



Pavel Nerušil, Ladislav Menšík, Václav Jambor

Využití blízké infračervené spektroskopie ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice, určených k výrobě kukuřičné siláže

Certifikovaná metodika pro praxi



Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

2016

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Výzkumný tým obhospodařování a využívání trvalých travních porostů



Využití blízké infračervené spektroskopie ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice, určených k výrobě kukuřičné siláže

Ing. Pavel Nerušil, Ph.D.
Ing. Ladislav Menšík, Ph.D.
Ing. Václav Jambor, CSc.

Certifikovaná metodika pro praxi

2016

Využití blízké infračervené spektroskopie ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice, určených k výrobě kukuřičné siláže

Cílem metodiky je podat nejnovější informace o stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice při sklizni na siláž pomocí blízké infračervené spektroskopie. Metodika stanovuje progresivní postupy hodnocení vybraných parametrů nutriční hodnoty krmiva (obsah sušiny, N-látek, hrubé vlákniny, škrobu, neutrálně detergentní vlákniny, stravitelnost organické hmoty, stravitelnost vlákniny apod.), stanovených v usušených a semletých vzorcích řezanky celých rostlin kukuřice nebo alternativně rostlin zbavených palic, pro vzájemné porovnání kvality píce zelené hmoty hybridů s odlišnou raností, určených ke sklizni na siláž. Přínosem je podstatné zvýšení efektivnosti a rychlosti prováděných exaktních rozborů ve smyslu naplnění praktických potřeb široké obce uživatelů. Měření (stanovení) je pracovně bezpečné a nemá negativní vliv na životní prostředí. Metodika je určena uživatelům ve šlechtění rostlin, v odrůdovém zkušebnictví, v zemědělském výzkumu (včetně vysokých škol), ve státních institucích a především v zemědělském provozu.

Klíčová slova: *blízká infračervená spektroskopie; výživná hodnota; silážní kukuřice; laboratorní kontrola.*

The use of near infrared spectroscopy to determine nutrition value of maize hybrids, intended for maize silage production

The aim of the methodology is to provide the latest news about near infrared spectroscopy assessment of nutrition values of silage corn at the moment of harvest. The methodology specifies the progressive approaches to evaluation of selected nutrition values of forage (dry matter content, nitrogen substances, crude fibre, starch content, neutrally detergent fibre, digestibility of organic matter and fibre etc.). Selected parameters were determined in dried and pulverized samples of corn shreds, or, alternatively, in plants without corn ears. The evaluation has been done especially for interactive comparison of forage quality of the silage corn hybrids with different earliness. The benefit of the methodology is a significant increase in the rate of exact analysis for a wide range of customers. The analysis is very safe and environmentally friendly. The methodology is dedicated to all who works in plant breeding, plant's variety testing, agricultural research (including universities), and for government institutions and especially for farmers.

Keywords: *near infrared spectroscopy; nutrition value; silage maize; laboratory control.*

Certifikovaná metodika je výstupem řešení projektu č. TA02021257 „Optimalizace provozu bioplynové stanice s prizmatickými fermentory v modelovém zemědělském podniku ve vztahu k zemědělské soustavě a životnímu prostředí“ (60 %), projektu MZe - RO0415 (30 %) a projektu NAZV č. QI91A240 (10 %).

Autorský kolektiv

Ing. Pavel Nerušil, Ph.D. (VÚRV, v.v.i.), Ing. Ladislav Menšík, Ph.D. (VÚRV, v.v.i.), Ing. Václav Jambor, CSc. (NutriVet s.r.o.)

Oponenti:

Ing. Marek Povolný, ÚKZÚZ Brno
Ing. Václav Míka, DrSc.

Foto na obálce: L. Menšík

Publikace neprošla jazykovou úpravou.

Metodika je určena pro zemědělskou praxi, pracovníky ve šlechtění, odrůdovém zkušebnictví, výzkumu, školství a poradce. K využití metodiky byla uzavřena smlouva s firmou AGROSPOL, agrární družstvo, se sídlem v Knínicích, která doporučuje tuto metodiku pro využití v praxi. Metodika byla schválena orgánem státní správy (ÚKZÚZ Brno) pod č.j. UKZUZ 028046/2016. ÚKZÚZ Brno doporučuje tuto metodiku pro využití v praxi.

Obsah

1. Úvod	4
2. Cíl metodiky	5
3. Současný stav řešené problematiky	5
3.1. NIR spektroskopie	5
3.2. Hodnocení výživné hodnoty silážní kukuřice	10
4. Experimentální část	11
4.1. Výběr kalibračních vzorků a použité referenční metody rozboru	11
4.2. Predikce výživné hodnoty silážní kukuřice	13
4.3. Potenciál NIR analýzy a výhled	22
5. Závěr	23
6. Srovnání novosti metodických postupů a další přínosy.....	24
7. Ekonomický přínos	24
8. Popis uplatnění metodiky	25
9. Seznam publikací, které předcházejí metodice	25
Literatura	26
Seznam obrázků, tabulek a zkratk	28

1. Úvod

Kukuřice setá je v současném zemědělství považována za stále významnou krmnou, potravinářskou a také průmyslovou plodinu (Zimolka a kol. 2008) pěstovanou na orné půdě. Celková výměra osevních ploch kukuřice pěstované na zrno a na zeleno a siláž v roce 2015 činila podle údajů ČSÚ 324 928 ha a oproti roku 2000 došlo k navýšení ploch zejména z důvodu vyššího zastoupení kukuřice na zrno o více než 15 % (Tab. 1). U kukuřice na zeleno a siláž pěstované pro krmné účely došlo z důvodu snížení stavů skotu v průběhu 15 let k poklesu výměry osevních ploch až o 20 % v roce 2010. V současné době je kukuřice na zeleno a siláž pěstována na téměř shodné ploše jako v roce 2000, ale tento nárůst je způsoben částečnou změnou využitím její biomasy jako energetické suroviny. Díky používání kvalitních hybridních osiv a aplikací moderních systémů agrotechniky, hnojení a účinných přípravků na ochranu rostlin jsou dosahovány výnosy vysoké úrovně, srovnatelné s vyspělými státy země EU.

V současnosti je přibližně 70 % kukuřice pěstováno na zeleno a siláž, která představuje hlavní energetickou složku objemných krmiv pro hospodářská zvířata. Dále je významnou energetickou surovinou pro výrobu biopaliv (bioetanol) a základním substrátem pro výrobu bioplynu (metanu) v zemědělských bioplynových stanicích (ZBPS). Zbýlých 30 % tvoří kukuřice na zrno, která se využívá jednak k výrobě krmiv pro všechny kategorie hospodářských zvířat a dále se využívá v potravinářství a pro průmyslové zpracování. V potravinářství slouží kukuřice jako zdroj oleje, škrobu, glukózy, fruktózového sirupu (Taufarová a kol. 2014). Ze zrna se vyrábí kukuřičná mouka a krupice, která je využívá např. pro výrobu corn-flakes. Jako pochutina je oblíbená i kukuřice cukrová, která se sklízí v mléčně-voskové zralosti a jí se syrová, vařená nebo konzervovaná a to buď samotné obilky nebo celé mladé palice. Žádané jsou rovněž tzv. pukance (pop corn), vyráběné z kukuřice pukancové. Kukuřice je ve zpracovatelském průmyslu využívána k výrobě škrobu, dextrinu, invertního cukru, sirupu, lihu, oleje, kukuřičného lepku, acetonu, papíru, celulózy, linolea, izolačních desek apod.

Tab. 1: Vývoj osevních ploch kukuřice seté v ČR v letech 1980–2015.

Plodina	1980	1990	2000	2010	2015	Index (%)			
						2015/2014	2015/2000	2015/1990	2015/1980
Osevní plocha celkem	3 317 831	3 270 963	3 020 564	2 495 859	2 457 465	99,5	81,4	75,1	74,1
Zrny celkem	1 821 018	1 708 792	1 688 095	1 490 823	1 436 570	100,4	85,1	84,1	78,9
Kukuřice na zrno	24 304	44 941	39 317	99 945	93 575	93,2	238,0	208,2	385,0
Plodiny na zeleno celkem	1 019 962	1 099 907	725 252	406 450	458 266	101,3	63,2	41,7	44,9
Jednoleté píce celkem	456 272	594 526	308 243	225 151	280 893	99,0	91,1	47,2	61,6
Kukuřice na zeleno a siláž	281 981	381 525	232 406	181 939	231 353	98,2	99,5	60,6	82,0
Víceleté píce celkem	563 690	505 381	417 008	181 299	177 373	105,1	42,5	35,1	31,5

2. Cíl metodiky

Cílem metodiky je podat nejnovější informace o stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice při sklizni na siláž pomocí blízké infračervené spektroskopie (NIRS). Metodika stanovuje progresivní postupy hodnocení vybraných parametrů nutriční hodnoty krmiva (obsah sušiny, N-látek, hrubé vlákniny, škrobu, NDF /neutrálně detergentní vláknina/, stravitelnost organické hmoty (SOH), stravitelnost vlákniny, stravitelnost NDF, stanovovaných v usušených a semletých vzorcích řezanky celých rostlin kukuřice nebo alternativně rostlin zbavených palic pro vzájemné porovnání kvality píce zelené hmoty hybridů s odlišnou raností, určených ke sklizni na siláž.

3. Současný stav řešení problematiky

3.1. NIR spektroskopie

Blízká infračervená spektroskopie je v současné době běžně používanou analytickou metodou v celé řadě výzkumných i kontrolních laboratořích (Muselík a kol. 2012). Jejím principem je absorpce části infračerveného záření jednotlivými molekulami analyzovaného vzorku. Spektroskopie v NIR oblasti se v potravinářství a zemědělství uplatňuje již od 60. let minulého století /stanovení obsahu vody, proteinů, tuků a sacharidů/ (Mlček a kol. 2010).

V zemědělství lze z významných knižních publikací zabývajících se NIR spektroskopií jmenovat např. práce Williams a Norris (2001) či Roberts, Workman a Reeves (2004) nebo Burns a Ciurczak (2007). Naproti tomu ucelených publikací v českém jazyce pojednávajících o využití NIR spektroskopie pro hodnocení zemědělských komodit je velmi málo (Dvořáček a kol. 2014). Výjimkou jsou vydané metodiky pro praxi Míka (1997), Míka a kol. (2008), které popisují uživatelům základní fyzikální principy NIR spektroskopie, kalibrační postupy pro kvantitativní i kvalitativní analýzu včetně konkrétních příkladů predikce parametrů ve vybraných zemědělských komoditách.

Nejnovější publikací o NIR spektroskopii je metodika „Efektivní využití blízké infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací pro hodnocení technologických vlastností pšenice“ autorů Dvořáček a kol. (2014).

Principy

Spektroskopie se zabývá interakcemi mezi elektromagnetickým zářením a hmotou, zvláště pak tou, která je charakterizována změnou energetického stavu látek, tzn., že mezi zářením a hmotou dojde k výměně energie. Při těchto procesech lze rozlišit dva základní druhy energetické výměny. Pokud se vnitřní energie hmoty snižuje, jedná se o emisní spektroskopii, látka emituje kvantum elektromagnetického záření. V opačném případě látka kvantum záření pohltí, čímž zvýší svoji vnitřní energii. V tomto případě se jedná o absorpční spektroskopii. V infračervené spektroskopii se těchto procesů účastní celá molekula, a proto je tato metoda označována jako jedna z metod molekulové spektroskopie (Novotná 1998).

Infračervená spektroskopie je analytická technika, která je určena zejména pro identifikaci a strukturní charakterizaci organických sloučenin a také technika určená pro stanovení anorganických látek. Principem metody je pohlcování nebo reflexe různých vlnových délek dopadajícího záření, které závisí na chemickém složení analyzovaného vzorku.

Blízká infračervená spektroskopie (NIRS) je analytická technika, která využívá zdroj emitujícího záření známé vlnové délky (obvykle 800–2500 nm, tj. 12500–4000 cm⁻¹). Z praktických důvodů se podle vlnočtů rozlišuje oblast vzdálená (FIR, far infrared) vymezující vlnočty do 200 cm⁻¹, střední (MIR, middle infrared), které odpovídají vlnočty

4000–200 cm^{-1} a blízká (NIR, near infrared), které odpovídá rozmezí vlnočtů 12821–4000 cm^{-1} (Muselík a kol. 2012). V ní se nalézá většina vibračních vazeb -CH, -OH, -SH a -NH. Všechny absorpční pásy jsou výsledkem svrchních tónů (angl. *overtones*) či kombinací přechodů do základních MIR pásů (Siesler a kol. 2002).

Teorii NIR se zabývala řada odborníků a bylo vydáno mnoho příruček a vědeckých pojednání (Siesler 2007, Griffiths, Dahm 2007, Schneider, Štoka 1988, Vorlová a kol. 2014). Pro většinu aplikací kvantitativní analýzy prováděných v režimu reflektance je využívána oblast 1200–2500 nm z důvodu obtížného měření absorpčních pásů mimo uvedené rozpětí.

Technika měření NIR spekter

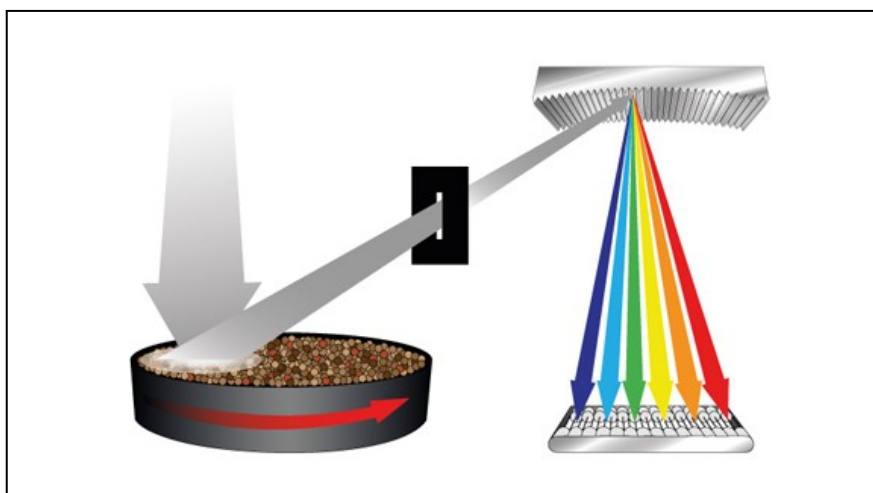
Přístroje využívané pro měření vzorků v oblasti NIR se od konce minulého století postupně vyvíjely na základě znalostí a výrobních možností aktuální doby při zohlednění požadavků na charakter vzorků a podmínek jejich měření. V principu jsou NIR spektrometry složeny ze zdroje záření, monochromátoru, místa pro měření vzorku a detektoru. Na základě použitého optického systému přístroje lze velmi zjednodušeně současné NIR spektrometry rozdělit do čtyř základních skupin, lišících se podle jejich principu separace vlnových délek NIR spektra z primárního světelného zdroje.

Filtrové NIR přístroje

Představují vývojově nejstarší skupinu spektrometrů, které pracují pouze s určitými vlnovými délkami, jejichž počet se pohybuje nejčastěji v rozsahu 3–19 pevných filtrů. Filtrové spektrometry, schopné provádět analýzu pouze vybraných makrosložek, jsou obecně málo flexibilní a mohou být zdrojem chyb (například při změně teploty). Přesto jsou dosud komerčně nabízeny a lze je stále využít při výkupu zemědělské produkce v silech a mlýnech, u zpracovatelů olejnin, v mléčném a potravinářském průmyslu, ale i při výrobě krmiv.

Disperzní NIR přístroje

Disperzní přístroje (*Obr. 1*) v principu převádějí záření ze zdroje na záření monochromatické pomocí štěrbin upravených na různou šířku (difrakční mřížkou). Otáčením difrakční mřížky se na vzorek a poté na detektor postupně přivádí záření vybraného vlnočtu či frekvence. Omezujícím faktorem těchto přístrojů je pomalejší režim skenování vzorku a nižší stupeň přesnosti měření v jednotlivých vlnových délkách. Moderní disperzní analyzátoři pracují s tzv. poměrovým záznamem, kdy je signál každého svazku paprsků (měrný a srovnávací) vyhodnocován samostatně, většinou již v digitalizované formě (Kukačková 2001).



Obr. 1: Schéma NIR spektrometru s diodovým polem (www.perten.com).

NIR přístroje s Fourierovou transformací (FT-NIR)

Pracují na principu interference záření, kdy je získaný signál matematickou operací převeden na infračervené spektrum. Oproti disperznímu spektrometru se měřený vzorek proměřuje za stejnou dobu vícekrát (vyšší rychlost skenu) a díky tomu je lepší výsledný poměr signálu a šumu (tzv. Fellgettova multiplexní výhoda). Další výhodou je, že na detektor FT-NIR spektrometrů dopadá většina emitovaného záření, a proto lze využívat i techniky s energetickými ztrátami (tzv. Jacquinova energetická výhoda).

NIR přístroje na principu AOTF

Spektra se snímají akusticky (ultrazvukem), čímž se urychluje rychlost snímání. Měření ultrazvukem umožňují přístroje vybavené akusticko-optickými filtry (Acousto-Optical Tunable Filters AOTF). Principem filtrů je změna indexu lomu specifického krystalu (TeO_2) pomocí ultrazvukových vln. Tyto změny pak umožňují rozložit dopadající polychromatické záření na jednotlivé vlnové délky s vysokou hladinou rozlišení. Významnou konstrukční výhodou těchto přístrojů je absence pohyblivých částí, čímž se zvyšuje jejich spolehlivost a přesnost emitovaných vlnových délek. Vlastní měření probíhá v širokém rozsahu NIR spektra s rychlostí skenu (až 30 x za minutu), který je limitován pouze časovou odezvou detektoru.

Chemometrické metody pro NIR spektroskopii

Analytická informace každého změřeného vzorku je zakódována do širokého NIR spektra s řadou překrývajících a interagujících zón. Je proto potřebné mít vhodné chemometrické (statistické) nástroje pro jejich rozklíčování. V praxi se NIR spektrometrie uplatňuje v kvantitativních, ale i kvalitativních analýzách. Zemědělská praxe upřednostňuje kvantitativní postupy. Potravinářská, farmaceutická a obecně technologická praxe využívá v hojně míře postupy kvalitativní (Dvořáček a kol. 2014).

Používané chemometrické postupy vychází z klasických fyzikálně-chemických zákonů. Tím základním je Lambert-Běrův zákon, který zjednodušeně říká, že absorbance při libovolné vlnové délce je úměrná molární koncentraci sledované látky. Takto popsaná závislost však platí pouze pro opticky transparentní kapaliny, měřené v kyvetě s definovanou tloušťkou, při které je dráha průchodu paprsku konstantní.

Ve většině případů, kdy byla pro měření vzorků použita NIR spektrometrie však toto pravidlo dodrženo není a konstantní dráhu paprsku vzhledem k různým specifickým odrazům a interferencím kontrolovat nemůžeme. Proto je pro odhad sledovaných parametrů (analytických veličin) nutné vyvíjet kalibrační modely s využitím pokročilých chemometrických algoritmů. Tyto specifické statistické postupy obvykle vyžadují rozsáhlou sadu kalibračních standardů (běžně uváděnou v literatuře v počtu 30 a více).

Výběr standardů by proto měl být uvážený a měl by respektovat jistá specifika. Soubor kalibračních vzorků musí být dostatečně reprezentativní, měl by pokrývat celou očekávanou variabilitu sledovaných charakteristik, které pak budou kvantitativně analyzovány a měl by zohlednit i další fyzikální či chemickou proměnlivost u měřených vzorků.

Referenční metody

NIR spektrum je přesně určeno na základě X-H vazeb ve vzorku. Je to souhrn NIR absorpčních pásů funkčních skupin určujících hlavní chemické a fyzikální vlastnosti píce. Naproti tomu referenční metoda, na základě jejíchž výsledků se provádí zpracování kalibrační rovnice NIR, mnohdy není dobře definována chemicky, takže není vždy snadné k ní vztáhnout spektroskopická data s náležitou přesností. Např. obsah vody se běžně stanoví sušením vzorku při 105 °C do konstantní váhy nebo při 135 °C po dobu dvou hodin. Ve skutečnosti i po této proceduře rostlinný materiál obsahuje ještě zbytkovou vodu, zatímco jiné

těkavé (bezvodné) látky nekontrolovaně unikají. Proto NIR měření obsahu vody poskytlo shodnější výsledky s alternativní metodou podle Karl Fishera (titračně) než s uzanční metodou sušením. Při stanovení dusíkatých látek (NL) se podle klasického postupu vychází z obsahu N vynásobeného faktorem 6,25 (s ohledem na průměrný obsah N v "rostlinné" bílkovině). NIR je schopna měřit N-H molekulární vazby, zastoupené v molekule bílkoviny. Nepřekvapuje, že shoda NIR měření je lepší s obsahem N ve vzorku než s obsahem NL. Dalším zdrojem disproporcí se může stát vzorkování (odběr průměrného vzorku a následná homogenizace), sušení (ke kalibraci celého souboru vzorků se doporučuje používat pouze jednu metodu sušení), mletí (vzorek se při něm nesmí zahřívát), a velikost síta (měla by být normalizována, např. ≤ 1 mm), promíchání vzorku a plnění do kyvet (Míka 1997). Dříve se prezentace vzorku omezovala na suché semleté seno či semleté zrniny. Dnešní přístroje a software dovolují prezentaci píce v jejich přirozené podobě (sena, siláží, čerstvé píce, napěchovaných ručně do kyvet většího objemu). Na základě praktických zkušeností a ověřování měření vzorků přístrojovou technikou NIR ve VÚRV, v.v.i., VS Jevíčko, se osvědčilo měřit referenční vzorky vícekrát a z dílčích výsledků vypočítat medián. Průměr je méně vhodný.

Kalibrace

Pojem kalibrace je používán k popsání postupu konverze informací o NIR absorpci do hodnot laboratorní referenční metody. Přesnost této konverze se posuzuje na základě směrodatné odchylky kalibrace (SEC) a směrodatné odchylky predikce (*standard error of performance*, SEP). SEP při úspěšné NIR kalibraci bývá asi dvojnásobně velká ve srovnání se směrodatnou odchylkou při laboratorním stanovení. Vlastní postup NIR kalibrace uvádí např. Míka a kol. 2008 v rámcovém schématu.

Vzorky ke kalibraci by měly být odebrány z podobných souborů, které by se měly měřit v budoucnosti. Rovněž i příprava (sušení, mletí, skladování atd.) by měla být podobná přípravě vzorků, které se budou sériově měřit. Je třeba získat co nejširší škálu vzorků s různým chemickým složením, nejen úzkou zájmovou oblast pro momentální měření. Získání dostateku vzorků s širokým variačním rozpětím hodnot však neznamená zařazení vzorků, které do zájmového souboru evidentně nepatří! Naše zkušenosti ukazují, že kalibrace postavená na méně než 100 vzorcích bývá málokdy dostatečně robustní, s výjimkou stanovení např. obsahu vody nebo N (obecně vysoká korelace s laboratorní metodou) u relativně homogenních materiálů (např. jednotlivé druhy obilovin). Referenční hodnoty by měly vycházet ze zaručených (přesných) rozborů, provedených duplicitně a zprůměrovaných (pokud vyhovují toleranci). Při dodatečné kontrole vzorků, které vybočují z běžného okruhu měření (*outliers*), se ve 45 % případů ukazuje, že se jedná o vzorky nepřesně analyzované klasickými postupy "mokré chemie", a zbytek jsou vzorky spektrálně zvláštní (Míka a kol. 2008). Obecně je také doporučováno provádět rozборы klasickými uzančními metodami pokud možno v jedné laboratoři, neboť jakákoliv odchylka od přesně určeného postupu vnáší do kalibračního modelu možné zdroje chyb. Důležitá je pečlivá kontrola identifikace vzorků (dbát, aby se nepomíchalo pořadí apod.), neboť neuvěřitelně mnoho chyb měření (včetně kalibrace) jde na vrub "lidského" faktoru. Vzorky je třeba chránit před extrémní světla, tepla a vlhkosti. Pokud se v obsluze střídají dvě osoby, obě by měly pracovat stejně pečlivě. Měření NIR spekter musí předcházet každodenní kontrola monochromátoru (diagnostika), abychom si byli jisti, že přesnost nastavení vlnových délek ($\pm 0,3$ nm), opakovatelnosti ($\pm 0,2$ nm) a charakteristiky pozadí (20 μ OD, RSM) odpovídá specifikacím od výrobce. Laboratorní teplota a vlhkost by během měření neměla podstatně kolísat, naprosto nevhodný je průvan. Rovněž zacházení se vzorky a postup vlastního měření by měl být metodicky spíše pomalejší, aby se tím zajistilo, že hodnoty nebudou kvůli tomu vybočovat z řady. Duplicitní (paralelní) plnění materiálu do kyvet a jedno měření je rozhodně vhodnější než dvojí měření jedné naplněné kyvety.

Duplicitní snímání spekter (měření) je sice instruktivní, ale ne striktně nezbytné. Na konci měření je vhodné zopakovat "diagnostiku", abychom se přesvědčili o stabilitě přístroje. Dále je možno naměřená spektra zálohovat na externí úložiště dat z důvodu neočekávané poruchy PC. Při monitoringu spekter v prohlížeči je třeba kriticky posoudit každou abnormitu a případně provést opakované proměření.

Regresní modelování

Vlastnímu zpracování kalibrační rovnice předchází několik dílčích kroků. Nejdříve se provede vložení referenčních hodnot do souboru spekter (*spectra file*) a vyvolá se graf korelace vlnové délky oproti korelačnímu koeficientu za použití log 1/R (1. či 2. derivace log 1/R). Jestliže je korelační graf nevyvážený, se "šumy" či nestrukturovaný, je málo pravděpodobné, že mnohonásobné modelování bude úspěšné. Pomocí SMLR (postupná mnohonásobná lineární regrese) na log 1/R a její 1. či 2. derivace je nejdříve nutno zjistit tzv. "outliery" (odlehle hodnoty). Ty mohou být dvojí: Jednak tzv. t-outliery (zjištěné pomocí t-statistik), u nichž jsou referenční hodnoty (z laboratoře) podezřelé, a H-outliery (zjištěné pomocí H-statistiky), u nichž se spektrum vzorku odlišuje od jiných v kalibračním souboru. V prvním případě je kritická úroveň 2,5, ve druhém 3,0. Rozdělení H-hodnot je rovněž důležité při rozhodování o případné eliminaci outlierů. Rovněž je třeba ověřit, zda by technika rozkladu spekter za použití PCA (analýza hlavních komponent) zlepšila přesnost predikce. Aplikací PCA analýzy lze snížit chybu predikce o pětinu ve srovnání s SMLR a obecně ji považujeme za velice spolehlivou. Je třeba se vyhnout tzv. *overfitting* (přílišné precizování spektrálních dat různými derivacemi, až tyto ztratí výpovědní sílu informací). Dále je nutno mít na zřeteli skutečnost, že korelace může vzejít z *overfitting* příliš velkého počtu vlnových délek a příliš malého počtu vzorků. Kritériem pro výběr kalibrační rovnice je SEC a R^2 (koeficient determinace). Zadáváním dalších vlnových délek se vždycky snižuje SEC a zvyšuje R^2 . Vybraná kalibrační rovnice by měla mít co nejmenší SEC při malém počtu vlnových délek, z nichž žádná by měla mít dílčí statistiku $F < 10$. Regresní koeficienty v rovnici by neměly přesáhnout 10, jestliže analytická data jsou vyjádřena v %. Většina druhů software obsahuje postup zvaný vnitřní křížová validace (*internal cross-validation*), jímž se kalibrační soubor opakovaně segmentuje na skupiny. Jedna skupina se ponechává pro validaci, zbylá (zbylé) pro kalibraci. Tento postup se opakuje, dokud všechny skupiny nebudou pro validaci použity alespoň jednou. Posouzení vhodnosti predikčního modelu pro jeho praktické využití je obvykle prováděno podle koeficientu determinace R^2 (Tab. 2).

Tab. 2: Kategorizace získaných kalibračních modelů podle koeficientu determinace (Dvořáček a kol. 2014).

Kategorie použitelnosti modelu	Rozsah koeficientu determinace R^2
excelentní	> 0,90
použitelný pro běžnou zemědělskou praxi	0,82–0,90
pouze orientační odhad sledovaného znaku	< 0,82

Externí validace

Vybraná část souboru vzorků s referenčními hodnotami, ponechaná mimo kalibrační soubor, se označuje jako validační soubor a slouží k ověření kalibračních rovnic. "Nejlepší" rovnice se vybírá na základě SEP a R^2 . Zatímco SEC se vždycky snižuje (tj. zlepšuje) s přidáváním vlnovými délkami, SEP nikoli. Ve skutečnosti SEP většinou dosáhne minima, pak má s přidáváním vlnovými délkami tendenci se znovu zvyšovat tak, jak stoupá nebezpečí *overfitting*. Směrnice přímky mezi "aktuálními" vs. "predikovanými" hodnotami by měla být blízká hodnotě 1,0, což udává, že přímka je postavena k osám x,y pod úhlem 45°. Pro dosažení takové hodnoty by měl být průměr a směrodatná odchylka validačního souboru

velice podobné kalibračního souboru. Při výběru "nejlepší" kalibrační rovnice se používají všechna tato kritéria, přičemž snaha je dodržet co nejmenší počet *terms* (jako vysvětlitelných proměnných). Jestliže má obsluha přístroje dostatečné zkušenosti s chemickou interpretací NIR spekter, je také vhodné zjistit, které vlnové délky byly vybrány pro rovnice. V okamžiku, kdy opakovaná zpracování kalibračních rovnic nepřinášejí zlepšení statistických ukazatelů, má teprve smysl provést tzv. křížovou validaci (*cross-validation*) souboru. Cílem je zvýšení počtu vzorků, vylepšení údajů při stejných segmentech vlnových délek a zlepšení dílčích regresních koeficientů (hodnoty B_0) v kalibrační rovnici. Pro vylepšení kalibrační rovnice je k dispozici řada postupů, které však mají jistá omezení. Např. postupná mnohonásobná lineární regrese (*stepwise multiple linear regression*) je vystavena řadě nepříznivých efektů, jako je kolinearita, špatná podmíněnost a *overfitting*, a stává se vážně nespolehlivou, jestliže údaje referenční metody jsou nepřesné nebo pocházejí z různých laboratorů s různými analytickými finesami. Většinou úspěšnější bývá zavedení regrese dílčích nejmenších čtverců (PLS). Algoritmus PLS redukuje spektrální data do několika málo proměnných. U kalibračního souboru vzorků je možno provést předselekcii na základě samotných NIR spekter, umožňující analyzovat referenčními metodami dostatečně širokou kolekci vzorků, aniž by zde byly obsaženy vzorky, které nepřinášejí další informace. Vzorky pro testování se mohou také vybírat cíleně podle samotných spekter, aby se definoval rozsah a nejzazší hranice populace (např. software ISI poskytuje několik nabídek pro vlastní provedení) - Infrasoft International (2000).

3.2. Hodnocení výživné hodnoty silážní kukuřice

Silážní kukuřice se stala hlavní součástí krmné dávky dojníc jako hlavního donora energie. Čím větší podíl energie z objemných krmiv vneseme do krmné dávky, tím méně potřebujeme dalších energetických zdrojů (drahá jaderná krmiva) pro dosažení efektivní produkce mléka. Energie v silážní hmotě je prioritně zabezpečována podílem zrna v celkové silážní hmotě a v neposlední řadě celkovou stravitelností rostlin. Je nejvýznamnějším sacharidovým krmivem, které sehrává důležitou stabilizační úlohu v krmné dávce skotu, neboť často tvoří až 50 % podíl sušiny směsné krmné dávky (TMR) a její obvyklé denní množství v krmných dávkách dojníc se pohybuje zpravidla v množství 15–20 kg.

Ke zvýšení mléčné užitkovosti u vysokoprodukčních dojníc z hlediska příjmu sušiny a koncentrace energie vyrobené kukuřičné siláže je limitující především výběr silážních hybridů. Při zvýšení stravitelnosti vlákniny o 1 % dojde u vysokoprodukčních dojníc ke zvýšení mléčné užitkovosti o 0,2 l mléka a zvýšení příjmu sušiny kukuřičné siláže. V nabídce osivářských firem jsou hybridy různých vlastností, které jsou určeny pro různé účely využití. V současnosti jsou nabízeny kukuřičné hybridy pro výrobu kukuřičného zrna, pro výrobu siláže ke krmnému účelu nebo pro výrobu bioplynu. Z tohoto důvodu nelze tedy testovat jakýkoliv hybrid, ale vybírat hybridy podle účelu využití. Tomu musí odpovídat i způsob hodnocení sledovaných ukazatelů. U hybridů pro výrobu kukuřičného zrna je důležitý především výnos zrna; pro výrobu siláže je kromě obsahu zrna (obsah škrobu v siláži) významná také kvalita píce, resp. stravitelnost vlákniny a jejich frakcí (NDF, ADF), která zásadním způsobem ovlivňuje příjem sušiny u dojníc. U hybridů pro výrobu bioplynu je pak hlavním ukazatelem výnos sušiny z hektaru a hydrolýza vlákniny (Loučka a kol. 2014b).

Výsledky hodnocení pěstovaných hybridů kukuřice mohou každoročně významnou měrou ovlivnit ekonomiku výroby mléka a masa. Pokud budou tato hodnocení provedena nezávisle pomocí jednotných postupů, budou mít chovatelé, resp. výrobci v rukou významný argument pro výběr hybridů pro jejich lokality, resp. možnost, jak zlepšit ekonomiku chovu dojníc a masného skotu.

Zásadní vliv na kvalitu siláže silážní kukuřice má stanovení optimálního termínu sklizně. Hybridy, které nejsou sklizeny ve stejné vegetační fázi, nelze mezi sebou porovnávat, protože

rozdílná fenofáze při sklizni má vliv nejen na celkový výnos sušiny, ale také zásadním způsobem se mění podíl klasu a zbytku rostliny. Díky stárnutí rostliny dochází k lignifikaci vlákniny, což vede ke změnám kvalitativních ukazatelů siláže, zejména pak na stravitelnost organické hmoty (SOH), stravitelnost neutrálně detergentní vlákniny (SNDF) a na obsah a degradovatelnost škrobu. Správný termín sklizně je hlavní podmínkou pro to, abychom mohli jednotlivé hybridy navzájem porovnávat, a jeho stanovení se řídí obsahem celkové sušiny v rostlině (30–33 %). Přihlédnout by se mělo rovněž k sušině zrna (přibližně 55 %) a stádiu zralosti zrna (doporučuje se 2/3 mléčné linie), což odpovídá mléčně voskové zralosti (ÚKZÚZ 2013). V případě viditelných znaků Stay-green je rozhodující sušina řezanky celé rostliny. Pro odhad termínu sklizně lze rovněž využít sumu efektivních teplot (SET) podle ranosti hybridu (Tab. 3). Výpočet SET se provádí sčítáním denních středních teplot, ponížených o fyziologickou minimální teplotu 6 °C. Tato metoda je však zatížena určitými nepřesnostmi, protože porosty jsou v konkrétních pěstelských podmínkách ovlivněny agroekologickými vlivy (např. půdním druhem, expozicí pozemku, stresem ze sucha) a termínem výsevu.

Denní efektivní teplota = $[(\text{minimální teplota} + \text{maximální teplota})/2] - 6$

Tab. 3: Odhad teplotních požadavků hybridů silážní kukuřice (Loučka a kol. 2014b).

Číslo FAO	Suma efektivních teplot (°C)
200–230	1350–1410
230–250	1400–1460
250–280	1440–1500
280–300	1470–1530
300–350	1500–1600

4. Experimentální část

4.1. Výběr kalibračních vzorků a použité referenční metody rozboru

Podkladem pro zpracování dvou kalibračních rovnic ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice byly usušené a na laboratorním mlýnku standardně pomleté (velikost částic <1 mm) vzorky a) celé rostliny a alternativně b) rostliny kukuřice zbavené palic u širokého spektra silážních i zrnových hybridů (FAO 200–350) ze sklizňových let 2010 a 2012. Vzorky pro každý z obou způsobů hodnocení byly odebrány v průběhu sklizně na pokusných plochách výzkumných organizací (lokality Troubsko a Praha - Uhřetěves) a provozních plochách řady zemědělských podniků celé ČR, charakteristických odlišnými agroekologickými pěstebními podmínkami. To umožnilo shromáždit obsáhlou kolekci vzorků s vysokou variabilitou hodnot ukazatelů kvality píce u jednotlivých hybridů kukuřice. V případě řezanky celé rostliny se jednalo o celkem 201 vzorků z přesných maloparcelových pokusů s dvaceti hybridy kukuřice, sklizených na stanovištích Troubsko a Praha - Uhřetěves, odebraných v letech 2010 (81 vzorků) a 2012 (120 vzorků). Pro zpracování kalibrační rovnice k hodnocení rostlin kukuřice zbavené palic bylo použito celkem 447 vzorků, z toho 141 vzorků sklizených v roce 2010 a 306 vzorků sklizených v roce 2012. Odběry těchto vzorků byly provedeny v období sklizně provozních ploch kukuřice v zemědělských podnicích.

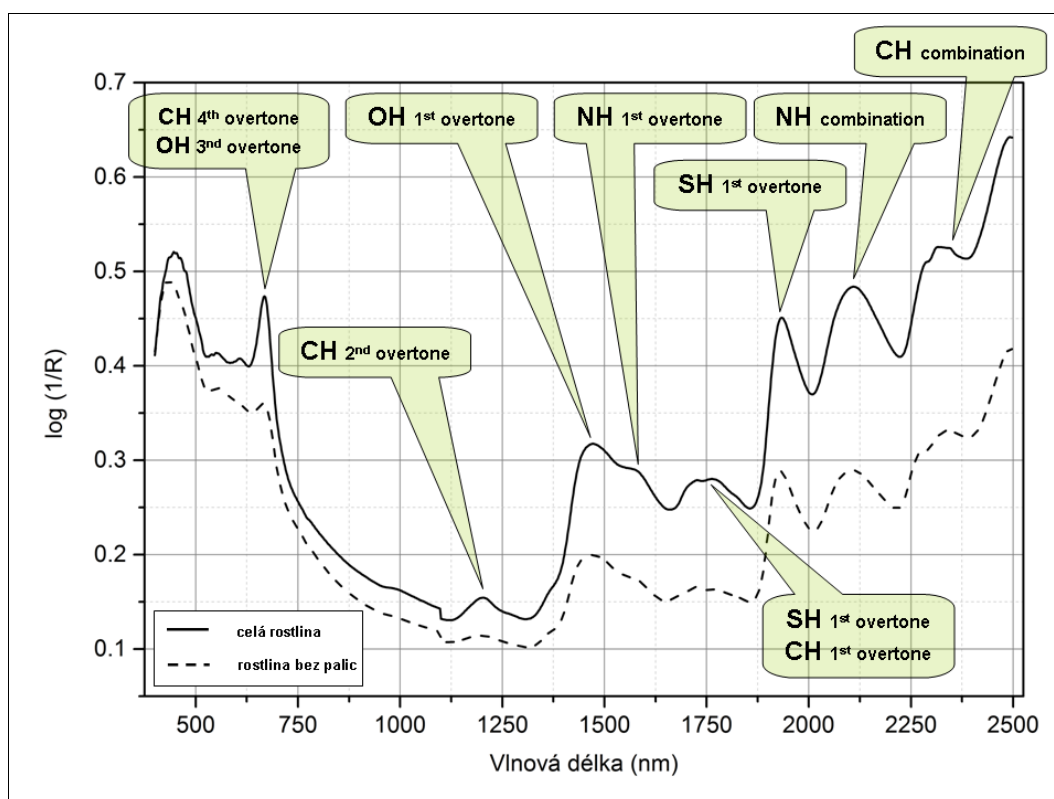
Při sklizni maloparcelových pokusů musí být výška strniště při sklizni pro všechny sledované hybridy na daném stanovišti jednotná (cca 10 cm) a nesmí se měnit. Při nižším strništi dojde ke zvýšení sušiny celé rostliny, naopak pokud ponecháme strniště vyšší, sníží se výnos hmoty, ale současně také sníží obsah ligninu a zvýší se stravitelnost organické hmoty.

Zvýšené strniště způsobuje změny podílů jednotlivých částí rostliny, dochází ke zvýšení podílu klasů z celé rostliny a tím se zvýší podíl zrna, resp. obsah škrobu v řezance sklizené kukuřice. Sklizeň jednotlivých hybridů kukuřice je prováděna pomocí sklízecí řezačky s jednotnou délkou řezanky cca 8 mm. Tímto způsobem sklizně se vytvoří homogenní řezanka celé rostliny kukuřice, avšak při odběru vzorků je třeba zabránit separaci jednotlivých částí rostliny. V případě, že jsou na stejném pozemku použity hybridy s odlišnou raností (číslem FAO) a nelze provádět sklizeň pomocí sklízecí řezačky, provádí se sklizeň ručně dle vegetační fáze jednotlivých hybridů. Odebrané vzorky rostlin jednotlivých hybridů kukuřice jsou následně zpracovány podle zvoleného způsobu hodnocení.

Pro první způsob hodnocení (řezanka celé rostliny) byly vzorky odebrány při sklizni samojízdou řezačkou a zpracovány dle běžných postupů. U vzorků bylo provedeno stanovení sušiny, laboratorní chemické analýzy a současně byly paralelně proměřeny na přístrojové technice NIR. Pro druhý způsob hodnocení (jednotlivé části rostlin) byly rostliny v dané fenofázi odebírány ručně. U každého hybridu bylo odebráno 3 x 10 za sebou jdoucích rostlin, které byly zváženy, následně stanovena hmotnost klasů a sušina zrna. Dále byla stanovena hmotnost zbytku rostliny (bez palic) a provedena homogenizace pomocí stacionární řezačky. Z takto získané řezanky byly rovněž odebrány vzorky pro chemickou analýzu a proměření na technice NIR. Pozn. chemický rozbor a hodnocení kvality zrna kukuřice nebyly předmětem zpracování a validace kalibračních rovnic.

Při odběru vzorků byl dodržen metodický postup v souladu s normou ČSN 467090 a nařízením komise ES č. 152/2009. Odebrané vzorky řezanky celé rostliny, resp. zelené hmoty bez palic byly po sklizni usušeny při teplotě $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ za intenzivního větrání po dobu 24 hod a následně upraveny mletím (velikost částic $<1\text{ mm}$). Takto připravené vzorky byly použity k chemické analýze, resp. paralelnímu proměření na technice NIR.

U vzorků byla laboratorně stanovena sušina zelené hmoty řezanky při $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ (průměrná hodnota dvou paralelních stanovení jednoho vzorku). Chemické analýzy vzorků v rozsahu stanovení obsahu organických živin (dusíkatých látek, vlákniny, škrobu) byly provedeny referenčními metodami podle vyhlášky č. 415/2009 Sb. o stanovení požadavků na odběr vzorků a způsobu zveřejnění metod laboratorního zkoušení produktů ke krmení. Dále podle Mertense (2002) a v souladu s ČSN EN ISO 16472, byla stanovena aNDF (NDF s amylázou). Stravitelnost organické hmoty (SOH), stravitelnost NDF (SNDF) a vlákniny byla stanovena podle Ørskova a McDonalda (1979), metodou *in situ* (*in sacco*) v sáčcích ponořených 24 hodin do bacheru nelaktujících dojnic s bacherovou kanylou při záchovné krmné dávce.



Obr. 2: Absorpční pásy NIR spektroskopie dle (NIR Absorption Chart, NDC, 2013) na příkladu kukuřice seté (celá rostlina a rostlina bez palic).

Identické vzorky byly proměřeny na disperzním spektrometru FOSS NIRSystems 6500 instrument (Company NIRSystems, Inc., Silver Spring, USA), umístěné na pracovišti VÚRV, v.v.i., Praha, VS Jevíčko. Měření vzorků bylo provedeno v malých kruhových kyvetách (*small ring cups*) ve dvou paralelních opakováních. Skenování vzorku bylo nastaveno v režimu reflektance pro oblast 400–2500 nm, tj. ve viditelné a blízké infračervené oblasti spektra, krok snímání 2 nm. Na Obr. 2 jsou uvedena charakteristická spektra celé rostliny kukuřice, resp. rostliny bez palic s vyznačením maxima absorpčních pásů molekulárních vazeb. Pro zpracování kalibračních rovnic byl využit software WinISI II (Infrasoft International, Inc., USA), verze 1.50. Validace predikčního modelu, statistické vyhodnocení a zpracování grafů bylo provedeno pomocí software QC.Expert 2.5, grafy byly vytvořeny programem Origin 9.1. (OriginLab Corporation, USA).

4.2. Predikce výživné hodnoty silážní kukuřice

Výživná hodnota píce je sice významným faktorem, určujícím živočišnou produkci, není však jediným (Míka a kol. 1997). Proto se u jednotlivých parametrů výživné hodnoty připojuje přívlastek "potenciální" (stravitelnost, degradovatelnost v batoru) a v případě měření NIR, že se jedná o predikci (odhad). To nezmenšuje skutečné problémy standardizace krmivářských pokusů u zvířat a přínos metod *in vitro* k měření těchto důležitých atributů.

Při využití NIR spektroskopie je obecně známo, že predikce obsahu sušiny a NL je jednou z nejlepších aplikací NIR u krmiv. Stanovení obsahu vody bylo jednou z prvních praktických aplikací NIR v analýze zemědělských produktů a potravinářských surovin. NIR absorpční spektrum čisté vody má pět absorpčních pásů (s maximy při 1940, 1450, 1190, 970 a 760 nm při teplotě 20 °C), čisté NL mají vzhledem k absorpci amidických skupin zřetelné dva absorpční pásy (2050 a 2180 nm) - viz. Obr. 2. Dosažené výsledky přesnosti predikce výživné hodnoty silážní kukuřice tento předpoklad potvrzují (Tab. 4 a 5). U řezanky celé rostliny kukuřice byla dosažena přesnost predikce obsahu NL vyjádřená koeficientem

determinace ($R^2=0,98$), resp. $R^2=0,90$ u predikce obsahu sušiny zelené hmoty; v případě řezanky rostliny kukuřice bez palic bylo dosaženo u predikce obsahu sušiny zelené hmoty $R^2=0,81$. Při stanovení obsahu vlákniny a její frakce (NDF) bylo u obou prezentovaných kalibračních modelů dosaženo vyšší shody s referenčními hodnotami u parametru NDF a to na úrovni $R^2=0,88-0,89$. Maxima absorpčních pásů celulózy se nacházejí na vlnových délkách 1544 a 2336 nm. Pokud se týká stanovení škrobu, maximum hlavního absorpčního pásu se nachází na úrovni 2100 nm. Z výčtu predikovaných parametrů výživné hodnoty celé rostliny kukuřice byla u obsahu škrobu zjištěna nejnižší shoda s referenčními hodnotami ($R^2=0,53$).

Velice rozšířenou aplikací je měření stravitelnosti, kterou využívají jak šlechtitelé kukuřice, tak i pracovníci výzkumu v oblasti výživy a krmení hospodářských zvířat. Při kalibraci těchto parametrů je třeba vycházet ze vzorků s dostatečně širokým rozpětím hodnot. Z řady obsáhlých studií vyplývá, že při NIR predikci *in vitro* - charakteristik (např. stravitelnost organické hmoty) se musí brát v úvahu více než jedna referenční metoda (Shenk a kol. 2007), neboť každá v sobě nese určitou chybu. Jak je patrné ze statistických charakteristik regrese predikovaných stravitelností, vyšší hodnoty koeficientů determinace byly dosaženy u stravitelnosti organické hmoty ($R^2=0,68-0,72$).

Chyby predikce živočišné odezvy (užitkovosti) bývají obecně větší než chyby predikce chemického složení. Může se na tom podílet už samotné shromažďování dat použitých pro kalibraci i možným výskytem několika outlierů. Při využití NIR spektroskopie je nutno mít na zřeteli, že kalibrace je prostý matematický postup, jehož úspěšnost je založená na těsnosti vztahu mezi NIR spektry a chemickým složením. Proto nelze očekávat, že NIR bude přesně predikovat parametry kvality píce jakéhokoliv vzorku či populace vzorků, jejichž charakteristiky nebyly zařazeny do kalibrace.

U predikovaných parametrů obou zpracovaných kalibračních rovnic bylo dosaženo statisticky průkazné závislosti kalibračního modelu na referenčních hodnotách (Obr. 3–14).

Tab. 4: Statistické charakteristiky regrese a rozhodčí kritéria výstavby regresního modelu jednotlivých parametrů kvality řezanky kukuřice - celá rostlina.

Parametr	n	Rovnice	F-S test význ. regr. modelu	RSC	s(e)	R	R ²	MEP	AIC	Validační soubor	n	Chowův test (F _{CH})	Kritická hodnota F	Shodnost s kalibr. soub.
NL	167	Y = 0,9998x	Ano	5,180	0,177	0,99	0,98	0,031	-578,015	Ano	30	-5,897	19,496	Ano
Sušina	173	Y = 0,8713x + 4,3704	Ano	183,535	1,036	0,95	0,90	1,082	14,226	Ano	30	5,192	19,496	Ano
NDF	163	Y = 0,8383x + 7,6285	Ano	255,840	1,589	0,94	0,88	1,604	77,480	Ano	30	3,168	19,496	Ano
Vláknina	170	Y = 0,6904x + 6,4347	Ano	195,289	1,078	0,85	0,72	1,174	27,576	Ano	30	4,023	19,496	Ano
SOH 24	173	Y = 0,6962x + 21,6625	Ano	629,547	1,919	0,83	0,69	3,713	222,466	-	-	-	-	-
Škrob	181	Y = 0,4956x + 15,1028	Ano	570,264	1,785	0,73	0,53	3,210	211,716	Ano	30	0,289	19,496	Ano

Vys.: n - počet vzorků; Rovnice - uvedeny statist. významné ($p = 0,05$) parametry úseků a směrnic; RSC - reziduální součet čtverců; s(e) - reziduální směrodatná odchylka; R - vícenásobný korelační koeficient; R² - koeficient determinace; MEP - Střední kvadratická chyba predikce; AIC - Akaikeho informační kritérium; F_{CH} - test shody dvou lineárních modelů.

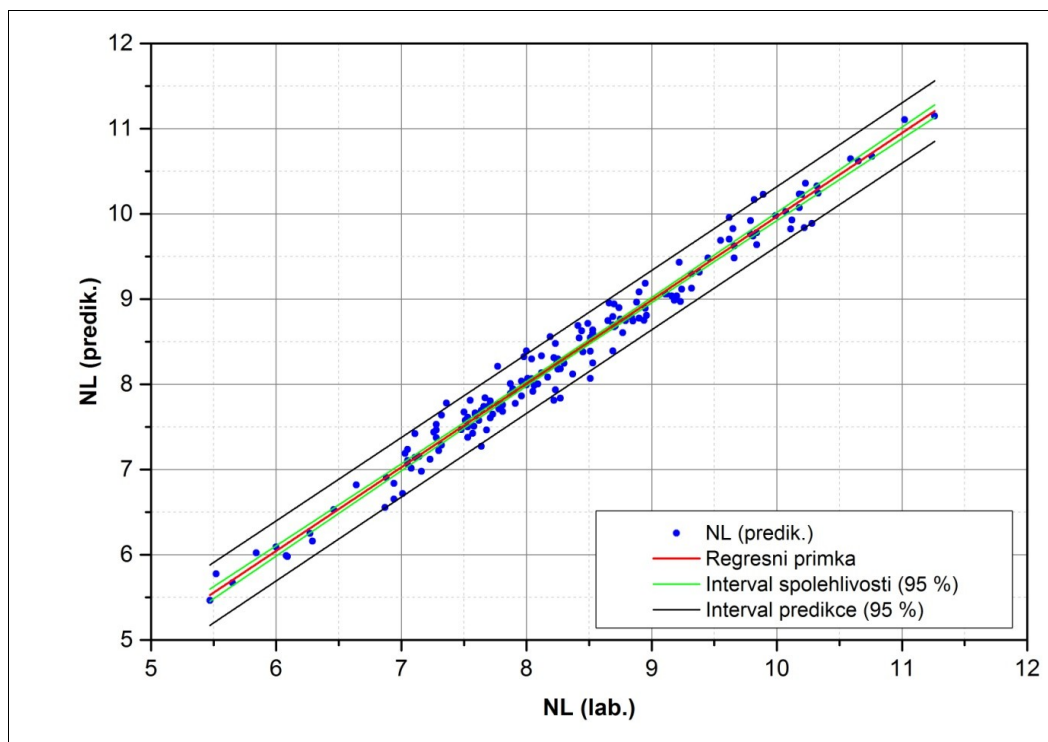
Pozn.: Parametry v tab. seřazeny sestupně podle hodnoty R.

Tab. 5: Statistické charakteristiky regrese a rozhodčí kritéria výstavby regresního modelu jednotlivých parametrů kvality řezanky kukuřice - rostlina bez palic.

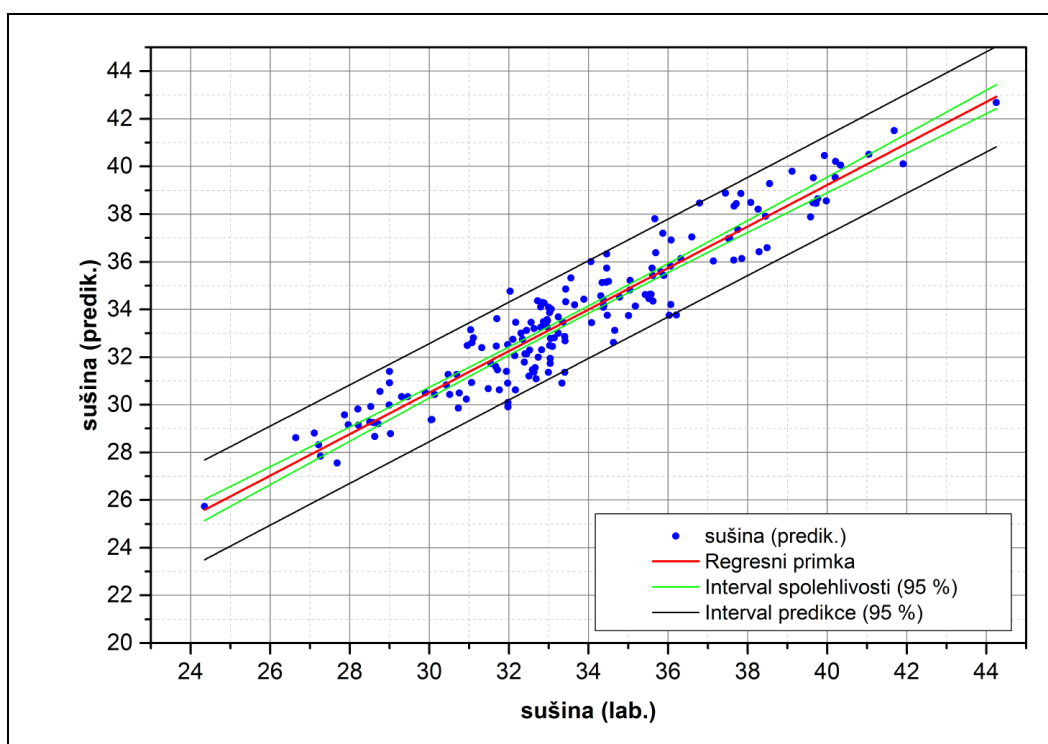
Parametr	n	Rovnice	F-S test význ. regr. modelu	RSC	s(e)	R	R ²	MEP	AIC	Validační soubor	n	Chowův test (F _{CH})	Kritická hodnota F	Shodnost s kalibr. soub.
NDF	409	Y = 0,8869x + 7,9898	Ano	950,807	1,528	0,94	0,89	2,348	349,031	Ano	30	6,7715	19,496	Ano
SušinaZH	416	Y = 0,8483x + 3,6410	Ano	845,912	1,429	0,90	0,81	2,053	299,248	Ano	30	3,7660	19,496	Ano
Vláknina	417	Y = 0,7626x + 7,7811	Ano	513,333	1,112	0,88	0,77	1,242	90,669	Ano	30	11,0924	19,496	Ano
SOH	406	Y = 0,7177x + 13,8746	Ano	2815,479	2,640	0,85	0,72	6,999	790,233	Ano	30	7,1951	19,496	Ano
SNDF	427	Y = 0,4726x + 24,2544	Ano	4241,832	3,148	0,69	0,48	9,952	988,255	Ano	30	16,3810	19,496	Ano
Svlak	414	Y = 0,4181x + 27,8579	Ano	3761,594	3,022	0,66	0,44	9,168	917,587	-	-	-	-	-

Vys.: n - počet vzorků; Rovnice - uvedeny statist. významné ($p = 0,05$) parametry úseků a směrnic; RSC- reziduální součet čtverců; s(e) - reziduální směrodatná odchylka; R - vícenásobný korelační koeficient; R² - koeficient determinace; MEP - Střední kvadratická chyba predikce; AIC - Akaikeho informační kritérium; F_{CH} - test shody dvou lineárních modelů.

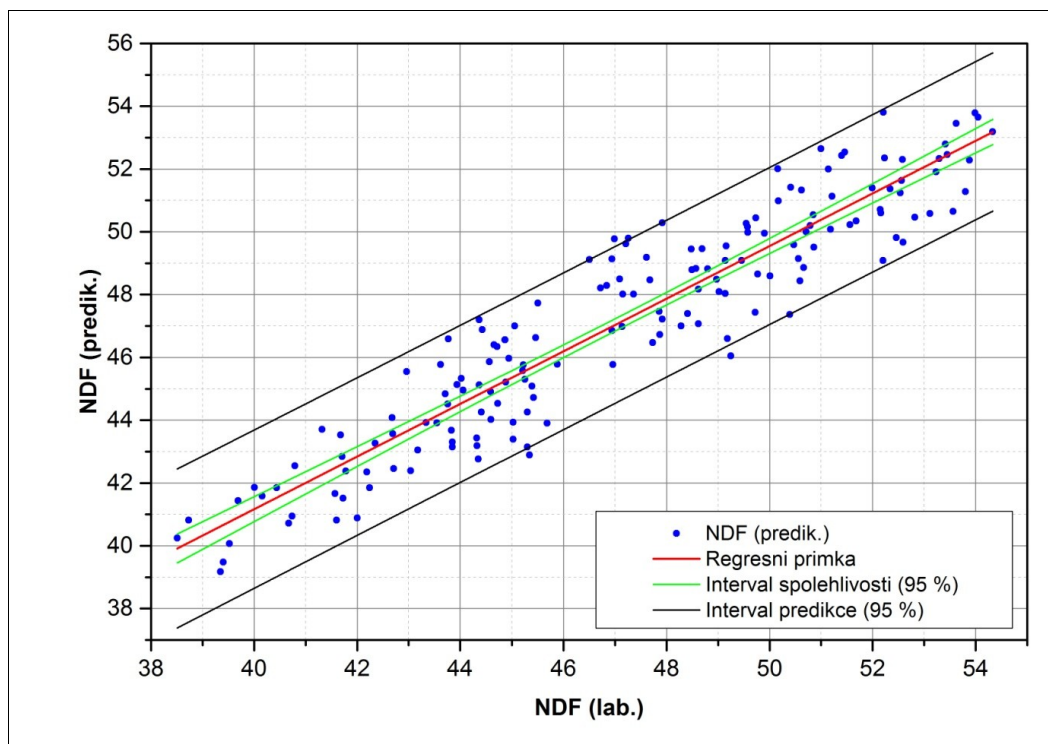
Pozn.: Parametry v tab. seřazeny sestupně podle hodnoty R.



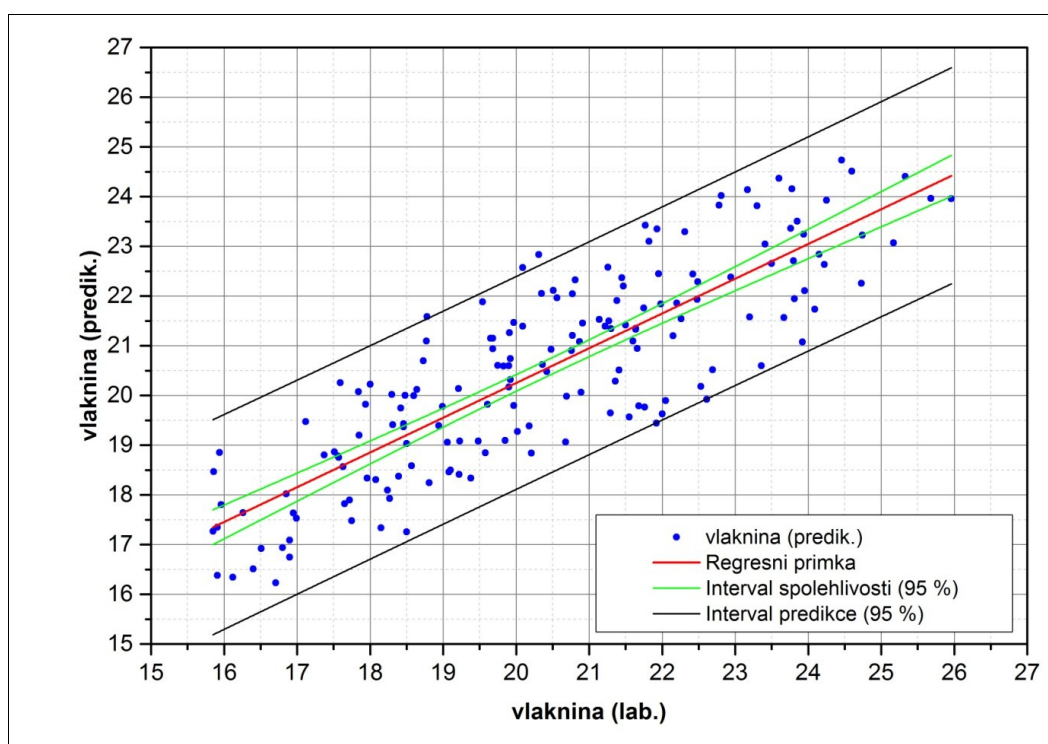
Obr. 3: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu N-látek (NL) v řezance celé rostliny silážní kukuřice.



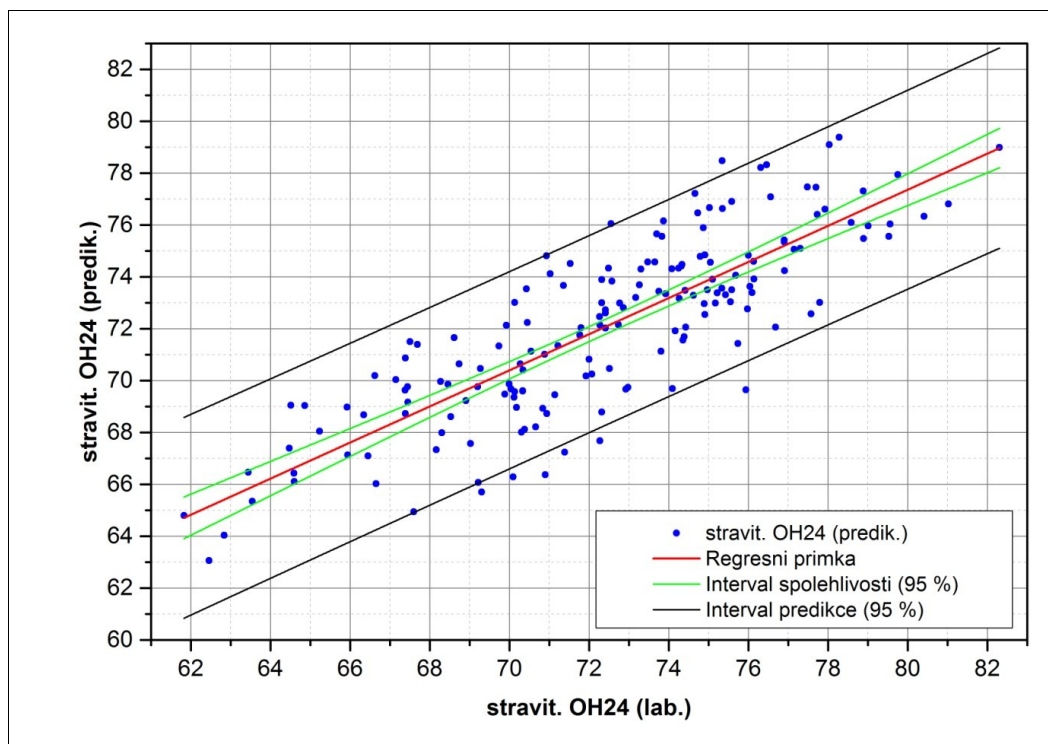
Obr. 4: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu sušina v řezance celé rostliny silážní kukuřice.



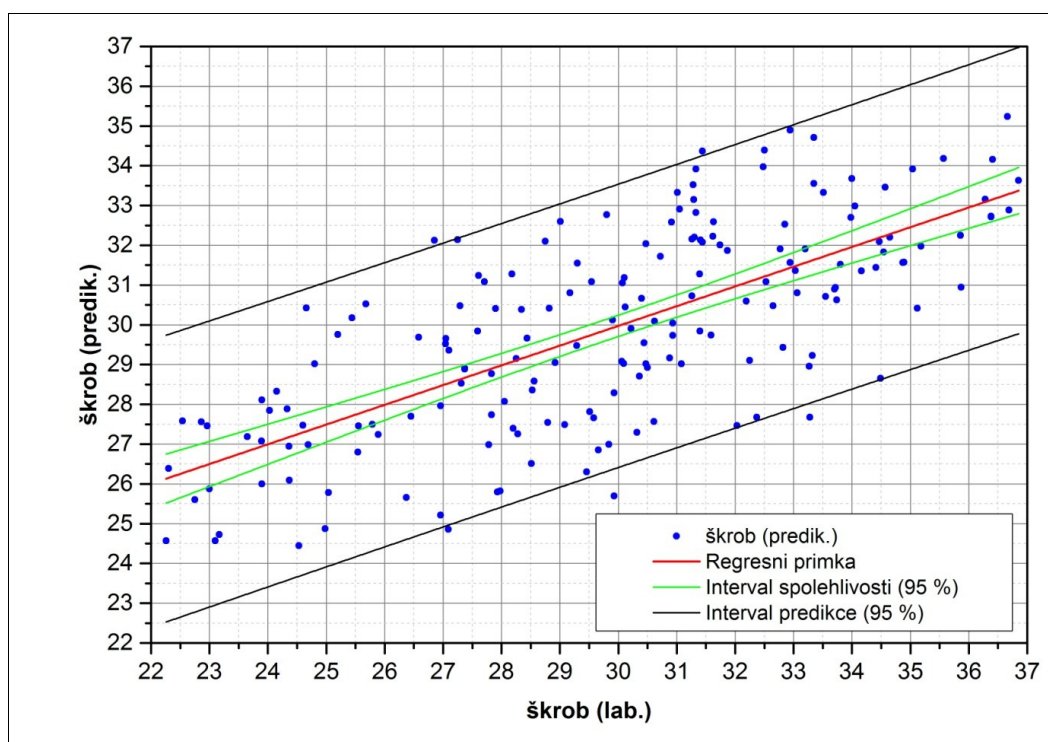
Obr. 5: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu NDF v řezance celé rostliny silážní kukuřice.



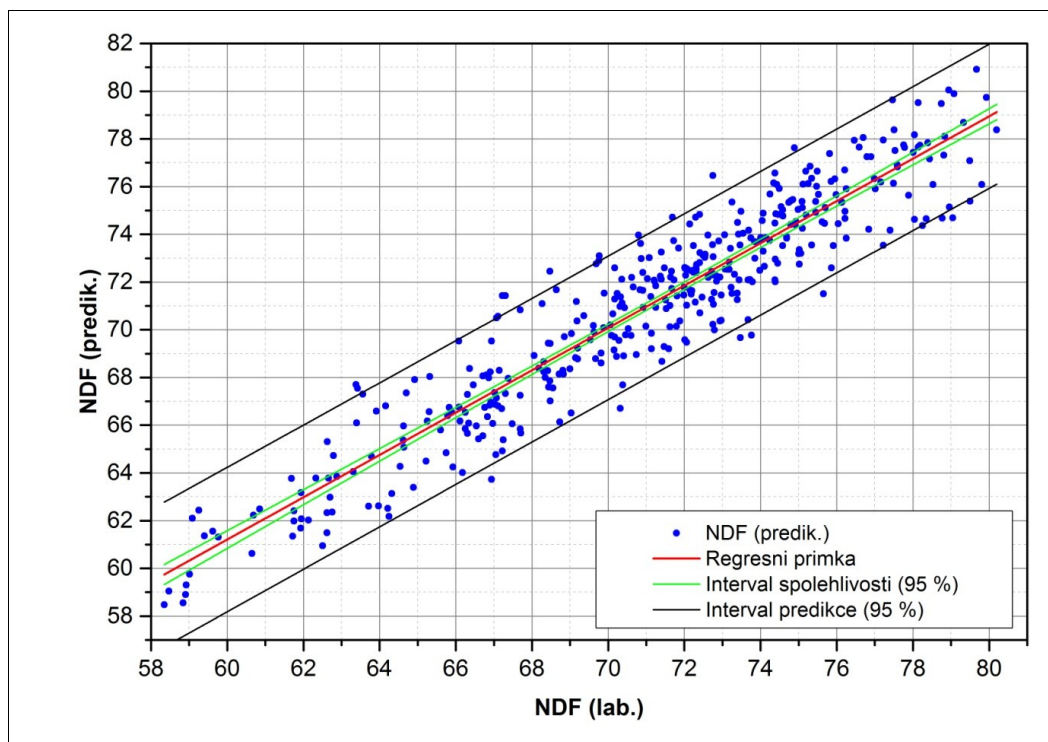
Obr. 6: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu vlaknina v řezance celé rostliny silážní kukuřice.



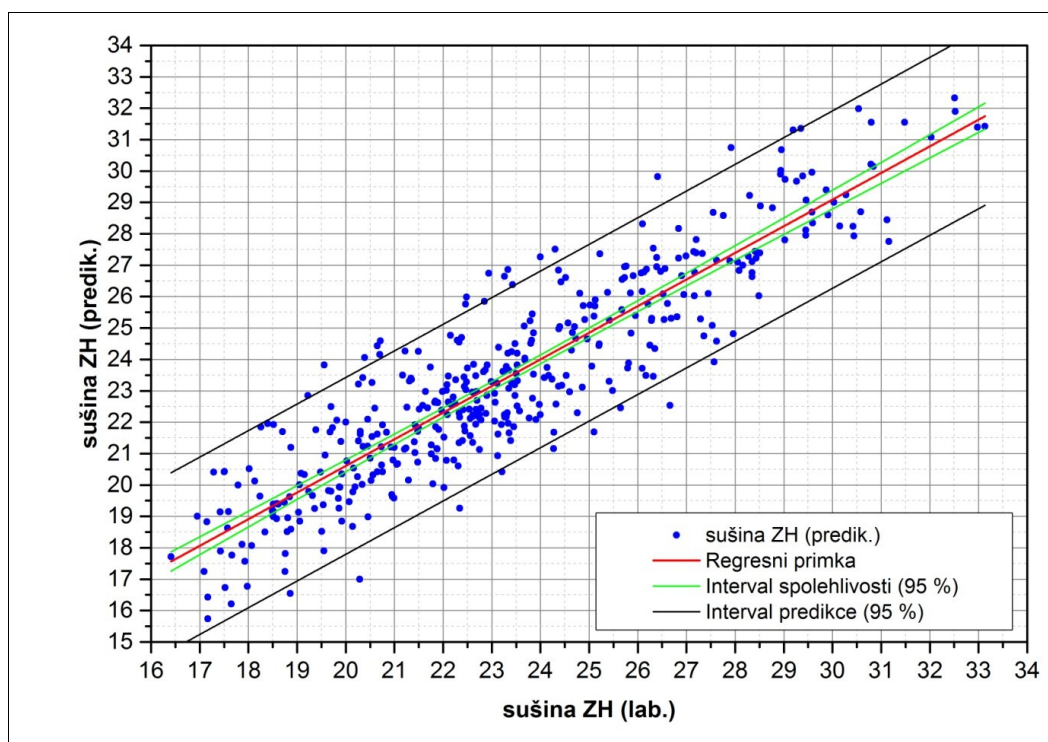
Obr. 7: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu stravitelnost OH24 v řezance celé rostliny silážní kukuřice.



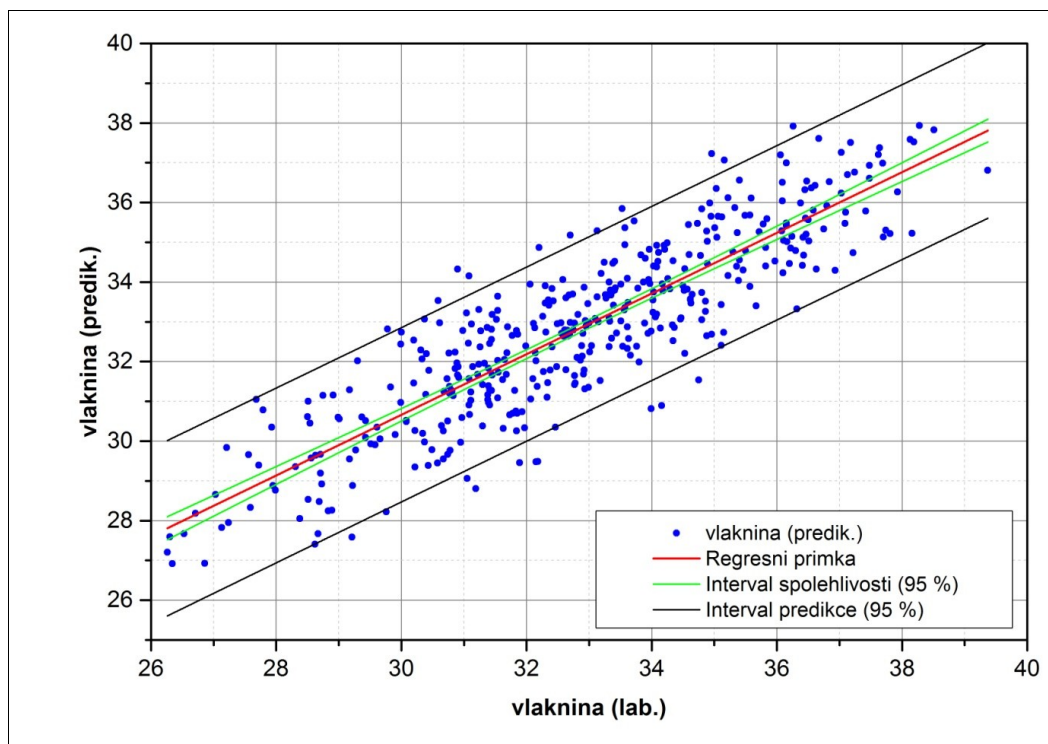
Obr. 8: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu škrobu v řezance celé rostliny silážní kukuřice.



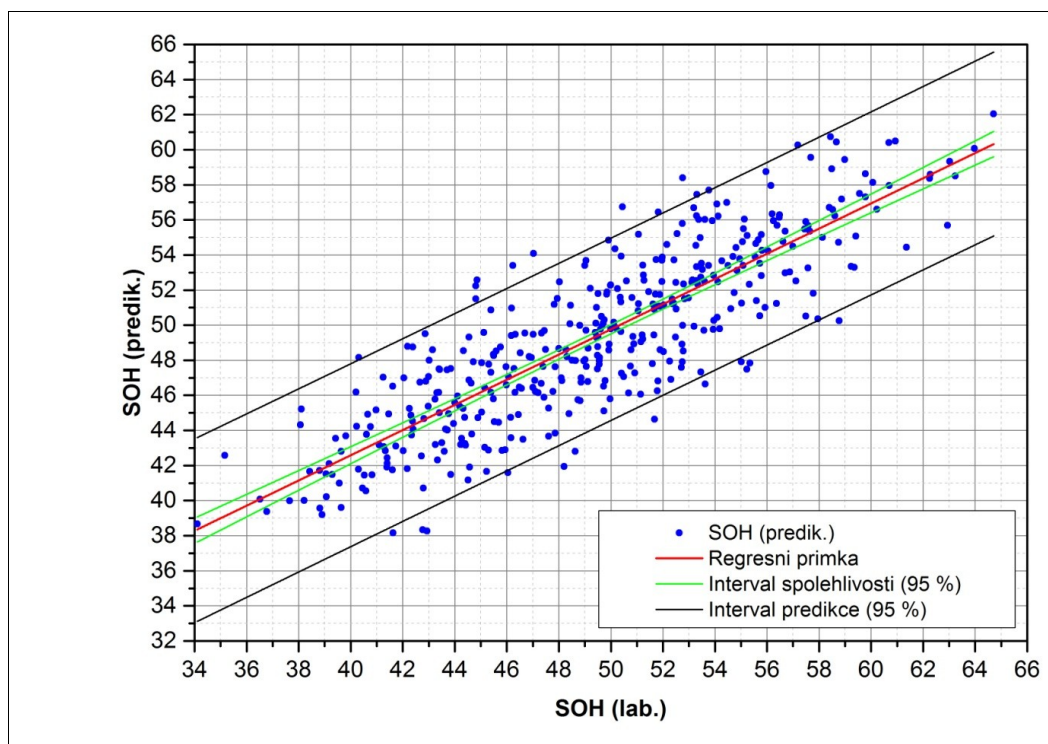
Obr. 9: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu NDF v řezance rostliny kukuřice bez palic.



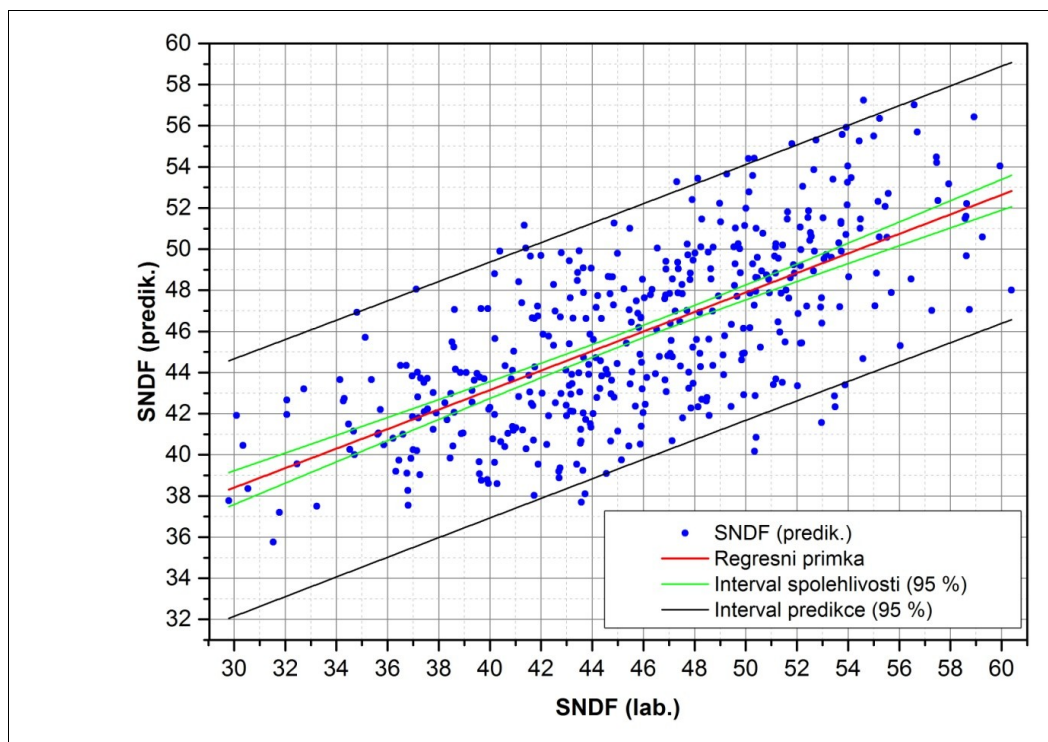
Obr. 10: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu sušina ZH v řezance rostliny kukuřice bez palic.



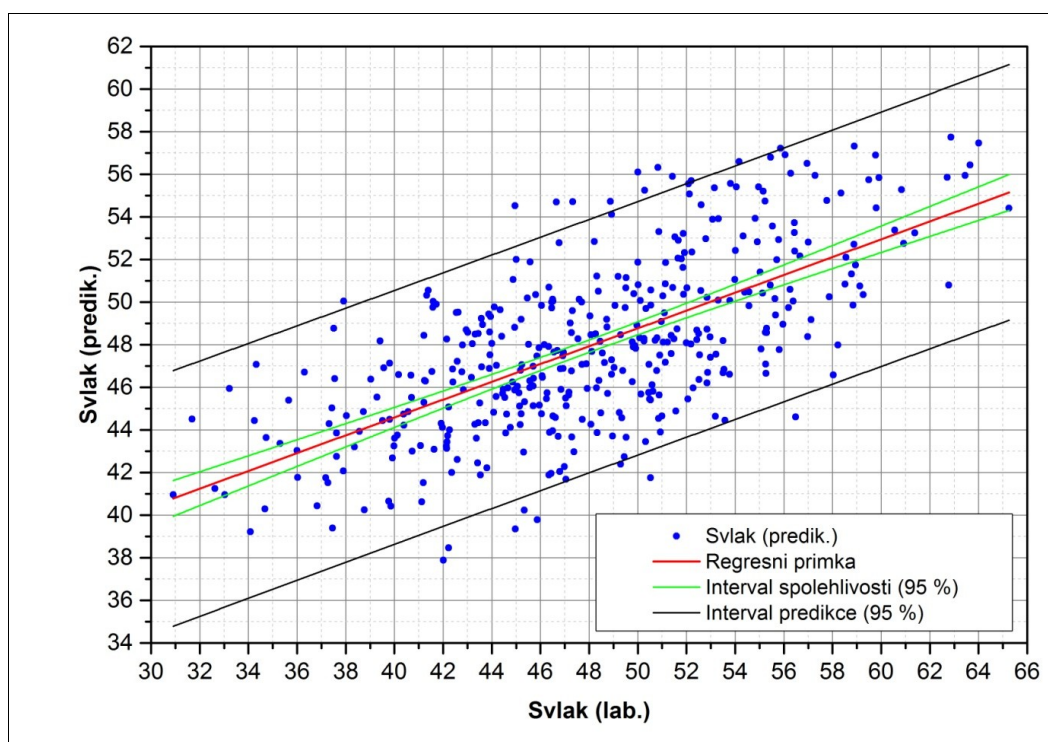
Obr. 11: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu vlaknina v řezance rostliny kukuřice bez palic.



Obr. 12: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu SOH v řezance rostliny kukuřice bez palic.



Obr. 13: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu SNDF v řezance rostliny kukuřice bez palic.



Obr. 14: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu Svлак v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Dosažené hodnoty přesnosti predikce vybraných parametrů výživné hodnoty řezanky celé rostliny silážní kukuřice jsou srovnatelné s výsledky uvedenými v akreditovaných validačních protokolech pro stanovení výživné hodnoty silážní kukuřice metodou NIRS (ÚKZÚZ 2015), zpracovaných v souladu s normou ČSN EN ISO/IEC 17025.

Zpracované kalibrační rovnice slouží ke stanovení nutriční hodnoty u vzorků řezanky silážní kukuřice a zjištěné hodnoty lze použít pro výpočet ostatních ukazatelů kvality píce jako např. netto energie laktace (NEL), resp. netto energie výkrmu (NEV). Stravitelnost NDF se běžně v laboratořích neprovádí a k výpočtu NEL se jednotně používá tabulková hodnota, která neodráží skutečnou stravitelnost. Pokud bude pomocí predikce NIR dosaženo zpřesnění stanovení NDF oproti tabulkovým hodnotám, pak hodnota NEL bude lépe vypovídat o skutečné variabilitě NDF, která dosahuje rozpětí 40–70 %.

Pěstitel, resp. chovatel si na základě dosažených výsledků rozboru může zvolit nejvhodnější hybridy s nadprůměrnými výživnými hodnotami pro následné období a tím vytvářet selekční tlak na kvalitu pěstovaných hybridů. Správná volba nejvhodnějších hybridů se projevuje ve zvýšené potřebě kukuřičné siláže ve směsné krmné dávce (TMR), což vede ke snížení potřeby drahých koncentrovaných krmiv. Současně se zvýší podíl energie v krmné dávce z objemných krmiv a dochází ke zlepšení zdravotního stavu dojníc, což pozitivně působí na ekonomické ukazatele chovu.

4.3. Potenciál NIR analýzy a výhled

Využití metody NIR při hodnocení kvality krmiv se bude patrně přesouvat z oblastí suchých semletých materiálů k měření krmiv *in situ* (čerstvé píce, mokrých intaktních siláží). Sušením totiž dochází k nekontrolovatelným ztrátám na těkavých látkách (alkoholy, estery, kyseliny, čpavek aj.), přičemž na druhé straně je vysušená hmota silně hygroskopická a rychle přijímá z prostředí vodu (Berzaghi a kol. 1997). Jako příklad aplikací lze uvést vývoj kalibračního modelu pro podmínky on-line hodnocení čerstvé hmoty rostlinného materiálu v zařízení na výrobu bioplynu (Pfitzner a kol. 2010) nebo predikci výživné hodnoty čerstvé hmoty kukuřičné siláže pomocí přístrojové techniky AgriNIR (Loučka a kol. 2014a).

Pokud jde o frakce dusíkatých látek, je snaha lépe postihnout jejich přeměny v bachoru (bachorová rozpustnost NL) a využití v tenkém střevě. Rovněž bude pravděpodobně lépe sledovat pomocí NIR kinetiku trávení ve vztahu ke stravitelnosti organické hmoty, stravitelnosti vlákniny a jejich frakcí ADF, resp. NDF a dobrovolnému příjmu píce zvířetem (VI). S ohledem na časovou náročnost a jiná omezení laboratorních metod stanovení stravitelnosti a dobrovolnému příjmu píce zvířetem, se do techniky NIR vkládají velké naděje.

Předpokládá se, že budou rozvíjeny sítě "klonovaných" přístrojů, přesahující hranice států zemí EU, využívající společných kalibrací. To otvírá cestu k mezinárodní "harmonizaci" analýz NIR. Kalibrace, které byly vždy největší překážkou pro NIR, zřejmě budou nahrazovány novými přístupy, jako využívání samotných spekter ke klasifikaci, klastrování nebo diskriminačnímu postupu u populací rostlinného materiálu za použití PCA analýzy. Přetrvávající nevýhodou NIR je, že se stále považuje za sekundární metodu, poplatnou metodám "mokrý chemie". Tyto referenční metody bývají (pokud se jedná o rozbor krmiv) mnohdy kritizovány, ale postihnout lépe komponenty určující užitkovost zvířat, se přes veškeré úsilí daří jen velmi pozvolna, a budou zřejmě ještě dlouho v této oblasti používány.

Další určitou nevýhodou, představující umístění stacionárních přístrojů v laboratoři, se daří překonávat díky mobilní technice se speciálním snímáním, která umožní přímé vpichy sondy do materiálu bez potřeby jeho plnění do kyvet. Pokud dojde k nahrazení monochromátoru laserovým zdrojem světla, je tímto krokem umožněna nejen miniaturizace přístrojů, ale současně se zvýší jejich mobilita (možnost analýzy vzorků u zákazníka) a také se podstatně sníží jejich cena. Praktické využití nachází např. při analýze siláží v zemědělských podnicích,

jako prostředek ke zpřesnění výpočtu krmných dávek a zlepšení řízení užitkovosti chovu (Berzaghi 2014).

Testovány jsou rovněž možnosti nasazení této techniky na sklízecích řezačkách ke stanovení aktuální sušiny a parametrů kvality píce (Paul, Pfitzner 2004) nebo na základě stanovení aktuálního obsahu sušiny v čerstvé řezance silážní kukuřice operativně regulovat nastavení délky řezanky, dávkování konzervačních přípravků a provádět přesné výpočty výnosu (John Deer - firemní dokumentace). U kratší řezanky, zejména při obsahu sušiny < 30 %, vzniká při konzervaci silážováním vysoké riziko vytékání silážních šťáv a naopak při obsahu sušiny > 40 % představuje delší řezanka obtížněji zhutnitelný materiál s rizikem možnosti aerobní fermentace a vzniku plísní. V současné době se aktivně zabývají vývojem NIR senzorů umístěných na sklízecích řezačkách rovněž přední světové firmy zaměřené na šlechtění kukuřice.

Další výhodou přístrojové techniky NIR je možnost měření nepatrného množství vzorku ve speciálně upravených kyvetách. Ve šlechtění rostlin se totiž často stává, že pro laboratorní rozbor je k dispozici jen velmi malé množství vzorku a z toho důvodu nelze provést stanovení pomocí klasických metod. Například při měření celých semen řepky se běžně využívá měřící kyveta, k jejímuž naplnění je potřeba 4–5 g semen. Pokud je však k analýze dodáno jen nepatrné množství vzorku, lze do kyvety umístit kruhovou vložku se středovým otvorem (k jejímu naplnění stačí 0,6 až 0,8 g) - Míka a kol. 2008. Šlechtitelé obilovin mohou rovněž využít speciální nástavec na měření dokonce jednotlivých zrn, jako např. pro stanovení β -glukanů ve sladovnickém ječmeni a ve sladu nebo pro stanovení vlhkosti a koncentrace oleje v znu kukuřice (Rath, Erdmann 2003, Cogdill a kol. 2004). Na rozdíl od zrna obilovin je jednotlivé semeno řepky, hořčice apod. pro měření pomocí NIR příliš malé a výsledek analýzy by byl zatížen nepříjemně vysokou chybou.

Potenciál a budoucnost techniky NIR spočívá v rukách výrobců přístrojů, akademické obce výzkumníků, které by měly pomoci mnoha lidem, včetně zemědělské praxe. Přednosti této metody včetně šetrného vztahu k životním prostředím (ve srovnání s chemickými rozborů) její nevýhody daleko převyšují. Ačkoliv větší praktické využití spektroskopie v blízké infračervené oblasti začalo v zemědělských laboratořích před téměř padesáti lety, stále představuje perspektivní trend v hodnocení zemědělských produktů a má všechny předpoklady významně se dále profilovat.

5. Závěr

NIR spektrometrie je vhodný nástroj pro velké série měření, protože se jedná o rychlou techniku se schopností stanovit nejvýznamnější složky analyzovaného materiálu z jednoho měření vzorku. Vzhledem k tomu, že se jedná o sekundární instrumentální metodu, je rychlost a jednoduchost vykoupena nižší přesností ve srovnání s klasickou referenční analýzou. Při dodržení hlavních zásad při práci s NIR modely lze však dosáhnout velmi dobrých výsledků. Další předností je, že pro analýzu stačí pouze malé množství vzorku, bezpečnost práce a ekologická nezávadnost (není spotřebováván žádný materiál a nevznikají chemické odpady). Významnou výhodou, pokud nejsou brány v úvahu náklady na pořízení techniky NIR a chemometrického software, však představuje v porovnání s metodami „mokrý chemie“ nízká cena za provedený rozbor. Při hodnocení vzorků řezanky silážní kukuřice klasickými uzančnickými metodami nejsou pro koncového uživatele výsledky dostupné v dostatečně krátké době (chemická analýza jednoho vzorku trvá v závislosti na počtu stanovených parametrů průměrně 10 dní). Naopak metoda NIR má vysokou průchodnost (rychlost stanovení jednoho vzorku cca 2 minuty), poskytuje dostatečně přesné informace o výživné hodnotě a má vysoký potenciál pro řízení kvality on-line.

6. Srovnání novosti metodických postupů a další přínosy

Předložená metodika navazuje na certifikované metodiky zaměřené na praktické aplikace NIR spektroskopie v zemědělské praxi od autorů Míka a kol. (2008), resp. využití NIR spektroskopie pro hodnocení technologických vlastností pšenice autorského kolektivu Dvořáček a kol. (2014). Ve srovnání s uvedenými publikacemi je tato práce zaměřena na aplikace NIR spektroskopie v oblasti hodnocení výživné hodnoty silážní kukuřice se snahou objektivního vyhodnocení potenciálu této metody.

Zemědělskému výzkumu, šlechtění, odrudovému zkušebnictví a v neposlední řadě i praxi jsou prostřednictvím této metodiky předkládány nejnovější poznatky, zkušenosti a perspektivy využití přístrojové techniky NIRS při stanovení parametrů výživné hodnoty objemné píce silážní kukuřice v období sklizně. Jedná se o metodu na výrazném vzestupu, která má reálné předpoklady se prosadit v zemědělství zejména s ohledem na rychlost stanovení, přesnost, ekologickou nezávadnost a nízkou cenou rozboru. Pěstitel, resp. chovatel si na základě dosažených výsledků rozboru může podle zaměření využití své produkce zvolit nejvhodnější odrůdy pro následné pěstební období a tím vytvářet selekční tlak na kvalitu pěstovaných hybridů.

Přínosem je podstatné zvýšení efektivnosti (lze stanovovat více obsahových látek současně) a rychlosti (velmi rychlé stanovení < 2 minuty) prováděných exaktních rozborů ve smyslu naplnění praktických potřeb široké obce uživatelů (velice vhodné pro automatizaci - nepřetržitý provoz rozborů po dobu 24 hod denně). Měření (stanovení) je pracovně bezpečné (žádné nebezpečí vážných úrazů, intoxikace apod.) a metoda je příznivá k životnímu prostředí (nevznikají a nevypouštějí se žádné chemické látky, apod.). Velmi významná je i podpora ve sféře rozhodování a monitoringu kvality píce při sklizni silážní kukuřice zahrnující jak oblast šlechtění a odrudového zkušebnictví tak i primární zemědělskou výrobu.

V resortu zemědělství ČR si řada organizací zakoupila velice kvalitní NIR přístroje. Např. ÚKZÚZ je na svých pracovištích vybaven především FT-NIR spektrometry zn. Nicolet Antaris nebo disperzními spektrometry s monochromátorem zn. FOSS NIRSystems instruments. Obdobně jsou vybaveni přístrojovou technikou NIR i v zemědělských výzkumných ústavech, organizacích a vysokých školách, kde kromě shora uvedených typů přístrojů používají také FT-NIR spektrometry zn. Brucker Optics, přičemž tyto jsou co do možností nasazení, obsluhy i přesnosti stanovení vcelku srovnatelné. Nabízí se také možnost event. propojení NIR přístrojů „do sítě“, podobně jako byla vytvořena na konci 20. stol. v Německu a západních státech EU s koordinačním centrem VDLUFA v Kasselu (Německo), pro potřeby šlechtění a obchodu s řepkou olejkou (stanovení sušiny, NL, tuku a glukosinolátů).

7. Ekonomický přínos

Z ekonomického pohledu je přínosem NIR spektroskopie v porovnání s referenčními metodami podstatné zvýšení efektivnosti a rychlosti prováděných exaktních rozborů a současně výrazné snížení ceny analýzy jednoho vzorku (není potřeba téměř žádného spotřebního materiálu, stanovení je levné a dostatečně přesné). Míra rentability metody NIRS je pak tím vyšší, čím náročnější a dražší je referenční metoda laboratorní stanovení a současně pokud budou měřeny větší série vzorků. V případě používaných referenčních metod výživné hodnoty silážní kukuřice patří mezi nejvíce časově náročné a nákladné stanovení stravitelnosti píce. Zde je však nutno upozornit, že u některých parametrů stravitelnosti stanovených pomocí NIRS není dosažena ideální shoda kalibračního modelu s laboratorními hodnotami. I přes tento nedostatek je predikce parametrů stravitelnosti zatížena jen přijatelně nízkou chybou.

Pro porovnání celkové ceny rozboru vzorků silážní kukuřice pomocí referenčních metod v rozsahu výše uvedených parametrů (viz. kap. 4.2.) byly použity údaje z ceníku rozborů v laboratořích Nutriet, s.r.o. platné v roce 2015. Cena jednoho takového stanovení v rozsahu šesti parametrů výživné hodnoty píce (obsah sušiny, NL, vlákniny, škrobu, NDF a SOH) včetně přípravy vzorku mletím činí s DPH (21 %) přibližně 2,2–2,5 tis. Kč. Při kalkulaci ceny stanovení shodného počtu parametrů metodou NIRS, provedeného ve VÚRV, v.v.i., VS Jevíčko, zahrnující rovněž úpravu dodaného vzorku mletím, byla zjištěna cena s DPH pouhých 330,- Kč. To v porovnání s referenční laboratorní metodou představuje výrazné snížení nákladů na provedení rozboru ve výši cca 80–90 %.

Pokud se týká pořízení přístrojové techniky NIR, nejvyšší nákladovou položkou je vstupní cena přístroje, která se liší podle typu a výrobce a pohybuje se na úrovni 1,5–2 mil. Kč. V provozních nákladech je nutno počítat s výdaji na výměnu lampy (životnost cca 2 roky) a výměnu kyvet, jejichž doba použitelnosti je daná mírou poškození speciálního skla s optickými vlastnostmi. Významné mohou být i případné náklady na zpracování vlastních nebo zakoupení externě zpracovaných kalibračních modelů, jakož i jejich aktualizace nebo účast v kruhových testech.

8. Popis uplatnění metodiky

Předložená metodika je určena pro potřeby kontroly výživné hodnoty silážní kukuřice potenciálním uživatelům ve šlechtění rostlin, v odrůdovém zkušebnictví, v zemědělském výzkumu (včetně vysokých škol), ve státních institucích a v neposlední řadě i v zemědělském provozu. Svým obsahem významně rozšiřuje možnosti aplikace NIR spektroskopie v oblasti predikce výživné hodnoty silážní kukuřice. Poskytuje aktuální poznatky nejen v predikci tradičních parametrů výživné hodnoty krmiv (Weendeske analýzy), ale nabízí uživatelům i nové informace o možnosti stanovení perspektivních parametrů stravitelnosti vlákniny a jejich frakcí. Potenciální uživatelé metodiky ze zemědělských univerzit, výzkumných a šlechtitelských pracovišť ji mohou uplatnit ve šlechtitelských programech při hodnocení šlechtitelských materiálů a k urychlení selekčního procesu tvorby nových odrůd.

9. Seznam publikací, které předcházejí metodice

- Dvořáček, V., Prohasková, A., Štočková, L. (2014): Efektivní využití blízké infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací pro hodnocení technologických vlastností pšenice. Metodika pro praxi. VÚRV, v.v.i., 38 s.
- Loučka, R., Jambor, V., Kučera, J., Lang, J., Nedělník, J., Třináctý, J., Tyrolová, Y. (2014): The nutritive quality of maize hybrids in experiments at Troubsko and Uhřetěves. In: Jambor, V. et al. (eds.). *Forage Conservation*. Proc. of the 16th Int. Symp., Brno, 3–6th June 2014, pp. 83–84.
- Loučka, R., Jambor, V., Tyrolová, Y. (2014b): The variability of the results of the nutritional value of maize silage obtained by the apparatus AgriNIR. In: Jambor, V. et al. (eds.). *Forage Conservation*. Proc. of the 16th Int. Symp., Brno, pp. 157–158.
- Loučka, R., Lang, J., Jambor, V., Nedělník, J., Třináctý, J., Tyrolová, Y., Kučera, J. (2014a): Verifikovaný metodický postup získávání a zpracování hodnot v národním systému hodnocení silážních hybridů kukuřice. Uplatněná certifikovaná metodika 24/14, ZV spol. s r.o. Troubsko, 48 s.
- Míka, V., Nerušil, P., Kohoutek, A. (2008): Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR) Výběr praktických aplikací v zemědělství. Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i., 44 s.

Literatura

- Berzaghi, P., Cozzi, G., Andrighetto, I. (1997): The use of near infrared analysis for in situ studies. *Journal of Dairy Science* 80, 3263–3270.
- Berzaghi, P., Marchesini, G. (2014): Rapid methods of analysis of silages to improve feeding management in Dairy Farms. In: Jambor, V. et al. (eds.). *Forage Conservation*. Proc. of the 16th Int. Symp., Brno, 3–6th June 2014, pp. 65–70.
- Burns, D.A., Ciurczak, E.W. (eds) 2007: *Handbook of Near-Infrared Analysis*. 3rd Edition (Pract. Spekt.). CRC Press, 826 p.
- Cogdill, R. P., Hurburgh, C. R., Rippke, G. R. (2004): Single-kernel maize analysis by near-infrared hyperspectral imaging. *Amer. Soc. of Agric. Eng.* 47 (1), 311–320.
- ČSN 467090 Vzorkování krmiv (1996).
- ČSN EN ISO 16472 Krmiva - Stanovení obsahu neutrálně detergentní vlákniny po úpravě vzorku amylázou (aNDF) - 2012.
- ČSN EN ISO/IEC 17025 Posuzování shody - Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří (2005).
- ČSÚ (2015): Osevní plochy zemědělských plodin v ČR, dostupné na <https://www.czso.cz/>
- Dvořáček, V., Prohasková, A., Štočková L. (2014): Efektivní využití blízké infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací pro hodnocení technologických vlastností pšenice. *Metodika pro praxi. VÚRV, v.v.i.*, 38 s.
- Griffiths, P. R., Dahm, D. J. (2007): Continuum and Discontinuum Theorie of Diffuse Reflection. In: D. A. Burns, E. W. Ciurczak (eds.): *Handbook of Near-Infrared Analysis*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL (USA): 21–64.
- Infrasoft International (2000): ISI Windows Near Infrared Software, WinISI II.
- John Deer (2013): Objevte skutečně kvalitní řezanku. Firemní dokument, dostupné na www.strompraha.cz
- Kukačková, O. (2001): Aplikační možnosti NIR spektroskopie při kontrole mléka a mlékárenských výrobků. *Disert. pr., VŠCHT, Praha*, 198 s.
- Loučka, R., Jambor, V., Tyrolová, Y. (2014a): The variability of the results of the nutritional value of maize silage obtained by the apparatus AgriNIR. In: Jambor, V. et al. (eds.). *Forage Conservation*. Proc. of the 16th Int. Symp., Brno, pp. 157–158.
- Loučka, R., Lang, J., Jambor, V., Nedělník, J., Třináctý, J., Tyrolová, Y., Kučera, J. (2014b): Verifikovaný metodický postup získávání a zpracování hodnot v národním systému hodnocení silážních hybridů kukuřice. Uplatněná certifikovaná metodika 24/14, ZV spol. s r.o. Troubsko, 48 s.
- Mertens, D.R. (2002): Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Int. 85 (6), 1217–1240.
- Míka V. (1997): Využití infračervené spektrometrie (NIRS) pro hodnocení kvality rostlinných výrobků. *UZPI Praha*, 28 s.
- Míka, V., Harazim, J., Kalač, P., Komárek, P., Pavlů, V., Pozdíšek, J. (1997): *Kvalita píce*. ÚZPI Praha, 227 s.
- Míka, V., Nerušil, P., Kohoutek, A. (2008): Spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIR) Výběr praktických aplikací v zemědělství. *Metodika pro praxi, VÚRV, v.v.i.*, 44 s.
- Mlček, J., Rop, O., Šustová, K., Simeonovová, J., Gál, R. (2010): Možnosti využití spektroskopie NIR v masném průmyslu. *Chem. listy* (104), p. 855–860.
- Muselík, J. (2012): Aplikace blízké infračervené spektroskopie ve farmaceutické analýze. *Chem. listy* (106), s. 10–15.
- Nařízení Komise (ES) č. 152/2009 ze dne 27. ledna 2009, kterým se stanoví metody odběru vzorků a laboratorního zkoušení pro úřední kontrolu krmiv.

- Novotná, M. (1998): Vznik a registrace spekter v infračervené a blízké infračervené oblasti. Letní škola NIR, MU Brno, 82 s.
- Ørskov, E. R., McDonald, I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci.* 92 (2), 499–503.
- Paul, C., Pfitzner, C. (2004): Analytical use of NIR diode array spectrometers on forage harvesters. In: Davies, A.M.C., Garrido-Varo, A. (eds.) *Near Infrared Spectroscopy*. Proc. of the 11th Int. Conf., Córdoba, Spain, pp. 333–338.
- Pfitzner, C., Höppner, F., Greef, J.M. (2010): Bewertung des Gasbildungspotentials von nachwachsenden Rohstoffen (Nawaros) mit der Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS). *Journal für Kulturpflanzen* 62(12): 451–460.
- Rath, F., Erdmann, B. (2003): NIR-spectroscopy for single kernel analysis - a novel tool for the evaluation of homogeneity in barley and malt. *Proc. EBC Congr. 2003*, 79–90.
- Roberts, C.A., Workman, J.W., Reeves, J.B. (eds.) 2004: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture*. ASA Monogr. 44, ASA, Madison, 822 p.
- Shenk, J. S., Workman, J. J., Westerhouse, M. O. (2007): Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. In: D. A. Burns, E. W. Ciurczak (eds.): *Handbook of Near-Infrared Analysis*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL (USA): 347–386.
- Schneider, B., Štoka, J. (1988): Infračervená a Ramanova Spektroskopie. Analytická příručka II. SNTL, ALFA.
- Siesler, H. W. (2007): Basic Principles of Near-Infrared Spectroscopy. In: D. A. Burns, E. W. Ciurczak (eds.). *Handbook of Near-Infrared Analysis*. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL (USA): 7–20.
- Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., Heise, H. M. (2002): *Near-Infrared Spectroscopy Principles Instruments Application*, Wiley-VCH, Weinheim, pp. 636–638.
- Tauferová, A., Petrášová, M., Pokorná, J., Tremlová, B., Bartl, P. (2014): Rostlinná produkce. 1. vyd., VFU Brno, 140 s.
- ÚKZÚZ (2013): Metodika zkoušek užitné hodnoty kukuřice ZUH/15-2013. Účinnost dnem 15. 8. 2013.
- ÚKZÚZ (2015): Akreditovaný validační protokol kalibrační rovnice pro stanovení parametrů výživné hodnoty silážní kukuřice metodou NIRS.
- Vorlová, L., Králová, M., Borkovcová, I., Kostrhounová, R. (2014): *Chemie potravin a chemické laboratorní metody*. Obecné kapitoly. 1. vyd., VFU Brno, 57 s.
- Vyhláška č. 415/2009 Sb., o stanovení požadavků na odběr vzorků a způsobu zveřejnění metod laboratorního zkoušení produktů ke krmení.
- Williams, P. C. (2001): Implementation of near-infrared technology. In: P. Williams & K. Norris (eds.) *Near-infrared technology in the agricultural and food industries*. 2nd ed., Am. Assoc. Cer. Chem., St. Paul, Minnesota, USA, pp. 145–169.
- Zimolka, J. (2008): *Kukuřice: hlavní a alternativní užitkové směry*. 1. vyd., Praha: Profi Press, 200 s.

Seznam obrázků, tabulek a zkratk

Seznam obrázků

Obr. 1: Schéma NIR spektrometru s diodovým polem (www.perten.com).

Obr. 2: Absorpční pásy NIR spektroskopie dle (NIR Absorption Chart, NDC, 2013) na příkladu kukuřice seté (celá rostlina a rostlina bez palic).

Obr. 3: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu N-látek (NL) v řezance celé rostliny silážní kukuřice.

Obr. 4: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu sušina v řezance celé rostliny silážní kukuřice.

Obr. 5: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu NDF v řezance celé rostliny silážní kukuřice.

Obr. 6: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu vláknina v řezance celé rostliny silážní kukuřice.

Obr. 7: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu stravitelnost OH24 v řezance celé rostliny silážní kukuřice.

Obr. 8: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu škrobu v řezance celé rostliny silážní kukuřice.

Obr. 9: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu NDF v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Obr. 10: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu sušina ZH v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Obr. 11: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu vláknina v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Obr. 12: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu SOH v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Obr. 13: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu SNDF v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Obr. 14: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu Svlak v řezance rostliny kukuřice bez palic.

Seznam tabulek

Tab. 1: Vývoj osevních ploch kukuřice seté v ČR v letech 1980–2015.

Tab. 2: Kategorizace získaných kalibračních modelů podle koeficientu determinace (Dvořáček a kol. 2014).

Tab. 3: Odhad teplotních požadavků hybridů silážní kukuřice (Loučka a kol. 2014b).

Tab. 4: Statistické charakteristiky regrese a rozhodčí kritéria výstavby regresního modelu jednotlivých parametrů kvality řezanky kukuřice - celá rostlina.

Tab. 5: Statistické charakteristiky regrese a rozhodčí kritéria výstavby regresního modelu jednotlivých parametrů kvality řezanky kukuřice - rostlina bez palic.

Seznam zkratk

ADF - acidodetergentní vláknina

AIC - Akaikeho informační kritérium

AOTF - přístroj NIR vybavený akusticko-optickými filtry

ČSÚ - Český statistický úřad

FAO - číslo ranosti

FIR - vzdálená infračervená oblast

F-S test - test významnosti regresního modelu

FT-NIR - přístroje NIR s Fourierovou transformací

ISI - software Infracsoft International

MEP - střední kvadratická chyba predikce

MIR - střední infračervená oblast

NDF - neutrálně detergentní vláknina

NEL - netto energie laktace

NEV - netto energie výkrmu

NIR - blízká infračervená oblast

NIRS - blízká infračervená spektroskopie

NL - dusíkaté látky

PCA - analýza hlavních komponent

PLS - regrese dílčích nejmenších čtverců

R - vícenásobný korelační koeficient

R² - koeficient determinace

RSC - reziduální součet čtverců

s(e) - reziduální směrodatná odchylka

SEC - směrodatná odchylka kalibrace

SEP - směrodatná odchylka predikce

SET - suma efektivních teplot

SMLR - postupná mnohonásobná lineární regrese

SNDF - stravitelnost neutr. deterg. vlákniny

SOH - stravitelnost organické hmoty

SOH24 - stravitelnost organické hmoty *in situ* (inkubace v batoru po dobu 24 h)

TMR - směsná krmná dávka

ÚKZÚZ - Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

VS - Výzkumná stanice

VÚRV, v.v.i. - Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

ZBPS - zemědělská bioplynová stanice

Název: Využití blízké infračervené spektroskopie ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice, určených k výrobě kukuřičné siláže

Autoři: Pavel Nerušil, Ladislav Menšík, Václav Jambor

Vydal: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně

Tisk: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Vydání: rok 2016

Počet stran: 28

Náklad: 100 ks

ISBN 978-80-7427-201-1



Vydal Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
ve vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně,
Zemědělská 1, 613 00 Brno

2016



Pavel Nerušil, Ladislav Menšík, Václav Jambor

**Využití blízké infračervené spektroskopie ke
stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice,
určených k výrobě kukuřičné siláže**

Certifikovaná metodika pro praxi



Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

2016