

UPLATNĚNÍ NIR SPEKTROSKOPIE V ANALÝZE ČOKOLÁDY

JANA ČOPÍKOVÁ, MIROSLAVA NOVOTNÁ,
IRENA ŠMÍDOVÁ, ANDRYI SYNYTSYA
a MARCELA ČERNÁ

Ústav chemie a technologie sacharidů, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Technická 3/5, 166 28 Praha 6
e-mail: copikovj@vscht.cz

Došlo 26.8.02, přepracováno 20.3.03, přijato 29.5.03.

Klíčová slova: čokoláda, NIR spektroskopie, plynová chromatografie, kapalinová chromatografie, kalibrace, testace

Úvod

Infračervená spektroskopie v blízké infračervené spektrální oblasti ($12\ 000\text{--}4\ 000\ \text{cm}^{-1}$), dále jen NIR spektroskopie, zažívá v současnosti značný rozvoj. K širokému rozšíření blízké infračervené spektroskopie přispěla skutečnost, že je to metoda rychlá, nedestruktivní vůči vzorku a velmi nenáročná na jeho úpravu. Využívá spektrální oblast vyšších harmonických nebo kombinačních absorpčních pásů, ve které je sice přesné přiřazení absorpčního pásu danému typu vibrace v molekule obtížné, avšak jemné rozdíly chemické struktury velmi podobných látek jsou zvýrazněny. Ve spojení s chemometrickými a statistickými metodami vyhodnocení dat se tak dostává uživatelům silný nástroj především pro aplikaci ve vícerozkladové analýze kvalitativní i kvantitativní. Nevýhodou NIR spektroskopie je fakt, že to není přímá metoda, ale je nezbytná kalibrace rozsáhlými soubory vzorků, jejichž analytické hodnoty byly stanoveny nezávislými standardními metodami. Pokud jsou tyto běžně využívané analytické postupy pracné a časově náročné, potom využití NIR spektroskopie je značnou časovou i finanční úsporou.

Historický základ NIR spektroskopie byl položen v USA, kde se začalo po 2. světové válce vykupovat obilí podle jeho složení a obsahu vody. Možnost zpracovat velká množství vzorků a téměř okamžité výsledky analýz daly podnět k tomu, že tato instrumentální technika byla intenzivně studována a NIR spektrometry zaváděny do praxe¹.

V 70. letech 20. století se začaly vyrábět jednoduché NIR analyzátoři pro stanovení obsahu tuku, vlhkosti a bílkovin v různých potravinářských surovinách. Původně byly uplatňovány při analýze pšenice, mouky, sušeného mléka a kukuřičného škrobu. Postupně se použití NIR spektroskopie rozšiřovalo jak v zemědělství, tak v potravinářském průmyslu a samozřejmě i v ostatních průmyslových odvětvích. Dalším zlomem bylo zavedení infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací, jejíž výhody se uplatňují tam, kde končí možnosti spektroskopie disperzní. Ve spojení se vzorkovacími technikami využívajícími optická vlákna je NIR spektroskopie ideální metodou pro on-line analýzu v průběhu technologických procesů.

Rozšíření NIR spektroskopie by však nebylo možné bez současného rozvoje chemometrických metod a výkonné vý-

početní techniky, která umožňuje statisticky vyhodnotit snímaná spektra v korelaci s analyticko-chemickými a fyzikálními vlastnostmi měřených vzorků¹.

Analýza cukrovinek pomocí NIR spektroskopie

NIR spektroskopie je široce používána ke kontrole potravinářských surovin a produktů, avšak prací z oblasti analýzy čokolády a čokoládových cukrovinek je dosud uveřejněno jen velmi málo. Jedni z prvních, kdo se pokusili využít NIR spektroskopii při analýze výrobků z kakaových bobů, byli Permanyer a Perez², kteří kontrolovali analytickou kvalitu kakaového prášku.

Možností využití NIR spektroskopie k průběžné technologické kontrole při výrobě cukrovinek se zabývala ve své práci Kradjel³. Na základě interpretace NIR spekter navrhla využití této techniky při stanovení obsahu tuku a vlhkosti, příp. cukrů, v kakaových bobech a produktech z nich vyrobených.

Davies a spol.⁴ porovnávali sensorické vlastnosti čokoládových výrobků a NIR spektra surových kakaových bobů. Výsledky prokázaly, že náročnou senzorkou analýzu je možné nahradit vhodnou aplikací NIR spektroskopie. Možnostem on-line analýzy za použití NIR spektroskopie se věnoval Benson⁵. Zabýval se vícerozkladovou analýzou různých druhů potravin. Například úspěšně stanovil obsah tuku a vlhkosti v čokoládě.

Čopíková a spol.⁶ zkoumali možnost využití NIR spektroskopie jako rychlé analytické metody pro měření obsahu tuku a vlhkosti v různých typech čokolády a v tekutých čokoládových hmotách. Vytvořený kalibrační model byl úspěšný, vzhledem k méně rozsáhlému souboru vzorků se však nepodařilo výsledky úspěšně ověřit. Tarkošová a Čopíková⁷ se snažily využít NIR spektroskopii ke stanovení sacharosy, laktosy, vlhkosti, tuku, viskozity a hranice toku v čokoládách. Čokolády byly proměřovány při teplotě 40 °C. Validace byla úspěšná v případě stanovení cukrů, vlhkosti a tuku. Skutečnost, že NIR analýza neprobíhala současně s reologickým měřením, zřejmě způsobila, že validace pro fyzikální parametry „viskozita“ a „hranice toku“ nebyla úspěšná.

Bolliger, Windhab a Zeng⁸ sledovali krystalizaci kakaového másla v čokoládové hmotě probíhající v temperačním stroji s řízenou rychlostí míchání. Průběh krystalizace kakaového másla sledovali diferenciální skenovací kalorimetrií, reometricky a on-line NIR spektroskopii. Rychlost otáček míchadla v temperovacím stroji odpovídala průběhu krystalizace a tato změna, tj. změna viskozity a tudíž počtu krystalů, se projevila v NIR spektrech snímaných přímo v zařízení. Stupeň temperace čokoládových hmot měřili Shibata, Ono a Hirano⁹ rovněž NIR spektroskopii. Uspokojivých výsledků dosáhli při analýze pevných čokolád.

Předmětem tohoto článku je ověření možnosti stanovení obsahu tuku, sušiny a jednotlivých cukrů, tj. sacharosy a laktosy, v hořkých a mléčných čokoládách NIR spektroskopii. V rozmezí let 1995 až 1998 byly analyzovány na FTIR spektrometru Nicolet 740 (cit.¹⁰) dva soubory vzorků mléčných čokolád. Byla měřena spektra tabulkových čokolád. Přístroj byl kalibrován hodnotami obsahu sacharosy, laktosy, tuku a vlhkosti. Obsah cukrů byl stanoven plynovou chromatografií.

Na disperzním přístroji NIR System 6500 (cit.^{11,12}) byly

proměřovány tabulkové a roztavené hořké a mléčné čokolády, které byly zahrnuty do jednoho modelu. U těchto vzorků byl stanoven obsah cukrů kapalinovou chromatografií.

Experimentální část

Kalibrace přístroje Nicolet 740

Ke kalibraci přístroje Nicolet 740 (Nicolet Instruments Co., USA) bylo použito 51 vzorků mléčných čokolád, u kterých byla stanovena vlhkost sušením¹³, tuk po extrakci petroléterem¹⁴ a sacharosa a laktosa plynovou chromatografií (tabulka I). Měření na přístroji Nicolet 740 bylo uspořádáno tak, že byly proměřovány tabulky temperovaných čokolád.

Spektra v NIR spektrální oblasti v rozsahu vlnočtů 11 500–4 000 cm^{-1} byla získána na FTIR spektrometru Nicolet 740 s detektorem InSb a křemenným děličem paprsku, metodou difúzní reflektanční spektroskopie (DRIFTS) na nástavci fy. SpectraTech s úhlem dopadu na povrch vzorku 45°. Pozadí bylo stanoveno na leštěné ocelové zrcátko. Byly zvoleny tyto parametry měření: rozlišení 8 cm^{-1} , počet akumulovaných spekter 512, apodizace podle Happa a Genzela, vzorek byl proměřen dvakrát a do modelu byla zařazena všechna naměřená spektra. Infračervená spektra byla zpracována pomocí softwaru QuantIR, verze 1.0, (Nicolet Instruments, USA) s využitím kvantitativní chemometrické metody „částečných nejmenších čtverců“ (PLS).

Sacharosa a laktosa byly v kalibračním souboru vzorků stanoveny ve formě trimethylsilyletherů¹⁵ plynovou chromatografií (GLC). Měření probíhalo na plynovém chromatografu Chrom 5 (Labora, Praha) s náplňovou kolonou z nerazavějící oceli o rozměrech 1200×4 mm s nosičem Chromaton N/Super s 3 % fáze OV-17. Teplota byla zvyšována od 150 do 250 °C, s prodlevou 2 min při 150 a 250 °C a rychlostí ohřevu 10 °C.min⁻¹. Teplota nástřiku o objemu 1 μl byla 220 °C a teplota detektoru 200 °C. Průtok nosného plynu, dusíku, byl 30 ml.min⁻¹. Nejprve byly připraveny oximy cukrů, aby nevznikaly silylethery α - a β -anomerů. Oximy byly následně derivatizovány hexamethyldisilazanem za katalýzy kyselinou trifluoroctovou. Jako vnitřní standard byl použit fenyl β -D-glukopyranosid, který byl obsažen v oximačním činidle. Chromatografický záznam byl vyhodnocen integrátorem SP 440 (Spectra Physics, USA).

Kalibrace přístroje NIR System 6500

Ke kalibraci přístroje NIR System 6500 (Perstop Analytical Comp., USA) bylo použito 55 vzorků hořkých a mléčných čokolád, u kterých byl stanoven obsah sacharosy a laktosy kapalinovou chromatografií.

Přístroj NIR System 6500 je disperzní spektrometr vybavený mřížkovým monochromátorem, který měřil difúzně-reflektanční spektra čokolád v rozsahu vlnových délek 1100 až 2500 nm s rozlišením 2 nm. Jako zdroj záření slouží žárovka s wolframovým vláknem. Z měřících cel, kterými je přístroj vybaven, byla zvolena jako nevhodnější cela na měření vzorků s vysokým obsahem tuku nebo vlhkosti (high fat/moisture cup). Přístroj je jednopaprskový (systém scan standard/scan sample), pozadí bylo vztaženo k reflexanci keramického standardu. Počet akumulací spektra byl 16 a každý vzorek byl

Tabulka I

Obsah (%) vlhkosti, tuku, sacharosy a laktosy ve vzorcích čokolád v kalibračním a validačních souborech přístroje Nicolet 740

Parametr	Vlhkost	Tuk	Sacharosa	Laktosa
<i>Kalibrační soubor</i>				
Počet vzorků	51	51	51	51
Maximální, %	2,60	34,52	53,52	14,24
Minimální, %	0,44	29,96	36,00	6,90
Průměr, %	1,15	31,31	47,95	9,03
s^a	0,55	0,93	4,73	1,97
s_r^b , %	48,28	2,96	9,86	21,77
<i>1. Validační soubor</i>				
Počet vzorků	6	6	6	6
Maximální, %	1,5	34,33	50,3	14,3
Minimální, %	0,98	30,52	37,85	7,3
Průměr, %	1,28	31,75	44,46	10,47
s^a	0,16	1,35	5,17	2,48
s_r^b , %	12,29	4,26	11,63	23,70
<i>2. Validační soubor</i>				
Počet vzorků	–	–	10	10
Maximální, %	–	–	51,85	9,92
Minimální, %	–	–	46,99	8,13
Průměr, %	–	–	48,73	9,31
s^a	–	–	1,77	0,65
s_r^b , %	–	–	3,62	7,02

^a s – směrodatná odchylka souboru, ^b s_r – relativní směrodatná odchylka

proměřován celkem třikrát, přičemž všechna naměřená spektra byla zahrnuta do modelu.

Tabulky temperované čokolády (po krystalizaci kakaového másla ve stabilní formě) byly upraveny tak, aby mohly být vloženy do polyethylenových kyvet (sáčků), které jsou v příslušenství přístroje. Vzorky v kyvetách byly postupně proměřovány v měřící cele přístroje. Tímto způsobem bylo proměřeno 50 vzorků. Vzorky v sáčcích pak byly roztaveny při teplotě 50 °C po dobu 12 h. Po vytemperování na 30 °C byla ihned proměřena jejich spektra v roztaveném stavu. Tímto způsobem bylo proměřeno 44 roztavených vzorků z původních 50. Všechna spektra tabulkových čokolád a jejich tavenin byla zahrnuta do jednoho kalibračního souboru.

Spektra byla vyhodnocena softwarem NIRS3 (Infrasoft International, USA). Při kalibraci byly ověřeny metody MPLS (modifikovaná metoda nejmenších čtverců) a ANN (metoda umělých neuronových sítí).

Sacharosa a laktosa byly stanoveny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) na kapalinovém chromatografu sestaveném z čerpadla mobilní fáze Constametric 3200 (Thermo Separation Products, USA), předkolony 3×30 mm (SGX NH₂ 5 μm , Tessek, ČR), analytické kolony 4×250 mm (Separon SGX NH₂ 5 μm , Tessek, ČR), diferenciálního refraktometru RefractoMonitor IV (Thermo Separation Products,

USA). Jako mobilní fáze byla použita směs acetonitrilu a vody (75:25 obj.%). Vzorek rozstrouhané čokolády o hmotnosti 2 g byl suspendován za stálého míchání po dobu 15 minut při teplotě 30 °C ve 20 ml dimethylsulfoxidu. Potom byl objem suspenze upraven na objem 100 ml 80% ethanolem. Vzniklá suspenze byla přefiltrována přes papírový filtr a přes membránový filtr s velikostí pórů 0,45 μm . Na kolonu bylo dávkováno 20 μl přefiltrovaného extraktu vzorku. Chromatogramy byly vyhodnoceny programem CSW 1.6 (Data Apex, ČR).

Diskuse

I když se jednotlivé pásy v NIR spektroskopii běžně neinterpretují, je zajímavé porovnat spektra hořké a mléčné čokolády a jejich surovin, která byla naměřena na spektrometru Nicolet 740. Na obr. 1 jsou uvedena spektra hořké čokolády a dvou důležitých složek čokolád, sacharosy a kakaového másla. Na obr. 2 jsou uvedena spektra mléčné čokolády, kakaového másla, sacharosy a laktosy. Na všech spektrech čokolád lze pozorovat ostrý vyšší harmonický absorpční pás o vlnočtu 6964 cm^{-1} (vlnová délka 1436 nm)¹⁶ odpovídající sacharose. Ostré pásy při vlnočtu kolem 5790 cm^{-1} (vlnová délka 1727 nm) a 5676 cm^{-1} (vlnová délka 1762 nm) přísluší tuku¹⁶. V oblasti nad 5000 cm^{-1} (2000 nm) absorbují bílkoviny, tuky a cukry, proto by podrobná interpretace kombinací a vyšších harmonických absorpčních pásů byla zavádějící. V této oblasti se také nacházejí rozdíly v NIR spektrech tabulkové a roztavené čokolády.

Tabulka I představuje kalibrační a validační soubory pro přístroj Nicolet 740. K hodnocení kalibrace přístroje Nicolet 740 byl použit parametr předpokládaná chyba PEr, což je odchylka mezi analytickou (kalibrační) hodnotou a vypočtenou hodnotou pomocí regresního modelu vyjádřená v procentech (QuantIR, verze 1.0, Nicolet Instruments Co., USA). Absolutní hodnota procentuální odchylky Abs(PER) by měla být přibližně stejná jako je hodnota relativní směrodatné odchylky s_r analytické metody, která byla použita ke stanovení určité složky (tabulka II).

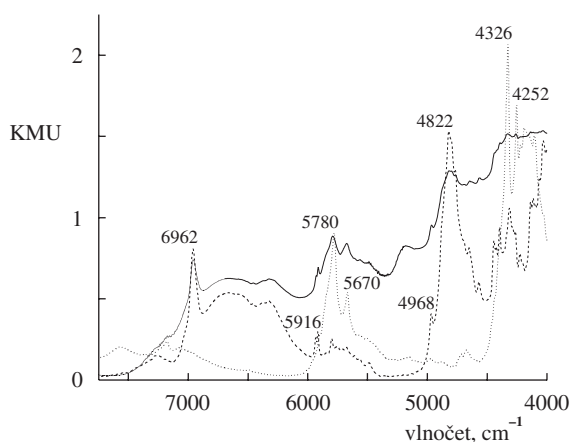
Kalibrace NIR spektrometru Nicolet 740 byla současně

ověřena validačním souborem 6 vzorků (tabulka III). Rozdíl mezi analyticky zjištěnou hodnotou a vypočtenou hodnotou vyjadřuje konkrétní absolutní hodnota procentuální odchylky. Z tabulek II a III vyplývá, že stanovení vlhkosti čokolády NIR spektrometrií nebylo úspěšné. To je celkem v souladu s předpokladem. Obsah vlhkosti v čokoládě je malý (průměrná hodnota 1,15 %) a rozptyl hodnot u validačního souboru byl úzký (0,52 %). Naopak využití NIR spektroskopie pro stanovení obsahu tuku, sacharosy a laktosy se jeví jako reálné. Tyto závěry, s výjimkou stanovení vlhkosti, jsou v souladu s výsledky uveřejněnými v literatuře a získanými měřeními na přístroji Nicolet Avatar 360N (cit.⁷).

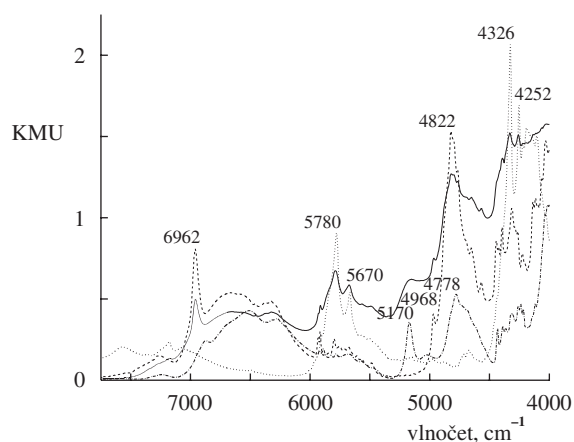
Popsaná kalibrace pro složky sacharosa a laktosa u spektrometru Nicolet 740 byla ověřována na souboru 10 vzorků mléčných čokolád s delším časovým odstupem 7 let. Kalibrační model byl tentokrát hodnocen na základě nejistoty¹⁷, což jsou hranice, v nichž je výsledek považován za správný, tj. přesný a pravdivý (tabulka IV). Z porovnání hodnot nejistoty vyplývá, že ověření kalibrace pro parametry „sacharosa“ a „laktosa“ bylo úspěšné. Hodnoty získané plynovou chromatografií a NIR spektroskopii u těchto vzorků byly také porovnány podle směrnic regresních přímek k a korelačních koefi-

Tabulka II
Relativní směrodatné odchylky s_r vybraných analytických metod

Složka	Analytická metoda	s_r metody [%]
Tuk	ČSN 560146, část 4	0,44
Sacharosa v mléčné čokoládě	GLC	2,29
Laktosa v mléčné čokoládě	GLC	2,85
Sacharosa v mléčné čokoládě	HPLC	0,77
Laktosa v mléčné čokoládě	HPLC	1,35
Sacharosa v hořké čokoládě	HPLC	0,15
Vlhkost	ČSN 560146, část 3	3,56



Obr. 1. NIR spektra sacharosy (---), kakaového másla (...) a hořké čokolády (—); KMU – jednotka Kubelka-Munk



Obr. 2. NIR spektra sacharosy (---), laktosy (---), kakaového másla (...) a mléčné čokolády (—); KMU – viz obr. 1

Tabulka III

Ověření kalibrace spektrometru Nicolet 740 pro sacharosu, laktosu, tuk a vlhkost

Vzorek	Sacharosa			Laktosa			Tuk			Vlhkost		
	GLC ^a	NIR ^a	Abs(PEr) ^b	GLC ^a	NIR ^a	Abs(PEr) ^b	NMR ^a	NIR ^a	Abs(PEr) ^b	sušení ^a	NIR ^a	Abs(PEr) ^b
1	50,3	49,81	0,98	8,29	8,43	1,71	30,58	30,37	0,67	0,98	1,09	10,82
2	48,82	49,05	0,48	7,30	7,25	0,67	30,52	30,55	0,10	1,36	1,32	2,89
3	38,06	38,60	1,43	13,08	13,43	2,70	31,79	32,51	2,25	1,28	1,35	5,74
4	37,85	36,97	2,32	14,30	13,62	4,73	32,48	31,00	3,63	1,50	1,39	7,28
5	42,82	42,58	0,57	10,05	9,97	0,83	34,33	34,24	0,25	1,33	1,38	3,44
6	48,93	48,82	0,84	9,79	9,37	4,27	30,80	30,37	1,41	1,24	1,17	5,94

^a Obsah složek v %, ^b Abs(PEr) absolutní hodnota procentuální odchylky

Tabulka IV

Ověření kalibrace spektrometru Nicolet 740 pro sacharosu a laktosu (v %)

Vzorek	Sacharosa			Laktosa		
	GLC	NIR	nejistota	GLC	NIR	nejistota
1	47,33	47,39	0,38	9,65	9,42	0,18
2	47,23	47,20	0,34	9,60	9,34	0,15
3	46,99	47,14	0,25	8,13	8,42	0,21
4	47,01	46,98	0,39	8,14	8,42	0,20
5	48,74	48,39	0,32	9,10	8,92	0,18
6	47,76	47,00	0,39	9,08	9,41	0,20
7	49,27	48,94	0,36	9,81	9,03	0,17
8	49,25	48,98	0,41	9,79	9,12	0,16
9	51,85	52,05	0,40	9,91	9,15	0,20
10	51,85	51,98	0,39	9,92	9,49	0,19
k^a		1,00			0,96	
r^b		0,99			0,91	

^a k směrnice regresní přímky, ^b r korelační koeficient

cientů r (tabulka IV). Oba parametry se pro sacharosu i laktosu blíží hodnotě jedna.

Při kalibraci přístroje NIR System 6500 byly využity první derivace NIR spekter vzorků, jejichž obsah sacharosu a laktosu je shrnut v tabulce V. Pro odstranění vlivu rozptylu záření byl použit postup SNVD (standard normal variate and detrend). Tato úprava omezuje vliv velikosti částic a odstraňuje lineární a kvadratická zakřivení ve spektrech. Protože kalibrační model vytvořený pomocí algoritmu MPLS (modifikovaná metoda nejmenších čtverců) neposkytl uspokojující kalibrační výsledky, byl použit algoritmus ANN (metoda umělých neuronových sítí). Výsledky kalibrace přístroje NIR System 6500 jsou uvedeny v tabulce VI. Korelační koeficienty r u metody ANN mají vyšší hodnotu než u metody MPLS a standardní chyba kalibrace (SEC) je u metody ANN nižší. Kalibrační koeficient variace (CCV) pro laktosu u metody MPLS je 6,93 %, takže přesahuje hranici (5 %) pro velmi spolehlivou kalibraci. Tentýž koeficient pro sacharosu u metody MPLS je na hranici velmi spolehlivé kalibrace ($CCV = 5,05$ %). Kalibrační model vytvořený algoritmem ANN má

Tabulka V

Obsah cukrů (%) v tabulkových čokoládách stanovený pomocí HPLC

Parametr	Sacharosa	Laktosa
Počet vzorků	50	50
Minimální, %	37,58	4,47
Maximální, %	55,56	9,17
Průměr, %	47,51	6,76
s	3,79	1,29
s_r	7,98	19,08

Tabulka VI

Kalibrační výsledky pro stanovení cukrů v čokoládě získané algoritmy MPLS (modifikovaná metoda nejmenších čtverců) a ANN (metoda umělých neuronových sítí) na přístroji NIR System 6500

Složka	n^a	Průměr [%]	r	SEC^b [%]	CCV^c [%]
MPLS					
Sacharosa	94	47,51	0,78	2,40	5,05
Laktosa	67	6,76	0,93	0,47	6,93
AAN					
Sacharosa	92	47,43	0,95	1,21	2,56
Laktosa	65	6,75	0,97	0,33	4,83

^a n – počet vzorků, ^b SEC – standardní chyba kalibrace, ^c CCV – kalibrační koeficient variace

pro obsah sacharosu a laktosu kalibrační koeficient variace pod 5 %, takže jej lze považovat za velmi spolehlivý.

Závěr

Kontrola čokoládových hmot, dodržování složení a stálých fyzikálních vlastností, je důležitý aspekt technologie. V současné době se jednotlivé závody specializují a čokolá-

dová hmota je surovinou pro finální výrobce cukrovinek. Zároveň pokračuje poměrně rychle vývoj disperzních NIR spektrometrů i NIR spektrometrů s Fourierovou transformací včetně vyhodnocovacích chemometrických programů. Tato skutečnost, podle autorů předkládaného sdělení, povede k rozsáhlému využívání těchto přístrojů také v cukrovinkářském průmyslu.

Názor, že stanovení jednotlivých cukrů a tuku v čokoládách NIR spektroskopii je možné, je v souladu s výsledky práce Tarkošové a Čopíkové⁷. Obsah vlhkosti v čokoládách je nízký a navíc s poměrně malým rozptylem, takže u tohoto parametru může být použití spektrometrie v blízké oblasti infračerveného záření problematické a záleží na typu přístroje. Pro úspěšné stanovení vlhkosti bude nutný velmi rozsáhlý kalibrační soubor vzorků.

Při kontrole technologie je však také důležitá hodnota viskozity a hranice toku tekutých čokoládových hmot. Tudiž reologické vlastnosti čokolády jsou oblastí, kterou je třeba se zabývat. U těchto fyzikálních parametrů je však nutné s odběrem vzorků při výrobě zároveň provádět jejich stanovení a kalibraci NIR spektrometru.

Autoři článku děkují za finanční podporu projektu FRVŠ 321 14 3010 a společnosti Ska-Tec s.r.o. (Praha, ČR) za pomoc při vyhodnocování spekter naměřených na přístroji NIR System 6500.

LITERATURA

- Williams P., Norris K.: *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. American Association of Cereal Chemists, St. Paul 1987.
- Permanyer J. J., Perez M. L.: *J. Food Sci.* 54, 768 (1989).
- Kradjel C.: *Manuf. Conf.* 71, 87 (1991).
- Davies A. M. C.: *Vib. Spectrosc.* 2, 161 (1991).
- Benson I. B.: *Spectrosc. Eur.* 7, 18 (1995).
- Čopíková J., Štarhová H., Bien R.: *Potrav. Vedy* 12, 269 (1994).
- Tarkošová J., Čopíková J.: *J. Near Infrared Spectrosc.* 8, 251 (2000).
- Bollinger S., Windhab E. J., Zeng Z.: *J. Am. Chem. Soc.* 76, 659 (1999).
- Shibata K., Ono M., Hirano S.: *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 47, 692 (2000).
- Sejkorová M.: *Diplomová práce*. VŠCHT, Praha 1995.
- Šmídová I.: *Bakalářská práce*. VŠCHT, Praha 1998.
- Tarkošová J.: *Doktorská práce*. VŠCHT, Praha 2000.
- ČSN 560146, část 3: *Stanovení vlhkosti sušením při 105 °C* (1984).
- ČSN 560146, část 4: *Stanovení obsahu tuku* (1984).
- Sweely C. C., Bentley R., Makita A., Wels R.: *J. Am. Chem. Soc.* 85, 2496 (1963).
- Wilson R. H.: *Spectroscopic Techniques for Food Analysis*, str. 24. VCH Publishers, New York 1994.
- Terminologická komise: *Chem. Listy* 94, 439 (2000).

J. Čopíková, M. Novotná, I. Šmídová, A. Synytsya, and M. Černá (Department of Chemistry and Technology of Saccharides, Institute of Chemical Technology, Prague): **Application of Near Infrared Spectroscopy in Chocolate Analysis**

NIR spectroscopy turned out to be a useful tool in the analysis of chocolate. Analytical data for moisture, fat, saccharose and lactose were used for calibration of the used instruments. The performance of the calibration models in assessment of the component contents based on NIR spectral data is reported.