořádáno kolem jádra. Jádro může být uloženo ve středu zrn nebo i mimo něj a na základě těchto uložení se rozeznává vrstvení excentrické nebo soustředné, může být dále rovnoběžné s obvodem, protínající obvod, jednoduché nebo dvojčaré. Jádro bývá popisováno jako černá dutinka různých tvarů (tečkovitá, rozeklaná, kulatá nebo štěrbinovitá), vyplněná vzduchem. Pokud zrno obsahuje jen jedno jádro, nazývá se jednoduchým, může se však objevovat i složené, tj. obsahující více jader. Mikroskopem (zvětšení 200-300x) lze zjistit nejen druh škrobu, ale i jeho jakost, zchovalost a také nečistoty (Tremlová, 1998).

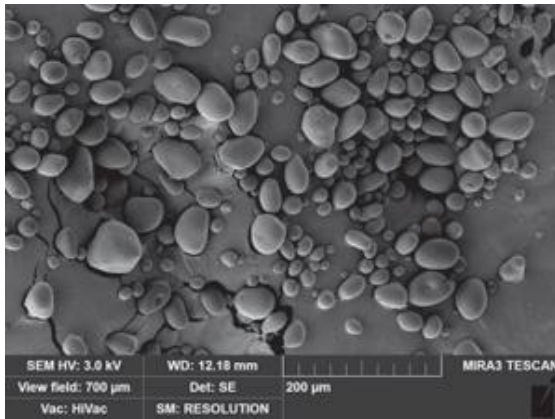
Bramborový škrob (Obrázek 3 a Obrázek 4)

Bramborový škrob má dobře rozpoznatelná zrna díky svému charakteristickému tvaru a velikosti, díky které patří mezi největší škrobová zrna ze všech domácích škrobů. Velikost zrn se pohybuje v rozmezí 70 – 100 μm , nejčastěji kolem 70 μm , nejmenší zrna ale mohou mít velikost i 5 μm . Velká škrobová zrna bramborového škrobu bobtnají a mazovají rychleji než menší zrna. Tvar bývá vejčité nebo eliptický s excentricky uloženým jádrem v užším konci, se zřetelným mimostředním vrstvením. Zrna se mohou nacházet i jako podvojná nebo potrojná (Pospiech, 2014c).



Obrázek 3: Bramborový škrob

Zdroj: Pospiech, 2014a



Obrázek 4: Bramborový škrob, SEM

Zdroj: Pospiech, 2014a

Při technologickém opracování dochází ke změně tvaru škrobových zrn, mizí charakteristicky uložené škrobové jádro a ztrácejí se jednotlivé vrstvy viditelné u zrn před opracováním (Pospiech, 2013).

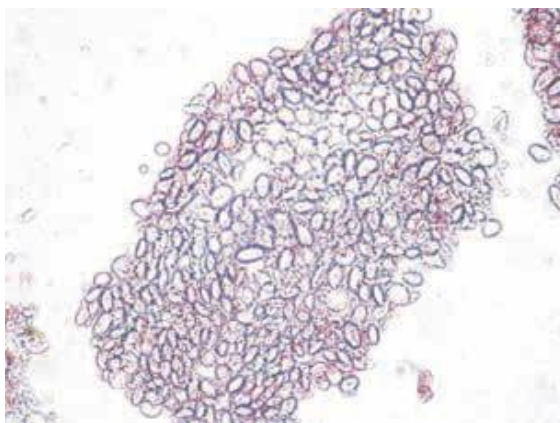
V potravinářství se bramborový škrob nejvíce využívá hlavně kvůli čirosti škrobových mazů, absenci lepku a neutrální chuti. Je také preferován v papírenském průmyslu kvůli vyšší molární hmotnosti amylozy a její dobré rozpustnosti (Čáslavková, 2011).

Pšeničný škrob (Obrázek 5 a Obrázek 6)

Patří mezi další hojně používané škroby. Jeho zrna jsou velikostně dvojího typu: škrob malozrnný 2 – 10 µm a škrob velkozrný 10 – 40 µm. Má čočkovitý až kulatý tvar. Uprostřed zrna je velice slabě zřetelné jádro a téměř nepatrné centrické vrstvení. Škrobová zrna pšenice jsou dosti podobná také škrobovým zrnům žita a ječmene, a proto je velmi obtížné od sebe rozlišit (Pospiech, 2014c).

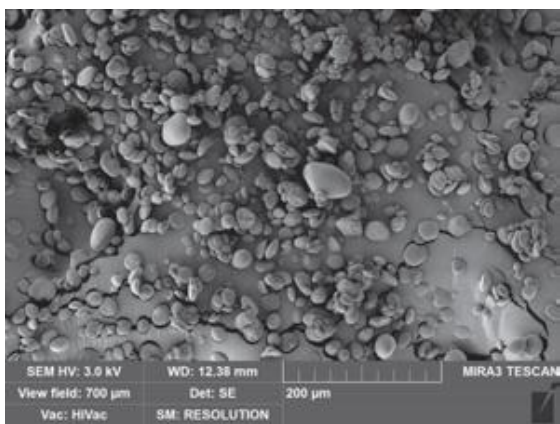
Při technologickém opracování zrna mění svůj charakteristický tvar, získávají pŕlměsíkový vzhled a až dvojnásobně se zvětšují (Pospiech, 2013).

Pšeničný škrob se používá jako zahušřovadlo ve směsích, kde je potřeba regulovaně vázat vodu, zahušřovat a disperzně stabilizovat (Válková, 2010).



Obrázek 5: Pšeničný škrob

Zdroj: Pospiech, 2014a

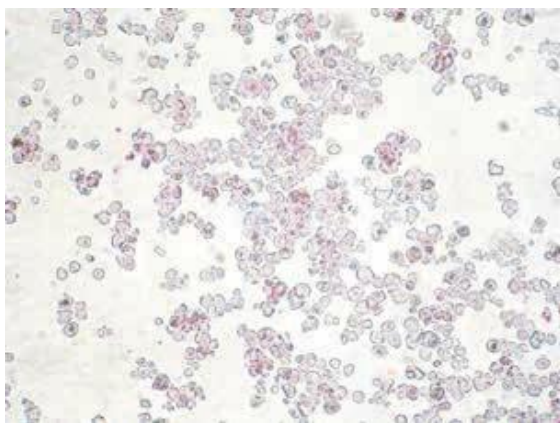


Obrázek 6: Pšeničný škrob, SEM

Zdroj: Pospiech, 2014a

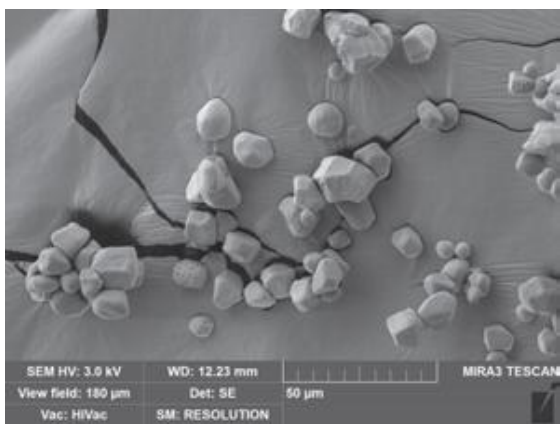
Kukuřičný škrob (Obrázek 7 a Obrázek 8)

Velikost zrn se pohybuje kolem 8 – 20 µm. Bývají hranatá polyedrická nebo nepravidelně kulovitá s hvězdicovitě rozeklanou dutinkou. Vrstvení není patrné (Pospiech, 2014c).



Obrázek 7: Kukuřičný škrob

Zdroj: Pospiech, 2014a



Obrázek 8: Kukuřičný škrob, SEM

Zdroj: Pospiech, 2014a

Další z nativních škrobů, které jsou v jiných oblastech světa využívány, ale v České republice mají minimální význam, jsou tyto:

Rýžový škrob je velmi drobný, velikost se pohybuje kolem 3 – 7 μm . Uprostřed má tečkovité jádro. Zrna se vyskytují buď samostatně, nebo jako zrna složená, která tvoří nepravidelné tvary.

Ovesný škrob má drobná mnohostranná zrnka s málo zřetelnou dutinkou. Velice často obsahuje složená zrna, tvořená několika sty částic sestavených do kulovitého nebo vejčitého tvaru. Celý tento útvar má velikost až 50 μm i více.

Škrob amarantový je méně obvyklý a využívaný škrob. Má velmi drobná zrna o velikosti 1 – 2 μm . Tvar bývá sférický, prstencovitý či polygonální (Pospiech, 2014c).

2.2 VÝROBKY ZE ŠKROBU A JEJICH MODIFIKACE

Výrobky ze škrobu můžeme rozdělit do 3 hlavních skupin:

- a) sladidla pro cukrovinky, pekařské výrobky, pivo, nealkoholické nápoje, zmrzliny aj.
- b) výrobky ze škrobu pro různé účely v potravinářském průmyslu (masné a mléčné výrobky, kojenecká výživa, cukrovinky, polévky, omáčky atd.)
- c) výrobky ze škrobu používané v nepotravinářském průmyslu (deriváty pro papírenský a textilní průmysl) (Hrabě, 2006).

Nativní škrob, který nebyl upraven žádným způsobem modifikace, není vhodný pro použití ve většině aplikací z mnoha důvodů. Škrob má silnou tendenci vytvářet gel, což má za následek tvorbu trojrozměrné sítě a výsledkem je tuhý gel. Nežádoucí je vysoká viskozita škrobový mazů, a to i při nízkých koncentracích, a dále pak příliš nízká dispergovatelnost a rozpustnost škrobových zrn (Pelikán, 1999).

Modifikovanými škroby se rozumí výrobky ze škrobu, které mají zachovalou některou původní charakteristickou vlastnost škrobu, načež jeho ostatní vlastnosti jsou fyzikálním, chemickým, biochemickým nebo kombinovaným vlivem přizpůsobeny určitým účelům. Podstatou modifikačního procesu je některou původní vlastnost zvýraznit (schopnost vázat vodu, želírující schopnosti, tvorba filmu) nebo naopak potlačit. Další z možností je vytvořit zcela novou vlastnost (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

2.2.1 Technologie modifikovaných škrobů

Škroby jsou polysacharidy tvořeny volnými hydroxylovými skupinami, které mají schopnost reagovat s různými činidly za vzniku chemických derivátů. Většinou se využívají různé syntetické způsoby, aby se docílilo vzniku sloučenin, které se mohou svými vlastnostmi zcela odlišovat od vlastností původního škrobu. Tento způsob ale není jedinou možností. Existují úpravy nativního škrobu pomocí parciální destrukce vazeb nebo sil podílejících se na stavbě molekul. Těmito jmenovanými a dalšími jinými způsoby jsou nativní škroby upravovány k získávání modifikovaných škrobů (Kodet, 1991; Velíšek, 1999).

Při modifikaci je třeba dodržovat určitá pravidla, aby nedocházelo k poškození a ztrátě předpokládané vlastnosti modifikovaného škrobu. Při modifikačním procesu se používají teploty nižší, optimum je 60 °C. Dále se musí brát v úvahu heterogenní systém (nezmazovatěly škrob – voda). Reakce probíhá v systému pevná fáze – roztok ve třech fázích, které tvoří: difúze reakční komponenty do částic pevné fáze, adsorpce na místě, kde reakce probíhá a vlastní chemická reakce. Jednotlivé fáze vyžadují optimalizaci a určité časové a teplotní podmínky. Reakce musí probíhat za takových teplot, kdy nedochází k mazovatění škrobů, čímž je omezeno jejich bobtnání. Pokud reakce probíhá za neoptimálních podmínek, dochází k ní na povrchu a těsně pod povrchem škrobového zrna (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

Modifikované škroby je možno rozdělit podle způsobu jejich modifikace:

- 1) chemická modifikace ve vodné fázi,
- 2) termochemická modifikace v přítomnosti vody,
- 3) chemická modifikace škrobu suspendovaného v organickém rozpouštědle,
- 4) termochemická modifikace na suché cestě,
- 5) chemická modifikace v roztoku škrobu (Ošťádalová a Pokorná, 2014).

2.2.2 Druhy modifikovaných škrobů

Modifikované škroby dále rozlišujeme na:

- zesítné,
- přeměněné,
- stabilizované,
- jinak modifikované (Velíšek, 2002).

Zesítné škroby

Tyto škroby vznikají esterifikační anebo etherifikační reakcí škrobových makromolekul s činidly, které mají více než jednu reaktivní skupinu, jinými slovy jsou polyfunkčně reagujícími činidly (Hrabě, 2006). Využívají se zejména dva typy zesítných škrobů, a to adipáty a fosfáty. Příprava adipátů spočívá v reakci škrobů s adipanhydridem (ve směsi s acetanhydridem) ve slabě alkalickém prostředí. Diškrobové fosfáty se připravují reakcí s oxychloridem fosforečným nebo

trimetafosfátem sodným v alkalickém prostředí (Velíšek, 2002). Zesítení má vliv hlavně na mechanickou odolnost a reologické vlastnosti hydratovaných disperzí škrobu. Zajištěn je i stabilizační efekt vůči vlivům, které způsobují mechanické namáhání disperzí (Pelikán, 1999). Pokud zesítení dosahuje nízkého stupně, zvyšuje se viskozita škrobových mazů. Při středním stupni se zvyšuje teplota mazovatění a plasticita mazu i v kyselém prostředí (Ošřádalová a Pokorná, 2014). Škroby, které se získají při vysokých stupních zesítení, neobtnají ani při teplotě varu a snášejí beze změn i několikaminutový var (Kučerová, 2007). Výsledné vlastnosti takto vyrobených škrobů tvoří odolnost vůči vysokým teplotám a chemická stabilita, hlavně vůči nízkému pH. V potravinářství se využívají jako stabilizátory a zahušřovadla při výrobě zmrazených výrobků, sušených výrobků nebo v mlékárenském průmyslu (Ošřádalová a Pokorná, 2014).

Přeměněné škroby

Existují tři způsoby získávání přeměněných škrobů z nativních, a to oxidací, kyselou hydrolyzou nebo záhřevem. Oxidací získáváme škroby bělené a oxidované. Bělení probíhá ve vodné suspenzi mírnou oxidací malým množstvím kyseliny peroctové, popřípadě peroxidu vodíku, chlornanu sodného, manganistanu draselného nebo chloru a řadou dalších oxidačních činidel, kdy dochází spíše k odstranění doprovodných barevných látek (např. karotenoidů) a oxidace je tedy minimální (Velíšek, 2002). Oxidované škroby lze získat dvojitým způsobem, a to buď selektivní, nebo neselektivní oxidací škrobu. Rozdíl spočívá v tom, že selektivní činidla oxidují na škrobu jen určité místo, kdežto činidla neselektivní oxidují škrob na různých místech a vytvářejí tak karbonyly, karboxyly, dikarbonyly aj. za současné hydrolyzy škrobu. Pro potravinářský průmysl má význam neselektivní oxidace (Kodet, 1993). Tyto škroby mají schopnost vytvořit velký počet karbonylových skupin, které jsou schopny reagovat při pečení s aminoskupinami lepku, a proto nachází své uplatnění v pekárenském průmyslu. Využívají se také v cukrářském průmyslu a při výrobě mražených smetanových krémů pro svoje želírující vlastnosti a schopnosti tvořit gelovou strukturu šlehaných hmot (Ošřádalová a Pokorná, 2014).

Kyselou hydrolyzou se rozumí několikahodinové zahřívání koncentrovaných vodných disperzí škrobů se zředěnými minerálními kyselinami (nejčastěji se používá kyselina chlorovodíková nebo sírová) na teplotu nižší než je želatinační teplota, a to 40

– 60°C. Vznikne škrobová suspenze, která se neutralizuje, poté promyje vodou a dále se škrob oddělí filtrací a usuší. Výsledkem procesu je takzvaný rozpuštěný škrob, který bobtná ve studené vodě, disperze je méně viskózní a díky této vlastnosti může být dispergován i ve vyšších koncentracích. V potravinářském průmyslu se využívá při výrobě cukrovinek, jako náhrada tuků, sacharidů nebo jako plnidlo (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Záhřevem nativních suchých škrobů se získávají bílé a žluté dextriny a britské gummy. Bílé dextriny vznikají v nejméně kyselém prostředí během krátké doby zahřevu a nižší teploty, britské gummy zase naopak v nejméně kyselém prostředí. Žluté dextriny a britské gummy se vyznačují dobrou rozpustností ve studené vodě. Využívají se jako adhezivní látky k přípravě lesklých povrchů cukrovinek a tablet nebo jako nosiče aromatických sloučenin, barviv či koření a pro enkapsulaci olejů a ve vodě nerozpustných aromat (Velíšek a Hajšlová, 2009). Nevýhodou takto upravených škrobů je jejich charakteristický pach a chuť v důsledku pražení, a proto nemají v potravinářství žádné další uplatnění. Tyto nežádoucí vlastnosti sice lze odstranit, ale poměrně nákladně (Kodet, 1993).

Stabilizované škroby

Podstatou této modifikace je substituce některých hydroxylových skupin polysacharidů. Přípravují se tak estery škrobů (fosfáty, sukcináty, acetáty) a ethery škrobů, kde patří hydroxyalkylethery aj. Výchozí surovinou může být jak nativní škrob, tak škrob modifikovaný jiným způsobem (kyselou hydrolýzou, dextrinací atd.). Výhodou oproti nativním škrobům je vyšší stabilita vůči retrogradaci při skladování potravin za nízkých teplot a také vyšší stabilita v kyselém prostředí. Využívají se obdobně jako škroby zesítené (Velíšek a Hajšlová, 2009).

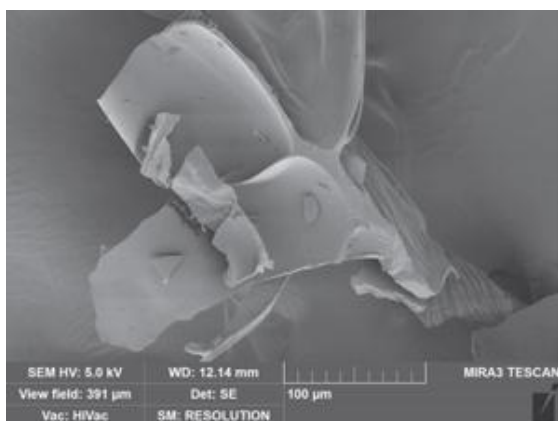
Jinak modifikované škroby

Modifikované škroby je možné nadále upravovat a zvyšovat jejich funkčnost. Dodatečnou modifikací může být kombinace kyselé hydrolýzy a dextrinace nebo za pomoci enzymů. Bývají využívány jako náhražky kaseinátů v imitacích sýrů (Velíšek a Hajšlová, 2009).

2.2.3 Mikroskopie modifikovaného škrobu

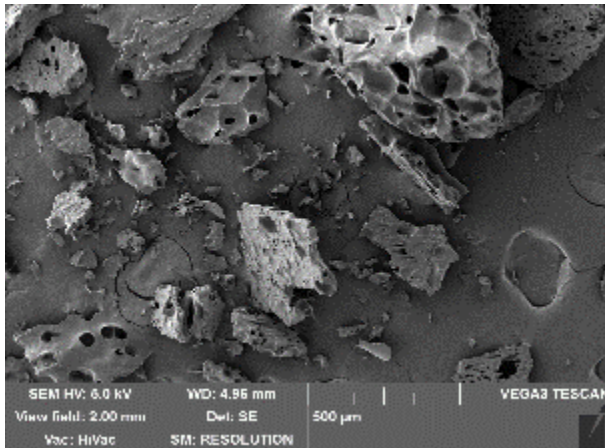
Prostřednictvím různých způsobů modifikací dochází také ke změnám tvaru, morfologie i velikostí škrobových zrn. Tyto změny jsou nejlépe pozorovatelné na snímcích ze skenovacího elektronového mikroskopu. Pomocí ní je možno nejen identifikovat a odlišit nativní a modifikované škroby, ale i určit, o jaký druh modifikace se jedná. Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu prokázaly, že povrch nativních škrobových zrn je hladký a téměř neporézni, naopak u modifikovaných škrobů jsou pozorovány zřetelné změny jak ve velikosti, tak i ve tvaru a povrchu škrobového zrna, které se liší v závislosti na použitém druhu modifikace (teplota, tlak, bělení, enzymy, organické látky) (Pospiech, 2014c).

Působením teploty a tlaku u fyzikálně modifikovaného škrobu se škrobová zrna spojují do kompaktnější struktury, která je členěná, ale na povrchu hladká (Obrázek 9). Během procesu tohoto druhu modifikace dochází k odstranění vody ze škrobového mazu, aby nedocházelo k obnovení vodíkových můstků. Výsledkem je vyšší rozpustnost a bobtnavost ve studené vodě. Pokud se jedná o chemickou modifikaci (Obrázek 10), dochází ke spojování jednotlivých škrobových zrn do mnohonásobně větších a nepravidelných granulí se členitým a zvrásněným povrchem, na kterém se vyskytují poměrně velké póry prostupující mnohdy celou strukturu modifikovaného škrobu (Pospiech, 2014c).



Obrázek 9: Bramborový škrob – fyzikálně modifikovaný, SEM

Zdroj: Pospiech, 2014a



Obrázek 10: Kukuřičný škrob – chemicky modifikovaný, SEM

Zdroj: Pospiech, 2014a

2.2.4 Význam modifikovaných škrobů v potravinářství

Modifikované škroby se vyznačují tím, že mají rozdílný vliv na technologické, reologické a funkční vlastnosti konečného výrobku. Od nativních škrobů se odlišují také způsoby jejich použití a označení. Nativní škroby nejsou považovány za aditivní látky, jejich použití není regulováno příslušným předpisem a nemusí se označovat E kódy. Řadí se mezi potraviny podobně jako například cukr nebo sůl. Naopak modifikované škroby jsou považovány za potravinářská aditiva, a pokud jsou přítomny v potravine, musí být uvedena na jejím obalu pod celým názvem nebo v podobě číselného E kódu (např. E 1404 – Oxidovaný škrob). Jejich použití reguluje vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin ve znění vyhlášky č. 122/2011 Sb., dále je jejich použití řízeno evropskou legislativou, a to podle Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách (Pospiech, 2014c).

Modifikované škroby nacházejí dobré uplatnění zejména v masném průmyslu, kde se přidávají do masných výrobků, protože mají vliv na zvýšení vaznosti vody, zlepšují vázání tuku v díle a mají tak rozhodující vliv na konzistenci, texturu a stabilitu konečného výrobku. Používají se hlavně zesítěné, oxidované a substituované škroby. K úpravě textury nebo jako zahušřovadla zabraňující rozvrstvení výrobků se využívají škroby zesítěné. Oxidované škroby jsou naopak více vhodné k obalování masa, jelikož dokážou udržet vyšší adhezi obalu. Substituované škroby jsou využívány pro uzení masných výrobků v kombinaci s nízkozesítěnými škroby (Elišová, 2012).

2.3 PRŮKAZ ŠKROBU V POTRAVINÁCH

Metody pro průkaz škrobu v surovinách a potravinách se rozdělují na metody kvalitativní a kvantitativní. Cílem kvalitativní analýzy je určit přítomnost či nepřítomnost sledované složky, v případě mikroskopického vyšetření také zjištění formy, způsobu či stupně jejího zpracování. Kvantitativní analýza se využívá ke stanovení množství přítomné složky ve zkoumané látce, její velikosti, tvaru nebo jiných tvarových charakteristik (Pospiech, 2014c). Analytické metody lze také rozdělit podle pracovní techniky na chemické, kde principem je průběh chemické reakce během analýzy, a instrumentální, kde se objektivně sledují fyzikální a fyzikálně chemické vlastnosti látek za pomoci přístrojů. Většina instrumentálních metod poskytuje jak kvalitativní, tak i kvantitativní údaje o analyzované látce (Hálková, 2001).

2.3.1 Mikroskopické metody

Tyto metody jsou nejčastěji využívány k identifikaci jednotlivých složek obsažených ve vzorku, a také slouží při detekci falšování potravin nebo k detekci potenciálních rizikových složek, které se mohou ve vzorku nacházet (Řezáčová Lukášková, 2010). Současná mikroskopie umožňuje širokou škálu vyšetřovacích metod od klasických až po nejmodernější a spolu s metodami chemickými a imunologickými podává komplexnější pohled na výrobek (Tremlová, 1998). V potravinářství má největší význam světelná mikroskopie (klasická nebo její modifikace) a elektronová mikroskopie (Pospiech, 2014c).

Příprava vzorků pro pozorování a vyšetřování se odlišuje v závislosti na druhu mikroskopie. V případě světelné mikroskopie se vzorek zalije do parafínu, vytvoří se parafínové řezy nebo se vzorek zmrazí a z něho se poté na kryotomu krájí mikroskopické řezy. Zmrazené i parafínové řezy se poté přenášejí na podložní skla a na nich se po usušení a odstranění parafínu z parafínových řezů barví. Na druhou stranu u skenovací elektronové mikroskopie se vzorek připevňuje oboustrannou uhlíkovou páskou na terčíky a poté se pokrývá vrstvičkou kovu o tloušťce cca 10 - 20 nm, nejčastěji se používá zlato. Z výsledků se zhotovují digitální fotografie, na kterých v případě modifikovaných škrobů se pozorují změny jejich struktury v závislosti na druhu použité modifikace (Pospiech, 2014c; Řezáčová Lukášková, 2010).

Vzorky jsou až na několik málo výjimek bezbarvé, a to velice znesnadňuje jejich pozorování světelným mikroskopem. Proto byly vyvinuty metody barvení, které dokážou zviditelnit jednotlivé složky vzorku, a také je od sebe odlišit. K barvení se používají převážně barviva rozpuštěná ve vodě nebo výjimečně v alkoholu. Barvení mikroskopických preparátů se rozděluje na přehledná barvení, kdy účelem je zobrazení všech struktur potravin a posuzuje se uspořádání a struktura výrobku. Běžně se obarvuje hematoxylin-eozinem nebo toluidinovou modří. Diagnostika je tedy obecně založena na znalostech vzhledu složek potravin, a také se musí brát ohled na změny struktury během technologického zpracování. Druhým typem jsou cílená barvení, která jsou určena pro zvýraznění vybraných struktur, zatímco ostatní složky potravin se obarvují méně nebo vůbec. Většina cílených barviv působí na principu histochemických barvení, kdy podstatou těchto metod je chemická reakce mezi barvivem a sledovanou strukturou, např. určitého druhu proteinu nebo polysacharidu (Pospiech, 2014c).

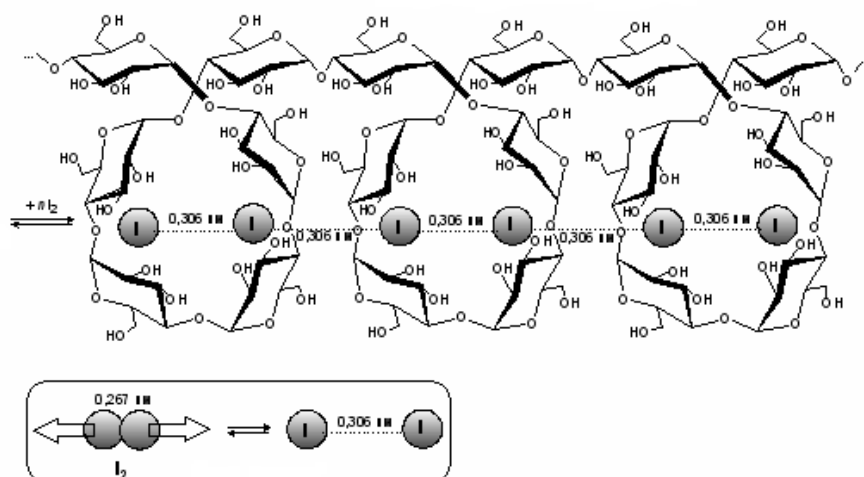
Barvení škrobů

Škroby se nejčastěji prokazují pomocí cílených barvicích metod. Při průkazu nativních škrobů se používají kombinované barvení PAS-Calleja, kdy se celkové polysacharidy včetně škrobu obarví růžově až purpurově červenou barvou, a další možností je kombinované barvené Lugol-Calleja, při kterém se škrobová zrna obarví tmavě fialovou až černou barvou (Pospiech, 2014c; Řezáčová Lukášková, 2010). Klasickou metodou pro průkaz škrobu je barvení za pomoci Lugolova roztoku, resp. vodným roztokem elementárního jódu a jodidu draselného (Pospiech, 2014c; Bader, 2009).

Reakce jodu se škrobem (Obrázek 11)

Působením roztoku jódu s jodidem draselným na škrobový maz vzniká intenzivně tmavomodré zbarvení, miznoucí při ohřívání a opětovně se objevující při ochlazení. Jódová reakce je známá už více než 100 let, ale v dostatečné míře se prozkoumala až o mnoho let později. V reakci je možno rozeznat dvě stádia. V prvním stádiu, spojeném se začátkem působení jódu na polysacharidy, probíhá proces tvorby komplexu podléhající stechiometrickým poměrům. Velmi výrazně je možno vidět tvorbu komplexu při reakci s amylosem a s rozvětvenými molekulami amylopektinu podobnými amylose. Molekuly jódu se spirálovitě vinou řetězem amylose, přičemž na

každou molekulu jódu připadá šest glukózových zbytků (jeden celý závit spirály). V druhém stádiu probíhá krátký proces absorpce jódu. U amylopektinu probíhá absorpce jódu od začátku na nerovném povrchu silně rozvětveného polysacharidu, který zastíní chod procesu. Odstín výsledného zbarvení škrobu závisí na stavbě a stupni rozvětveného polysacharidu (Tregubov, 1986).



Obrázek 11: Schéma znázorňující vazbu jódu ve škrobu

Zdroj: Amyloidin, 2009

Důležitým faktorem je vyšší vodní aktivita, kdy je umožněna hydratace škrobu a tím dochází ke snazší prostupnosti jódu do škrobu. Také teplota má pozitivní vliv na propustnost jódu do šroubovice glukanového polymeru, protože dochází ke vzniku povrchových pórů a kanálek, které vnikají do škrobových částic a v důsledku toho dochází ke zvětšení plochy povrchu a zlepšení přístupu jódu (Pospiech et al., 2014b).

Ke stanovení škrobu je také možné použít jód v alkoholovém roztoku (jodová tinktura) nebo jodové páry, které jsou vhodné pro potraviny obsahující tepelně opracovaný (želatinizovaný škrob), jehož nevýhodou je rozpustnost ve vodných roztocích jódu. Barvení škrobů, jejichž zrna byla po různém technologickém opracování poškozena, se provádí trypanovou modří patřící do skupiny azobarviv. Poškozená škrobová zrna umožňují přestup molekul barviva do škrobové struktury a navázání na molekuly amylozy a amylopektinu. Poškozený škrob se barví modře, zatímco nepoškozený škrob zůstává neobarvený (Pospiech, 2014c).

2.3.2 Fyzikálně chemické metody

Polarizační mikroskopie patří mezi modifikace světelné mikroskopie, jejíž princip je založen na schopnosti některých látek stáčet rovinu lineárně polarizovaného záření. Většinou jde o látky organické, které ve své molekule obsahují tzv. asymetrický uhlík. Nazývají se také jako látky opticky aktivní. Všeobecně lze za takovou látku považovat jakoukoliv látku, jejíž molekuly nelze ztotožnit s jejich zrcadlovým obrazem (Klouda, 2003).

Pro polarimetrické stanovení škrobu se nejčastěji používá metoda dle Ewese. Postup spočívá v izolaci škrobu ze vzorku a převedení do rozpustné formy působením kyseliny chlorovodíkové. Před měřením je také nutno odstranit nerozpuštěné částice čířením pomocí Carrezova roztoku. Vzniklým čirým filtrátem se naplní polarizační trubice a změří se úhel stáčení polarizovaného světla. Stupně odečtené na stupnici se vynásobí měrnou otáčivostí dle druhu škrobu (Kubáň, 2007). Polarizační mikroskopie má význam pouze pro stanovení nativních škrobů, kdy v polarizovaném světle je možno vidět tmavý kříž na škrobových zrnech. Modifikované škroby tuto vlastnost ztrácejí (Vorlíčková, 2012).

Spektrofotometrie je vhodná především pro sériovou analýzu vzorků. Tato metoda se vyznačuje hlavně časovou nenáročností, jednoduchostí a má poměrně vysokou citlivost. Princip stanovení je založen na barevných reakcích derivátů furfuralu, který vzniká z cukru v kyselém prostředí nebo na stanovení barevné intenzity nepotřebovaného alkalického měďnatého roztoku (Davídek, 1977).

Z fyzikálně chemických metod mají pro stanovení škrobů význam také enzymatické metody nebo vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC).

2.3.3 Analýza obrazu

Zavedení technologií počítačového zpracování obrazu do potravinářské oblasti požadovala hlavně zvýšená poptávka po objektivitě, konsistenci a efektivitě v hodnocení kvality potravin. Zpracování obrazových informací lidským okem není dostačující pro objektivní vyhodnocení (velikosti, tvaru, barvy objektů atd.) (Pospiech, 2014c). Jedná se pouze o subjektivní hodnocení a může být i časově proměnné. Přestože člověk umí poměrně dobře rozlišovat jednotlivé barvy, pro rozlišení různých odstínů

šedi není zrak dostatečně vybaven. U černobílých obrazů je pro pozorovatele často problematické zaznamenat v pozorovaném vzorku jemné odstíny, protože lidské oko nedokáže rozlišit více než cca 80 úrovní jasu. Moderní digitální fotoaparáty nebo kamery vytvářejí ve srovnání s lidským okem kontrastnější obrazy a zaznamenávají o mnoho menší intenzity světla. Takto vytvořený obraz má elektronickou podobu, která umožňuje úpravu jeho kvality a automatizované vyhodnocování pomocí metod obrazové analýzy (Jeřábková, 2010).

Podstatou obrazové analýzy je digitalizace obrazu a zpracování tak vzniklého souboru dat v počítači za pomoci speciálních počítačových programů pro analýzu obrazu, které umožňují kvantitativně popsat a specifikovat obrazové informace z hlediska geometrických rozměrů, morfologických znaků, optické hustoty, barvy a počtu zkoumaných objektů a popřípadě je porovnávat s jinými soubory dat a určovat míru shody (Jeřábková, 2010; Tremlová a Štarha, 2004). Velkou výhodou je také možnost porovnávání objektů současně snímané mikroskopem s výsledky získanými v minulosti, které pak lze statisticky vyhodnotit (Tremlová and Štarha, 2002).

Počítačová obrazová analýza začíná definováním standardních podmínek pro dané měření, které musí zůstat zachovány po celou dobu měření, aby bylo dosaženo opakovatelných výsledků (Jeřábková, 2010). Dalším krokem jsou různé úpravy, které vedou ke značné redukci obrazové informace. Následně se z obrazu vyčleňují a analyzují (měří, počítají, srovnávají) jen ty údaje, které jsou právě důležité. Obecný postup obrazové analýzy je řízen na základě toho, zda se v jednotlivých sledovaných objektech zaměřuje na informaci obsaženou v barevné, popřípadě černobílé složce (struktura, textura), na informaci velikostní (délka, plocha, úhel) nebo na četnost výskytu daných objektů tj. stanovení kvantitativní (Pospiech, 2014c; Lukáš a kol., 2008).

Postup analýzy obrazu se rozděluje do následujících částí, které budou blíže popsány v kapitole Materiál a metodika:

- získání obrazu,
- zpracování obrazu,
- segmentace obrazu (prahování),
- vlastní analýza obrazu.

Měření různých parametrů (velikost, tvar, barva) pomocí obrazové analýzy je v případě vzorků potravin nejčastěji ve vztahu k jejich významným sensorickým a technologickým vlastnostem, a také k případnému odhalování jejich vad. Uplatnění nachází hlavně při kontrole kvality masa a masných výrobků, kdy se objektivně stanovuje mramorování masa, obsah kolagenního, elastického vaziva a kostí v masných výrobcích nebo se určuje množství sójového proteinu v játrových paštikách. Dále se obrazová analýza využívá také při hodnocení kvality ovoce, zeleniny nebo obilovin (Pospiech, 2014c).

3 MATERIÁL A METODIKA

Praktická část bakalářské práce se věnovala barvitelnosti různých druhů nativních i modifikovaných škrobů. K barvení škrobových zrn byla použita metoda barvení párami nad krystalky jodu po dobu 30 minut. Tato metoda vychází z výsledků bakalářské práce (Svobodová, 2015), která se zabývala výběrem nejvhodnějšího způsobu barvení bezvodým roztokem jodu pro průkaz modifikovaných škrobů. Poté byly zhotoveny mikroskopické snímky obarvených vzorků, u nichž se za pomoci programu pro analýzu obrazu hodnotily rozdíly intenzity obarvení mezi jednotlivými vzorky škrobů.

3.1 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ

K vyšetření bylo připraveno a použito celkem 26 vzorků, z toho 9 vzorků obsahovalo bramborový škrob, 15 vzorků kukuřičný škrob, z nichž 5 vzorků tvořil škrob z voskové kukuřice a dále po 1 vzorku pšeničného a tapiokového škrobu. Podrobnější popis jednotlivých vzorků je znázorněn v tabulce Tabulka 1.

3.2 PŘÍPRAVA VZORKŮ

K zafixování škrobu se použil glycerol-bílek, který se na podložní sklo jemně rozetřel tyčinkou. Na každý vzorek se použila celkem 3 podložní sklíčka. Poté na ně bylo nanášeno velmi malé množství škrobových zrn, které se nechaly zaschnout a následně je bylo možné použít k barvení.

3.2.1 Barvení párami nad krystalky jodu

Postup barvení

Do skleněné komory se nejprve vložila 1 cm silná vrstva filtračního papíru navlhčená dostatečným množstvím destilované vody. Na navlhčený filtrační papír se nasypaly krystalky jodu, které se předtím nadrtily v hmoždíři. Skleněná komora se poté uzavřela a nechala 10 minut stát. Vzorek se nejprve před umístěním do komory vložil na krátkou dobu (cca 1 minuta) do kryostatu, aby se zajistila jeho fixace na podložním sklíčku. Poté se vzorek přemístil do komory, kde byl položen na špejle a po 30

minutách barvení se vyšetřil pod mikroskopem, a bylo zaznamenáno zbarvení škrobových zrn. Vyšetření musí proběhnout nejlépe do 10 minut od ukončení barvení, po delší době by docházelo k postupnému odbarvování zrn.

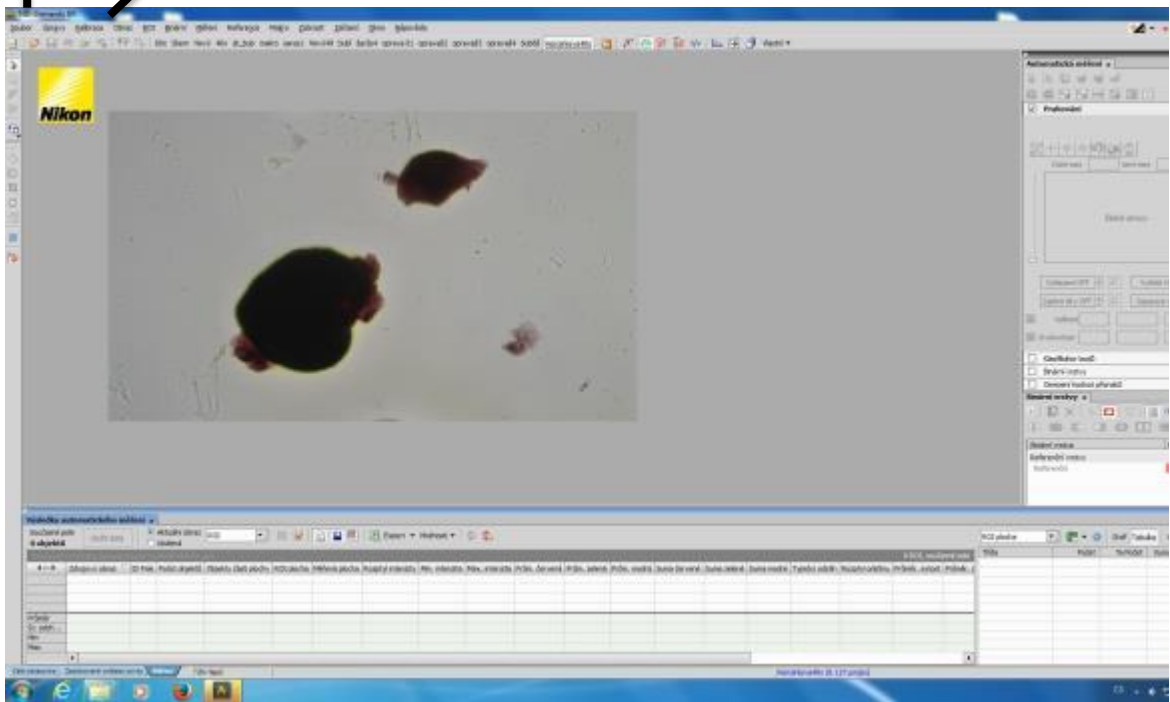
Tabulka 1: Přehled vyšetřovaných vzorků

Pořadové číslo	Číslo vzorku	Druh škrobu	Typ
1	1/11	bramborový	fyzikální modifikace
2	3/11	kukuřičný	chemická modifikace
3	4/11	kukuřičný	chemická modifikace
4	6/11	kukuřičný	chemická modifikace
5	7/11	kukuřičný	chemická modifikace
6	8/11	kukuřičný	chemická modifikace
7	9/11	tapiokový	nativní
8	10/11	kukuřičný	chemická modifikace
9	11/11	pšeničný	nativní
10	12/11	kukuřičný	chemická modifikace
11	13/11	kukuřičný	fyzikální modifikace
12	15/11	bramborový	fyzikální modifikace
13	16/11	kukuřičný	nativní
14	17/11	voskovaný kukuřičný škrob	chemická modifikace
15	18/11	bramborový	nativní
16	19/11	voskovaný kukuřičný škrob	modifikovaný
17	20/11	bramborový	chemická modifikace
18	21/11	bramborový	modifikovaný
19	22/11	bramborový	chemická modifikace
20	23/11	bramborový	chemická modifikace
21	24/11	bramborový	chemická modifikace
22	25/11	voskovaný kukuřičný škrob	nativní
23	26/11	voskovaný kukuřičný škrob	nativní
24	27/11	voskovaný kukuřičný škrob	modifikovaný
25	28/11	kukuřičný	chemická modifikace
26	29/11	bramborový	chemická modifikace

Při práci je nutné dodržovat řadu bezpečnostních pravidel, protože páry jodu jsou jedovaté. Aby se zabránilo jejich vdechování, musí veškerá práce s nimi probíhat v digestoři. Při veškeré manipulaci s materiálem je také zapotřebí používat ochranné rukavice.

Z nabídky *Soubor* se vybere a otevře zvolený snímek.

Lišta Menu s příkazy *Soubor, Úpravy, Kalibrace, Obraz, ROI, Binární, Měření, Reference, Makro, Zobrazit, Zařízení, Okno a Nápověda.*



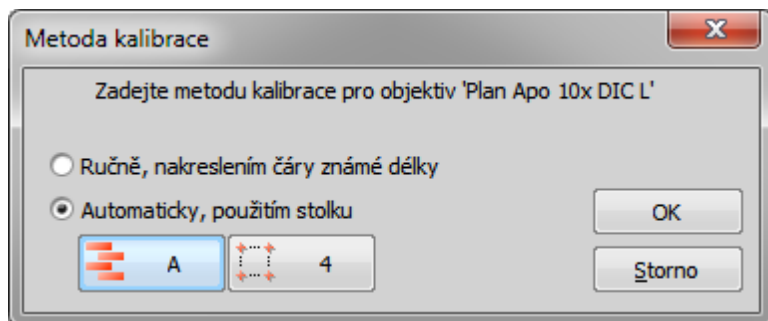
Obrázek 13: Popis standardní obrazovky a otevření zvoleného snímku na pozadí programu NIS-Elements

Zdroj: Autorka práce

Nastavení měřítka

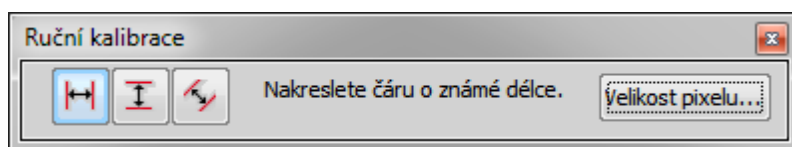
Před vlastním měřením je potřeba nastavit měřítko ve vybraných jednotkách SI, které v programu udává velikost 1 pixelu. U nafocených snímků z mikroskopu bylo nutné vyfotit milimetrové měřítko na skle, aby bylo možné změřit 1 mm v pixelech a z této hodnoty poté vypočítat velikost 1 pixelu. Pro tento úkon byl použit příkaz Kalibrace z lišty Menu. Po zobrazení okna s názvem metoda kalibrace (Obrázek 14) byla vybrána možnost ruční kalibrace, tj. nakreslením čáry známé délky. V dalším okně s názvem ruční kalibrace se vybere jedna z ikon pro nakreslení vzdálenosti v obraze (Obrázek 15). Protože není známa velikost 1 pixelu, použije se k měření vzdálenosti výše zmíněné milimetrové měřítko. Po změření se do druhého okna ruční kalibrace zadá

naměřená hodnota a zvolí se příslušné jednotky (μm) (Obrázek 16). Tímto způsobem je měřítko automaticky nastavené pro všechny analyzované snímky (Uživatelská příručka NIS-Elements BR).



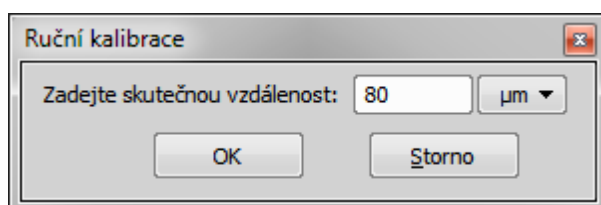
Obrázek 14: Metoda kalibrace

Zdroj: Uživatelská příručka NIS-Elements BR



Obrázek 15: Ruční kalibrace 1

Zdroj: Uživatelská příručka NIS-Elements BR



Obrázek 16: Ruční kalibrace 2

Zdroj: Uživatelská příručka NIS-Elements BR

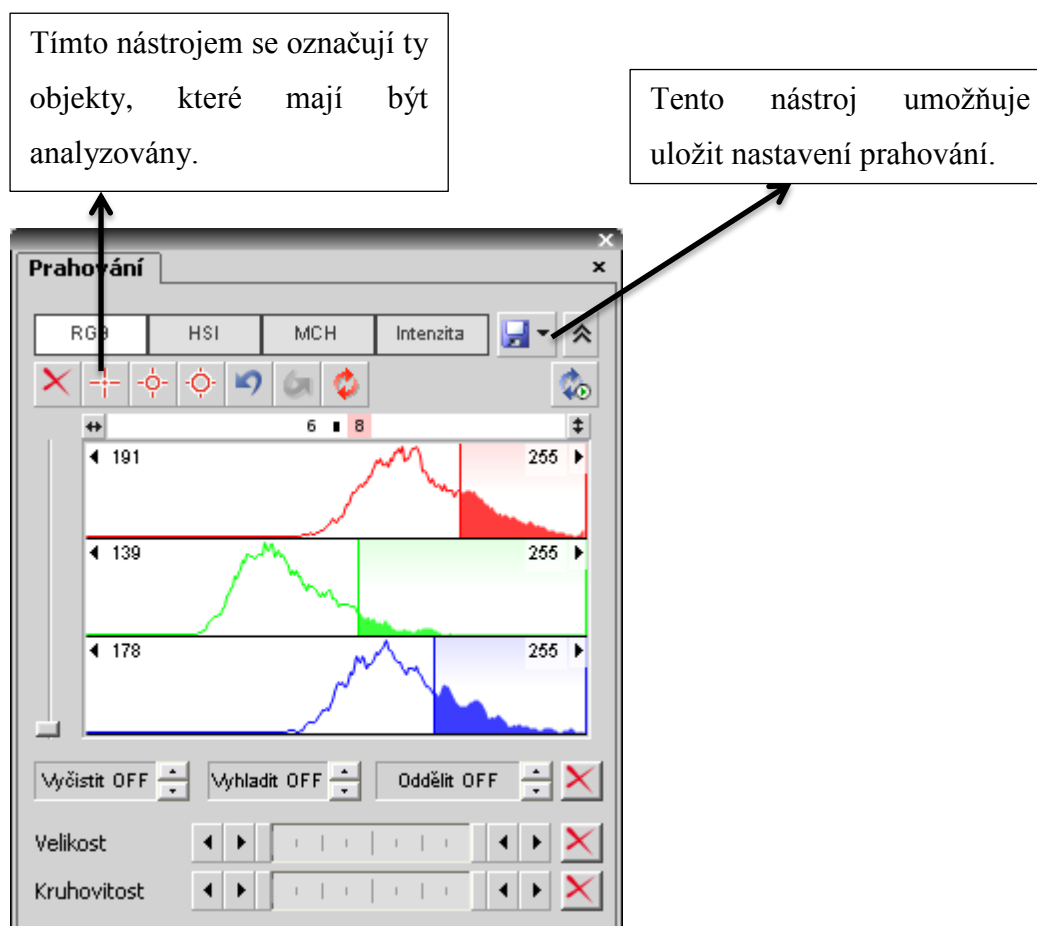
3.3.3 Prahování

Segmentace obrazu patří k nejdůležitějším krokům vedoucím k analýze obsahu zpracovávaných obrazových dat. Objekty, které budou podrobeny analýze, jsou vyextrahovány od nezajímavého pozadí. Nejjednodušší a nejčastěji používanou metodou segmentace obrazu je tzv. prahování. Princip spočívá v tom, že objekty a pozadí mají jinou úroveň intenzity jasu. Určuje se rozdílová úroveň (práh), aby pak

každý pixel, který se pohybuje v menších hodnotách než zvolený práh, byl určen jako pixel pozadí a všechny ostatní pixely jako pixely analyzovaného objektu (Pospiech a kol., 2014).

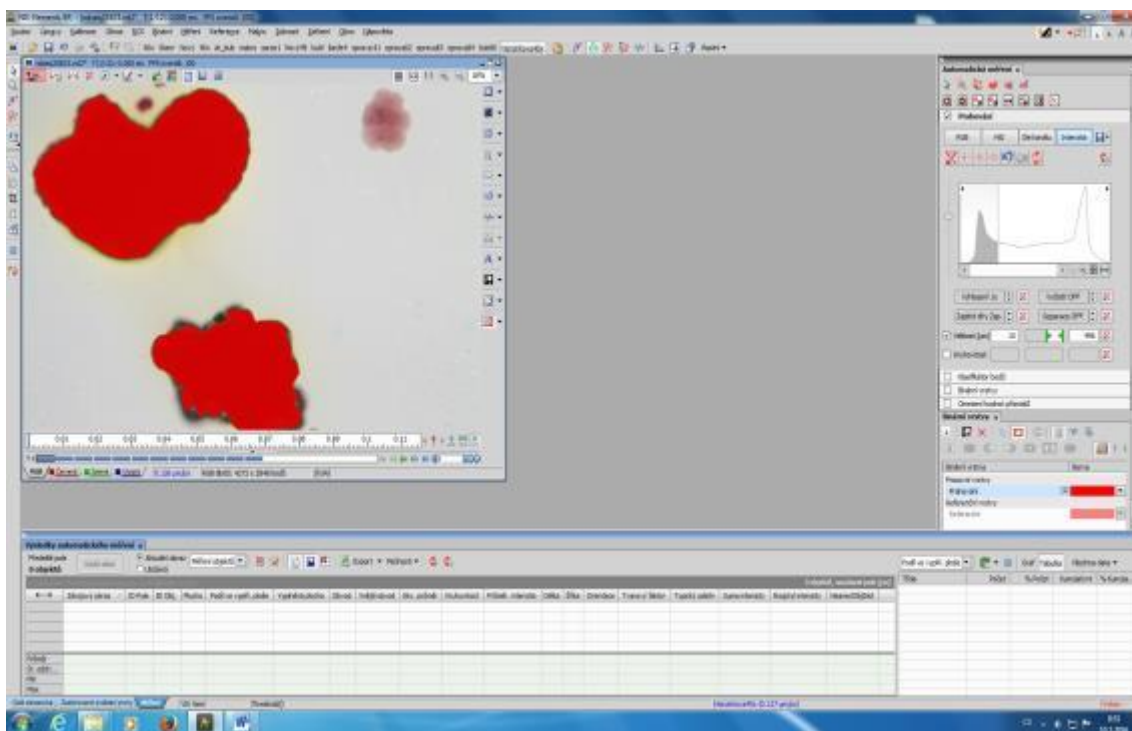
Nastavení prahování

Prahování se nastavuje v režimech RGB, HSI a intenzita. V režimu RGB se limity pro prahování určují výběrem referenčních bodů v obrazu za pomoci příslušných nástrojů (Obrázek 17). V režimu HSI a intenzita funguje proces prahování jako v režimu RGB, pouze hodnoty pixelů jsou vyhodnoceny v rámci barevného prostoru HSI (Hue – odstín, Saturation – sytost, Intensity – intenzita) a v případě režimu intenzity je proces prahování prováděn na hodnotách intenzity pixelů (Uživatelská příručka NIS-Elements BR). Po označení se vybrané objekty vybarví červenou barvou (Obrázek 18).



Obrázek 17: Okno nastavení prahování

Zdroj: Uživatelská příručka NIS-Elements BR



Obrázek 18: Zvýraznění analyzovaných objektů

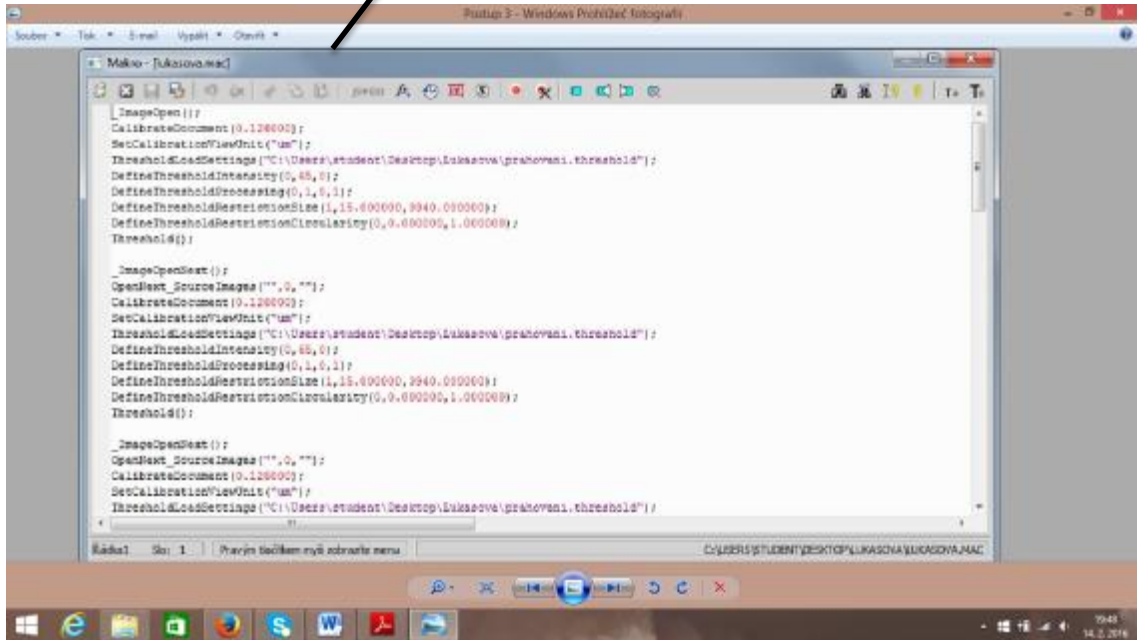
Zdroj: Autorka práce

3.3.4 Vlastní analýza obrazu

Vytvoření makra

Makro je uživatelem vytvořená nová funkce, která je tvořená sledem příkazů a jejich nastavením, který byl uživatelem během procesu analýzy sestaven a slouží k tomu, aby při opakovaných analýzách nebylo nutné všechny použité funkce nastavovat a aplikovat manuálně. Nabízí se také možnost editace makra, kdy lze volně mazat nebo přidávat další funkce či měnit jejich parametry (Lukáš a kol., 2008) (Obrázek 19). Vytvořené makro lze uložit do externího souboru (*.mac). Spuštění makra se provádí v liště Menu v nabídce *Makro*.

Okno s nastavenými funkcemi pro opakovaná měření s možností editace.

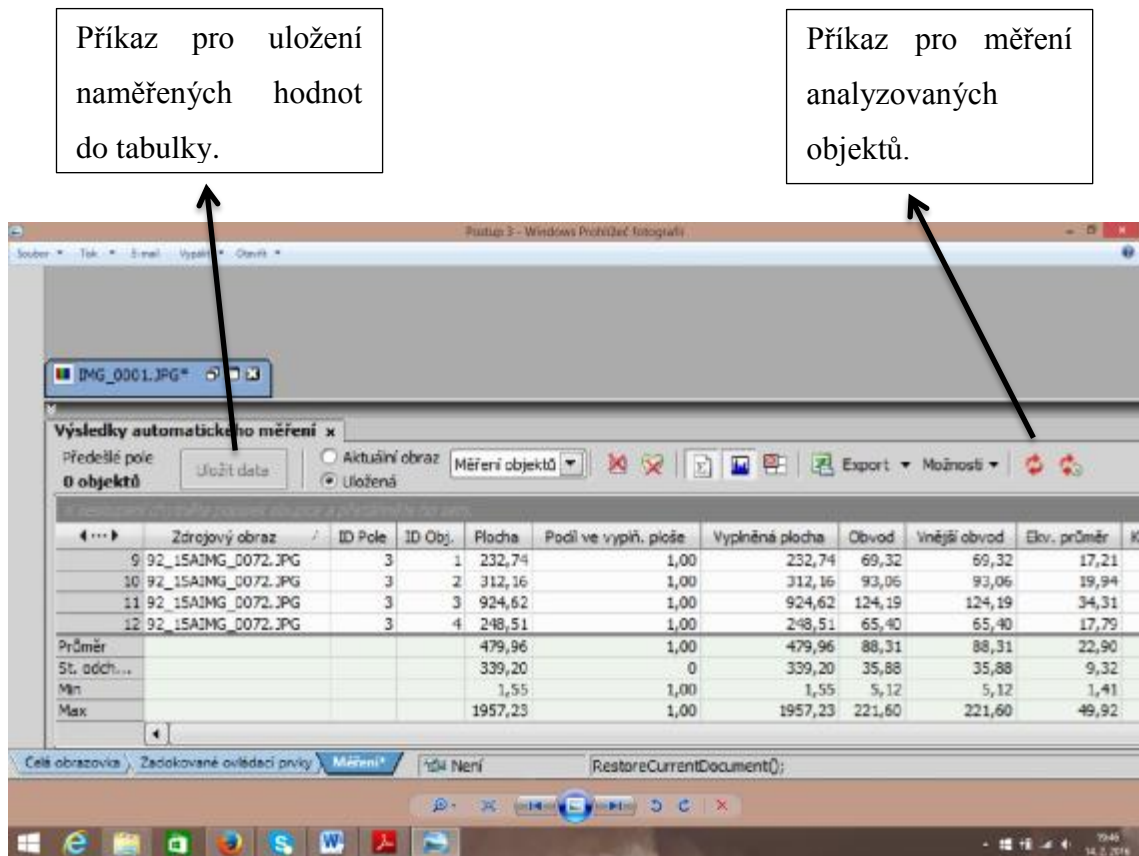


Obrázek 19: Nastavení makra

Zdroj: Autorka práce

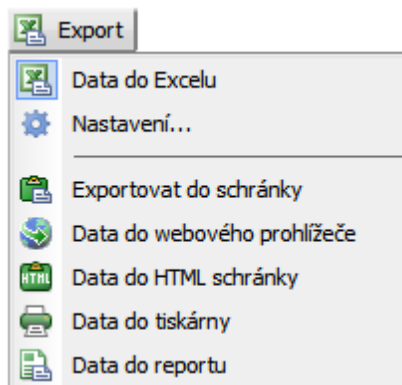
Měření

Před provedením měření vybraných objektů je často potřeba binární obraz vzniklý prahováním upravit, a to například vyplněním případných děr v objektu nebo vyhlazením jeho okrajů. Úpravy se provádějí za pomoci příkazů matematické morfologie, které obsahují operace jako *Eroze*, *Dilatace*, *Vyčištění*, *Vyplnění děr* atd. Měření probíhá automaticky a řídí se podle uživatelem nastaveného makra. Výsledky se zapisují do níže uvedené tabulky a provedou se zde také základní statistické výpočty, jako jsou průměrné hodnoty, standardní odchylka a rozptyl všech naměřených hodnot (Obrázek 20). Tabulková data se poté exportují z programu NIS-Elements do MS Excel pro jejich další vyhodnocování (Uživatelská příručka NIS-Elements BR) (Obrázek 21).



Obrázek 20: Tabulka výsledků automatického měření

Zdroj: Autorka práce



Obrázek 21: Export výsledků

Zdroj: Uživatelská příručka NIS-Elements BR

Příznaky měření

V programu NIS-Elements BR se parametry pro měření velikosti, tvaru nebo barvy různých objektů označují jako příznaky měření. Pro posouzení barvitelnosti škrobových zrn byly vybrány příznaky měření pro barvu, jas, intenzitu, sytost, odstín a hustotu, jejichž podrobnější popis je uveden v tabulce Tabulka 2.

Tabulka 2: Popis vybraných parametrů

Parametr	Popis
Průměrná intenzita	Statistický průměr z hodnot intenzity obrazových bodů
Suma intenzity	Součet intenzit všech obrazových bodů objektu
Rozptyl intenzity	Standardní odchylka hodnot intenzit
Minimum intenzity	Minimum z hodnot intenzity pixelů
Maximum intenzity	Maximum z hodnot intenzity obrazových bodů
Průměr červená	Průměr z hodnot červené složky obrazových bodů
Průměr zelená	Průměr z hodnot zelené složky obrazových bodů
Průměr modrá	Průměr z hodnot modré složky obrazových bodů
Suma červené	Součet hodnot všech červených složek obrazových bodů
Suma zelené	Součet hodnot všech zelených složek obrazových bodů
Suma modré	Součet hodnot všech modrých složek obrazových bodů
Typický odstín	Hodnota odstínu s maximální četností
Rozptyl odstínu	Standardní odchylka hodnot odstínu
Průměrná sytost	Statistický průměr hodnot saturace obrazových bodů
Průměrný jas	Statistický průměr z hodnot jasu pixelů
Suma jasu	Součet jasu ve všech obrazových bodech objektu
Rozptyl jasu	Standardní odchylka hodnot jasu v obraze
Průměrná hustota	Statistický průměr z hodnot hustot pixelů
Suma hustoty	Součet individuálních optických hustot každého obrazového bodu v měřené ploše
Rozptyl hustoty	Standardní odchylka hodnot hustoty

3.3.5 Statistické hodnocení

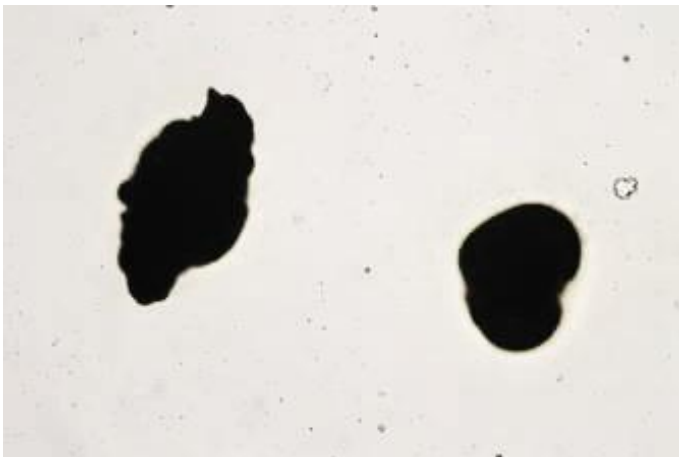
K vyhodnocení výsledků byl použit statistický program Unistat Verze 6.0.25. Pro určení parametru, který by nejvíce poukazoval na rozdíl intenzity obarvení mezi jednotlivými vzorky škrobů, byla použita Metoda hlavních komponent a pro zobrazení výsledků byl použit graf kosoúhlé rotace. Dále byly provedeny testy normality a na základě jejich výsledků byl zvolen test ANOVA mnohonásobná porovnávání dle Tukeye – HSD, který určuje statistickou významnost rozdílů mezi použitými vzorky škrobů.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 MIKROSKOPICKÉ SNÍMKY ŠKROBOVÝCH ZRN PO OBARVENÍ

Jak už bylo zmíněno v kapitole Materiál a metodika, použily se k obarvení jodovými párami většinou vzorky bramborového, kukuřičného, voskovaného kukuřičného škrobu a po jednom vzorku škrob pšeničný a tapiokový. Následující fotodokumentace znázorňuje vybrané snímky zastupujících druhů škrobu pořízené fotoaparátem umístěným na mikroskopu.

Intenzita obarvení bramborového škrobu (Obrázek 22) byla největší ze všech vyšetřovaných druhů škrobu. Nativní bramborový škrob má tvar vejčitý nebo eliptický, vlivem fyzikální modifikace je však na obrázku patrná menší změna tvaru škrobového zrna.



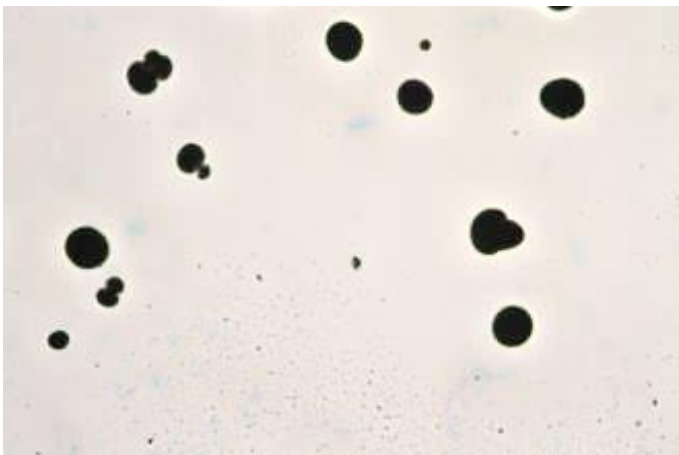
Obrázek 22: Vzorek č. 1/11, bramborový škrob, fyzikální modifikace
Zdroj: Autorka práce

U kukuřičného škrobu (Obrázek 23) docházelo k menší intenzitě obarvení než u bramborového škrobu. Na škrobových zrnech jsou patrné světle fialová místa, a také lze dobře rozpoznat jejich charakteristický tvar (mnohostranná s hvězdicovitě rozeklanou dutinou).



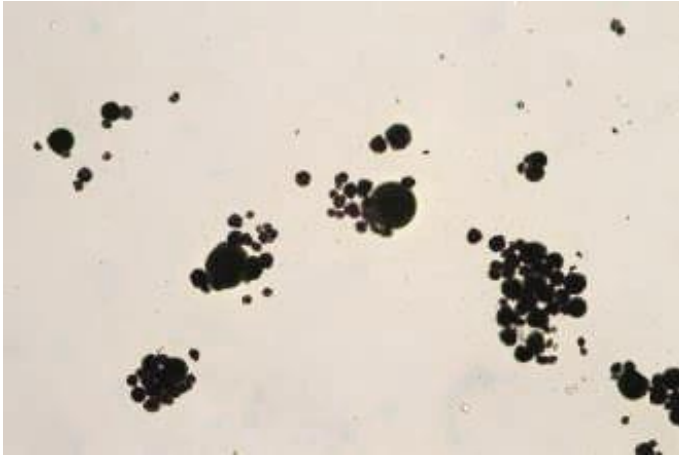
Obrázek 23: Vzorek č. 16/11, kukuřičný škrob, nativní
Zdroj: Autorka práce

Pšeničný škrob (Obrázek 24) má charakteristický čočkovitý až kulatý tvar a intenzita obarvení je přibližně stejně velká jako u bramborového škrobu.



Obrázek 24: Vzorek č. 11/11, pšeničný škrob, nativní
Zdroj: Autorka práce

Tapiokový škrob (Obrázek 25) má různou velikost zrn, které se nacházejí v malých nebo větších shlucích. Tvarově se nejvíce přibližují pšeničnému i kukuřičnému škrobu. Intenzita obarvení je podobná jako u pšeničného škrobu.



Obrázek 25: Vzorek č. 9/11, tapiokový škrob, nativní
Zdroj: Autorka práce

Intenzita obarvení voskovaného kukuřičného škrobu (Obrázek 26) byla ze všech druhů použitých škrobů nejméně výrazná. Je to dáno tím, že tento druh škrobu je získáván ze speciální odrůdy kukuřice voskové (waxy), která obsahuje více než 99 % amylopektinu, čímž je ovlivňována výslednost obarvení škrobových zrn (Výklad pojmů, Limagrain Česká republika).



Obrázek 26: Vzorek č. 26/11, voskovaný kukuřičný škrob, modifikovaný
Zdroj: Autorka práce

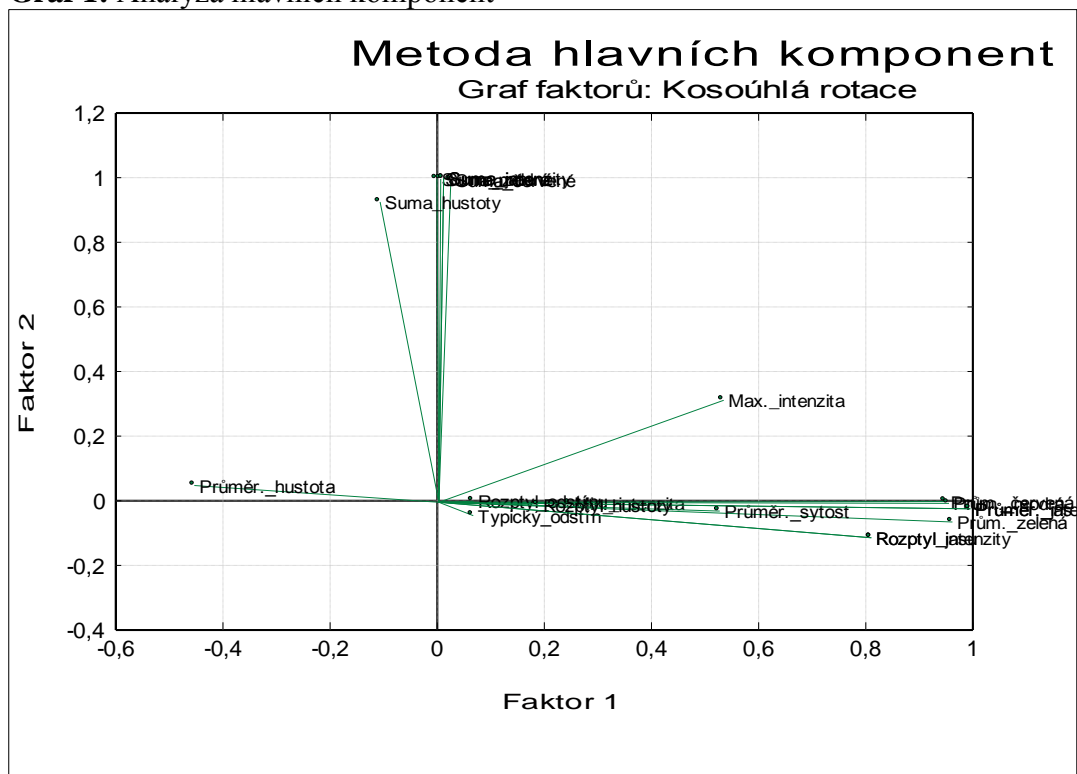
4.2 HODNOCENÍ PARAMETRŮ PRO URČENÍ BARVITELNOSTI ŠKROBOVÝCH ZRN

Cílem tohoto hodnocení bylo zjistit, u kterého z vybraných parametrů bylo zjištěno nejvíce rozdílů v intenzitě obarvení mezi vyšetřovanými vzorky škrobů.

4.2.1 Metoda hlavních komponent (PCA)

Analýza hlavních komponent (Principal Component Analysis – PCA) je obvykle využívána u vícerozměrných metod jako první krok při velkém počtu měření nebo proměnných s cílem snížení rozsahu (redukci) dat s co nejmenší ztrátou informace. Účelem této metody je tedy transformace dat z původních proměnných do menšího počtu latentních proměnných, které se označují jako hlavní komponenty. Tyto nové proměnné mají vhodnější vlastnosti, je jich výrazně méně a vystihují téměř celou proměnlivost (variabilitu) původních proměnných (Sebera, 2012; Meloun, 2005). Výsledky analýzy hlavních komponent znázorňuje Graf 1.

Graf 1: Analýza hlavních komponent



Graf 1 ukazuje, které vybrané parametry (hlavní komponenty) určují nejvíce rozdílů v intenzitě obarvení mezi jednotlivými vzorky škrobů. Jsou to ty parametry, které se

nejvíce vychylují od místa protnutí kolmic, a to jsou suma hustoty, maximální intenzita a průměrná hustota.

4.3 HODNOCENÍ BARVITELNOSTI ŠKROBOVÝCH ZRN

Dalším krokem statistického testování bylo provedení testu normality, kterým se zjišťuje, zda soubor dat sledované náhodné veličiny odpovídá Gaussovu normálnímu rozdělení pravděpodobností či nikoli (v tomto případě neznámé rozdělení) (Bedáňová, 2007). Testování normality bylo důležité z hlediska toho, jaký test bude možno dále použít, jestli parametrický (pro normální rozdělení) nebo neparametrický (pro neznámé rozdělení). Existují různé druhy testů, jako například Shapiro – Wilkův test, Kolmogorov – Smirnovův test, Anderson - Darling test aj., které se od sebe odlišují silou a náročností provedení.

Pro určení, jaký další test lze použít při hodnocení barvitelnosti škrobových zrn, byl proveden Shapiro – Wilkův a Kolmogorov – Smirnovův test. Výsledkem obou testů bylo nenormální rozdělení dat, bylo tedy možné použít test neparametrický.

Do neparametrických testů je možné zařadit i analýzu rozptylu (ANOVA – Analysis of Variance) test mnohonásobného porovnávání dle Tukeye – HSD („honestly“ significant difference = opravdu významný rozdíl). Tímto testem se porovnávají vzájemné rozdíly mezi skupinovými průměry a posuzuje se statistická významnost těchto rozdílů. Znamená to, že mnohonásobných porovnání je třeba udělat tolik, kolik je možných kombinací průměrů (Drápela, 1999). Test dle Tukeye se prováděl u vybraných parametrů určených metodou hlavních komponent, tedy u průměrné hustoty, sumy hustoty a maximální intenzity. Výsledky, mezi kterými vzorky škrobů byl zjištěn statisticky významný rozdíl a mezi kterými nikoliv, jsou znázorněny v tabulkách 3 – 9.

4.3.1 Suma hustoty

Tabulka 3 (a také tabulka 4 a 5) znázorňuje, mezi kterými vzorky existuje statisticky významný rozdíl u parametru suma hustoty. U vzorků 1/11 (fyzikálně modifikovaný bramborový škrob), 3/11, 6/11 a 7/11 (chemicky modifikované kukuřičné škroby) byla prokázána odlišnost od téměř všech ostatních vzorků, oproti tomu vzorky 4/11, 8/11,

10/11 (chemicky modifikované kukuřičné škroby) a 9/11 (nativní tapiokový škrob) se odlišovaly jen od některých vzorků.

Tabulka 3: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 1/11 – 10/11

Vzorek	1/11	3/11	4/11	6/11	7/11	8/11	9/11	10/11
1/11	-	-	**	**	**	**	**	**
3/11	-	-	**	**	**	**	**	**
4/11	**	**	-	**	**	-	-	-
6/11	**	**	**	-	-	**	**	**
7/11	**	**	**	-	-	**	**	**
8/11	**	**	-	**	**	-	-	-
9/11	**	**	-	**	**	-	-	-
10/11	**	**	-	**	**	-	-	-
11/11	**	**	-	**	**	-	-	-
12/11	**	**	-	**	**	-	-	-
13/11	**	**	-	**	**	-	-	-
15/11	**	**	**	-	-	**	**	**
16/11	**	**	-	**	**	-	-	-
17/11	**	**	**	**	-	**	**	**
18/11	**	**	**	-	-	**	**	**
19/11	**	**	-	**	**	-	-	-
20/11	**	**	-	**	**	-	-	-
21/11	**	**	-	**	**	-	-	-
22/11	**	**	-	**	**	-	-	-
23/11	**	**	**	-	-	**	**	**
24/11	**	**	-	**	**	-	-	-
25/11	**	**	-	**	**	-	-	-
26/11	**	**	-	**	**	-	-	-
27/11	**	**	-	**	**	-	-	-
28/11	**	**	-	**	**	-	-	-
29/11	**	**	-	**	**	-	-	-

(*Vysvětlivky:* ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

V tabulce 4 lze vidět méně rozdílů mezi vzorky škrobů. Vzorky 11/11 (nativní pšeničný škrob), 12/11 (chemicky modifikovaný kukuřičný škrob) a 13/11 (fyzikálně modifikovaný kukuřičný škrob) se od ostatních vzorků odlišují obdobně jako vzorky 8/11, 10/11 (chemicky modifikované kukuřičné škroby) a 9/11 v předchozí tabulce. Téměř od všech ostatních vzorků se prokázal rozdíl u vzorků 15/11 (fyzikálně modifikovaný bramborový škrob), 17/11 (chemicky modifikovaný voskovaný

kukuřičný škrob) a 18/11 (nativní bramborový škrob), méně pak u vzorku 16/11 (nativní bramborový škrob) a nejméně rozdílů bylo zaznamenáno u vzorku 19/11 (modifikovaný voskovaný kukuřičný škrob).

Tabulka 4: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 11/11 – 19/11

Vzorek	11/11	12/11	13/11	15/11	16/11	17/11	18/11	19/11
1/11	**	**	**	**	**	**	**	**
3/11	**	**	**	**	**	**	**	**
4/11	-	-	-	**	-	**	**	-
6/11	**	**	**	-	**	**	-	**
7/11	**	**	**	-	**	-	-	**
8/11	-	-	-	**	-	**	**	-
9/11	-	-	-	**	-	**	**	-
10/11	-	-	-	**	-	**	**	-
11/11	-	-	-	**	-	**	**	-
12/11	-	-	-	**	-	-	**	-
13/11	-	-	-	**	-	-	**	-
15/11	**	**	**	-	**	-	-	-
16/11	-	-	-	**	-	**	**	-
17/11	**	-	-	-	**	-	-	-
18/11	**	**	**	-	**	-	-	-
19/11	-	-	-	-	-	-	-	-
20/11	-	-	-	**	-	**	**	-
21/11	-	-	-	**	-	**	**	-
22/11	-	-	-	-	-	-	**	-
23/11	**	**	**	-	**	-	-	-
24/11	-	-	-	**	-	**	**	-
25/11	-	-	-	**	-	**	**	-
26/11	-	-	-	**	-	**	**	-
27/11	-	-	-	**	-	**	**	-
28/11	-	-	-	**	-	**	**	**
29/11	-	-	-	**	-	**	**	-

(*Vysvětlivky:* ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

V tabulce 5 se u většiny vzorků kromě vzorku 23/11 (chemicky modifikovaný bramborový škrob) prokázal rozdíl jen od malého množství ostatních vzorků škrobu. U vzorku 23/11 je prokazatelný rozdíl od většiny vzorků.

Tabulka 5: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 20/11 – 29/11

Vzorek	20/11	21/11	22/11	23/11	24/11	25/11	26/11	27/11	28/11	29/11
1/11	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
3/11	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
4/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
6/11	**	**	**	-	**	**	**	**	**	**
7/11	**	**	**	-	**	**	**	**	**	**
8/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
9/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
10/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
11/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
12/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
13/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
15/11	**	**	-	-	**	**	**	**	**	**
16/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
17/11	**	**	-	-	**	**	**	**	**	**
18/11	**	**	**	-	**	**	**	**	**	**
19/11	-	-	-	-	-	-	-	-	**	-
20/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
21/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
22/11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23/11	**	**	-	-	**	**	**	**	**	**
24/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
25/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
26/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
27/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
28/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-
29/11	-	-	-	**	-	-	-	-	-	-

(*Vysvětlivky:* ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

4.3.2 Maximální intenzita

V tabulce 6, která společně s tabulkami 7 a 8 znázorňuje, mezi kterými vzorky existuje statisticky významný rozdíl v parametru maximální intenzita, lze vidět statisticky významné rozdíly vzorků 1/11 (fyzikálně modifikovaný bramborový škrob), 3/11 a 6/11 (chemicky modifikované kukuřičné škroby) od většiny ostatních vzorků. U vzorků 4/11, 7/11, 8/11, 10/11 (chemicky modifikované kukuřičné škroby) a 9/11 (nativní tapiokový škrob) se prokázal rozdíl od menšího počtu vzorků.

Tabulka 6: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 1/11 – 10/11

Vzorek	1/11	3/11	4/11	6/11	7/11	8/11	9/11	10/11
1/11	-	-	**	-	**	**	**	**
3/11	-	-	**	-	**	**	**	**
4/11	**	**	-	**	-	-	-	-
6/11	-	-	**	-	-	**	-	**
7/11	**	**	-	-	-	-	-	-
8/11	**	**	-	**	-	-	-	-
9/11	**	**	-	-	-	-	-	-
10/11	**	**	-	**	-	-	-	-
11/11	**	**	-	**	-	-	-	-
12/11	**	**	-	**	-	-	**	-
13/11	**	**	-	**	-	-	**	-
15/11	**	**	-	**	-	-	-	-
16/11	**	**	**	-	-	-	-	**
17/11	**	**	-	**	-	-	-	-
18/11	**	**	-	**	-	-	-	-
19/11	**	**	-	**	-	-	-	-
20/11	**	**	-	**	-	-	**	-
21/11	**	**	-	**	-	-	**	-
22/11	**	**	-	**	-	-	-	-
23/11	**	**	-	-	-	-	-	-
24/11	**	**	-	**	-	-	-	-
25/11	-	-	**	-	**	**	**	**
26/11	-	-	**	**	**	**	**	**
27/11	**	**	-	**	-	-	**	-
28/11	-	-	**	**	**	**	**	**
29/11	**	**	-	**	-	-	**	-

(Vysvětlivky: ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

V tabulce 7 se většina vzorků odlišuje jen od malého množství ostatních vzorků, kromě vzorku 16/11 (nativní kukuřičný škrob), který vykazuje rozdíl od více vzorků.

Tabulka 7: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 11/11 – 19/11

Vzorek	11/11	12/11	13/11	15/11	16/11	17/11	18/11	19/11
1/11	**	**	**	**	**	**	**	**
3/11	**	**	**	**	**	**	**	**
4/11	-	-	-	-	**	-	-	-
6/11	**	**	**	**	-	**	**	**
7/11	-	-	-	-	-	-	-	-
8/11	-	-	-	-	-	-	-	-
9/11	-	**	**	-	-	-	-	-
10/11	-	-	-	-	**	-	-	-
11/11	-	-	-	-	**	-	-	-
12/11	-	-	-	-	**	-	-	-
13/11	-	-	-	-	**	-	-	-
15/11	-	-	-	-	**	-	-	-
16/11	**	**	**	**	-	**	-	-
17/11	-	-	-	-	**	-	-	-
18/11	-	-	-	-	-	-	-	-
19/11	-	-	-	-	-	-	-	-
20/11	-	-	-	-	**	-	-	-
21/11	-	-	-	-	**	-	-	-
22/11	-	-	-	-	**	-	-	-
23/11	-	-	-	-	-	-	-	-
24/11	-	-	-	-	**	-	-	-
25/11	**	**	**	**	**	**	**	**
26/11	**	**	**	**	**	**	**	**
27/11	-	-	-	-	**	-	-	-
28/11	**	**	**	**	**	**	**	**
29/11	-	-	-	-	**	-	-	-

(Vysvětlivky: ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

V tabulce 8 se od většiny ostatních vzorků odlišovaly hlavně vzorky 25/11, 26/11 (nativní voskované kukuřičné škroby) a 28/11 (chemicky modifikovaný kukuřičný škrob). Ostatní vzorky se odlišovaly od menšího počtu vzorků zhruba stejně.

Tabulka 8: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 20/11 – 29/11

Vzorek	20/11	21/11	22/11	23/11	24/11	25/11	26/11	27/11	28/11	29/11
1/11	**	**	**	**	**	-	-	**	-	**
3/11	**	**	**	**	**	-	-	**	-	**
4/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
6/11	**	**	**	-	**	-	**	**	**	**
7/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
8/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
9/11	**	**	-	-	-	**	**	**	**	**
10/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
11/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
12/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
13/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
15/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
16/11	**	**	**	-	**	**	**	**	**	**
17/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
18/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
19/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
20/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
21/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
22/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
23/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
24/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
25/11	**	**	**	**	**	-	**	**	**	**
26/11	**	**	**	**	**	**	-	**	-	**
27/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-
28/11	**	**	**	**	**	**	-	**	-	**
29/11	-	-	-	-	-	**	**	-	**	-

(Vysvětlivky: ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

4.3.3 Průměrná hustota

V tabulce 9 jsou znázorněny statisticky významné rozdíly v parametru průměrná hustota zjištěné pouze u vzorků 28/11 (chemicky modifikovaný kukuřičný škrob), 26/11, 25/11 (nativní voskované kukuřičné škroby) a 20/11 (chemicky modifikovaný bramborový škrob) od většiny ostatních uvedených vzorků. Dále jsou to vzorky 27/11 (modifikovaný voskovaný kukuřičný škrob), 11/11 (nativní pšeničný škrob), 22/11 (chemicky modifikovaný bramborový škrob) a 8/11 (chemicky modifikovaný kukuřičný škrob), které se odlišovaly jen od některých z uvedených vzorků škrobů.

Tabulka 9: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 28/11 – 8/11

Vzorek	28/11	26/11	25/11	20/11	27/11	11/11	22/11	8/11
1/11	**	**	**	-	-	-	-	-
3/11	**	**	**	**	-	-	-	-
4/11	**	**	**	**	-	-	-	-
6/11	**	-	-	**	-	-	-	-
7/11	**	**	**	**	-	-	-	-
8/11	-	-	-	**	**	**	**	-
9/11	**	**	**	**	-	-	-	-
10/11	**	**	**	**	-	-	-	-
11/11	**	**	**	**	-	-	-	**
12/11	**	**	**	**	-	-	-	-
13/11	**	**	**	**	-	-	-	-
15/11	**	**	**	**	-	-	-	-
16/11	**	**	**	**	-	-	-	-
17/11	**	-	-	**	-	-	-	-
18/11	**	-	-	**	-	-	-	-
19/11	**	**	**	**	-	-	-	-
20/11	**	**	**	-	**	-	-	**
21/11	**	**	**	**	-	-	-	-
22/11	**	**	**	**	-	-	-	**
23/11	**	**	-	**	-	-	-	-
24/11	**	**	**	**	-	-	-	-
27/11	**	**	**	**	-	-	-	-
29/11	**	**	**	**	-	-	-	-

(Vysvětlivky: ** = statisticky významný rozdíl mezi vzorky; - = není statisticky významný rozdíl mezi vzorky)

4.4 VÝZNAM POSUZOVÁNÍ BARVITELNOSTI ŠKROBOVÝCH ZRN POMOCÍ ANALÝZY OBRAZU

Rozdílnost intenzity obarvení mezi vyšetřovanými vzorky škrobů byla různá, nedá se proto říct, že by se od sebe odlišovaly pouze druhově nebo typem modifikace. Jako příklad se může uvést statisticky významný rozdíl mezi vzorky 1/11 a 15/11, kdy se v obou případech jednalo o bramborový škrob fyzikálně modifikovaný. Tento rozdíl prokázaly dva ze tří vybraných parametrů, a to suma hustoty a maximální intenzita. Důvodem rozdílnosti vzorků škrobu téhož druhu se stejným typem modifikace může být například částečné odbarvení jednoho ze vzorků, způsobené delší časovou prodlevou než do stanovených 10 minut od ukončení barvení po zhotovení mikroskopického snímku. Je třeba také zmínit, jaké další faktory ovlivňují rozdílnou barvitelnost mezi

jednotlivými druhy škrobů. Až na několik málo výjimek byla většina vzorků různým způsobem modifikována a přitom dochází ke změnám v morfologii a některých vlastnostech škrobů (Pospiech, 2014c), a to může mít za následek různé intenzity obarvení. Také závisí na poměru amylozy a amylopektinu, neboť molekuly jódu se spirálovitě vinou do řetězce amylozy (Tregubov, 1986), proto v případě vyššího obsahu amylopektinu u vzorků voskovaného kukuřičného škrobu získávaného ze speciální odrůdy kukuřice voskové nedocházelo k takové tvorbě tmavě modrého až černého zbarvení jako u ostatních druhů vyšetřovaných škrobů.

Výsledky měření analýzy obrazu pomocí programu NIS – Elements BR 4.13.00. by v mnohých případech mohly poukazovat i na to, že kvalita identifikace měřených objektů (škrobová zrna) je poměrně hodně závislá na úrovni a kvalitě barvicího postupu mikroskopických preparátů. Obrazová analýza pracuje při identifikaci objektů na základě parametrů pro barvu, jas a sytost, a tedy v případě dobře obarveného vzorku není třeba provádět manuální korekci objektů, čímž by se tato metoda stala pomalejší a pracnější. V rámci této práce byla kvalita obarvení mikroskopických preparátů a následně zhotovených mikroskopických snímků poměrně vysoká, a proto při analýze vybraných objektů nebylo zapotřebí provádět výrazné manuální korekce.

Přestože obrazová analýza představuje rychlou, moderní a objektivní metodu, která je dnes v potravinářském odvětví hojně využívána pro různé účely hodnocení potravin, pro rozlišení jednotlivých druhů škrobů nebo jejich pozorování by byla vhodnější metodou světelná nebo skenovací elektronová mikroskopie, pomocí které lze určit jak nativní, tak modifikované škroby. Na snímcích ze skenovacího elektronového mikroskopu je možno také pozorovat, k jakým změnám dochází ve struktuře škrobových zrn při fyzikální a chemické modifikaci (Pospiech, 2014c).

Analýza obrazu nachází největší uplatnění především pro kvalitativní a kvantitativní stanovení různých přísad látek do potravin, a tím pomáhá odhalit jejich případné falšování, které je v současné době poměrně častým problémem. Detekce škrobů a jeho modifikací za pomoci analýzy obrazu může být užitečná i v oblasti masného průmyslu při kontrole kvality masných výrobků, jejichž součástí bývají různé druhy mouky a i při kontrole kvality masa.

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo určit rozdíly intenzity obarvení jodovými párami mezi některými vybranými druhy škrobů, a to mezi bramborovým, kukuřičným, pšeničným a tapiokovým. Většinu vzorků představovaly škrob bramborový, kukuřičný, voskový kukuřičný a jejich různé modifikované podoby.

Pro zjištění rozdílů byla použita obrazová analýza, kde byla barvitelnost škrobových zrn hodnocena na základě parametrů pro barvu, jas, intenzitu, sytost, odstín a hustotu. Z těchto uvedených parametrů prostřednictvím statistického hodnocení metodou hlavních komponent byly vybrány tři parametry, které se jeví jako nejlepšími ukazateli rozdílů v intenzitě obarvení mezi vyšetřovanými vzorky. Jsou to suma hustoty, průměrná hustota a maximální intenzita.

Dalším provedením statistického testu mnohonásobné porovnávání dle Tukeye – HSD se zjistilo, mezi kterými vzorky existuje statisticky významný rozdíl a mezi kterými nikoliv. Většina vzorků se mezi sebou lišila různě, nezávisle na druhu nebo typu modifikace.

Pro rozlišení nativních a modifikovaných škrobů nebo pouze jejich druhů jsou nejvhodnější mikroskopické metody, a to světelná či elektronová mikroskopie. V případě určení druhu modifikace je elektronová mikroskopie metoda vhodnější, neboť pomocí ní je možno určit, o jaký druh modifikace se jedná.

V současnosti tvoří analýza obrazu nezastupitelnou součást těchto metod, jejíž hlavní výhodou je získání velkého množství dat, které lze různě statisticky hodnotit nebo tyto získaná data porovnávat s již archivovanými daty a určovat tak případné rozdíly mezi nimi.

6 POUŽITÁ LITERATURA

Amyloidin [on-line]. Aktualizovaní 2009 [cit. 02. 1. 2016]. Dostupný na WWW: <http://www.iodum.com/index.php?option=com_content&view=article&id=11&Itemid=25&lang=en>

BADER, Hans Joachim; MATOUŠKOVÁ, Šárka. PROJEKT RAVIOLY: CHEMIE V KONZERVĚ

BEDÁŇOVÁ, Iveta a Vladimír VEČEREK. Základy statistiky pro studující veterinární medicíny a farmacie. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2007. ISBN 978-80-7305-026-9.

ČÁSLAVKOVÁ, Petra. *Kvantitativní stanovení přídavku bramborového škrobu do modelových vzorků*. Brno, 2011. Diplomová práce. VFU, Brno. Vedoucí práce Mgr. Zdeňka Randulová.

DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin. 1. vyd. Praha: STNL, 1977. 719 s. ISBN 04-830-77.*

DRÁPELA, Karel a Jan ZACH. *Statistické metody I (pro obory lesního, dřevařského a krajinného inženýrství)*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1999. ISBN 80-7157-416-3.

ELIÁŠOVÁ, M. aj. *Nativní a modifikované škroby v masných výrobcích – detekce vstupní suroviny pomocí mikroskopických metod*. *Maso*, 2012, roč. 23, č. 6, s. 30 – 34

HÁLKOVÁ, Jana, Marie RUMÍŠKOVÁ a Jana RIEGLOVÁ. *Analýza potravin. 2. vyd. Újezd u Brna: I. Straka, 2001. ISBN 80-86494-02-0.*

HRABĚ, Jan, Otakar ROP a Ignác HOZA. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: bakalářský stupeň*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006, 178 s. ISBN 80-7318-372-2.

HRABĚ, Jan, František BUŇKA a Ignác HOZA. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: pro kombinované studium*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007, 189 s. ISBN 978-80-7318-520-6.

INGR, Ivo. *Zpracování zemědělských produktů*. 2. nezměn. vyd. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2001, 249 s. ISBN 80-7157-520-8.

JANÍKOVÁ, Zuzana. Vliv obsahu škrobu na základní technologické ukazatele kvality pšeničné mouky [online]. Zlín, 2011 [cit. 2016-03-25]. Master's thesis. Tomas Bata University in Zlín, Faculty of Technology. Thesis supervisor Mgr. Monika Černá, Ph.D. Available from: <<http://theses.cz/id/vf49zm/>>.

JEŘÁBKOVÁ, Petra. *Studium vlastností biologického materiálu pomocí metod obrazové analýzy*. 2010. PhD Thesis. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická.

KADLEC, Pavel a kol. *Technologie potravin I*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2002. ISBN 80-708-0509-9.

KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

KODET, J.; BABOR, K. *Modifikované škroby, dextriny a lepidla*. 1. vyd. Praha: SNTL–Nakladatelství technické literatury, 1991, 338 s. ISBN 80-03-00554-X.

KODET, Josef. *Plnicí, zahušťovací, gelotvorné a stabilizační látky pro potraviny: (Potravinářské hydrokoloidy)*. 1. vyd. Praha: Středisko potravinářských informací, 1993, 235 s. ISBN 80-85120-32-1.

KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 202 s. ISBN 978-80-7375-036-7.

KUČEROVÁ, Jindřiška, Miloš PELIKÁN a Luděk HŘIVNA. *Zpracování a zbožíznačství rostlinných produktů*. Vyd. 1. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 122 s., [3] l. ISBN 978-80-7375-088-6.

Limagrain Česká republika. *Vysvětlivky – Výklad pojmů – kukuřice na zrno*. [online]. 8.3.2016 [cit. 2016-03-08]. Dostupné z: <http://www.limagraincentraleurope.com/cz/glossary/glossary-maize-grain.cfm>

LUKÁŠ, Jan. *Využití obrazové analýzy v rostlinolékařské praxi: metodika pro útvary státní správy*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2008, 81 s. ISBN 978-80-87011-69-0.

Martin Sebera - FSpS MU - Vícerozměrné statistické metody. *Fakulta sportovních studií - Úvod* [online]. Copyright © 2012 [cit. 10.03.2016]. Dostupné z: http://www.fsp.s.muni.cz/~sebera/vicerozmerna_statistika/pca.html

MELOUN, Milan; MILITKÝ, Jiří; HILL, Martin. *Počítačová analýza vícerozměrných dat v příkladech*. Praha, Czech Republic: Academia, 2005.

OŠTÁDALOVÁ, Martina a Jana POKORNÁ. *Hygiena a technologie brambor, škrobu, luštěnin, olejnatých semen a tuků*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014, 106 s. ISBN 978-80-7305-709-1.

PELIKÁN, Miloš; HUMPOLA, Josef; HŘIVNA, Luděk. *Technologie sacharidů*. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1999.

POSPIECH, Matej. *Struktura a skladba potravin*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2013, 100 s. ISBN 978-80-7305-657-5.

POSPIECH, Matej. *Atlas mikroskopie potravin*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014a, 83 s. ISBN 978-80-7305-726-8 (a).

POSPIECH, Matej, et al. Detection of native starches in meat products using histochemical Lugol Calleja method. *Potravinářstvo*, 2014b, 8.1: 77-81 (b).

POSPIECH, Matej. *Mikroskopie potravin*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014c, 150 s. ISBN 978-80-7305-696-4 (c).

PŘÍRODNÍ POLYMERY PŘF MU 6 20131 PŘÍRODNÍ POLYMERY Polysacharidy I škrob RNDr. Ladislav Pospíšil, CSc. POLYMER INSTITUTE BRNO spol. s r.o. 17. 10. 2013.

ŘEZÁČOVÁ LUKÁŠKOVÁ, Zuzana. aj. Mikroskopické metody v analýze potravin: Detekce falšování potravin a detekce rizikových složek v potravinách - složky rostlinného původu. *Maso*, 2010, roč. 21, č. 5, s. 35 - 36.

SVOBODOVÁ, Nikol. *Histochemický průkaz modifikovaných škrobů bezvodým roztokem jodu*: Bakalářská práce. Brno: VFU, 2015. 49 S.

Studium biochemie [on-line]. Aktualizované 21. 11. 2013 [cit. 02. 1. 2016]. Dostupné na WWW: <http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni_latky.html>

TREGUBOV, Nikolaj. *Technológia škrobu a výrobkov zo škrobu*. 1. vyd. Překlad Július Studnický, Peter Zajac. Bratislava: Alfa, 1986, 484 s.

TREMLOVÁ, Bohuslava. *Histologie potravin*. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 1998, 60 s. ISBN 80-85114-22-4.

TREMLOVA, Bohuslava; ŠTARHA, Pavel. Histometric evaluation of meat products-determination of size and number of objects. *Czech journal of food sciences*, 2002, 20.5: 175-180.

TREMLOVÁ, Bohuslava, ŠTARHA, Pavel. Kvantitativní histologické stanovení kostní tkáně v masných výrobcích pomocí analýzy obrazu [on-line]. Aktualizování 2005 [cit. 13. 1. 2016]. Dostupný na WWW: <<http://vetweb.cz/kvantitativni-histologicke-stanoveni-kostni-tkane-v-masnych-vyrobcich-pomoci-analyzy-obrazu/>>

Uživatelská příručka: NIS-Elements BR. Praha: Laboratory Imaging s.r.o., 120 s.

VÁLKOVÁ, Dagmar. *Nové trendy zpracování škrobu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2010. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/14369>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav biochemie a analýzy potravin. Vedoucí práce Burešová, Iva.

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin I*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999, 328 s. ISBN 80-902391-2-9.

VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002, xii, 331 s. ISBN 80866590031.

VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin II*. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.

VORLÍČKOVÁ, M., *Histochemický průkaz modifikovaných škrobů*. Diplomová práce.
Brno: VFU, 2012. 54 s.

7 ABSTRAKT

Barvitelnost škrobů jodovými párami

Lukášová Michaela

Fakulta veterinární hygieny a ekologie

Veterinární a farmaceutická univerzita Brno

V potravinářském průmyslu je nativní škrob kvůli svým nepříznivým vlastnostem používán jen velmi omezeně. Více se uplatňují škroby modifikované, které se do potravin přidávají jako aditiva a zlepšují tak některou významnou vlastnost potraviny. Jejich detekce se provádí pomocí různých metod, z nichž nejnámější a nejpoužívanější jsou metody mikroskopické společně s použitím obrazové analýzy.

Práce se zabývá určením rozdílů barvitelnosti mezi nativními a modifikovanými škroby. Bylo vyšetřeno celkem 26 vzorků, které z větší části tvořil škrob bramborový, kukuřičný, voskový kukuřičný a jejich různé modifikované varianty. Po třiceti minutách barvení jodovými párami byla provedena fotodokumentace na světelném mikroskopu za pomoci digitálního fotoaparátu. Poté byla provedena analýza obrazu, kde se na základě parametrů pro barvu, jas, intenzitu, sytost, odstín a hustotu měřila intenzita obarvení mezi vyšetřovanými vzorky. Následně se z uvedených parametrů za pomoci statistické metody vybraly ty, které ukazovaly největší rozdíly v intenzitě obarvení mezi vzorky.

Na závěr bylo provedeno vyhodnocení vybraných parametrů statistickým testem pro mnohonásobné porovnávání dle Tukeye, kdy byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi všemi vzorky, a to různě mezi sebou, bez ohledu na druh nebo způsob jejich modifikace.

Klíčová slova: analýza obrazu, barvitelnost, modifikovaný škrob, intenzita, jodové páry

8 ABSTRACT

Starch dyeability by iodine fuming

Lukášová Michaela

Faculty of Veterinary Hygiene and Ecology

University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno

In the food industry it is a native starch due to their unfavourable properties used only marginally. The modified starches that are added to foods as additives and improve some important properties of food are more applied. Their detection is performed using different methods, of which the best known and most widely used methods are microscopic in conjunction with image analysis.

Work deals with the determination of the differences staining between native and modified starches. It was examined 26 samples, which largely formed potato starch, corn starch, waxy corn starch, and various modified variants. Thirty minutes after staining with iodine vapour were taken microphotographs using a light microscope and a digital camera. Afterwards the image analysis was undertaken, where on the basis of the parameters for colour, brightness, intensity, saturation, hue and density, measured intensity of staining between investigate samples. Subsequently, from said parameters using a statistical method selected those that showed the greatest staining differences in intensity between samples.

At the end was the evaluation of selected parameters carried out using statistics test for multiple comparison according to Tukey, when were found statistically significant differences between all samples, differently among themselves, regardless of the type or the method of their modification.

Key words: image analysis, staining, modified starch, intensity, iodine vapour

9 PŘÍLOHY

9.1 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Přehled vyšetřovaných vzorků

Tabulka 2: Popis vybraných parametrů

Tabulka 3: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 1/11 – 10/11

Tabulka 4: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 11/11 – 19/11

Tabulka 5: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 20/11 – 29/11

Tabulka 6: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 1/11 – 10/11

Tabulka 7: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 11/11 – 19/11

Tabulka 8: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 20/11 – 29/11

Tabulka 9: Test dle Tukeye, statisticky významné rozdíly vzorků 28/11 – 8/11

9.2 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Znázornění α -1,4 a α -1,6 glykosidických vazeb amylozy (bez větvení) a amylopektinu (větvení)

Obrázek 2: Sférokrystalická struktura částice škrobu

Obrázek 3: Bramborový škrob

Obrázek 4: Bramborový škrob, SEM

Obrázek 5: Pšeničný škrob

Obrázek 6: Pšeničný škrob, SEM

Obrázek 7: Kukuřičný škrob

Obrázek 8: Kukuřičný škrob, SEM

Obrázek 9: Bramborový škrob – fyzikálně modifikovaný, SEM

Obrázek 10: Kukuřičný škrob – chemicky modifikovaný, SEM

Obrázek 11: Schéma znázorňující vazbu jódu ve škrobu

Obrázek 12: Standardní obrazovka programu NIS-Elements

Obrázek 13: Popis standardní obrazovky a otevření zvoleného snímku na pozadí programu NIS-Elements

Obrázek 14: Metoda kalibrace

Obrázek 15: Ruční kalibrace 1

Obrázek 16: Ruční kalibrace 2

Obrázek 17: Okno nastavení prahování

Obrázek 18: Zvýraznění analyzovaných objektů

Obrázek 19: Nastavení makra

Obrázek 20: Tabulka výsledků automatického měření

Obrázek 21: Export výsledků

Obrázek 22: Vzorek č. 1/11, bramborový škrob, fyzikální modifikace

Obrázek 23: Vzorek č. 16/11, kukuřičný škrob, nativní

Obrázek 24: Vzorek č. 11/11, pšeničný škrob, nativní

Obrázek 25: Vzorek č. 9/11, tapiokový škrob, nativní

Obrázek 26: Vzorek č. 26/11, voskovaný kukuřičný škrob, modifikovaný

9.3 SEZNAM GRAFŮ

Graf 1: Analýza hlavních komponent

PROHLÁŠENÍ AUTORA

Jsem si vědoma, že

- odevzdáním závěrečné práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby,
- moje závěrečná práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitní databázi a bude veřejně přístupná k nahlédnutí,
- na moji závěrečnou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla.

Jméno a příjmení autora

Michaela Lukášová

Název práce

Barvitelnost škrobů jodovými párami

V Brně dne 31. 3. 2016

Podpis autora

1) zákon č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, ustanovení § 47b Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a záznamu o průběhu a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

2) zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, ustanovení § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní vnitřní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

3) zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, ustanovení § 60:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez závažného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

POTVRZENÍ AUTORA

Svým podpisem potvrzuji, že písemná verze mé bakalářské práce je shodná se souborem v pdf formě uloženým pod stejným názvem v Informačním systému STAG, příp. na předaném nosiči (CD, DVD).

Jméno a příjmení autora

Michaela Lukášová

Název práce

Barvitelnost škrobů jodovými párami

V Brně dne 31. 3. 2016

Podpis autora