

Tvorba databáze NIR spekter pro různé druhy mas

Bc. Iveta Polednová

Diplomová práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Bc. Iveta Polednová
Osobní číslo:	T22617
Studijní program:	N0721A210004 Technologie potravin
Forma studia:	Kombinovaná
Téma práce:	Tvorba databáze NIR spekter pro různé druhy mas

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Princip NIR spektroskopie.

Charakteristika vybraných druhů masa.

Využití spektroskopie v potravinářství.

Princip tvorby kalibračních modelů.

II. Praktická část

Provedení vybraných analýz vzorků různých druhů mas.

Změření vzorků NIR spektroskopii.

Vytvoření kalibračních modelů vzorků masa.

Vyhodnocení výsledků a diskuse.

Forma zpracování diplomové práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- [1] Prieto, N. et al. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review, *Meat Science* 83, p. 175-186
- [2] Haibo, H. et al. (2008). Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review, *Journal of Food Engineering* 87, p. 303-313
- [3] Porep J. U., Kammerer, D. R., Reinhold C. (2015): On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production, *Trends in Food Science & Technology* 46, p. 211-230
- [4] Klouda, P. (2003). *Moderní analytické metody*, Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 132 stran, ISBN 80-86369-07-2

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Jana Šenkýřová, Ph.D.**
Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce: **1. ledna 2024**
Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Robert Gál, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 10. února 2024

PROHLÁŠENÍ AUTORKY DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky:

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Základem této práce byla analýza vybraných druhů mas a stanovení jejich vybraných parametrů, jmenovitě obsahu bílkovin, obsahu sušiny, obsahu tuku, pH a barvy, s následnou tvorbou databáze NIR spekter s cílem určit potenciální praktické využití této metody při stanovování výše zmíněných parametrů a zda lze vytvořit kalibrační modely pro jednotlivé druhy mas na základě jejich barevnosti. V teoretické části byla popsána stručná historie, princip a experimentální uspořádání infračervené spektroskopie spolu s principem tvorby kalibračních modelů na základě vybraných statistických metod. V neposlední řadě je zde uvedeno i chemické složení jednotlivých druhů masa. V rámci praktické části byly dané parametry stanoveny pomocí referenčních metod a tyto hodnoty byly použity na tvorbu kalibračních modelů. Pomocí vytvořených kalibračních modelů byla prověřena spolehlivost této metody při stanovení daných parametrů. Koeficienty determinace se u většiny kalibračních modelů pohybovaly nad 0,95, což svědčí o jejich značné spolehlivosti.

Klíčová slova: barva, chemické složení, infračervená spektroskopie, kalibrační modely, maso

ABSTRACT

This thesis focuses on the analysis of selected types of meat and the determination of given parameters, namely protein content, dry matter content, fat content, pH and color with the subsequent creation of a database of NIR spectra with the aim of determining the potential practical use of this method in determining the aforementioned parameters and whether it is possible to create calibration models for individual types of meats based on their color. In the theoretical part, a brief history, principle and experimental arrangements of infrared spectroscopy were covered, along with the principles of creating calibration models based on selected statistical methods. Lastly, the chemical composition of types of meat was covered as well. As part of the practical part, the parameters were determined using reference methods and these values were used for the creation of calibration models. The reliability of this method in determining the given parameters was checked using the created calibration models. The coefficients of determination of the calibration models are above 0,95, which indicates their considerable reliability.

Keywords: color, chemical composition, infrared spectroscopy, calibration models, meat

Ráda bych poděkovala své vedoucí práce Ing. Janě Šenkýřové, Ph. D, a laborantce Ing. Lence Fojtíkové za jejich odborné vedení, vlídný přístup a poskytnutí konzultací, za čas, který mi věnovaly, a jejich trpělivost.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE	12
1.1 HISTORIE A VÝVOJ.....	12
1.2 PRINCIP INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE V BLÍZKÉ OBLASTI.....	13
1.2.1 Vibrační přechody	13
1.2.2 Rotační a elektronové přechody	15
1.2.3 Spektra NIR spektroskopie	15
2 INSTRUMENTACE IR SPEKTROSKOPIE.....	16
2.1 KONFIGURACE.....	16
2.2 MÓDY MĚŘENÍ.....	16
2.2.1 Transmisní techniky	16
2.2.2 Reflexní (odrazové) techniky	17
2.3 EXPERIMENTÁLNÍ USPOŘÁDÁNÍ.....	18
2.3.1 Disperzní spektrometry	18
2.3.2 Spektrometry s Fourierovou transformací	20
2.3.3 Spektrometry s filtrem.....	21
3 VYUŽITÍ IR SPEKTROMETRIE V POTRAVINÁŘSTVÍ.....	22
3.1 ANALÝZA POTRAVIN ROSTLINNÉHO PŮVODU	22
3.2 ANALÝZA MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	23
3.3 ANALÝZA MASA A MASNÝCH VÝROBKŮ	23
4 PRINCIP TVORBY KALIBRAČNÍCH MODELŮ	25
4.1 METODA ČÁSTEČNÝCH NEJMENŠÍCH ČTVERCŮ (PLS – <i>PARTIAL LEAST SQUARES</i>).....	25
4.2 REGRESE HLAVNÍCH KOMPONENT (PCR – <i>PRINCIPLE COMPONENT REGRESSION</i>)	25
5 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ MAS	27
5.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MASA	27
5.1.1 Voda	28
5.1.2 Bílkoviny	28
5.1.3 Lipidy	29
5.1.4 Vitamíny	29
5.1.5 Minerální látky	30
5.1.6 Extraktivní látky	30
5.2 BARVA MASA	30
5.2.1 Měření barvy masa	31
5.2.2 Barevné systémy	31

II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	34
6	CÍL PRÁCE	35
7	METODIKA	36
7.1	VZORKY A DALŠÍ MATERIÁLY	36
7.2	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	37
7.3	CHEMOMETRICKÁ STANOVENÍ	38
7.3.1	Stanovení obsahu bílkovin	38
7.3.2	Stanovení obsahu sušiny	39
7.3.3	Stanovení obsahu tuků	39
7.3.4	Stanovení pH.....	40
7.3.5	Stanovení barvy.....	40
7.4	MĚŘENÍ NIR SPEKTER.....	40
7.5	KALIBRAČNÍ MODELY A JEJICH TVORBA	41
7.6	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ	43
8	VÝSLEDKY.....	45
8.1	VÝSLEDKY CHEMOMETRICKÉHO STANOVENÍ	45
8.2	KALIBRAČNÍ MODELY PRO OBSAH BÍLKOVIN.....	48
8.2.1	Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 11 x 12,5 ms	48
8.2.2	Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 12 x 12,5 ms	50
8.2.3	Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 13 x 12,5 ms	50
8.2.4	Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 14 x 12,5 ms	52
8.2.5	Vyhodnocení kalibračních modelů pro obsah bílkovin	53
8.3	KALIBRAČNÍ MODELY PRO OBSAH SUŠINY.....	54
8.3.1	Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 11 x 12,5 ms.....	54
8.3.2	Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 12 x 12,5 ms.....	57
8.3.3	Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 13 x 12,5 ms.....	58
8.3.4	Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 14 x 12,5 ms.....	59
8.3.5	Vyhodnocení kalibračních modelů pro obsah sušiny.....	60
8.4	KALIBRAČNÍ MODELY PRO OBSAH TUKU	61
8.4.1	Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 11 x 12,5 ms.....	62
8.4.2	Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 12 x 12,5 ms.....	64
8.4.3	Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 13 x 12,5 ms.....	64
8.4.4	Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 14 x 12,5 ms.....	66
8.4.5	Vyhodnocení kalibračních modelů pro tuky	67
8.5	KALIBRAČNÍ MODELY PRO HODNOTU pH.....	68
8.5.1	Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 11 x 12,5 ms	68
8.5.2	Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 12 x 12,5 ms	71
8.5.3	Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 13 x 12,5 ms	72
8.5.4	Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 14 x 12,5 ms	72
8.5.5	Vyhodnocení kalibračních modelů pro pH	74
9	VYHODNOCENÍ A DISKUZE	76

ZÁVĚR	79
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	81
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	88
SEZNAM OBRÁZKŮ	90
SEZNAM TABULEK.....	92
SEZNAM PŘÍLOH.....	93

ÚVOD

Ačkoliv se objev infračerveného záření datuje již na začátek 19. století, nenacházelo praktické využití až do poloviny následujícího století, kdy došlo k razantnímu vývoji instrumentace infračervené spektroskopie a jejím následným aplikacím.

Díky svým mnohým výhodám jako je rychlost, nedestruktivnost nebo možnost analýzy vícero parametrů najednou nachází v dnešní době infračervená spektrometrie uplatnění při kvalitativních analýzách v širokém množství odvětví, například ve farmacii, forenzní chemii nebo v potravinářském průmyslu, kde se uplatňuje jak při kontrole kvality již během výroby, tak při analýze hotových produktů kontrolními orgány. Po sestavení kalibračních modelů lze navíc stanovit i množství analytu.

Doposud se většina prací zabývajících se NIR analýzou masa zaměřovala na stanovení přítomnosti nežádoucích látek a analýzou vzorků masa, které byly rozdělené podle druhové příslušnosti. Tato práce se naproti tomu věnovala možnosti vytvoření kvalitních kalibračních modelů nezávislých na druhové příslušnosti vzorků a kalibračních modelů pro vzorky, které byly rozděleny podle hodnoty jasu. Všechny vzorky analyzované v této práci byly zakoupeny v rámci tržní sítě. Pomocí kalibračních modelů byly porovnány hodnoty těchto parametrů získaných z naměřených spekter s hodnotami získanými chemickým referenčním stanovením. Tyto modely mohou sloužit jako odrazové můstky pro rozšíření aplikace analýzy těchto parametrů pomocí NIR spektroskopie.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE

Infračervená spektroskopie (IR) patří k technikám vibrační spektroskopie, která se využívá napříč obory a která je založena na interakci látky s elektromagnetickým zářením s vlnovou délkou $\lambda = 800 \text{ nm} - 1 \text{ mm}$ a vlnočtem $\tilde{\nu} = 12\,500 - 10 \text{ cm}^{-1}$. Spadá tak za viditelnou oblast a předchází oblasti mikrovlnné. [1]

Infračervená oblast elektromagnetického záření se dělí do tří částí, a to na blízkou infračervenou oblast (NIR, $\lambda = 800 - 2\,500 \text{ nm}$, $\tilde{\nu} = 12\,500 - 4\,000 \text{ cm}^{-1}$), střední infračervenou oblast (MIR, $\lambda = 2\,500 - 25\,000 \text{ nm}$, $\tilde{\nu} = 4\,000 - 40 \text{ cm}^{-1}$) a vzdálenou infračervenou oblast (FIR, $\lambda = 25\,000 - 1\,000\,000 \text{ nm}$, $\tilde{\nu} = 400 - 10 \text{ cm}^{-1}$). [2]

Využívá se pro kvalitativní a kvantitativní analýzu, přičemž je potřeba jen malé množství vzorku. Analýza je rychlá a nedestruktivní. [3]

1.1 Historie a vývoj

Objev okem neviditelného světla se přičítá anglickému astronomu Fredericku Williamu Herschelovi, který zkoumal rozklad slunečního světla a efekt jeho jednotlivých částí na teplotu jim vystavených látek. Nicméně i po dokončení experimentu pro všechny viditelné barvy pokračoval dál za viditelné červené světlo a zjistil, že se teplota látek stále mění. Toto zjištění vedlo k prvnímu popsání neviditelné části elektromagnetického světla – od roku 1800 známá jako infračervená oblast. [4]

Začátek NIR spektroskopie se datuje až do 19. století, kdy švédský fyzik Knut Johan Ångström změřil NIR spektra oxidu uhličitého, kyseliny chlorovodíkové, methanu a oxidu uhelnatého za použití optického hranolu z chloridu sodného. Ve stejném období se podobnému výzkumu věnovali také angličtí chemikové William Abney a Michael Festing, kteří změřili spektra několika různých molekul v rozsahu vlnové délky 700–1200 nm. Více systematický výzkum NIR spektrometrie začal ovšem až v 30. letech 20. století, kdy se zjistilo, že spektrální pásy vznikají hlavně díky vyšším harmonickým přechodům. Až v 50. letech se začalo nacházet praktické využití této metody. Karl Norris, americký inženýr, zkusil využít NIR spektroskopii na kvalitativní analýzu zemědělských produktů a navrhl statistické postupy pro tvorbu kalibračních modelů, čímž zasel základy pro aplikaci NIR v průmyslové praxi. Ovšem i ve vědní oblasti našla tato metoda velké využití. Od 60. let se využívala například na analýzu pitné vody v závislosti na jejích vodíkových vazbách nebo na zjišťování stupně oxidace v některých metabolitech. [5, 6]

NIR spektroskopie, jakožto rychlá, přesná, levná a nedestruktivní metoda nachází v dnešní době široké uplatnění, a to hlavně v agrikultuře při kvalitativní analýze semen, zeleniny, masa, vajec a mnoha dalších (viz kapitola 3). Dále se využívá například v medicíně, kde podává informace o saturaci kyslíku na hemoglobin ve vlasečnicích mozku. V 21. století inovace této metody spočívá hlavně v instrumentaci. [6, 7, 8]

1.2 Princip infračervené spektroskopie v blízké oblasti

Ačkoliv se v mnoha ohledech liší, jednotlivé druhy infračervené spektroskopie jsou založené na stejném fyzikálním základu. Využívá se molekulou emitovaného nebo absorbovaného světla, což vede k určení přítomnosti nebo koncentrace známé látky či k identifikaci látky neznámé. [9]

Po absorpci IR záření dochází ke změně rotačního (otáčení atomů kolem osy) nebo vibračního stavu (kmitání podél spojnice jader). K rotačním změnám dochází již při působení nízké energie (oblast FIR), v oblasti NIR a MIR se přidávají i přechody vibrační, k nimž dojde jen v případě, že molekule byla dodána energie odpovídající rozdílu mezi dvěma energetickými hladinami. Oba typy přechodů vznikají kvůli změně dipólového momentu molekuly, z čehož vyplývá, že lze takto analyzovat pouze molekuly s nenulovým dipólovým momentem. Druhá mocnina této změny pak udává intenzitu spektrálního pásu. [1, 9, 10]

1.2.1 Vibrační přechody

Reálné chování dvojjatomové molekuly lze lépe popsat pomocí anharmonického oscilátoru, ale její vibrační přechody lze nastínit i pomocí vztahu pro harmonický oscilátor. Hladina vibrační energie je dána vztahem [11]:

$$E_v = h \times v \times (n + 0,5) \text{ [J]} \quad (1.1)$$

kde:

h – Planckova konstanta = $6,626 \cdot 10^{31}$ [J·s],

v – frekvence vibrující molekuly [Hz],

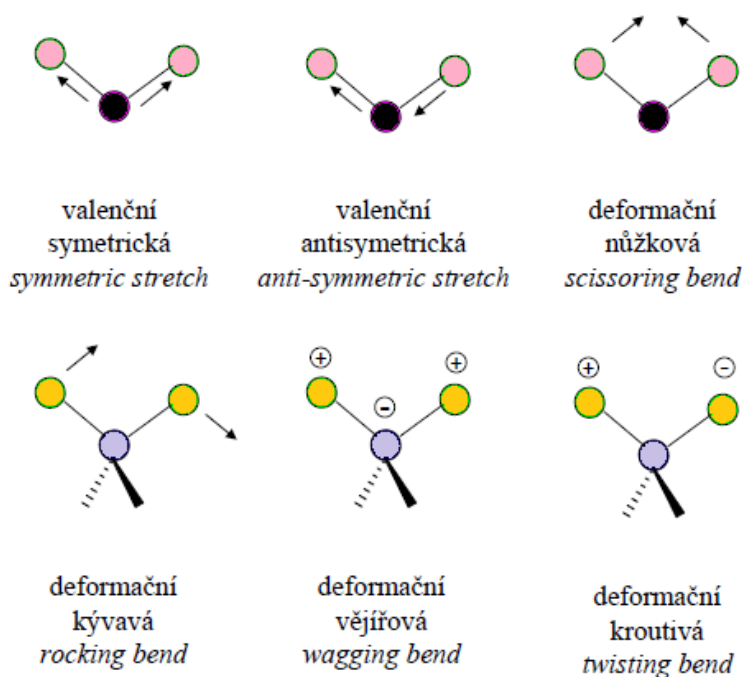
n – vibrační kvantové číslo (0, 1, 2, ..., n).

Podle dodané energie, respektive excitačního stavu, vibrační přechody dělíme na fundamentální, kde $\Delta n = 1$, a na vyšší harmonické, kde $\Delta n > 1$. U polyatomových molekul se dá také hovořit o kombinačních přechodech, kde dojde ke změně dvou vibračních

kvantových čísel. Chování molekuly s více atomy lze popsat pomocí teorie lokálních módů nebo pomocí součtu pohybů, a to v závislosti na vibračním stavu.

Teoreticky se předpokládá, že jednotlivé energetické hladiny jsou od sebe stejně vzdáleny. Ve skutečnosti ale s narůstajícím vibračním kvantovým číslem energetický rozdíl mezi hladinami klesá, což má za následek vznik více absorpčních pásů i u dvouatomové molekuly. Zatímco MIR spektroskopie je založena hlavně na fundamentálních vibračních přechodech, NIR spektroskopie využívá vyšších harmonických vibračních přechodů. [10, 12, 13]

Při změně vibračního stavu polyatomových molekul dochází buďto k deformačním a/nebo valenčním vibracím, což má za následek změnu vazebného úhlu, respektive délky vazby. Ke změně délky vazby je potřeba více energie než při deformačních vibracích, dochází k nim tedy až při vyšších frekvencích. Valenční vibrace lze rozdělit na symetrické a antisymetrické, deformační pak na rovinné (kyvadlové a nůžkové deformace) a mimorovinné (vějířovité a kroutivé deformace). Příklady některých druhů vibrací jsou znázorněny na obrázku 1. Počet vibrací pro N-atomovou molekulu lze vyjádřit pomocí vztahu $3N - 6$, pouze pro lineární molekuly zase vztahem $3N - 5$. [14, 15]



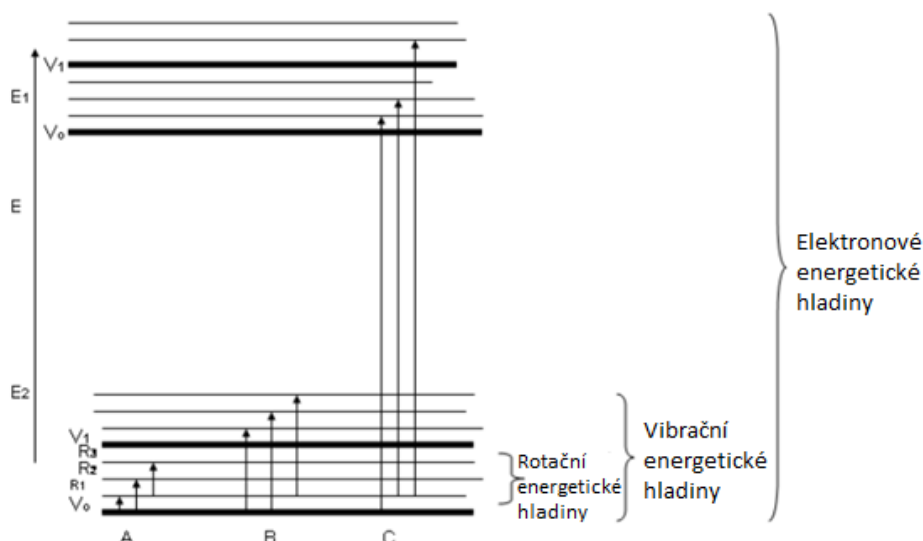
Obrázek 1: Příklady vibrací u tříatomové lomené molekuly [15]

1.2.2 Rotační a elektronové přechody

Rotační přechody lze popsat pomocí rotačního kvantového čísla, které nabývá kladných celých hodnot. U kapalných a pevných látek se rotace molekul vlivem vzájemných interakcí přelívají v celek, tím pádem o těchto přechodech mluvíme jen u plynů.

Při působení NIR a MIR záření dochází k rotačním i vibračním přechodům a tím pádem k tvorbě vibračně-rotačního spektra. Rotační energetické hladiny, které jsou mnohem blíže u sebe, tak štěpí jednotlivé vibrační hladiny na rotační podúrovně. Kromě vibračních a rotačních přechodů se u NIR spektroskopie objevuje i vliv elektronových přechodů, pozorovány jsou převážně p-p přechody konjugovaných systémů.

Porovnání velikosti rozdílů mezi jednotlivými typy energetických hladin je znázorněno na obrázku 2, kde A znázorňuje rotační přechody, B rotačně-vibrační přechody a C rotačně-vibračně-elektronové přechody. [1, 16, 17]



Obrázek 2: Energetické hladiny molekuly – upraveno z [13]

1.2.3 Spektra NIR spektroskopie

Blízká infračervená oblast zahrnuje dvě podoblasti – krátkovlnnou (750–1100 nm) a dlouhovlnnou (1100–2500 nm). Tato oblast se projevuje svrchními a kombinační přechody. Jak vibrační, tak i rotační a elektronové přechody pozorované v NIR oblasti vykazují slabé signály (dle relativní intenzity). Nižší intenzita těchto pásů je dána tím, že je méně pravděpodobné, že k těmto přechodům dojde, jelikož jsou podmíněny anharmonickou molekulovou vibrací. Díky tomuto vykazuje tato oblast vysokou transparentnost. Výsledkem je spektrum s širokými pásy, které se významně překrývají. [1]

2 INSTRUMENTACE IR SPEKTROSKOPIE

2.1 Konfigurace

Každý spektrometr obsahuje 3 základní části – zdroj záření, monochromátor/interferometr a detektor. Jako zdroj záření se v NIR spektroskopii nejčastěji používá wolframová žárovka, při MIR spektroskopii žhavená karbidová nebo keramická tyčinka, při FIR zase vysokotlaká rtuťová výbojka. Jako interferometr se nejčastěji používá Michelsonův interferometr, u disperzních spektrometrů zase disperzní mřížka. Mezi nejpoužívanější detektory lze zařadit pyroelektrické detektory DTGS, Ge bolometry nebo MCT detektor, který je sice citlivější, ale musí se chladit kapalným dusíkem. [17]

2.2 Módy měření

2.2.1 Transmisní techniky

Touto technikou lze měřit vzorky všech skupenství. Měří se v kyvetách, které jsou tloušťkou přizpůsobeny relativní síle absorpce a zhotovené z materiálu, který je propustný pro infračervené záření, nejčastěji z NaCl nebo KBr. Pro vzorky, které by mohly tyto kyvety poničit, byly vyvinuty kyvetové materiály ze ZnSe nebo KRS-5.

Pro kvalitativní analýzu se měří absorbance nebo transmitance, pro kvantitativní analýzu lze využít Lambertova-Beerova zákona spolu s výškou nebo plochou pásu podle rovnic:

$$T = I / I_0 = 10^{-\epsilon bc} \quad (2.1)$$

$$I_0 / I = 10^{\epsilon bc} \quad (2.2)$$

$$A_\lambda = \log_{10} (1/T) = -\log_{10} T = \log_{10} (I_0/I) = \epsilon_\lambda \cdot b \cdot c \quad (2.3)$$

kde:

T – transmitance,

I – energie, která prošla vzorkem [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1}$],

I_0 – energie dopadající na vzorek [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1}$],

ϵ – molární absorpční koeficient [$\text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$],

c – koncentrace vzorku [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$],

l – tloušťka vrstvy vzorku [cm],

A – absorbance.

Kvůli jejich malé hustotě molekul je nutné plynné vzorky měřit ve vrstvách o velikosti až 10 cm. Síla signálu může být zvýšena užitím násobného odrazu, a to pomocí soustavy zrcadel. [18, 19, 20]

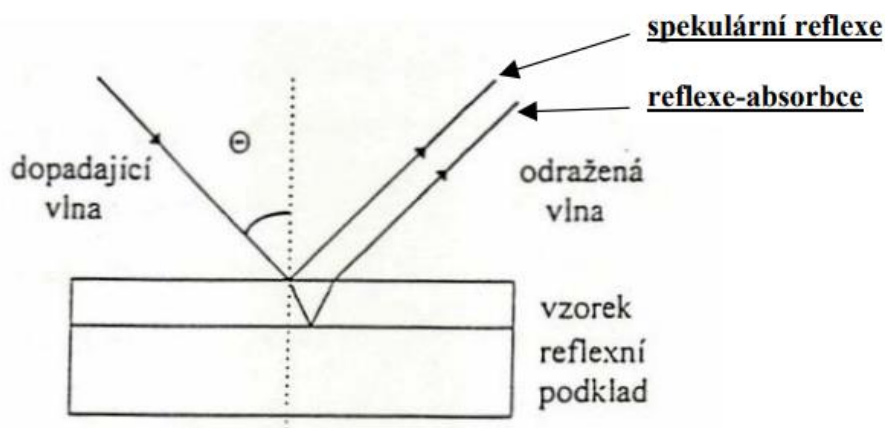
Pro analýzu pevných vzorků se používá technika lisování tablet s vhodným optickým materiálem (nejčastěji KBr). Nevýhodou je jeho potenciální interakce se vzorkem. Další možností je vytvoření suspenze vzorku se silně viskózní suspendující látkou, například nejvíce používaným NUJOLEM (značka parafinového oleje). Spektra pevných vzorků lze také měřit přímo, tento způsob lze však aplikovat jen na samonosné filmy polymerů. [18, 19, 20]

Většina vzorků se ale měří v kapalném stavu nebo v roztocích po rozpuštění ve vhodném rozpouštědle v kyvetách se dvěma okýnky z propustného materiálu. U roztoků je tloušťka kyvet obvykle kolem 0,1–1 mm, u kapalin pak 0,02–0,04 mm. Při kvalitativních měřeních viskózních a málo těkavých kapalin lze aplikovat i tzv. techniku kapilární vrstvy, při které je kapka studované kapaliny stlačena mezi dvě okénka. [18, 19, 20]

2.2.2 Reflexní (odrazové) techniky

Existuje několik druhů reflexních technik, jejichž výběr se řídí typem vzorku.

Podstatou **metody zrcadlového odrazu** je zrcadlový odraz na povrchu vzorku, kdy úhel dopadu se rovná úhlu odrazu. Množství odraženého světla závisí na úhlu dopadu, indexu lomu vzorku, kvalitě povrchu a absorpčních vlastnostech vzorku. Lze rozlišit dva způsoby měření. Buďto se měří reflektance jenom na povrchu vzorku, kdy dochází ke vzniku spekulárně-reflexního záznamu, nebo se umístí zrcadlo pod tenký film vzorku, takže záření prochází vzorkem dvakrát, což zvyšuje citlivost měření a vzniká tak reflektivně-absorpční záznam, který je identický s transmisním spektrem. Tato technika je znázorněna na obrázku 3. [17, 18, 19]



Obrázek 3: Schéma zrcadlového odrazu u vzorku na reflexním podkladu [19]

Metoda zeslabené totální reflexe (ATR) je rychlá metoda, která se využívá hlavně při analýze materiálu, ze kterého lze obtížně získat transparentní tenké vrstvy. Vzorek se v tenké vrstvě nanese na krystal, který musí mít vysoký index lomu oproti indexu lomu vzorku. Paprsek záření vstupuje do krystalu a odráží se na fázovém rozhraní, dochází k průniku do vrstvy vzorku, penetrační hloubka je závislá na vlnové délce. Samotný krystal je nejčastěji vyroben z diamantu, safíru, křemíku nebo ZnSe. [15]

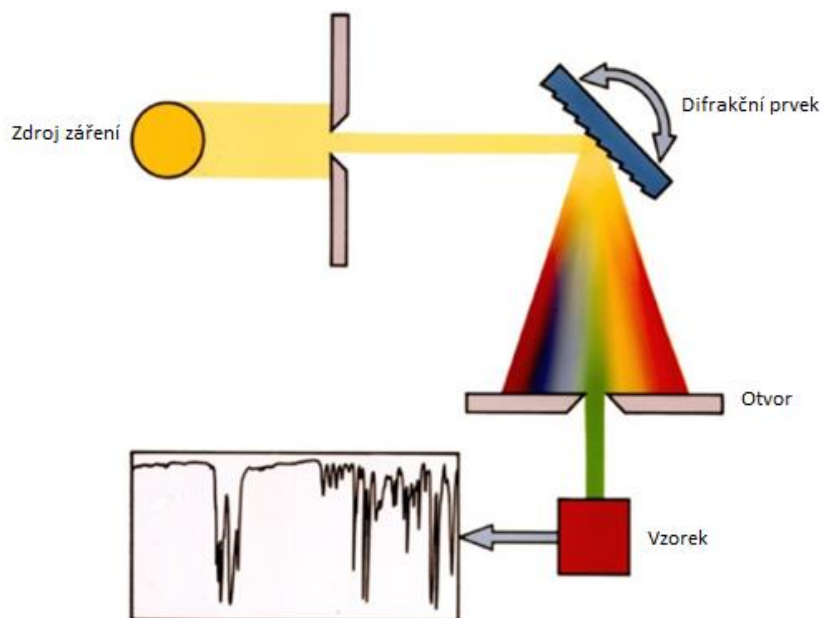
Při **metodě difúzní reflexe (DRIFTS)** je část záření odražena zrcadlově, aniž by došlo k absorpci (spekulární reflexe), a část záření vniká do vzorku a poté z něj opět vystupuje (difúzní reflexe). Používají se takové nástavce, které difúzní složku optimalizují a reflexní potlačují. Tato technika používá především pro práškové vzorky, protože rozmělněním vzorku se zvyšuje podíl difúzní složky, a to kvůli prodloužení dráhy paprsku uvnitř vzorku. [17, 18, 19, 21]

2.3 Experimentální uspořádání

2.3.1 Disperzní spektrometry

Princip disperzní infračervené spektroskopie spočívá v interakci infračerveného světla s disperzním prvkem, který světlo rozdělí na jednotlivé vlnové délky. Přes otvor pak přechází pouze jedna vlnová délka infračerveného světla, která interaguje se vzorkem. Následně se změní úhel difrakčního prvku, což má za následek, že se jiná vlnová délka světla

dostane až ke vzorku. Tento postup se opakuje, dokud není změřena absorbance všech vlnových délek infračerveného světla, viz obrázek 4. [22, 23]



Obrázek 4: Znárodnění fungování disperzního spektrometru, upraveno z [23]

Uspořádání může být jednopaprskové nebo častěji dvoupaprskové. Jako zdroj záření se používají inertní pevné látky, jako například Nerstova tyčinka nebo Globar (z karbidu křemíku), která je elektricky žhavana na 1000–1800 °C pro vyzáření spojitého infračerveného světla. Při dvoupaprskovém uspořádání je tento proud světla dělen na dvě části, z nichž jedna prochází vzorkem a druhá referenčním materiálem. Kvyety jsou konstruovány z materiálů, které nepohlcují infračervené světlo, tzn. KCl, KBr nebo NaCl. Disperzním prvkem je monochromátor, který dělí světlo na jednotlivé vlnové délky. Signál je zvýšen pomocí amplifikátoru a následně dopadá na detektor. Detekce je prováděna buďto pomocí termoelektrických detektorů, které využívá termického efektu infračerveného záření a převádí ho na elektrický signál, nebo pomocí polovodičových detektorů, které fungují na základě interakce fotonů s polovodivým materiálem. [24, 25]

Výhodou této metody je, že může poskytovat informace o konformaci, intermolekulárních interakcích a dynamických procesech. Mezi nevýhody patří pomalejší sběr dat, jelikož je každá vlnová délka světla měřena postupně, a dále pak nízký poměr signálu k šumu a menší rozlišení a citlivost. Disperzní spektrometrie tím pádem v dnešní době ustupuje spektrometrii s Fourierovou transformací. Ovšem v NIR spektroskopii se i nadále disperzní spektroskopie používá ke zjišťování absorpčních pásů molekul. V dnešní době tato

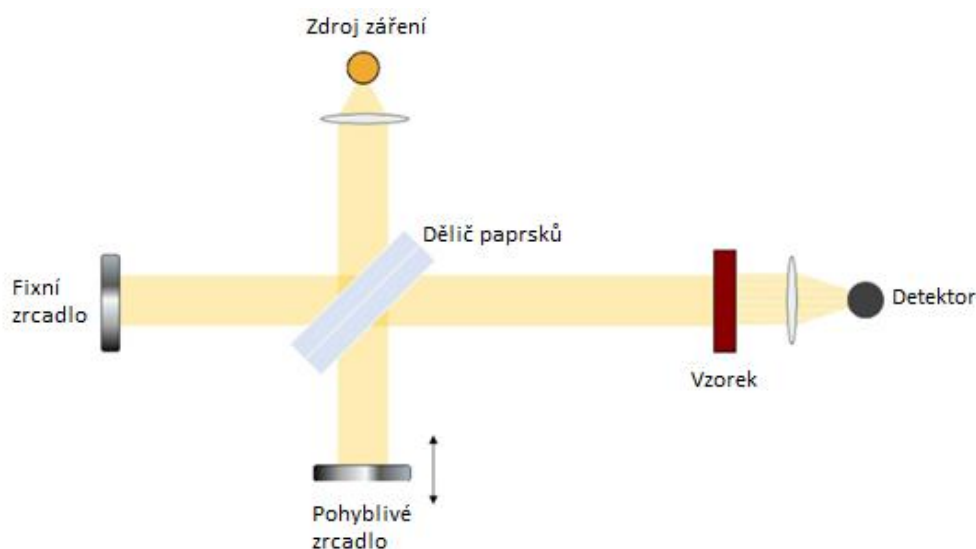
metoda nachází využití hlavně ve výzkumu polymerních materiálů, biomolekul, chemických reakcí a dalších oblastech, kde je důležité porozumět struktuře a chování látek na molekulární úrovni. [19, 23]

2.3.2 Spektrometry s Fourierovou transformací

U spektrometrů s Fourierovou transformací je monochromátor nahrazen Michelsonovým interferometrem, který získaný signál převádí na infračervené spektrum.

Paprsek ze zdroje záření se rozdělí na dva proudy, kdy jeden paprsek směřuje k fixnímu zrcadlu, druhý k pohyblivému zrcadlu, které se konstantní rychlostí pohybuje k a od děliče paprsků. Kvůli různé vzdálenosti, které paprsky světla urazí, dochází při rekombinaci paprsků ke konstruktivní nebo destruktivní interferenci v závislosti na vlnové délce. Interferované světlo je poté mířeno na vzorek, kde dojde k absorpci či transmitanci jeho části a výsledek je zaznamenán detektorem pro všechny vlnové délky najednou. Výsledný interferogram je pak pomocí matematické Fourierovy transformace převeden na IR spektrum. [23, 26]

Fungování FT-IR je znázorněno na obrázku 5.



Obrázek 5: Znázornění FT-NIR spektrometru, upraveno z [23]

Jako zdroj infračerveného záření se stejně jako v disperzním spektrometru používá křemík (Globar), popřípadě wolframová žárovka. Mezi nejčastěji užívané detektory lze zařadit pyroelektrické TGS detektory, které působí při normální teplotě, nebo fotokonduktivní MCT detektory, které pracují při teplotě kapalného dusíku (-196 °C), což má za následek jejich vyšší pracovní cenu. [2, 24]

Spektrometry s Fourierovou transformací mají oproti disperzním spektrometrům řadu výhod, a sice rychlost měření, jelikož je záznam všech vlnových délek zachytáván detektorem současně s vedlejším pozitivním následkem menšího působení termálního efektu záření na vzorek. Dále pak větší citlivost, větší rozlišovací schopnost a méně pohyblivých částí, jejichž přesnost je navíc řízena laserem, což má za následek menší pravděpodobnost mechanické poruchy. [19, 27]

2.3.3 Spektrometry s filtrem

Tyto spektrometry používají filtry k selektivnímu propouštění nebo blokování specifických frekvencí infračerveného záření. Filtr je umístěn mezi zdrojem a detektorem a je vyroben z materiálů, které selektivně propouštějí dané frekvence a blokují průchod jiným. Interferenční filtry v dnešní době ustupují akusto-optickým filtrům, nejvyužívanější z nich je dvojlomný krystal oxidu tellurického. Na jednom konci krystalu je připevněn piezoelektrický materiál, který má schopnost při deformaci krystalu generovat elektrické napětí a při excitaci signálem emituje akustickou vlnu, která interaguje s IR zářením a tím vyvolá difrakci monochromatického paprsku. [4]

Infračervené spektrometry s filtrem mohou mít omezenější schopnost rozlišení a citlivosti ve srovnání s FTIR spektrometry. Také mohou vyžadovat kalibraci a korekce pro kompenzaci některých nedostatků spojených s použitím filtrů. Jejich rychlost a relativně nízká cena znamená, že jsou převážně vhodné pro analýzy, kdy není vyžadováno vysoké rozlišení nebo komplexní analýza. [4]

V posledních letech byly vyvinuty spektrometry s mikro-elektricko-mechanickým systémem (MEMS). Čipy MEMS, vybavené pevnou difrakční mřížkou, jsou rychle programovatelné a užívají vysoce kontrastního pixelovaného optického reflektoru, který funguje jako laditelný spektrální filtr. Toto v kombinaci s jediným detektorem může snížit náklady na vybavení a zároveň eliminovat šum detektoru. Také jsou zvláště užitečné v aplikacích in situ díky redukci pohyblivých částí a robustnosti konstrukce. Podobné konstrukce by mohly být časem aplikovatelné do chytrých telefonů. [28]

3 VYUŽITÍ IR SPEKTROMETRIE V POTRAVINÁŘSTVÍ

V současné době má infračervená spektroskopie, a to zejména NIR spektroskopie, velkou škálu využití v potravinářském průmyslu. Používá se na hodnocení hlavních a vedlejších složek potravin, hodnocení kvality a jakosti výrobku, sledování falšování potravin, sledování mikrobiologických procesů a senzorických parametrů. [7]

NIR spektroskopie se uplatňuje v potravinářství a zemědělství již od 60. let minulého století, a to díky tomu, že naprostá většina potravin se skládá z vody, tuků, sacharidů a bílkovin, které je schopna NIR spektrometrie stanovit ve valné většině případů. Lze pomocí ní ovšem stanovit i fyzikálně-chemické parametry jako například pH, hustotu nebo titrační kyselost. [7]

NIR spektroskopie se využívá jak na kvantitativní analýzu (podle Lambert-Beerova zákona, viz kap. 2.2.1) s podložením referenční hodnotou, tak na analýzu kvalitativní, která se užívá převážně při zjišťování staří či autenticity potraviny a která vychází z porovnávání spekter vzorku s referenční potravinou. [18, 29]

V následujících podkapitolách 3.1 až 3.3 bude přiblížen vývoj možností využití NIR spektroskopie v potravinářství za posledních 10 let.

3.1 Analýza potravin rostlinného původu

První široká aplikace NIR spektroskopie v potravinářství se týkala analýzy obilí a semen, a to hlavně z hlediska obsahu vody, jejichž absorpční pásy se ve spektru objevují okolo vlnové délky 1450 nm [30, 31]. V dnešní době se NIR spektroskopie hojně užívá u hodnocení ovoce a zeleniny i u obilí, mouky a pekárenských výrobků [32].

NIR spektroskopie se v posledních letech uplatňuje například při hodnocení údržnosti a posklizňových úprav u některých druhů ovoce či zeleniny [32], při určování kvality kakaových bobů, u kterých hrozí riziko falšování z hlediska míchání fermentovaných a nefermentovaných kusů [33], při determinování zralosti u ne-klimakterických rostlin, u kterých je sklizňová zralost stejná jako zralost spotřebitelská [34] nebo při analýze koncentrace rozpustných pevných látek, koncentrace sušiny a pevnosti dužiny jakožto důležitých parametrů kvality u peckovic [35].

U zeleniny našla NIR spektroskopie využití kromě celkového hodnocení kvality a bezpečnosti [36] například u chemické analýzy složení semen mrkve, ředkvičky a dalších,

a s tím spojenou úspěšností jejich germinace [37] nebo u monitoringu textury listů špenátu jako ukazatele jeho zralosti [38].

NIR spektroskopie byla také využita k hodnocení kvality mouk, a to například na základě obsahu mastných kyselin v průběhu skladování u pšeničné mouky [39] nebo při analýze mouky z quinoi a jejích případných příměsí přidaných za účelem falšování produktu [40]. I u analýzy pekárenských produktů se NIR spektroskopie uplatnila, a to například při hodnocení optimální fermentace u těst na výrobu chleba [41].

3.2 Analýza mléčných výrobků

NIR spektroskopie se používá pro analýzu jak mléka, tak i mléčných výrobků.

Tato metoda byla využita v prvovýrobě pro hodnocení kvality mléka přímo při dojení, při kterém byl určen nejenom obsah základních složek mléka, ale i obsah somatických buněk [42]. NIR spektroskopie byla v kombinaci s kultivací také využita pro analýzu celkového množství bakterií v syrovém mléce [43]. Hojně využití našla NIR spektroskopie v odhalování falšování organických druhů mléka [44] nebo nastavování dražších druhů mlék druhem levnějším, například u kozího [45] nebo velbloudího mléka [46].

Dlouhodobě se NIR spektroskopie využívá na analýzu složení sýrů a dalších mléčných produktů, nejčastěji pak na analýzu množství tuku a mastných kyselin [47, 48] a bílkovin [49, 50]. NIR spektroskopii lze ovšem využít i na analýzu specifických parametrů, například pro predikci zralosti vybraných druhů sýrů na základě poměru dusíku rozpustného ve vodě k celkovému dusíku [51] nebo pro hodnocení antioxidační kapacity sýrů [52].

V posledních letech se s velkým zaměřením zkoumalo využití přenosného NIR spektrometru pro analýzu složení, kvality a bezpečnosti produktu během výroby s důrazem na porovnání přenosného spektrometru a klasického stolního [53, 54].

3.3 Analýza masa a masných výrobků

Stejně jako ostatní potraviny, i maso a masné výrobky jsou ideální vzorky na analýzu hlavních komponent NIR spektroskopií. Ze studií plyne, že NIR spektroskopie je vhodná pro hodnocení obsahu vody v maso a masných výrobcích, o něco méně vhodná pak pro hodnocení obsahu bílkovin a tuku. [55, 56]

Kartakoullis et al. (2019) se zabýval možností užití NIR spektrometrů v chytrých telefonech pro analýzu kompozice solených mletých mas při různých teplotách. Práce ukazuje

na potenciální použití této technologie v praxi, jelikož výsledky poskytnuté NIR spektrometrem v chytrém telefonu byly srovnatelné s výsledky z klasického spektrometru. [57]

Použití NIR spektroskopie na identifikaci potenciálního PSE a DFD vad masa na základě analýzy pH a barvy bylo studováno v několika pracích. Xiao et al. (2015) uvádí, že tato metoda je slibná pro hodnocení vad masa, jelikož se touto metodou podařilo identifikovat PSE vady u mas 3 hodiny *post mortem*, ale kvůli své nízké přesnosti ještě není vhodná pro praktické využití [58]. Ke stejnému závěru došel i Furtado et al. (2019), který metodu vyhodnotil jako vhodnou pro hrubou analýzu barvy a pH [59]. Jiang et al. (2017) ve své práci zase došel k závěru, že úspěšnost této metody pro identifikaci vad masa je závislá na velkém množství proměnných, potenciální využití metody v praxi ale nevylučuje, nejdříve je ovšem nezbytné vytvoření přesnějších kalibračních a validačních modelů [60].

V posledních letech se také v mnoha studiích zkoumalo užití NIR spektroskopie nejen *in vitro*, ale i *in vivo*. Tyto studie jsou shrnuty v Chapman et al. (2020), kde autor vidí potenciál této metody jakožto rychlý a bezpečný způsob hodnocení obsahu bílkovin a tuku ještě v živém zvířeti. Ale stejně tak jako u analýzy vad masa, i zde autor kvituje důležitost vytvoření přesnějších kvantitativních modelů. [61]

Stejně jako u jiných potravinářských produktů, i u masných výrobků byla studována účinnost NIR spektroskopie při odhalování nekalých praktik. Schmutzler et al. (2016) popsal ve svém článku efektivitu NIR spektroskopie při odhalování falšování telecích masných produktů přidávkem vepřového tuku i u pouze deseti procentního přídatku [62]. Ke stejnému závěru došel i Leng et al. (2020), který se zase zabýval falšováním hovězího masa masem vepřovým nebo kachním [63]. I Silva et al. (2020) se zabýval falšováním různých druhů mas, ve své práci se ovšem zaměřil na využití přenosného NIR spektrometru. I v tomto případě se ukázala metoda vhodná pro takové hodnocení, ovšem s menší přesností než u dvou předchozích prací [64].

Podobně jako u mléčných výrobků se v posledních letech s velkým zaměřením zkoumalo využití přenosného NIR spektrometru pro analýzu složení masa. Příkladem je Patel et al. (2020), který porovnal účinnost přenosného Visible-NIRS, přenosného NIRS a ručního Micro-NIRS spektrometru pro analýzu 20 minerálů v hovězím mase. Všechny tyto přístroje byly zhodnoceny jako vhodné a podobně přesné pro většinu daných minerálů. [65]

4 PRINCIP TVORBY KALIBRAČNÍCH MODELŮ

V NIR spektru se vibrační pásy často překrývají a jsou ovlivňováni intermolekulárními interakcemi, proto je pro kvantitativní analýzu potřeba vytvořit kalibrační modely (v textu dále jen KM) s využitím chemometrických metod. Kvalita kalibračního modelu je závislá na počtu vzorků a na variabilitě všech proměnných. Pro analýzu spektrálních dat se nejčastěji používá metoda částečných nejmenších čtverců (PLS) a regrese hlavních komponent (PCR). [7, 66]

4.1 Metoda částečných nejmenších čtverců (PLS – *Partial Least Squares*)

Algoritmus PLS byl vyvinut v 70. letech 20. století a kvůli možnosti komprimovat velmi obsáhlé matice dat se v dnešní době hojně využívá. Při konstrukci modelu cílí pouze na variabilní složku, která souvisí s koncentrací dané látky. Tím dochází k eliminaci proměnných, které nesouvisí s koncentrací látky a mohly by negativně ovlivnit tvorbu kalibračního modelu. V průběhu kalibrace jsou všechny důležité koncentrační a spektrální informace vzorků kondenzovány do souborů nových proměnných, tzv. hlavních komponent. Pak dochází k jejich seřazení podle množství reprezentované variability, čímž se zajišťuje korelace mezi spektrálními informacemi a koncentrací analytu. Při tvorbě kalibračního modelu PLS je také důležitý výběr správného počtu kalibračních a validačních faktorů, aby nedošlo k amplifikaci vlivu šumu nebo snížení relevance dat, a tím snížení spolehlivosti KM. Pro tvorbu PLS modelu musí všechny standardy obsahovat všechny analyzované parametry, jejichž koncentrace se musí ve standardech nezávisle měnit a počet standardů musí být alespoň trojnásobkem hledaných parametrů. Výhodou této metody je možnost kalibrace spektrálních pásů, které se výrazně překrývají, a potlačení interference neznámých komponent. [66, 67, 68]

4.2 Regrese hlavních komponent (PCR – *Principle Component Regression*)

Narozdíl od PLS, tato metoda probíhá ve dvou krocích. Nejprve dojde k výpočtu tzv. hlavních komponent (PC) a poté k transformaci do nového systému proměnných, čímž dochází k redukci souboru dat pro jejich lepší interpretaci při minimální ztrátě informací, kdy první hlavní komponenta (PC1) popisuje největší variabilitu systému. V následujícím kroku je vytvořen kalibrační model jako závislost hlavních komponent

na koncentraci stanovených komponent. Předpokladem pro úspěšné vytvoření modelu je zvážení poměru počtu komponent, které musí model rozlišit, a počet standardů pro definici každé komponenty. Mezi výhody této metody patří možnost kalibrace i pro spektrální pásy, které se silně překrývají. Dále je tato metoda velmi přesná, protože pro kalibraci se využijí všechny body v dané oblasti. Mezi nevýhody patří potřeba většího množství standardů a možnost vlivu šumu. [68, 69]

5 CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ MAS

Podle Vyhlášky č. 69/2016 Sb. o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich se masem rozumí všechny části těl živočichů, včetně ryb a bezobratlých, v čerstvém nebo upraveném stavu, které se hodí k lidské výživě, včetně tuků, kůže, kostí, krve, drobů a masných výrobků. Pro spotřebitele se slovem maso rozumí jen kosterní svalovina včetně cév, tuku a vaziva. [70]

5.1 Chemické složení masa

Chemické složení masa se zásadně liší na základě druhu zvířete, jeho plemene, stáří a životních podmínek. Důležité také je, zda se posuzuje jatečně upravené tělo jako celek, maso včetně mezisvalového tuku a dalších tkání, nebo pouze svalovina. Je potřeba brát v potaz i to, zda posuzovaný kus obsahuje kosti, které většinou tvoří 10–20 %. Maso (jakožto kosterní svalovina) obsahuje přibližně 70–75 % vody, 20 % bílkovin, 5 % tuku a zbytek tvoří nerozpustné nebílkovinné části (minerály, sacharidy, vitamíny atd.). [71]

Tabulka 1: Složení masa hospodářských zvířat a ryb (%) (převzato a upraveno z [72, 73, 74])

Druh masa	Voda	Bílkoviny	Tuky	Minerální látky
Vepřové				
Kýta	53,0	15,2	31,0	0,8
Pečeně	58,0	16,4	25,0	0,9
Plec	49,0	13,5	37,0	0,7
Hovězí				
Plec	70,0	21,5	7,0	1,0
Kýta	73,4	20,3	5,0	1,1
Svíčková	72,0	19,4	7,4	1,1
Kuřecí				
Tučné	67,5	19,9	11,5	1,2
Libové	72,1	22,8	4,0	1,1
Krůtí				
Tučné	60,0	19,9	19,1	1,0
Libové	66,8	24,4	8,0	1,2
Ryby				
Losos obecný	67,2	20,2	6 až 23	0,7
Sumeček africký	69,0	18,8	9,3	1,2

5.1.1 Voda

Podíl vody ve svalovině fluktuuje mezi 46 a 78 % v závislosti na faktorech uvedených výše. Samotná svalovina pak obsahuje 70–75 % vody. Voda má velký vliv na senzorycké vlastnosti produktu a tvoří hlavní reakční prostředí. Vyskytuje se v mase ve třech formách: strukturální voda, která je vázaná uvnitř globulárních proteinů pomocí vodíkových iontů, hydratační voda, která tvoří molekulární vrstvu na povrchu, a volná voda, kterou v mase drží kapilární síly. Během *rigor mortis* nebo při tepelném opracování dochází ke ztrátám vody. [71, 75]

5.1.2 Bílkoviny

Bílkoviny obsažené v mase se dají považovat za plnohodnotné, jelikož obsahují všechny esenciální mastné kyseliny, což masu dodává velmi velký nutriční význam. Bílkoviny se v mase dělí na tři skupiny: myofibrilární, sarkoplazmatické a stromatické.

Mezi **myofibrilární** proteiny se řadí bílkoviny tvořící aktin a myosin. Ty zodpovídají za svalovou kontrakci a určují vlastnosti masa během postmortálních změn. Dále sem patří regulační filamenta, například komplex tropomyosin – troponin, a také podpůrné strukturální bílkoviny, například nebulin. Celkem tyto proteiny tvoří 50–53 % bílkovin v mase, jsou nerozpustné ve vodě, ale rozpustné v roztocích solí. [71, 76, 77]

Sarkoplazmatické bílkoviny obsahují více než 100 různých proteinů. Patří sem například hemoglobin, myoglobin, kreatin kináza a většina proteinů glykolytické dráhy. Většinou se jedná o globulární proteiny s nízkou molekulovou hmotností. Tvoří 30–34 % bílkovin v mase, jsou rozpustné ve vodě i ve slabých solných roztocích. [71, 76, 77]

Stromatické bílkoviny formují intramuskulární pojivovou tkáň, která je tvořena z elastických a kolagenních vláken. Kolagen záhřevem ve vodě bobtná a mění se v rozpustnou želatinu, jejíž vznik je podstatou měknutí masa během tepelného opracování. Celkem tvoří 10–15 % bílkovin masa. Jsou nerozpustné ve vodě i v roztocích solí. [71, 76, 77]

Bílkoviny ryb se dají považovat za dobře stravitelné, protože obsahují nepatrný podíl pojivové tkáně (<2 %). Obsahují také vysoké množství esenciálních aminokyselin – valin, leucin, threonin, lysin a tryptofan. Dále obsahují velké množství neesenciálních bílkovin taurinu, která hraje významnou roli při stabilizaci buněčných membrán a vylučování cholesterolu. [78]

Jak vepřové, tak hovězí maso jsou zdrojem tzv. plnohodnotných bílkovin, obsahují tedy všechny esenciální mastné bílkoviny, které jsou navíc i dobře biologicky dostupné. Také jsou zdrojem karnitinu, derivátu lysinu a methioninu, který hraje roli při transportu mastných kyselin přes membránu mitochondrií. [72, 79]

I bílkoviny drůbežního masa obsahují všechny esenciální aminokyseliny a jsou lehce stravitelné. Maso obsahuje vysoký podíl lysinu, limitující aminokyselinou je pak valin. Podobných hodnot obsahu dosahuje i izoleucin. [80]

5.1.3 Lipidy

Tuk se v mase vyskytuje ve velkém rozpětí 1–15 % v závislosti nejenom na druhu a plemeni zvířete, ale i na bourárenské části masa. Tuk v mase se dělí na ledvinový, podkožní, intermuskulární a intramuskulární. Maso obsahuje většinou 60–70 % podkožního tuku, 20–30 % intermuskulárního a 5 % ledvinového. Intramuskulární tuk (tzv. mramorování masa) je typický u zvířat s nedostatkem pohybu. Obsah tuku koreluje se šťavnatostí a křehkostí masa. [81]

Maso je zdrojem esenciálních polynenasycených mastných kyselin, jako je kyselina linolová a alfa-linolenová, v menším množství i kyselina arachidonová, EPA a DHA. Mononenasycené mastné kyseliny jsou zastoupeny hlavně kyselinou olejovou. [82]

Nejvíce zastoupené mastné kyseliny ve vepřovém a hovězím mase jsou kyselina olejová, stearová, linolová a palmitová. Drůbeží maso má oproti vepřovému výhodnější poměr nasycených a nenasycených mastných kyselin. Zdrojem n-3 mastných kyselin jsou hlavně ryby, kde je hojně zastoupená například i kyselina eikosapentaenová. [82, 83]

5.1.4 Vitamíny

Maso je zdrojem hlavně hydrofilního vitamínu B. Maso pokryje až ¼ celkového příjmu thiaminu a riboflavinu, a kolem 40 % niacinu a téměř 70 % vitamínu B₁₂. Tepelnou úpravou může ztratit až 40 % vitamínu B₁, B₆ a B₁₂. Riboflavin a niacin jsou více tepelně stabilní, proto u nich nedochází k takovým ztrátám. [83, 84]

Z lipofilních vitamínů se v JUT vyskytuje převážně tokoferol, retinol a kalciferol. Vyskytují se ale zejména v játrech a tukových tkáních. [76, 83]

5.1.5 Minerální látky

Maso je důležitým zdrojem železa, které se zde vyskytuje ve snadno vstřebatelné formě (obsažené v myoglobinu a hemoglobinu). Tepelná úprava ovšem jeho biologickou dostupnost snižuje kvůli konverzi hemového železa na nehemové. Ve velkém množství lze také v maso detekovat běžné minerály, jako draslík, sodík, hořčík a fosfor. Syrové maso obsahuje málo sodíku a nejvíce fosforu. Kulinářským zpracováním a s tím spojeným přidavkem soli se ovšem poměr obsahu minerálů mění ve prospěch sodíku. [77, 85]

Vysoký obsah sodíku má krutí maso, jehož obsah se pohybuje okolo 1400 mg/kg, oproti tomu vepřové a hovězí ho obsahují pouze okolo 500 mg/kg, obdobně jsou na tom i sladkovodní ryby. Ryby jsou také významným zdrojem draslíku, stejně tak jako jódu a fosforu. [77]

5.1.6 Extraktivní látky

Extraktivní látky se účastní postmortálních procesů, mají významnou metabolickou funkci a utváří organoleptické vlastnosti. Jsou extrahovatelné vodou při teplotě nad 80 °C. Patří zde sacharidy, fosfáty a dusíkaté látky. [77]

Ze sacharidů je v maso zastoupen glykogen a produkty jeho odbourávání. Mezi organické fosfáty patří nukleové kyseliny a jejich produkty, kdy nejvýznamnější je adenosintrifosfát (ATP), který hraje velkou roli při postmortálních změnách masa, kde jeho produkty odbourávání významně ovlivňují chuť. Mezi dusíkaté extraktivní látky patří aminokyseliny, a to především taurin, glutamin a glycin. Tyto látky představují nebezpečí při rozkladu masa nebo technologických operacích, kdy může docházet ke vzniku biogenních aminů. [77, 86]

5.2 Barva masa

Hlavní vliv na barvu masa má myoglobin, což je barvivo vyskytující se ve svalech, kde funguje jako zásobárna kyslíku. Myoglobin je komplexní metaloprotein, který je složen z jednoho bílkovinného globinu a jedné skupiny hem, která obsahuje atom železa ve dvojmocné nebo trojmocné formě. Menší měrou se na barvě masa podílí i krevní barvivo hemoglobin. [87]

Koncentrace myoglobinu závisí na druhu zvířete. Hovězí maso má vyšší obsah myoglobinu než maso vepřové a daleko vyšší než drůbeží maso, proto se jeho barva jeví jako daleko výraznější. U ryb se obsah myoglobinu a tím i barva velmi liší druh od druhu, kdy najdeme maso téměř bílé, například u tresky obecné, ale i tmavě rudé, například u sumečka afrického.

Koncentrace myoglobinu se také zvyšuje se stářím zvířete, barva masa starších kusů je pak výraznější. Důležitým faktorem je i druh svalového vlákna. Červená vlákna obsahují více myoglobinu než vlákna bílá. Červená vlákna kontrahují pomaleji a jsou více zásobena krevními kapilárami, jejich kontrakce je tedy velmi silná. Oproti tomu vlákna bílá jsou chudá na myoglobin a obsahují více myofibril, proto jsou schopná rychlé intenzivní kontrakce, ale kvůli malým energetickým rezervám se rychle unaví. Typ ustájení také působí na vybarvení svalů, kdy lze pozorovat červenější zabarvení masa u zvířat, která měla přístup k volnému výběhu. [77, 87, 88]

5.2.1 Měření barvy masa

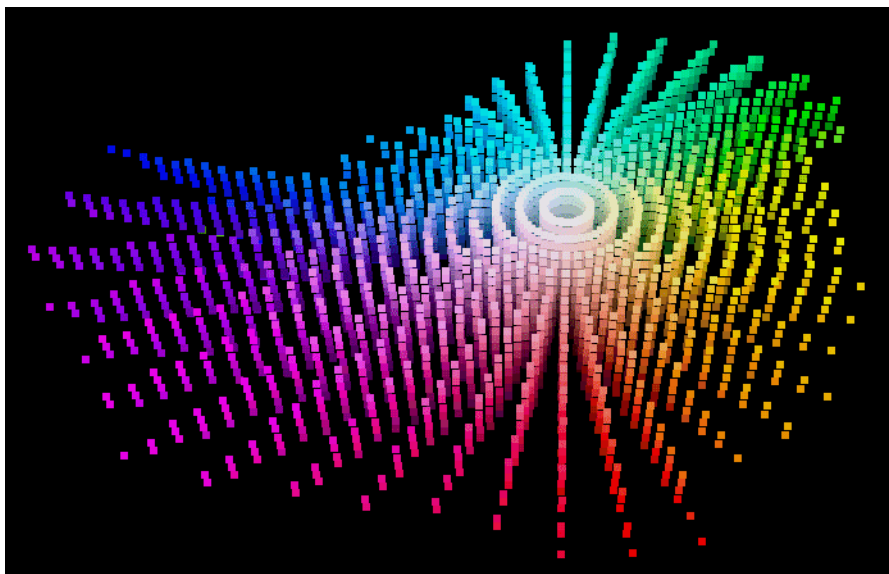
Vnímání barvy je subjektivní vjem, který záleží nejenom na samotném vzorku, ale také na světelném zdroji včetně jeho úhlu dopadu, na barvách v okolí vzorku a na úhlu pohledu. Pro vizuální posouzení se tedy využívá skupina pozorovatelů, kteří za stejných a přesně definovaných podmínek přiřazují hodnoty dle stupnice. [89]

Za více objektivní metodu se považuje chemická analýza obsahu hemoglobinu pomocí gelové chromatografie. Ale v praxi se nejčastěji používá kolorimetrie nebo spektroskopie (VIS, NIR), při které se měří absorbance světla vzorkem, a to hlavně kvůli jejich přesnosti a rychlosti. [90]

Pro objektivní zapsání barvy byly vytvořeny trojrozměrné barevné systémy, které objektivně popisují barvu nejčastěji na základě parametrů, jako je například jas, odstín a sytost. [91]

5.2.2 Barevné systémy

Munsellův atlas barev je vytvořen tak, že každá barva má své vlastní alfanumerické označení. Toto označení vychází z popsání každé barvy třemi parametry: odstínem (H – *hue*), jasem (V – *value*) a sytostí (C – *chroma*). Odstíny jsou uspořádány v kruhu podle pěti základních barev (červená, žlutá, zelená, modrá a fialová) a pěti směsných barev. Jas se pohybuje od hodnoty 0 (černá) až po 10 (bílá). Sytost prakticky dosahuje u každého odstínu jiných maximálních hodnot, a proto vizualizace tohoto systému v prostoru nemá pravidelný tvar, viz obrázek 6. [92, 93]



Obrázek 6: Vizualizace Munsellova systému v prostoru, převzato z [94]

Výhodou Munsellova systému je jeho jednoduché použití a alfanumerické značení, které umožňuje rychlou představu o odstínu příslušné barvy. Nevýhodou je skutečnost, že zanedbává fyziologii a kognitivní aspekty vnímání barev člověkem. [93]

Barevný model **RGB** je založený na aditivním míchání barev (z názvu červená, zelená a modrá) bez potřeby vnějšího zdroje světla. Každá barva je udávána mohutností v procentech nebo bitech. S větší mohutností roste intenzita dané barvy. Zároveň čím větší je součet všech mohutností, tím světlejší je výsledná barva, černá znamená absenci barvy. Barva v systému RGB může být vyjádřena i číselně, kdy každá ze tří složek je popsána pomocí dvou čísel nebo písmen, takzvané HEX číslo (formát rrggbb). Tento systém se hojně využívá v řadě displejů a fotoaparátů. [95, 96]

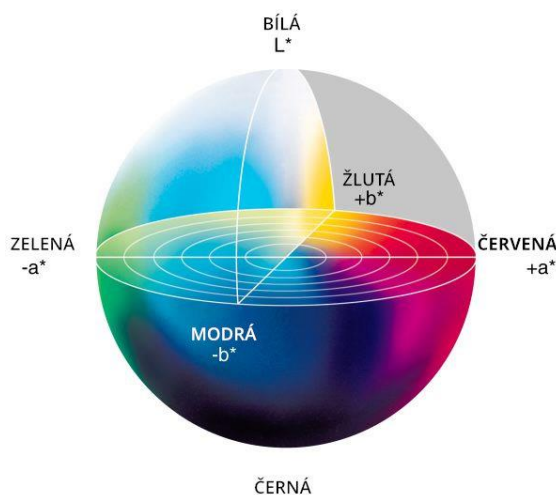
Model **CMYK** je na rozdíl od RGB modelu subtraktivní barevný model. Je založen na čtyřech barvách *cyan* – azurová, *magenta* – fuchsiová, *yellow* – žlutá a *key* – černá. V tomto modelu znamená bílá barva absenci barev. Azurová, purpurová a žlutá složka se používá pro reprodukci barev a lze na ně pohlížet jako na inverzi RGB. Azurová pohlcuje červenou, fuchsiová pohlcuje zelenou a žlutá pohlcuje modrou. V teorii by kombinací složek CMY měla vzniknout černá barva. Ve skutečnosti ale vzniká barva hnědo-šedá. Proto je základní složkou systému i samotná černá barva. Tento model se využívá nejčastěji v reprodukčních zařízeních, kde barva vzniká mícháním pigmentů, například inkoustové tiskárny. [96, 97, 98]

Systém **CIEXYZ** byl vytvořen v roce 1931 a je založen na předchozím RGB modelu, jedná se tedy o aditivní model. Namísto základních barev se využívá třírozměrný prostor,

kde Y představuje jas a x a y jsou souřadnice barvy. Tyto tři parametry lze pak spočítat i každé trichromatické složky X , Y a Z . Systém XYZ byl nahrazen $CIE\ L^*a^*b^*$ systémem kvůli značnému rozdílu barvy vyjádřené v diagramu modelu a skutečným vnímáním pozorovatelů. [99, 100]

Systém $CIE\ L^*a^*b^*$ byl vytvořen v roce 1976 Mezinárodní komisí pro osvětlování (CIE) a je definován pomocí 3 hodnot – hodnoty L^* , která definuje světlost nebo naopak tmavost, a hodnoty a^* a b^* , které jsou souřadnicemi barvy. Kladná hodnota a^* představuje červenou barvu na ose, záporná zelenou. Hodnota b^* popisuje v kladných hodnotách žlutou barvu, modrou barvu v těch záporných. Barvy na stejné ose se nevyskytují zároveň. [89, 101]

Schéma systému je zobrazeno na obrázku 7.



Obrázek 7: Schéma systému $CIE\ L^*a^*b^*$, převzato z [102]

Mezi hlavní výhodu tohoto systému patří číselné vyjádření souřadnic, tím pádem lze rozeznat i malé rozdíly mezi vzorky. Na rozdíl od jiných barevných systémů, $CIE\ L^*a^*b^*$ je navržen tak, aby se podobal vnímání lidským okem. Tento systém ovšem nebere v potaz Helmholtz–Kohlrauschův efekt, který popisuje fenomén, kdy více saturované barvy se jeví jako více jasné, a to navzdory stejným hodnotám L^* . I přes své limitace je tento barevný systém v současné době jeden z nejpoužívanějších. [101, 103]

Další barevná škála představená CIE je známá jako $CIE\ L^*C^*H^*$. Tento barevný prostor je definován odstínem (H^*), světlostí (L^*) a sytostí (C^*). Jedná se tedy o paralelu s Munsellovým systémem. Tento barevný prostor se dá nejlépe srovnat s vnímáním barev pozorovatelem, protože odstín je pro člověka s normálním barevným viděním nejdůležitější pro vnímání. V tomto systému 0° představuje červenou, 90° žlutou, 180° zelenou a 270° modrou. [92]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL PRÁCE

Základní hypotéza této práce byla postavena na otázce, zda lze vytvořit kalibrační modely ze získaných spekter pro stanovení vybraných ukazatelů z modelu společného pro všechny druhy vybraných mas a zda lze vytvořit spolehlivé kalibrační modely pro set dat rozdělený podle hodnoty jasu.

Díličními cíli teoretické části bylo popsání principu infračervené spektroskopie, společně s její stručnou historií, experimentálním uspořádáním a vývojem využití této metody v potravinářství v posledních letech. Dále pak bylo charakterizováno chemické složení masa s důrazem na rozdíly u jednotlivých druhů. Nakonec byl popsán princip tvorby kalibračních modelů metodou PLS a PCR.

Pro analýzu byly využity vzorky drůbežího, vepřového, hovězího a rybího masa, u kterých byla provedena referenční chemická analýza vybraných parametrů, a zároveň proběhlo proměření těchto vzorků na NIR spektrometru v různých režimech měření. Z těchto měření byly vytvořeny kalibrační modely pomocí statistické metody PLS pro stanovení daných proměnných. V neposlední řadě byly vytvořené kalibrační modely vyhodnoceny, porovnány mezi sebou a s literaturou a poté bylo zhodnoceno, zda je metoda vhodná pro tento typ analýzy.

7 METODIKA

7.1 Vzorky a další materiály

V rámci této práce byly analyzovány vzorky drůbežího, vepřového, hovězího a rybího masa, které nejprve byly upraveny odřezáním tučných částí z masa, aby tento tuk nepříznivě neovlivňoval měření barvy svaloviny. U ryb byla také odstraněna kůže. Následně byly vzorky dvakrát pomlety elektrickým mlýnkem na maso do homogenní kašovitě hmoty. V tabulce 2 je uveden přehled vzorků s jejich kódovým označením. U vzorků, které nebyly koupeny u lahůdkářského pultu, tzn. bez obalu, jsou uvedeny i další relevantní informace z balení.

Tabulka 2: Přehled druhů mas použitých k analýze

Kódové označení	Druh masa, popř. výseková část	Taxonomický druh	Chov	Původ	Značka
A	Kuřecí steak				
B	Kuřecí prsa				
C	Krůtí prsa			Německo	Gutstetten
D	Pangas	<i>Pangasius hypophthalmus</i>	Farmový	Vietnam	Marineharvest
E	Losos	<i>Salmo salar</i>	Farmový	Norsko	Rybí trh
F	Sumeček	<i>Clarias garipepus</i>	Farmový	Slovensko	Rybí trh
G	Vepřová kýta				
H	Vepřová plec				
I	Vepřové pečeně				
J	Hovězí zadní				
K	Hovězí přední				
L	Směs "burger" (50% vepřové plec, 50% hovězí přední)				

Během referenčních chemických analýz byly použity tyto chemikálie:

- kyselina sírová (96 % a 0,025 M),
- hydroxid sodný (30 %),
- kyselina boritá (2 %),
- hexan,
- peroxid vodíku,
- katalyzátor – pentahydrát síranu měďnatého a síran sodný (1:10),
- indikátor Tashiro,
- destilovaná voda.

7.2 Přístrojové vybavení

Pro měření NIR spekter byl použit infračervený spektrometr HK 10 particuLAB od firmy Harrer & Kassen GmbH, který pracuje na principu difuzní reflexe vzorku. Jako zdroj je použita halogenová lampa. Tento přístroj dokáže stanovit všechny organické složky z práškových, pevných a pastovitých produktů. Jediným měřením lze současně stanovit všechny důležité složky, jako je tuk, dusíkaté látky, voda, bílkoviny pojivové tkáně atd. [104]

K tomuto přístroji je dodáván kalibrační program Specter v. 4.0, který byl použit při tvorbě kalibračních modelů.

Také další přístroje, uvedené níže, byly uplatněny v rámci referenčního stanovení:

- analytické váhy LA214 (VWR International) a váhy PLJ (Kern),
- sušárna BMT Venticell (Brněnská medicínská technika),
- lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC, CHRIST (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen),
- mineralizátor Digesdahl model 23130-20 (HACH),
- destilační zařízení (Behr),
- pH metr HI 99161 (HANNA Instruments),
- spektrometr UltraScan VIS (HunterLab) pro měření barvy vzorků podle systému CIEL*a*b*.

7.3 Chemometrická stanovení

Pro všechny vzorky byl stanoven podíl bílkovin, sušiny a tuku ve svalovině, dále pak hodnota pH a barva pomocí chemometrických metod. Takto získané údaje byly použity pro tvorbu kalibračních modelů.

7.3.1 Stanovení obsahu bílkovin

Pro určení obsahu bílkovin byla použita metoda dle Kjeldahla s úpravou podle Behra, která tkví v mineralizaci vzorku pomocí kyseliny sírové, kdy je všechnen dusík převeden na síran amonný. Následně je reakcí s hydroxidem sodným rozložen na amoniak. Ten se jímá do kyseliny borité a jeho celkový obsah se stanoví titrací kyselinou sírovou.

V prvním kroku bylo do mineralizační baňky diferenčně odváženo 0,25 g vzorku, který byl následně doplněn 10 ml H₂SO₄ (96 %), 0,5 ml H₂O₂ a tři kapky katalyzátoru (Na₂SO₄ a CuSO₄ x 5 H₂O v poměru 10:1). Poté, co byly složky promíchány, probíhala mineralizace do vyjasnění kapaliny (zhruba 65 minut) za teploty 400 °C. Následně se obsah kvantitativně převedl do 25 ml odměrné baňky a nechal se temperovat do pokojové teploty.

Ve druhém kroku bylo odpipetováno 10 ml zmineralizovaného vzorku do destilační banky. Ta se spolu s další baňkou obsahující 50 ml H₃BO₃ (2 %), do které byl jímán vznikající NH₃, vložila do destilačního zařízení. Zařízením byl nasát 30% NaOH a proběhla destilace.

V posledním kroku bylo do baňky se vzniklým amoniakem přidáno několik kapek indikátoru Tashiro a její obsah byl titrován 0,25 M H₂SO₄ do červenorůžového zbarvení.

Pro výpočet obsahu hrubé bílkoviny byl použit následující vzorec:

$$OBH = M_N \cdot V \cdot c \cdot 10^{-3} \cdot f_z \cdot f_t \cdot f_p \quad (7.1)$$

kde:

- M_N – molární hmotnost dusíku [g·mol⁻¹],
- V – spotřeba odměrného roztoku kyseliny sírové [ml],
- c – přesná koncentrace odměrného roztoku kyseliny sírové [mol·l⁻¹],
- f_z – poměrový zřed'ovací faktor,
- f_t – titrační faktor,
- f_p – přepočítávací faktor (= 6,25).

Pro každý vzorek byl obsah bílkovin stanoven čtyřikrát. Za výsledek se považuje průměrná hodnota z těchto měření.

7.3.2 Stanovení obsahu sušiny

Pro stanovení obsahu sušiny se odvážilo 5 g vzorku, které byly smíchány pískem ve předem zvážených vysušených hliněných miskách. Miska se vzorkem byla poté umístěna do sušárny o teplotě 105 °C, kde byla sušena po dobu 5 hodin do konstantní hmotnosti.

Obsah sušiny se vypočítal z rozdílů hmotností podle vzorce:

$$sušina (\%) = \frac{m_S - m_P}{m_V} \cdot 100 \quad (7.2)$$

kde:

- m_S – celková hmotnost misky se vzorkem po vysušení [g],
- m_P – hmotnost misky [g],
- m_V – navážka vzorku před vysušením [g].

Pro každý vzorek se obsah sušiny stanovoval ve dvou měřeních. Výsledek je průměrná hodnota z těchto měření.

7.3.3 Stanovení obsahu tuků

Obsah tuku byl stanoven metodou dle Soxhleta, kdy dochází pomocí nepolárního rozpouštědla k extrakci tuku. Následně se rozpouštědlo odpaří a obsah tuku se zváží.

2 g vzorku byly naváženy do patrony, která se poté utěsnila vatou a byla vložena do předem zvážené extrakční baňky se 100 ml hexanu a varnými kamínky. Na topném tělese se baňka vyhřívala po dobu 2,5 h, kdy docházelo k extrakci tuku a odpařování nepolárního rozpouštědla. U většiny vzorků se všechno hexan odpařil už během extrakce, nebylo nutné ho tedy dále odpařit v odparce. Zbytek vzorků byl do sušárny za teploty 90 °C po dobu 30–60 minut do úplného odpaření hexanu. Baňka byla následně zvážena.

Obsah tuku byl stanoven pomocí vzorce:

$$obsah\ tuku (\%) = \frac{m_E - m_B}{m_V} \cdot 100 \quad (7.3)$$

kde:

- m_E – celková hmotnost extrakční baňky s tukem (po odpaření veškerého rozpouštědla) [g],

- m_B – hmotnost extrakční baňky (s varnými kamínky) [g],
- m_V – navážka vzorku před extrakcí [g].

Pro každý vzorek se obsah tuku stanovoval ve třech opakováních. Výsledek je průměrná hodnota z těchto měření.

7.3.4 Stanovení pH

Stanovení pH bylo provedeno v pěti měřeních ponořením sondy na různých místech a v různých hloubkách vzorku. Za výsledné pH se považuje průměrná hodnota z těchto měření.

7.3.5 Stanovení barvy

Barva vzorků byla měřena na spektrometru UltraScan VIS od společnosti HunterLab, který měří jak odraženou, tak procházející barvu, stejně jako přenosový zákal. Jako zdroj tohoto přístroje slouží xenonová lampa, kalibrovaná na denní světlo D65. Měří v celém rozsahu viditelného světla s rozlišovací schopností pod 2 nm.

Každý vzorek byl proměřen třikrát a výsledné hodnoty jasu (L^*) a barev (a^* , b^*) byly zprůměrovány.

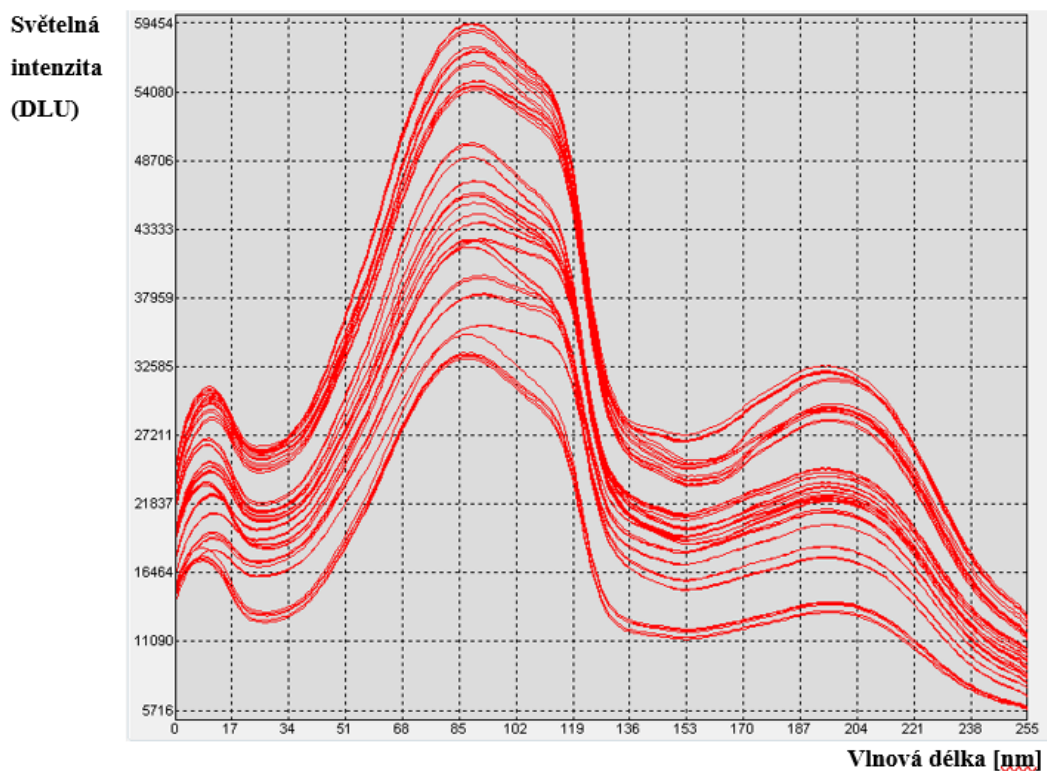
7.4 Měření NIR spekter

Před samotným měřením infračerveným spektrometrem byly zhomogenizované vzorky, které byly pomlety na kašovitou hmotu a ze kterých byla odstraněna tuková tkáň, přeneseny do transparentních plastových Petriho misek, které byly naplněny do výšky stěny, a vzorek byl následně uhlazen. Misky byly vkládány do spektrometru bez víčka. Každý vzorek byl v každém měřícím módu měřen čtyřikrát, kdy mezi každým měřením byl vzorek promíchán a opět uhlazen. Měřilo se v rozsahu vlnových délek $\lambda = 925\text{--}1375$ nm po dobu 50 sekund v integračních časech 8, 9, 10, 11, 12, 13 a 14 x 12,5 ms. Volba integračního času značně ovlivňuje výsledné spektrum a citlivost samotného měření. S jeho růstem může růst signál samotného spektra, ale i šum, což může mít za následek informační přehlcení detektoru. Kvůli velké variabilitě barev vzorků nešlo určit vhodný integrační čas pouze měřením nejsvětlejšího vzorku, proto byly vzorky proměřeny ve všech výše zmíněných integračních časech a následně byly vybrány integrační časy 11, 12, 13 a 14 x 12,5 ms jako nejvhodnější, u nichž zdroj světla měřil v rámci mezních hodnot detekce 50 000–55 000 DLU.

7.5 Kalibrační modely a jejich tvorba

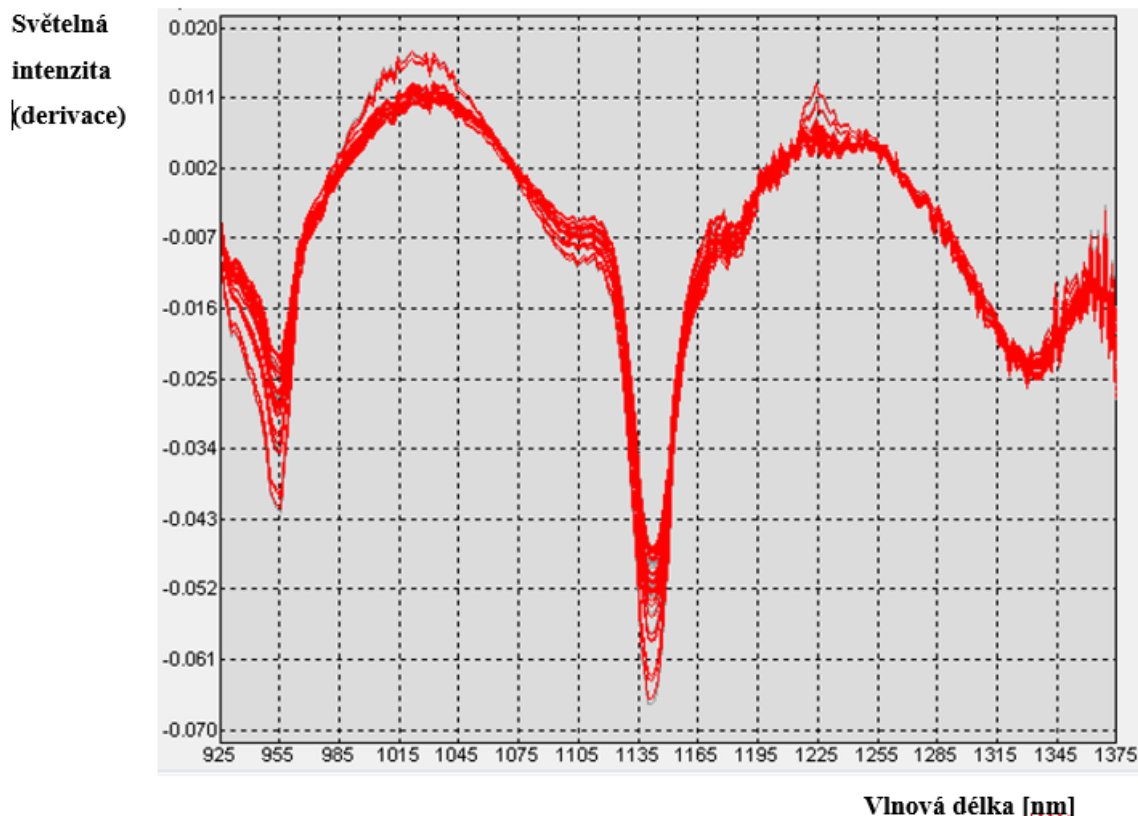
Naměřená spektra, popsaná v předchozí podkapitole (7.4), byla použita pro tvorbu NIR kalibračních modelů pro stanovení podílu bílkovin, sušiny, tuku a pH.

Příklad surových spekter je uveden na obrázku 8. Taková spektra byla získaná pomocí programu Specter v 4.0., a následně k nim byly přiřčeny hodnoty získané pomocí metod popsaných v podkapitole 7.3.



Obrázek 8: Příklad záznamu NIR spekter vzorků

V dalším kroku byla provedena standardizace spekter módem Special. Příklad standardizovaného spektra lze vidět na obrázku 9.



Obrázek 9: Příklad standardizovaných NIR spekter

V dalším kroku bylo určeno, která spektra budou použita pro kalibraci, a která budou z kalibrace vyřazena (podle výrobce nejlépe 20–30 % spekter). Tato spektra byla posléze použita k validaci modelu.

Poslední krok představoval výpočet počtu faktorů PLS, pro který se použila funkce PRESS s výpočtem CROSS. Tento výpočet zahrnuje křížovou validaci, během níž je každý vzorek z kalibrace postupně vyřazen a model je vypočítán pomocí zbývajících vzorků. Tato metoda umožňuje určit optimální počet PLS faktorů, který se určí podle minima hodnoty funkce PRESS. [105]

Příklad optimálního průběhu funkce PRESS je uveden v příloze P1.

Vzorky byly navíc rozděleny základě hodnoty L^* na ty, u kterých tato hodnota nepřevyšuje 50, a na ty, u kterých ano. Pro každý takto rozdělený set dat byl vytvořen další kalibrační model (viz kapitola 8).

7.6 Statistické vyhodnocení

Všechna referenční stanovení byla opakována vícekrát (dvakrát až pětkrát), z čehož byla vypočítána střední hodnota, která byla posléze využita při sestavování kalibračních modelů. Tato hodnota byla odhadnuta pomocí vztahu pro výpočet aritmetického průměru:

$$\mu = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (7.4)$$

kde:

- x_i – hodnota parametru pro i -té měření,
- n – počet měření.

Protože skutečná střední hodnota není známá, ale je pouze aproximována aritmetickým průměrem, pro výpočet směrodatné odchylky, která slouží k určení přesnosti měření při referenčním stanovení, se použil vztah:

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2} \quad (7.5)$$

kde:

- x_i – hodnota parametru pro i -té měření,
- n – počet měření,
- μ – hodnota aritmetického průměru.

Střední kvadratická chyba kalibrace (RMSEC) a střední kvadratická chyba validace (RMSEV), které určují průměrný rozdíl mezi předpokládanými a skutečnými hodnotami, byly použity pro charakterizaci přesnosti vytvořených kalibračních modelů. Střední kvadratická chyba kalibrace byla vypočítána podle vztahu:

$$RMSEC = \sqrt{\frac{1}{n_c} \sum_{i=1}^n (\hat{x}_i - x_i)^2} \quad (7.6)$$

kde:

- n_v – počet měření použitých k sestavení kalibračního modelu NIR,
- n – celkový počet měření,
- \hat{x}_i – hodnota parametru pro i -té měření získaná z kalibračního modelu,
- x_i – hodnota parametru pro i -té měření získaná referenčním stanovením.

Střední kvadratická chyba validace byla vypočítána analogicky, kdy n_c bylo nahrazeno n_v – počet měření použitých k validaci (tzn. data vyloučena z tvorby validačního modelu).

Obě střední kvadratické chyby by měly dosahovat co nejmenších hodnot a vzájemně se sobě co nejvíce blížit, aby byl model považován za spolehlivý. Spolehlivost modelu se posuzovala i na základě koeficientu determinace R^2 , který určuje míru kvality regresního modelu vyjadřující, jaký podíl variability závislé proměnné model vysvětluje. Hodnoty R^2 se pohybují mezi 0–1, kde za spolehlivý model se dá považovat takový, u kterého je tato hodnota vyšší než 0,95.

Dalším důležitým parametrem pro vyhodnocení kalibračních modelů je počet latentních PLS faktorů, jejichž počet byl stanoven pomocí programu Specter 4.0. využitím funkce PRESS (*predicted residual error sum of squares*) vyjádřenou pomocí vzorce:

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (\hat{c}_i - c_i)^2 \quad (7.7)$$

kde:

- n – celkový počet vzorků,
- \hat{c}_i – odhadovaná koncentrace,
- c_i – referenční koncentrace pro i -tý vzorek, která byla vyřazena z kalibrace.

Optimální počet latentních PLS faktorů odpovídá minimu funkce PRESS.

Rozdíly mezi referenčními hodnotami a hodnotami získanými z NIR spekter byly zhodnoceny pomocí dvouvýběrového párového Studentova t-testu pro hladinu významnosti 0,05 a 0,01, který porovnává střední hodnoty spárovaných variačních řad, zda vykazují statisticky významnou rozdílnost. V případě rozdílnosti hodnot získaných z NIR spekter a referenčním stanovením, se jedná pouze o náhodný jev, nepřekračuje-li testovací kritérium tabelovanou kritickou hodnotu pro danou hladinu významnosti.

8 VÝSLEDKY

V této kapitole budou prezentovány výsledky referenčních stanovení a kalibrační modely vytvořené podle změřené databáze NIR spekter. Pro účely této práce bylo vytvořeno celkem 48 kalibračních modelů pro čtyři integrační časy. Spolehlivost NIR modelů byla posouzena na základě ukazatelů popsanych v kapitole 7.6.

8.1 Výsledky chemometrického stanovení

Pro tvorbu kalibračních modelů byl stanoven obsah bílkovin, sušiny, tuku, pH a barvy referenčními metodami. V tabulce 3 je uveden přehled průměrné hodnoty obsahu bílkovin, sušiny, tuku a pH ve vzorcích včetně směrodatné odchylky.

Nejnižší obsah bílkovin stanovený ve vzorcích masa referenčním stanovením patří vzorku D (pangasisus), u kterého se předpokládal obsah bílkovin mezi 12–19 %, jeho obsah byl ale stanoven na $9,36 \pm 0,14$ %. Nejvyšší obsah bílkovin patří vzorku C (krutí prsa) s $23,32 \pm 1,25$ % bílkovin ve svalovině. Obsah bílkovin ve zbytku vzorků se pohybuje mezi 19 a 23 %, což odpovídá jejich obsahu uvedenému v literatuře [72]. Obsah bílkovin v drůbežích a vepřových vzorcích se pohyboval nad 20 %, naproti tomu vzorky hovězí a rybí této hodnoty nedosáhly.

Obsah sušiny se u většiny vzorků pohyboval mezi 20 a 27 %, což odpovídá hodnotám nalezených v literatuře [72]. Největší množství vlhkosti obsahoval vzorek D (pangasius), jehož hodnota obsahu sušiny je $17,72 \pm 0,46$ %, tento údaj koreluje se smyslovým pozorováním daného vzorku, který se jevil jako nejvlhčí. Nejvyšší hodnota obsahu sušiny patří vzorku F (sumeček) s $34,13 \pm 0,36$ %.

Jelikož byly z masa před stanovením daných parametrů odstraněny tučné části, tuk se stanovoval jen v čisté svalovině, což odpovídá jeho obsahu v rozmezí jednotek procent, viz tabulka 3. Výjimkou je vzorek E (losos), který dosahuje nejvyšších hodnot tuku $10,38 \pm 0,33$ %, což je zapříčiněno povahou masa, pro které nejsou typické tukové kapsy, nýbrž rovnoměrné rozvrstvení tuku skrz svalovinu. Nejnižší obsah tuku náleží vzorku K (hovězí přední) s $0,31 \pm 0,05$ %, a i pro ostatní vzorky hovězího masa se obsah tuku pohyboval v nízkých hodnotách.

Hodnoty pH se pohybují v mírně kyselém rozmezí mezi 5,30–6,78 kvůli hromadění kyseliny mléčné během postmortálních procesů. Nejvyšší pH vykazuje vzorek D (pangasius) s hodnotou pH $6,78 \pm 0,03$, nejnižší zase vzorek I (vepřová pečeně) s hodnotou pH $5,30 \pm 0,05$.

Toto rozpětí vyplývá hlavně z délky postmortálních procesů, které byly u vzorku D razantně kratší než u vzorku I.

Tabulka 3: Přehled hodnot stanovených referenčním stanovením vybraných parametrů pro vzorky masa

Vzorek	Bílkoviny [%]	Sušina [%]	Tuky [%]	pH
A	13,92±1,38	21,29±0,18	4,18±0,05	6,38±0,04
B	20,57±1,24	26,78±1,56	1,84±0,03	5,95±0,10
C	23,32±1,25	23,43±0,24	0,83±0,07	5,67±0,02
D	9,36±0,14	17,72±0,46	1,02±0,04	6,78±0,03
E	19,41±0,68	26,29±0,98	10,38±0,33	6,08±0,03
F	18,31±0,25	34,13±0,36	6,80±0,12	6,14±0,02
G	22,88±0,76	25,16±0,80	2,90±0,10	5,52±0,01
H	22,01±0,10	24,84±0,19	1,93±0,10	5,63±0,16
I	21,48±0,21	24,17±1,19	4,09±0,34	5,30±0,05
J	19,59±0,14	19,57±0,32	0,48±0,08	5,47±0,02
K	19,21±0,38	20,95±0,27	0,31±0,05	5,44±0,03
L	20,53±0,15	22,00±0,31	1,00±0,07	5,75±0,01

V tabulce 4 je uveden přehled hodnot jasu a barvy s jejich směrodatnými odchylkami ze spektrometru UltraScan VIS (HunterLab), které byly získány postupem uvedeným v podkapitole 7.3.4. Dále je zde uvedeno převedení těchto hodnot do jiných barevných systémů, jmenovitě RGB (s číslem HEX) a souřadnicový systém XYZ.

Drůbeží vzorky vykazovaly průměrně nejvyšší jas, kdy se hodnota L^* pohybovala mezi 54–59. Naproti tomu hovězí vzorky se jeví jako nejtmavší, kdy jejich hodnota jasu nepřesáhla 35. Rybí vzorky takto uniformní nebyly, kdy pangasius (vzorek D) byl podle hodnoty L^* nejsvětlejším vzorkem ($61,39 \pm 0,86$), jas u zbylých rybích vzorků ale nepřesáhl hodnotu 50. Obdobně na tom jsou vzorky vepřového masa, kdy jenom vzorek I (vepřová pečeně) dosáhl hodnot jasu vyšších než 50 ($L^* = 58,86 \pm 0,37$).

Vzorky byly rozděleny základě hodnoty L^* na ty, u kterých tato hodnota nepřevyšuje 50, a na ty, u kterých ano. Pro každý takto rozdělený set dat byl vytvořen další kalibrační model. Mezi tmavé vzorky byly zařazen vzorek E, F, G, H, J, K a L a mezi světlé vzorky zase vzorek A, B, C, D, a I, viz tabulka 4.

Z tabulky 4 je také patrné, že na škále barev červená-zelená, se všechny vzorky pohybovaly blíže k červené barvě (kladné hodnoty a^*), s výjimkou vzorku D (pangasius), který s $a^* = -1,99 \pm 0,26$ jeví na této škále jako neutrální. Nejvyšších hodnot a^* dosahovaly hovězí vzorky, maximální hodnotu pak vykazoval vzorek J (hovězí zadní) s $a^* = 18,77 \pm 1,80$.

Hodnoty a^* se pro všechny drůbeží vzorky pohybovaly kolem 5, což odpovídá jejich světlému růžovému zabarvení. Podobně tomu tak je i u vepřových vzorků, jejichž hodnota a^* se pohybuje kolem 10.

Na barevné škála žlutá-modrá (hodnota b^*) se většina vzorků pohybovala v kladných hodnotách kolem 15. Nejmenší hodnotu opět vykazoval vzorek D (pangasius), který dosahoval hodnot $b^*=5,86\pm 1,54$. Nejvyšší hodnoty patřily vzorku E (losos) s hodnotou $b^*=26,40\pm 0,55$.

Podle obrázku 7 (podkapitola 5.2.2) lze poznat, že tyto hodnoty odpovídají empirickému pozorování, kdy kladné hodnoty a^* (červená) a kladné hodnoty b^* (žlutá) vyústí v růžové a oranžové barevné kombinace.

Tabulka 4: Přehled hodnot barvy a jasu u vzorků masa pro systém CIEL* a^*b^* a jejich převedení do jiných barevných systémů

Vzorek	L*	a*	b*
A	57,13±1,04	6,41±0,20	16,18±0,27
B	59,36±0,56	3,01±0,28	14,10±0,73
C	54,88±1,27	5,97±0,65	12,30±1,62
D	61,39±0,86	-1,99±0,26	5,86±1,54
E	49,15±0,44	23,61±0,65	26,40±0,55
F	48,15±0,87	13,40±1,44	15,91±1,34
G	49,87±0,13	10,59±0,19	16,16±0,14
H	47,14±0,44	10,65±1,88	15,18±1,58
I	58,86±0,37	7,42±0,39	16,64±0,25
J	34,44±0,16	18,77±1,80	16,83±1,51
K	34,28±0,71	16,67±0,32	15,03±0,68
L	42,45±2,05	14,20±0,87	15,21±1,26
Vzorek	RGB	HEX#	XYZ
A	156:133:109	9C856D	0,2566:0,2505:0,1369
B	155:141:118	9B8D76	0,2718:0,2742:0,1603
C	148:127:110	947F6E	0,2331:0,2281:0,1370
D	148:149:138	94958A	0,2813:0,2970:0,2142
E	162:100:73	A26449	0,2177:0,1772:0,0654
F	142:106:88	8E6A58	0,187:0,1691:0,0876
G	143:112:92	8F705C	0,1971:0,1831:0,095
H	136:105:87	886957	0,1744:0,1612:0,0848
I	162:137:113	A28971	0,2774:0,2688:0,1466
J	114:69:55	724537	0,1011:0,0818:0,0353
K	110:70:57	6E463A	0,0980:0,0814:0,0380
L	128:91:76	805B4C	0,145:0,1279:0,0646

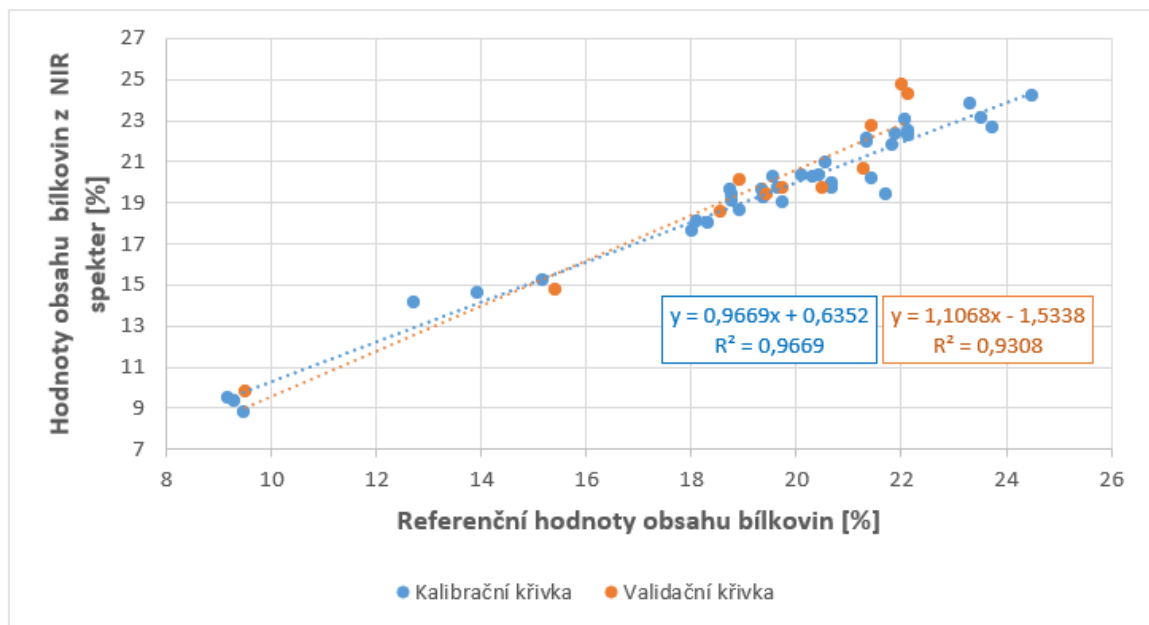
Referenční hodnoty byly přiřazeny ke spektrům v programu Specter 4.0 a pomocí nich byly sestaveny kalibrační modely pro obsah bílkovin, obsah sušiny, obsah tuku a hodnotu pH.

8.2 Kalibrační modely pro obsah bílkovin

V podkapitolách 8.2.1 až 8.2.4 jsou uvedeny kalibrační modely nezávislé a závislé na hodnotě jasu L^* pro obsah bílkovin při integračních časech 11, 12, 13 a 14 x 12,5 ms.

8.2.1 Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 11 x 12,5 ms

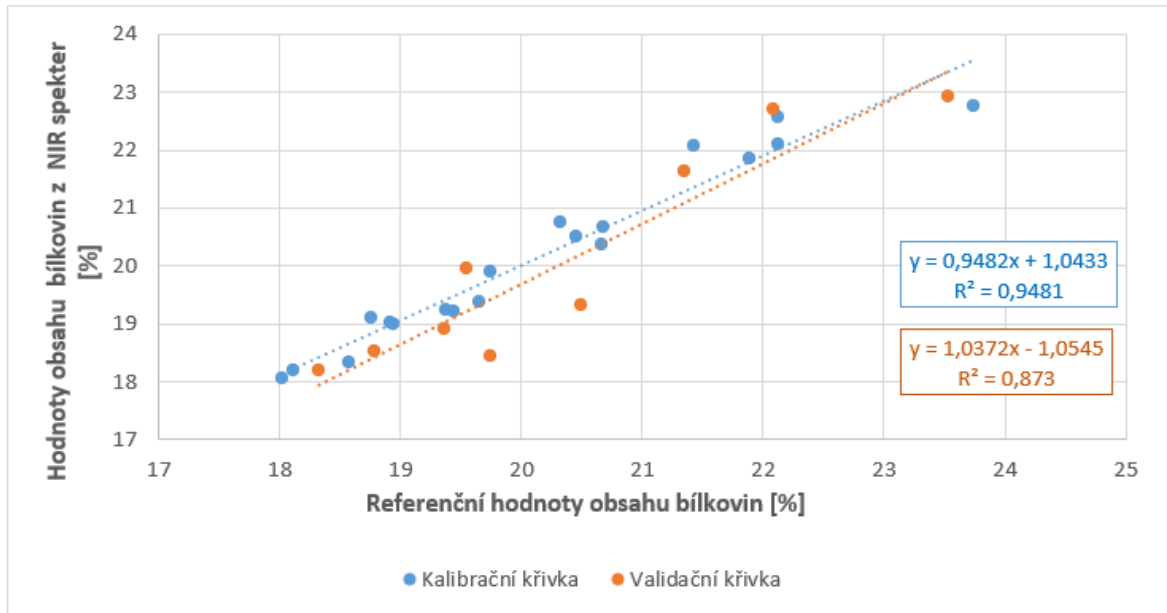
KM nezávislý na hodnotě jasu byl vytvořen ze 48 spekter, z nichž ze 37 bylo využito na jeho kalibraci, zbytek na jeho validaci. Jeho kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 10.



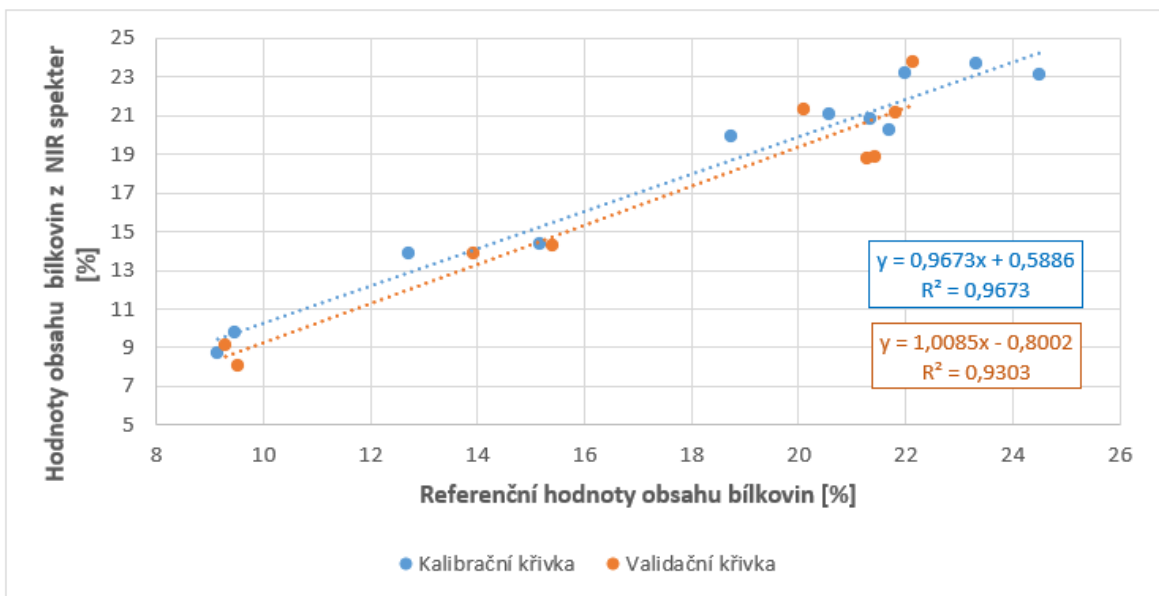
Obrázek 10: Znárodnění kalibrace a validace modelu nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms)

Z obrázku č. 10 se jeví, že se největší množství hodnot pohybuje mezi 18–23 %, což odpovídá průměrnému obsahu bílkovin ve svalovině. Nejnížší stanovený obsah bílkovin připadá vzorku D s hodnotou 9,16 %, naproti tomu nejvyšší obsah bílkovin vykazoval vzorek C s 24,50 % bílkovin. Po srovnání kalibračních a validačních křivek, které mají velmi podobný průběh, lze usoudit, že model se dá považovat za dostatečně robustní. V tabulce 5 (kapitola 8.2.5) jsou uvedeny parametry tohoto kalibračního modelu včetně počtu PLS faktorů.

Kalibrace KM pro $L^* < 50$ byla vytvořena z 19 spekter z celkových 28, zbytek byl použit na validaci. Pro KM $L^* > 50$ bylo využito 11 spekter na samotnou kalibraci a 9 na validaci. Jejich kalibrační a validační křivky jsou uvedeny na obrázku č. 11, respektive na obrázku č. 12.



Obrázek 11: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms



Obrázek 12: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms

Z obrázku 11 je patrné, že u tmavších vzorků se obsah bílkovin pohybuje u vyšších hodnot, což koreluje s vyšším obsahem myoglobinu v těchto vzorcích. I přesto je vzorek C, který dosahoval nejvyšších hodnot obsahu bílkovin, uveden na obrázku 12, jehož jas dosahoval vyšších hodnot. Lze tedy předpokládat, že vyšší obsah bílkovin je zapříčiněn vyšším obsahem jiných bílkovin, než je myoglobin a hemoglobin. U vzorků s vyšší hodnotou L^* nelze pozorovat žádná seskupení a hodnoty obsahu bílkovin se pohybují rovnoměrně podél spojnice trendů. U obou modelů lze pozorovat menší podobnost mezi kalibrační a validační křivkou než u modelu nezávislém na L^* . V tabulce 5 (kapitola 8.2.5) jsou uvedeny parametry těchto kalibračních modelů.

8.2.2 Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 12 x 12,5 ms

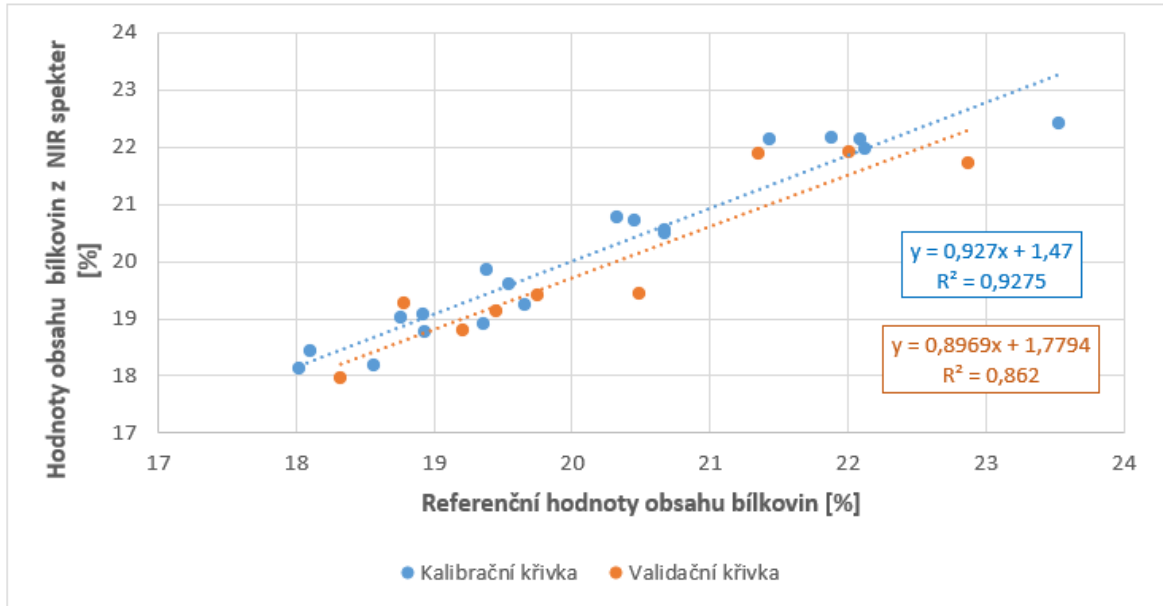
Obdobně jako u předchozího měřicího módu, i u dalšího modelu nezávislém na hodnotě L^* bylo na jeho vytvoření využito 48 spekter, ovšem jen 25 z nich na samotnou kalibraci. Závislost obsahů bílkovin je uvedena v příloze P2. Stejně jako na obrázku 10, i u tohoto kalibračního modelu lze vidět velmi podobné rozložení, kdy většina hodnot se pohybuje v rozmezí 18–23 %. I zde zaujímá pozici s nejmenším obsahem bílkovin vzorek D, stejně tak na opačné straně křivky je vzorek C. Z tabulky 5 (podkapitola 8.2.5) lze vyčíst, že R^2 a RMSEC mají obdobné hodnoty, ale RMSEV je zřetelně nižší. Pro tento model bylo ovšem nutné použít větší množství spekter na validaci modelu.

Na model $L^* < 50$ při IT 12 x 12,5 ms bylo použito stejné množství spekter na kalibraci a validaci jako při tvorbě tohoto modelu pro IT 11 x 12,5 ms. Na model $L^* > 50$ bylo použito celkem 20 spekter, 14 na samotnou kalibraci a 6 na validaci kalibračního modelu. Kalibrační křivky obou těchto modelů jsou uvedeny v příloze P3, respektive v příloze P4. I u těchto modelů závislých na hodnotě jasu lze pozorovat stejné trendy jako u jejich analogických modelů při IT 11 x 12,5 ms. Hlavně u světlejších vzorků jsou směrnice křivek kalibrace i validace značně podobné. V tabulce 5 jsou uvedeny parametry těchto kalibračních modelů.

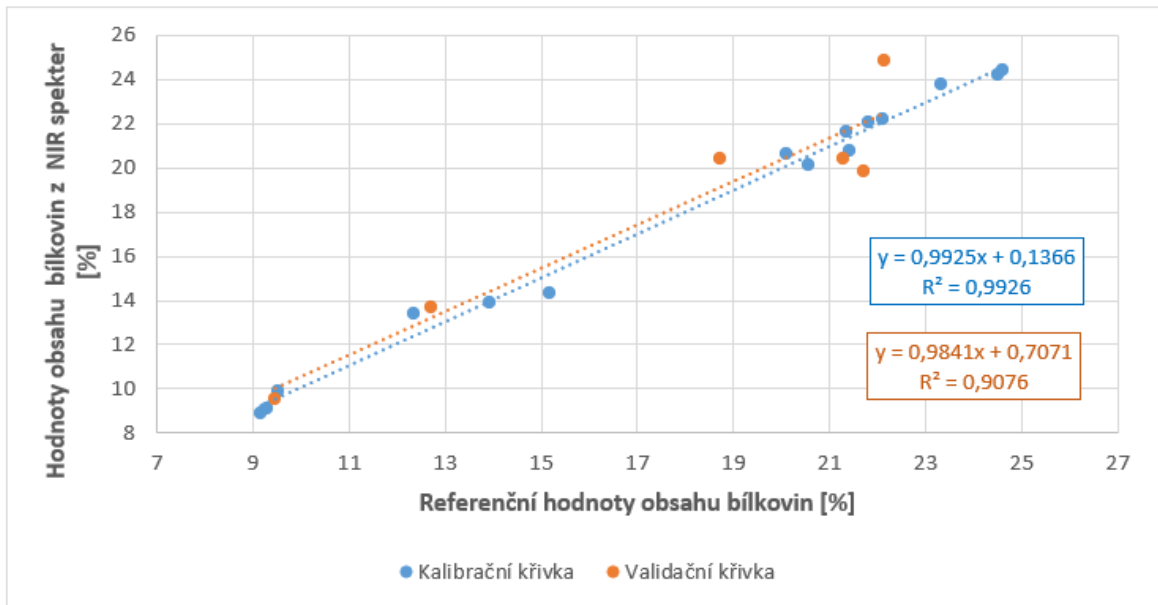
8.2.3 Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 13 x 12,5 ms

Kalibrační křivka modelu, který je nezávislý na hodnotě jasu, byla vytvořena ze 33 spekter z celkových 48, zbytek byl použit na její validaci. Kalibrační a validační křivky tohoto modelu jsou uvedeny v příloze P5. Opět lze vidět podobné trendy jako při předchozích integračních časech. Podle hodnot RMSEV (tabulka 5) se tento model podobá více modelu při IT 11 x 12,5. Spojnice kalibrační a validační křivky jsou v tomto případě téměř totožné.

Pro model $L^* < 50$ při IT 13 x 12,5 ms bylo použito stejné množství spekter na kalibraci a validaci jako při tvorbě tohoto modelu u předchozích integračních časů. Pro KM $L^* > 50$ bylo použito celkem 21 spekter, 15 na samotnou kalibraci a 6 na validaci KM. Jejich kalibrační a validační křivky jsou uvedeny na obrázku 13, respektive na obrázku 14.



Obrázek 13: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms

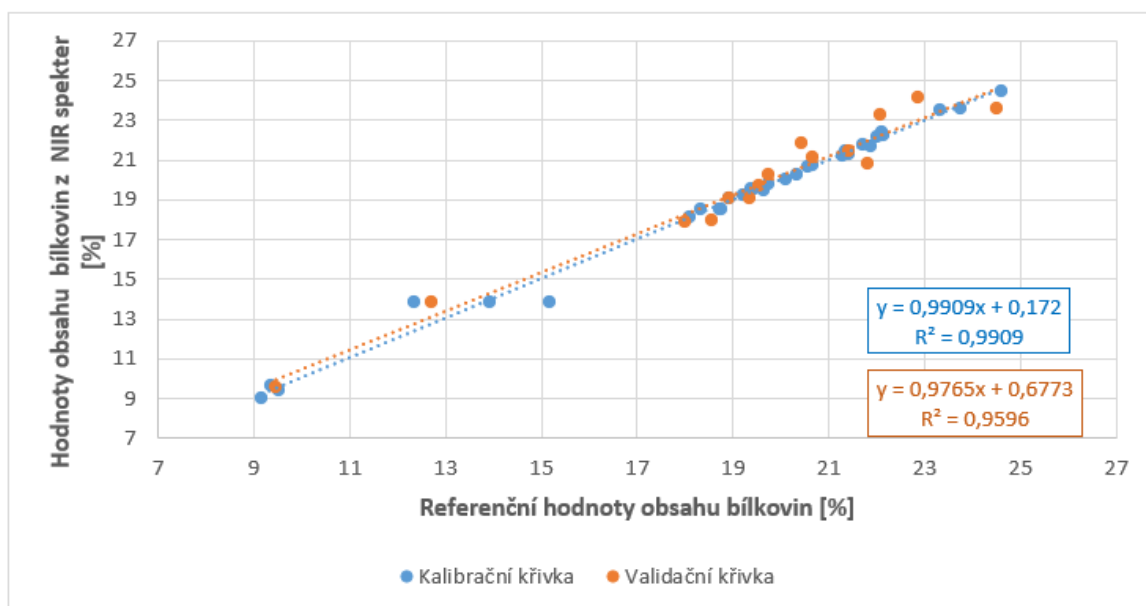


Obrázek 14: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms

Ze stejných důvodů uvedených výše se i při integračním čase 13 x 12,5 ms hodnoty bílkovin u tmavších vzorků pohybovaly mezi 18–23 %, naproti tomu u světlejších vzorků bylo rozpětí daleko větší. U modelu $L^* > 50$ byl při tomto integračním čase, na rozdíl od ostatních IT, optimální průběh funkce PRESS (viz příloha P6), kdy po dosažení minima funkce opět nestoupala. Směrnice kalibrační a validační přímky jsou si více podobné u modelu pro světlejší vzorky.

8.2.4 Kalibrační modely pro obsah bílkovin – IT 14 x 12,5 ms

Kalibrační křivka modelu, který je nezávislý na hodnotě jasu, byla vytvořena ze 31 spekter z celkových 46, zbývajících 15 bylo použito na její validaci. Kalibrační a validační křivky tohoto modelu jsou uvedeny na obrázku 15.

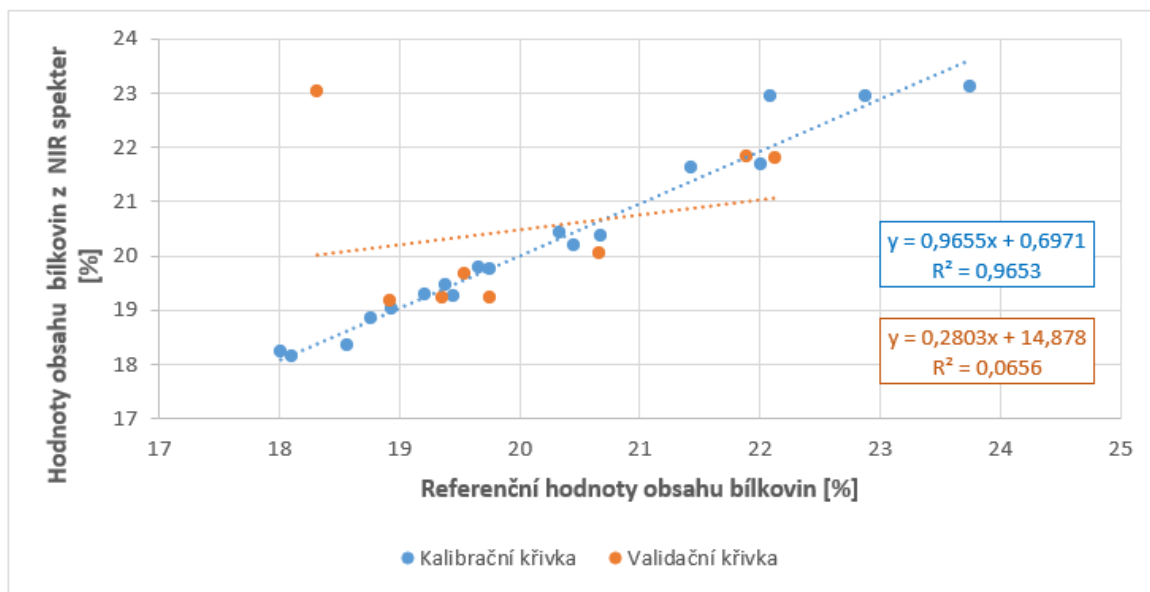


Obrázek 15: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin nezávislém na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms)

Oproti předchozím modelům se zde nachází hodnoty více podél spojnice trendů a model tak vykazuje velmi spolehlivý koeficient determinace i chybu kalibrace. Počet PLS faktorů je téměř 2x vyšší než u jiných modelů.

Pro model $L^* < 50$ při IT 14 x 12,5 ms bylo použito 26 spekter, 18 spekter na kalibraci a 8 na její validaci. Model $L^* > 50$ použil celkem 20 spekter, 11 na samotnou kalibraci a 9 na validaci kalibračního modelu. Kalibrační křivka modelu $L^* < 50$ je uvedena na obrázku 16, pro model $L^* > 50$ zase v příloze P7. I u těchto modelů se drží stejné trendy jako u předchozích kalibračních modelů pro bílkoviny, u modelu model $L^* < 50$ je rozdíl mezi

kalibrační a validační křivkou znatelný, což je zapříčiněno jedním anomálním bodem ve validačním setu dat. Kvůli hodnotě R^2 validační křivky se tento model nedá považovat za použitelný. Také průběh funkce PRESS (viz příloha P8) nebyl přívětivý, kdy došlo k velkému nárustu po dosažení minima. Proto by zde byla vhodná další úprava kalibračního modelu, popřípadě vyřazení daného spektra z kalibrace, což by mohlo upravit nepříznivé parametry. Statistické ukazatele obou modelů jsou uvedeny v tabulce 5 (podkapitola 8.2.5).



Obrázek 16: Znáornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms

8.2.5 Vyhodnocení kalibračních modelů pro obsah bílkovin

Parametry pro jednotlivé kalibrační modely pro obsah bílkovin v mase jsou uvedeny v tabulce 5.

Pro modely nezávislé na hodnotě L^* je rozmezí koeficientu determinace (R^2) mezi 0,9509–0,9909. Podle této hodnoty a také podle hodnot RMSEC a RMSEV, které by měly být co nejmenší a vzájemně se co nejvíce blížit, se nevhodnější IT pro stanovení bílkovin jeví čas 14 x 12,5 ms. I průběh funkce PRESS je u tohoto modelu přívětivý, jelikož po dosažení minima funkce opět znatelně nestoupá. Ovšem vysoký počet PLS faktorů může znamenat, že došlo k zahrnutí i naměřeného šumu (průběh funkce PRESS pro tento kalibrační model je uveden v příloze P9). U ostatních integračních časů, zvláště u IT 12 x 12,5 ms, dochází po dosažení minima k velkému vzestupu.

I pro modely $L^* < 50$ se pohybuje hodnota R^2 vysoko nad hranicí spolehlivosti, ale rozdíl mezi středními kvadratickými kalibračními a validačními chybami je znatelný, stejně jak rozdíl mezi směnicemi kalibračních a validačních přímek. Podobně na tom jsou i modely $L^* > 50$. To je zapříčiněno redukcí datového setu na tvorbu těchto modelů rozdělením podle jasu. V případě vyššího počtu vzorků mají tyto modely potenciál se stát spolehlivější.

Tabulka 5: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro obsah bílkovin

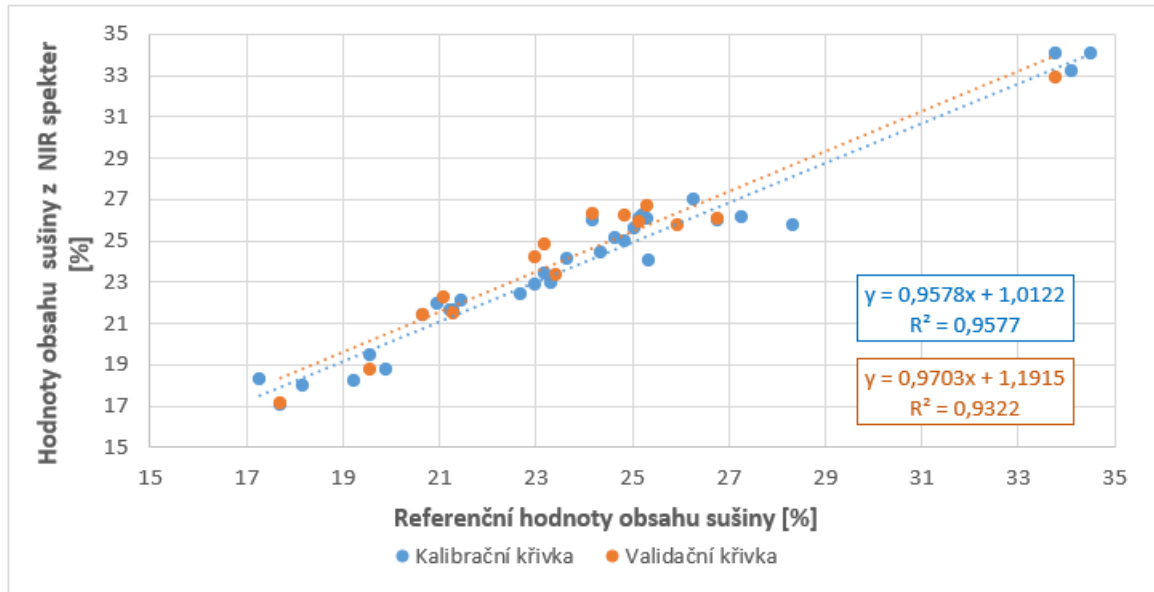
Kalibrační model	Integrační čas (X x 12,5 ms)	R^2	RMSEC [%]	RMSEV [%]	Počet PLS faktorů
Nezávislý na L^*	11	0,9669	0,694	1,126	7
	12	0,9603	0,757	0,896	6
	13	0,9509	0,893	1,160	6
	14	0,9909	0,386	0,744	14
$L^* < 50$	11	0,9481	0,345	0,631	5
	12	0,9252	0,416	0,686	5
	13	0,9275	0,402	0,544	5
	14	0,9653	0,300	1,642	7
$L^* > 50$	11	0,9673	0,953	1,379	4
	12	0,9900	0,527	1,679	5
	13	0,9926	0,479	1,531	5
	14	0,9821	0,739	1,251	5

8.3 Kalibrační modely pro obsah sušiny

V podkapitolách 8.3.1 až 8.3.4 jsou uvedeny kalibrační modely nezávislé a závislé na hodnotě jasu L^* pro obsah sušiny při integračních časech 11, 12, 13 a 14 x 12,5 ms.

8.3.1 Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 11 x 12,5 ms

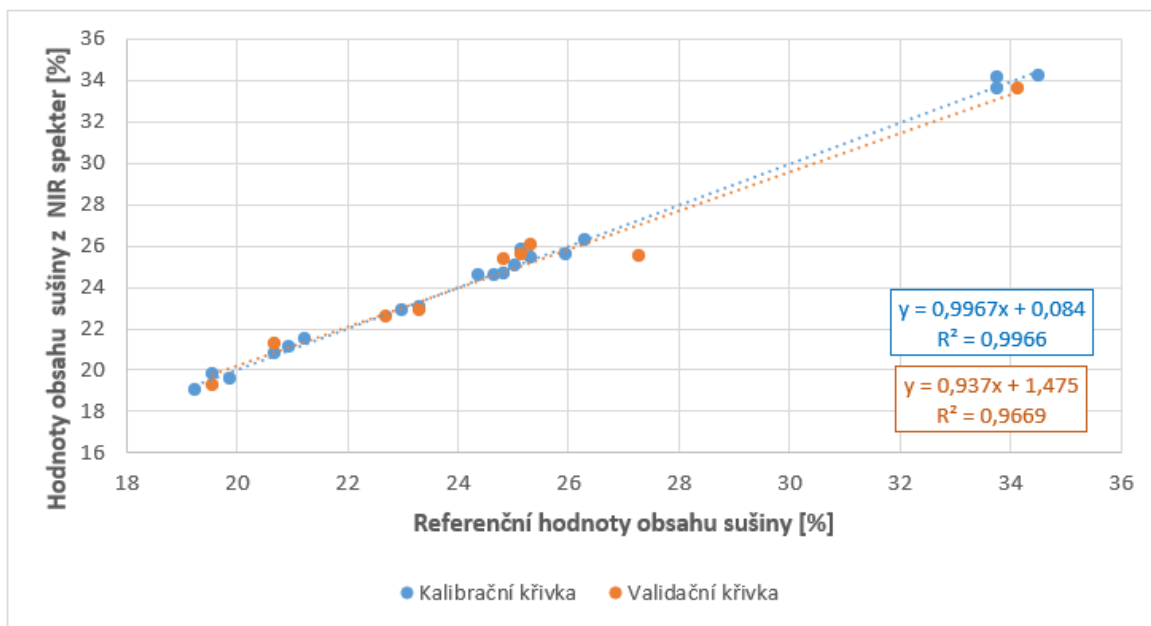
KM nezávislý na hodnotě jasu byl vytvořen ze 48 spekter, 37 z nich bylo použito na kalibraci a 15 na jeho validaci. Jeho kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 17.



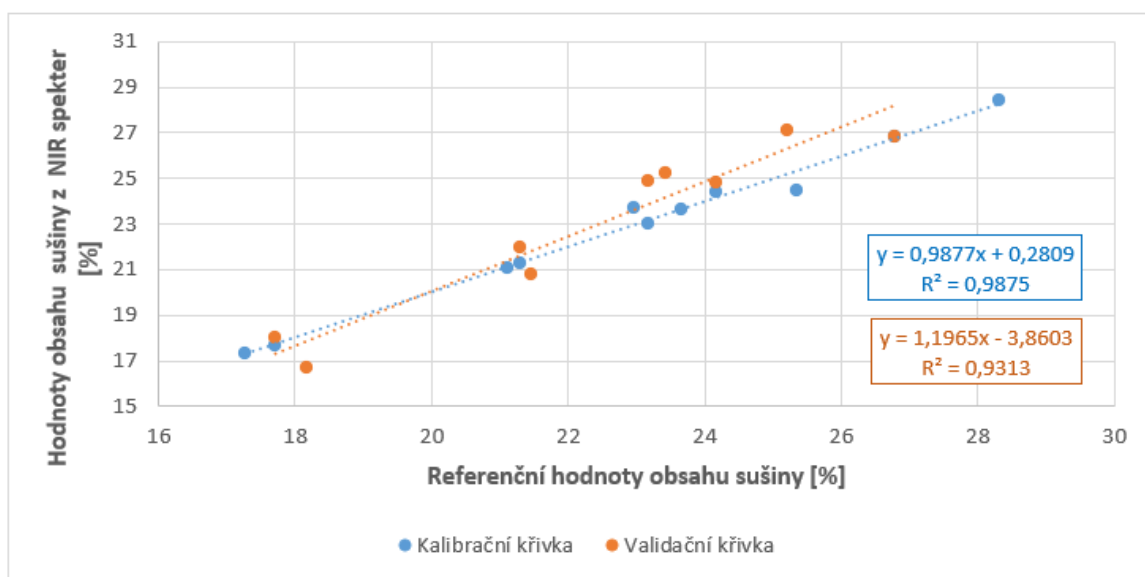
Obrázek 17: Znáznornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms)

Na obrázku 17 lze vidět, že hodnoty jsou rovnoměrně rozprostřeny podél spojnice trendu a průměrný obsah sušiny ve vzorcích se pohybuje mezi 20–27 %. Jedině hodnoty vzorku F (sumeček) se pohybují nad 30 %. Kalibrační a validační průběh křivky je podobný, model se tedy dá považovat za dostatečně robustní. Statistické ukazatele tohoto modelu jsou uvedeny v tabulce 6 (podkapitola 8.3.5). Funkce PRESS tohoto modelu měla relativně dobrý průběh (počet PLS faktorů = 8), po dosažení minima došlo jen k nevelkému zvýšení.

KM při $L^* < 50$ byl vytvořen z celkem 28 spekter, z nichž 19 bylo použito na vytvoření kalibrační křivky. Pro KM $L^* > 50$ bylo využito 11 spekter na samotnou kalibraci a 9 na validaci. Jejich kalibrační a validační křivky jsou uvedeny na obrázku 18, respektive na obrázku 19.



Obrázek 18: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms



Obrázek 19: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms

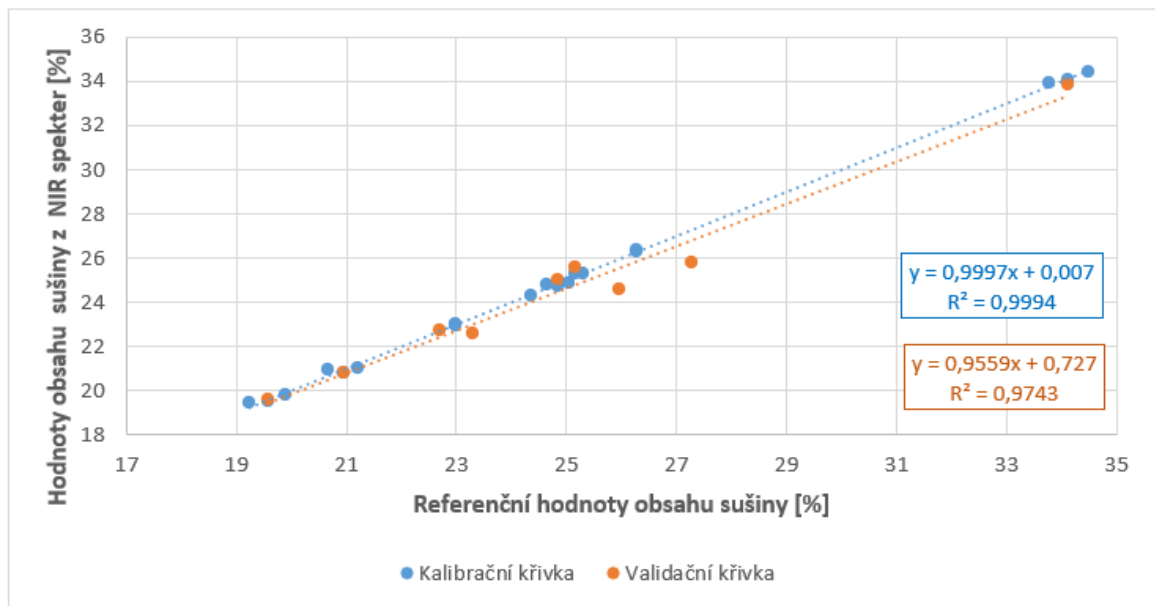
Z obrázku 18 je patrné, že hodnoty sušiny u tmavších vzorků se pohybují v nižších hodnotách 19–22 % a tvoří tak seskupení podél spojnice trendů. Jedinou výjimkou je opět vzorek F (sumeček), jehož hodnoty obsahu sušiny jsou o více než 10 % vyšší než u zbytku tmavých vzorků. U světlejších vzorků je rozdělení hodnot podél spojnice více rovnoměrné, kdy průměr se pohybuje okolo 24 %. Kalibrační a validační křivka se u modelu pro světlejší vzorky více rozcházejí, což implikuje nižší robustnost modelu. Průběh funkce PRESS byla

obdobná jako u modelu nezávislém na hodnotě L^* . Parametry obou modelů jsou uvedeny v tabulce 6 (podkapitola 8.3.5).

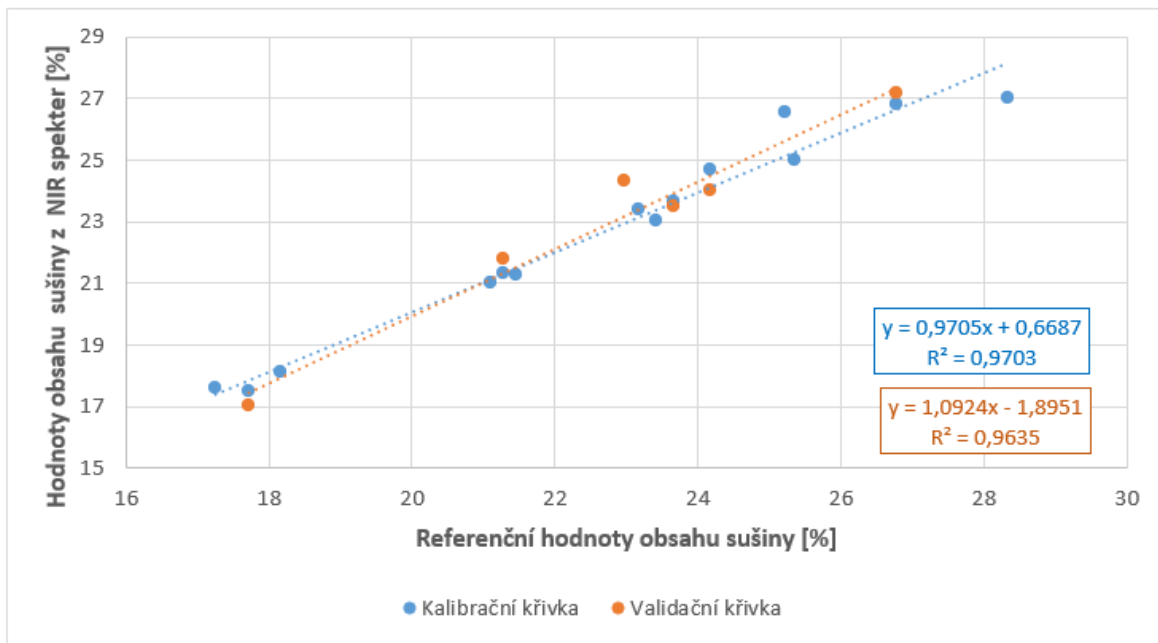
8.3.2 Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 12 x 12,5 ms

Kalibrační křivka modelu, který je nezávislý na hodnotě jasu, byla vytvořena ze 32 spekter z celkových 48, zbývajících 16 bylo použito na její validaci. Kalibrační a validační křivky tohoto modelu jsou uvedeny příloze P10, kde lze pozorovat, že kopíruje stejné trendy jako analogický model při IT 11 x 12,5 ms, hodnoty pouze více kopírují spojnici trendu. Podobá se také v porovnání validační a kalibrační křivky. Průběh funkce PRESS byl optimální.

KM při $L^* < 50$ byl vytvořen ze stejného počtu spekter jako jeho analogický předchůdce. Pro KM $L^* > 50$ bylo využito 14 spekter na samotnou kalibraci a 6 na validaci z celkových 20. Jejich kalibrační a validační křivky jsou uvedeny na obrázku 20, respektive na obrázku 21.



Obrázek 20: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms



Obrázek 21: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms

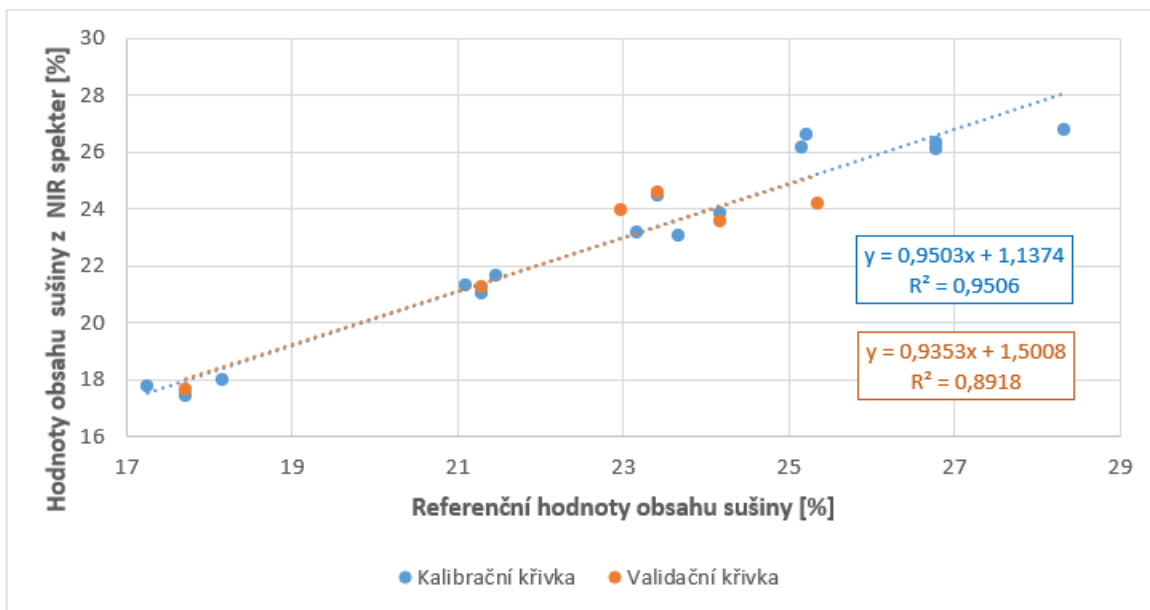
I u těchto modelů je zjevná podobnost s modely s integračním časem 11 x 12,5 ms. Hodnoty tmavších vzorků se pohybují podél spojnice okolo 14 %, kdežto světlejší vzorky jsou více rozvrstveny. Průběh funkce PRESS byl pro tmavší vzorky ve srovnání s ostatními modely pro stanovení sušiny pro IT 12 x 12,5 ms nejlepší.

Pro všechny kalibrační modely sušiny s IT 12 x 12,5 ms jsou jejich ukazatele spolehlivosti uvedeny v tabulce 6 (podkapitola 8.3.5).

8.3.3 Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 13 x 12,5 ms

KM nezávislý na hodnotě jasu byl vytvořen ze 48 spekter, kdy 32 sloužilo ke kalibraci, zbylá spektra na ověření tohoto modelu. Jeho kalibrační a validační křivky jsou uvedeny v příloze P11, kde lze vidět, že i tento model je velmi podobný s analogickým modelem při IT 12 x 12,5 ms a to včetně všech relevantních statistických ukazatelů. Průběh funkce PRESS byla v tomto případě ideální.

Kalibrace KM při $L^* < 50$ byla vytvořena z 19 spekter z celkových 28, zbytek byl použit na validaci. KM $L^* > 50$ byl vytvořen z 15 spekter na samotnou kalibraci a 6 na validaci z celkových 21. Vizualizace křivek modelu $L^* < 50$ je uvedena v příloze P12, pro model $L^* > 50$ zase na obrázku 22.



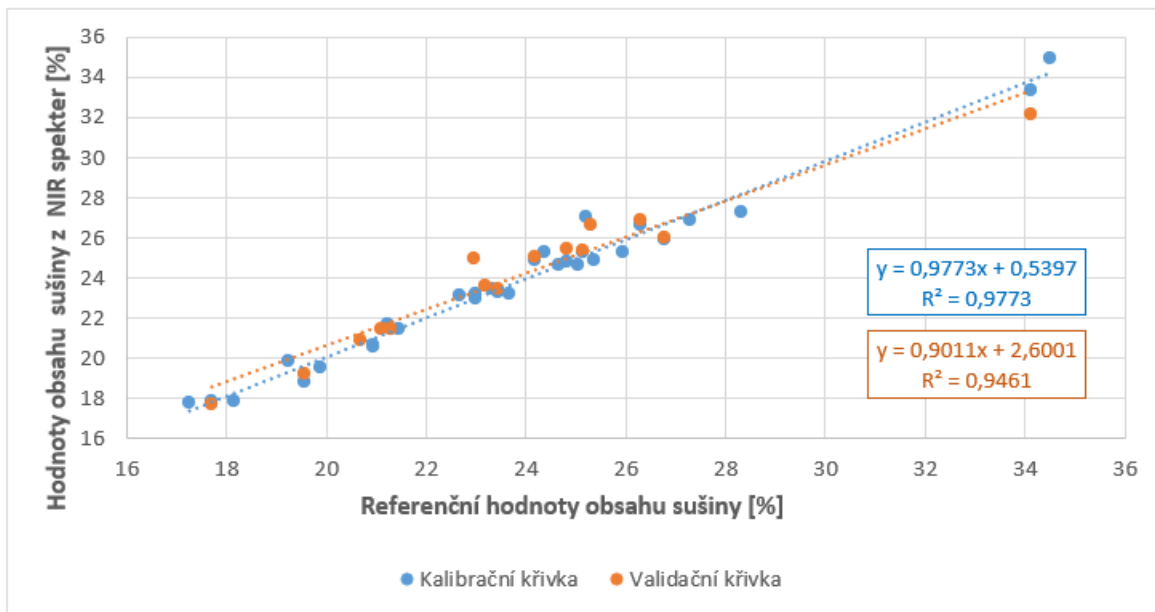
Obrázek 22: Znáznornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms

Tmavší vzorky se i nadále drží trendu, ale světlejší vzorky se s přibývajícím integračním časem více vzdalují od spojnice trendu a koeficient determinace se tím snižuje. Rovnice kalibračních a validačních přímk si jsou navzdory tomu nadále relativně podobné. Naproti modelu pro stanovení sušiny nezávislém na jasu, u těchto modelů došlo při průběhu funkce PRESS k velkému nárůstu po dosažení minima.

Pro všechny kalibrační modely sušiny s IT 13 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 6 (podkapitola 8.3.5).

8.3.4 Kalibrační modely pro obsah sušiny – IT 14 x 12,5 ms

KM nezávislý na hodnotě jasu při IT 14 x 12,5 ms byl vytvořen ze 47 spekter, z nichž 32 bylo použito na kalibraci, zbytek na jeho validaci. Jeho kalibrační a validační křivky jsou uvedeny na obrázku 23.



Obrázek 23: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislé na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms)

I model posledního integračního času kopíruje trend daný předchozími modely, a to včetně parametrů kalibrační i validační přímky. I průběh funkce PRESS se podobá jejímu průběhu u analogického modelu při IT 13 x 12,5 ms (viz příloha P1).

Pro model $L^* < 50$ při IT 14 x 12,5 ms bylo použito celkem 26 spekter, z toho 18 na samotnou kalibraci a 8 na validaci. Model $L^* > 50$ využil celkem 20 spekter, 11 na samotnou kalibraci a 9 na validaci kalibračního modelu. Křivky obou těchto modelů jsou uvedeny v přílohách P13 a P14. I tyto kalibrační modely jsou téměř totožné s modely při IT 13 x 12,5 ms, ale jejich hodnoty R^2 a chyb kalibrace a validace vykazují větší spolehlivost, stejně tak průběh funkce PRESS je ve srovnání s nimi přívětivější.

Pro všechny kalibrační modely sušiny s IT 14 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 6 (podkapitola 8.3.5).

8.3.5 Vyhodnocení kalibračních modelů pro obsah sušiny

Statistické ukazatele pro kalibrační modely obsahu sušiny v mase jsou uvedeny v tabulce 6.

Pro KM nezávislé na hodnotě L^* je rozmezí koeficientu determinace mezi 0,9577–0,9900. Stejně jako u modelů pro bílkoviny, i tady se podle všech statistických ukazatelů jeví jako nejvhodnější měřicí mód při IT 14 x 12,5 ms, a to i podle průběhu funkce PRESS (viz příloha P1), u které nedošlo k navýšení po dosažení minima. I měřicí mód při

13 x 12,5 ms se jeví jako vhodný, ale naproti měřicímu módu při IT 14 x 12,5 ms je rozdíl mezi střední kvadratickou chybou kalibrace a validace znatelný.

I pro modely $L^* > 50$ a $L^* < 50$ se R^2 pohybuje nad 0,95 a vykazují velkou míru spolehlivosti. Ačkoliv jsou statistické parametry modelů velmi podobné napříč všemi integračními časy, opět se jeví jako nejvhodnější model při IT 14 x 12,5 ms, protože jen u tohoto integračního času měla funkce PRESS předpokládaný průběh a směrnice kalibrace a validace jsou si podobné, a to hlavně u modelu $L^* < 50$.

Tabulka 6: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro obsah sušiny

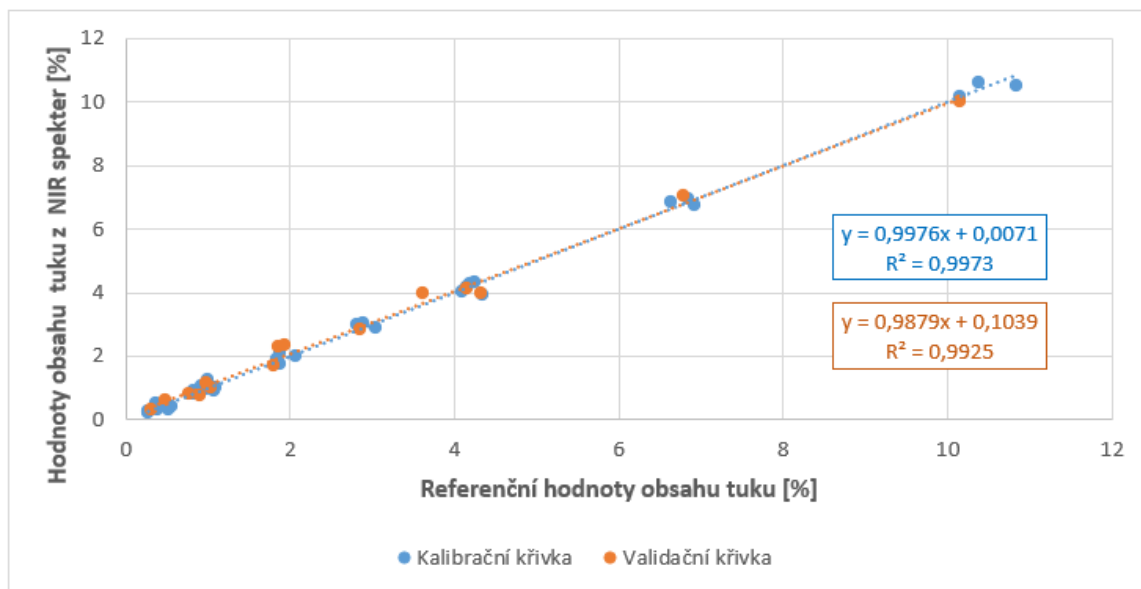
Kalibrační model	Integrační čas (X x 12,5 ms)	R^2	RMSEC [%]	RMSEV [%]	Počet PLS faktorů
Nezávislý na L^*	11	0,9577	0,865	0,955	8
	12	0,9890	0,437	1,021	10
	13	0,9900	0,424	1,145	10
	14	0,9773	0,587	0,878	8
$L^* < 50$	11	0,9966	0,265	0,739	8
	12	0,9994	0,112	0,644	9
	13	0,9994	0,227	0,707	6
	14	0,9920	0,379	0,377	6
$L^* > 50$	11	0,9875	0,366	1,088	6
	12	0,9703	0,558	0,646	5
	13	0,9506	0,729	0,818	4
	14	0,9669	0,595	0,682	4

8.4 Kalibrační modely pro obsah tuku

V podkapitolách 8.4.1 až 8.4.4 jsou uvedeny kalibrační modely nezávislé a závislé na hodnotě jasu L^* pro obsah tuku při integračních časech 11, 12, 13 a 14 x 12,5 ms.

8.4.1 Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 11 x 12,5 ms

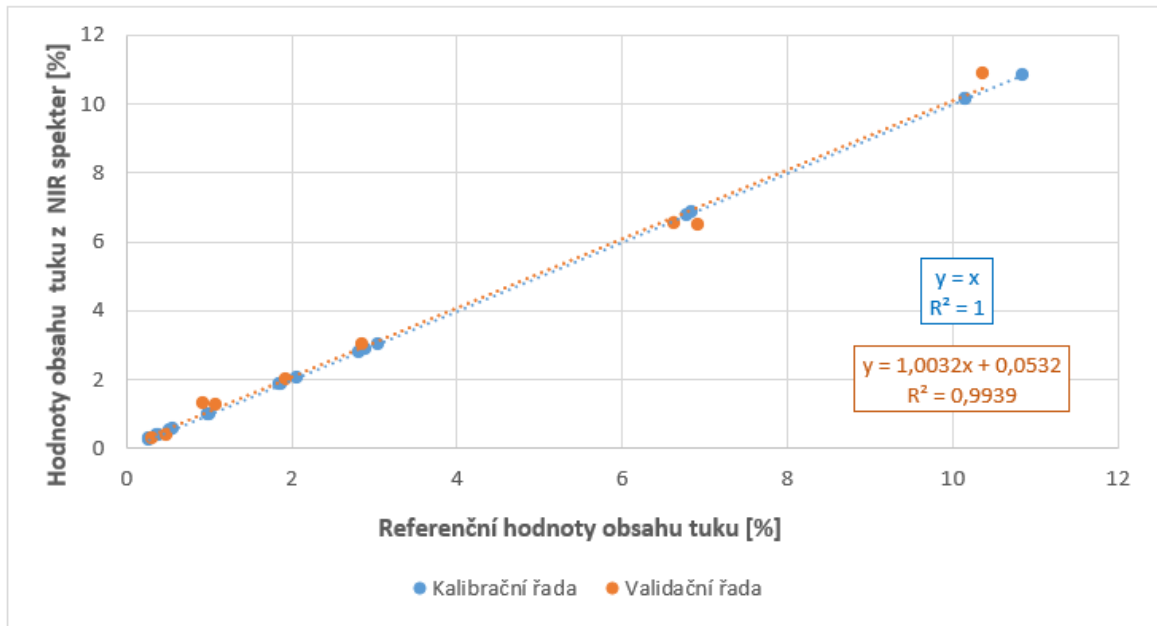
KM nezávislý na hodnotě jasu byl vytvořen ze 48 spekter, 33 z nich posloužily ke kalibraci modelu. Jeho kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 24.



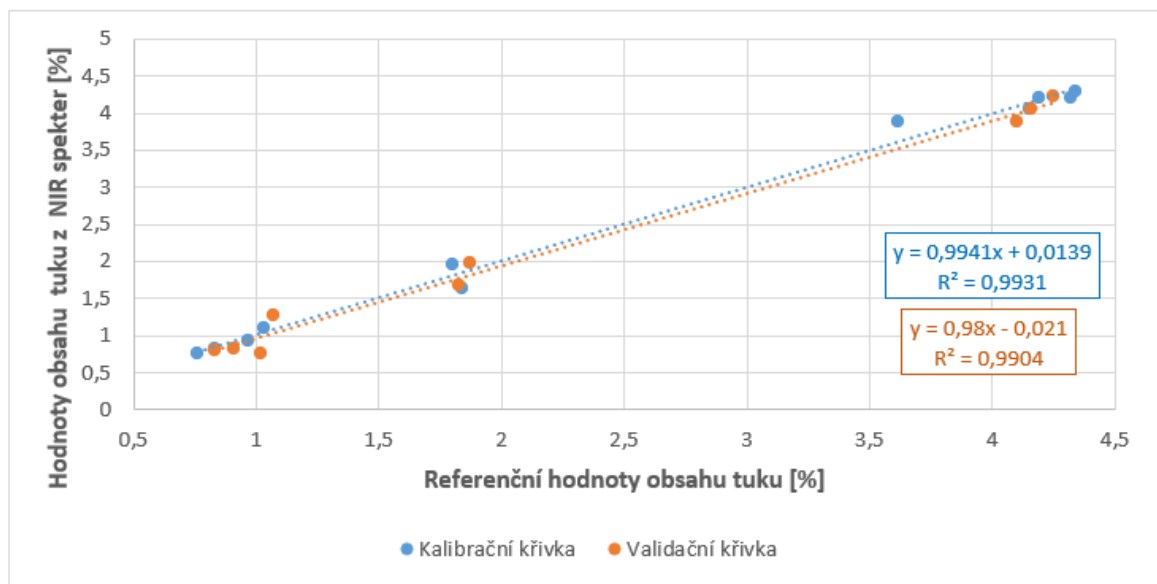
Obrázek 24: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms)

Na obrázku 24 lze vidět, že kalibrační model byl připraven ze vzorků o velkém rozpětí tučnosti, v rozmezí 0,5 až 11 % v malých seskupeních podél spojnice trendu. Nejvyšší hodnotu tuku vykazují vzorky E (losos) a F (sumeček), což odpovídá předpokladu. Směrnice kalibrační a validační křivky je téměř totožná a průběh funkce PRESS po dosažení minima téměř nevzrostl.

Pro model $L^* < 50$ při IT 11 x 12,5 ms bylo použito celkem 28 spekter, z toho 19 na samotnou kalibraci a 9 na validaci. Pro model $L^* > 50$ bylo použito celkem 20 spekter, 11 na samotnou kalibraci a 9 na validaci kalibračního modelu. Kalibrační křivky obou těchto modelů jsou uvedeny na obrázku 25 a obrázku 26.



Obrázek 25: Znáornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms



Obrázek 26: Znáornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms

Kalibrační model zobrazený na obrázku 25 vykazuje velmi velkou míru spolehlivosti, kdy rovnice přímky je $y = x$ a při průběhu funkce PRESS nedošlo k žádnému navýšení hodnot po dosažení minima (viz příloha P15). Hodnoty obsahu tuku jsou rovnoměrně rozprostřeny a umístěny na spojnici trendu. U světlejších vzorků lze pozorovat, že jejich rozpětí hodnot obsahu tuku není tak široké (do 5 %) a tvoří se seskupení na začátku a konci

tohoto rozpětí. Směrnice kalibračních a validačních křivek jsou v obou případech velmi podobné.

Pro veškeré kalibrační modely tuku s IT 11 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 7 (podkapitola 8.4.5).

8.4.2 Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 12 x 12,5 ms

Pro kalibrační model, který je nezávislý na hodnotě jasu, bylo použito 48 naměřených spekter, z nichž 33 bylo použito na vlastní kalibraci a 15 na její validaci. Závislost mezi hodnotami obsahu tuku je uvedena v příloze P16, kde je kalibrační model obsahu tuku při IT 12 x 12,5 ms je analogický k modelu při IT 11 x 12,5 a sleduje stejné trendy. U průběhu funkce PRESS ale došlo k menšímu nárůstu po dosažení minima.

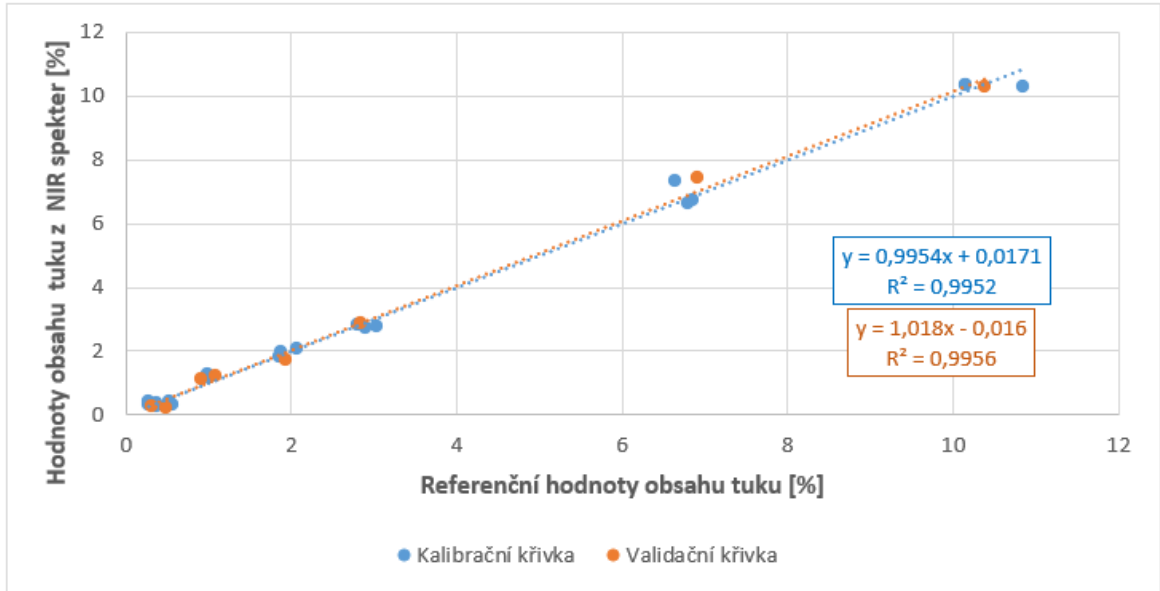
Kalibrace KM pro $L^* < 50$ byla vytvořena z 19 spekter z celkových 28, zbytek byl použit na jeho validaci. KM pro $L^* > 50$ byl vytvořen ze 14 spekter na samotnou kalibraci a 6 na jeho validaci z celkových 20. Vizualizace modelů jsou uvedeny v přílohách P17 a P18. Pro oba tyto modely jsou získané statistické ukazatele velmi podobné ukazatelům analogických modelů získaných v módu měření s integračním časem 11 x 12,5 ms. I zde, hlavně u světlejších vzorků, nejsou hodnoty obsahu tuku rovnoměrně rozprostřeny. Také proto došlo během funkce PRESS k nárůstu po dosažení minima, u tmavších vzorků k tomuto nedošlo. Bylo by tak vhodné je doplnit o další vzorky obsahující tuk v takových hodnotách, které nejsou zastoupeny v nynějším modelu.

Pro veškeré kalibrační modely tuku s IT 12 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 7 (podkapitola 8.4.5).

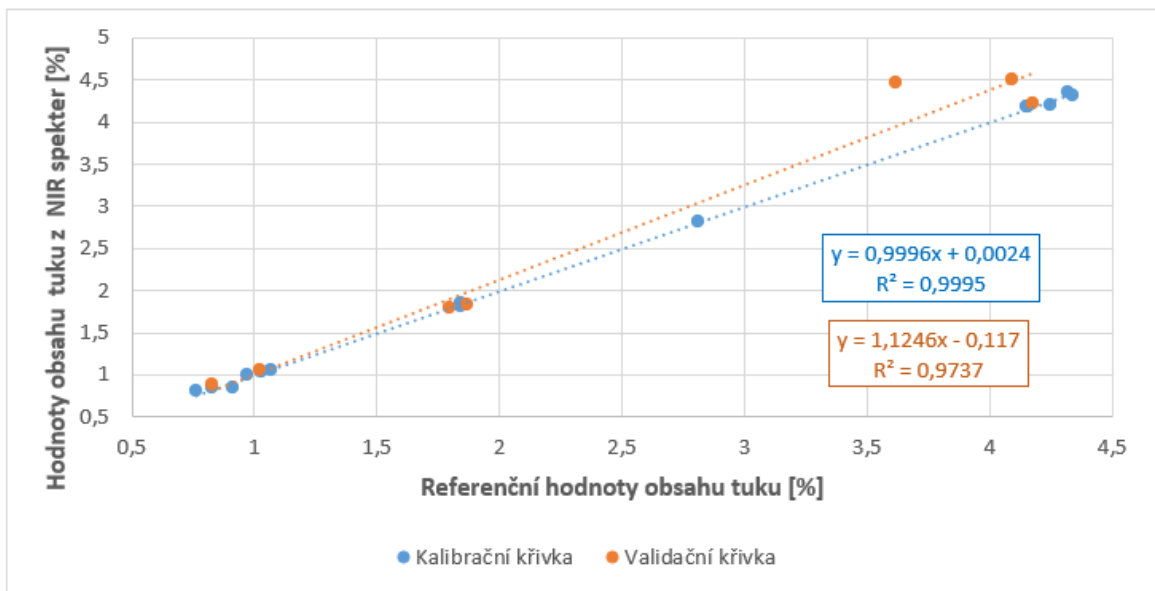
8.4.3 Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 13 x 12,5 ms

Pro kalibrační model, který je nezávislý na hodnotě jasu, bylo použito 48 naměřených spekter, z nichž 33 bylo použito na vlastní kalibraci a 15 na její validaci. Kalibrační křivka získaných obsahů tuku je uvedena v příloze P19. I tento model je analogický s modely získanými z měřících módů při IT 11 a 12 x 12,5 ms. Tento kalibrační model je vůči nim ale podle R^2 a chyb kalibrace a validace více spolehlivý, viz tabulka 7 (podkapitola 8.4.5), ačkoliv se směrnice kalibrační a validační přímky u tohoto modelu více rozcházejí. Při průběhu funkce PRESS nedošlo k téměř žádnému zvýšení po dosažení jejího minima.

KM při $L^* < 50$ byl vytvořen z celkových 28, z nichž 20 bylo použito na jeho kalibraci a 8 na jeho ověření. KM $L^* > 50$ využil 14 spekter na samotnou kalibraci a 7 na validaci. Vizualizace modelů jsou uvedeny na obrázku 27, respektive na obrázku 28.



Obrázek 27: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms



Obrázek 28: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms

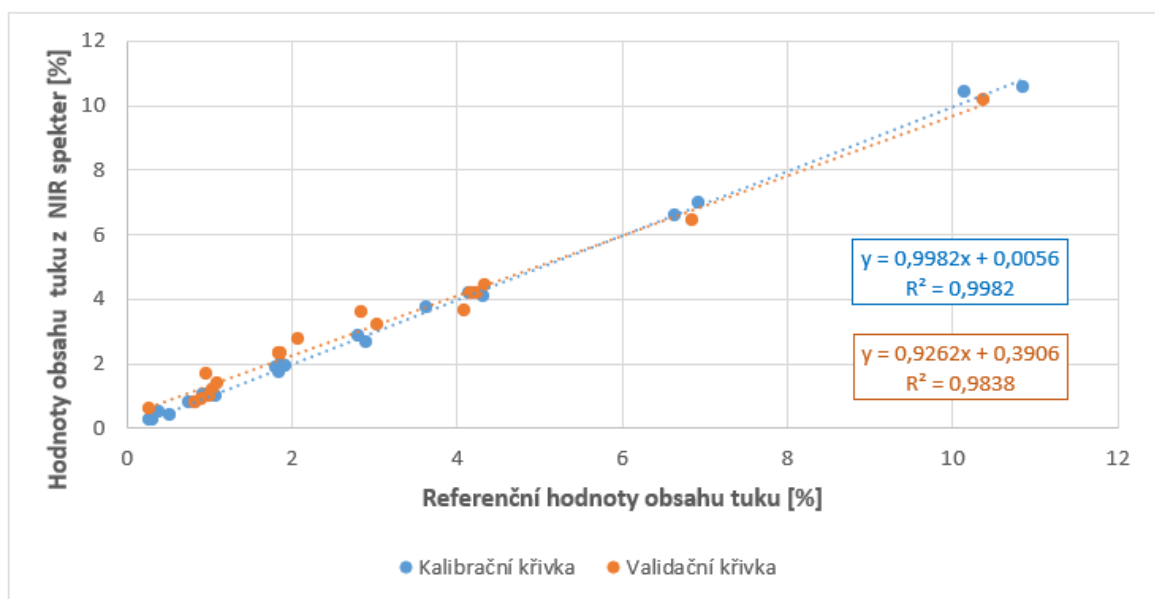
U těchto modelů došlo k malým změnám oproti analogickým modelům při nižších integračních časech. U kalibrační křivky pro tmavší vzorky dochází k malým deviacím dál od spojnice trendu v hodnotách kolem 7 a 10 %, což má za následek mírně nižší spolehlivost

modelu. Také funkce PRESS měla pro tento model atypický průběh, kdy po dosažení minima došlo k nárůstu a opětovnému poklesu funkce. Naproti tomu model pro světlejší vzorky vykazuje podle hodnot R^2 , RMSEC a RMSEV vyšší spolehlivost než jeho předchůdci, kdy všechny hodnoty jsou rovnoměrně rozmístěny podél spojnice trendu, ale směrnice kalibrační a validační křivky se u tohoto modelu více rozcházejí.

Pro veškeré kalibrační modely tuku s IT 13 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 7 (podkapitola 8.4.5).

8.4.4 Kalibrační modely pro obsah tuku – IT 14 x 12,5 ms

Kalibrační křivka modelu, který je nezávislý na hodnotě jasu, byla vytvořena ze 24 spekter z celkových 46, zbytek byl použit na její validaci. Kalibrační a validační křivky tohoto modelu jsou uvedeny na obrázku 29.



Obrázek 29: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms)

Tento model vykazuje velmi blízkou míru spolehlivosti jako jeho předchůdci při integračních časech 11, 12 a 13 x 12,5 ms, ale oproti nim, na jeho vytvoření bylo použito jen 24 spekter, což se odchyluje od poměru dat použitých na validaci a kalibraci uváděných výrobcem. Funkce PRESS dosáhla velmi dobrého průběhu, kdy po dosažení minima došlo k jen minimálnímu navýšení.

Pro model $L^* < 50$ při IT 13 x 12,5 ms bylo použito celkem 26 spekter, z toho 18 na samotnou kalibraci a 8 na validaci. Pro model $L^* > 50$ bylo použito celkem 20 spekter, 11 na samotnou

kalibraci a 9 na validaci kalibračního modelu. Kalibrační křivky obou těchto modelů jsou uvedeny v přílohách P20 a P21. Tyto modely jsou velmi blízké s modely přechozími, které jsou závislé na hodnotě L^* , a to jak rozložením hodnot podél spojnice trendu, tak svou spolehlivostí. I zde se dá považovat za spolehlivější model pro tmavší vzorky, a to kvůli podobným směrnici kalibrační a validační přímky, bližšímu rozložení hodnot podél spojnice a optimálnímu průběhu funkce PRESS. Naproti tomu u modelu světlejších vzorků dochází k vysokému nárůstu po dosažení minima během funkce PRESS a hodnoty jsou vzdálenější do spojnice trendů.

Parametry těchto modelů i modelu nezávislém na hodnotě L^* jsou uvedeny v tabulce 7 (podkapitola 8.4.5).

8.4.5 Vyhodnocení kalibračních modelů pro tuky

Statistické ukazatele pro kalibrační modely pro stanovení tuku jsou uvedeny v tabulce 7.

Z tabulky níže lze pozorovat, že všechny modely dosahují vysoké spolehlivosti, v průměru vyšší než kalibrační modely pro stanovení obsahu bílkovin a sušiny.

Koeficient determinace dosahuje u všech modelů vyjma dvou hodnoty vyšší než 0,99, u zbývajících dvou je vyšší než 0,97. Vyšší spolehlivost modelů je zapříčiněna rovnoměrnějším rozptřením hodnot tuku ve vzorcích podél velkého rozsahu hodnot. I hodnoty RMSEC a RMSEV se pohybují ve velmi nízkých hodnotách a jsou si sobě velmi podobné.

Ačkoliv jsou si sobě modely velmi podobné, v tomto případě se jako nejvhodnější měřicí mód jeví u kalibračního modelu nezávislém na L^* mód s IT 13 x 12,5 ms, a to kvůli nejvyšší hodnotě R^2 a nízkých a sobě blízkých chyb kalibrace a validace. V neposlední řadě měla u tohoto měřicího módu funkce PRESS optimální průběh. Ze stejných důvodů je měřicí mód s IT 13 x 12,5 ms nejvhodnější pro modely $L^* > 50$.

U modelu $L^* < 50$ je nejvhodnější mód při IT 11 x 12,5 ms, kdy $R^2 = 1$ a hodnota RMSEC dosahuje pouze 0,003. Během průběhu funkce PRESS také nedošlo k žádnému nárůstu po dosažení minima (viz příloha P15).

Tabulka 7: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro obsah tuku

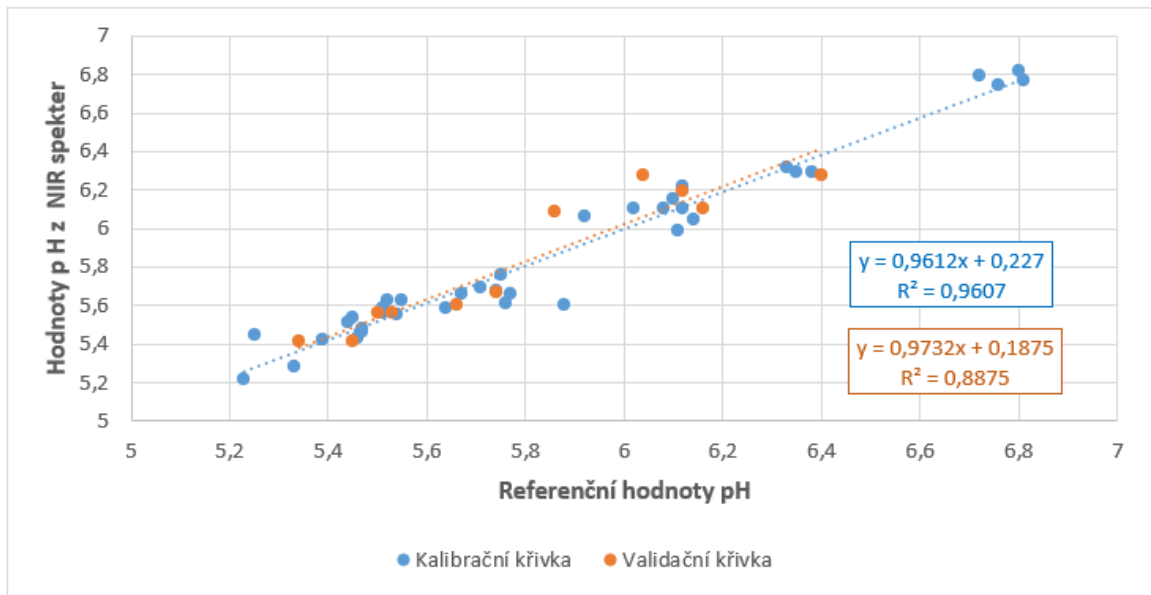
Kalibrační model	Integrační čas (X x 12,5 ms)	R ²	RMSEC [%]	RMSEV [%]	Počet PLS faktorů
Nezávislý na L*	11	0,9973	0,156	0,227	7
	12	0,9982	0,129	0,177	7
	13	0,9993	0,078	0,435	10
	14	0,9982	0,124	0,476	10
L* < 50	11	1,000	0,003	0,267	12
	12	0,9989	0,119	0,140	5
	13	0,9952	0,247	0,237	4
	14	0,9987	0,120	0,236	4
L* > 50	11	0,9931	0,125	0,140	4
	12	0,9787	0,220	0,176	4
	13	0,9995	0,033	0,298	7
	14	0,9899	0,150	0,228	4

8.5 Kalibrační modely pro hodnotu pH

V podkapitolách 8.5.1 až 8.5.4 jsou uvedeny kalibrační modely nezávislé a závislé na hodnotě jasu L* pro hodnotu pH při integračních časech 11, 12, 13 a 14 x 12,5 ms.

8.5.1 Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 11 x 12,5 ms

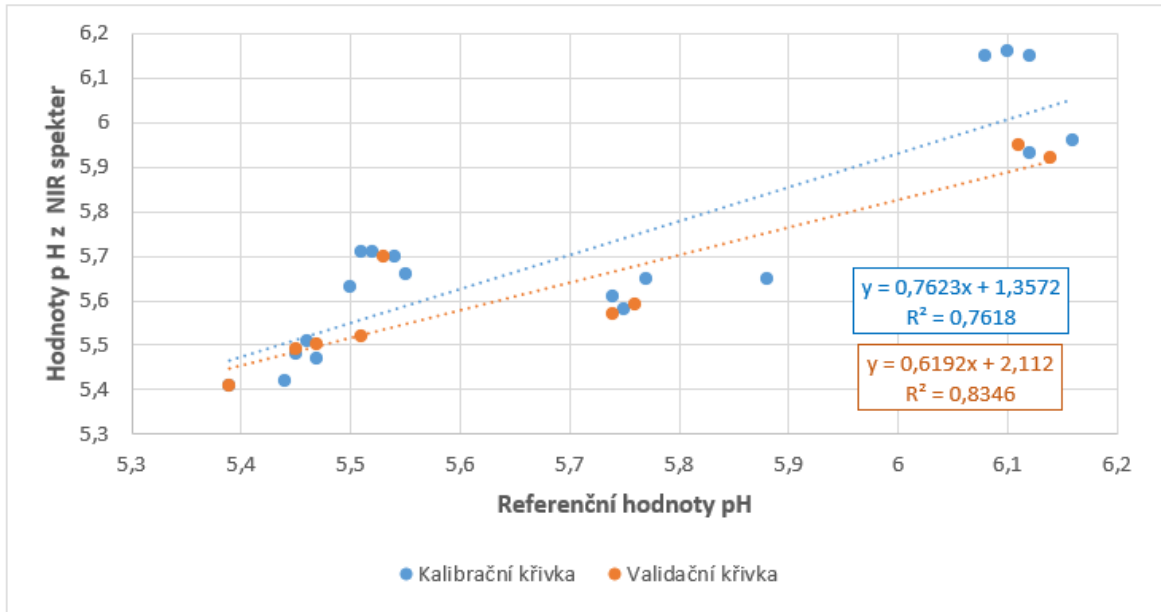
KM nezávislý na hodnotě jasu byl zhotoven z celkových 48 spekter, z nichž 37 bylo použito na jeho kalibraci, zbylých 11 na jeho validaci. Jeho kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 30.



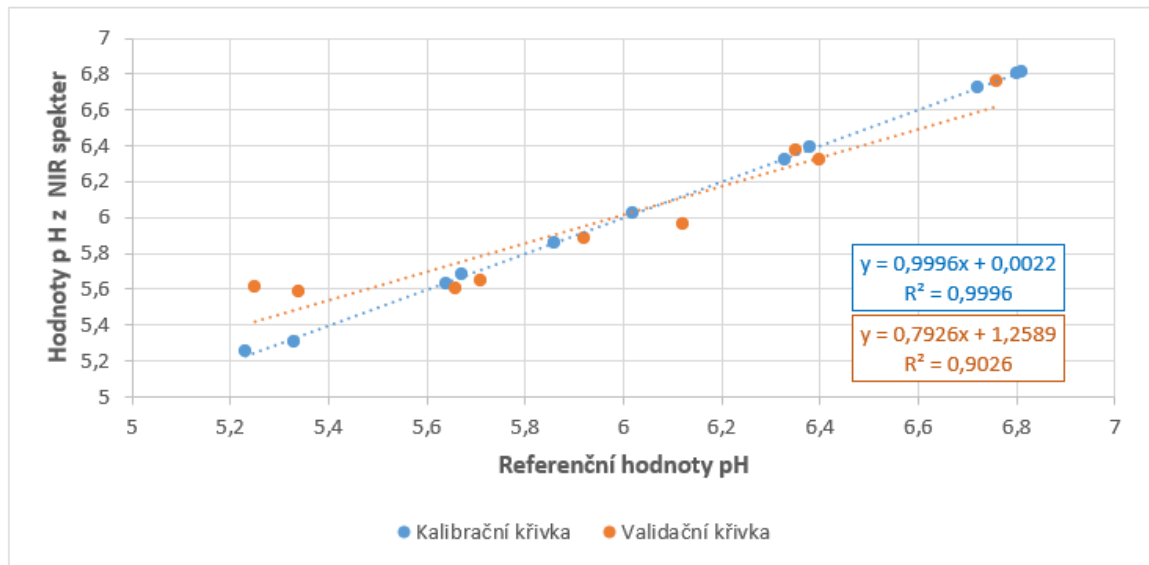
Obrázek 30: Znáornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms)

Na obrázku výše lze pozorovat rovnoměrné rozložení hodnot pH podél spojnice trendů mezi 5,2–6,7. pH svaloviny je mírně kyselé kvůli hromadění kyseliny mléčné během postmortálních změn, proto byl takový rozsah očekávaný. I přes relativně malý rozsah hodnot se podařilo vytvořit relativně spolehlivý kalibrační model. Rovnice kalibrační a validační přímky jsou si dostatečně podobné, ale průběh funkce PRESS nebyl optimální, protože došlo k jejímu velkému navýšení po dosažení minima.

Pro model tmavých vzorků (L^* menší než 50) bylo použito 28 spekter, z toho 19 na kalibraci a 9 na validaci. Pro KM pro světlé vzorky (L^* větší než 50) bylo využito 20 spekter, 11 na kalibraci a 9 na validaci kalibračního modelu. Jejich kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 31 a obrázku 32.



Obrázek 31: Znáznornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms



Obrázek 32: Znáznornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms

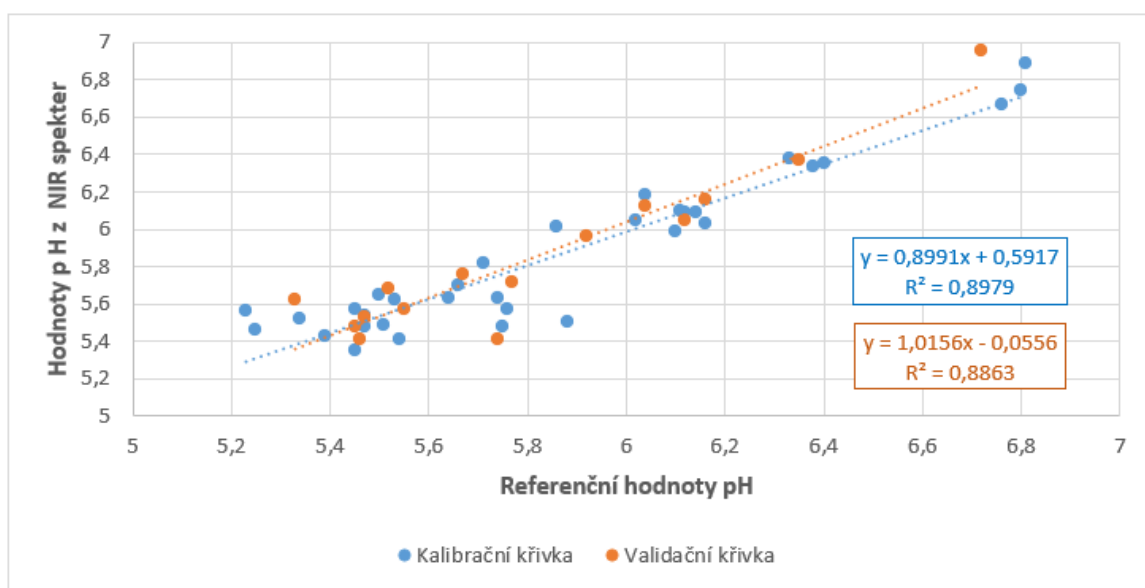
Na kalibrační křivce pro tmavší vzorky lze pozorovat, že hodnoty tvoří malé seskupení daleko od spojnice trendů a nejsou rovnoměrně rozprostřeny podél celého rozsahu hodnot. Směrnice kalibrační přímky se razantně liší od přímky validační a průběh funkce PRESS byl naprosto neoptimální, kdy funkce dosáhla maxima až po dosažení minima. Tento model se proto nedá považovat za spolehlivý. Naproti tomu kalibrační křivka pro světlejší vzorky ukazuje rovnoměrné rozdělení hodnot po celé délce spojnice trendů a funkce PRESS měla

optimální průběh. I přesto je i u tohoto modelu značný rozdíl ve směrnicih kalibrační a validační přímky.

Parametry těchto modelů i modelu nezávislém na hodnotě L^* jsou uvedeny v tabulce 8 (podkapitola 8.5.5).

8.5.2 Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 12 x 12,5 ms

KM nezávislý na hodnotě jasu byl vytvořen celkem ze 48 spekter, z nichž 33 bylo použito na jeho kalibraci, zbytek na jeho ověření. Jeho kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 33.



Obrázek 33: Znáornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)

Tato kalibrační křivka ukazuje podobné rozložení hodnot po celém rozsahu hodnot pH od 5,2 do 6,7, které se ale více vzdalují od spojnice trendu než v analogickém modelu při měřicím módu s IT 11 x 12,5 ms, proto je koeficient determinace ztelně nižší.

Pro model závislý na hodnotě L bylo pro tmavé vzorky (L^* menší než 50) použito 28 spekter, z toho 19 na kalibraci a 9 na validaci. Pro světlé vzorky (L^* větší než 50) bylo pro tvorbu modelu využito 20 spekter, 14 na kalibraci a 6 na validaci kalibračního modelu. Kalibrační křivky obou těchto modelů jsou uvedeny v přílohách P22 a P23. U kalibrační křivky pro tmavší modely si lze povšimnout podobného rozprostření hodnot po celém rozpětí jako při IT 11 x 12,5 ms, ale jsou blíže spojnicí trendů, což má za následek razantní zvýšení spolehlivosti modelu oproti tomuto modelu při IT 11 x 12,5 ms. Ovšem průběh funkce

PRESS (příloha P24) byl nevyhovující, jelikož funkce dosáhla maxima až po dosažení minima. Kalibrační model pro světlejší vzorky je velmi blízký jeho předchozímu analogickému modelu, včetně rozdílu ve směrnících křivek a průběhu funkce PRESS.

Pro veškeré kalibrační modely tuku s IT 13 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 8 (podkapitola 8.4.5).

8.5.3 Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 13 x 12,5 ms

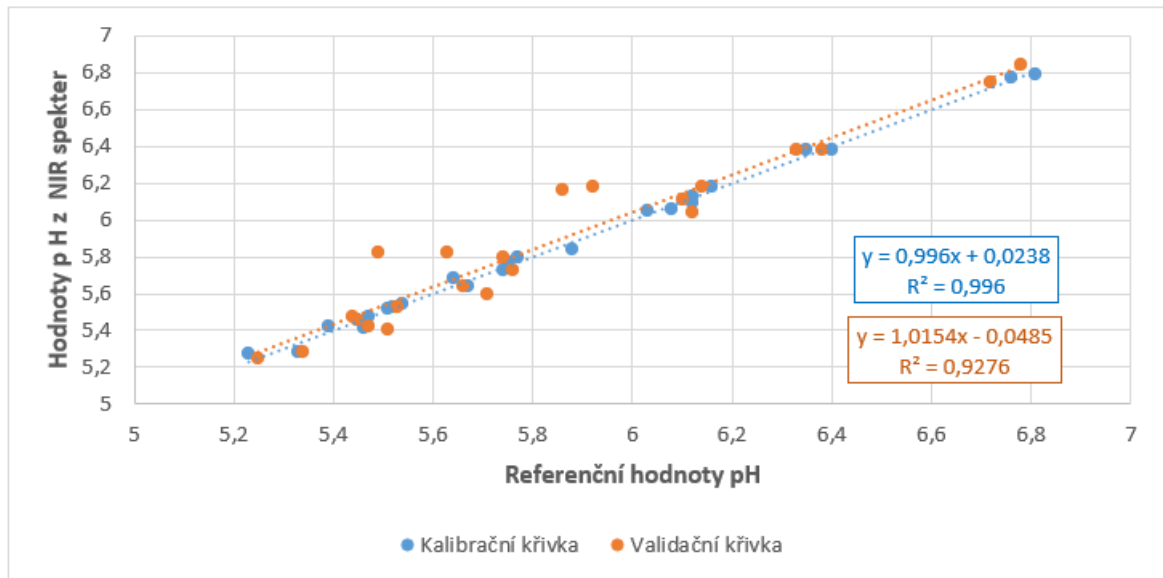
Kalibrační křivka modelu, který je nezávislý na hodnotě jasu, byla vytvořena z 25 spekter z celkových 48, zbytek byl použit na její validaci. Kalibrační a validační křivky tohoto modelu jsou uvedeny v příloze P25. Tento model vykazuje velmi blízkou míru spolehlivosti jako jeho analog při integračním čase 11 x 12,5 ms, ale oproti němu na jeho vytvoření bylo použito jen 25 spekter ze 48, což se odchyľuje od poměru dat použitých na validaci a kalibraci uváděných výrobcem. Také proto během funkce PRESS došlo k relativně vysokému nárůstu po dosažení minimální hodnoty.

Pro model $L^* < 50$ při IT 13 x 12,5 ms pro hodnotu pH bylo použito celkem 28 spekter, z toho 19 na samotnou kalibraci a 9 na validaci. Na model $L^* > 50$ bylo použito celkem 21 spekter, 15 na samotnou kalibraci a 6 na validaci kalibračního modelu. Kalibrační a validační křivky obou těchto modelů jsou uvedeny v přílohách P26 a P27. Oba tyto modely se svým rozdělením i spolehlivostí podobají analogickým modelům při měřicím módu s integračním časem 11 x 12,5 ms včetně průběhu funkce PRESS a rozdílu směrníc kalibrace a validace.

Parametry těchto modelů i modelu nezávislém na hodnotě L^* jsou uvedeny v tabulce 8 (podkapitola 8.5.5).

8.5.4 Kalibrační modely pro hodnotu pH – IT 14 x 12,5 ms

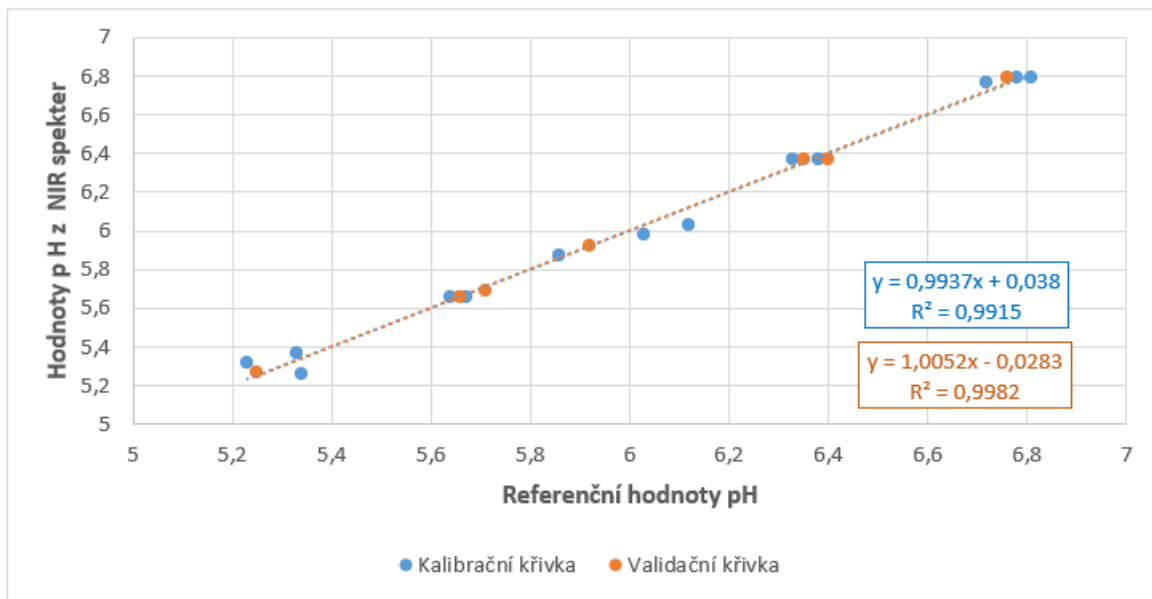
KM nezávislý na hodnotě jasu byl vytvořen celkem ze 46 spekter, z nichž 24 bylo použito na jeho kalibraci, zbytek na jeho validaci. Jeho kalibrační a validační křivky jsou zobrazeny na obrázku 34.



Obrázek 34: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms)

U tohoto kalibračního modelu lze pozorovat rovnoměrné rozdělení hodnot podél spojnice trendů v celém rozsahu stejně jako u předchozích modelů pro hodnotu pH nezávislých na hodnotě L^* . Model vykazuje vysokou míru spolehlivosti a průběh funkce PRESS byl optimální, kdy nedošlo k žádnému nárůstu funkce po dosažení minima. Nevýhodou modelu je poměr spekter využitých na kalibraci a validaci.

Pro model tmavých vzorků (L^* menší než 50) bylo použito 26 spekter, z toho 18 na kalibraci a 8 na validaci. Pro KM pro světlé vzorky (L^* větší než 50) bylo využito 20 spekter, 13 na kalibraci a 7 na validaci kalibračního modelu. Jejich vizualizace jsou uvedeny v příloze P28, respektive na obrázku 35.



Obrázek 35: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms

I u posledních kalibračních modelů pro hodnotu pH, který je závislý na hodnotě jasu, lze pozorovat stejné trendy jako u předchozích modelů. Model pro tmavší vzorky se nedá považovat za dostatečně spolehlivý. Naproti tomu kalibrační model pro světlejší vzorky vykazuje nejvyšší spolehlivost oproti analogickým modelům při nižších integračních časech. Pro veškeré kalibrační modely tuku s IT 14 x 12,5 ms jsou jejich parametry uvedeny v tabulce 8 (podkapitola 8.4.5).

8.5.5 Vyhodnocení kalibračních modelů pro pH

Statistické ukazatele pro stanovení pH jsou uvedeny v tabulce 8.

Z tabulky 8 je patrné, že kalibrační modely pro pH nevykazují tak velkou míru spolehlivosti jako kalibrační modely pro jiné parametry, a to hlavně kvůli menšímu rozsahu hodnot pH ve vzorcích.

V případě modelů nezávislých na hodnotě L^* se za nespolehlivý model může považovat měřící mód 12 x 12,5 ms, kde R^2 dosahuje hodnoty pouze 0,8979. Ostatní modely nezávislé na hodnotě jasu jsou relativně spolehlivé jak podle hodnot R^2 , tak podle hodnot středních kvadratických chyb kalibrace a validace. Jako nejlepší kalibrační model se dá označit měřící mód s integračním časem 14 x 12,5 ms s $R^2 = 0,9960$ a s hodnotami RMSEC = 0,027 a RMSEV = 0,120.

Za to žádný z kalibračních modelů pro $L^* < 50$ se nedá považovat za spolehlivý. Pouze při IT 11 a 13 x 12,5 ms dosahují modely těsně na hranici spolehlivosti, ale kvůli rozdílům mezi směrnici validačních a kalibračních přímek a nevhodnému průběhu funkce PRESS se ani tyto nedají považovat za dostatečně spolehlivé.

Kalibrační modely $L^* > 50$ naproti tomu dosahují velmi spolehlivých hodnot nad $R^2 = 0,99$. Všechny tyto modely jsou si v hodnotách koeficientu determinace chyb kalibrace a validace a průběhu funkce PRESS natolik podobné, že není zřejmé, který by se dal považovat za nejvhodnější. Všechny se dají považovat za relativně vhodné modely.

Tabulka 8: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro pH

Kalibrační model	Integrační čas (X x 12,5 ms)	R^2	RMSEC [%]	RMSEV [%]	Počet PLS faktorů
Nezávislý na L^*	11	0,9607	0,088	0,114	8
	12	0,8979	0,140	0,139	3
	13	0,9699	0,079	0,083	7
	14	0,9960	0,027	0,120	10
$L^* > 50$	11	0,7618	0,132	0,135	1
	12	0,9385	0,067	0,086	7
	13	0,8682	0,099	0,087	4
	14	0,9182	0,076	0,073	4
$L^* > 50$	11	0,9996	0,010	0,159	7
	12	0,9995	0,012	0,072	7
	13	0,9990	0,017	0,079	9
	14	0,9915	0,050	0,021	9

9 VYHODNOCENÍ A DISKUZE

V rámci této práce byla zkoumána možnost tvorby kalibračních modelů pro stanovení bílkovin, sušiny, tuku a pH v mase pro vzorky nerozdělené podle druhové příslušnosti a rozdělené podle hodnoty jasu.

Nejdříve byly tyto parametry stanoveny pomocí chemometrických metod. Obsah bílkovin, stanovený metodou podle Kjeldahla, se ve většině vzorků se pohyboval mezi 19 a 23 %. Obsah sušiny zase mezi 20 a 27 %. Obsah tuků, stanovený metodou dle Soxhleta, se pohyboval ve větším rozpětí hodnot od 0,3 % do 10 %. Takto nízký obsah tuku byl zapříčiněn odstraněním tučných částí před samotným stanovením. Hodnoty pH se podle očekávání pohybovaly mezi 5,30 až 6,78, tedy v mírně kyselém prostředí. Tyto hodnoty odpovídaly údajům nalezeným v literatuře, kromě obsahu bílkovin ve vzorku D (pangasius). [72, 73, 74] U všech parametrů kromě pH bylo získáno velké rozpětí hodnot pro tvorbu kalibračních modelů.

Ze stanovení barvy vzorků vyplynulo, že se všechny vzorky pohybovaly blíže k červené barvě vykazující kladné hodnoty a^* , s výjimkou vzorku D (pangasius). Na barevné škále žlutá-modrá (hodnota b^*) se většina vzorků pohybovala v kladných hodnotách kolem 15. Tyto hodnoty souhlasí s hodnotami nalezenými v literatuře. [106, 107]

Pro účely této práce bylo sestaveno celkem 48 kalibračních modelů, které jsou uvedeny v podkapitolách 8.2 až 8.5 pro stanovení bílkovin, sušiny, tuku a pH, nezávislé a závislé na barvě vzorku. Vyhodnocení vytvořených kalibračních modelů je uvedeno v posledních podkapitolách kapitol 8.2–8.5, z nichž vyplývá, že pro stanovení bílkovin a sušiny se jako nejvhodnější měřicí mód jeví IT 14 x 12,5 ms a to jak pro modely nezávislé na hodnotě L^* i pro modely na ní závislé. Pro stanovení tuku se jako nejvhodnější čas jeví IT 13 x 12,5 ms, ačkoliv všechny kalibrační modely vytvořené pro stanovení tuku se daly považovat za velmi spolehlivé. Vyšší spolehlivost modelů je zapříčiněna rovnoměrnějším rozptřením hodnot tuku ve vzorcích podél velkého rozsahu hodnot. Kvůli malému rozsahu hodnot pH, nevykazují kalibrační modely pro stanovení pH tak velkou míru spolehlivosti u všech integračních časů jako kalibrační modely pro jiné parametry. Modely $L^* < 50$ lze považovat za nespolehlivé a nevhodné. Modely nezávislé na hodnotě L^* vykazovaly vyšší spolehlivost, kdy se opět jako nejvhodnější jeví měřicí mód IT 14 x 12,5 ms.

Modely byly prověřeny Studentovým t-testem pro hladinu významnosti 0,05 a 0,01, kdy se testovací kritéria pohybovala hluboko pod tabulkovou kritickou hodnotou.

Rozdíly mezi hodnotami daných parametrů byly tedy jen náhodným jevem a nebyly statisticky významné.

V potravinářském průmyslu byla infračervená spektroskopie hojně využita v řadě studií a byla využita na stanovení celé řady parametrů, viz kapitola 3.

Tvorbou kalibračních modelů pro stanovení obsahu bílkovin, tuku a sušiny v hovězím mase se zabýval Su et al. (2014). Pro měření byla využita vlnová délka 1000–1800 nm a výsledné kalibrační modely se daly považovat za spolehlivé, kdy R^2 pro bílkoviny dosahovalo hodnoty 0,920–0,990, pro sušinu zase 0,920–0,997 a pro tuk 0,998. [108]

Prevolnik et al. (2010) se zabýval stanovením stejných parametrů jako Su et al. (2014), ale ve vícero druzích masa se zaměřením na maso vepřové. Vlnová délka použitá pro tuto práci se pohybovala ve vysokém rozpětí 400–2500 nm. Největší spolehlivost podle koeficientu determinace vykazovaly modely pro stanovení obsahu tuku s hodnotou 0,96–0,99. Pro obsah sušiny tyto hodnoty dosahovaly 0,91–0,99, ale pro obsah bílkovin bylo rozpětí od 0,10–0,99. Tento velký rozsah byl zapříčiněn kalibračním modelem pro obsah bílkovin v prasečím svalu *latissimus dorsi*, což je podle autora nejspíše zapříčiněno malým rozsahem hodnot obsahu bílkovin v tomto svalu. [109]

Několik článků se věnovalo i stanovení těchto parametrů v drůbežím mase, například Riovanto et al. (2012) nebo Zhou et al. (2012), kteří se zabývali stanovením PUFA, MUFA a SFA, nebo Berzaghi et al. (2005), který stanovoval v rozsahu vlnové délky 1100–2498 nm nejen obsah tuků ($R^2 = 0,99$), ale i bílkovin ($R^2 = 0,91$) a sušiny ($R^2 = 0,96$). [110, 111, 112]

I rybí maso bylo podrobena podobným studiím, například Uddin et al. (2006) použil NIR spektroskopii v oblasti mezi 400 a 1100 nm k posouzení obsahu vody a proteinů v surimi. U kalibračních modelů byly pozorovány spolehlivé parametry ($R^2 = 0,9815$ pro bílkoviny a $R^2 = 0,9779$ pro vodu). [113] Dále pak Cozzolino et al. (2005) sledoval volné mastné kyseliny a vlhkost v rybím tuku. NIR spektroskopie prokázala dostatečnou spolehlivost v predikci volných mastných kyselin ($R^2 = 0,96$) a vlhkosti ($R^2 = 0,94$). [114]

Navzdory nižšímu počtu kalibračních vzorků je patrné, po porovnání dosažených výsledků s hodnotami publikovanými jinými autory, že v rámci práce byly sestrojeny kvalitní hodnotné kalibrační modely pro stanovení obsahu bílkovin, sušiny, tuku a do menší míry i pH, a to hlavně pro kalibrační modely pro vzorky nerozdělené podle druhové příslušnosti, které vykazovaly vyšší míru spolehlivosti než kalibrační modely vytvořené pro zredukovaný set dat. Podle získaných hodnot koeficientu determinace a poměrně nízkých hodnot RMSEC

a RMSEV se jako nejvhodnější integrační čas jevil IT 14 x 12,5 ms a to pro stanovení bílkovin, sušiny a pH. Kalibrační modely pro stanovení tuku všechny vykazovaly velmi vysokou míru spolehlivosti.

ZÁVĚR

Pro účely této práce byla vytvořena databáze NIR spekter vybraných druhů hovězího, vepřového, drůbežího a rybího masa, u kterých byly nejprve určeny referenční hodnoty daných parametrů a které posléze byly využity na tvorbu kalibračních modelů pro všechny vzorky a následně i kalibrační modely pro vzorky rozdělené na základě hodnoty jasu.

Kalibrační modely byly posouzeny z hlediska jejich spolehlivosti podle směrnice přímky rovnice, koeficientu determinace a středních kvadratických chyb kalibrace a validace. Důraz byl kladen na porovnání modelů při jednotlivých integračních časech. Největší spolehlivost pro modely nezávislé na hodnotě L^* vykazoval měřicí mód při integračním čase 14 x 12,5 ms. Pro stanovení obsahu tuku dokonce všechna měření ve vybraných integračních časech vyústila ve velmi spolehlivé kalibrační modely. Naproti tomu většina kalibračních modelů pro stanovení hodnoty pH se ukázala jako méně spolehlivá, a to hlavně kvůli malému rozpětí hodnot pH u vzorků. I tak se ale i zde podařilo získat spolehlivý kalibrační model u měřicího módu s IT 14 x 12,5 ms. Tyto modely mohou být rozšiřovány větší škálou vzorků, která povede k získání modelů s větší spolehlivostí.

Kalibrační modely závislé na hodnotě L^* byly méně robustní, hlavně co se kalibračních modelů pro stanovení pH týče. To bylo zapříčiněno malým množstvím vzorků s nedostačeným rozsahem hodnot. I tak se podařilo získat několik relativně spolehlivých na jas závislých kalibračních modelů, za nejvhodnější integrační časy byly považovány IT 11 a 12 x 12,5 ms, ačkoliv ani při těchto časech spolehlivost modelu nedosahovala takových hodnot jako u kalibračních modelů nezávislých na L^* . Za jediný kalibrační model, který svou spolehlivostí mohl konkurovat modelům nezávislým na jas, se dá považovat pouze kalibrační model $L^* < 50$ při IT 11 x 12,5 ms pro stanovení tuku.

Z výše uvedeného vyplývá, že pro tvorbu kalibračních modelů pro různé druhy masa bez rozdělení podle druhové příslušnosti je nejvhodnější integrační čas 14 x 12,5 ms. Modely vytvořené z měřicího módu při tomto integračním čase vykazovaly velkou míru spolehlivosti pro všechny stanovované složky. Pro ověření funkčnosti kalibračního modelu, lze změřit anonymní vzorky masa při IT 14 x 12,5ms. Tento i další modely by mohly být začleněny do stávajících knihoven a rozšiřovány větší škálou vzorků, která povede k získání modelů s větší spolehlivostí a ke zlepšení dříve vytvořených modelů. Po doplnění modelů o hodnoty parametrů, které v nich momentálně chybí, by se základ poskytnutý v této práci mohl využít pro implementaci analýzy těchto parametrů v souborech vzorků nedělených

podle druhu masa, což by jak v průmyslu, tak ve výzkumu vedlo ke zkrácení doby potřebné k dané analýze i k nižším finančním nákladům. Zároveň by se tato práce mohla použít jako odrazový můstek pro obdobný výzkum tvorby kalibračních modelů masných výrobků z různých druhů mas.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] OZAKI, Y.; GENKAWA, T. a FUTAMI, Y. Near-Infrared Spectroscopy. In: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*. Elsevier, 2017, s. 40-49. ISBN 978-0-12-803224-4.
- [2] DIEM, M. *Modern vibrational spectroscopy and micro-spectroscopy: theory, instrumentation, and biomedical applications*. Chichester: Wiley, 2015. ISBN 978-1-118-82492-4.
- [3] STUART, B. *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. Analytical techniques in the sciences. Chichester: Wiley, 2004. ISBN 978-0-470-01114-0.
- [4] PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2003, roč. 14, č. 2, s. 198-219.
- [5] OZAKI, Y. Near-infrared spectroscopy-its versatility in analytical chemistry. *Analytical Science*. 2012, roč. 28, č. 6, s. 545-563.
- [6] OZAKI, Y. NIR spectroscopy - What a wonderful world!. *Sage Journals*. 2022, roč. 22, č. 33, s. 10-17.
- [7] POREP, J.; KAMMERER, D. a CARLE, R. On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. *Trends in Food Science & Technology*. 2015, roč. 46, č. 2, s. 211-230. ISSN 09242244.
- [8] FERRARI, M. a V., Quaresima. A brief review on the history of human functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) development and fields of application. *NeuroImage*. 2012, roč. 63, č. 2, s. 921-935. ISSN 10538119.
- [9] LARKIN, P. *Infrared and raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. 2. vydání. Amsterdam: Elsevier, 2018. ISBN 978-0-12-804162-8.
- [10] SETNIČKA, V. a MATĚJKA, M. *Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie II*. 6. vydání. Praha: VŠCHT Praha, 2001. ISBN 80-7080-451-3.
- [11] SIESLER, H.; OZAKI, Y.; KAWATA, S. a HEISE, H. Near-infrared spectroscopy. Principles, instruments, applications. *Journal of Chemometrics*. 2002, roč. 16, č. 12, s. 636-638.
- [12] SKOOG, D.; WEST, D.; HOLLER, F. a CROUCH, S. Úvod do spektrochemických metod. In: *Analytická chemie*. Praha: VŠCHT Praha, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [13] NICOLET CZ. *Molekulová spektroskopie a vibrační přechody*. Online. Dostupné z: <https://nicoletcz.cz/vibracni-prechody/>. [cit. 2024-01-20].
- [14] JENSEN, P. An introduction to the theory of local mode vibrations. *Molecular Physics*. 2000, roč. 98, č. 17, s. 1253-1285.
- [15] POLEDNOVÁ, I. *Možnosti rozlišení aromatických esencí a jejich charakterizace pomocí vibrační spektroskopie*. Bakalářská práce. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2021.
- [16] NĚMCOVÁ, I. *Spektrometrické analytické metody*. 2. vydání. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0776-X.
- [17] KANIA, P. *Infračervená spektrometrie*. Online. Praha, 2007. Dostupné z: <https://uanlch.vscht.cz/files/uzel/0012437/0007~~M9f1dAYA.pdf?redirected>. [cit. 2024-01-22].
- [18] ZÁRUBA, K. *Analytická chemie 2. díl*. Praha: VŠCHT Praha, 2016. ISBN 978-80-7080-951-8.
- [19] PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA UNIVERZITY KARLOVY. *Návody na cvičení z analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy*. Online. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/analchem/pprakt/ftir.pdf>. [cit. 2024-02-01].

- [20] SILVERSTEIN, R.; WEBSTER, F. a KIEMLE, D. *Spektroskopowe metody identyfikacji związków organicznych*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2007. ISBN 978-83-01-15071-6.
- [21] HAYES, P.; VAHUR, S. a LEITO, I. ATR-FTIR spectroscopy and quantitative multivariate analysis of paints and coating materials. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2014, roč. 133, s. 207-213. ISSN 13861425.
- [22] GRIM, V.M.; FATELEY, W.G. a GRASSELLI, J.G. Introduction to Dispersive and Interferometric Infrared Spectroscopy. In: *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Boston: D. Reidel Publishing Company, 1984, s. 25-42.
- [23] BRUKER. *FT-IR or IR Spectroscopy?* Online. Dostupné z: <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy/difference-ir-vs-ftir.html>. [cit. 2024-02-02].
- [24] RAWAT, D. a KUMAR, D. *Organic Spectroscopy – Module 7: Instrumentation for IR spectroscopy*. Online. SGTB Khalsa College, Univeristy of Delhi. Dostupné z: http://epgp.inflibnet.ac.in/epgpdata/uploads/epgp_content/chemistry/12.organic_spectroscopy/07_instrumentation_for_ir_spectroscopy/et/7485_et_et.pdf. [cit. 2024-02-02]
- [25] MILLS, A. *The Nernst Lamp ELECTRICAL CONDUCTIVITY IN NON-METALLIC MATERIALS*. Online. 2013. Dostupné z: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:46146622>. [cit. 2024-02-03].
- [26] DUTTA, A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: *Spectroscopis Methods for Nanomaterials Characterization*. Elsevier, 2017, s. 73-93. ISBN 978-0-323-46140-5.
- [27] KLÍČ, A.; VOLKA, K. a DUBCOVÁ, M. *Fourierova transformace s příklady z infračervené spektroskopie*. 3. vydání. Praha: VŠCHT Praha, 2008. ISBN 978-80-7080-478-0.
- [28] PRIETO, N.; PAWLUCZYK, O.; DUGAN, M. a AALHUS, J. A Review of the Principles and Applications of Near-Infrared Spectroscopy to Characterize Meat, Fat, and Meat Products. *Applied Spectroscopy*. 2017, roč. 71, č. 7, s. 1403-1426. ISSN 1943-3530.
- [29] LI, Y. a YANG, X. Quantitative analysis of near infrared spectroscopic data based on dual-band transformation and competitive adaptive reweighted sampling. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2023, roč. 285, s. 121924. ISSN 13861425.
- [30] COOPER, P.J. NIR Analysis for process control. *Cereal Foods World*. 1983, č. 28, s. 241-245.
- [31] QIANXUAN, Z.; QINGBO, L. a GUANGJUN, Z. Rapid Determination of Leaf Water Content Using VIS/NIR Spectroscopy Analysis with Wavelength Selection. *Journal of Spectroscopy*. 2012, č. 27, s. 93-105.
- [32] QU, J.; LIU, D.; CHENG, J.; SUN, D.; MA, J. et al. Applications of Near-infrared Spectroscopy in Food Safety Evaluation and Control: A Review of Recent Research Advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2015, roč. 55, č. 13, s. 1939-1954. ISSN 1549-7852.
- [33] SUNOJ, S.; IGATHINATHANE, C. a VISVANATHAN, R. Nondestructive determination of cocoa bean quality using FT-NIR spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*. 2016, roč. 124, s. 234-242. ISSN 01681699.
- [34] SOHAIB ALI SHAH, S.; ZEB, A.; QURESHI, W.; ARSLAN, M.; ULLAH MALIK, A. et al. Towards fruit maturity estimation using NIR spectroscopy. *Infrared Physics & Technology*. 2020, roč. 111, s. 103479. ISSN 13504495.

- [35] SCALISI, A. a O'CONNELL, M. Application of visible/NIR spectroscopy for the estimation of soluble solids, dry matter and flesh firmness in stone fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2021, roč. 101, č. 5, s. 2100-2107. ISSN 1097-0010.
- [36] PANDISELVAM, R.; PRITHVIRAJ, V.; MANIKANTAN, M.R.; KOTHAKOTA, A.; RUSU, A. et al. Recent advancements in NIR spectroscopy for assessing the quality and safety of horticultural products: A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition*. 2022, roč. 9, s. 973457. ISSN 2296-861X.
- [37] SZULC, J.; GOZDECKA, G. a POĆWIARDOWSKI, W. The application of NIR spectroscopy in moisture determining of vegetable seeds. *Czech Journal of Food Sciences*. 2020, roč. 38, č. 2, s. 131-136. ISSN 18059317.
- [38] SÁNCHEZ, M.; ENTRENAS, J.; TORRES, I.; VEGA, M. a PÉREZ-MARÍN, D. Monitoring texture and other quality parameters in spinach plants using NIR spectroscopy. *Computers and Electronics in Agriculture*. 2018, roč. 155, s. 446-452. ISSN 01681699.
- [39] JIANG, H.; LIU, T. a CHEN, Q. Quantitative detection of fatty acid value during storage of wheat flour based on a portable near-infrared (NIR) spectroscopy system. *Infrared Physics & Technology*. 2020, roč. 109, s. 103423. ISSN 1350-4495.
- [40] WANG, Z.; WU, Q. a KAMRUZZAMAN, M. Portable NIR spectroscopy and PLS based variable selection for adulteration detection in quinoa flour. *Food Control*. 2022, roč. 138, s. 108970. ISSN 09567135.
- [41] CASTRO-REIGÍA, D.; GARCÍA, I.; SANLLORENTE, S.; SARABIA, L.A.; AMIGO, J.M. et al. Bread fermentation monitoring through NIR spectroscopy and PLS-DA. Determining the optimal fermentation point in bread doughs. *Journal of Food Engineering*. 2024, roč. 361, s. 111738. ISSN 02608774.
- [42] IWEKA, P.; KAWAMURA, S.; MITANI, T.; KAWAGUCHI, T. a KOSEKI, S. Online Milk Quality Assessment during Milking Using Near-infrared Spectroscopic Sensing System. *Environment Control in Biology*. 2020, roč. 58, č. 1, s. 1-6. ISSN 1883-0986.
- [43] NUMTHUAM, S.; HONGPATHONG, J.; CHAROENSOOK, R. a RUNGCHANG, S. Method development for the analysis of total bacterial count in raw milk using near-infrared spectroscopy. *Journal of Food Safety*. 2017, roč. 37, č. 3. ISSN 1745-4565.
- [44] LIU, N.; PARRA, H.; PUSTJENS, A.; HETTINGA, K.; MONGONDRY, P. et al. Evaluation of portable near-infrared spectroscopy for organic milk authentication. *Talanta*. 2018, roč. 184, s. 128-135. ISSN 00399140.
- [45] PEREIRA, E. V.; FERNANDES, D.; DE ARAÚJO, M.; DINIZ, P. H. a MACIEL, M.M. Simultaneous determination of goat milk adulteration with cow milk and their fat and protein contents using NIR spectroscopy and PLS algorithms. *LWT*. 2020, roč. 127, s. 109427. ISSN 00236438.
- [46] MABOOD, F.; JABEEN, F.; AHMED, M.; HUSSAIN, J.; AL MASHAYKHI, S. et al. Development of new NIR-spectroscopy method combined with multivariate analysis for detection of adulteration in camel milk with goat milk. *Food Chemistry*. 2017, roč. 221, s. 746-750. ISSN 03088146.
- [47] TAO, F. a NGADI, M. Applications of spectroscopic techniques for fat and fatty acids analysis of dairy foods. *Current Opinion in Food Science*. 2017, roč. 17, s. 100-112. ISSN 22147993.
- [48] AMORES, G. a VIRTO, M. Total and Free Fatty Acids Analysis in Milk and Dairy Fat. *Separations*. 2019, roč. 6, č. 1, s. 14. ISSN 2297-8739.
- [49] GASTÉLUM-BARRIOS, A.; SOTO-ZARAZÚA, G.; ESCAMILLA-GARCÍA, A.; TOLEDANO-AYALA, M.; MACÍAS-BOBADILLA, G. et al. Optical Methods Based on Ultraviolet, Visible, and Near-Infrared Spectra to Estimate Fat and Protein in Raw Milk: A Review. *Sensors*. 2020, roč. 20, č. 12, s. 33-56. ISSN 1424-8220.

- [50] CASTRO-REIGÍA, D.; EZENARRO, J.; AZKUNE, M.; AYESTA, I.; OSTRA, M. et al. Yoghurt standardization using real-time NIR prediction of milk fat and protein content. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2024, roč. 128, s. 106015. ISSN 08891575.
- [51] CURRÒ, S.; MANUELIAN, C.L.; PENASA, M.; CASSANDRO, M. a DE MARCHI, M. Technical note: Feasibility of near infrared transmittance spectroscopy to predict cheese ripeness. *Journal of Dairy Science*. 2017, roč. 100, č. 11, s. 8759-8763. ISSN 00220302.
- [52] REVILLA, I.; GONZÁLEZ-MARTÍN, M.I.; VIVAR-QUINTANA, A.M.; BLANCO-LÓPEZ, M.A.; LOBOS-ORTEGA, I.A. et al. Antioxidant capacity of different cheeses: Affecting factors and prediction by near infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*. 2016, roč. 99, č. 7, s. 5074-5082. ISSN 00220302.
- [53] PU, Y.; PÉREZ-MARÍN, D.; O'SHEA, N. a GARRIDO-VARO, A. Recent Advances in Portable and Handheld NIR Spectrometers and Applications in Milk, Cheese and Dairy Powders. *Foods*. 2021, roč. 10, č. 10, s. 2377. ISSN 2304-8158.
- [54] FEDERAL UNIVERSITY OF JUIZ DE FORA a ANJOS, V. Near And Mid Infrared Spectroscopy To Assess Milk Products Quality: A Review Of Recent Applications. *Journal of Dairy Research & Technology*. 2020, roč. 3, č. 1, s. 1-10. ISSN 26889315.
- [55] WEERANANTANPHAN, J.; DOWNEY, G. a ALLEN, P. A review of Near Infrared Spectroscopy on Muscle Fod Analysis: 2005-2010. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 2011, roč. 19, č. 2, s. 61-104.
- [56] LIAO, Y.T.; FAN, Y.X. a CHENG, F. On-line prediction of fresh pork quality using visible/near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*. 2010, roč. 86, č. 4, s. 901-907. ISSN 0309-1740.
- [57] KARTAKOULLIS, A.; COMAPOSADA, J.; CRUZ-CARRIÓN, A.; SERRA, X. a GOU, P. Feasibility study of smartphone-based Near Infrared Spectroscopy (NIRS) for salted minced meat composition diagnostics at different temperatures. *Food Chemistry*. 2019, roč. 278, s. 314-321. ISSN 03088146.
- [58] LI, X.; FENG, F.; GAO, R.; WANG, L.; QIAN, Y. et al. Application of near infrared reflectance (NIR) spectroscopy to identify potential PSE meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2016, roč. 96, č. 9, s. 3148-3156. ISSN 1097-0010.
- [59] FURTADO, E. J. G.; BRIDI, A. M.; BARBIN, D.; BARATA, C. C.; PERES, L. M. et al. Prediction of pH and color in pork meat using VIS-NIR Near-infrared Spectroscopy (NIRS). *Food Science and Technology*. 2019, roč. 39, č. 1, s. 88-92. ISSN 0101-2061.
- [60] JIANG, H.; YOON, S.C.; ZHUANG, H.; WANG, W. a YANG, Y. Evaluation of factors in development of Vis/NIR spectroscopy models for discriminating PSE, DFD and normal broiler breast meat. *British Poultry Science*. 2017, roč. 58, č. 6, s. 673-680. ISSN 1466-1799.
- [61] CHAPMAN, J.; ELBOURNE, A.; TRUONG, V.K. a COZZOLINO, D. Shining light into meat – a review on the recent advances in in vivo and carcass applications of near infrared spectroscopy. *International Journal of Food Science & Technology*. 2020, roč. 55, č. 3, s. 935-941. ISSN 1365-2621.
- [62] SCHMUZLER, M.; BEGANOVIC, A.; BÖHLER, G. a HUCK, C.W. Modern Safety Control for Meat Products: Near Infrared Spectroscopy Utilised for Detection of Contaminations and Adulterations of Premium Veal Product. *NIR news*. 2016, roč. 27, č. 4, s. 11-13. ISSN 1756-2708.
- [63] LENG, T.; LI, F.; XIONG, L.; XIONG, Q.; ZHU, M. et al. Quantitative detection of binary and ternary adulteration of minced beef meat with pork and duck meat by NIR combined with chemometrics. *Food Control*. 2020, roč. 113, s. 107203. ISSN 09567135.

- [64] SILVA, L. C. R.; FOLLI, G.S.; SANTOS, L.P.; BARROS, I.H.; OLIVEIRA, B.G. et al. Quantification of beef, pork, and chicken in ground meat using a portable NIR spectrometer. *Vibrational Spectroscopy*. 2020, roč. 111, s. 103158. ISSN 09242031.
- [65] PATEL, N.; TOLEDO-ALVARADO, H.; CECCHINATO, A. a BITTANTE, G. Predicting the Content of 20 Minerals in Beef by Different Portable Near-Infrared (NIR) Spectrometers. *Foods*. 2020, roč. 9, č. 10, s. 1389. ISSN 2304-8158.
- [66] WOLD, S.; SJÖSTRÖM, M. a ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2001, roč. 58, č. 2, s. 109-130. ISSN 01697439.
- [67] HAALAND, D. a THOMAS, E. Partial least-squares methods for spectral analyses. 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Analytical Chemistry*. 1988, roč. 60, č. 11, s. 1193-1202. ISSN 1520-6882.
- [68] DVOŘÁK, L. *Využití NIR spektroskopie ke kontrole kvality potravinářských výrobků*. Disertační práce. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2016.
- [69] KOŠTÁL, J. *Vybrané metody vícerozměrné statistiky: (se zvláštním zaměřením na kriminologický výzkum)*. Studie (Institut pro kriminologii a sociální prevenci). Praha: Institut pro kriminologii a sociální prevenci, 2013. ISBN 978-80-7338-128-8.
- [70] ČESKÁ REPUBLIKA. Vyhláška č. 69/2016 Sb. o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich, 2016. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-69/>.
- [71] COBOS, Á. a DIAZ, O. Chemical Composition of Meat and Meat Products. In: *Handbook of Food Chemistry*. Berlin: Springer, 2015, s. 471–510. ISBN 978-3-642-36604-8.
- [72] PIPEK, P. *Technologie masa*. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1991. ISBN 80-708-0106-9.
- [73] PUBLIC HEALTH ENGLAND. Fish and Fish Products. In: *McCance and Widdowson's The Composition of Foods*. 6. vydání. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002, s. 211-235. ISBN 978-0-85404-428-3.
- [74] KOUŘIL, J. *Intenzivní chov keříčkovce jihoafrického – sumečka afrického (Clarias gariepinus)*. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2013. ISBN 978-80-87437-79-7.
- [75] LEFFLER, T.P.; MOSER, C. R.; MCMANUS, B.; URH, J.J.; KEETON, J.T. et al. Determination of Moisture and Fat in Meats by Microwave and Nuclear Magnetic Resonance Analysis: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*. 2008, roč. 91, č. 4, s. 802-810. ISSN 1944-7922.
- [76] PEREIRA, P. M. a VICENTE, F.D. Meat nutritional composition and nutritive role in the human diet. *Meat Science*. 2013, roč. 93, č. 3, s. 586-592. ISSN 03091740.
- [77] STEINHAUSER, Ladislav. *Produkce masa*. Tišnov: Last, 2000. ISBN 80-900-2607-9.
- [78] INFORMAČNÍ CENTRUM BEZPEČNOSTI POTRAVIN. *Složení a výživový význam ryb*. Online. 2013. Dostupné z: <https://bezpecnostpotravin.cz/slozeni-a-vyzivovy-vyznam-ryb/>. [cit. 2024-03-14].
- [79] JŮZL, M. a MÜLLEROVÁ, M. HOVĚZÍ MASO – nedílná součást našeho jídelníčku. *Výživa a potraviny*. 2017, č. 4, s. 100-104. ISSN 1211-846X.
- [80] SIMEONOVÁ, J. *Technologie drůbeže, vajec a minoritních živočišných produktů*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1999. ISBN 80-715-7405-8.
- [81] HRABĚ, J.; BŘEZINA, P. a VALÁŠEK, P. *Technologie výroby potravin živočišného původu*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2006. ISBN 9788073184056.
- [82] KREJČÍ, J. *Tuky a oleje pro potravinářské využití – Distanční text*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2008.

- [83] WYNESS, L. The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2016, roč. 75, č. 3, s. 227-232. ISSN 1475-2719.
- [84] GILLE, D. a SCHMID, A. Vitamin B12 in meat and dairy products. *Nutrition Reviews*. 2015, roč. 73, č. 2, s. 106-115. ISSN 1753-4887.
- [85] FALOWO, A.B. A Comprehensive Review of Nutritional Benefits of Minerals in Meat and Meat Products. *Science Letters*. 2021, roč. 9, č. 2, s. 55-64. ISSN 2311-3219.
- [86] ŠEVČÍK, R. *Technologie masa I*. Online. VŠCHT PRAHA – ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN. 2018. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/files/uzel/0007220/0004~MzCOD0INzsjLz8lPz0xVyEOsToyPKkrMy4wHMQE.pdf?redirected>. [cit. 2024-02-12].
- [87] MANCINI, R. Meat Color. In: *The Science of Meat Quality*. Houston: Wiley-Blackwell, 2013, s. 177-198. ISBN 978-1-118-53072-6.
- [88] FAUSTMAN, C.; SUMAN, S.P. a RAMANATHAN, R. The eating quality of meat: I Color. In: *Lawrie's Meat Science*. 9. vydání. Valencia: Elsevier, 2023, s. 363-392. ISBN 978-0-323-85408-5.
- [89] HUNT, M. a KING, A. *AMSA Meat Color Measurement Guidelines*. Illinois: American Meat Science Association, 2012. ISBN 9781300552611.
- [90] TAPP, W.N.; YANCEY, J.W.S. a APPLE, J.K. How is the instrumental color of meat measured? *Meat Science*. 2011, roč. 89, č. 1, s. 1-5. ISSN 03091740.
- [91] TRINDERUP, C.; DAHL, A.; JENSEN, K.; CARSTENSEN, J. a CONRADSEN, K. Comparison of a multispectral vision system and a colorimeter for the assessment of meat color. *Meat Science*. 2015, roč. 102, s. 1-7. ISSN 03091740.
- [92] WROLSTAD, R. E. a SMITH, D.E., NIELSEN, S.S. (ed.). Color Analysis. In: *Food Analysis*. 5. vydání. Cham: Springer International Publishing, 2017, s. 545-555. ISBN 978-3-319-45776-5.
- [93] VIK, M. Měření barevnosti a vzhledu. *Časopis Světlo*. 2001, roč. 4, č. 1, s. 3-10. ISSN 1212-0812.
- [94] LARBOULETTE, C. *Celtic Knots Colorization based on Color Harmony Principles*. Madrid: The Eurographics Association, 2007. ISBN 978-3-905673-43-2.
- [95] SÜSSTRUNK, S.; BUCKLEY, R. a SWEN, S. Standard RGB Color Spaces. *Color and Imaging Conference*. 1999, roč. 7, č. 1, s. 127-134. ISSN 2166-9635.
- [96] MCGAVIN, D.; STUKENBORG, B. a WITKOWSKI, M. Color Figures in BJ: RGB versus CMYK. *Biophysical Journal*. 2005, roč. 88, č. 2, s. 761-762. ISSN 00063495.
- [97] GENNETTEN, K.D. RGB to CMYK conversion using 3D barycentric interpolation. In: *Device-Independent Color Imaging and Imaging Systems Integration*. San Jose: SPIE, 1993, s. 116-126. ISBN 0819411426.
- [98] ELLIS, A. *The Difference Between RGB and CMYK, Explained*. Online. GIZMODO. 2016. Dostupné z: <https://gizmodo.com/the-difference-between-rgb-and-cmyk-explained-1777830600>. [cit. 2024-03-14].
- [99] KERR, D.A. *The CIE XYZ and xyY Color Spaces*. Online. Stanford University, 2010. Dostupné z: https://graphics.stanford.edu/courses/cs148-10-summer/docs/2010--kerr--cie_xyz.pdf. [cit. 2024-03-14].
- [100] IBRAHEEM, N.; HASAN, M.; KHAN, R. Z. a MISHRA, P.K. Understanding Color Models: A Review. *Journal of Science and Technology*. 2012, roč. 2, č. 3, s. 265-275. ISSN 2225-7217.
- [101] SEYMOUR, J. Color *inconstancy* in CIELAB: A red herring? *Color Research & Application*. 2022, roč. 47, č. 4, s. 900-919. ISSN 1520-6378.
- [102] KOPINA. *Barevný prostor LAB*. Online. 2018. Dostupné z: <https://kopina.cz/terminologie/36958/lab/>. [cit. 2024-03-15].

- [103] SHARMA, G.; RODRÍGUEZ-PARDO, C.; ESCHBACH, R.; MARCU, G.G. a RIZZI, A. The dark side of CIELAB. In: *Color Imaging XVII: Displaying, Processing, Hardcopy, and Applications*. SPIE, 2012. Dostupné z: <https://doi.org/10.1117/12.909960>.
- [104] HARRER & KASSEN GmbH. *ParticuLAB: NIR- Labormesstechnik*. Online. Dostupné z: <https://www.harrerkassen.com/de/produkte/particulab.html>. [cit. 2024-02-24].
- [105] HARRER KASSEN. *Specter 4.0 User Manual*. Lagenbrand, 2015.
- [106] ABRIL, M.; CAMPO, M.M.; ONENC, A.; SANUDO, C.; ALBERTÍ, P. et al. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. *Meat Science*. 2001, roč. 58, s. 69-78. ISSN 0309-1740.
- [107] YOUNG, O. a WEST, J. Meat Color. In: *Meat Science and Applications*. New York: CRC Press, 2001, s. 38-70. ISBN 9780429207846.
- [108] SU, H.; SHA, K.; ZHANG, L.; ZHANG, Q.; XU, Y. et al. Development of near infrared reflectance spectroscopy to predict chemical composition with a wide range of variability in beef. *Meat Science*. 2014, roč. 98, č. 2, s. 110-114. ISSN 0309-1740.
- [109] PREVOLNIK, M.; ŠKRLEP, M.; ŠKORJANC, D a ČANDEK-POTOKAR, M. Application of near infrared spectroscopy to predict chemical composition of meat and meat products. *Tehnologija Mesa*. 2010, roč. 51, č. 2, s. 133-142.
- [110] RIOVANTO, R.; DE MARCHI, M.; CASSANDRO, M. et al. Use of near Infrared Transmittance Spectroscopy to Predict Fatty Acid Composition of Chicken Meat. *Food Chemistry*. 2012, roč. 134, č. 4, s. 2459–2464. ISSN 03088146.
- [111] ZHOU, L.J.; WU, H.; LI, J.T.; WANG, Z.Y. a ZHANG, L.Y. Determination of fatty acids in broiler breast meat by near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science*. 2012, roč. 90, č. 3, s. 658-664. ISSN 0309-1740.
- [112] BERZAGHI, P.; DALLE ZOTTE, A.; JANSSON, L.M. a ANDRIGHETTO, I Near-Infrared Reflectance Spectroscopy as a Method to Predict Chemical Composition of Breast Meat and Discriminate Between Different n-3 Feeding Sources. *Poultry Science*. 2005, roč. 84, s. 128-136. ISSN 1525-3171.
- [113] UDDIN, M.; OKAZAKI, E.; FUKUSHIMA, E.; TURZA, H.; YUMIKO, S. et al Nondestructive determination of water and protein in surimi by near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*. 2006, roč. 96, s. 491-495. ISSN 03088146.
- [114] COZZOLINO, D.; MURRAY, I.; CHREE, A. a SCAIFE, J.R. Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. *LWT – Food Science and Technology*. 2008, roč. 38, č. 8, s. 821-828. ISSN 1096-1127.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	Absorbance
ATP	Adenosintrifosfát
ATR	Zeslabený úplný odraz
c	Koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$]
DFD	Vada masa (dark – tmavé, firm – tuhé, dry – suché)
DHA	Kyselina dokosaheptaénová
DRIFTS	metoda difúzní reflexe
DTGS	Triglycin sulfát
E	Energie vibračního přechodu
EPA	Kyselina eikosapentaénová
f_p	Přepočítávací faktor
f_t	Titrační faktor
f_z	Poměrový zřed'ovací faktor
FIR	Spektroskopie ve vzdálené infračervené oblasti
FT	Fourierova transformace
h	Planckova konstanta
I	Energie, která prošla vzorkem [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1}$]
I_0	Energie dopadající na vzorek [$\text{W} \cdot \text{m}^{-1}$]
IR	Infračervená spektroskopie
IT	Integrační čas
JUT	Jatečně opracované tělo
KM	Kalibrační model
KRS-5	Směsný krystal jodidu a bromidu thallného
l	Tloušťka vrstvy vzorku [cm]
L^*	Jas

m	Hmotnost [g]
MCT	Telurid rtuťnokademnatý
MEMS	Mikro-elektricko-mechanický systém
MIR	Spektroskopie ve střední infračervené oblasti
MUFA	Mononenasyčené mastné kyseliny
n	Vibrační kvantové číslo
n_1/n_2	Index lomu
N	Počet molekul
NIR	Spektroskopie v blízké infračervené oblasti
PCR	Regrese hlavních komponent
pH	Vodíkový exponent
PLS	Metoda částečných nejmenších čtverců
PSE	Vada masa (pale – světlé, soft – měkké, exudative – vodnaté)
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny
R^2	Koeficient determinace
RMSEC	Střední kvadratická chyba kalibrace
RMSEV	Střední kvadratická chyba validace
SFA	Nasyčené mastné kyseliny
T	Transmitance
ν	Frekvence [Hz]
V	Objem [ml]
VIS	Viditelná oblast barevného spektra
ϵ	Molární absorpční koeficient [$\text{dm}^3 \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$],
λ	Vlnová délka [nm]
$\tilde{\nu}$	Vlnočet [cm^{-1}]
%	Hmotnostní procenta

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Příklady vibrací u tříatomové lomené molekuly [15].....	14
Obrázek 2: Energetické hladiny molekuly – upraveno z [13].....	15
Obrázek 3: Schéma zrcadlového odrazu u vzorku na reflexním podkladu [19].....	18
Obrázek 4: Znázornění fungování disperzního spektrometru, upraveno z [23].....	19
Obrázek 5: Znázornění FT-NIR spektrometru, upraveno z [23].....	20
Obrázek 6: Vizualizace Munsellova systému v prostoru, převzato z [94].....	32
Obrázek 7: Schéma systému CIELAB, převzato z [102].....	33
Obrázek 8: Příklad záznamu NIR spekter vzorků.....	41
Obrázek 9: Příklad standardizovaných NIR spekter.....	42
Obrázek 10: Znázornění kalibrace a validace modelu nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms).....	48
Obrázek 11: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms.....	49
Obrázek 12: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms.....	49
Obrázek 13: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms.....	51
Obrázek 14: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms.....	51
Obrázek 15: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin nezávislém na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms).....	52
Obrázek 16: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms.....	53
Obrázek 17: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms).....	55
Obrázek 18: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms.....	56
Obrázek 19: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms.....	56
Obrázek 20: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms.....	57
Obrázek 21: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms.....	58
Obrázek 22: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms.....	59
Obrázek 23: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislé na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms).....	60

Obrázek 24: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms)	62
Obrázek 25: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms	63
Obrázek 26: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms	63
Obrázek 27: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms	65
Obrázek 28: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms	65
Obrázek 29: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms)	66
Obrázek 30: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 11 x 12,5 ms)	69
Obrázek 31: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 11 x 12,5 ms	70
Obrázek 32: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 11 x 12,5 ms	70
Obrázek 33: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)	71
Obrázek 34: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 14 x 12,5 ms)	73
Obrázek 35: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms	74

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Složení masa hospodářských zvířat a ryb (%) (převzato a upraveno z [72, 73, 74]	27
Tabulka 2: Přehled druhů mas použitých k analýze.....	36
Tabulka 3: Přehled hodnot stanovených referenčním stanovením vybraných parametrů pro vzorky masa.....	46
Tabulka 4: Přehled hodnot barvy a jasů u vzorků masa pro systém CIEL*a*b* a jejich převedení do jiných barevných systémů	47
Tabulka 5: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro obsah bílkovin.....	54
Tabulka 6: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro obsah sušiny.....	61
Tabulka 7: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro obsah tuku.....	68
Tabulka 8: Srovnání statistických údajů kalibračních modelů pro pH	75

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha P1:** Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení obsahu sušiny nezávislém na hodnotě L^* při IT 14 x 12,5 ms
- Příloha P2:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)
- Příloha P3:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms
- Příloha P4:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms
- Příloha P5:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin nezávislém na hodnotě L^* (IT 13 x 12,5 ms)
- Příloha P6:** Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení bílkovin vzorky s hodnotou L^* větší než 50 při IT 13 x 12,5 ms
- Příloha P7:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms
- Příloha P8:** Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení bílkovin vzorky s hodnotou L^* menší než 50 při IT 14 x 12,5 ms
- Příloha P9:** Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení obsahu bílkovin nezávislém na hodnotě L^* při IT 14 x 12,5 ms
- Příloha P10:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)
- Příloha P11:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislém na hodnotě L^* (IT 13 x 12,5 ms)
- Příloha P12:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms
- Příloha P13:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms
- Příloha P14:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms
- Příloha P15:** Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení obsahu tuku s hodnotou L^* menší než 50 při IT 11 x 12,5 ms
- Příloha P16:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)
- Příloha P17:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms
- Příloha P18:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms
- Příloha P19:** Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 13 x 12,5 ms)

Příloha P20: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms

Příloha P21: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms

Příloha P22: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms

Příloha P23: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms

Příloha P24: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení pH s hodnotou L^* menší než 50 při IT 12 x 12,5 ms

Příloha P25: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L^* (IT 13 x 12,5 ms)

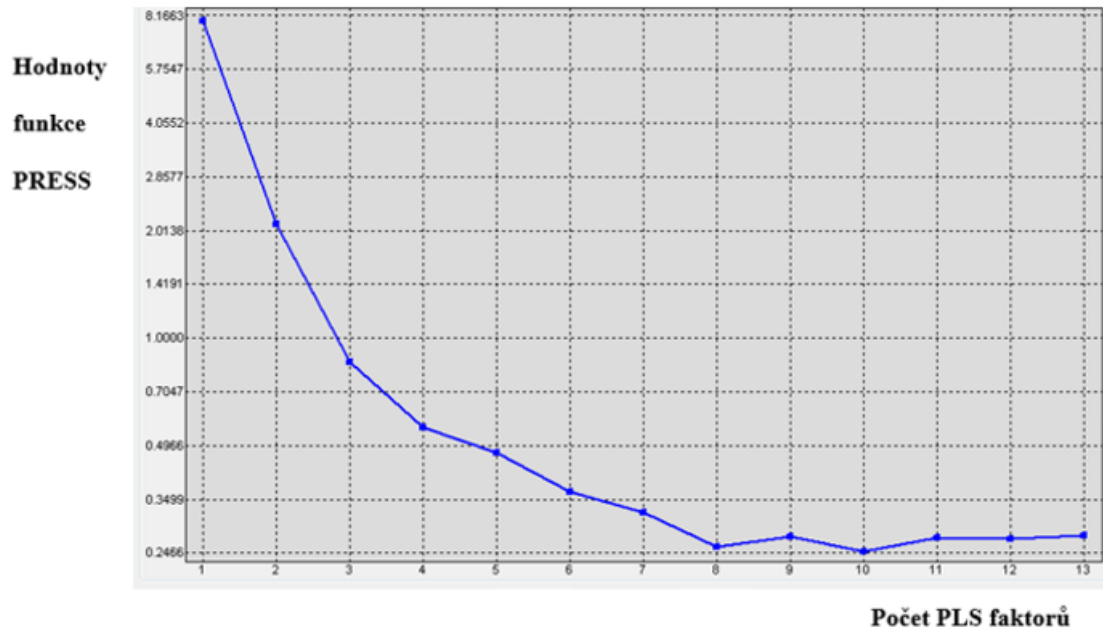
Příloha P26: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms

Příloha P27: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms

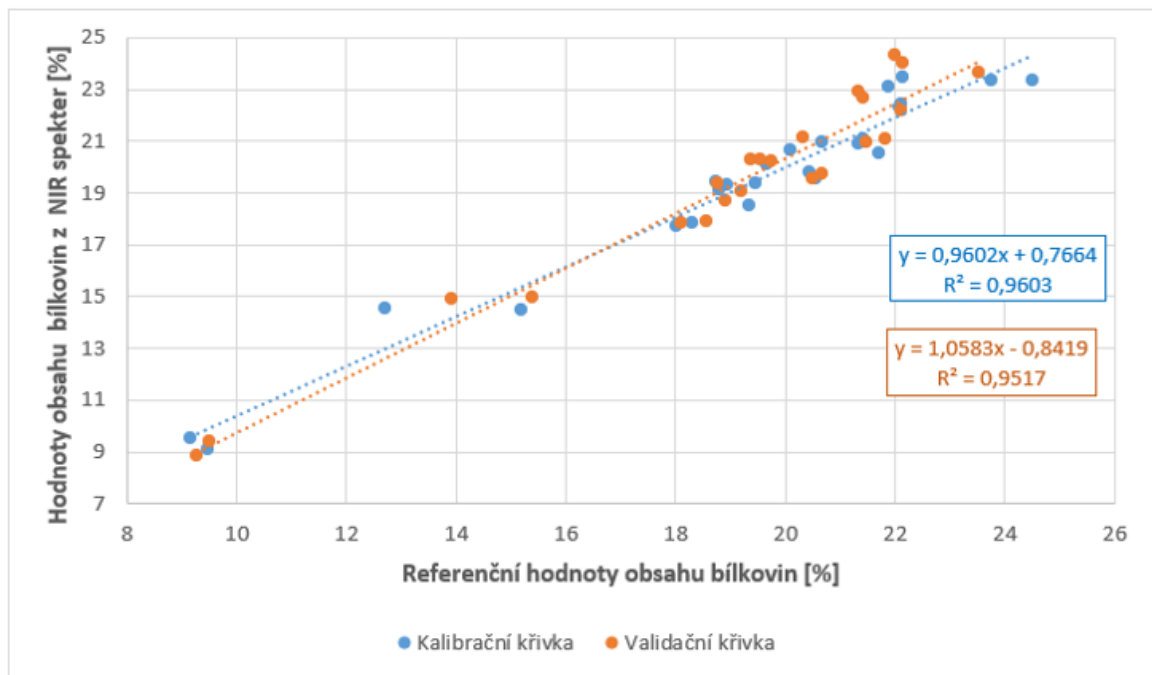
Příloha P28: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L^* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms

PŘÍLOHY

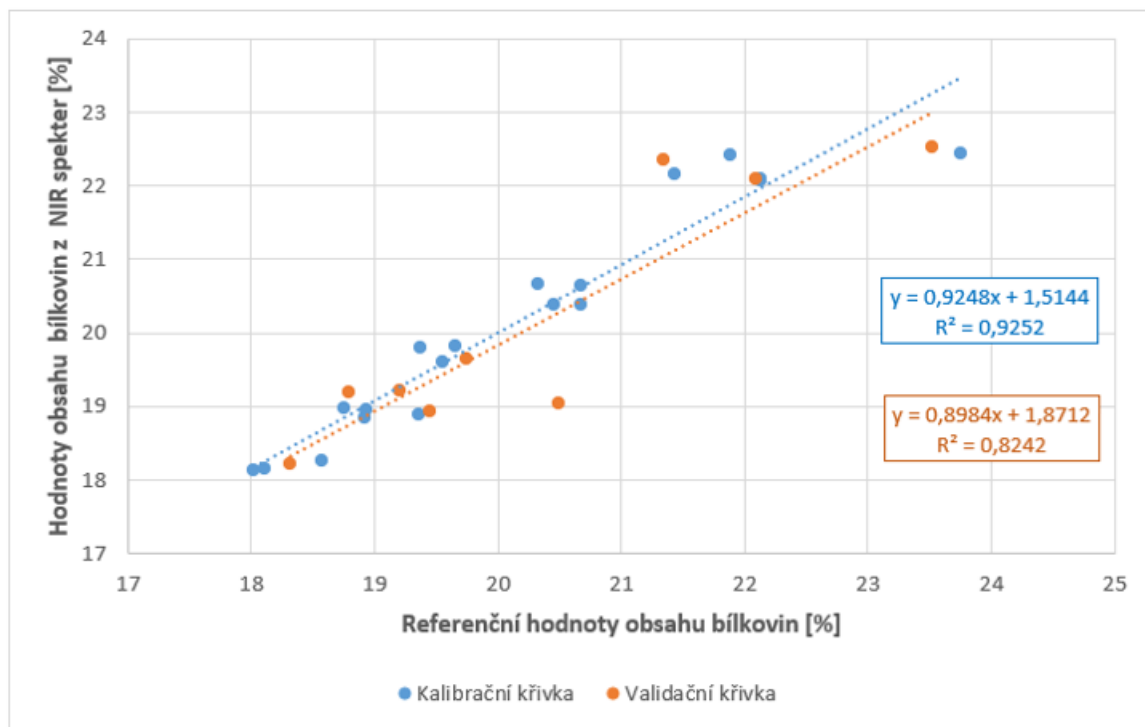
Příloha P1: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení obsahu sušiny nezávislém na hodnotě L^* při IT 14 x 12,5 ms



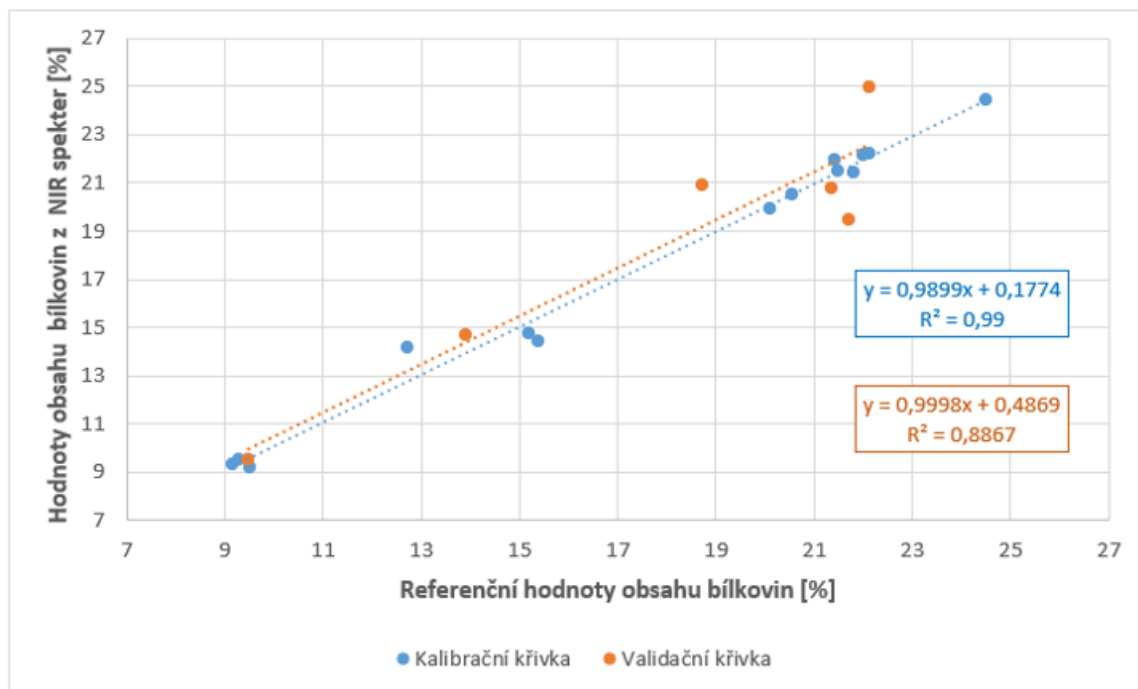
Příloha P2: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)



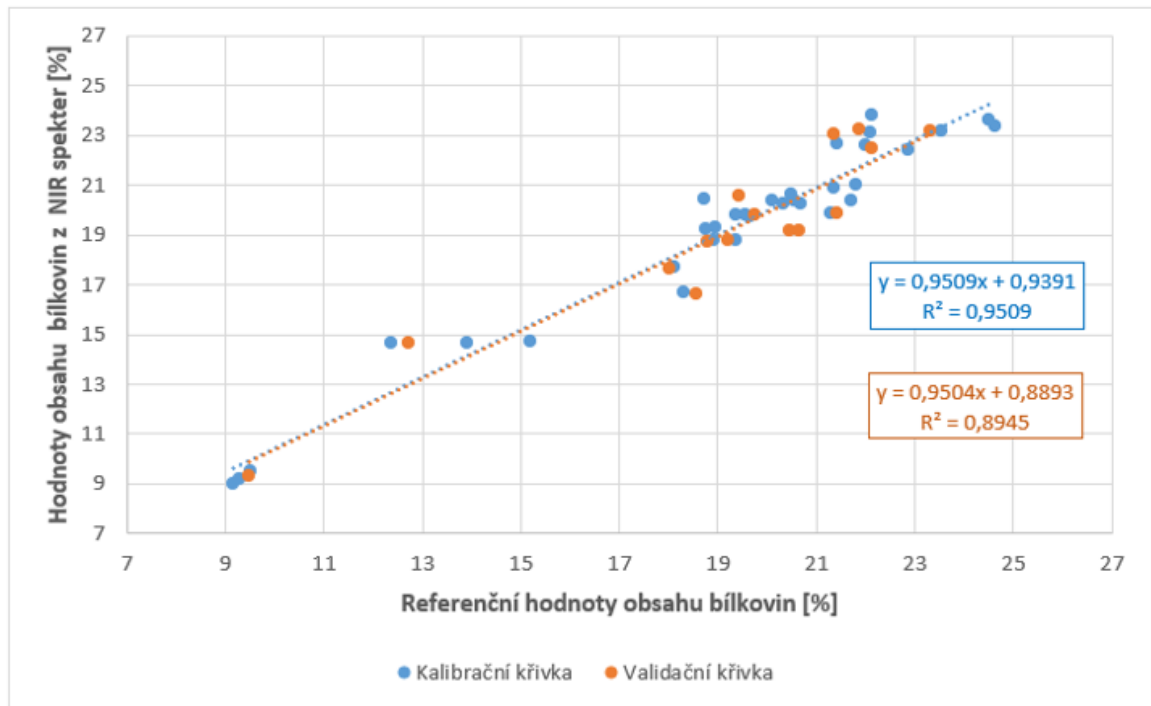
Příloha P3: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms



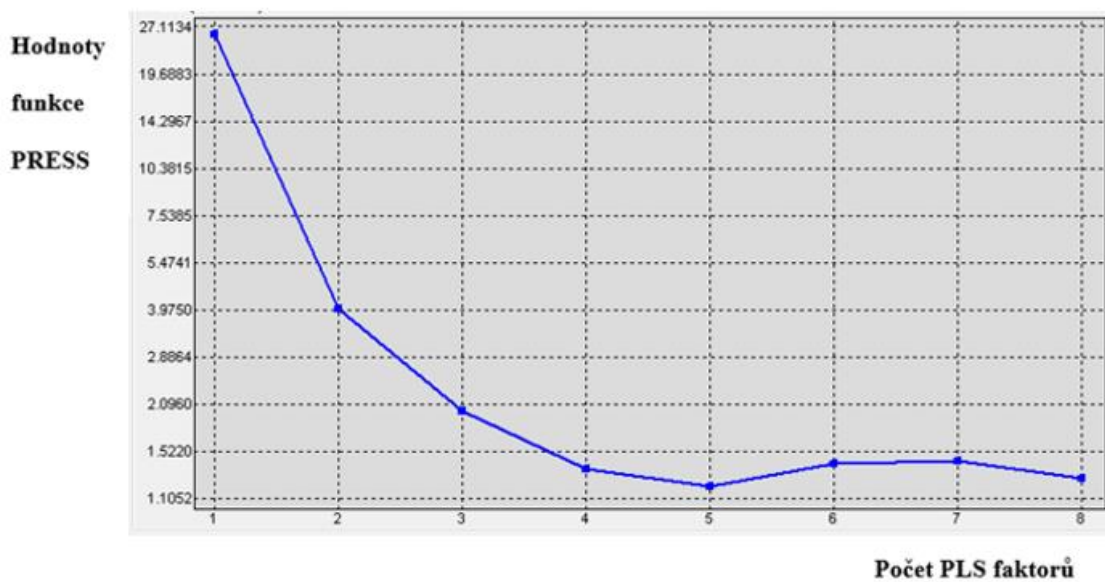
Příloha P4: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms



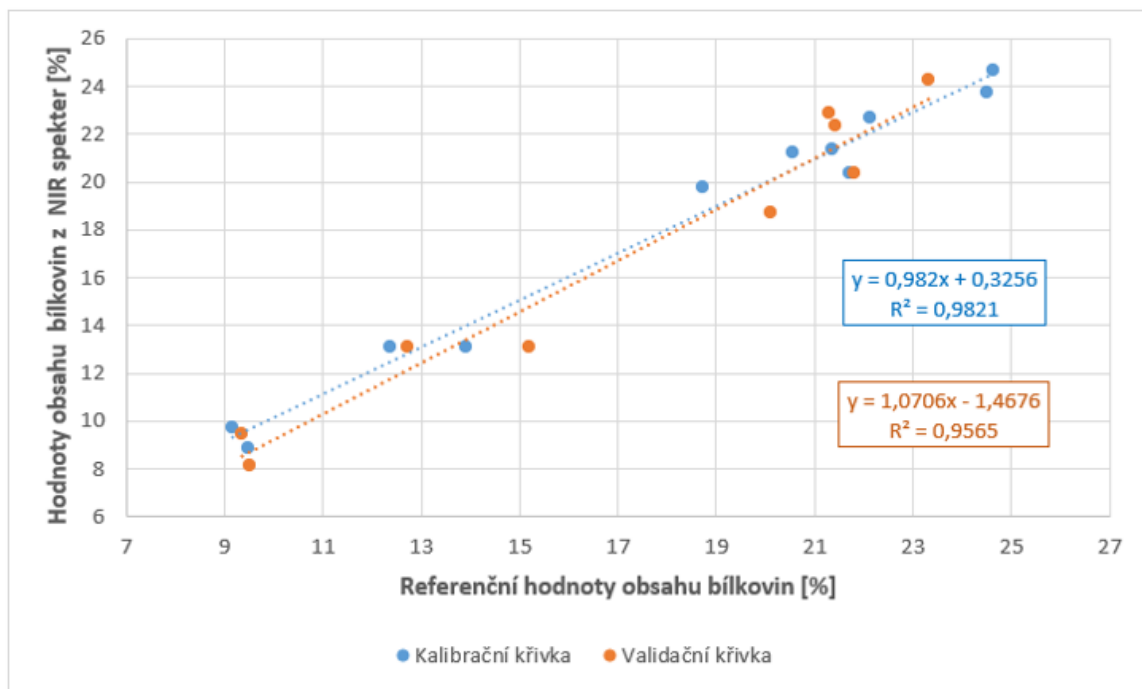
Příloha P5: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin nezávislém na hodnotě L* (IT 13 x 12,5 ms)



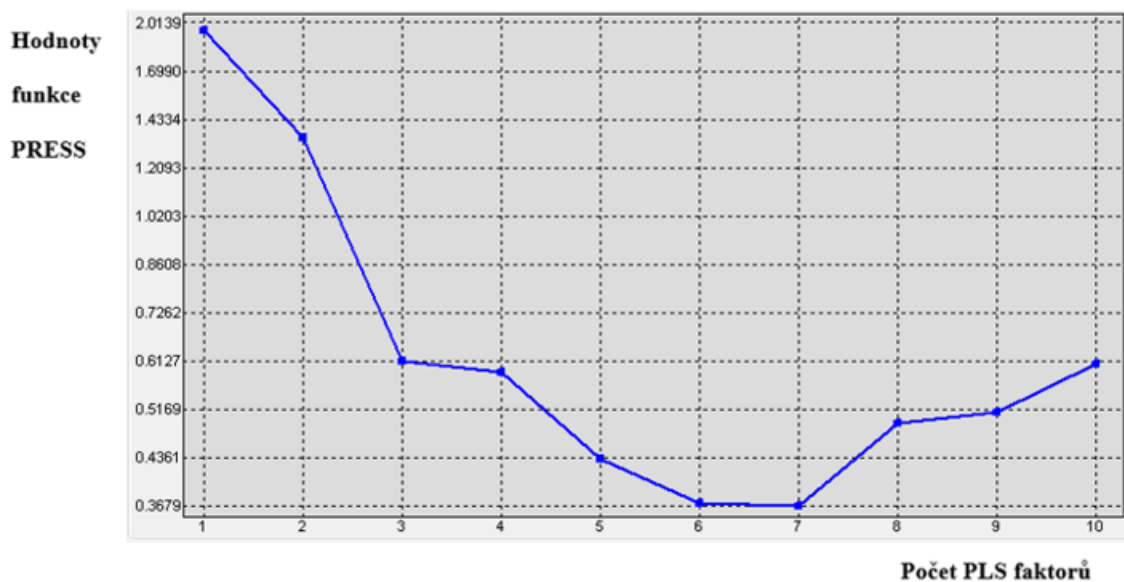
Příloha P6: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení bílkovin vzorky s hodnotou L* větší než 50 při IT 13 x 12,5 ms



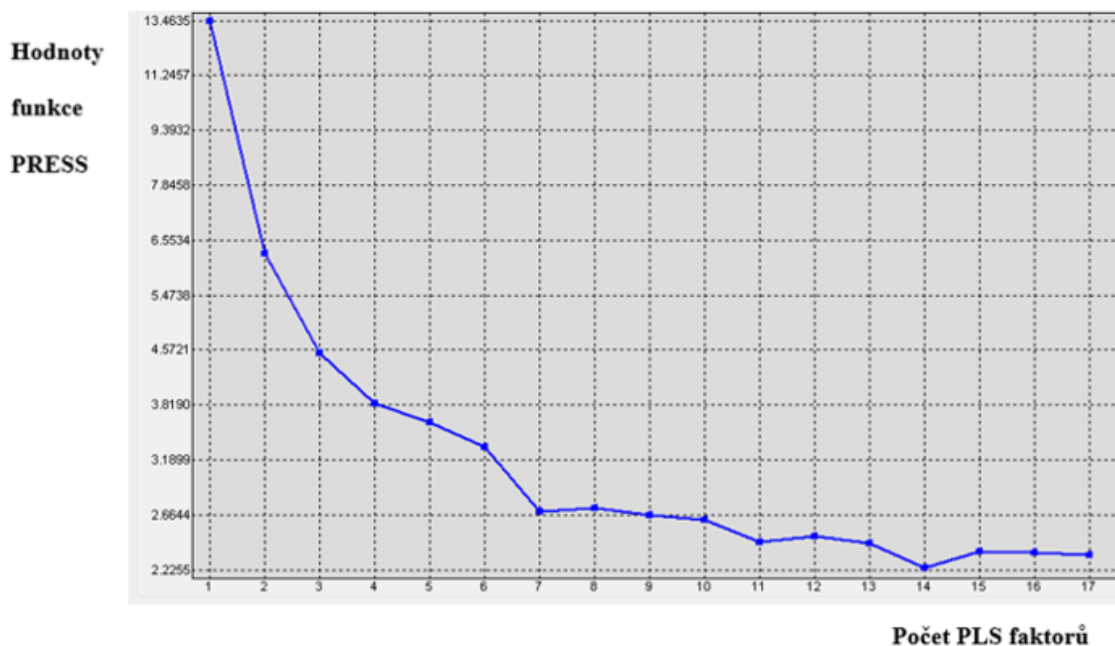
Příloha P7: Znáornění kalibrace a validace modelu pro obsah bílkovin pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms



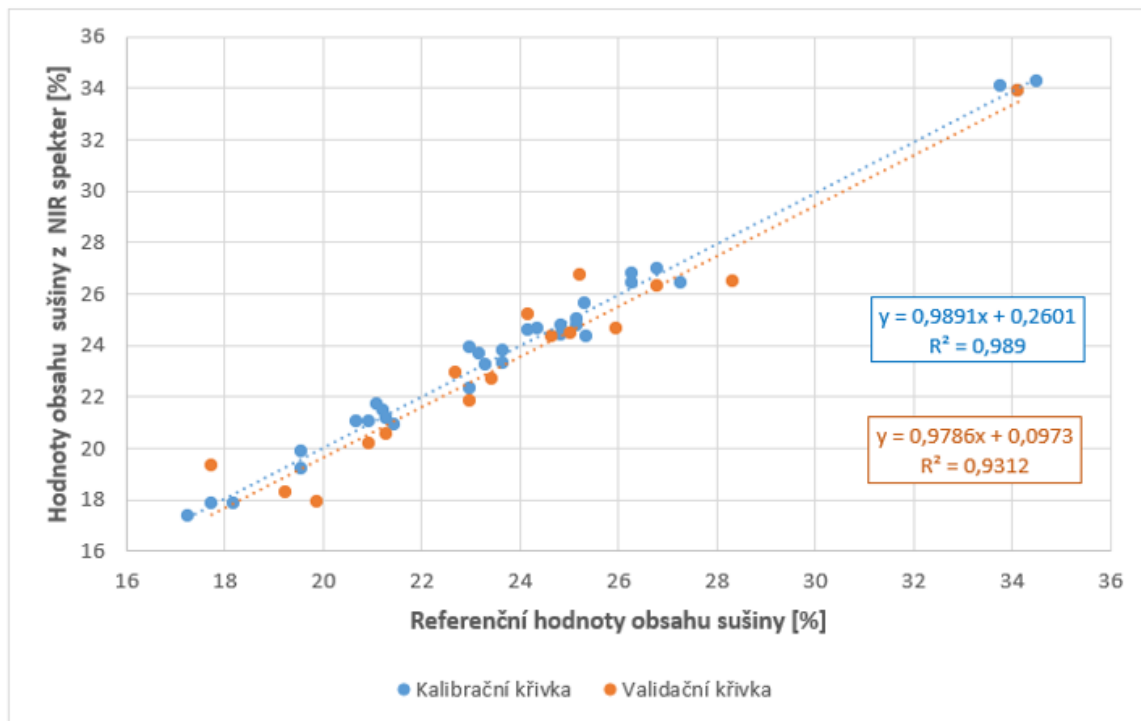
Příloha P8: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení bílkovin vzorky s hodnotou L* menší než 50 při IT 14 x 12,5 ms



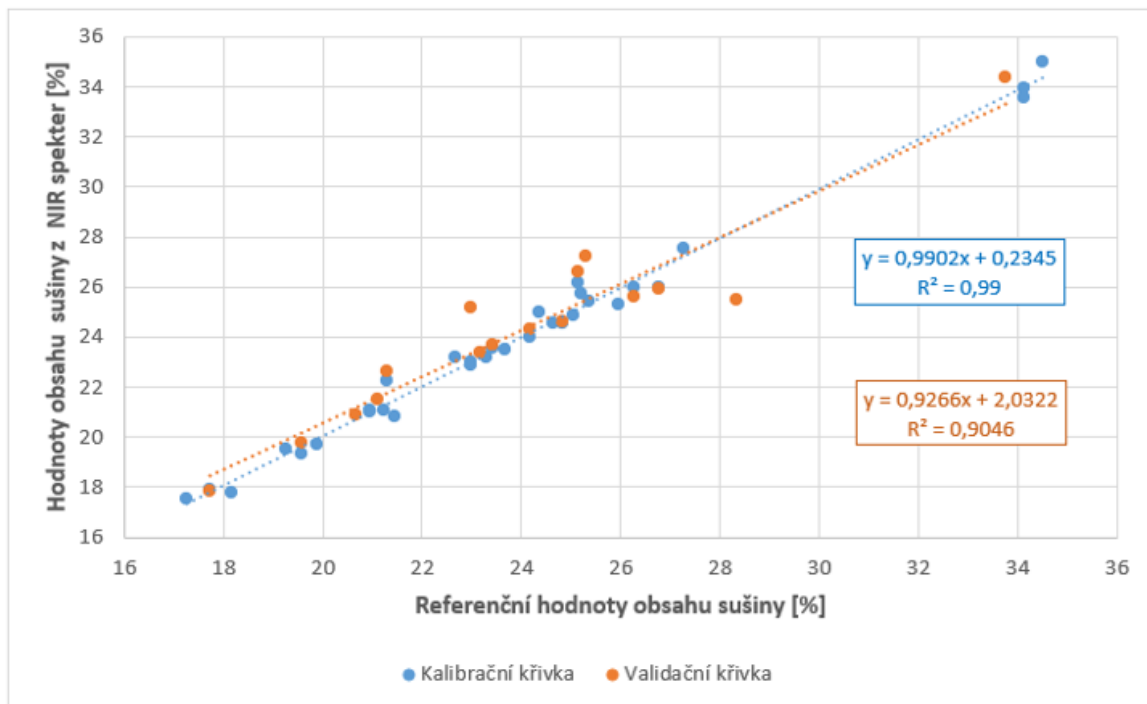
Příloha P9: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení obsahu bílkovin nezávislém na hodnotě L* při IT 14 x 12,5 ms



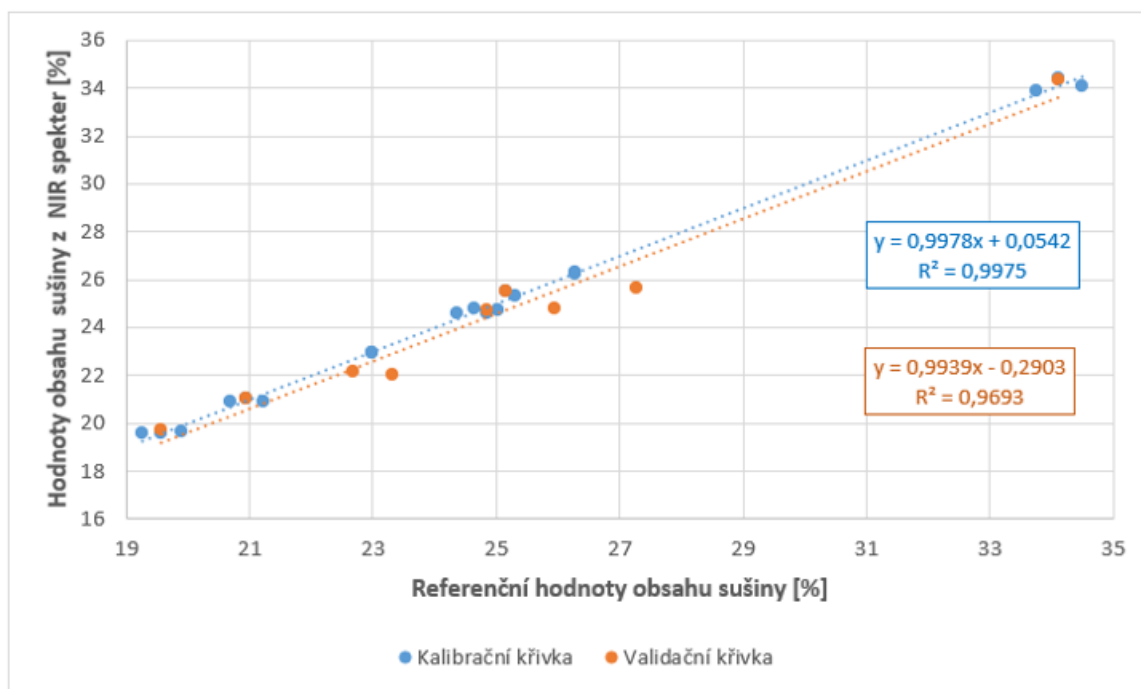
Příloha P10: Znárodnění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislém na hodnotě L* (IT 12 x 12,5 ms)



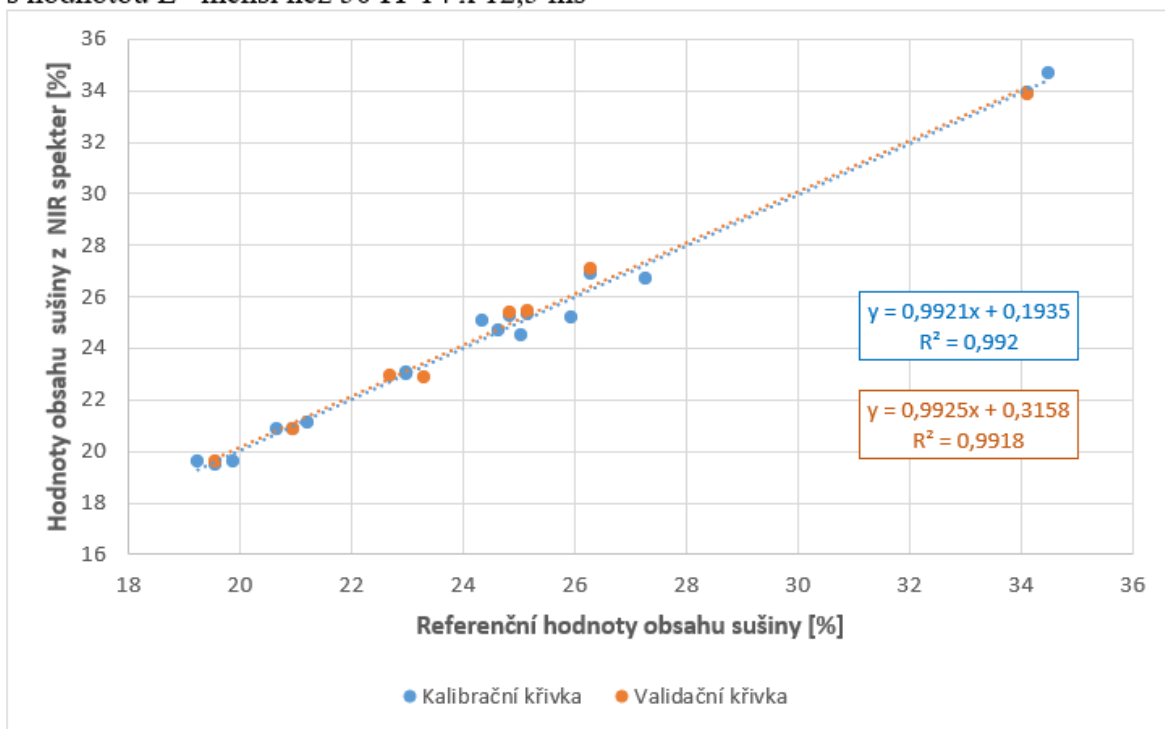
Příloha P11: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny nezávislém na hodnotě L* (IT 13 x 12,5 ms)



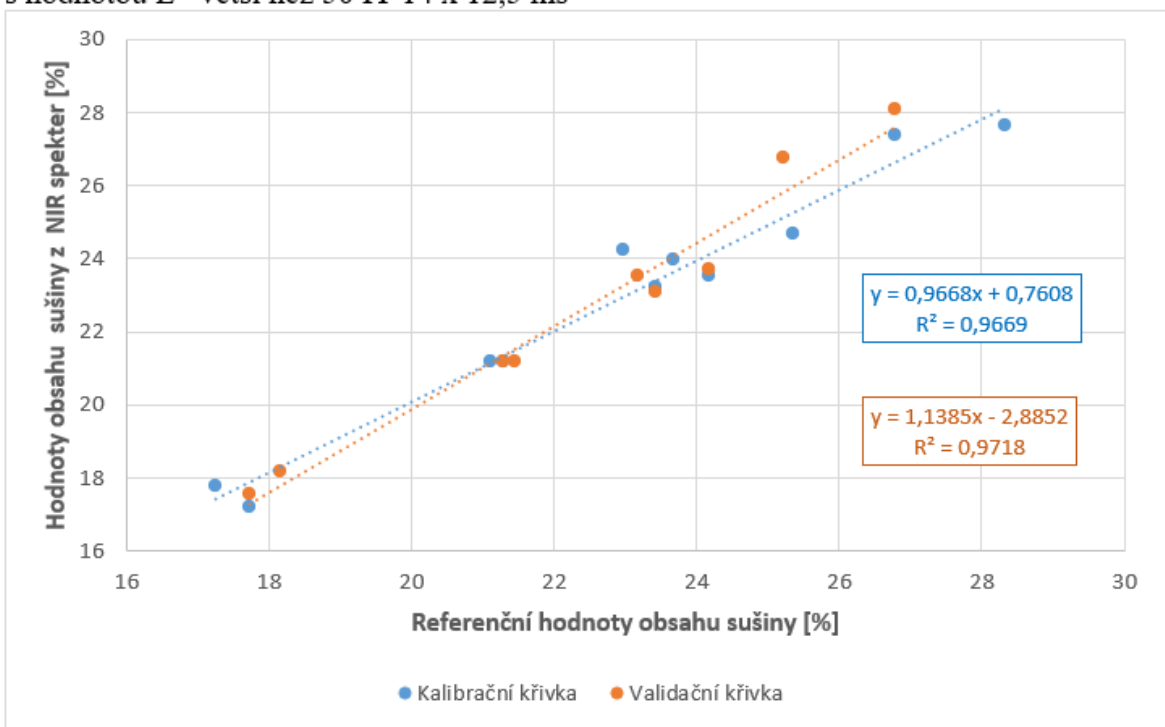
Příloha P12: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms



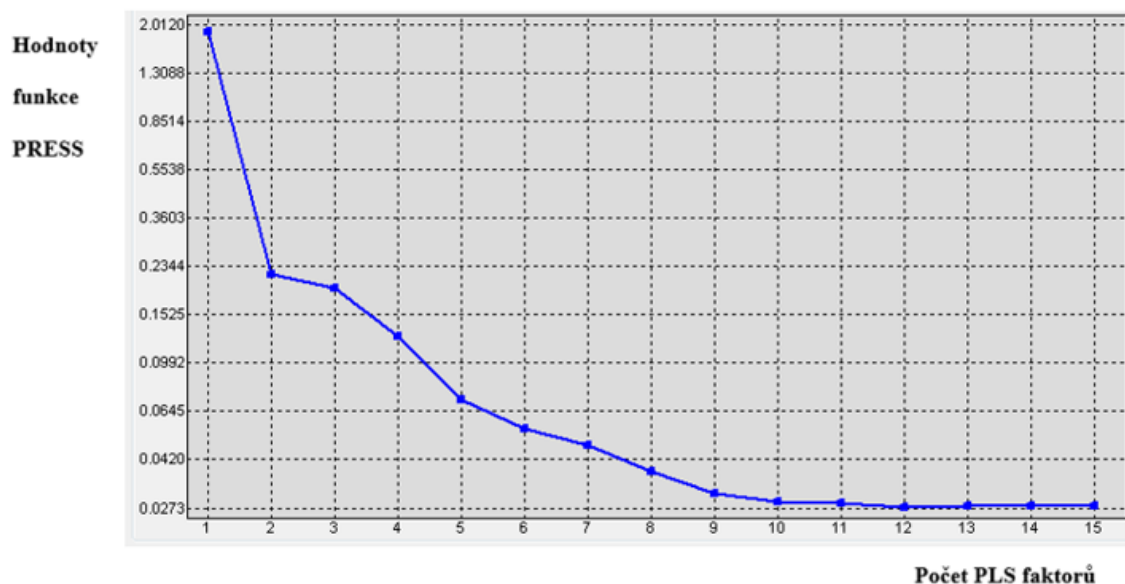
Příloha P13: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms



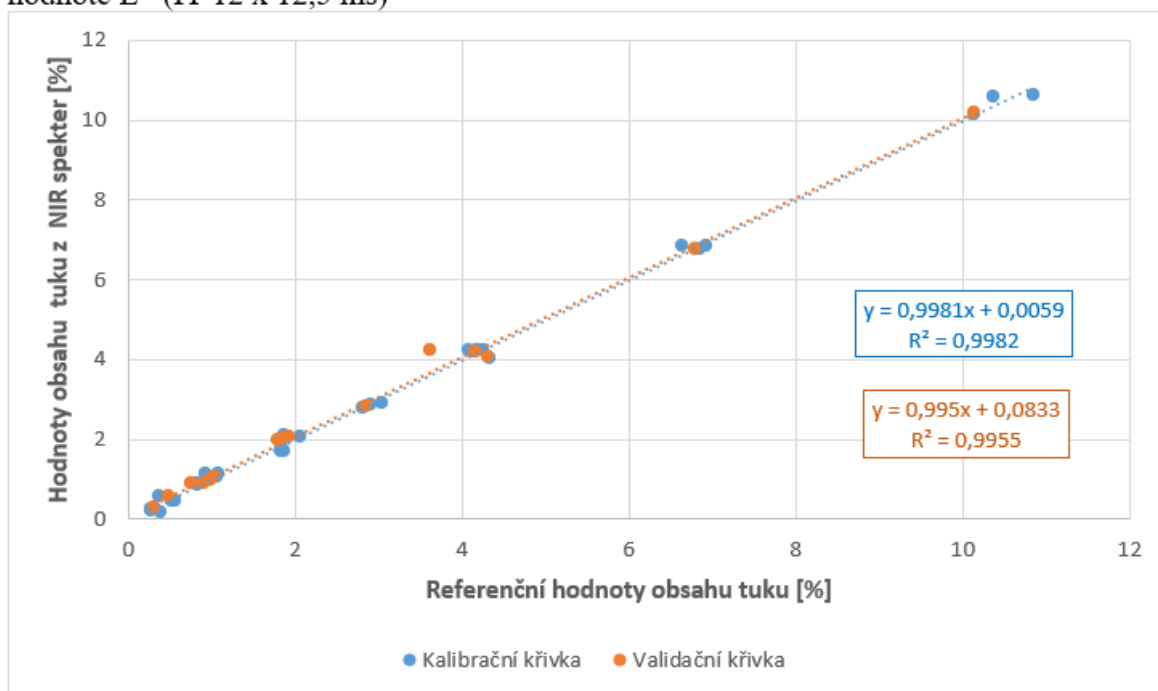
Příloha P14: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah sušiny pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms



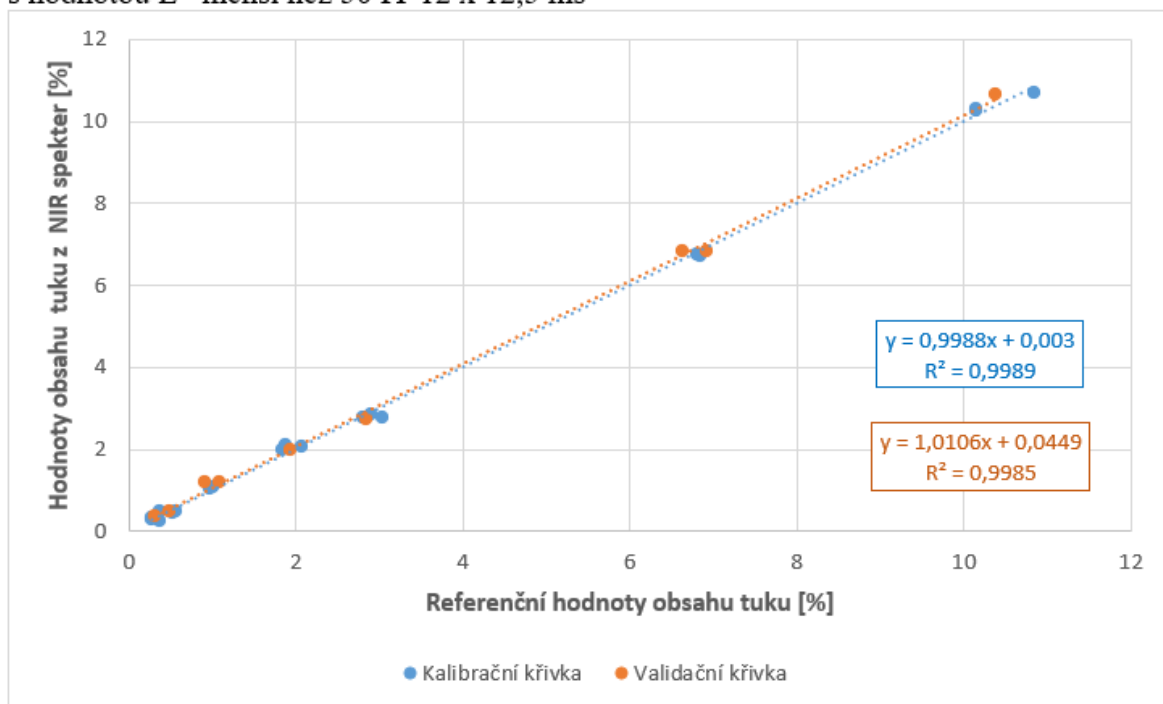
Příloha P15: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení obsahu tuku s hodnotou L^* menší než 50 při IT 11 x 12,5 ms



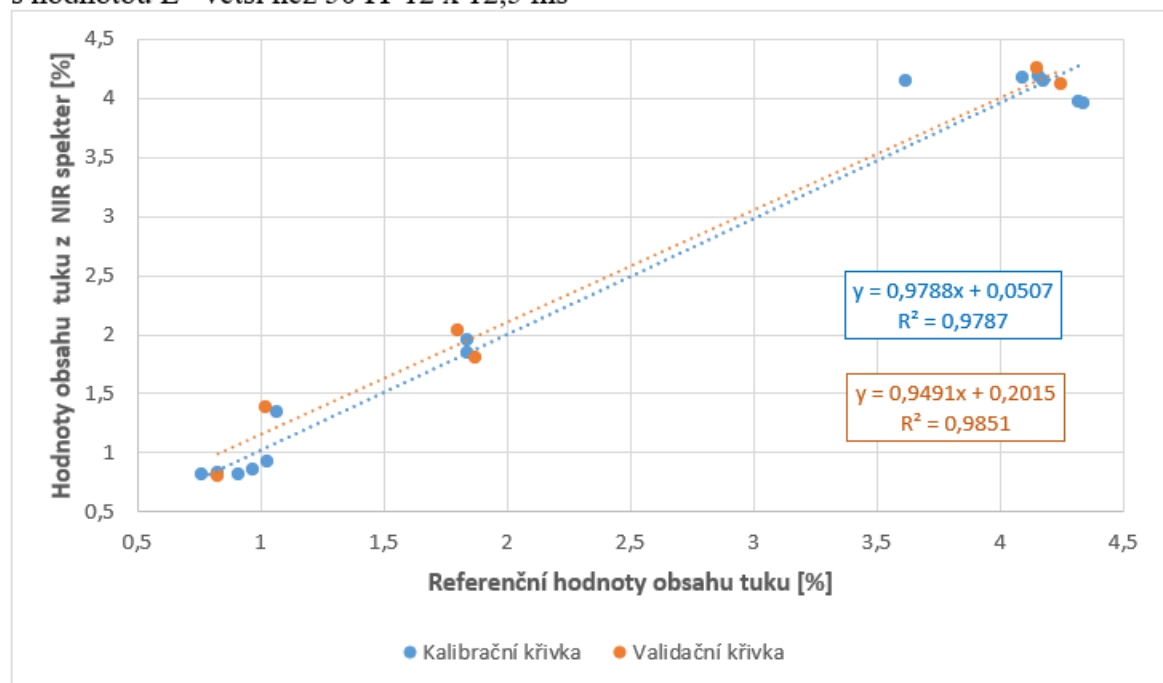
Příloha P16: Znáznornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L^* (IT 12 x 12,5 ms)



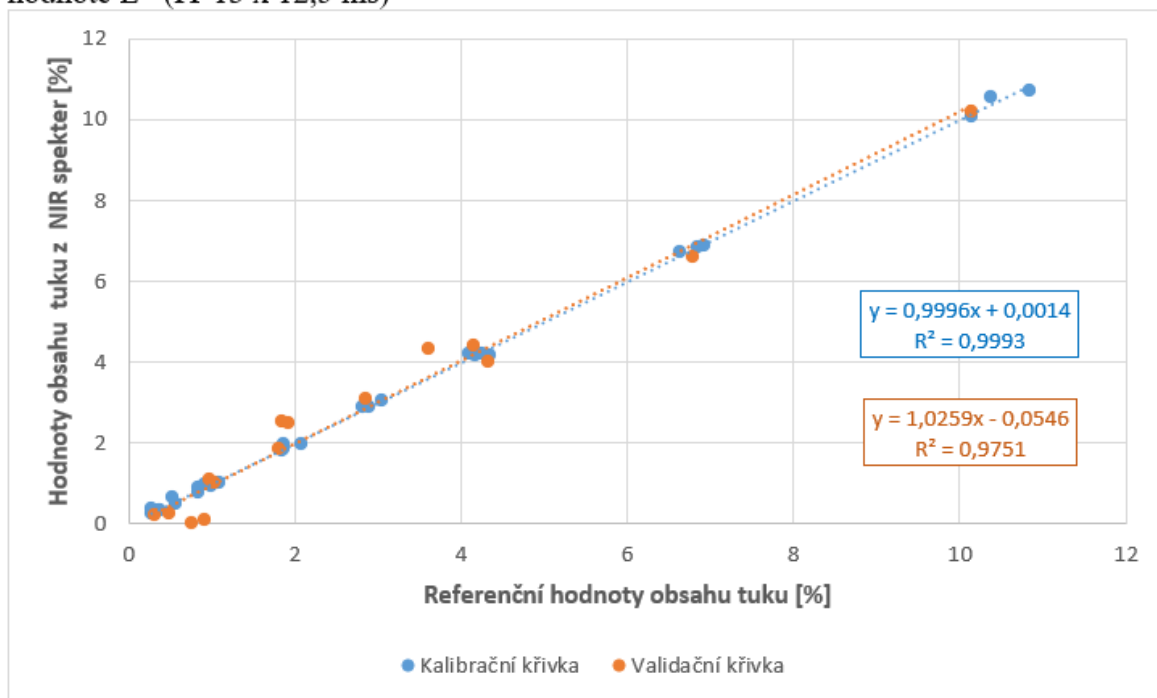
Příloha P17: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms



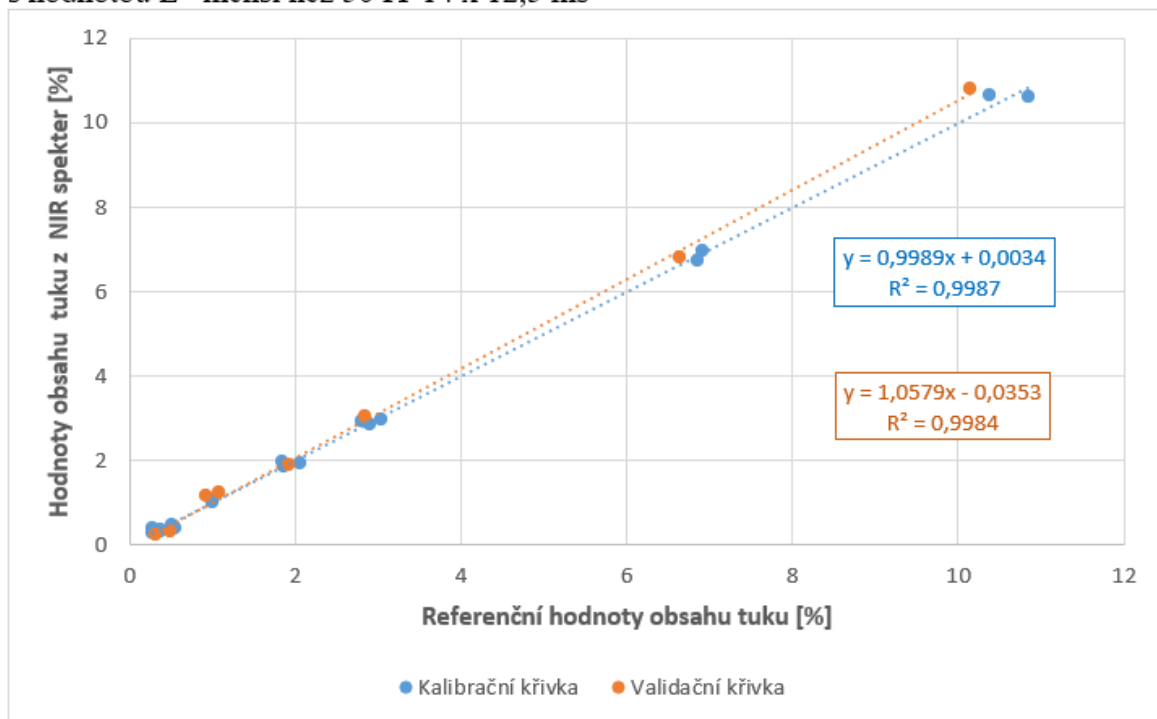
Příloha P18: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms



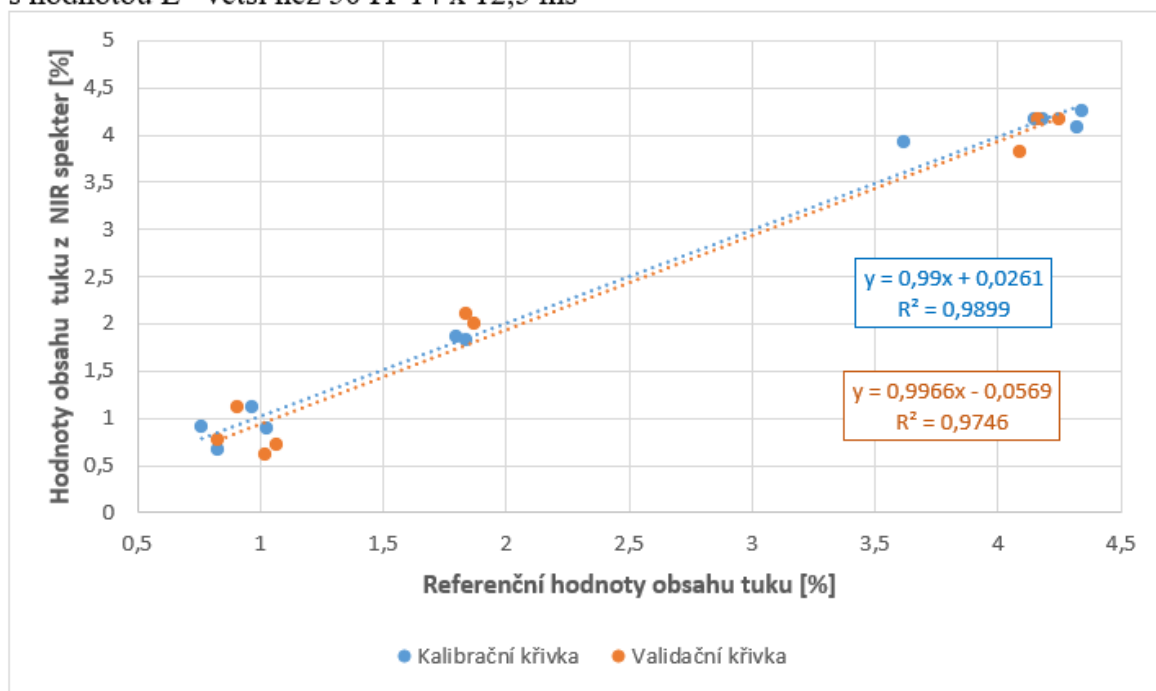
Příloha P19: Znáornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku nezávislém na hodnotě L* (IT 13 x 12,5 ms)



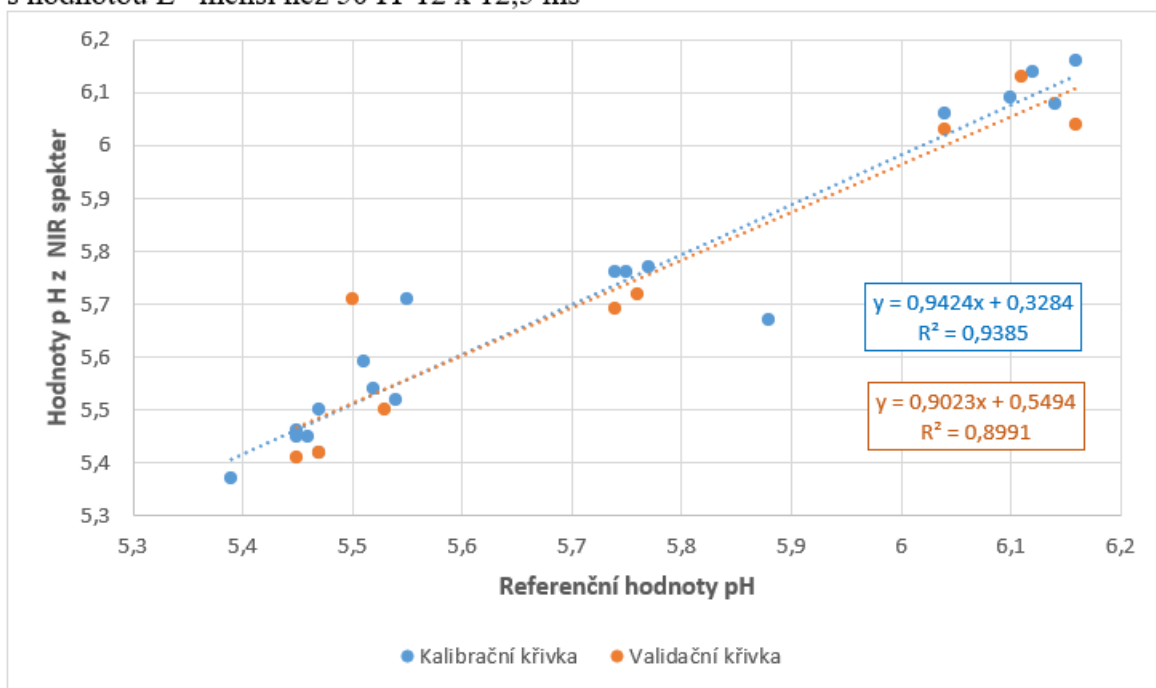
Příloha P20: Znáornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms



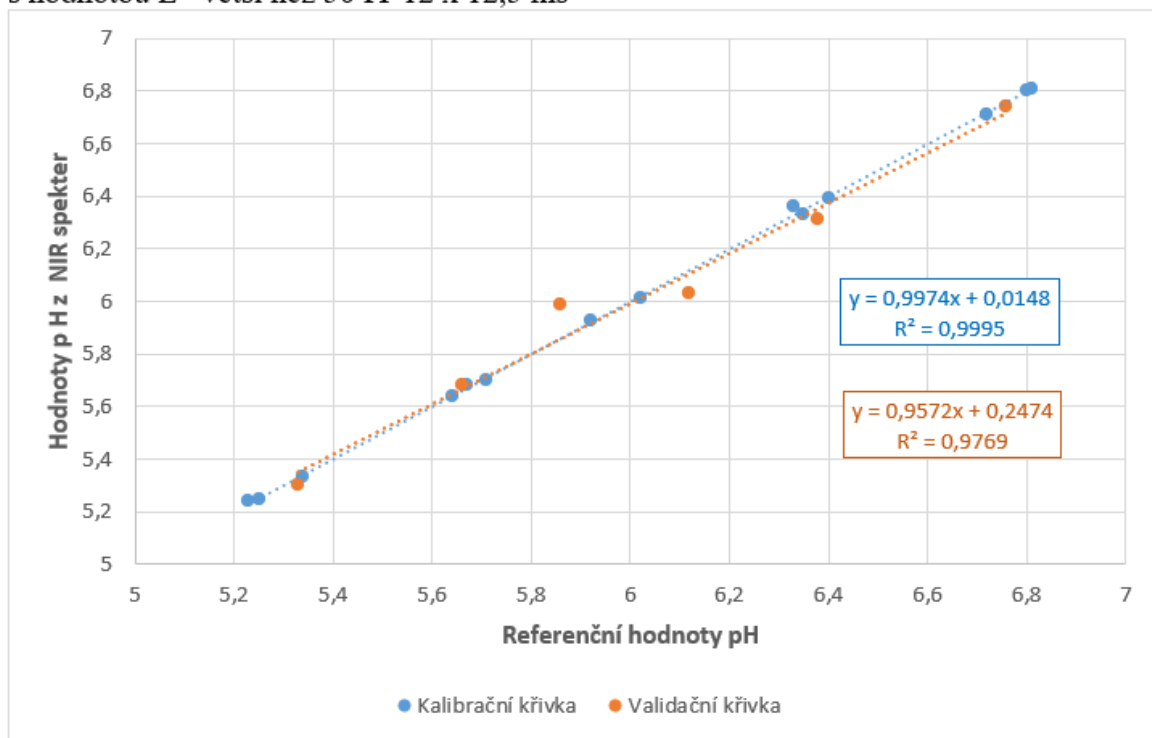
Příloha P21: Znázornění kalibrace a validace modelu pro obsah tuku pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 14 x 12,5 ms



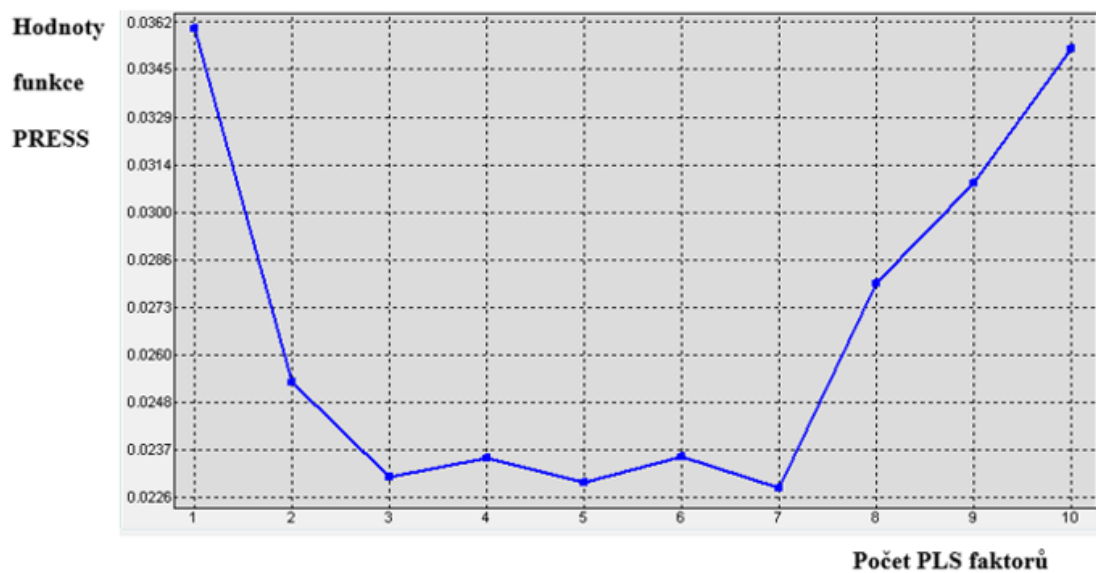
Příloha P22: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 12 x 12,5 ms



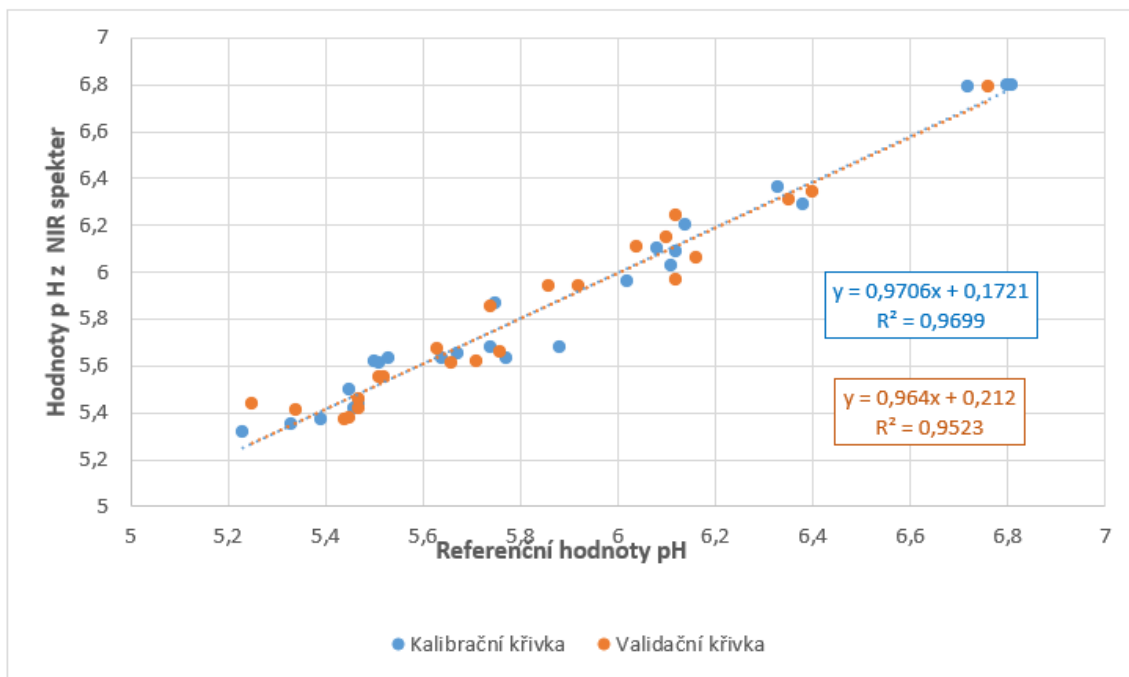
Příloha P23: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 12 x 12,5 ms



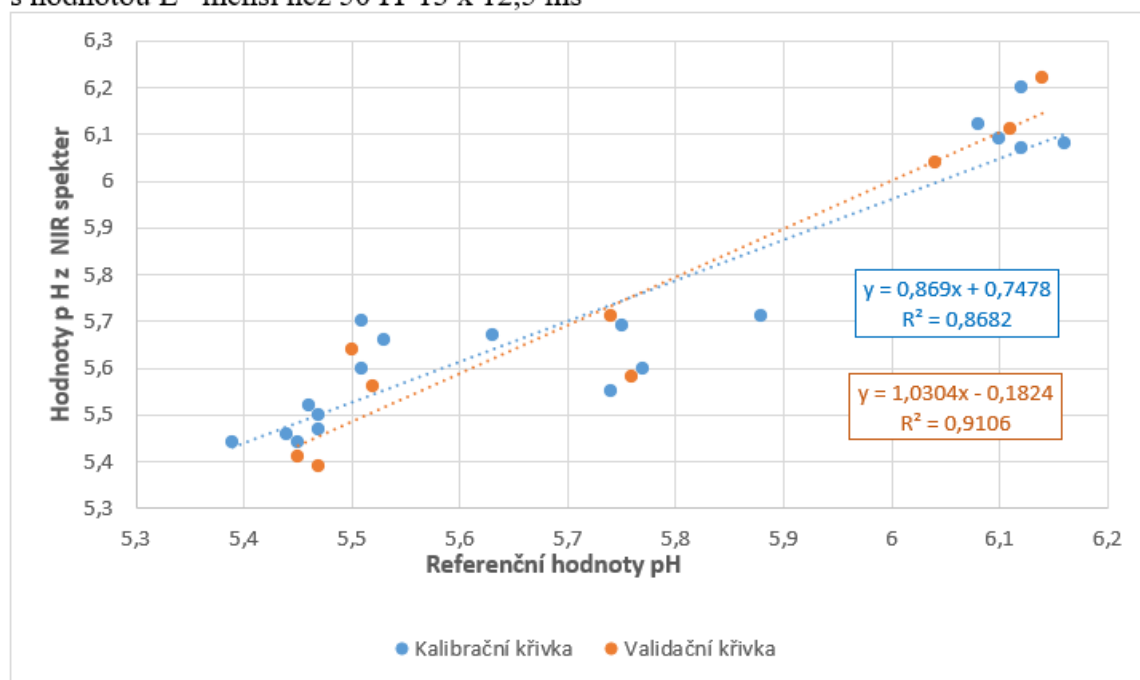
Příloha P24: Průběh funkce PRESS pro kalibrační model pro stanovení pH s hodnotou L* menší než 50 při IT 12 x 12,5 ms



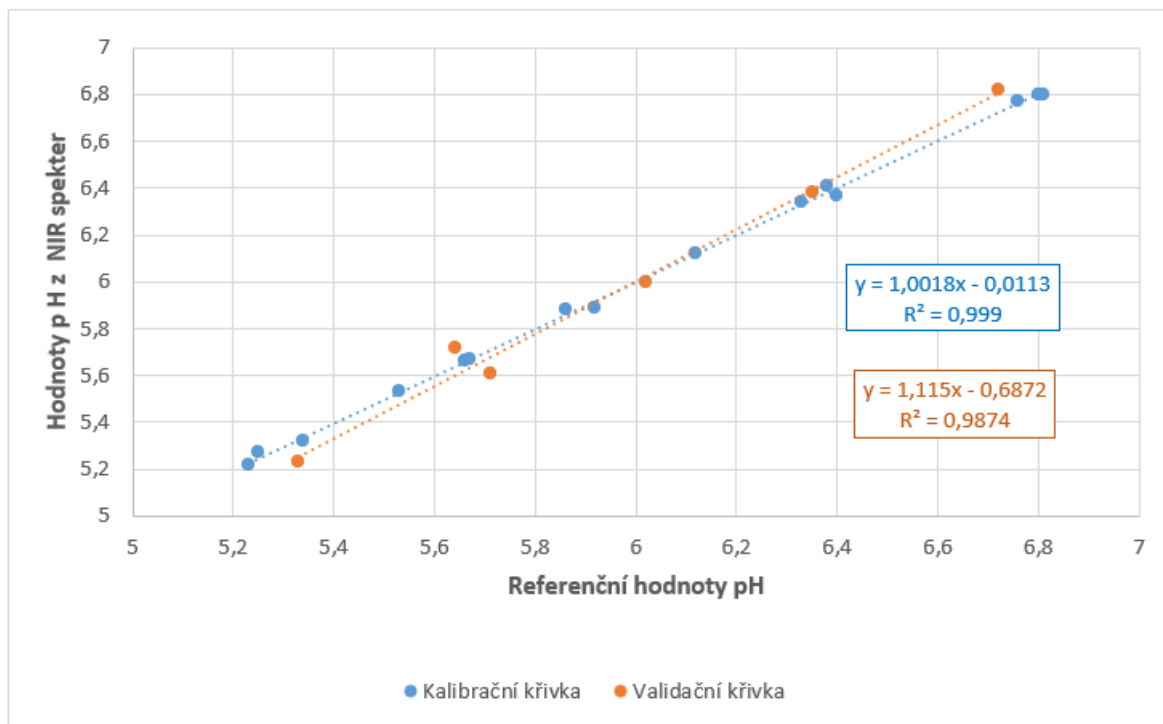
Příloha P25: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH nezávislém na hodnotě L* (IT 13 x 12,5 ms)



Příloha P26: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 13 x 12,5 ms



Příloha P27: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L* větší než 50 IT 13 x 12,5 ms



Příloha P28: Znázornění kalibrace a validace modelu pro hodnotu pH pro vzorky s hodnotou L* menší než 50 IT 14 x 12,5 ms

