

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Národní referenční laboratoř



Bulletin 2022

Ročník XXVI, číslo 2/2022

Brno 2022

Obsah

- 1 Stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v silicích chmelové odrůdy Žateckého poloraného červeňáku metodou kapilární plynové chromatografie**
Pavel Ryšavý, Karel Stýblo
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Oddělení speciálních analýz rostlin a krmiv
Lípa 121, 582 57 Lípa 1
- 2 Ověření možnosti použití snížených navážek při stanovení Mehlich 3**
Václav Rypl, Iveta Dvořáková, Martina Foltýnová
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, OdNRL Plzeň,
Slovanská alej 20, 326 00 Plzeň 22
- 3 Ověření přepočítávacích koeficientů mezi Cox a TOC**
David Čížmár
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, ONRL Brno,
Hroznová 2, 603 00 Brno 44

Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

Stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v silicích chmelové odrůdy Žateckého poloraného červeňáku metodou kapilární plynové chromatografie

Pavel Ryšavý, Karel Stýblo

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
NRL, Oddělení speciálních analýz rostlin a krmiv
Lípa 121, 582 57 Lípa
pavel.rysavy@ukzuz.cz

1 Úvod

Pěstování chmele (*Humulus lupulus* L.) má dávnou historii. Římský historik Plinius se v 1. století př. n. l. zmiňuje o chmelu jako o léčivé rostlině. Od 8. století byl chmel pěstován především v okolí klášterů. Od středověku se chmel začal používat při vaření piva jako konzervační a hořčící agens. Od této doby se chmel stal základní surovinou při výrobě piva. Zhruba 95 % celosvětové produkce chmele je určeno pro pivovarské účely, zbytek se využívá pro výrobu fytomedikamentů a přírodních potravinových doplňků (1).

Chmel je jednou ze tří nenahraditelných surovin pro výrobu piva. Je představován usušenými chmelovými šišticemi samičích rostlin chmele evropského (2). Chmelové hlávky, správně botanicky nazývané šištice, sklizené pro pivovarské účely jsou složeny ze stopky, věténka, pravých a krycích listenů. Při oplození obsahují navíc semeno neboli pecku, což je nežádoucí. Na vnitřní straně listenů se při zrání chmele vylučují pryskyřičná zrnka lupulinu, která obsahují chmelové silice a pryskyřice (3).

Chmel poskytuje pivu typickou hořkou chuť, přispívá k tvorbě charakteristického aroma a má další technologicky významné vlastnosti.

Pěstování chmele je v České republice státně kontrolováno a řízeno. Jsou povoleny tři pěstitelské oblasti – Žatecko a Úštěcko v Čechách a Tršicko na Moravě. Z pivovarského hlediska jsou odrůdy chmele členěny na jemné aromatické, představované především

žateckými odrůdami, s příjemným chmelovým aroma, aromatické, hořké a vysokoobsažné s vysokým obsahem pryskyřic. Podle zbarvení chmelové révy se člení chmelové odrůdy na červeňáky (žatecké odrůdy) a na zeleňáky pěstované v zahraničí (3).

Zralé chmelové šišťice obsahují řadu sekundárních metabolitů, pryskyřice, polyfenoly a silice (1). Silice nazývané také éterické nebo esenciální oleje jsou charakteristicky a intenzivně vonící těkavé olejovité látky.

Z důvodu snadné degradace téměř všech pivovarsky cenných látek při skladování a transportu se v současné době chmelové šišťice upravují do formy prášku, resinového extraktu nebo se lisují do pelet. Tím se značně prodlužuje doba skladování a omezují se náklady na dopravu.

Chmel pěstovaný konkrétně v Žatecké oblasti patří mezi vysoce kvalitní jemné aromatické odrůdy chmele tzv. evropského otáčivého.

Lisovaný chmel podléhá označování, ověřování a certifikaci se supervizí státu. Tuto činnost konkrétně vykonává Oddělení chmele a certifikace produktů Žatec (dále OdCHCP) Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského. Součástí tohoto dozoru je kontrola dodržování podmínek užití Chráněného označení původu (dále CHOP) „Žatecký chmel“ v souladu s Nařízením Rady ES 510/2006 o schválení tohoto označení původu organ EU.

Předmětem kontroly ze strany OdCHCP je odrůda Žatecký poloraný červeňák (SaaZ) vypěstovaný v Žatecké chmelařské oblasti.

Pro jednoznačnou identifikaci této odrůdy se používají charakteristické chemotaxonomické ukazatele jako je obsah α -hořkých kyselin, poměr obsahů α a β -hořkých kyselin a relativní podíl silic myrcenu a β -farnesenu v sumě všech chmelových silic.

Cílem této práce bylo připravit postup na stanovení podílu charakteristických silic myrcenu a β -farnesenu v celkových chmelových silicích Žateckého poloraného červeňáku metodou kapilární plynové chromatografie GC/FID. Východiskem finálního postupu byla optimalizace a modifikace ČSN 46 2520-12: Zkoušení chmele – část 12: Stanovení chmelových silic a z toho farnesenu. Metoda byla ověřena (verifikována) pro obě požadované silice – myrcen i β -farnesen.

2 Teoretická část

2.1 Chmel (*Humulus*)

Chmel (*Humulus*) je dvoudomá vytrvalá pravotočivá popínavá rostlina mírného pásu z řádu Kopřivotvaré (Urticales), čeledi konopovitých (Cannabaceae) stejně jako kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*) a konopí seté (*Cannabis sativa*) (9). Latinský název vznikl jako zdvojnásobení z latinských slov humus = zem (bez opory se plazí po zemi) a lupus = vlk (škodí rostlinám) (7).

Své využití nachází chmel nejen v potravinářském, ale díky svým dezinfekčním a zklidňujícím účinkům také ve farmaceutickém průmyslu (5).

Přestože existuje několik druhů chmele, pro pivovarnictví má největší význam kulturní chmel otáčivý (*Humulus lupulus*), konkrétně jeho samičí květy. Ty se po dozrání mění v nahnědlé hlávky se žlázami produkujícími lupulin, což je žlutý prášek obsahující pryskyřice a silice klíčové pro výrobu piva. Kromě pryskyřic a silic se v chmelových hlávkách nacházejí také lipidy, vosky, bílkoviny a samozřejmě celulóza – jsou to ale látky bez primárního vlivu na hodnotu piva, z analytického hlediska jde tedy spíše o matici.

Dozrálé hlávky se sklízí na přelomu léta a podzimu, kdy je obsah pryskyřic nejvyšší. Hlávky se suší, přečišťují a dále zpracovávají například na prášek či granulát, což je vysušený, rozemletý a slisovaný chmel, nebo se vytváří prostý extrakt. Tyto produkty zpracování se následně využívají během vaření piva. To se skládá ze čtyř složek: voda, sladový ječmen, chmel a kvasnice. Kompozice těchto surovin má dopad na charakter a škálu stylů piva.

2.1.1 Popis rostliny, výskyt a její původ

Morfologie

Chmel otáčivý je vytrvalá bylina obvykle se silným svislým oddenkem a velkým počtem podzemních výhonků (8). Jako trvalka vydrží na jednom místě 20 až 25 let.

Stonek tvoří tenká čtyřhranná pravotočivá lodyha, která dosahuje výšky kolem 3 až 5 m, někdy dokonce až 10 m. Povrch stonku je drsný a porostlý háčkovitými chlupy, které napomáhají při popínání (10).

Listy chmele jsou dlanité, pilovité, velké, až 20 cm široké, řapíkaté, ve středu lodyhy vstřícné s vejčitou až okrouhlou čepelí a v horní části menší, převážně střídavé a často celistvé nebo laločnaté – mohou mít až sedm laloků. Okraj listů je pilovitý a jejich báze je hluboce srdčitá. Povrch na svrchní části listu je tmavě zelený a drsný, zatímco spodní strana je světlejší se žlutými žlázkami. Na bázi řapíku se nacházejí dva téměř srostlé blanité palisty (8).

Zelenavá samičí pestíkové květenství se skládají z krátkých klásků, z nichž se vytvářejí vejčité šištice, které v úžlabí listů vyrůstají po dvou. Plodem samičí rostliny je chmelová hlávka, oboustranně zploštělá vejcovitá nažka v závislosti na odrůdě obvykle 2 až 4 cm dlouhá. Její osu tvoří středové vřetenko nesoucí až 2 cm dlouhé krycí listeny, na nichž se v bazální části tvoří lupulinové žlásky (11) vylučující pryskyřičná zrnka lupulinu, jež obsahuje cenné složky chmele (3, 12). Ty se pro svoje konzervační a aromatické vlastnosti používají v pivovarnictví, ale jsou i předmětem zájmu moderní farmacie.

Plodem samčí rostliny je nažka s pohárovitými žlázkami, které rovněž vylučují silice a trísloviny (11). Na chmelnicích se pěstují pouze samičí rostliny. Samčí rostliny se v blízkosti chmelnic ničí, protože chmel, vzato z hlediska historického požadavku pivovarnictví, ztrácí po opylení na jakosti (13). Šlechtění a výzkum chmele jsou tedy přirozeně zaměřeny převážně na účinky látek obsažených v odrůdách samičích rostlin.

Podzemní část chmelové rostliny se skládá z kořenové soustavy a soustavy podzemních lodyžních orgánů.

Kořenový systém tvoří vertikálně rostoucí křulové kořeny, horizontálně rostoucí letní kořeny a kořenové hlízy.

Kořeny mají primární stavbu pouze do vzdálenosti 2 cm od vzrostného vrcholu, dále přecházejí v sekundární stavbu. Taktéž stonek přechází v sekundární strukturu ve vzdálenosti asi 1 cm od vzrostného vrcholu. Chmel je tedy považován za bylinu, přestože anatomicky stonek vykazuje charakter dřeviny (15).

Křulové kořeny vyrůstají na jaře na spodu starého dřeva. Jeden chmelový keř jich má až dvacet. Počínají růst v hloubce 25 až 30 cm a rostou kolmo do půdy asi 2 až 3 metry hluboko. Tyto kořeny se rozvětvují a vytvářejí postranní kořeny až čtvrtého řádu.

Letní kořeny vyrůstají později a nejvíce jich vyrůstá z vlků. V půdě rostou vodorovně až do vzdálenosti 2,5 m. Pokud tyto kořeny změni směr na vertikální, mění se na kořeny křulové (14).

Abnormálním tloušťnutím křulových kořenů vznikají tzv. kořenové hlízy, ve kterých se uchovávají přes zimu zásobní látky. Některé kořeny mohou dosáhnout stáří jako staré dřevo, mnohé jsou ale zničeny a každoročně se obnovují. Kořenové vlášení chmele má mohutnou nasávací schopnost a velkou povrchovou plochu (14).

Podzemní lodyžní orgány neboli babka tvoří základ vzniku nové rostliny při vegetativním rozmnožování, jedná se vlastně o zdřevnatělý stonek, jehož životnost je přibližně 25 let. Podzemní část výhonů se od nadzemní liší tím, že je zduřinatělá a má zkrácená internodia, tzv. nové dřevo. Z nového dřeva se tvoří sád', která zakládá kořenovou soustavu a nové výhony z pupenů – tvoří víceletý základ chmelové rostliny označovaný jako chmelová babka. Ze středu babky vyrůstá réva s postranními větévkami, tzv. pazochy, která v létě roste rychlostí až 30 cm za den. Z pazochů potom vyrůstají listy a květenství, ze kterých se vyvíjejí chmelové hlávky. Horizontální lodyžní orgány se označují jako vlky. Vlky se v pěstitelských podmínkách odstraňují, aby se předešlo nechtěnému rozmnožování. Hlavní funkce podzemních lodyžních orgánů spočívá v uchování rostliny a ve vegetativním způsobu rozmnožování (14).

Výskyt, historie a původ chmele

Chmel patří k velmi starým kulturním rostlinám. Jeho pěstování je doloženo od počátku našeho letopočtu. Tehdy již byly využívány jeho léčivé účinky zevně i vnitřně k léčbě nejrůznějších chorob.

Úrodné nížiny v podhůří Kavkazu a oblasti kolem Černého moře jsou pravděpodobně pravlastí chmele, odkud se od 5. století šířil do Evropy. První ojedinělé písemné zmínky o chmelu pocházejí z 8. a 9. století z různých míst, mezi nimi i z Čech, roku 859 (14).

Kultivace chmele je prvně zaznamenána roku 736 v regionu Hallertau v Bavorsku, které je centrem chmelařství dodnes a chmel je znám jako Hallertauer. Ten tvoří téměř 30 % světové produkce (17).

Vůbec první historická zmínka o užití chmele pro dochucení piva pochází z listiny franckého krále Pipina III. Krátkého z r. 768. Na počátku většího využití chmele při výrobě piva se používaly planě rostoucí rostliny.

V Českých zemích má pěstování chmele tisíciletou tradici. Vždy šlo o hospodářsky významnou plodinu. Od začátku druhého tisíciletí se chmel vyvážel do sousedních zemí. Chmelařství zaznamenalo významné zvelebení za vlády císaře Karla IV, který se zasloužil o ochranu proti vývozu sádí a dozor nad jeho pěstováním.

První písemná zmínka o pěstování chmele v Žatci pochází z roku 1348, kdy žatecký klášter přebíral libočanský statek a v písemné smlouvě je uvedeno, že přebírá vinice a chmelnice. V této době se v okolí Žatce pěstovalo více révy vinné než chmele.

Ve 12. až 16. století vzniklo mnoho pivovarů - např. Cerhenice (1118), Teplá (1200), Hodonín (1228), Olomouc (1250), Vodňany (1336), Třeboň (1379), Jilemnice (1384), Rakovník (1454), Blatná (1485), Jihlava (1485), pivovar U Fleků v Praze (1499) a jiné.

Pěstování chmele se soustřeďovalo na Žatecko, Rakovnicko, Lounsko, Úštěcko a také na Klatovsko. Klatovský chmel byl odborníky vysoce ceněn a jeho pěstování bylo v regionu značně rozšířeno. Dokonce na pečtidle města Klatov z roku 1533 byl zobrazen chmel na tyči.

V 19. století však chmelařství z kraje zcela vymizelo. Během třicetileté války bylo pěstování v Českých zemích ohroženo a sád' českého chmele se používala pro zakládání chmelnic v Braniborsku, Bavorsku, Slezsku, Štýrsku, v Rusku a jinde. Četné posudky z druhé poloviny 18. století ukazují, že kvalita českého chmele byla výborná. S rozvojem pivovarnictví se objevily i negativní jevy, jako byl prodej méně hodnotného zboží vydávaného za český chmel. Z tohoto důvodu byla v roce 1884 zřízena Známkovna chmele v Žatci a byla přijímána zákonná opatření včetně Zákona o ochraně chmele č. 97/1996 Sb (16).

Nejpřívětivější oblasti pro pěstování chmele jsou nížiny v oblasti mírného pásu o zeměpisné šířce 35 ° až 55 ° na obou polokoulích. Původní oblasti výskytu se proto nacházejí v mírném pásu Evropy a Asie, následně se pěstování chmele z různých příčin rozšířilo do jižní a severní Ameriky (Argentina, Chile, USA), Austrálie, Nového Zélandu a jižní Afriky. Nejvýznamnější chmelařské země z hlediska rozlohy chmelnic i produkce jsou na prvním místě Německo, pak USA a třetí místo zaujímá Česká republika s přibližně 5000 ha, které tvoří přes 8 % světových rozloh chmelnic. Z dalších významných producentů je na čtvrtém místě Čína, významnými producenty jsou také Polsko, Velká Británie, Kanada, JAR, Austrálie a Ukrajina.

Chmel jako vlhkomilná rostlina se v plané formě nachází především v pobřežních křovinách potoků a řek, kde vytváří mohutné porosty, na okrajích lesů, polí, v olšínách a lužních lesích.

Kulturní rostliny se nejčastěji vysazují na rovinných plochách nebo v širokých otevřených údolích. Nejvhodnější pro pěstování je mírně kyselá půda (permské červené půdy Žatecka) se slabě kolísající hladinou podzemní vody kolem 2 m.

2.1.2 Využití chmele a jeho účinky

Vedle všeobecně známého využívání v pivovarství se chmel uplatňuje i v lékařství a kulinářství.

V medicíně se chmel využíval dlouho před pivovarstvím. Květní hlávky se dosud používají v léčitelství. Příznivě ovlivňuje zažívání. Působí jako uklidňující prostředek při nervozitě a nespavosti. Sedativní složkou chmele je zjevně chemická sloučenina metylbutenol, která má uklidňující účinek na centrální nervovou soustavu, podporuje chuť k jídlu a činnost žaludku. Působí i mírně diureticky a používá se k zevnímu ošetření nádorových vředů.

Listy chmele jsou zkrmitelné, lze je též použít na siláž. Z mladých výhonků se připravují saláty. Římské prameny z 1. st. n.l. se o chmelu zmiňují jako o oblíbené zahradní zelenině. Mladé postranní výhonky se prodávaly na trzích a v kuchyni zpracovávaly obdobně jako chřest. V některých jižních zemích jsou přísadou při přípravě chlebových kvasů (19).

První spisy o využití chmele ve farmacii pochází z roku 1813, kdy pařížský lékárník Planche použil lupulin z chmelových šištic jako sedativa. Během 19. století se rozmohlo využití extraktu chmele i v kosmetickém průmyslu. V současné době několik průmyslových výrobců využívá chmel v šampónech a dalších čistících nebo hydratačních výrobcích.

Původně se chmel používal v pivovarské technologii především pro své bakteriostatické účinky zajišťující vyšší trvanlivost piva. Teprve mnohem později se začal používat pro dodání hořké chuti a úpravu dalších vlastností piva.

Polycyklické látky nazývané flavonoidy jako součást chmelových polyfenolů vykazují i po biotransformaci zajímavé biologické účinky; částečný antimikrobiální, antioxidační, protizánětlivý a protirakovinný. Flavonoidní látky, které lze objevit v chmelu otáčivém, mají *in-vitro* prokázaný silný antioxidační účinek, který dokáže potlačit některé markery zánětu. V několika testech výsledky potvrdily schopnost potlačit aktivitu volných radikálů v tkáni, a tedy antioxidační efekt (19).

Tzv. prenylované flavonoidy, jejichž hlavním zástupcem je v chmelu přítomný xanthohumol díky aktivitě bakterií tlustého střeva přeměňuje na fytoestrogen prenylnaringenin, který

je schopen se vázat na lidské estrogenové receptory. Působením přes estrogenové receptory mají zmíněné látky částečný protirakovinný efekt u rakoviny prostaty, vaječníků a prsu (20).

Extrakt chmele otáčivého má v patřičné koncentraci antimikrobiální efekt, který byl nejvíce popsán v použití vůči aktivitě kožních patogenů, lokálně, a jako přírodní deodorant. Ukázalo se, že extrakt z chmele je schopen způsobovat rozpad bakteriálních buněk (19).

Obsahové hořké látky dokážou stimulovat tvorbu žluči, což vede k podpoře trávení obzvláště těžkého tučného jídla. V několika studiích byl potvrzen částečný protikřečový efekt obsahových látek chmele na trávicí soustavu. Zároveň by se tyto hořké látky měly navazovat na cholesterol v potravě a v oběhu a snižovat jeho koncentrace. *In-vivo* pokusy potvrdily anticholesterolemický efekt některých látek chmele otáčivého (19).

2.1.3 Obsahové látky

Chemická skladba chmele zahrnuje pivovarsky důležité složky, ke kterým patří chmelové pryskyřice, silice a polyfenoly. Jako přírodní produkt obsahuje chmel vždy také vodu. Čerstvý sklizený chmel má vysoký obsah vody (okolo 75 %), a proto se nemůže v původním stavu skladovat. Po umělém vysušení obsahuje chmel 10 až 14 % vody.

Z ostatních přítomných látek se věnuje pozornost tzv. problémovým složkám, které mohou kvalitu chmele či chmelových výrobků pro pivovarské využití ovlivnit negativně. K problémovým složkám chmele patří dusičnany. Nejvyšší obsah je v hlávkovém chmelu (0,5 až 1,5 %), kdežto ve chmelových výrobcích je jejich obsah v závislosti na způsobu zpracování obvykle snížen nebo zcela eliminován.

Transformační produkty chmelových pryskyřic, tvořící se při chmelovaru, jsou zdrojem typické hořkosti piva, stabilizují pивní pěnu a díky antiseptickým účinkům zvyšují biologickou trvanlivost piva.

Jsou složitým komplexem látek, z nichž pouze u některých je známo chemické složení i struktura. Patří k nim především α -hořké kyseliny a β -hořké kyseliny, které jsou v čistém stavu bez chuti a vůně a málo rozpustné ve vodě.

α -hořké kyseliny jsou tvořeny směsí sedmi dosud známých analogů humulonů. V přirozených směsích α -hořkých kyselin převládají kohumulon, humulon a adhumulon. β -hořké kyseliny se rovněž vyskytují ve směsi analogů, z nichž nejvíce jsou zastoupeny kolupulon, lupulon a adlupulon.

V průběhu chmelovaru dochází k izomeraci α -hořkých kyselin na iso- α -hořké kyseliny. Tyto látky jsou rozpustné ve vodě a jsou hlavním zdrojem hořkosti piva. Přibližně 10 % celkové hořkosti piva pochází z transformačních produktů β -hořkých kyselin.

Typické složení suchých chmelových hlávek:

- voda 10 %,
- celkové pryskyřice 15 až 18 %,
- polyfenolové látky (trísloviny) 4 %,
- silice (esenciální těkavé oleje) 0,5 %,
- sacharidová složka 44,5 %,
- dusíkaté látky 15 %,
- lipidy a vosky 3 %,
- minerální látky 8 %.

2.1.4 Chmelové silice

Chmelové silice jsou nejdůležitější skupinou látek odpovědných za aroma chmele. Silice jsou přítomny v lupulinových zrnech chmelové hlávky a chmel jich obsahuje 0,5 až 3,0 %. Tvoří se převážně v posledních fázích zrání rostliny. Jejich obsah i složení se během dozrávání výrazně mění, což závisí na době zralosti, podmínkách pěstování, na podmínkách stanoviště a na odrůdě.

Jsou složitou směsí mnoha přírodních látek převážně terpenického charakteru a různého chemického složení. Některé jsou zastoupeny řádově v desítkách procent (myrcen, α -humulen), mnoho dalších se vyskytuje v malém až stopovém množství, jiné nebyly dosud identifikovány. Všechny se společně podílejí na vzniku charakteristického chmelového aroma.

Při chmelovaru větší část chmelových silic uniká a asi jen jedna čtvrtina přechází do mladiny a dále do piva, kde přispívá spolu s produkty kvašení k vytváření charakteristické vůně.

Chmelové silice se sestávají asi ze 40 látek různé struktury a různých fyzikálních vlastností. Složení a množství jednotlivých složek silic udává chmelovou vůni. Při sušení jich část, zejména z uhlovodíkové frakce, vyprchá (22).

Chmelové silice lze rozdělit do tří frakcí: uhlovodíkové, kyslíkaté a frakci sirných sloučenin. Frakce kyslíkatá vzniká oxidací původních uhlovodíků během zrání, zpracování a skladování chmele a z hlediska chemického složení je výrazně rozmanitější než frakce uhlovodíková.

Frakce sirných sloučenin je přítomná jen v nepatrném množství (2). Mezi nejdůležitější zástupce látek ze skupiny epoxidů patří epoxidy, které vznikají oxidací terpenických uhlovodíků v průběhu stárnutí chmele (karyofylepoxid a humulenepoxidy). Jejich obsah ve chmelu postupem času výrazně stoupá. Estery, které jsou přítomné ve chmelových silicích, patří mezi jedny z nejdůležitějších složek z pohledu formování charakteru aroma. Dosud bylo identifikováno více než 70 různých esterů. K dalším důležitým složkám patří např. alkoholy, epoxidy, methylketony a již výše zmíněné estery mastných kyselin.

Majoritní část připadá na uhlovodíkovou frakci, která u čerstvě sklizeného chmele tvoří 70 až 80 % celkové hmotnosti silic a kterou lze rozdělit do tří skupin na alifatické uhlovodíky, monoterpeny a seskviterpeny. Mezi nejdůležitější složky uhlovodíkové frakce chmelových silic patří terpenické uhlovodíky, zejména myrcen, karyofylen, humulen a farnesen. Nejvýznamnější jsou monoterpeny a seskviterpeny, jejichž vzájemné poměry jsou genetickou vlastností jednotlivých klonů chmele. Například pro jemné odrůdy žateckých aromatických chmelů je charakteristický nízký obsah myrcenu, který je nositelem drsného štiplavého aroma a původcem nevyrovnané a méně příjemné hořkosti piva. Ušlechtilé aroma těchto odrůd je vytvářeno vhodným poměrem seskviterpenových složek, zejména α -humulenu (8 až 33 %), karyofylenu (4 až 22 %) a farnesenu (0 až 19 %) (21).

Těkavé složky uhlovodíkové frakce silic jsou původcem aroma chmele. Během chmelovaru však vytékají s vodní párou a do mladiny a piva přecházejí pro svou nízkou rozpustnost jen nepatrně. Složky kyslíkaté frakce, které tvoří 20 až 30 % celkového množství silic, jsou mnohem rozpustnější ve vodě, protože obsahují jak těkavé, tak i netěkavé složky. Je u nich pravděpodobnější, že se dostávají až do piva a spolu s těkavými kvasnými produkty vytvářejí jeho aroma.

Jemné chmelové aroma poskytují pivu především chmele a chmelové výrobky pocházejících z jemných aromatických odrůd. Aromatické chmele se proto často dávkuje až těsně před koncem chmelovaru nebo i později, aby nestačily oddestilovat a tím se zvýšil jejich obsah v mladině a následně pivu

Frakce sirných sloučenin chmelových silic představuje velice malé množství, přibližně 1,0 % celkové hmotnosti. Vzhledem k tomu, že se jedná o látky sensoricky velice aktivní, jejich působení na celkové aroma chmele není zanedbatelné. Projevují se negativně už při nízkých koncentracích jako chuťové a vonné látky. Zvýšený obsah sirných sloučenin mají v první řadě

chmele ošetřené během vegetace sirnými preparáty proti houbovým chorobám a chmele konzervované sířením v posklizňových úpravách (21).

Kvůli podstatnému rozdílu obsahu jednotlivých silic v různých odrůdách chmele byly vypracovány klíče pro rozpoznávání odrůd podle mezních hodnot vybraných silic (21).

Přítomnost či absence některých složek silic, jejich obsahy a vzájemné poměry jsou silně odrůdově podmíněny. Ve srovnání s chmelovými pryskyřicemi se složení silic mění rychleji vzhledem k těkavosti některých složek. Například při sušení a zpracování na chmelové výrobky, ale ne natolik, aby to znemožnilo určit odrůdu i po zpracování chmele na chmelové výrobky. Ne všechny, ale jen určité silice poskytují vhodnou informaci o identitě odrůdy. Složky přítomné v největším množství nemusejí mít nejdůležitější roli. V několika studiích se autorům podařilo na základě složení chmelových silic a pryskyřic vzájemně rozlišit několik desítek různých odrůd chmele (21).

Tabulka1. Průměrný obsah vybraných silic v českých chmelových odrůdách (% rel.).

Silice	Agnus	Bor	Harmonie	Premiant	Rubín	Sládek	Vital	ŽPČ
β -myrcen	24,79	15,11	25,21	17,35	15,7	14,73	10,59	15,61
karyofylen	17,96	16,49	9,89	15,09	12,35	18,83	18,19	10,43
humulen	27,71	47,42	27,55	46,51	33,39	46,82	3,79	32,45
β -farnesen	*	0,36	*	2,59	0,07	0,06	2,36	20,64
α -limonen epoxid	0,44	0,21	0,12	0,06	0,15	0,19	0,59	0,22
Celkové silice	1,68	0,77	1,15	1,11	0,88	0,99	0,77	0,39

* Nebylo stanoveno.

3 Experimentální část

Při přípravě postupu na stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v silicích chmelové odrůdy Žateckého poloraného červeňáku (dále jen ŽPČ) metodou plynové chromatografie s využitím plamenově-ionizačního detektoru (GC-FID) se vycházelo z ČSN 46 2520-12 Zkoušení chmele-část 12: Stanovení chmelových silic a z toho farnesenu. Pro ověření a částečnou validaci metody byly použity vzorky chmele, který dodalo Oddělením chmele a certifikace produktů ÚKZÚZ Žatec.

3.1 Metoda na stanovení podílu myrcenu a β -farnesenu v silicích chmelové odrůdy Žateckého poloraného červeňáku

Princip metody

Silice vytěkají v průběhu destilace vzorku chmele vodní parou. Následně se hledané látky stanoví metodou kapilární plynové chromatografie s využitím plamenově-ionizačního detektoru.

Chemikálie

Chemikálie jsou analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

- 1 Voda, (deionizovaná, demineralizovaná nebo destilovaná).
- 2 Hexan.
- 3 Diethylether.
- 4 Směs diethyléter - hexan (1 : 1).
- 5 Síran sodný bezvodý.
- 6 Myrcen, analytický standard.
- 7 Farnesen, trans-beta, analytický standard.

Přístroje a pomůcky

- 1 Aparatura na destilaci silic.
- 2 Topné hnízdo.
- 3 Plynový chromatograf s detektorem FID.
- 4 Kapilární kolona 30 m \times 0,25mm, tloušťka filmu 0,25 μ m.
- 5 Varné baňky 2000 ml
- 6 Injekční stříkačka, 10 μ l.
- 7 Vialky se šroubovacím uzávěrem, tmavé, 2 ml.

Postup

Izolace chmelové silice

Do 2000ml varné baňky se zábrusem se naváží přibližně 50 g čerstvě pomletého vzorku chmele. Odměrným válcem se přidá 1000 ml vody (1). Baňka se umístí do topného hnízda, připojí se k aparatuře na destilaci silice a začne se zahřívat. Od počátku varu pokračujeme v destilaci 15 až 30 minut. Po ukončení destilace se vypne hnízdo a varná baňka se nechá zchladnout. Voda z aparatury se odpustí a vydestilované silice se zachytí do 50ml kádinky. Aparatura se vypláchne směsí diethyléter-hexan (4) do téže kádinky. Silice v kádince se zakoncentrují odpařením pod proudem dusíku na objem přibližně 2 ml. Zakoncentrovaný vzorek silice se přelije do vialky a uzavře se víčkem s teflonovým septem.

Takto připravený vzorek se používá přímo k nástřiku do plynového chromatografu.

Chromatografické stanovení

Vlastní analýza se provádí na plynovém chromatografu s plamenově-ionizačním detektorem. Pro separaci jednotlivých složek chmelové silice se použije kapilární kolona s nepolární stacionární fází na bázi dimethylpolysiloxanu s 5 % fenylu. Příklad nastavení chromatografických podmínek je uveden v tabulce 2. Chromatogram získaný při analýze vzorku chmelové silice je na obrázku 1.

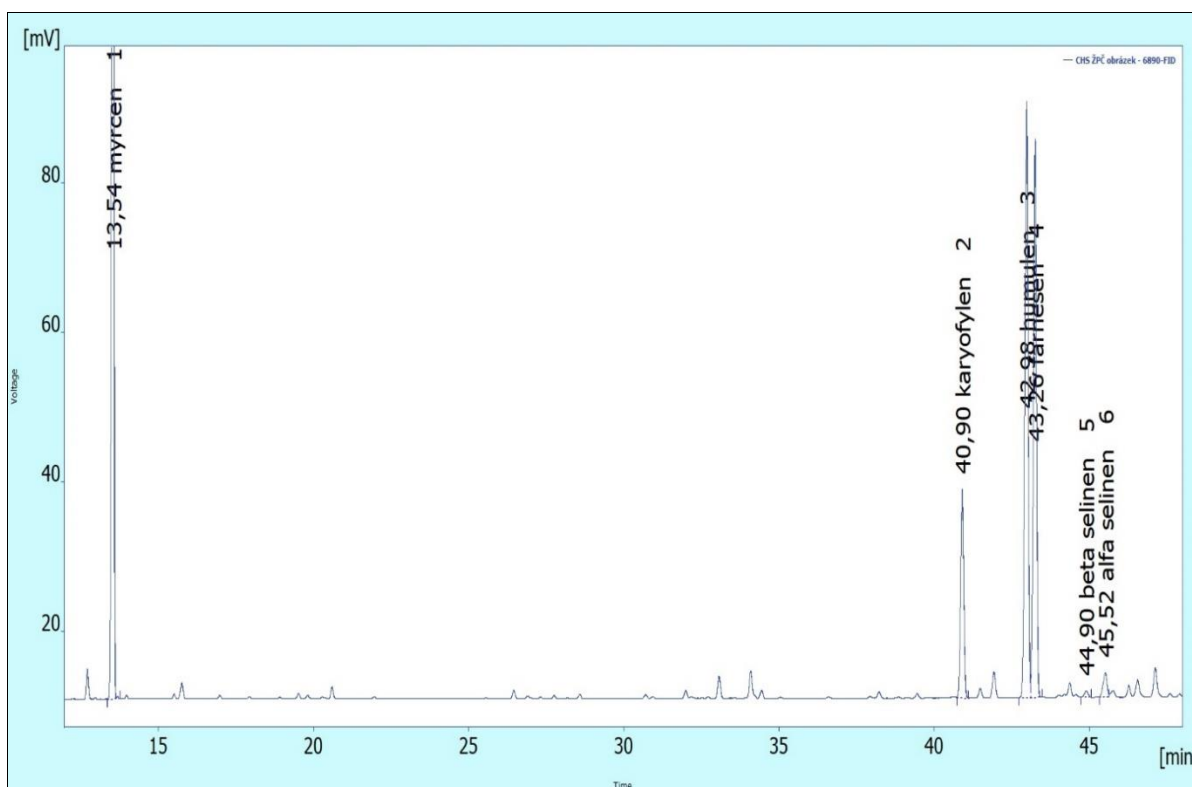
Tabulka č. 2. Příklad nastavení chromatografických podmínek.

Plynový chromatograf	GC Agilent 6890N
Kapilární kolona	ZB-5 (30 m × 0,25 mm, film 0,25 μm)
Nosný plyn	Dusík
Průtok nosného plynu	1 ml/min
Teplota injektoru	220 °C
Teplota detektoru	220 °C
Teplotní program	60 °C, 5 minut (izotermie) 2 °C/min. na 150 °C (gradient) 5 °C/min. na 220 °C (gradient) 220 °C, 15 minut (izotermie)
Objem nástřiku, dávkování	1 μl, split 1 : 50

Kvalitativní a kvantitativní analýza

Píky myrcenu, β -farnesenu případně dalších látek obsažených v chmelové silici (α -humulen, α + β selinen, β -karyofylen atd.), se identifikují na základě jejich retenčních časů, porovnáním s retenčními časy píků standardních látek.

Pro kvantitativní vyhodnocení se používá metoda vnitřní normalizace, tj. za předpokladu, že všechny složky vzorku jsou zaznamenány na chromatogramu, představuje celková plocha píků 100 % (celková eluce).



Obrázek 1. Chromatogram reálného vzorku chmelové silice ŽPČ.

Tabulka 3. Retenční časy a relativní retenční časy hlavních složek chmelové silice ŽPČ.

Analyt	t_R (min)
1 Myrcen	13,5
2 Karyofylen	40,9
3 β -farnesen	43,0
4 α -humulen	43,3
5 α -selinen	45,0
6 β -selinen	45,5

..

3.2 Výsledky a diskuse

Optimalizace postupu

Postup byl optimalizován a ověřen na vzorcích sušeného hlávkového chmele.

Byl posuzován vliv jednotlivých kroků od velikosti navážky, doby destilace silic, až po optimální chromatografické podmínky vlastního stanovení. K optimalizaci podmínek měření na GC a validaci byly využity dostupné standardy jednotlivých chmelových silic (myrcen, β -farnesen, α -humulen).

Byly stanoveny základní validační parametry metody: opakovatelnost, správnost, meze detekce a stanovitelnosti a bude určena nejistota stanovení.

Součástí práce bylo i ověření stability myrcenu ve skladovaných vzorcích sušeného hlávkového chmele. Myrcen byl vybrán jako nejsnáze degradovatelná složka chmelové silice. Jeho nestabilita a úbytek během nevhodného skladování pak ovlivňuje výsledek, tedy procentické zastoupení látek obsažených v chmelové silici.

Ověření stability

Během ověřování metody byla sledována stabilita myrcenu v nepomletých chmelových hlávkách. V uvedených časových obdobích byl vždy připraven vzorek z hlávek chmele skladovaného při laboratorní teplotě a z chmele skladovaného v chladničce. Získané výsledky jsou shrnuty v tabulce 4.

Tabulka 4. Stabilita myrcenu v sušeném hlávkovém chmelu.

Časové období přípravy vzorků	Obsah myrcenu ve vzorku (%)	
	Laboratorní teplota	Chladnička (4 – 6) °C
Po dodání	38,5	38,5
Po 10 dnech	35,4	38,6
Po 20 dnech	27,7	38,3
Po 30 dnech	21,6	38,4
Po 60 dnech	17,3	38,3

Z uvedených výsledků vyplývá, že sušený hlávkový chmel lze uchovávat minimálně po dobu dvou měsíců při teplotě okolo 4 °C, aniž by došlo ke změnám v obsahu myrcenu ve vzorku. Skladováním při laboratorní teplotě se obsah výše uvedeného analytu rychle snižuje.

Protože budou ale reálné vzorky dodávány ve formě pelet, bylo by vhodné ověřit stabilitu v tomto materiálu. Během doby trvání práce byl k dispozici od Oddělení chmele pouze sušený hlávkový chmel.

Validační parametry

Opakovatelnost

Výpočet opakovatelnosti byl proveden pomocí software EffiValidation 3.0 - Opakovatelnost – po úrovních z vícenásobného měření. Opakovatelnost byla stanovena pouze na jedné koncentrační hladině, což odráží skutečnost, že obsahy myrcenu a farnesenu se v reálných vzorcích chmele, odrůdy ŽPČ kořenného pohybují pouze v úzkém, specifickém koncentračním rozsahu. Vzorek ŽPČ ve formě pelet dodalo Oddělení chmele a certifikace produktů.

Ve vybraném vzorku chmelové silice byl v šesti opakováních stanoven výše popsanou metodou obsah myrcenu a farnesenu. Byla vypočítána směrodatná odchylka (s) a relativní směrodatná odchylka (s_R), které jsou statistickou mírou přesnosti (opakovatelnosti). Ze směrodatné odchylky měření byla vypočítána povolená diference paralelních stanovení R_{max} , tj. maximální rozpětí, které lze ještě vysvětlit přítomností náhodných chyb (23).

$$R_{\max} = a_s \cdot s,$$

kde a_s je tabelovaný koeficient pro dvě měření a hladinu významnosti $\alpha = 0,05$, jehož hodnota je 2,77,

s směrodatná odchylka z vícenásobných měření jednoho vzorku.

Tabulka 5. Opakovatelnost měření a maximální diference dvou paralelních stanovení.

Analyt	Popis vzorku	Počet opakování	Průměr (%)	Opakovatelnost (% abs.)	Rel. opakovatel. (%)	R_{\max} (% abs.)
myrcen	ŽPČ-pelety	6	50,783	0,5845	1,15	1,619
β -farnesen	ŽPČ-pelety	6	19,700	0,2757	1,40	0,764

Z tabulky 5 vyplývá, že opakovatelnost stanovení pro myrcen a β -farnesen je akceptovatelná a odpovídá koncentrační hladině, v níž se dané látky v chmelové silici vyskytují.

Pro zápis výsledků do Labsystému je vložena pro povolenou diferenci dvou paralelních stanovení hodnota 1,5 % rel. pro stanovení myrcenu a 2 % rel. pro stanovení β -farnesenu.

Správnost

V současné době nejsou pořádány žádné mezilaboratorní porovnávací zkoušky na stanovení myrcenu a β -farnesenu, ani obecně chmelových silic a není dostupný žádný CRM chmelových silic. Správnost metody na stanovení obsahu myrcenu a β -farnesenu v této silici byla proto ověřena metodou standardního přídatku s použitím testu výtěžnosti.

Při ověřování správnosti metodou standardního přídatku se postupovalo následovně. K přesné navážce vzorku bylo vždy přidáno definované množství standardu myrcenu a β -farnesenu tak, aby byla připravena řada vzorků na třech koncentračních hladinách, pokrývající požadovaný rozsah. Na každé z hladin byly připraveny vzorky ve třech opakováních. Získané výsledky stanovení byly vyhodnoceny v programu EffiValidation 3.0 - Správnost - Velký koncentrační rozsah - slepý pokus není k dispozici. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách 6 a 7.

Tabulka 6. Ověření správnosti metody stanovení myrcenu v chmelové silici.

Popis	Přídavek	Naměřeno	Výtěžnost	Přesnost	Interval spolehlivosti	Hypotéza
Výchozí vz.	0	0	0	0,000153	-0,00346 – 0,00346	Přijata
Přídavek 1	0,100	0,108	108,11	0,01528	0,0834 – 0,1326	Přijata
Přídavek 2	0,200	0,1913	95,67	0,00577	0,18176 – 0,20091	Přijata
Přídavek 3	0,300	19,5133	97,60	0,39119	0,28176 – 0,30091	Přijata
Závěr: Analytická metoda poskytuje statisticky správné výsledky.						

Tabulka 7. Ověření správnosti metody stanovení β -farnesenu v chmelové silici.

Popis	Přídavek	Naměřeno	Výtěžnost	Přesnost	Interval spolehlivosti	Hypotéza
Výchozí vz.	0	0	0	0,00252	-0,0057 – 0,0057	Přijata
Přídavek 1	0,115	0,1237	107,54	0,01528	0,09885 – 0,14848	Přijata
Přídavek 2	0,230	0,2203	95,80	0,01000	0,20381 – 0,23686	Přijata
Přídavek 3	0,460	0,437	95,00	0,02517	0,39646 – 0,47754	Přijata
Závěr: Analytická metoda poskytuje statisticky správné výsledky.						

Z výsledků v tabulkách 6 a 7 vyplývá, že popsaná analytická metoda poskytuje správné výsledky.

Meze detekce a stanovitelnosti

Pro stanovení detekčních limitů byl použit program EffiValidation 3.0 - Stanovení ze signálu slepého pokusu v chromatografii.

Připravená řada kalibračních roztoků (koncentrace v rozmezí 1 mg/ml až 5 mg/ml myrcenu, resp. β -farnesenu v hexanu) byla změřena na GC za podmínek metody. Z kalibračních závislostí výška píku – koncentrace byly pomocí chromatografického řídicího software Clarity vypočítány jejich směrnice, stejně tak i hodnota maximálního kolísání základní linie (velikost šumu).

Ze směrnice kalibrační přímky a hodnot maximálního kolísání základní linie byly vypočítány meze detekce a stanovitelnosti, které jsou shrnuty v tabulce 8.

Tabulka 8. Meze detekce a stanovitelnosti.

Parametr		Myrcen	Farnesen
Směrnice kalibr. přímky	b_1	1029,6	1115,1
Korelační koeficient	R^2	0,9985	0,9943
Max. kolísání zákl.linie	h_{max} (mV)	0,052	0,110
Koncentrace na mezi detekce	x_D (mg/ml)	0,006	0,012
	x_D (%)	0,06	0,12
Koncentrace na mezi stanovitelnosti	x_Q (mg/ml)	0,0204	0,0396
	x_Q (%)	0,21	0,40

Za výše popsaných podmínek metody je mez detekce myrcenu 0,06 % a β -farnesenu 0,12 %.
Mez stanovitelnosti 0,21 % u myrcenu 0,40 % u β -farnesenu ve vzorku.

Nejistota stanovení

Relativní standardní nejistota a relativní rozšířená nejistota nebyly k datu stanoveny z důvodu absence paralelních měření reálných vzorků.

Jakmile budou tato data k dispozici, nejistota bude následně vypočtena pomocí programu EffiValidation 3.0 (4.0) - Nejistoty z přesnosti - paralelní měření k dispozici. Pro výpočet rozšířené nejistoty bude použit faktor pokrytí 2.

4 Závěr

Byla připravena a validována metoda na stanovení obsahu myrcenu a β -farnesenu v chmelové silici u odrůdy Žatecký poloraný červeňák s využitím GC-FID. Obsah těchto dvou silic je pro tuto chmelovou odrůdu specifický a spolu s dalšími charakteristickými znaky budou využity k prokázání pravosti odrůdy.

Byly optimalizovány podmínky pro měření na GC tak, aby v případě požadavku bylo možné stanovit i další složky silice. Pro měření byla použita kapilární kolona ZB-5 s nepolární stacionární fází na bázi dimethylpolysiloxanu s 5 % fenylu.

Bylo prokázáno, že sušený hlávkový chmel lze uchovávat minimálně po dobu dvou měsíců při teplotě okolo 4 °C, aniž by došlo ke změnám v obsahu myrcenu a β -farnesenu ve vzorku. Skladováním při laboratorní teplotě se obsahy výše uvedených silic rychle snižují, ještě rychlejší degradaci podléhají po úpravě mletím.

Stabilitu myrcenu je nutné ještě ověřit na chmelových peletách, které bude jako reálné vzorky dodávat do laboratoře Oddělení chmele a certifikace produktů.

Po ukončení optimalizace metody byla metoda validována. Byla stanovena opakovatelnost, linearita, správnost a meze detekce a stanovitelnosti, nejistota nebyla zatím stanovena z důvodu absence paralelních stanovení reálných vzorků a bude dopočítána po získání jejich dostatečného množství.

5 Literatura

1. KROFTA, K. a MIKYŠKA, A., 2014: Beta kyseliny chmele, význam a využití. *Kvasný průmysl* 60, č.4, 96-105 s.
2. ČEPIČKA, J. a KUBÍČEK J., 2000: Chmel a chmelové výrobky, s. 127-133. In: KOSAŘ, K. (ed.), *Technologie výroby sladu a piva*. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 398 s. ISBN 80-902-6586-3.
3. KADLEC, P., 2002: *Technologie potravin II: technologie potravin*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, Monografie (Key Publishing). 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
4. ALMAGUER, C., SCHÖNBERGER, C., GASTL, M., ARENDT, E. K. a BECKER, T., 2014. *Humulus lupulus – a story that begs to be told*. A review. *Journal of the Institute of Brewing*. 120[4], 289-314, ISSN 20500416
5. PREEDY, V.R., 2011. *Beer in Health and Disease Prevention*. Elsevier Science. ISBN 9780080920498.

6. NESVADBA, V., POLONČÍKOVÁ, Z., HENYCHOVÁ, A., KROFTA, K., PATZAK J., 2012. *Atlas českých odrůd chmele*. CHI Žatec. ISBN 978-80-87357-11-8.
7. KREJČA, Jindřich; KRESÁNEK, Jaroslav. *Atlas léčivých rostlin a lesných plodov*. Martin: Osveta, n.p, 1982. 70-010-82. S. 768.
8. HEJNÝ, S.; SLAVÍK (EDS), B. *Květena ČSR, díl 1*. Praha: Academia, 1988.
9. ČEPIČKA, J., DOSTÁLEK, P., KARABÍN, M.: Polyfenolové látky chmele, Chmelařská ročenka – Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a.s. a Svaz pěstitelů chmele ČR 2003, str. 200-205, ISBN: 80-86576-06-X.
10. CHINERY, Michael: *Flóra a fauna Evropy*. Praha: Slovart, 1998.
11. NESVADBA, V. a kol.: Vývoj a tradice českých odrůd chmele, Chmelařský institut Žatec 2013, str. 8-28, ISBN: 978-80-87357-11-8
12. KOSAR, K., PROCHÁZKA, S.: Technologie výroby sladu a piva, VÚPS Praha 2000, str. 398, ISBN: 80-902658-6-3.
13. DOMIN, K., PODPĚRA, J.: Klíč k úplné květeně ČSSR, Promberger Olomouc 1928, str. 1084.
14. HAŠKOVCOVÁ, P.: Bakalářská práce : Technologie pěstování chmele a vliv elicitorů na výnos a kvalitu produktů. Jeho potravinářské i nepotravinářské využití, JU Č. Budějovice-Zemědělská fakulta, 2016
15. JURČÁK, J., et al. *Qualitatively anatomic characteristics of vegetative organs of juvenile hop plant (Humulus lupulus L.), the family Cannabaceae*. Scientia Agriculturae Bohemica (Czech Republic), 2007.
16. ČESKÝ CHMEL - TRADICE KVALITY, 2015. *Historie pěstování chmele*[online]. [cit. 2015-11-18]. Dostupné z WWW: http://www.czhops.cz/index.php?option=com_content&view=article&id=57&Itemid=58&lang=cs
17. <https://cs.wikipedia.org/wiki/Chmela%C5%99stv%C3%AD>
18. http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/hnojeni_plodin/pdf/chmel.pdf
19. DOBEŠOVÁ, K.: Bakalářská práce: Technologicky významné chemické látky chmele, UTB Zlín-Fakulta technologická, 2010
20. https://www.salviaparadise.cz/herbar-rostlin-chmel-otacivy-humulus-lupulus-c-736_792.html
21. POKORNÁ, T. : Diplomová práce : Chmelové silice a možnosti jejich využití, MU Brno-Fakulta agronomická, 2015
22. ZLOCHOVÁ, T. : Bakalářská práce : Stanovení senzorycky aktivních látek ve chmelu metodou GC-MS, UK Praha, Přírodovědecká fakulta, 2017.
23. Eckschlager, K., Horsák, I.: Dovolenaá diference výsledků paralelních stanovení. *Vyhodnocování analytických výsledků a metod*, 1. vydání, SNTL Praha, 1980
24. Centner, V.: Uživatelská příručka EffiValidation 3.0

Ověření možnosti použití snížených navážek při stanovení Mehlich 3

Václav Rypl, Iveta Dvořáková, Martina Foltýnová

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Oddělení NRL Plzeň

Slovanská alej 20, 326 00 Plzeň

vaclav.rypl@ukzuz.cz

1 Úvod

Cílem práce bylo ověřit možnost snížení množství používaných chemikálií při stanoveních pro agrochemické zkoušení zemědělských půd (AZZP) z ekologických a ekonomických důvodů. Dále byly prověřeny možnosti zefektivnění těchto stanovení pomocí dostupné moderní instrumentace.

Stanovených cílů lze dosáhnout pomocí snížení navážek vzorků a tomu i úměrné snížení přidávaných činidel při extrakci pomocí Mehlich 3 a stanovení makro a mikroprvků a dále při stanovení pH a extrakci pomocí CaCl_2 . V rámci zefektivnění byla prověřena možnost použití vah s automatickým přenosem dat.

2 Materiál a metody

2.1 Použité vzorky

Pro testování extrakce pomocí Mehlich 3 a pro stanovení pH po extrakci pomocí CaCl_2 byly použity charakteristické vzorky zemědělských půd ČR, viz přílohy 1 a 2.

Pro otestování použitelnosti vah s přenosem dat byly použity náhodně vybrané vzorky.

2.2 Chemikálie

Viz

2.2.1 Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ – Analýza půd I, Postup 30068.1 - Příprava půdního extraktu podle Mehlicha 3.

2.2.2 Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ – Analýza půd I, Postup 30074.1 - Analýza extraktu podle Mehlicha 3 metodou ICP-OES.

2.2.3 Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ – Analýza půd I, Postup 30040.1 Stanovení výměnného pH půd extrakcí 0,01M CaCl₂.

2.3 Přístroje a pomůcky

2.3.1 ICP OES – Spectro Arcos 2.

2.3.2 Automat pro měření pH – firma Skalar - Analyzátor SP 2000 s pH metrem CONSORT multiparametr analyzer C3010.

2.3.3 Analytické váhy s možností přenosu dat.

2.3.4 Rotační třepačka (35 ± 5) ot/min.

2.3.5 Centrifuga – Rotanta 460.

2.3.6 Mechanická třepačka – IKA ® KS 260 basic.

3 Pracovní postup

Extrakce pomocí činidla Mehlich 3 a stanovení makro a mikroprvků

Na analytických vahách se do uzavíratelné plastové nádoby o objemu (200 – 400) ml naváží 10 g vzorku a přidá se 100 ml extrakčního činidla Mehlich 3. Vzorek se extrahuje 10 min na rotační třepačce a následně se odstředí 5 min při minimálně $rcf = 3000$ g.

Úprava postupu: Pro potřeby ověření bylo naváženo 5 g vzorku a přidáno 50 ml extrakčního činidla Mehlich 3. Další postup je stejný jako pro vyšší navážky.

Za těchto podmínek nebylo nutné měnit cokoli v současném vybavení ani postupu.

Měření bylo provedeno pomocí ICP OES.

Extrakce CaCl₂ a stanovení pH

Na analytických vahách se do vhodné nádoby naváží 10 g vzorku a přidá se 50 ml činidla CaCl₂. Vzorek se extrahuje na mechanické třepačce po dobu 60 min. Po extrakci se ponechá suspenze 1 h v klidu a po této době se měří.

Úprava postupu: Na analytických vahách se naváží 6 g vzorku a přidá se 30 ml činidla CaCl₂. Další postup je stejný jako pro vyšší navážky.

Měření bylo provedeno pomocí robotického pH automatu SKALAR.

Za těchto podmínek nebylo nutné měnit cokoliv v současném vybavení ani postupu.

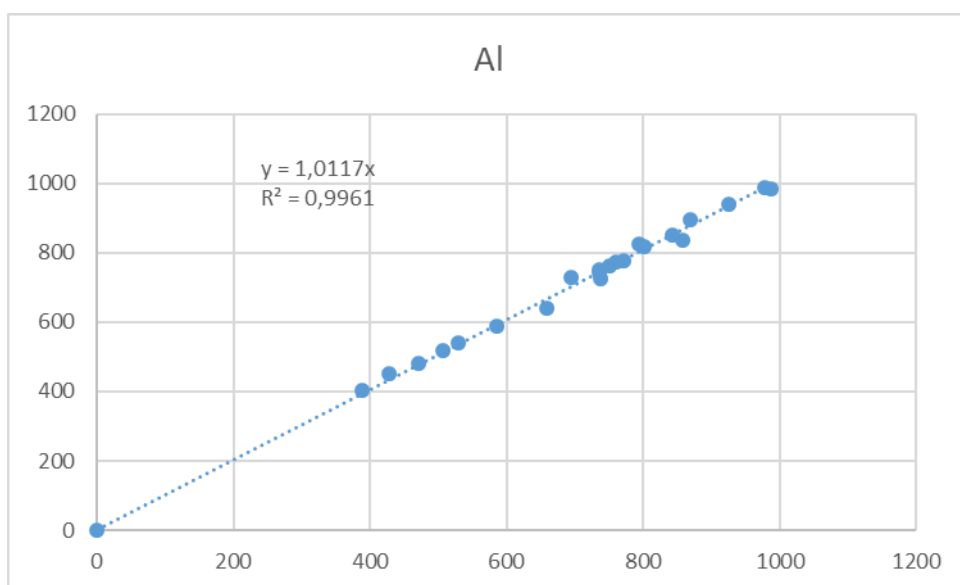
4 Výsledky a diskuse

Stanovení makro a mikroprvků – porovnání navážek 5 g a 10 g při extrakci M3

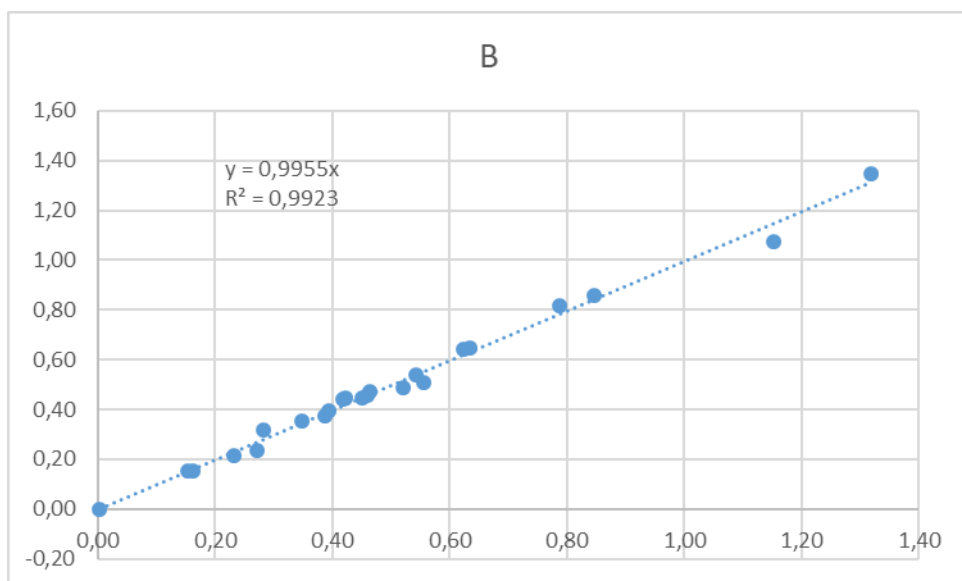
Grafické porovnání M3

Vzorky byly v autosampleru uspořádány tak, aby byly vždy těsně za sebou změřeny vzorky s navážkou 5 g a 10 g a tím se minimalizoval vliv driftu měřidla ICP OES.

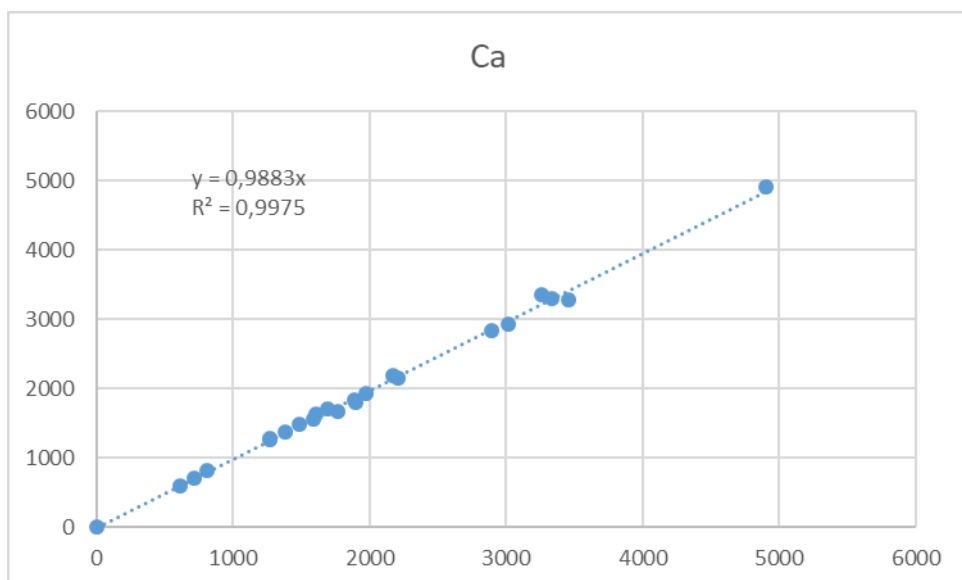
Naměřené hodnoty byly porovnány graficky. Na ose x jsou výsledky z 10g navážek, na ose y jsou výsledky z 5g navážek. Výsledky jsou v mg/kg.



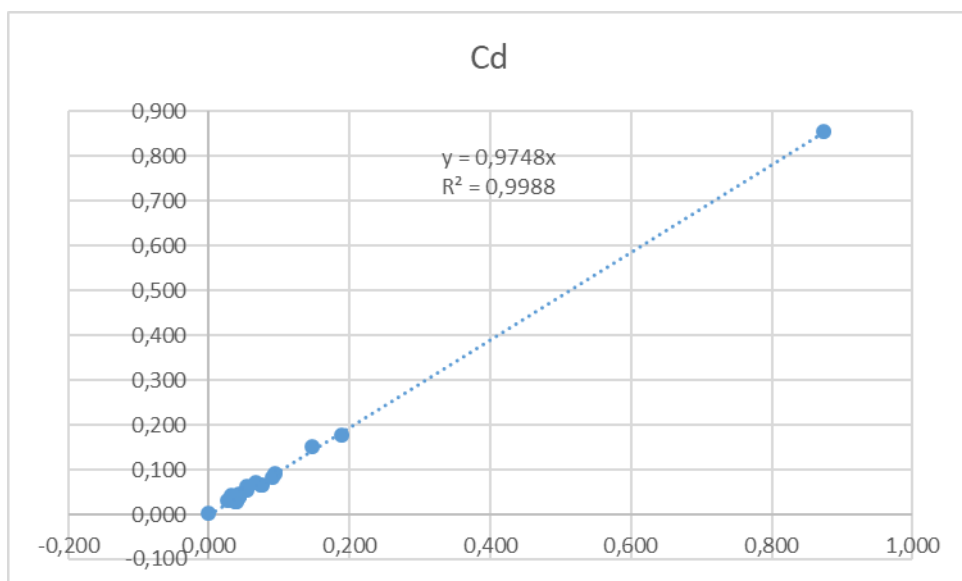
Obrázek 1. Stanovení hliníku.



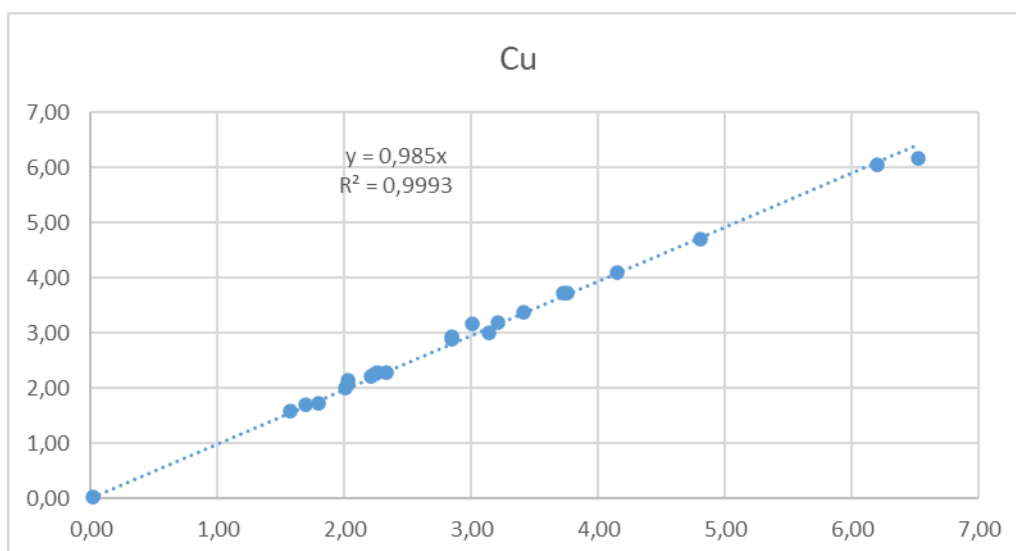
Obrázek 2. Stanovení boru.



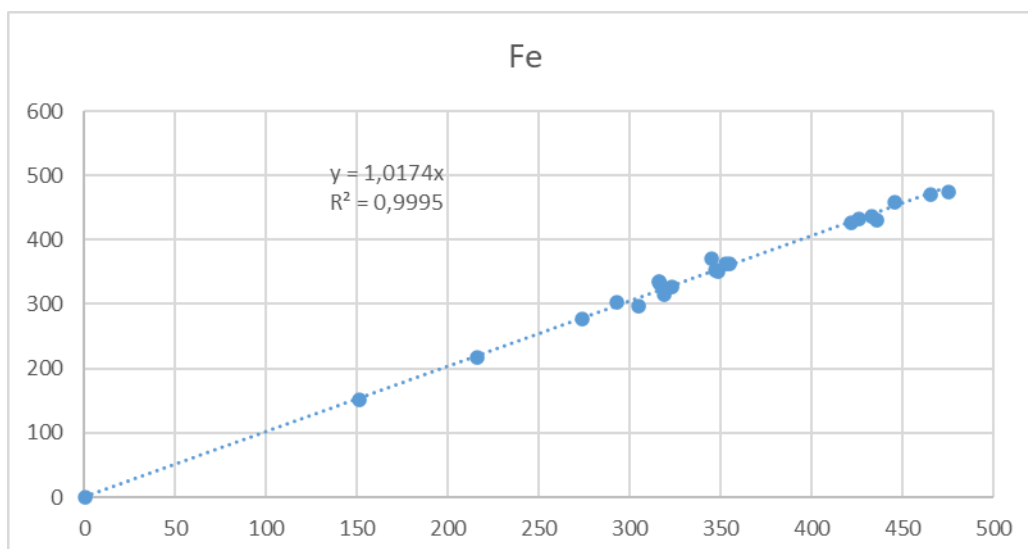
Obrázek 3. Stanovení vápníku.



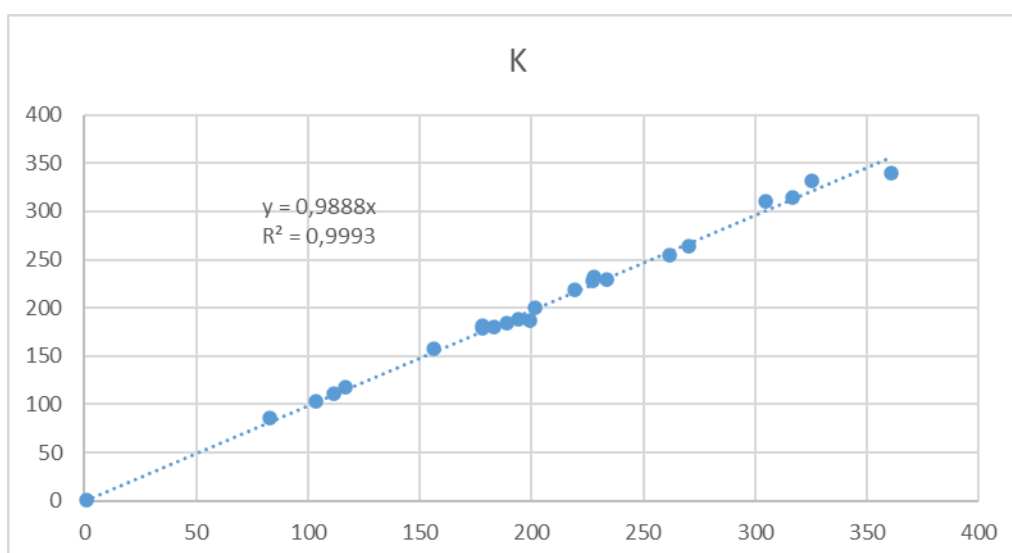
Obrázek 4. Stanovení kadmia.



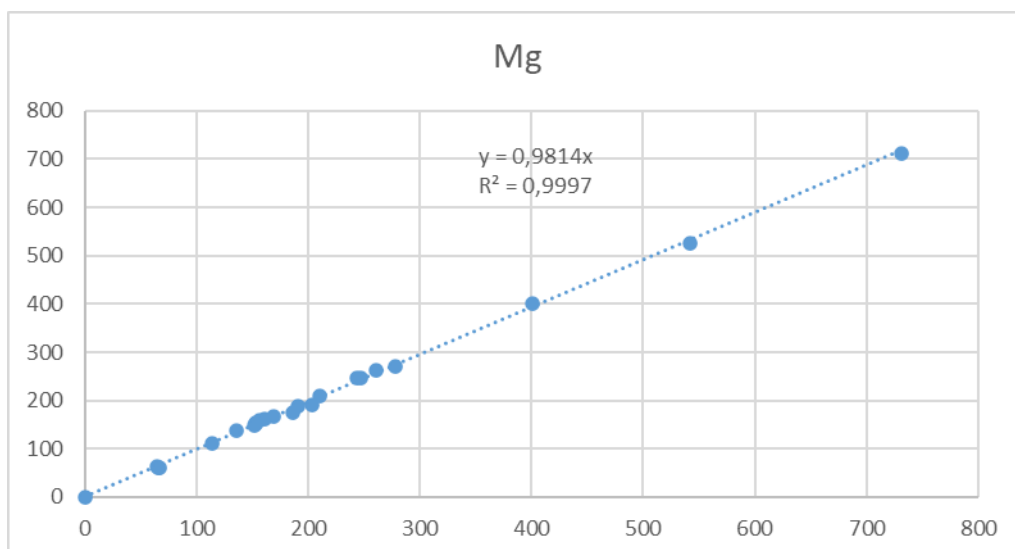
Obrázek 5. Stanovení mědi.



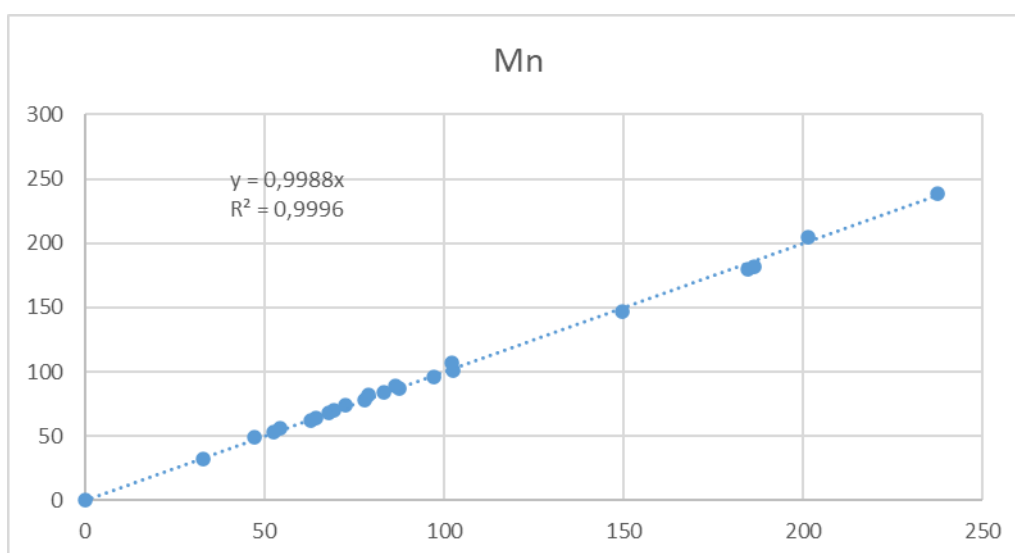
Obrázek 6. Stanovení železa.



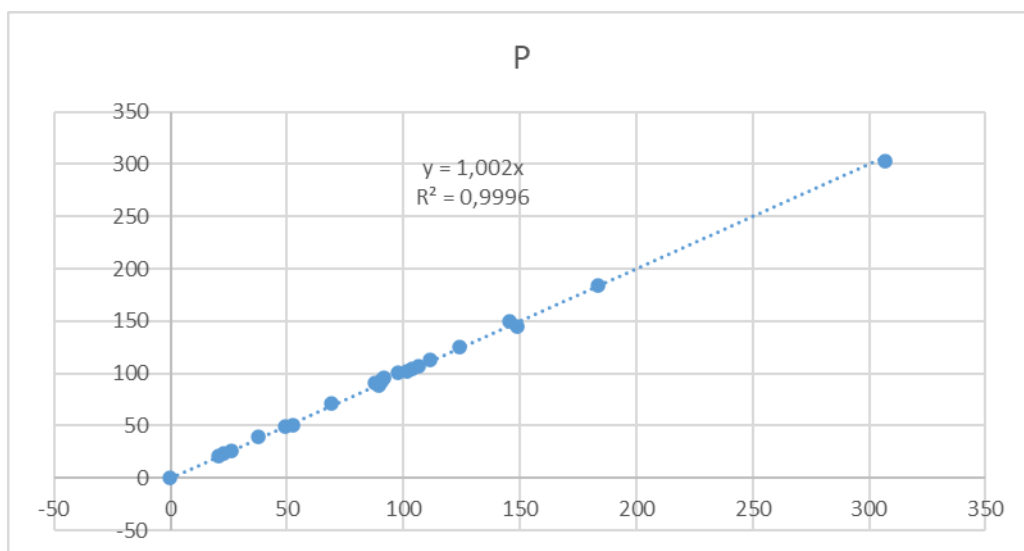
Obrázek 7. Stanovení draslíku.



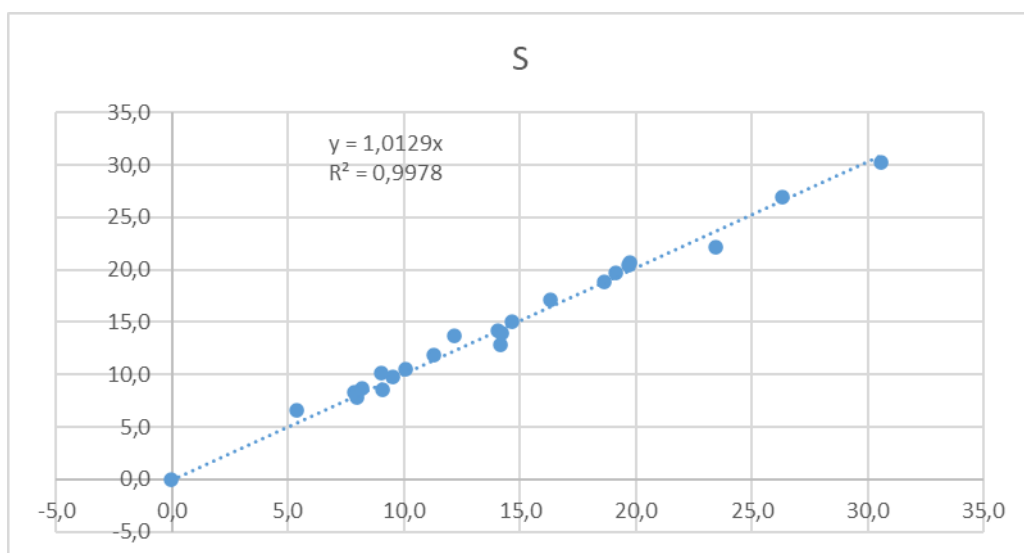
Obrázek 8. Stanovení hořčíku.



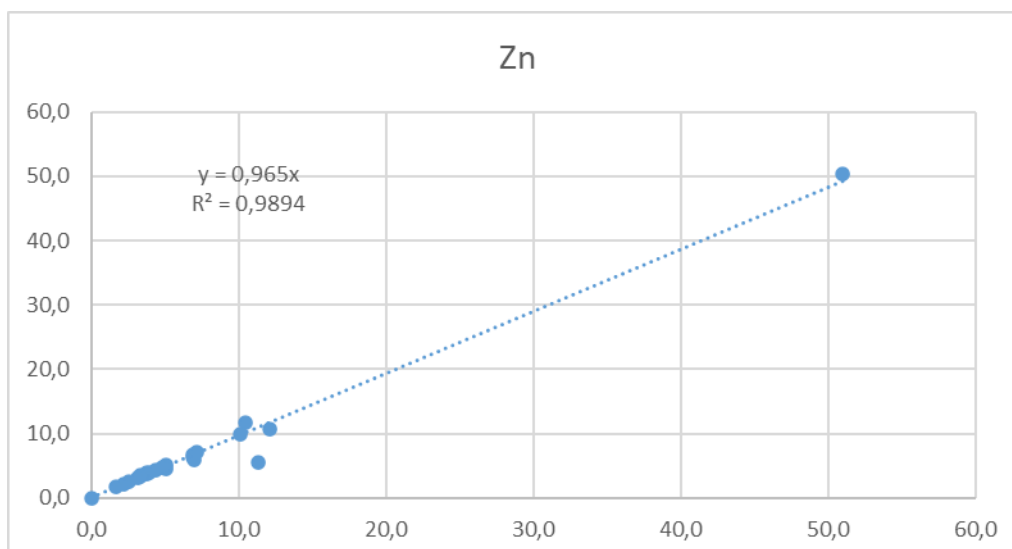
Obrázek 9. Stanovení manganu.



Obrázek 10. Stanovení fosforu.



Obrázek 11. Stanovení síry.



Obrázek 12. Stanovení zinku.

Porovnání dvouvýběrovým párovým t-testem (M3)

Al	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	696,284	687,3598
Rozptyl	50489,08	50429,34
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,998132	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	3,117081	
P(T ≤=t) (1)	0,00251	
t krit (1)	1,717144	
P(T ≤=t) (2)	0,00502	
t krit (2)	2,073873	

Hypotéza o shodnosti středních hodnot byla zamítnuta na hladině $\alpha = 5 \%$.

AI	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	696,284	687,3598
Rozptyl	50489,08	50429,34
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,998132	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	3,117081	
P(T<=t) (1)	0,00251	
t krit (1)	2,508325	
P(T<=t) (2)	0,00502	
t krit (2)	2,818756	

Hypotéza o shodnosti středních hodnot byla zamítnuta na hladině $\alpha = 1 \%$.

B	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	0,49743	0,494922
Rozptyl	0,0933115	0,093474
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,9961287	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	0,4472421	
P(T<=t) (1)	0,3295363	
t krit (1)	1,7171444	
P(T<=t) (2)	0,6590726	
t krit (2)	2,0738731	

Ca	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	1964,995	1941,839
Rozptyl	1226538	1202073
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,998762	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,985046	
P(T<=t) (1)	0,029873	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,059746	
t krit (2)	2,073873	

Cd	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	0,094482	0,092282
Rozptyl	0,030578	0,029053
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,999401	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,419829	
P(T<=t) (1)	0,084837	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,169673	
t krit (2)	2,073873	

Cu	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	2,948813	2,925493
Rozptyl	2,167342	1,982405
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,998628	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,129208	
P(T<=t) (1)	0,135487	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,270973	
t krit (2)	2,073873	

Fe	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Stř. hodnota	340,0101	333,9569
Rozptyl	11824,53	11523,22
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,997177	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	3,524265	
P(T<=t) (1)	0,000955	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,00191	
t krit (2)	2,073873	

Hypotéza o shodnosti středních hodnot byla zamítnuta na hladině $\alpha = 5 \%$.

Fe	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	340,0101	333,9569
Rozptyl	11824,53	11523,22
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,997177	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	3,524265	
P(T<=t) (1)	0,000955	
t krit (1)	2,508325	
P(T<=t) (2)	0,00191	
t krit (2)	2,818756	

Hypotéza o shodnosti středních hodnot byla zamítnuta na hladině $\alpha = 1 \%$.

K	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	201,8561	199,9364
Rozptyl	7208,551	6939,022
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,997688	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,550299	
P(T<=t) (1)	0,067669	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,135337	
t krit (2)	2,073873	

Mg	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	212,37553	208,9031
Rozptyl	25768,6	24632,47
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,9995348	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	2,7659809	
P(T<=t) (1)	0,005636	
t krit (1)	1,7171444	
P(T<=t) (2)	0,011272	
t krit (2)	2,0738731	

Hypotéza o shodnosti středních hodnot byla zamítnuta na hladině $\alpha = 5 \%$.

Mg	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	212,37553	208,9031
Rozptyl	25768,6	24632,47
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,9995348	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	2,7659809	
P(T<=t) (1)	0,005636	
t krit (1)	2,5083246	
P(T<=t) (2)	0,011272	
t krit (2)	2,8187561	

Hypotéza o shodnosti středních hodnot přijata na hladině $\alpha = 1 \%$.

Mn	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	95,84235	95,66161
Rozptyl	3319,834	3382,077
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,99924	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	0,373593	
P(T<=t) (1)	0,356141	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,712283	
t krit (2)	2,073873	

P	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	94,49722	93,83703
Rozptyl	4116,024	4188,011
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,999517	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,522294	
P(T<=t) (1)	0,07109	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,142181	
t krit (2)	2,073873	

S	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	14,27267	13,97434
Rozptyl	48,88117	50,49125
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,994938	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,99168	
P(T<=t) (1)	0,029482	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,058964	
t krit (2)	2,073873	

Zn	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	7,404015	7,000989
Rozptyl	100,3131	97,11966
Pozorování	23	23
Pears. korelace	0,99203	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	22	
t Stat	1,528463	
P(T<=t) (1)	0,070325	
t krit (1)	1,717144	
P(T<=t) (2)	0,140649	
t krit (2)	2,073873	

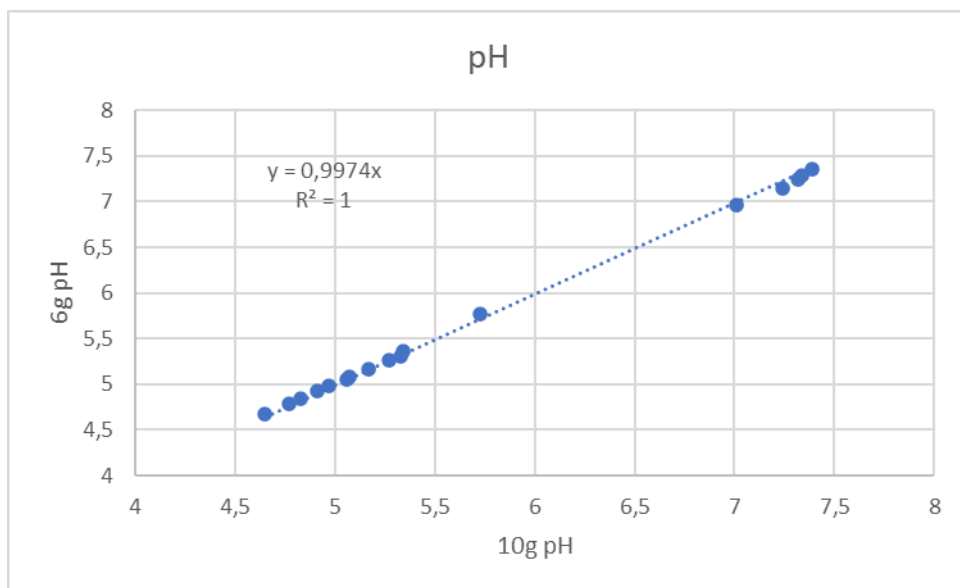
Dvouvýběrový párový t-test prokázal shodu výsledků při změně navážek z 10 g na 5 g při zachování stejného poměru objem/navážka tj. 10, to znamená pro 10g navážky přídavek 100 ml činidla M3 a pro 5g navážky přídavek 50 ml činidla M3. Výjimku tvoří výsledky Al a Fe, kde shoda nebyla prokázána. Vzhledem k tomu, že z grafického porovnání plyne, že Fe má směrnici 1,0174 při $R^2 = 0,9995$ a Al má směrnici 1,0117 při $R^2 = 0,9996$, lze prohlásit, že shoda těchto dat je dostačující pro použití stanovení AZZP jako screeningové metody i při navážce 5 g. Prokázaná odchylka je menší než 2 %, což je méně než teoretická nejistota stanovení na ICP OES, tj. 5 %.

V případě Zn je situace jiná. Dvouvýběrový párový t-test sice prokázal shodu výsledků, ale z grafického porovnání je zřejmé, že v těchto datech se rozdíly nacházejí. Tyto rozdíly lze přičíst nehomogenitě vzorků, protože se nacházejí i při rutinních stanoveních AZZP s využitím 10g navážek při kontrolách pomocí „Duplicity“.

Stanovení pH porovnání navážek

Pro úsporu chemikálií bylo navrženo snížení navážek z 10 g na 6 g a tomu úměrné snížení objemu extrakčního činidla CaCl_2 z 50 ml na 30 ml. Měření bylo prováděno na automatickém zařízení pro měření pH od firmy SKALAR a ukázalo se, že původně zvažovaná varianta 5 g vzorku a 25 ml činidla není možná. V měřicí nádobce bylo málo kapaliny a přístroj nedokázal korektně doměřovat vzorky a vracel chybová hlášení. Při objemu 30 ml se už tyto potíže téměř nevyskytovaly.

Porovnání navážek stanovení pH graficky



Obrázek 13. Stanovení pH.

Párový dvouvýběrový t-test na střední hodnotu (pH)

pH	<i>Soubor 1</i>	<i>Soubor 2</i>
Střední hodnota	5,729412	5,72
Rozptyl	1,104006	1,034362
Pozorování	17	17
Pears. korelace	0,999803	
Hyp. rozdíl stř. hodnot	0	
Rozdíl	16	
t Stat	0,983801	
P(T<=t) (1)	0,169929	
t krit (1)	1,745884	
P(T<=t) (2)	0,339857	
t krit (2)	2,119905	

Z výsledků je zřejmé, že metoda poskytuje shodné výsledky i při snížené navážce na 6 g vzorku a přidavku 30 ml extrakčního činidla.

Ověření použití vah s automatickým přenosem dat

Při navažování bylo měřeno, za jak dlouho lze navážít 40 vzorků a jaký vliv má použití vah s automatickým přenosem dat při použití nepřesné navážky, ale v toleranci 4 až 6 gramů. Smyslem bylo zjistit nejrychlejší možné navažování a odhalit případné rezervy v procesu zpracování vzorku. Porovnány byly výsledky dvou laborantů.

Tabulka 1. Časy potřebné pro navážení 40 vzorků AZZP.

	1. laborant	2. laborant	1. laborant	2. laborant
	10 g	10 g	4 g až 6g	4 g až 6 g
	0:10:17	0:12:13	0:09:15	0:10:15
	0:10:08	0:12:11	0:08:24	0:09:37
	0:10:51	0:12:02	0:08:10	0:09:00
	0:10:46	0:11:56	0:07:30	0:08:56
	0:10:34	0:11:17	0:07:42	0:08:24
Průměr (min)	0:10:31	0:11:56	0:08:12	0:09:14
Rozdíly (min)	0:02:19	0:02:41		
Rozdíly (%)	22,0	22,5		
Vypočtený celkový čas na sérii 200 vzorků	0:52:36	0:59:39	0:41:01	0:46:12

Celkový obvyklý skutečný čas na navážení série 200 vzorků činí přibližně 1 h 35 min. Zřejmý nesoulad mezi skutečnou (01:35) a vypočtenou (00:52) hodnotou (1. laborant) je způsoben množstvím dalších potřebných manipulačních kroků se vzorky, jako je přenášení přepravek se vzorky, navažování kontrolních vzorků a jejich výběr z přepravek s již zpracovanými vzorky apod. Tyto kroky musejí být provedeny, a tak budou vždy tvořit třetinu až polovinu celkového potřebného času na navažování. Přibližně 10% úspora času (asi 10 min na sérii) tak nepředstavuje podstatný přínos pro zrychlení navažování velkých sérií pro stanovení AZZP (extrakce M3 a extrakce pro stanovení pH) a navýšení kapacity laboratoře. Váhy s přenosem dat se uplatní zejména u metod, kde je potřebné provedení většího množství dílčích vážení a současně operace s těmito čísly jako např. stanovení sušiny apod.

4 Závěr

Pro stanovení mikro a makro elementů v extraktu Mehlich 3 je možné použít postup se sníženou navázkou na 5 g a přídavkem činidla 50 ml bez jakékoliv další změny v postupu. Tím lze ušetřit významné množství chemikálií a zároveň i snížit spotřebu kontrolních vzorků.

Při stanovení pH je možné snížit navázkou až na 6 g a tedy přídavek extrakčního činidla CaCl_2 na 30 ml. Z hlediska úspory chemikálií a z hlediska produktivity se takový postup nejeví příliš významný, významná může být jen úspora kontrolních vzorků.

Využití vah s přenosem dat není v této metodě efektivní.

5 Přílohy

Příloha 1

Tabulka 1. Vzorčky pro stanovení prvků pomocí ICP OES v extraktu Mehlich 3.

Číslo vzorku	Druh půdy	Klíč
7212	těžká	CB-34866-1-2019-94
7229	těžká	CB-34866-1-2019-111
7249	lehká	CB-34866-1-2019-131
7253	lehká	CB-34866-1-2019-135
7262	těžká	CB-34866-1-2019-144
7274	těžká	CB-34866-1-2019-156
7283	střední	CB-34866-1-2019-165
11249	střední	PB-48088-1-2019-154
11786	střední	PB-34035-1-2019-145
11787	těžká	PB-34035-1-2019-146
16789	střední	DO-76667-2-2019-9
16817	těžká	DO-76667-2-2019-37
16820	střední	DO-76667-2-2019-40
16821	střední	DO-76667-2-2019-41
17043	střední	CH-86683-2-2019-19
17169	těžká	CH-86683-2-2019-145
17237	střední	CH-86683-2-2019-213
17260	těžká	CH-51027-3-2019-20
IRM 5513F		Interní referenční materiál
IRM 5617E		Interní referenční materiál
IRM 5621G		Interní referenční materiál
IRM 5594B		Interní referenční materiál

Příloha 2

Tabulka č. 1. Vzorky pro ověření nižší navážky při stanovení pH.

č.vz.	Původ vz. text	Druh půdy	Klíč
38	AZP : PZ-81736-1-2019 : MILAN KORMUNDA	střední	PZ-81736-1-2019-38
43	AZP : PZ-21210-1-2019 : VÁCLAV VRBSKÝ	střední	PZ-21210-1-2019-43
105	AZP : PZ-46278-1-2019 : JIŘÍ BLAŽEK	střední	PZ-46278-1-2019-105
170	AZP : PZ-21238-1-2019 : JIŘÍ SUCHÝ	střední	PZ-21238-1-2019-170
680	AZP : BN-84353-1-2019 : FRANTIŠEK HARVAN	střední	BN-84353-1-2019-252
681	AZP : BN-84353-1-2019 : FRANTIŠEK HARVAN	lehká	BN-84353-1-2019-253
682	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	střední	BN-26278-1-2019-254
683	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	střední	BN-26278-1-2019-255
684	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	střední	BN-26278-1-2019-256
685	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	lehká	BN-26278-1-2019-257
686	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	střední	BN-26278-1-2019-258
687	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	střední	BN-26278-1-2019-259
688	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	lehká	BN-26278-1-2019-260
689	AZP : BN-26278-1-2019 : Zemědělská a obchodní společnost, spol. s r.o., zkráceně ZOS, spol. s r.o.	střední	BN-26278-1-2019-261

Ověření přepočítávacích koeficientů mezi Cox a TOC

David Čížmár

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský
ONRL Brno, Hroznová 2, 603 00 Brno
david.cizmar@ukzuz.cz

1 Úvod

Norma pro stanovení Cox po oxidaci chromsírovou směsí bude z bezpečnostních a environmentálních důvodů zrušena. V mnoha laboratořích se proto přechází na stanovení celkového organického uhlíku (TOC) pomocí elementárních analyzátorů. Cílem práce je nalezení matematického vztahu mezi původním parametrem Cox a parametrem TOC, který byl stanoven měřením vzorků půd metodou NIR spektroskopie.

2 Přístroje a pomůcky

Přístroj FT-NIR spektrometr Nicolet-Antaris (Thermo Scientific, USA)

Základní charakteristika přístroje

Zdroj záření: Quartz-halogenový NearIR zdroj bílého světla s vysokou energií a dlouhou životností.

Rozsah vlnových délek: (1000 – 2500) nm.

Detektor: InGaAs.

Ovládací software: Result Integration 6.0, TQ Analyst 6.0 (Thermo Scientific, USA).

Ostatní přístroje

Laboratorní mlýnek Retsch RM-200.

Laboratorní síto o velikosti ok 0,25 mm.

Křemenná kyveta o průměru 3 cm.

3 Materiál a metody

Princip stanovení metodou NIR spektroskopie

Vytvoření NIR kalibračního modelu pro daný parametr spočívá ve vztažení informace získané absorpcí v NIR oblasti s hodnotou stanovenou laboratorní referenční metodou (LRM) do vzájemného poměru a získání regresní závislosti.

Stanovení metodou NIR spektroskopie

Pro vytvoření přesného NIR kalibračního modelu je obecně základním požadavkem dostatečný počet analyzovaných vzorků. Rozsah analyzovaných půdních vzorků laboratorními metodami (LRM) je mimořádný. ÚKZÚZ je v rámci ČR ojedinělým pracovištěm zaměřeným na tento typ laboratorního testování, a proto byl požadavek na množství vzorků pro vytvoření dostatečně robustních kalibračních modelů spolehlivě splněn.

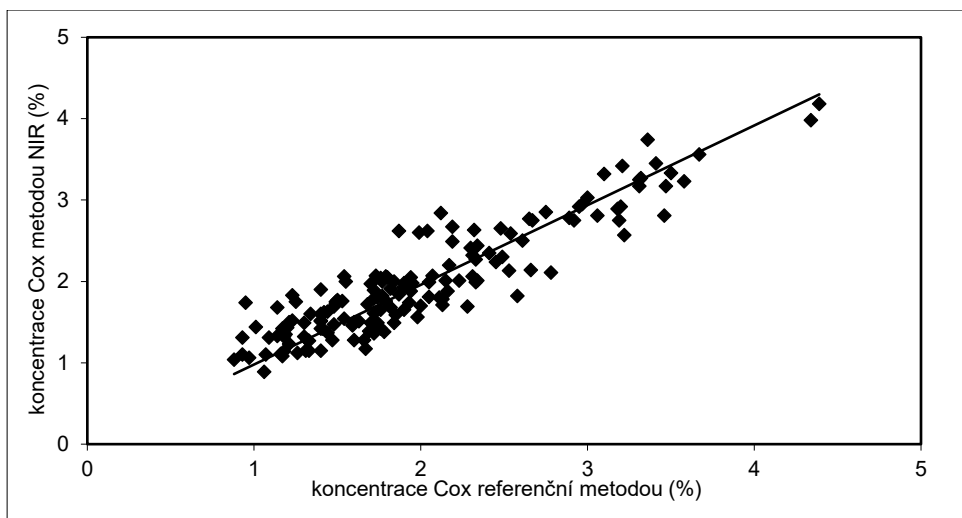
Na vybraném souboru vzorků půd byly vytvořeny NIR kalibrační modely pro stanovení parametrů Cox a TOC. Všechny vzorky byly před vlastním měřením upraveny mletím a prosety přes síto o velikosti ok 0,25 mm. Výsledné kalibrační modely jsou zobrazeny graficky na obrázcích 1 a 2 a kvalitativní parametry těchto modelů jsou sumárně shrnuty v tabulce 1.

V prvním kroku před vlastní regresní tvorbou kalibračního modelu byla na NIR spektra aplikována matematická korekce spekter SNV, která eliminuje vliv velikosti částic. Tento krok je velmi důležitý u vzorků, které před vlastní NIR analýzou prošly úpravou síťováním nebo pro vlastní měření NIR spektroskopii nebyly pomlety. Na takto upravených NIR spektrech pro všechny parametry byla provedena analýza hlavních komponent, která je vhodná pro detekci a určení odlehlých měření vzorků (spekter). Metodou hlavních komponent (PCA) byla identifikována odlehlá měření, ale současně bylo ověřeno, zda tímto vylučováním nebyly označeny důležité kalibrační vzorky, čímž by byla snížena robustnost vytvářeného kalibračního modelu.

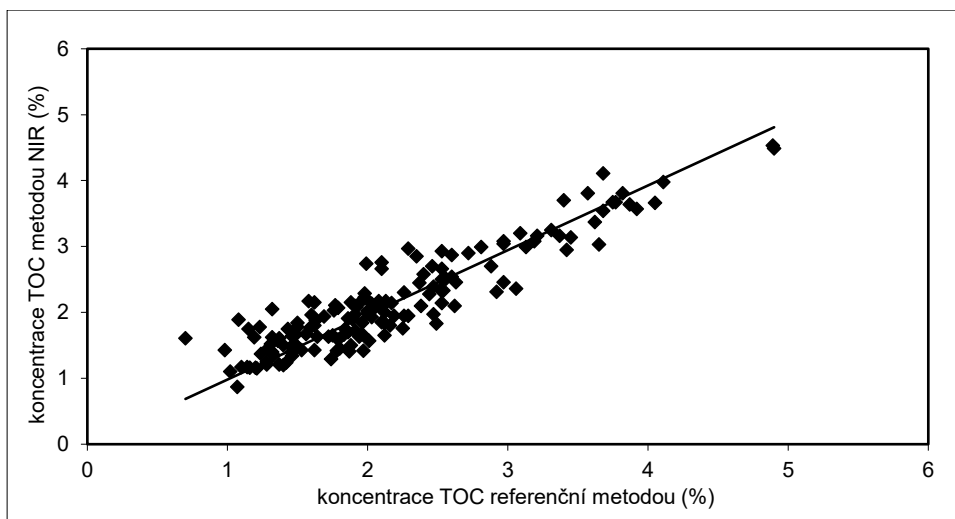
Tímto způsobem upravené kalibrační soubory pro stanovení vybraných parametrů v půdách po vyloučení odlehlých měření byly dále korigovány regresní metodou PLS. Následně byly jednotlivé kalibrační modely optimalizovány tak, aby poskytovaly co nejvyšší hodnotu

korelačního koeficientu R a zároveň co nejnižší střední kvadratickou chybu predikce RMSECV při optimálním počtu latentních proměnných (hlavních komponent) v modelu.

V průběhu tvorby kalibračního modelu byly rovněž vybrány vhodné vlnové délky a to takové, u kterých se absorpcí záření v NIR spektru projevila zřejmá korelace s laboratorní referenční hodnotou. Výsledkem optimalizace kalibračního modelu je získaný graf referenčních *versus* NIR predikovaných koncentrací (kalibrační závislost, kalibrační křivka) a hodnota střední kvadratické chyby predikce RMSECV a korelačního koeficientu R.



Obrázek 1. Kalibrační závislost Cox (%).



Obrázek 2. Kalibrační závislost TOC (%).

Tabulka 1. Kvalitativní parametry kalibračních modelů.

Parametr	N	Min	Max	R	RMSEC	RMSECV
Cox (%)	155	0,64	4,39	0,9138	0,30	0,38
TOC (%)	154	0,70	4,90	0,9241	0,31	0,39

Legenda:

N – počet vzorků v kalibračním modelu

Min – nejnižší koncentrace v kalibraci

Max – nejvyšší koncentrace v kalibraci

R – korelační koeficient

RMSEC – střední kvadratická chyba kalibrace

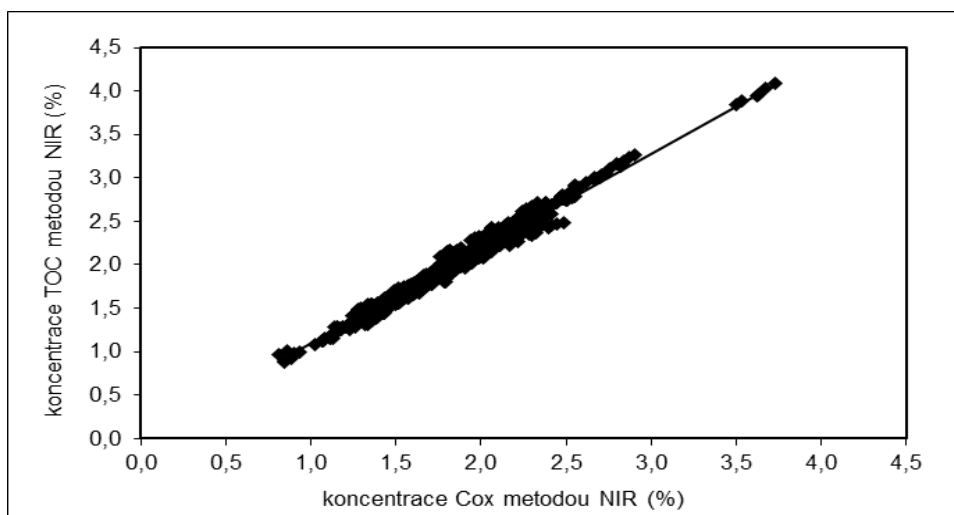
RMSECV – střední kvadratická chyba cross validace

4 Výsledky a diskuse

Na vybraném souboru vzorků půd pocházejících z odběrů AZZP z let 2020 a 2021 byl vypočten průměrný poměr mezi parametry Cox a TOC analyzovanými metodou NIR spektroskopie. Celkem bylo proměřeno 347 vzorků půd. Každý vzorek byl proměřen paralelně, tudíž bylo k dispozici 694 naměřených hodnot pro parametry Cox a TOC.

Matematickou lineární regresi byl vypočten poměr Cox/TOC. Lineární regrese je graficky znázorněna na Obrázku 3.

V tabulce 2 je zobrazena směrnice lineární regrese ve formě koeficientu poměru Cox/TOC.



Obrázek 3. Lineární regrese Cox/TOC.

Tabulka 2. Poměr Cox/TOC.

Rok	2020, 2021
Počet vzorků	694
Směrnice přímky	1,091

Z tabulky 2 je známá hodnota směrnice přímky, která je přepočítávacím faktorem mezi parametry Cox a TOC. Po zaokrouhlení je přepočet dán vztahem

$$\text{TOC} = \text{Cox} \times 1,09$$

$$\text{Cox} = \text{TOC} / 1,09$$

5 Závěr

Z výsledků prezentovaných ve formě kalibračních závislostí a hodnot kvalitativních parametrů vytvořených kalibračních modelů je zřejmé, že se podařilo vytvořit vhodné kalibrační modely pro stanovení obsahu Cox a TOC metodou NIR spektroskopie. Z důvodu možnosti zrušení stanovení parametru Cox laboratorní referenční metodou bylo důležité najít vztah pro parametry Cox a TOC a jejich následný dopočet z výsledků stanovených metodou NIR.

Tento poměr byl získán matematicky lineární regresí na rozsáhlém souboru vzorků půd pocházejících z AZZP pro roky 2020 a 2021. Tento poměr pro přepočtení byl vyčíslen na hodnotu 1,09.

6 Literatura

1. Eckschlager, K., Horsák, I., Kodejš, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. SNTL/ ALFA Praha, 1980
2. Jednotné pracovní postupy – Analýza půd III, ÚKZÚZ Brno 2011, ISBN 978-80-7401-044-6.

Bulletin Národní referenční laboratoře XXVI, 2022/2

Ročník: XXVI, č. 2

Vydal: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v roce 2022

Odpovědný redaktor: Ing. Iva Strížová

Počet stran: 49

Texty neprošly jazykovou úpravou.

ISSN 1801-9196