



**Vysoká škola chemicko-technologická v Praze**  
Fakulta potravinářské a biochemické technologie  
Ústav chemie a technologie sacharidů

## **Metodika třídění a výběru ječmene s odlišným obsahem neškrobových polysacharidů využitím FT-IR a FT-NIR**

**CERTIFIKOVANÁ METODIKA**

**Andriy Synytsya  
Eva Budilová  
Jana Čopíková**

Vydavatelství VŠCHT Praha

2010

## **DEDIKACE**

Metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství ČR při řešení projektu NAZV, č. QH91053 „*Zlepšení kvality zrna ječmene využitím donorů diferencovaného obsahu přirozených látek s ambivalentním nutričním účinkem*“.

## **AUTOŘI:**

Mgr. Andriy Synytsya, Ph.D.  
Ing. Eva Budilová  
Prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

## **OPONENTI:**

RNDr. Vladimír Erban, CSc.  
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 1285/7, 102 31 Praha 10 - Hostivař  
E-mail: [V.Erban@vupp.cz](mailto:V.Erban@vupp.cz)

Ing. František Kůst  
Odbor rostlinných komodit, Ministerstvo zemědělství ČR, Těšnov 65/17, 117 05 Praha 1  
E-mail: [frantisek.kust@mze.cz](mailto:frantisek.kust@mze.cz)

## **CERTIFIKACE:**

Metodika byla certifikována Odborem rostlinných komodit Ministerstva zemědělství ČR vydáním osvědčení č. 2/37953 – 2010 ze dne 29.12.2010.

# OBSAH

<b>I.</b>	<b>CÍL METODIKY</b> .....	5
<b>II.</b>	<b>VLASTNÍ POPIS METODIKY</b> .....	5
II.1.	VÝZNAM NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ PRO SLADAŘSKÝ A PIVOVARSKÝ PRŮMYSL .....	5
II.2.	ANALÝZA NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ V ZRNU JEČMENE.....	8
II.2.	METODIKA .....	9
II.3.1.	<i>Standardy polysacharidů pro měření spekter</i> .....	9
II.3.2.	<i>Příprava vzorků – mletí</i> .....	9
II.3.3.	<i>Analytické metody kvantitativního stanovení základních parametrů</i> .....	10
II.3.3.1.	Stanovení škrobu.....	10
II.3.3.2.	Stanovení cereálních $\beta$ -glukanů .....	10
II.3.3.3.	Stanovení arabinoxylanů.....	10
II.3.3.4.	Stanovení dusíkatých látek.....	10
II.3.4.	<i>Přístroje a zařízení</i> .....	10
II.3.5.	<i>Pracovní postup – měření spekter</i> .....	11
II.3.6.	<i>Statistická analýza spekter</i> .....	11
II.3.6.1.	Analýza hlavních komponent.....	11
II.3.6.2.	Hierarchická shluková analýza.....	12
II.3.6.3.	Příprava kalibračních modelů .....	12
<b>III.</b>	<b>SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“</b> .....	13
<b>IV.</b>	<b>POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY</b> .....	13
<b>V.</b>	<b>EKONOMICKÉ ASPEKTY</b> .....	14
<b>VI.</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY</b> .....	15
<b>VII.</b>	<b>SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE</b> .....	19
<b>VIII.</b>	<b>PŘÍLOHY</b> .....	20



## I. CÍL METODIKY

Výzkumný projekt QH91053 s názvem „Zlepšení kvality zrna ječmene využitím donorů diferencovaného obsahu přirozených látek s ambivalentním nutričním účinkem“ je zaměřen na prostudování a následné využití variability přirozených látek zrna ječmene, jejichž nutriční působení má ambivalentní povahu. K těmto látkám se svými významnými fyzikálně-chemickými a nutričními vlastnostmi řadí neškrobové polysacharidy, jejichž obsah a složení může kategoricky diferencovat nově vytvořené genotypy ječmene.

Cílem metodiky je poskytnout šlechtitelům, výzkumným pracovníkům, zpracovatelské i pěstitelské praxi alternativní postup k provádění selekce, třídění a výběru materiálů a vzorků ječmene s odlišným obsahem neškrobových polysacharidů ( $\beta$ -glukanů, arabinoxylanů) a případně dalších chemických složek (škrob, N-látky) na základě měření a statistické analýzy vibračních spekter (FT-IR a FT-NIR) vzorků zrna. Metodika představuje screeningovou alternativu ke stávajícím chemickým metodám a umožňuje orientační stanovení těchto parametrů pomocí kalibračních modelů pro FT-IR a FT-NIR.

## II. VLASTNÍ POPIS METODIKY

### II.1 VÝZNAM NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ V ZRNĚ JEČMENE

**Ječmen (*Hordeum vulgare*, L.)** se řadí mezi nejstarší zemědělské plodiny a patří k celosvětově hospodářsky nejvýznamnějším rostlinám. Ještě nedávno se většina vypěstovaného ječmene v ČR spotřebovala ke krmným účelům, nyní se v rámci vize českého zemědělství po roce 2010 (Šír a kol. 2010) řeší otázka krmných obilovin především ve vztahu k soběstačnosti v oblasti produkce vepřového, hovězího a drůbežího masa. Toto souvisí s hlavním záměrem v oblasti výroby obilovin, kterým je zlepšení relace mezi potravinářským a krmným obilím tak, aby byla vždy ve prospěch potravinářského obilí, s cílem exportovat část kvalitní produkce obilovin převyšující domácí spotřebu do zahraničí. V případě ječmene jarního je výrazem „potravinářské využití“ míněno především využití produkce zrna k výrobě sladu pro pivovarský průmysl. Přímé potravinářské využití ječmene v pekárenství, pečivárenství, těstárenství a dalších zpracovatelských směrech (např. k výrobě ječných krup, krulek a náhražek kávy apod.) je obdobně jako v dalších evropských státech velmi nízké (do 5 % produkce), nicméně i zde se rýsují nové perspektivy.

Tvorba nových odrůd ječmene pro rozdílné konečné směry využití je tedy neodmyslitelně spojena s chemickým složením zrna. Obsah a složení polysacharidů i jejich interakce s bílkovinami ovlivňují mnohé technologicky a nutričně významné vlastnosti zrna ječmene (Fox, Watson a Osman, 2002; Henry, 1985).

**Neškrobové polysacharidy (NSP)** plní v zrně ječmene stavební funkci. V zrně obilovin se podle rozpustnosti člení na dvě základní skupiny (Bathgate a Dalgliesh, 1975) – do první se řadí tzv. gummy, které jsou rozpustné ve vodě a vytvářejí vysoce viskózní roztoky a do druhé patří hemicelulózy, což je frakce rozpustná v alkalických roztocích (Steiner, 1968). Z pohledu nutriční kvality jsou tyto látky řazeny do skupiny aktivních antinutričních faktorů. Jedná se o nestravitelnou nebo omezeně stravitelnou část vlákniny, která ve střevním traktu bobtná, zvyšuje viskozitu tráveniny, čímž zhoršuje pohyblivost živin i trávicích enzymů v trávicím ústrojí a omezuje absorpci živin. Zvýšení viskozity je v případě využití ječmene jako potraviny pro přímou výživu lidí pozitivním jevem. K příznivým účinkům vyššího podílu vlákniny ve stravě patří snížení hladiny cholesterolu, snížení rizika výskytu rakoviny tlustého střeva, prevence obezity a cukrovky (Baik, Ullrich, 2008).

Z hlediska negativních účinků jsou v zrně ječmene nejzávažnější  **$\beta$ -(1,3)(1,4)-D-glukany** (dále **BG**). Tyto NSP, společně s dalšími, v menší míře zastoupenými, **arabinoxylany** (dále **AX**) jsou nežádoucími složkami zrna nejen v případě výživy zvířat, ale zejména ve sladovnictví, protože jsou příčinou vysoké viskozity sladu a tím způsobují problémy při filtrování a podílejí se na tvorbě zákalů piva i nízkém výnosu extraktu (Dervilly et al., 2002).

Problematice NSP zejména obsahu a složení BG z pohledu vlivu na technologickou kvalitu sladovnického ječmene i perspektivy využití ve zdravé a preventivní lidské výživě jako významného zdroje vlákniny potravy byla věnována řada odborných a vědeckých prací jak ve světě (Bhatty, 1992; 1995; Newman et al., 1989; Newman a Newman, 1991 aj.), tak i v tuzemsku (Ehrenbergerová et al., 1997; 2005; 2006; Havlová, 2001; Vaculová, 1992; Vaculová et al. 2000 aj.).

BG se syntetizují v průběhu zvětšování buněk, a proto se může akumulovat větší množství BG v sekundárních buněčných stěnách a také v pozdních fázích zralosti zrna (McGregor, 1991). AX jsou syntetizovány v procesu růstu buněčných stěn, takže jsou do nich pevně zabudovány. V buněčných stěnách endospermu zrna ječmene (na rozdíl od pšenice) se vyskytují především BG (70-75%) a podíl AX je výrazně nižší (20-25%) (Balance a Manners 1978, Fincher a Stone 1986). Naopak buněčné stěny aleuronu jsou složeny v průměru ze 26 % BG, 67 % AX a 2 % celulózy (Bacic a Stone 1981). Závislost mezi obsahem BG a AX v zrně ječmene nebyla stanovena jednoznačně. Egi et al. (2004b) udávají, že mezi obsahem BG a

AX nebyla stanovena závislost a obsah AX klesal s nárůstem obsahu škrobu a byl vyšší ve vztahu k hmotnosti zrna. Naopak Holtekjolen et al. (2006) zjistili u početného souboru odrůd ječmene, že obsah BG je s AX v negativním vztahu a dále pozorovali pozitivní korelaci s obsahem NSP a bílkovin.

Obsah NSP v zrně ječmene kolísá podle odrůd, ale je také významně ovlivněn pěstební technologií, půdně-klimatickými podmínkami lokality a průběhem počasí v daném ročníku (Knuckles et al 1992, Yoon et al 1995, Zhang et al 2002 a.j.). Fleury et al. (1997) uvádějí kolísání obsahu AX od 3,7 % (bezpluchý ječmen) do 6,4 % (6-řadý ječmen), Lehtonen a Aikasalo (1987) naměřili až 11 %. U BG bylo zjištěno, že vliv genotypu je významně silnější než vliv ostatních faktorů (Ehrenbergerová et al., 1997; Henry, 1986; Stuart et al., 1988 aj.); obsah AX ovlivňuje ročník, avšak poměr rozpustné a nerozpustné složky se významně nemění (Henry, 1986).

NSP z rozdílných částí zrna se vyznačují jinými poměry rozpustné a nerozpustné frakce. Rozdíly vyplývající ze složení NSP vedou k odlišným fyzikálním vlastnostem. V důsledku jejich schopnosti vytvářet vysoce viskózní roztoky dochází ke zhoršení pohyblivosti živin a enzymů, omezení absorpce živin a snížení stravitelnosti energie i využitelnosti živin. Krmné pokusy prokázaly nepříznivé působení vysoké viskozity vodných roztoků BG na stravitelnost řady živin při krmení selat (Newman a Newman, 1988), avšak co se týče negativních účinků rozpustné vlákniny při výkrmu prasat, nejsou výsledky jednoznačné. Silný a průkazný negativní vliv NSP byl ovšem experimentálně potvrzen při výkrmu drůbeže (Jeroch a Daenicke, 1995; Wang et al., 1991; McNab a Smithard, 1992), která je ke zvýšenému obsahu celkové i rozpustné vlákniny mnohem citlivější než prasata.

Obsah BG (obvykle 2 až 10 %) závisí na genotypu ječmenu. Pro potravinářské účely jsou vhodné odrůdy bezpluchého ječmenu s vyšším obsahem BG (>5 %) a stravitelné vlákniny (Taketa et al., 2004; Bhatta, 1992); ječmen sladovnický naopak by měl obsahovat méně BG (max. 1,5-2 %). Hledají se takové odrůdy a hybridy ječmene, které budou mít optimální zastoupení neškrobových polysacharidů vzhledem k dalšímu využití. Šlechtění odrůd ječmene s nízkým obsahem NSP, především BG, je součástí strategie tvorby odrůd pro sladovnické účely. Vzhledem k jejich nepříznivému vlivu při výrobě piva je obsah BG ve sladině limitním ukazatelem při posuzování sladovnických odrůd, a to zejména ječmene jarního. Existují studie, ve kterých byly zjištěny rozdíly v obsahu BG mezi dvouřadými a víceřadými odrůdami ječmene, ječmeny s odlišným poměrem dvou základních polymerů škrobu - amylozy a amylopektinu (Fastnaught et al., 1996) apod. Vyšší obsah BG byl také naměřen u mnohých bezpluchých ječmenů (Baidoo et al., 1998; Boros et al., 1996).

## II.2 ANALÝZA NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ V ZRNU JEČMENE

Pro zjišťování obsahu jednotlivých složek ječmene včetně NSP lze využít různých analytických metod a postupů, které jsou většinou složité a zdlouhavé. Mnohem jednodušší a rychlejší je použití nedestruktivních spektroskopických metod, zejména blízké infračervené (NIR – near infrared) spektroskopie. Tato metoda je široce používána pro kontrolu jakostních parametrů zejména pro stanovení složení, nutriční hodnoty a vlastností krmiv, potravin a surovin (Ozaki et al., 2006). NIR spektra byla použita pro analýzu zelené natě obilovin (Bruno-Soares et al., 1998), celých nebo rozemletých zrn ječmene nebo sladu (Fox et al., 2007; 2002; Kays, Barton, Windham, 1999; De Sá, Palmer, 2006; Henry 1985; Czuchajowska et al., 1992; Szczodrak et al., 1992; Edney et al., 1994; Ratcliffe a Panozzo, 1999), vzorků zrna ječmene napadených plísní (Roberts et al., 1991), sladiny (McGuire, 1982), krmiv na bázi ječmene, apod. (McCann et al., 2006). Wiley et al. (2009) použili derivace NIR spekter pro třídění ječných mutantů v závislosti na chemickém složení (obsahu hordeinu – hlavních zásobních bílkovin ječmene). Transmisní a reflektanční NIR spektra byla použita pro stanovení dietní vlákniny v odrůdách ječmene (Kays et al., 2005). NIR kalibrace s využitím zvolených vlnočtů byla připravena pro stanovení obsahu BG v ječmeni (Henry 1985; Szczodrak et al., 1992). De Sá a Palmer (2006) popsali stanovení BG v jedním zrně ječmene nebo sladu pomocí NIR spekter.

NIR spektroskopie byla úspěšně použita pro stanovení NSP v zrně cereálii včetně ječmene (Blakeney a Flinn, 2005). Tato metoda umožňuje získat přesný fyzikálně-chemický obraz endospermu ječmene, který může být základem pro charakterizaci jakosti sladovnických odrůd (Møller, 2004; Møller a Munck, 2004). Výsledky NIR analýzy obilek ječmene lze interpretovat pomocí multivariační analýzy: metoda hlavních komponent (PCA) je vhodná pro klasifikaci objektů a metoda parciální regresní analýzy nejmenších čtverců (PLS) pro zjištění korelačních vztahů. NIR spektroskopie a chemometrie jsou schopné rozpoznávat rozdíly mezi genetickými efekty a vlivem prostředí na úrovni fenotypu zrna ječmene. PCA klasifikace metodou NIR umožnila diferenciaci mezi mutanty a alelami v lokusech lys3 a lys5 s různým genetickým pozadím, přičemž dvě alely lokusu lys5 byly charakterizovány jako nová kategorie indikující metabolický vztah mezi obsahy škrobu a BG (Munck a Møller, 2005; Munck et al., 2001; 2004; Munck a Møller Jaspersen, 2009; Jacobsen et al., 2005). Tato metoda je užitečná pro selekci na jakost ve šlechtění ječmene, například pro výběr genotypů se sníženým, resp. zvýšeným obsahem škrobu nebo BG. Na základě fenotypického obrazu zrn ječmene, získaného pomocí NIR a chemometrie lze hodnotit efekt



kombinací mutantních genů a dalších genotypů na fyzikální vlastnosti a chemické složení zrna při šlechtění nových odrůd ječmene (Jacobsen et al., 2005; Møller et al., 2008).

Spektroskopie ve střední IČ oblasti (FT MIR nebo FT-IR) je zajímavá z hlediska analýzy a hodnocení kvality potravin a surovin (Sun, 2009; Thygesen et al., 2003; Van de Voort, 1992) a je používána pro strukturní analýzu cereálních polysacharidů, zejména AX a BG (Robert et al., 2005; Kačuráková, Wilson, 2001). Pomocí FT-IR spekter byly studovány polysacharidy v buněčné stěně a endospermu pšenice během jejího vývoje s důrazem na BG a AX (Philippe et al., 2006) a změny ječného stébla po biologické nebo chemické úpravě (Stewart a Morrison, 1992). Podobně jako v případě NIR, FT-IR spektra obsahují informace o chemickém složení zrna ječmene. Seefeldt et al. (2009) porovnali výsledky FT-IR a NIR analýzy ječné mouky s příslušnými spektry standardu BG. Byly nalezeny oblasti těchto spekter citlivé na fenotypické a genotypické rozdíly ječmene a navrženy PLS kalibrační modely pro spektroskopické stanovení BG. Intervalová PLS pro spektrální oblast 1194-1240 nm (NIR – oblast 2. overtónů valenčních CH vibrací) byla úspěšně použita pro stanovení BG ( $r_{xy}^2 = 0,94$ ); v případě FT-IR (1900-750  $\text{cm}^{-1}$ ) dobrou korelaci s obsahem BG ( $r_{xy}^2 = 0,92$ ) ukázala globální PLS metoda.

## II.3 METODIKA

### II.3.1. Standardy polysacharidů pro měření spekter

Pro měření FT-IR a FT-NIR spekter byly použity standardy cereálních polysacharidů: pšeničný škrob (SOLTEX P6, Amylon a. s., Havlíčkův Brod), ječný BG s nízkou viskozitou (Megazyme, Irsko) a pšeničný AX s vysokou viskozitou (Megazyme, Irsko)

### II.3.2. Příprava vzorků

Pro spektroskopickou analýzu byl použit soubor vzorků zrna ječmene jarního, sestavený z různých odrůd, genetických zdrojů a nových linií s odlišným genetickým původem a chemickým složením. Vzorky zrna byly připraveny na ústavu konzervace potravin a technologie masa (VŠCHT Praha, ČR). Zrno bylo rozemleto pomocí odstředivého mlýna Retsch ZM 200 (Retsch, Německo), velikost oka síta 0,75 mm a mleté vzorky byly skladovány v lednici při 4 °C. Pro přípravu KBr tablet bylo nutné domlít menší navážky vzorků (3-5 g) na oscilačním kulovém mlýnu Retsch MM 301, (Retsch, Německo), doba jednoho mletí 3 minuty.

### *II.3.3. Analytické metody kvantitativního stanovení základních parametrů*

U všech vzorků byl stanoven obsah škrobu, cereálních BG, AX, dusíkatých látek pomocí nezávislých analytických metod. Stanovení dusíkatých látek a škrobu bylo provedeno v Agrotestu fyto, s.r.o. (Kroměříž, ČR); obsah AX a BG se stanovoval ve Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském, a.s. (Brno, ČR). Výsledky analýz jsou shrnuty v **Tab. 1**.

#### II.3.3.1 Stanovení škrobu

Škrob byl stanoven polarimetrickou metodou podle Ewerse – ČSN EN ISO 10520 (1999). Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 105520:1998. Obsah škrobu ve vzorcích ječmene se pohyboval v rozmezí 55,2-67,7 %.

#### II.3.3.2 Stanovení cereálních $\beta$ -glukanů

Cereální BG byly stanoveny pomocí metody založené na vzniku komplexu s flouorescenčním barvivem Fluorochrom Calcofluor White M2R New. K měření fluorescence a kvantifikaci byla použita technika průtokové injekční analýzy (Jørgensen a Aastrup 1988; Jørgensen 1988; Navarro et al., 1995). Obsah BG pohyboval v rozmezí od 2,6 po 10,9 hmotn. %, přičemž většina hodnot byla v rozmezí 6,0-7,5 %.

#### II.3.3.3 Stanovení arabinoxylanů

Stanovení AX (pentosanů) bylo provedeno pomocí fotometrické metody podle Douglase (Douglas, 1981). Obsah AX se pohyboval v rozmezí od 3,81 do 8,23 hmotn. %.

#### II.3.3.4 Stanovení dusíkatých látek

Obsah dusíkatých látek byl získán přepočtem ( $= N \times 6,25$ ). Obsah N byl stanoven Dumasovou metodou – akreditovaný postup podle metody ICC No. 167 a SOP-OKZ-402. Obsah dusíkatých látek v zrně ječmene činil 10,1-15,5 %.

### *II.3.4. Přístroje a zařízení*

FT-IR a FT-NIR spektra vzorků byla měřena na FT-IR spektrometru Nicolet 6700 (ThermoScientific, USA) na Ústavu chemie a technologie sacharidu, VŠCHT Praha (Praha, ČR). Tento přístroj obsahuje veškeré vybavení pro měření transmisních, absorpčních a reflexních spekter ve střední (MIR: 400-4 000  $\text{cm}^{-1}$ ) a blízké (NIR: 4 000-10 000  $\text{cm}^{-1}$ ) infračervené oblasti elektromagnetického záření včetně příslušných rozdělovačů paprsků (resp. KBr a  $\text{CaF}_2$ ), detektorů a nástavců pro umístění vzorků. Pro hrubé a jemné mletí vzorků

byl použit odstředivý mlýn Retsch ZM 200 (velikost oka síta 0,75 mm) a oscilační kulový mlýn Retsch MM 301 (Retsch, Německo). Lisování jemně rozemletých vzorků do 7 mm KBr disků bylo provedeno na ručním lisu firmy PIKE Technologies (USA).

### *II.3.5. Pracovní postup – měření spekter*

Transmisní FT-IR spektra vzorků byla měřena v KBr tabletě v rozsahu vlnočtů 400-4 000  $\text{cm}^{-1}$  s rozlišením 2  $\text{cm}^{-1}$  a počtem skenů 64. Difuzně reflektanční FT-NIR spektra byla měřena v rozsahu vlnočtů 4 000-10 000  $\text{cm}^{-1}$  s rozlišením 8  $\text{cm}^{-1}$  a počtem skenů 128. Spektra byla normalizována podle osy Y a byly vypočteny 1. a 2. derivace podle algoritmu Savitsky-Golay (bod 7, polynomické uspořádání 3), program Omnic 8 (ThermoScientific, USA). Normalizovaná spektra a jejich 1. a 2. derivace byly exportovány ve formátu CSV pro další zpracování.

### *II.3.6. Statistická analýza spekter*

Vyhodnocení získaných spektroskopických dat (FTIR a FT NIR) bylo provedeno v programu Statistica 7.1 (StatSoft CR, Česká republika) pomocí multivariačních statistických metod: hierarchické shlukové analýzy (HCA) a analýzy hlavních komponent (PCA). Byly připraveny příslušné dendrogramy vzdáleností, grafy komponentní zátěže a komponentního skóre. Kalibrační modely pro FT-IR a FT-NIR stanovení dusíkatých látek, škrobu, cereálních AX a BG byly vypočtené pomocí PLS algoritmu v programu TQ Analyst 8 (ThermoScientific, USA) na základě 1. a 2. derivací spekter. Software byl poskytnut.

#### II.3.6.1 Analýza hlavních komponent

Pro demonstraci výsledků byl použit soubor vzorků ječmene, pěstovaných v letech 2008 a 2009 na dvou lokalitách (Kroměříž a Žabčice).

Na grafu komponentního skóre PC3 ku PC2 pro 1. derivaci FT-IR spekter (Obr. 1) je vidět shluk 9 vzorků, které obsahovaly nejméně BG (2,6-3,1 %) a jeden vzorek (obsah BG 4,9 %) mimo hlavní shluk ostatních vzorků, které obsahovaly 3,7-10,9 % BG. Vzorky, které se nacházely uvnitř menšího shluku navíc měli relativně nízký obsah škrobu (55,2-58,2 %) a relativně vysoký obsah AX (6,06-7,65 %). Malý shluk je více vzdálený od bodů BG a škrobu a blíží k bodu AX než hlavní shluk, což odpovídá rozdílům v polysacharidovém složení.

Podobně rozdělení pro FT-IR spektra, na grafu komponentního skóre PC3 ku PC2 pro 1. derivaci FT-NIR spekter (**Obr. 2**) shluk stejných vzorků s nejmenším obsahem BG se umístil v blízkosti bodu AX (**Obr. 1**). Využití 2. derivace FT-NIR spekter vedlo k rozdělení souboru

do 3 shluků (**Obr. 3**). Rovněž shluk 9 vzorků s nižším obsahem BG se umístil v blízkosti bodu AX. Ostatní dva shluky byli blíže k bodům škrobu a BG. Odlehlé body 1-3 v okolí shluku bližšímu k bodu BG ukazují na vzorky s extrémními hodnotami obsahu škrobu (1 – 54,7 %, 2 – 66,8 % a 3 – 67,7 %) ve srovnání s rozsahem vevnitř shluku (58,5-64,9 %). Jejich vzdálenost od bodu škrobu dobře koreluje s obsahem tohoto polysacharidu. Body 4 a 5 geneticky příbuzných vzorků jsou umístěny mezi prostředním shlukem a shlukem vzorků s nejmenším obsahem BG.

#### II.3.6.2 Hierarchická shluková analýza

Využitím Wardovy metody shlukování a Euklidovské vzdálenosti byl vytvořen dendrogram podobnosti pro 1. derivace FT-IR spekter vzorků ječmenů (**Obr. 4**). Tento způsob shlukování a určení vzdálenosti byl zvolen jako optimální, protože dával nejlepší výsledky oproti ostatním metodám. Podobně jako za použití metody PCA se od ostatních vzorků oddělila skupina s nízkým obsahem BG včetně s dalším geneticky příbuzným vzorkem. Zbytek vzorků se rozčlenil do dvou hlavních shluků, které jsou dále rozděleny do menších shluků. Důvodem takového shlukování je společný genetický základ a vzájemné křížení mezi jednotlivými odrůdami ječmene. Podobný výsledek byl dosažen HCA 1. derivace FT-NIR spekter (**Obr. 5**), avšak v tomto případě se navíc podařilo oddělit shluk dvou vzorků černých ječmenů.

#### II.3.6.3 Příprava kalibračních modelů

Na základě naměřených FT-IR a FT-NIR spekter byly pomocí PLS algoritmu vytvořeny kalibrační modely pro stanovení obsahu škrobu, dusíkatých látek, AX a BG. Pro kalibrace byly použity následující spektrální oblasti: 696-1773  $\text{cm}^{-1}$  a 2440-3140  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR, 1. derivace, mimo BG); 880-1 500  $\text{cm}^{-1}$  (FT-IR, BG); 4 070-5 150, 5 566-6 950 a 7 430-8 540  $\text{cm}^{-1}$  (FT-NIR, 1. derivace). Výsledky kalibrace jsou uvedeny v tabulkách 2 (FT-IR) a 3 (FT-NIR). Dosažené kalibrace byly účinnější v případě BG a dusíkatých látek ( $r_{xy} > 0,95$ ). Porovnáním chyb kalibrace (RMSEC), křížové validace (RMSECV) a predikce (RMSEP) bylo potvrzeno, že při analýze všech 4 ukazatelů byla FT-NIR metoda účinnější než FT-IR. Mezi průměry predikovaných a referenčních hodnot nezávislého souboru vzorků nebyl zjištěn statistický významný rozdíl (**Obr. 6**). Navržené kalibrační modely byly ověřovány pomocí křížové a nezávislé validace. Nezávislá validace (**Obr. 7-9**) poskytla srovnatelnou úspěšnost predikce jako křížová validace, což potvrzují hodnoty chyby predikce.

### **III. SROVNÁNÍ „NOVOSTI POSTUPŮ“**

Novost postupu předložené metodiky spočívá v kombinaci dvou spektroskopických metod (FT-IR a FT-NIR) a spojení jejich kvantitativního a kvalitativního vyhodnocení s využitím různých statistických metod (HCA, PCA a PLS). Pomocí vibračních spekter v kombinaci s chemometrií lze rychle a nedestruktivně rozlišit vzorky rozemletých zrn ječmene různého genetického původu. Vibrační spektra jsou velmi citlivá na rozdíly v chemickém složení způsobenými genetickou odlišností ječmene. Obě metody (FT-IR a FT-NIR) se navzájem doplňují a jejich kombinací lze lépe roztřídit soubory vzorků zrna dle složení. Z tohoto důvodu HCA a PCA vibračních spekter a jejich derivaci lze doporučit pro screening nových odrůd, šlechtitelských linií, genetických zdrojů a dalších vzorků ječmene na základě odhadu fenotypického dopadu určitých genetických změn na složení zrna, především na obsah škrobu, bílkovin a obou NSP. Změny v obsahu a poměru hlavních složek ječného zrna se výrazně odrážejí ve spektroskopických změnách, které lze rozpoznávat pomocí chemometrických metod. Konstrukce PLS kalibračních modelů umožňuje na základě naměřených spekter stanovení několika analytických hodnot, zejména obsah škrobu a NSP, což výrazně zrychluje dobu analýzy a snižuje finanční náklady.

### **IV. POPIS UPLATNĚNÍ CERTIFIKOVANÉ METODIKY**

Navržená metodika umožňuje sledovat kvalitu ječmene z hlediska zastoupení NSP, což má význam pro její využití nejen ve výzkumu a šlechtění, ale i v potravinářství, zejména v pivovarské technologii a při výkupu a zpracování zrna. Lze tak roztřídit různé vzorky zrna, odlišné odrůdy, genetické zdroje, hybridní populace i geneticky diferencované formy ječmene a vybrat materiály s optimálním (resp. požadovaným) zastoupením technologicky nebo nutričně významných polysacharidů pro výslednou kvalitu konečného výrobku a zlepšení technologického postupu. Jako vhodná se proto jeví implementace dosažených výsledků do prostředí ječmenářských, sladařských a pivovarských pracovišť.

V dnešní době jsou IR a NIR spektrometry častou součástí běžného vybavení výzkumných a rutinních laboratoří, avšak často jsou to starší dispersní přístroje. Vytvořené kalibrační modely lze aplikovat v případě novějších přístrojů měřících MIR nebo NIR spektra s využitím Fourierovy transformace. Kalibrační modely jsou v principu přenosné, je pouze nutné navržené modely na daném zařízení ověřit. Metodiku lze také aplikovat na dispersní nebo filtrové přístroje, avšak v tom případě by bylo nutné vypracovat podle navržené metodiky samostatnou vlastní kalibraci.

## V. EKONOMICKÉ ASPEKTY

Ekonomická efektivnost využití dané metodiky se projevuje zejména při potřebě hodnotit nebo třídít větší soubory vzorků, například ve šlechtění, výkupu, zpracování zrna, apod. Předpokládané ekonomické a další přínosy jsou obsaženy v možnosti provádět screeningové třídění a výběr materiálů (genotypů, odrůd, vzorků zrna) ječmene s diferencovaným, resp. požadovaným nebo očekávaným obsahem neškrobových polysacharidů (a případně i dusíkatých látek a škrobu). Ekonomický přínos spočívá v úspoře nákladů na provádění chemických analýz velkého počtu vzorků zrna, které oproti měření na MIR nebo NIR přístrojích (jsou-li pro uživatele k dispozici) představují u 1 vzorku úsporu cca 2 250 až 2 740 Kč (v závislosti na plánovaném rozsahu analýz vzorku). Pokud je nutné využít službu jiných institucí, které dané přístrojové vybavení vlastní, je odhadovaná úspora nižší o odpočet odpisů na dané zařízení. V tom případě lze odhadnout úsporu u jednoho vzorku ve výši min. 750 až 1 240 Kč. Se stoupajícím počtem vzorků bude cena za naměření 1 vzorku významně klesat a tím bude ekonomický přínos pro uživatele výraznější.

Autoři metodiky nabízejí odbornou poradu i konkrétní věcnou pomoc při zavádění metody a rovněž při vytvoření kalibračních modelů.

## VI. SEZNAM POUŽITÉ SOUVISEJÍCÍ LITERATURY

- Bacic A., Stone B. (1981): Chemistry and organization of aleurone cell wall components from wheat and barley. *Aust. J. Plant Physiol.* **8**: 475–495.
- Baik B.-K., Ullrich S. E. (2008): Barley for food: characteristics, improvement, and renewed interest. *J. Cereal Sci.* **48**: 233–242.
- Balance G. M., Manners D. J. (1978): Structural analysis and enzymic solubilization of barley endosperm cell walls. *Carbohydr. Res.* **61**: 107–118.
- Bathgate G. N., Dalglish C. E. (1975): The diversity of barley and malt  $\beta$ -glucans. *Proc. Am. Soc. Brew. Chem.* **33**: 32–36.
- Bhatty R. S. (1992):  $\beta$ -Glucan content and viscosities of barleys and their roller-milled flour and bran products. *Cereal Chem.* **69**: 469–471.
- Bhatty R.S. (1995): Hull-less Barley Bran: A potential new product from an old grain. *Cereal Foods World* **40**: 819–824.
- Blakeney A. B., Flinn P. C. (2005): Determination of non-starch polysaccharides in cereal grains with near-infrared reflectance spectroscopy. *Mol. Nutr. Food Res.* **49**: 546–550.
- Bruno-Soares A. M., Murray I., Paterson R. M., Abreu J. M. F. (1998): Use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the prediction of the chemical composition and nutritional attributes of green crop cereals. *Anim. Feed Sci. Technol.* **75**: 15–25.
- Czuchajowska Z., Szczodrak J., Pomeranz Y. (1992): Characterization and estimation of barley polysaccharides by near-infrared spectroscopy. I. Barleys, starches, and  $\beta$ -D-glucans. *Cereal Chem.* **69**: 413–418.
- De Sá R. M., Palmer G. H. (2006): Analysis of  $\beta$ -glucan in single grains of barley and malt using NIR-Spectroscopy. *J. Inst. Brew.* **112**: 9–16.
- Douglas S. G. (2001): A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour. *Food Chem.* **7**: 139–145.
- Edney M. J., Morgan J. E., Williams P. C., Campbell L. D. (1994): Analysis of feed barley by near infrared reflectance technology. *J. Near Infrared Spectrosc.* **2**: 33–41.
- Egi A., Speers R. A., Paulson A. T. (2004a): The physical behavior of arabinoxylans in model brewing solutions. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am.* **41**: 268–276.
- Egi A., Speers R. A., Schwarz P. B.: (2004b): Arabinoxylans and their behavior during malting and brewing. *MBAA Technical Quarterly* **41**: 248–267.
- Ehrenbergerová J., Belcrediová N., Havlová P., Roznovsky J., Vejrazka K., Vaculová K. (2005): Effect of weather conditions and genotype on the content of non-starch polysaccharides in spring barley breeding, pp. 25-31 In: Brandstter, A. Ruckebauer P., Raab F., Trischler A., eds.: *Züchtung auf Anpassungsfähigkeit. Tagungband der 56. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs*, 22.-24. November 2005, Raumberg-Gumpenstein, 126 s.
- Ehrenbergerová J., Belcrediová N., Havlová P., Vaculová K., 2006: Vlivy působící na obsah neškrobových polysacharidů v znu jarního ječmene. *Chem. Listy* **100**: 841.
- Ehrenbergerová J., Belcrediová N., Prýma J., Vaculová K., Newman C. W. (2006): Effect of cultivar, year grown, and cropping system on the content of tocopherols and tocotrienols in grains of hulled and hullless barley. *Plant Foods Human Nutr.* **61**: 145–150.

- Ehrenbergerová J., Vaculová K., Zimolka J. (1997): Jakost zrna bezpluchého jarního ječmene z odlišných způsobů pěstování. *Rostlinná Výroba* **43**: 585–592.
- Fastnaught C. E., Berglund C. E., Holm E. T., Fox G. J. (1996): Genetic and environmental variation in  $\beta$ -glucan content and quality parameters of barley for food. *Crop. Sci.* **36**: 941–946.
- Fincher G. B., Stone B. A. (1986): Cell walls and their components in cereal grain technology. In: *Adv. Cereal Sci. Technol.* **8**: 207–295. Y. Pomeranz, ed., American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN.
- Fleury M. D., Edney M. J., Campbell L. D., Crow G. H. (1997): Total, water-soluble and acid-soluble arabinoxylans in western Canadian barleys. *Can. J. Plant Sci.* **77**: 191–196.
- Fox G. P., Onley-Watson K. O., Osman A. (2002): Multiple linear regression calibrations for barley and malt protein based on the spectra of hordein. *J. Inst. Brew.* **108**, 155–159.
- Fox G. P., Osborne B., Bowman J., Kelly A., Cakir M., Poulsen D., Inkerman A., Henry R. (2007): Measurement of genetic and environmental variation in barley (*Hordeum vulgare*) grain hardness. *J. Cereal Sci.* **46**: 82–92.
- Girhammar U., Nair B. M. (1992): Isolation, separation and characterization of water soluble non-starch polysaccharides from wheat and rye. *Food Hydrocoll.* **6**: 285–299.
- Havlova P. (2001): Beta-glukany a jejich význam pro pivovarství. *Kvasný Průmysl* **47**: 174–175.
- Henry R. J. (1985): Near-infrared reflectance analysis of carbohydrates and its application to the determination of (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan in barley. *Carbohydr. Res.* **141**, 13–19.
- Henry R. J. (1986): Genetic and environmental variation in the pentosan and  $\beta$ -glucan contents of barley, and their relation to malting quality. *J. Cereal Sci.* **4**: 269–277.
- Holtekjolen A. K., Uhlen A. K., Brathen E., Sahlstrom S., Knutsen S. H. (2006): Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin. *Food Chem.* **94**: 348–358.
- Izydorczyk M. S., Biliaderis C. G. (1995): Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties. *Carbohydr. Polym.* **28**: 33–48.
- Jacobsen S., Søndergaard I., Møller B., Desler T., Munck L. (2005): A chemometric evaluation of the underlying physical and chemical patterns that support near infrared spectroscopy of barley seeds as a tool for explorative classification of endosperm genes and gene combinations. *J. Cereal Sci.* **42**: 281–299.
- Jeroch H., Daenicke, S. (1995): Barley in poultry feeding: a review. *World's Poultry Sci. J.* **51**: 271–291.
- Jørgensen, K.G. (1988): Quantification of high molecular weight (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan using Calcofluor complex formation and flow injection analysis. I. Analytical principle and its standardization. *Carlsberg Res. Commun.* **53**: 277–285.
- Jørgensen, K.G., Aastrup S. (1988): Quantification of high molecular weight (1 $\rightarrow$ 3)(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucan using Calcofluor complex formation and flow injection analysis. II. Determination of total  $\beta$ -glucan content of barley and malt. *Carlsberg Res. Commun.* **53**: 287–296.
- Kačuráková, M., Wilson, R. H. (2001): Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates. *Carbohydr. Polym.* **44**: 291–303.
- Kays S. E., Barton F. E., Windham, W. R. (1999): NIR analysis of dietary fiber. In *Food science and technology*. Marcel Dekker 1999, 1–21.
- Kays S. E., Shimizu N., Barton F. E., Ohtsubo K. (2005): Near-infrared transmission and reflectance spectroscopy for the determination of dietary fiber in barley cultivars. *Crop Sci.* **45**: 2307–2311.



- Knuckles B. E., Chiu M. M., Betschart A. A. (1992): Beta-glucan enriched fractions from laboratory dry scale milling and sieving of barley and oats. *Cereal Chem.* **69**: 198–202.
- Lehtonen M., Aikasalo R. (1987): Pentosans in barley varieties. *Cereal Chem.* **64**: 133–134.
- McCann M. E. E., McCracken K. J., Agnew R. E. (2006): The use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for prediction of the nutritive value of barley for growing pigs. *Irish J. Agric. Food Res.* **45**: 187–195.
- McGregor A. W. (1991): The effect of barley structure and composition on malt quality. In: *Proc. Congr. Eur. Brew. Conv. Lisbon* **23**: 429–437. IRL Press at Oxford University Press, Oxford, U.K.
- McGuire C. F. (1982): Near-infrared reflectance estimates of malt extract. *Cereal Chem.* **59**: 510–511.
- McNab J. M., Smithard R. R. (1992): Barley  $\beta$ -glucan: an antinutritional factor in poultry feeding. *Nutrition Res. Rev.* **5**: 45–60.
- Møller B. (2004): Near infrared transmission spectra of barley of malting grade represent a physical-chemical fingerprint of the sample which is able to predict germinative vigour in a multivariate data evaluation model. *J. Inst. Brew.* **110**: 18–33.
- Møller B., Munck L. (2004): A new two dimensional germinative classification for malting barley quality based on separate estimates for vigour and viability. *Czech J. Genet. Plant Breed.* **40**: 102–108.
- Møller B., Nørgaard L., Munck L. (2008): Near infrared reflectance spectroscopy and computer graphics visualises unique genotype specific physical-chemical patterns from barley endosperm. *Options Méditerranéennes A81: Cereal science and technology for feeding ten billion people: genomics era and beyond* (Molina Cano J. L., Christou P., Graner A., Hammer K., Jouve N., Keller B., Lasa J. M., Powell W., Royo C., Shewry P., Stanca A. M. – ed.), 253–259.
- Munck L., Møller B. (2005): Principal component analysis of near infrared spectra as a tool of endosperm mutant characterisation and in barley breeding for quality. *Czech J. Genet. Plant Breed.* **41**, 89–95.
- Munck L., Møller B., Jacobsen S., Søndergaard I. (2004): Near infrared spectra indicate specific mutant endosperm genes and reveal a new mechanism for substituting starch with (1/3,1/4)-  $\beta$ -glucan in barley. *J. of Cereal Sci.*, **40**, 213–222.
- Munck L., Møller Jørgensen B. (2009): From discovery of high lysine barley endosperm mutants in the 1960-70s to new holistic spectral models of the phenome and of pleiotropy in 2008. *Induced Plant Mutations in the Genomics Era* (Q.Y. Shu, ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2009, 419–422.
- Munck L., Nielsen J. P., Møller B., Jacobsen S., Søndergaard I., Engelsen S.B., Nørgaard L., Bro R. (2001): Exploring the phenotypic expression of a regulatory proteome-altering gene by spectroscopy and chemometrics. *Anal. Chim. Acta* **446**: 171–186.
- Navarro A., Manzanares P., Carbonell J. V. (1995): Sendra J. M.: Determination of (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucanase activity by a calcofluor-flow injection analysis method. *J. Cereal Sci.* **22**: 275–284.
- Newman R. K., Newman C. W. (1991): Barley as a food grain. *Cereal Foods World Rev.* **36**: 800–805.
- Newman R. K., Newman C. W., Graham H. (1989): The hypocholesterolemic function of barley beta-glucans. *Cereal Foods World Rev.* **34**: 883–886.
- Newman, C. W., Newman, R. K. (1988): Factors influencing the utilization of barley by monogastric animals and poultry. In: *Alternative end uses of barley*. Cereal Chemistry Division, 23–28.
- Ozaki Y., McClure W. F., Christy A. A., ed. (2006): Near infrared spectroscopy in food science and technology. John Wiley and Sons Ltd, 1–408.

- Philippe S., Robert P., Barron C., Saulnier L., Guillon F. (2006): Deposition of cell wall polysaccharides in wheat endosperm during grain development: Fourier transform-infrared microspectroscopy study. *J. Agricul. Food Chem.* **54**: 2303–2308.
- Ratcliffe M., Panozzo F. J. (1999): The application of near infrared spectroscopy to evaluate malting quality. *Near Infrared Spectrosc.* **105**: 85–88.
- Robert P., Marquis M. L., Barron C. C., Guillon F., Saulnier L. (2005): FT-IR investigation of cell wall polysaccharides assignment from cereal grains. Arabinoxylan infrared assignment. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 7014–7018.
- Roberts C.A., Marquardt R. R., Fronlich A.A., McGraw R.L., Rotter R.G., Henning J.C. (1991): Chemical and spectral quantification of mold in contaminated barley. *Cereal Chem.* **68**: 272–275.
- Seefeldt H. F., Blennow A., Møller Jespersen B., Wollenweber B., Engelsen S. B. (2009): Accumulation of mixed linkage (1/3) (1/4)- $\beta$ -D-glucan during grain filling in barley: A vibrational spectroscopy study. *J. Cereal Sci.* **49**: 24–31.
- Steiner K. (1968): The role of pentosans in brewing. *Brew. Dig.* **43**: 70–77.
- Stewart D., Morrison I. M. (1992): Ft-ir spectroscopy as a tool for the study of biological and chemical treatments of barley straw. *J. Sci. Food Agric.* **60**: 431–436.
- Stuart I. M., Loi L., Fincher G. B. (1988): Varietal and environmental variation in (1-3)(1-4)- $\beta$ -glucan levels and (1-3)(1-4)- $\beta$ -glucanase potential barley: Relationships to malting quality. *J. Cereal Sci.* **7**: 61–71.
- Sun D.-W., ed. (2009): Infrared spectroscopy for food quality analysis and control. Elsevier Inc., 1–448.
- Szczodrak J., Czuchajowska Z., Pomeranz Y. (1992): Characterization and estimation of barley polysaccharides by near-infrared spectroscopy. II. Estimation of total  $\beta$ -D-glucans. *Cereal Chem.* **69**: 419–423.
- Taketa S., Kikuchi S., Awayama T., Yamamoto S., Ichii M., Kawasaki S. (2004): Monophyletic origin of naked barley inferred from molecular analyses of a marker closely linked to the naked caryopsis gene (*nud*). *Theor. Appl. Gen.* **108**: 1236–1242.
- Thygesen L. G., Løkkey M. M., Micklander E., Engelsen S. B. (2003): Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. *Trends Food Sci. Technol.* **14**: 50–57.
- Vaculová K. (1992): Beta-glukany a kvalita zrna ječmene. *Úroda* **5**: 209–210.
- Vaculová K., Ehrenbergerová J., Psota V., Havlová P., Špunarová M. (2000): Variability of  $\beta$ -glucan in early generations of barley hybrids. *Mendel Centenary Congress, 5. GPZ-Tagung*, March 7–10, 2000, Brno, Czech Republic, Poster Abstracts. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **47**: 149.
- Van de Voort F. R. (1992): Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. *Food Res. Int.* **25**: 397–403.
- Wang L., Newman, R. K., Newman, C. W., Hofer P. J., Fengler A. I. (1990): Effect of barley  $\beta$ -glucans on intestinal viscosity and lipid metabolism in the chick model. *J. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.* **5**: A1286.
- Wiley P. R., Tanner G. J., Chandler P. M., Anderssen R. S. (2009): Molecular classification of barley (*Hordeum vulgare* L.) mutants using derivative NIR spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* **57**: 4042–4050.
- Yoon S. H., Berglund P. T., Fastnaught C. E. (1995). Evaluation of selected barley cultivars and their fractions for  $\beta$ -glucan enrichment and viscosity. *Cereal Chem.* **72**: 187–190.
- Zhang G., Chen J., Wang J. (2002): Variation in barley endosperm  $\beta$ -glucan content in three barley cultivars as a function of spike number and within spike. *J. Cereal Sci.* **35**: 99–101.

## VII. SEZNAM PUBLIKACÍ, KTERÉ PŘEDCHÁZELY METODICE

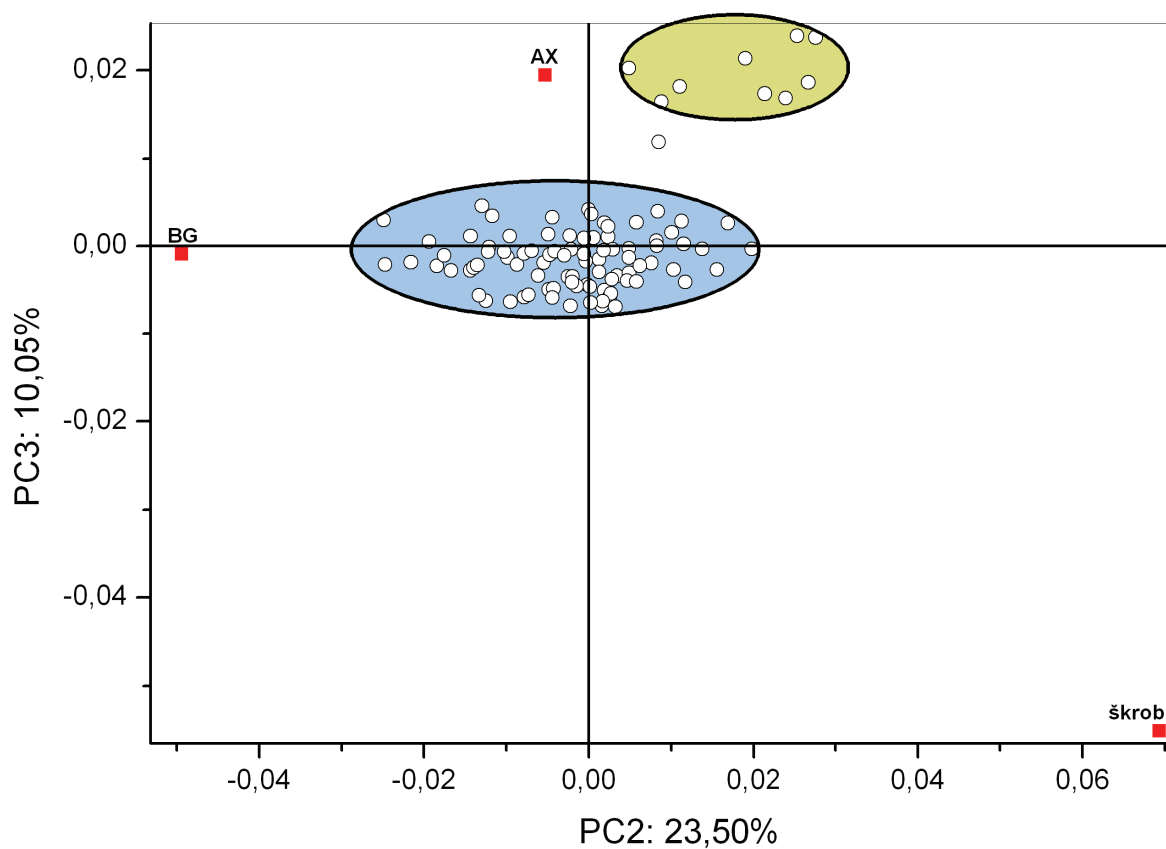
- Lhotáková E., Synytsya A., Ševčík R., Kvasnička F., Čopíková J., Voldřich M. (2010): Třídění ječmenů pomocí vibrační spektroskopie a multivariační analýzy. *Bezpečnost a kvalita surovin a potravin*, V. vedecká konferencia s medzinárodnou účasťou, Nitra 3. – 4.2.2010. *Potravinárstvo* 4(mim. č.), 52-56.
- Lhotáková E., Synytsya A., Čopíková J.: Třídění ječmenů pomocí FT-NIR spektroskopie a multivariační statistické analýzy. *Proceeding of the 5th International Conference on Polysaccharides-Glycoscience*, Prague, Czech Republic, 11. – 13.11.2009.
- Lhotáková E., Kvasnička F., Vaculová K., Čopíková J., Synytsya A., Voldřich M.: Discrimination of barley varieties by spectroscopic and statistical methods. *Proceeding of the 6th International Conference on Polysaccharides-Glycoscience*, Prague, Czech Republic, 29.09. – 1.10.2010, 135–138.
- Synytsya A., Lhotáková E., Synytsya A., Čopíková J., Ševčík R., Kvasnička F., Voldřich M. (2010): Analýza a třídění ječmenů pomocí spektroskopických metod a stanovení barvy. *XL. symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin*. Skalský Dvůr u Bystřice nad Pernštejnem, 3. – 5. 5.2010.

## VIII. PŘÍLOHY

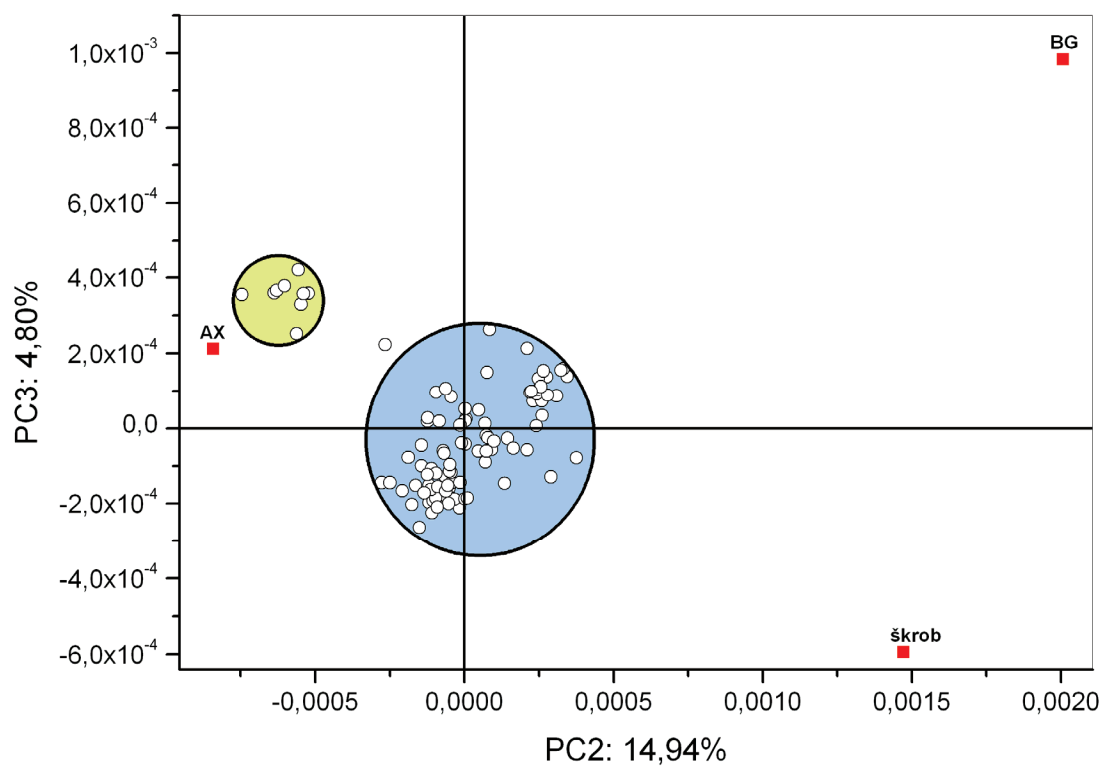
### Poděkování:

Autoři děkují Ing. Ladislavu Tenklovi (Nicolet CZ s r. o., Česká republika) za odbornou pomoc při vytvoření kalibračních modelu pro FT-IR a FT-NIR metody.

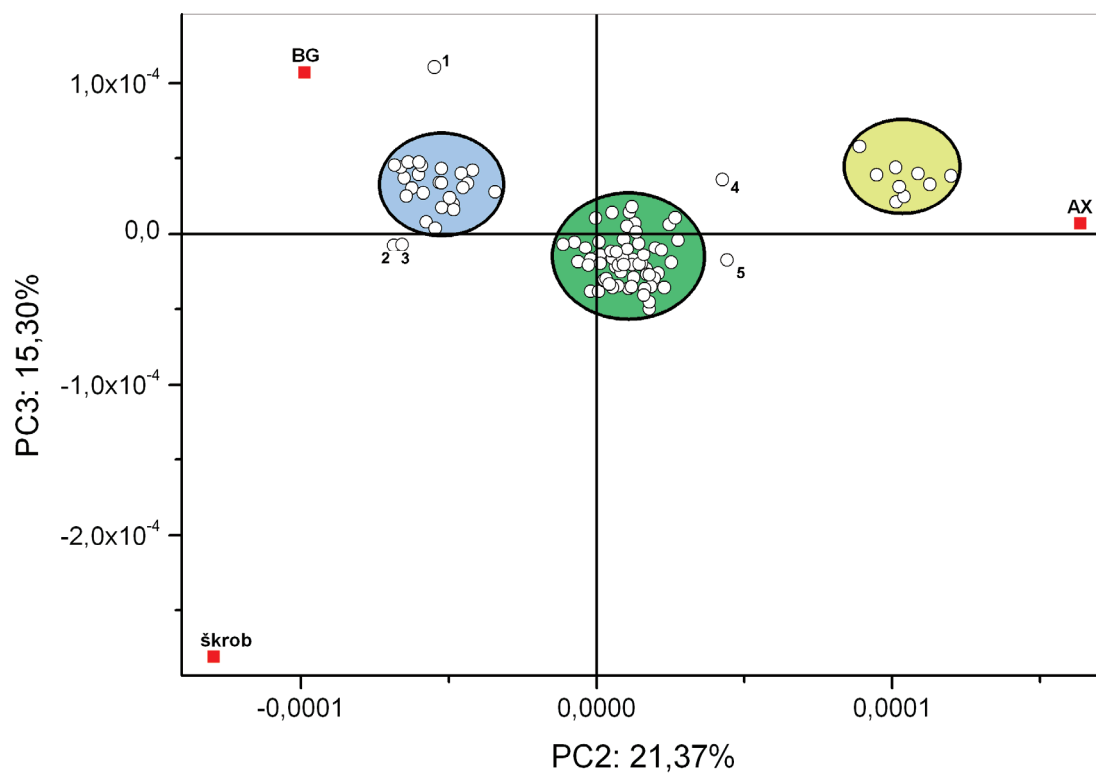
### Obrázky a Tabulky



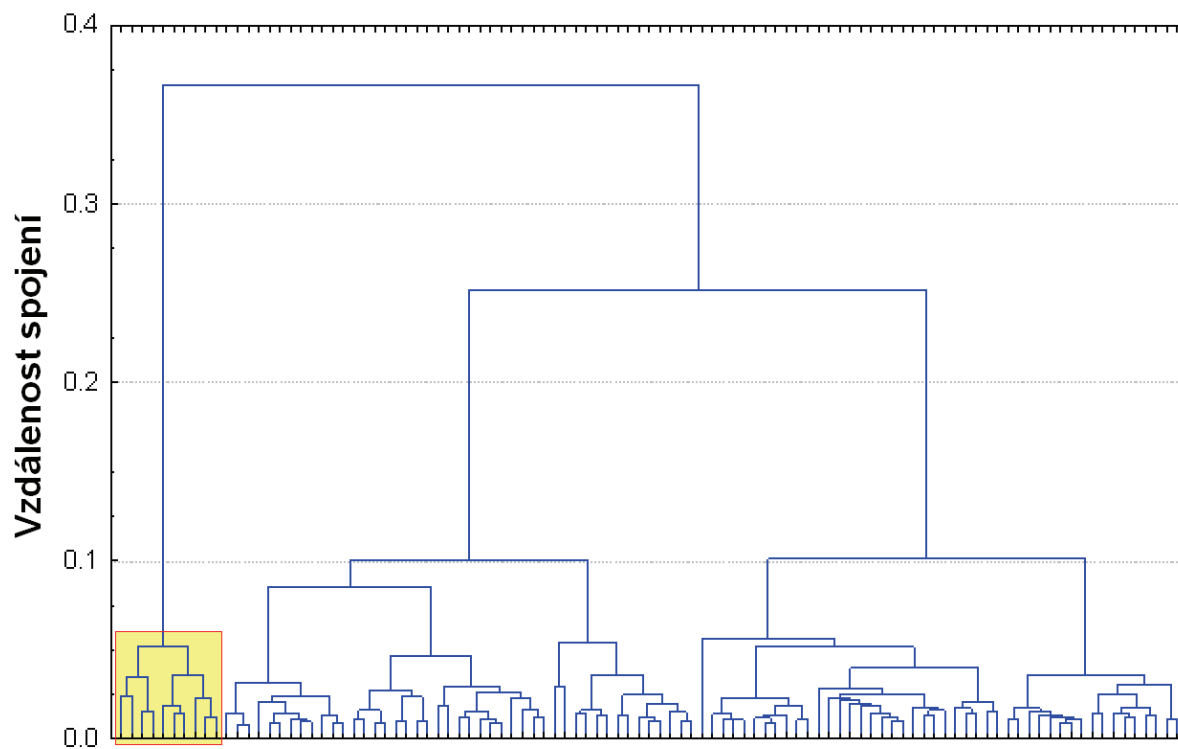
**Obr. 1:** Graf komponentního skóre PC3 versus PC2 pro 1. derivace FT-IR spekter ( $850\text{-}1\ 750\ \text{cm}^{-1}$ ) souboru 99 vzorků rozemletého zrna ječmene a standardů polysacharidů (škrob, BG, AX)



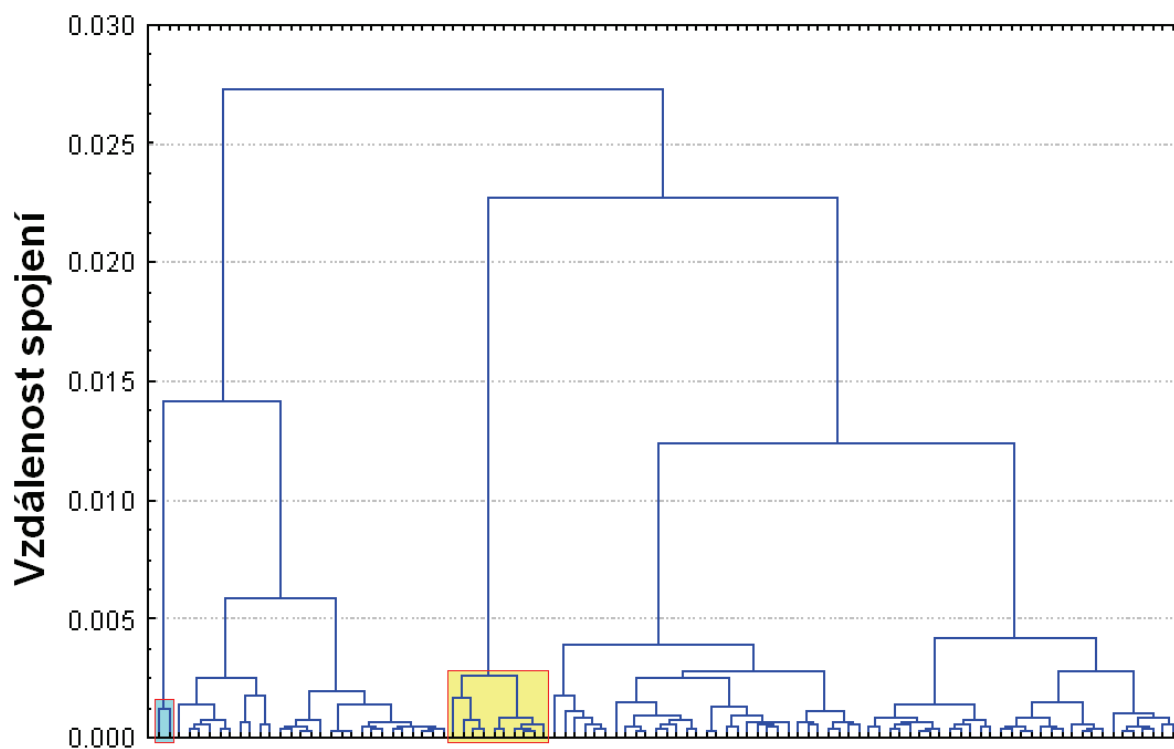
**Obr. 2:** Graf komponentního skóre PC3 versus PC2 pro 1. derivace FT-NIR spekter (5 400–9 000 cm<sup>-1</sup>) souboru 99 vzorků rozemletého zrna ječmene a standardů polysacharidů (škrob, BG, AX)



**Obr. 3:** Graf komponentního skóre PC3 versus PC2 pro 2. derivace FT-NIR spekter (5 400–9 000 cm<sup>-1</sup>) souboru 99 vzorků rozemletého zrna ječmene a standardů polysacharidů (škrob, BG, AX)

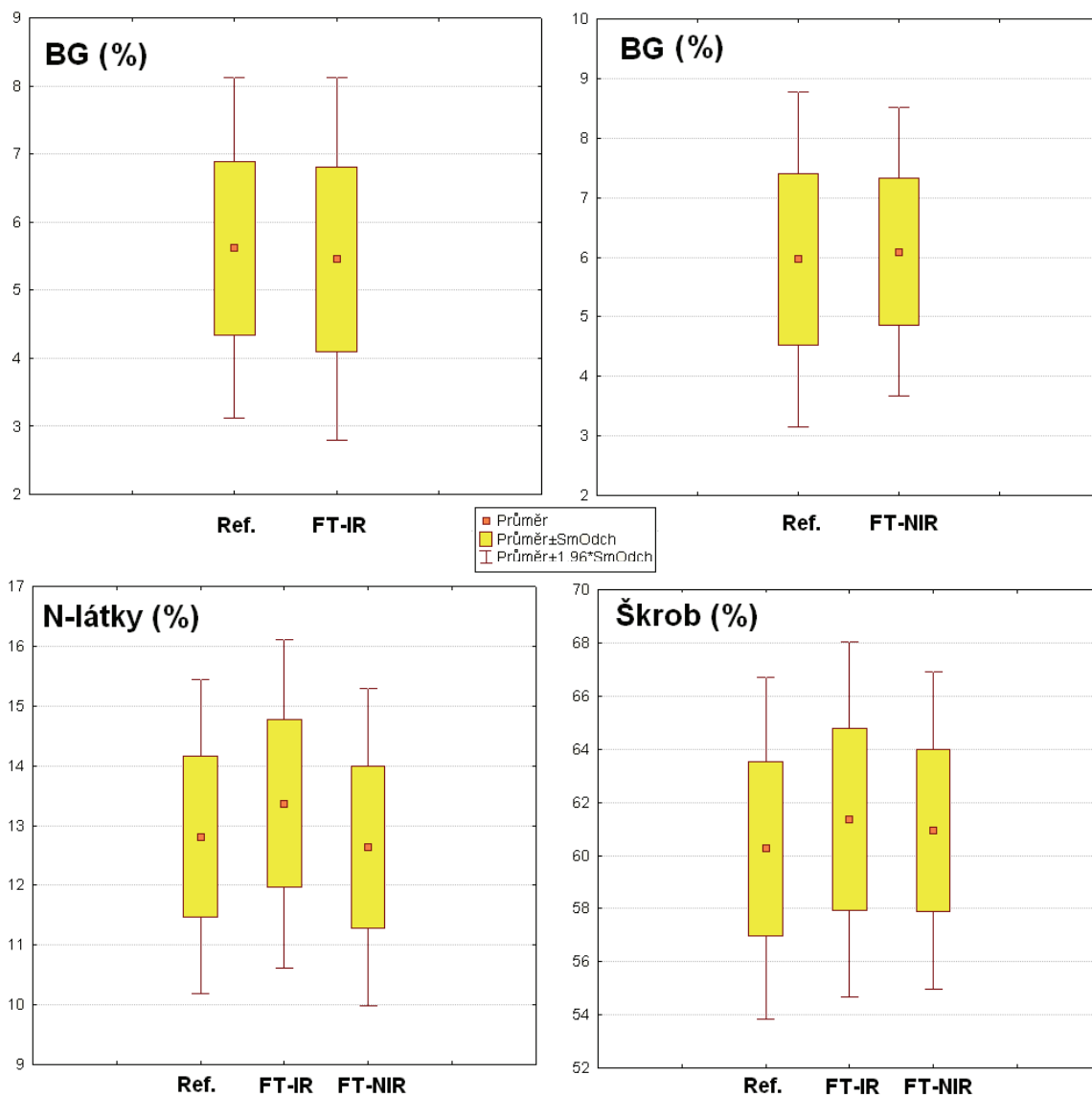


**Obr. 4:** Dendrogram podobnosti (Wardova metoda shlukování, Euklidovská vzdálenost) pro 1. derivace FT-IR spekter ( $850\text{--}1\,750\text{ cm}^{-1}$ ) souboru 101 vzorků rozemletého zrna ječmene s označením shluku vzorků ječmene s nízkým obsahem BG

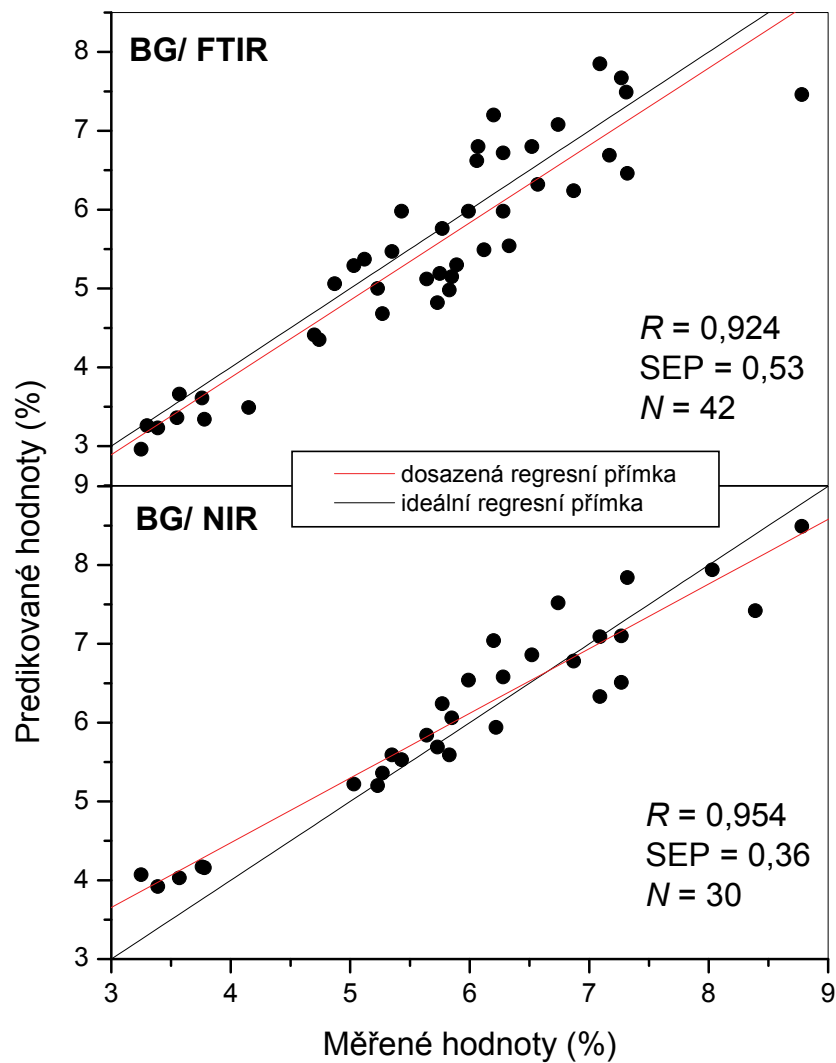


**Obr. 5:** Dendrogram podobnosti (Wardova metoda shlukování, Euklidovská vzdálenost) pro 1. derivace FT-NIR spekter ( $4\ 050\text{--}9\ 950\ \text{cm}^{-1}$ ) souboru 101 vzorků rozemletého zrna ječmene s označením shluku vzorků ječmene s nízkým obsahem BG a 2 vzorků ječmene s černou barvou obilky

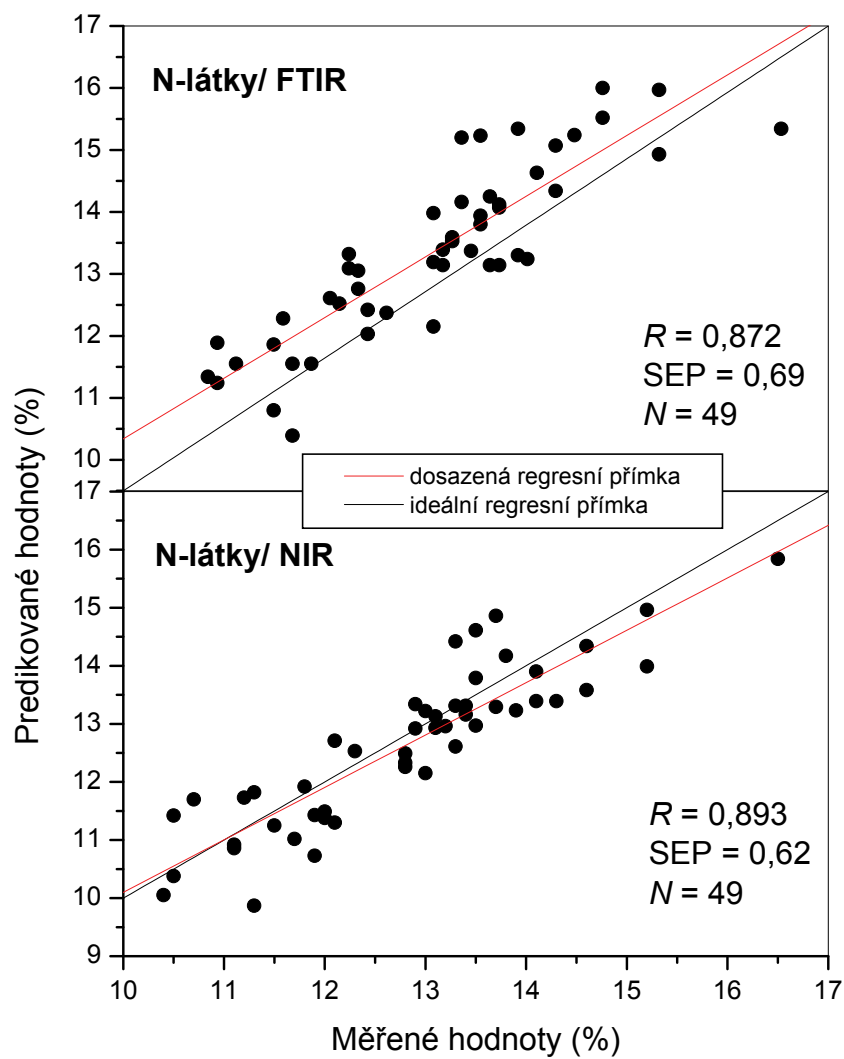




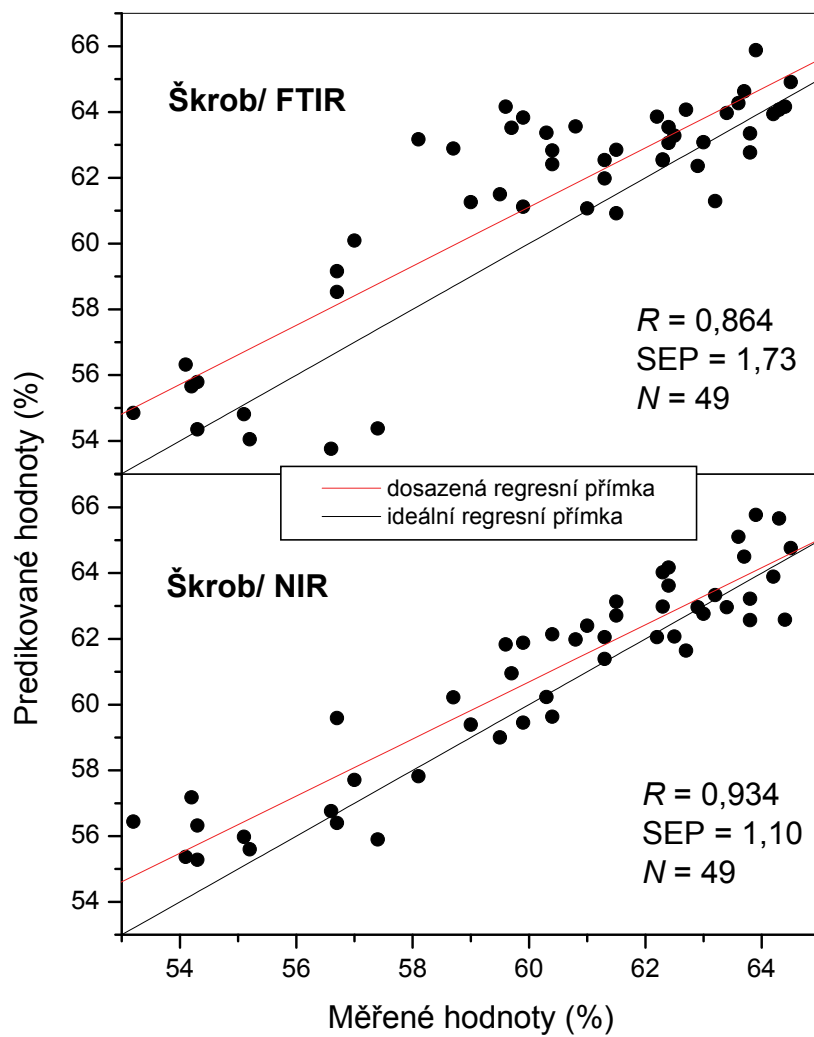
**Obr. 6:** Statistické porovnání hodnot ukazatelů stanovených referenční metodou a vypočtených na základě FT-IR a FT-NIR kalibrací



**Obr. 7:** Výsledky nezávislé validace kalibračních modelů pro BG z FT-IR a FT-NIR spekter



**Obr. 8:** Výsledky nezávislé validace kalibračních modelů pro N-látky z FT-IR a FT-NIR spekter



**Obr. 9:** Výsledky nezávislé validace kalibračních modelů pro škrob z FT-IR a FT-NIR spekter

**Tabulka 1:** Charakteristika kalibračního souboru vzorků rozemletého zrna ječmene

Ukazatel (%)	<i>N</i>	Průměr	Min	Max	Směrodatná odchylka	Variační koeficient
BG	202	5,9	2,6	11,7	1,6	26,6
N-látky	202	12,9	9,9	17,5	1,5	11,6
Škrob	202	61,7	53,8	67,7	2,8	4,5
AX	202	5,4	3,7	9,7	1,2	22,0

**Tabulka 2:** Výsledky kalibrace získané metodou PLS pro FT-IR analýzu rozemletého zrna ječmene

Ukazatel (%)	<i>N</i>	Počet faktorů	$R_c$	RMSEC	$R_{cv}$	RMSECV	RMSEP
BG	202	16	0,952	0,48	0,908	0,68	0,73
N-látky	202	8	0,963	0,45	0,927	0,57	0,67
Škrob	200	7	0,886	1,29	0,790	1,71	1,47
AX	202	7	0,884	0,56	0,806	0,72	0,81

**Tabulka 3:** Výsledky kalibrace získané metodou PLS pro FT-NIR analýzu rozemletého zrna ječmene

Ukazatel (%)	<i>N</i>	Počet faktorů	$R_c$	RMSEC	$R_{cv}$	RMSECV	RMSEP
BG	201	12	0,977	0,34	0,914	0,64	0,42
N-látky	200	7	0,969	0,37	0,956	0,44	0,38
Škrob	201	5	0,912	1,14	0,889	1,27	1,14
AX	200	6	0,886	0,55	0,825	0,67	0,71

**Mgr. Andriy Synytsya, Ph.D., Ing. Eva Budilová, prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.**

**METODIKA TŘÍDĚNÍ A VÝBĚRU JEČMENE S ODLIŠNÝM OBSAHEM  
NEŠKROBOVÝCH POLYSACHARIDŮ VYUŽITÍM FT-IR A FT-NIR  
- CERTIFIKOVANÁ METODIKA**

Vydala	Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Vydavatelství	VŠCHT Praha Technická 5, 166 28 Praha 6
Tisk	KANAG - TISK, s.r.o., Technická 5, 166 28 Praha 6
Počet stran	30
Počet obrázků	9
Vydání:	první
Náklad	30 výtisků