



## **Protokol o ověření technologie pro „Stanovení stupně zralosti jablek odrůd ‘Red Jonaprince’, ‘Gala’ a ‘Jonagored’ dle vnitřní kvality plodů pomocí přístrojů s NIR technologií (MicroPhazir, Antaris II)“**

Navržená technologie je výsledkem projektu TJ01000175 „Stanovení stupně zralosti plodů pomocí NIR spektroskopie“.

Zpracovatel technologie – příjemce veřejných prostředků:

**Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.**  
**Holovousy 129, Holovousy 508 01**  
**IČO 25271121**  
**DIČ CZ25271121**

### **Cíle a popis technologie**

NIR spektrometrie neboli spektrometrie v blízké infračervené oblasti („near-infrared spectroscopy“ – NIR spectroscopy) je metodou molekulové spektroskopie, která využívá spektrální oblast blízkého infračerveného záření, tj. oblast vlnových délek 800-2500 nm resp. vlnočtů  $12500-4000\text{ cm}^{-1}$ . NIR spektra jsou výsledkem interakce záření a jeho odrazu ze vzorku s ohledem na jeho fyzikální a chemické složení. Záření interaguje se skupinami molekul, které jsou spojovány s kvalitativními parametry, jako například skupina C-H v cukrech a kyselinách nebo O-H ve vodě. Následně je z těchto spekter a dat z klasických destruktivních metod sestaven model, který je schopen předpovídat obsah testovaných látek v daném ovoci nedestruktivně.

Pro stanovení stupně zralosti jablek odrůd ‘Red Jonaprince’, ‘Gala’ a ‘Jonagored’ byly vytvořeny softwary pro mobilní přístroj MicroPhazir a laboratorní přístroj Antaris II. Jedná se o soubor celkem 6 softwarů – kombinace jednotlivých odrůd a přístrojů. Tyto softwary jsou založené na principu nedestruktivního měření vnitřní kvality jablek pomocí NIR spektrometrie.

Na základě rozborů jablek pomocí standardních destruktivních metod byly vytvořeny kalibrační modely pro stanovení pevnosti dužniny (penetrace), obsahu pevných rozpustných látek (refrakce), množství titrovatelných kyselin (kyselost) a byla změřena hodnota pH. Každý z těchto kalibračních modelů dokáže nedestruktivně určit hodnotu příslušného parametru kvality. A na základě statistických a matematických výpočtů jsou tyto softwary následně



schopny určit výslednou kvalitu jablek na stupnici 1 (excelentní), 3 (dobré) a 5 (nevyhovující, viz Tabulka 1).

Tabulka 1 Interpretace výsledků softwarů

Kategorie		
1	Excelentní	Jablko ve špičkové kvalitě, plnohodnotné pro konzumenty
3	Dobré	Jablko ještě plně nedozrálé do ideální konzumní zralosti nebo Jablko mírně prošlé za svou ideální konzumní zralostí
5	Nevyhovující	Jablko nezralé nebo Jablko přezrálé s rozpadlou dužninou

### Ověření navrženého technologického postupu

Technologie stanovení stupňů zralosti byla ověřena u plodů odrůdy 'Red Jonaprince', 'Gala' a 'Jonagored'. Na začátku byly jednotlivé vzorky změřeny oběma přístroji MicroPhazir a Antaris II. Tím byly získány teoretické předpovídané hodnoty třídy jakosti a zralosti. Následovaly destruktivní metody stanovení parametrů vnitřní kvality. Pro stanovení pevnosti dužniny ( $\text{kg/cm}^2$ ) byl použit penetrometr firmy LLOYD, pro stanovení obsahu pevných rozpustných látek ( $^{\circ}$  Brix) refraktometr s označením ORD 45BM od firmy KERN optics a pro stanovení kyselosti (g/L) titrátor s využitím 0,1 mol/L hydroxidu sodného a pro měření pH pH-elektroda. Následně bylo provedeno sensorické hodnocení a skutečné zařazení vzorku do třídy jakosti a zralosti.

V tabulce 2 jsou uvedeny počty bodů respektive měření zahrnutých do kalibračního souboru jednotlivých metod pro všechny 3 odrůdy jablek a oba testované přístroje. Počet měření u parametru penetrace a refrakce je zhruba trojnásobný oproti měření kyselosti a pH z důvodu měření zmíněných parametrů na třech bodech jablka oproti použití vymačkané šťávy z celého plodu pro stanovení pH a kyselosti. V tabulce je taktéž uvedený počet měření, díky kterým byly jednotlivé metody validovány.

Tabulka 2 Počet bodů (měření) použitých do kalibrace při tvoření kalibračních modelů a počet měření použitých pro validaci hotových kalibračních modelů a software pro jednotlivé odrůdy a přístroje

Odrůda	Přístroj	Parametr		Penetrace	Refrakce	Kyselost	pH
		Soubor					
Gala	Antaris II	Kalibrace		3430	3483	1157	1164
		Validace		119	120	40	40
	MicroPhazir	Kalibrace		3166	3253	1083	1080
		Validace		119	120	40	40
Red Jonaprince	Antaris II	Kalibrace		3051	3057	1046	1027
		Validace		120	120	40	40
	MicroPhazir	Kalibrace		2893	2949	983	979
		Validace		120	120	40	40
Jonagored	Antaris II	Kalibrace		2929	3031	1001	995
		Validace		120	120	40	40
	MicroPhazir	Kalibrace		2643	2688	896	899
		Validace		120	120	40	40

V následujících tabulkách (3 – 14) jsou uvedeny přesnosti jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek pro jednotlivé odrůdy a přístroje a přesnosti zařazení jablek jednotlivých odrůd do správné třídy jakosti a zralosti jednotlivými přístroji.

Tabulka 3 Přesnost jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek odrůdy 'Gala' přístrojem **Antaris II**.

Sledovaný parametr	Průměrná odchylka [%]	Odchylka v jednotkách daných parametrů		
		Průměrná	Minimální	Maximální
Penetrace [kg/cm <sup>2</sup> ]	18,602	0,970	0,022	2,617
Refrakce [° Brix]	3,672	0,493	0,000	2,730
Kyselost [g/L]	16,562	0,461	0,008	1,674
pH	3,461	0,128	0,003	0,387



Tabulka 4 Přesnost zařazení jablka odrůdy 'Gala' do správné třídy jakosti a zralosti přístrojem **Antaris II**.

Zařazení jablek do tříd jakosti a zralosti	%
Správně zařazené kategorie	69,59
Záměna - třída 3 zařazena jako tř. 1 nebo třída 5 jako tř. 3 (posun o třídu nahoru)	12,85
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 3 nebo třída 3 jako tř. 5 (posun o třídu dolů)	5,64
Záměna – třída 5 zařazena jako tř. 1 (posun o dvě třídy nahoru)	5,96
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 5 (posun o dvě třídy dolů)	5,96

Tabulka 5 Přesnost jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek odrůdy 'Gala' přístrojem **MicroPhazir**.

Sledovaný parametr	Průměrná odchylka [%]	Odchylka v jednotkách daných parametrů		
		Průměrná	Minimální	Maximální
Penetrace [kg/cm <sup>2</sup> ]	21,017	1,088	0,009	3,557
Refrakce [° Brix]	6,566	0,865	0,000	2,900
Kyselost [g/L]	63,140	1,776	0,028	5,062
pH	15,669	0,577	0,001	2,021

Tabulka 6 Přesnost zařazení jablka odrůdy 'Gala' do správné třídy jakosti a zralosti přístrojem **MicroPhazir**.

Zařazení jablek do tříd jakosti a zralosti	%
Správně zařazené kategorie	55
Záměna - třída 3 zařazena jako tř. 1 nebo třída 5 jako tř. 3 (posun o třídu nahoru)	21,25
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 3 nebo třída 3 jako tř. 5 (posun o třídu dolů)	3,13
Záměna – třída 5 zařazena jako tř. 1 (posun o dvě třídy nahoru)	18,13
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 5 (posun o dvě třídy dolů)	2,5



Tabulka 7 Přesnost jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek odrůdy 'Red Jonaprince' přístrojem **Antaris II**.

Sledovaný parametr	Průměrná odchylka [%]	Odchylka v jednotkách daných parametrů		
		Průměrná	Minimální	Maximální
Penetrace [kg/cm <sup>2</sup> ]	15,266	0,704	0,007	2,403
Refrakce [° Brix]	3,521	0,501	0,010	3,521
Kyselost [g/L]	8,015	0,348	0,005	1,504
pH	5,706	0,184	0,008	0,398

Tabulka 8 Přesnost zařazení jablka 'Red Jonaprince' do správné třídy jakosti a zralosti přístrojem **Antaris II**.

Zařazení jablek do tříd jakosti a zralosti	%
Správně zařazené kategorie	77,5
Záměna - třída 3 zařazena jako tř. 1 nebo třída 5 jako tř. 3 (posun o třídu nahoru)	12,5
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 3 nebo třída 3 jako tř. 5 (posun o třídu dolů)	10
Záměna – třída 5 zařazena jako tř. 1 (posun o dvě třídy nahoru)	0
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 5 (posun o dvě třídy dolů)	0

Tabulka 9 Přesnost jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek odrůdy 'Red Jonaprince' přístrojem **MicroPhazir**.

Sledovaný parametr	Průměrná odchylka [%]	Odchylka v jednotkách daných parametrů		
		Průměrná	Minimální	Maximální
Penetrace [kg/cm <sup>2</sup> ]	26,283	1,038	0,011	2,857
Refrakce [° Brix]	4,659	0,662	0,000	2,520
Kyselost [g/L]	86,569	3,570	0,081	8,886
pH	19,675	0,632	0,010	2,841



Tabulka 10 Přesnost zařazení jablka 'Red Jonaprince' do správné třídy jakosti a zralosti přístrojem **MicroPhazir**.

Zařazení jablek do tříd jakosti a zralosti	%
Správně zařazené kategorie	72,5
Záměna - třída 3 zařazena jako tř. 1 nebo třída 5 jako tř. 3 (posun o třídu nahoru)	15,0
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 3 nebo třída 3 jako tř. 5 (posun o třídu dolů)	0
Záměna – třída 5 zařazena jako tř. 1 (posun o dvě třídy nahoru)	0
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 5 (posun o dvě třídy dolů)	12,5

Tabulka 11 Přesnost jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek odrůdy 'Jonagored' přístrojem **Antaris II**.

Sledovaný parametr	Průměrná odchylka [%]	Odchylka v jednotkách daných parametrů		
		Průměrná	Minimální	Maximální
Penetrace [kg/cm <sup>2</sup> ]	15,484	0,750	0,007	4,056
Refrakce [° Brix]	3,626	0,546	0,000	1,930
Kyselost [g/L]	8,826	0,348	0,008	1,022
pH	4,065	0,134	0,036	0,356

Tabulka 12 Přesnost zařazení jablka 'Jonagored' do správné třídy jakosti a zralosti přístrojem **Antaris II**.

Zařazení jablek do tříd jakosti a zralosti	%
Správně zařazené kategorie	80,48
Záměna - třída 3 zařazena jako tř. 1 nebo třída 5 jako tř. 3 (posun o třídu nahoru)	10,95
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 3 nebo třída 3 jako tř. 5 (posun o třídu dolů)	7,62
Záměna – třída 5 zařazena jako tř. 1 (posun o dvě třídy nahoru)	0,95
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 5 (posun o dvě třídy dolů)	0

Tabulka 13 Přesnost jednotlivých kalibračních modelů použitých pro predikci zralosti a kvality jablek odrůdy 'Jonagored' přístrojem **MicroPhazir**

Sledovaný parametr	Průměrná odchylka [%]	Odchylka v jednotkách daných parametrů		
		Průměrná	Minimální	Maximální
Penetrace [kg/cm <sup>2</sup> ]	28,0111	1,158	0,020	5,450
Refrakce [° Brix]	6,024	0,920	0,010	3,000
Kyselost [g/L]	58,926	2,384	0,018	9,242
pH	10,217	0,335	0,001	1,866

Tabulka 14 Přesnost zařazení jablka 'Jonagored' do správné třídy jakosti a zralosti přístrojem **MicroPhazir**.

Zařazení jablek do tříd jakosti a zralosti	%
Správně zařazené kategorie	57,5
Záměna - třída 3 zařazena jako tř. 1 nebo třída 5 jako tř. 3 (posun o třídu nahoru)	27,5
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 3 nebo třída 3 jako tř. 5 (posun o třídu dolů)	7,5
Záměna – třída 5 zařazena jako tř. 1 (posun o dvě třídy nahoru)	0
Záměna – třída 1 zařazena jako tř. 5 (posun o dvě třídy dolů)	7,5

### Předpokládaná aplikace navrženého technologického postupu

Velkou výhodou těchto technik je jejich nedestruktivnost, možný online proces a rychlost na rozdíl od klasických většinou destruktivních metod. Dále také nenáročnost přípravy vzorků, flexibilita, univerzálnost a schopnost měřit několik parametrů v jednom okamžiku. Proto je vhodná pro použití ve výrobním procesu. Rozvoji NIR spektrometrie pomohlo i vyvinutí ručního bateriového přístroje (MicroPhazir), který může být tím pádem použit i v terénu. Jeho největší výhody jsou malá velikost, nízká cena, robustnost a uživatelsky příjemné ovládání.

Technologie, doložená tímto protokolem, je nástrojem pro rychlé stanovení sklizňové a konzumní zralosti jablek. Je totiž vhodné danou odrůdu ovoce sklízet, tak aby došlo ke sklizni



plodů o vyrovnané vnitřní kvalitě (tzn. zabránění výskytu podtržených nezralých plodů, nebo naopak přezrálých a pro dlouhodobé skladování nevhodných plodů). Zároveň je možné po zjištění třídy jakosti stanovit i optimální čas vyskladnění ovoce ze skladů, tak aby se konzumentům dostávala nejvyšší možná jakost ovoce. Toto zefektivnění a optimalizování sklizně i vyskladnění má pozitivní dopady i na ekonomickou stránku pěstitelů, skladovatelů a prodejců.

V příloze je uvedena dohoda o využití výsledků uzavřená mezi VŠÚO Holovousy s.r.o. a firmami RMI, s.r.o. a Nicolet CZ s.r.o., nabízející zde využívané přístroje.

V Holovousích dne 20.12.2019

Hlavní řešitel: Ing. Martina Šubrtová.....

Mentor : Ing. Lubor Zelený.....

Jednatel VŠÚO Holovousy s.r.o.: Ing. Jaroslav Vácha .....





**Dohoda o využití výsledků**

uzavřená mezi

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.  
Holovousy 129, 508 01 Hořice, Česká republika  
(dále jen „Řešitel projektu“)

a

Nicolet CZ s.r.o.  
Klapálkova 2242/9, 14900 Praha 10, Česká republika  
(dále jen „Aplikační partner“)

**Článek 1: Preambule**

Stanovení stupně zralosti plodů jablek je zásadní kritérium pro správné načasování sklizně. Zralost lze stanovit několika způsoby, jako například snadnost odlomení stopky od plodonoše, škrobový test a nebo na základě zkušeností příslušného pracovníka. Avšak tyto metody nejsou s jistotou spolehlivé a přesné. A zároveň je pro stanovení nutné daný plod utrhnout a znehodnotit testováním. Proto je naším cílem vyvinout novou metodu, která bude přesnější, rychlejší a hlavně nedestruktivní. V jednom případě dokonce mobilní, kde by se s pomocí přístroje dalo měřit ovoce přímo v sadu na stromě. Pro účely této metody jsme zvolili za neoptimálnější metodu NIR spektroskopie. Kromě stupně zralosti lze touto metodou stanovit i některé vnitřní vady ovoce, které ho znehodnocují.

Cílem podávaného projektu je pomocí NIR spektroskopie vytvořit kalibrační soubor dat, na jehož základě bude možné z celého neporušeného plodu přesně určit stupeň zralosti. Kromě optimalizace sklizňového období bude tatáž metoda uplatněna i pro stanovení ideální či maximální doby vyskladnění jablek, tak aby konzumentům byly dodávány jen kvalitní suroviny. Tímto přístupem se zefektivní sklizení i vyskladňování ovoce, což bude mít za následek kladné ekonomické dopady pro pěstitele nebo skladovatele.

**Článek 2**

1. Aplikační partner tímto potvrzuje zájem o komercializaci a další využití výsledků projektu TJ01000175 zabývajícího se problematikou tvorby kalibračních modelů pro stanovení vnitřní kvality plodů jablek.
2. Tato dohoda písemně potvrzuje zájem Aplikačního partnera o využití výsledků (kalibračních software) vzniklých v případě řešení projektu.

Holovousy, 9.5.2017   
Ing. Jaroslav Vácha, jednatel VŠÚO Holovousy s.r.o.

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV  
OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.  
Holovousy 129  
508 01 Hořice v Podkrkonoší  
DIČ: CZ25271121  
ZÁPIS U KRAJSKÉHO SOUDU V HRADCI KRÁLOVÉ-ODDÍL C,  
VLOŽKA 11778

Praha, 9.5.2017   
RNDr. Ján Pásztor, jednatel Nicolet CZ s.r.o.

**Nicolet CZ s.r.o.**  
Klapálkova 2242/9, CZ - 149 00 Praha 4  
DIČ: CZ26422182  
www.nicoletcz.cz



**Dohoda o využití výsledků**

uzavřená mezi

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.  
Holovousy 129, 508 01 Hořice, Česká republika  
(dále jen „Řešitel projektu“)

a

RMI, s.r.o.

Pernštýnská 116, 533 41 Lázně Bohdaneč, Česká republika  
(dále jen „Aplikační partner“)

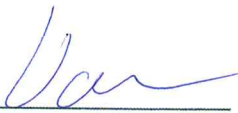
**Článek 1: Preambule**

Stanovení stupně zralosti plodů jablek je zásadní kritérium pro správné načasování sklizně. Zralost lze stanovit několika způsoby, jako například snadnost odlomení stopky od plodonoše, škrobový test a nebo na základě zkušeností příslušného pracovníka. Avšak tyto metody nejsou s jistotou spolehlivé a přesné. A zároveň je pro stanovení nutné daný plod utrhnout a znehodnotit testováním. Proto je naším cílem vyvinout novou metodu, která bude přesnější, rychlejší a hlavně nedestruktivní. V jednom případě dokonce mobilní, kde by se s pomocí přístroje dalo měřit ovoce přímo v sadu na stromě. Pro účely této metody jsme zvolili za nejoptimálnější metodu NIR spektroskopie. Kromě stupně zralosti lze touto metodou stanovit i některé vnitřní vady ovoce, které ho znehodnocují.


Cílem podávaného projektu je pomocí NIR spektroskopie vytvořit kalibrační soubor dat, na jehož základě bude možné z celého neporušeného plodu přesně určit stupeň zralosti. Kromě optimalizace sklizňového období bude tatáž metoda uplatněna i pro stanovení ideální či maximální doby vyskladnění jablek, tak aby konzumentům byly dodávány jen kvalitní suroviny. Tímto přístupem se zefektivní sklizení i vyskladňování ovoce, což bude mít za následek kladné ekonomické dopady pro pěstitele nebo skladovatele.

**Článek 2**

1. Aplikační partner tímto potvrzuje zájem o komercializaci a další využití výsledků projektu TJ01000175 zabývajícího se problematikou tvorby kalibračních modelů pro stanovení vnitřní kvality plodů jablek.
2. Tato dohoda písemně potvrzuje zájem Aplikačního partnera o využití výsledků (kalibračních software) vzniklých v případě řešení projektu.

Holovousy, 9.5.2017   
Ing. Jaroslav Vácha, jednatel VŠÚO Holovousy s.r.o.

VÝZKUMNÝ A ŠLECHTITELSKÝ ÚSTAV  
OVOCNÁŘSKÝ HOLOVOUSY s.r.o.  
Holovousy 129  
508 01 Hořice v Podkrkonoší  
DIČ: CZ25271121  
ZÁPIS U KRAJSKÉHO SOUDU V HRADCI KRÁLOVÉ-ODDÍL C,  
VLOŽKA 11778

9.5.2017   
Lázně Bohdaneč,  
Doc. Ing. Tomáš Černohorský, CSc., jednatel RMI s.r.o.

RMI, s.r.o.  
PERNŠTÝNSKÁ 116  
533 41 LÁZNĚ BOHDANEČ  
www.rmi.cz