



Élelmiszertudományi Kar

Fizika-Automatika Tanszék

ÍZ SZENZOROK HŐMÉRSÉKLET FÜGGÉSÉNEK VIZSGÁLATA ÉS KORREKCIÓJA

TDK Dolgozat

NAGY ÁDÁM GYÖRGY

Élelmiszermérnök BSc IV. évfolyam



TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0005

TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0023

Témavezetők:

Dr. Fekete András, egyetemi tanár

Szöllősi Dániel, PhD hallgató

Budapest

2012

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1. Biológiai receptorok, mesterséges szenzorok	4
2.2. Az elektronikus nyelv és az íz szenzor	9
2.3. Az elektronikus nyelv felhasználási területei	16
2.4. A hőmérséklet elektronikus nyelvre gyakorolt hatása	16
3. CÉLKITÚZÁS	18
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	19
4.1. A kísérletek helye	19
4.2. Mérőműszer leírása	19
4.3. Vizsgált minták és vizsgálati paraméterek	20
4.4. Alkalmazott statisztikai szoftver, statisztikai módszerek	21
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE	23
5.1. Előzmények ismertetése	23
5.2. A korrekciós modell	25
5.3. Gyors hőmérsékletemelés hatása	26
5.4. Gyors hőmérsékletcsökkentés hatása	29
5.5. Lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelés hatása	31
5.6. A modell validálása	36
6. KÖVETKEZTETÉSEK	39
7. ÖSSZEFOGLALÁS	40
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	41
9. IRODALOMJEGYZÉK	42

1. BEVEZETÉS

A szenzorikus vizsgálatok körébe tartoznak a szaglás, ízlelés, hallás és a vizuális megjelenés alapján történő vizsgálatok. Szenzorikus vizsgálatokat alkalmaznak az élelmiszeriparban és a gyógyszeriparban is. Az aromaanyagok érzékelése kiemelt fontossággal bíró tényező élelmiszer fogyasztásunk tekintetében, a történelem majd minden birodalmának uralkodói udvarában kiemelt fontosságú munkakört töltött be a főköstoló (természetesen ezen állás egyben a toxikológiai vizsgálatok elvégzését is jelentette, mely esetenként a főköstolók korai halálozásához vezetett). A fejlett országokban az emberek túlnyomó többsége érzékszerveire hagyatkozva hozza meg étkezési szokásait meghatározó döntéseit. Az érzékszervi bírálatok ez okból kifolyólag jelentős szerepet játszanak az élelmiszeripar területén. Azonban, emberek lévén az érzékszervi bírák sem tévedhetetlenek, íz –és illat percepciójuk nagymértékben függ pszichológiai –és fizikai állapotuktól csakúgy, mint egyéni ízlésüktől. A változás szele természeténél fogva mindenhová elér, s az elmúlt néhány évtizedben az érzékszervi bírálat mezsgyéjén is tiszteletét tette.

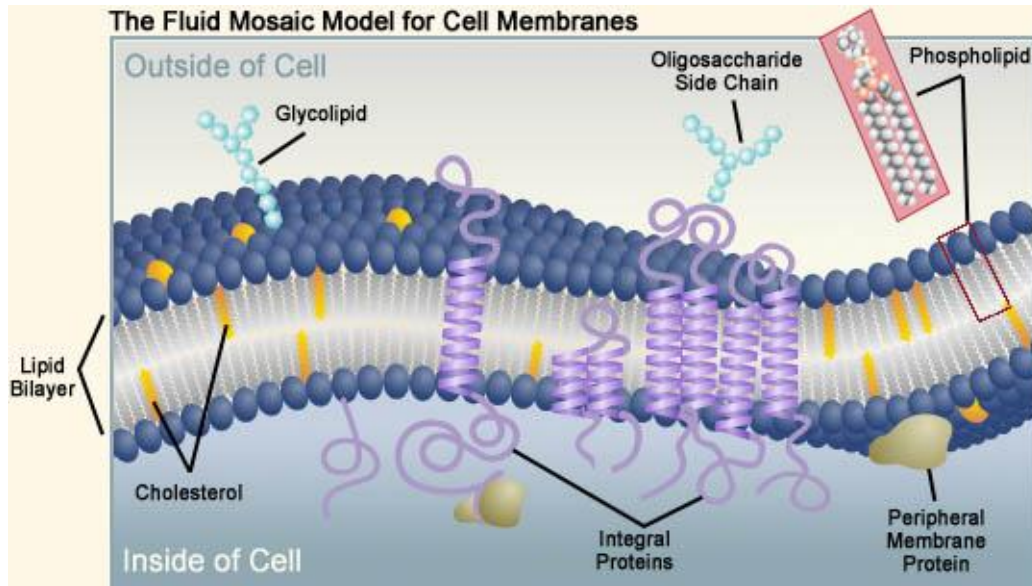
Az 1970-es évektől kezdve megnőtt az érdeklődés egy objektív, műszeres érzékszervi minősítési módszerre, s természetesen igény is volt rá...

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Biológiai receptorok, mesterséges szenzorok

A fizikai mennyiségeket, úgymint a fény, hanghullám, nyomás a látás, hallás és tapintás útján érzékeljük. Az íz- és a szaganyagokat azonban máshogyan. Az egyszerűbb szervezetekben jelentős szerepet játszik a kémiai anyagok érzékelésében a kemotaxis. Kétfajta kemotaxist különböztetünk meg: pozitív- és negatív kemotaxist. Az első esetben a szervezetbe jutnak bizonyos kémiai anyagok, míg negatív kemotaxis alatt a kémiai anyagok szervezetből való kijutását értjük. Az élő szervezetek különböző anyagokra különbözőképpen reagálnak. A vastagbél baktériumok pozitív kemotaxist mutatnak aminosavakra, és negatív kemotaxist erőteljesen keserű, ill. savanyú anyagokra. E viselkedés érthető, hiszen az édes anyagokat az élő szervezetek többnyire energiaforrásként hasznosítják, míg a keserű vagy savanyú anyagok gyakorta káros hatásúak. Az élő szervezetek az őket ért íz és szaganyagokat érzékelő sejtek segítségével fogadják. (Toko, 2000) Az érzékelő sejtek külső részén egy biológiai membrán található, mely membrán fehérjéket tartalmaz egy lipid kettősrétegbe ágyazva. A lipid molekula egy hidrofil részből (mely vízben oldódó) és egy hidrofób részből áll (ami vízben nem oldódó). Ezen tulajdonságuk miatt a lipid molekulák automatikusan kialakítják a lipid kettősréteget. (Engelman, 2005) A hidrofil részek a külső vizes fázis felé helyezkednek el, míg a hidrofób részek a kettősréteg belsejében vannak. Ez egyfajta önszervező folyamat, mely fontos szerepet játszik mind az élő szervezetekben, mind a biomimetikus műszerek fejlesztésénél. Az ionok nem tudnak átáramlani a lipid kettősrétegen, mely csaknem szigetelőrétegnek tekinthető, elektromos ellenállása eléri az 1 Gohm/cm^2 -t (Toko, 2000). A kálium-ionok (K^+) javarészt a sejt belsejében találhatóak, míg az intercelluláris térben a nátrium-ionok (Na^+) a dominánsak. A kiegyensúlyozatlan ion-eloszlás a sejten kívül és belül a biológiai membránokba beágyazott fehérjék segítségével valósul meg. Többfajta fehérje ismeretes, mely ionokat szállít: az egyik egy csatorna-fehérje, melyen keresztül egy bizonyos ion mozoghat (diffúzióval), egy másik egyfajta pumpa-fehérje, mely energia felhasználásával (általában ATP) szállít fehérjéket az ion-koncentráció gradienssel ellentétes irányban. Ezen folyamatok eredményeképp a sejten belüli- és sejten kívüli tér között elektromos potenciálkülönbség alakul ki (Grinstein, 1989). Ezt a potenciálkülönbséget membránpotenciálnak nevezzük, melynek értéke -80 mV körüli, mert a membrán nyugalmi állapotban átjárható a K^+ ionok számára. Ez egy állandósult, külső inger nélküli helyzet. Ha egy külső inger, például egy molekula adszorpciója vagy elektromos

áram éri egy idegsejt membránját, a membránpotenciál drasztikusan megváltozik. (Toko, 2000) Az 1970-es években a „fluid mosaic model”-lel írták le a foszfolipid kettősréteg szerkezetét. Eme modellben a fehérjék, beleértve az érzékelő receptorokat is a lipid molekulákban „úsznak” a sejtmembránon. Az 1. ábra a fluid mosaic modellt szemlélteti (Singer, 1972).



1. ábra A fluid-mosaic membrán modell (biology.arizona.edu)

Az inger hatására bekövetkező átmeneti potenciál változás a membrán két oldala között először a Na^+ ionok beáramlását, majd a K^+ ionok kiáramlását idézi elő, majd továbbtódik az idegroston körülbelül 10 m/s-os sebességgel, míg végül eléri az agyat. Nyugalmi állapotban a sejt belseje polarizált marad a külsejéhez képest; azonban külső inger hatására változás lép föl, melyet depolarizációnak nevezünk, mivel a membránpotenciál értéke 0 mV körüli lesz. Ezt az átmeneti depolarizációt aktiválási potenciálnak vagy impulzusnak nevezzük. Ebben az esetben az idegsejt válaszként az ingerre ingerületet mutat egy sor aktiválási potenciál létrehozásával. Az élő szervezetek az inger-ingerület mechanizmust információtovábbításra használják (Toko, 2000).

Az ízérzetnek öt fő minőségi jellemzője van: sós íz, savanyú íz, keserű íz, édes íz és az umami. Ezeket alap ízeknek nevezzük, és mindnek jelentős szerepe van az emberi ízérzet kialakításában (Wendin, 2011).

A savanyú ízt a különféle savakból származó H^+ ionok okozzák. A sós ízt javarészt a NaCl okozza; a keserű ízt a kinin, a koffein, az L-triptofán és a MgSO_4 . Az édes íz a szacharózból, glükózból, L-alaninból származtatható. Az umamit (mely egy japán kifejezés az ízletességre) a nátrium-glutamát (MSG) váltja ki. Az umamit ma már az ötödik alap ízként tartják számon.

A 1. táblázat összefoglalja az íz választ kiváltó kémiai anyagokat, az emberek által érzékelhető íz küszöbértéket, és a fiziológiai jelentőségüket.

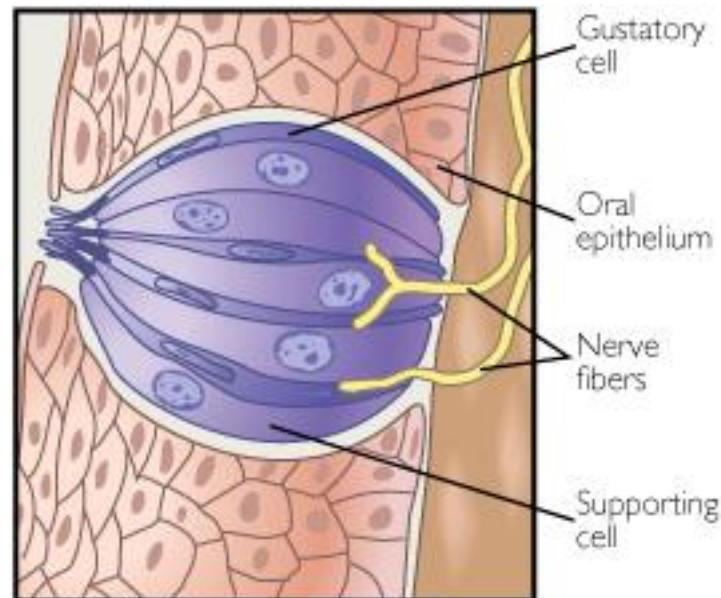
1. táblázat Alap ízek és az azokat kiváltó kémiai anyagok (Toko, 2000)

Íz	Kémiai anyagok	Küszöbérték	Fiziológiai jelentőség
Édes	szacharóz, glükóz, glicin, L-alanin, aszpartám	10mM (szacharóz)	energiaforrás
Sós	NaCl, KCl, KBr	10mM (NaCl)	ásványi anyag utánpótlás
Savanyú	HCl-ből H ⁺ , citromsav, ecetsav	0.9 mM (HCl)	a rothadás jele
Keserű	kinin, koffein, pikrinsav, MgSO ₄ , L- triptofán	8 µM (kinin)	a mérgezés jele
Umami	Na-glutamát(MSG), Na-inozinát(IMP), Na-gvanilát(GMP)	2 mM (MSG)	aminosav és nukleotid utánpótlás

Itt az íz küszöbérték azt a minimális koncentrációt jelenti, melynél meg tudjuk különböztetni a víztől az illető anyagot. A felismerési küszöbérték az a koncentráció, ahol az íz jellemző már felismerhető. A felismerési küszöbérték szacharózra, NaCl-ra és kininre egyenként 170 mM, 30 mM és 30 µM, melyek magasabb értékek, mint amik az 1. táblázatban szerepelnek. Köztudott, hogy az édes anyagok, mint a szacharóz elnyomják a keserű ízt, amit például a kinin okoz, és az IMP vagy a GMP jelenléte fokozza az umami ízt, melyet a MSG eredményez. Az előbbi esetet íz maszkolásnak, míg az utóbbi esetet szinergikus hatásnak nevezzük. Követni az ilyenforma íz kölcsönhatások mechanizmusát a neurofiziológia, és a biokémia területeinek egyik fő tárgya.

Az amino-savak is számos ételben hoznak létre ízeket, tipikusan a fermentált élelmiszerekben, mint például a sör, a bor, a szaké és a szójabab tészta (miso). Az α-amino-savakat a feldolgozott élelmiszereknél alkalmazzák, mert növelik számos étel tápértékét, továbbá módosítják az ételek természetes íz jellemzőit (Toko, 2000).

Nyelvünk felszínén számos ízlelő szemölcs található. Az ízlelő szemölcsök (papillák) receptor sejteket tartalmaznak fajtától függően eltérő számban. Egy átlagos felnőttnek hozzávetőlegesen 9000 ízlelő szemölcse van, melyek 60-80 μm hosszúak, és átmérőjük maximálisan 40 μm lehet. Az ízlelő szemölcs felépítését a 2. ábra mutatja be.



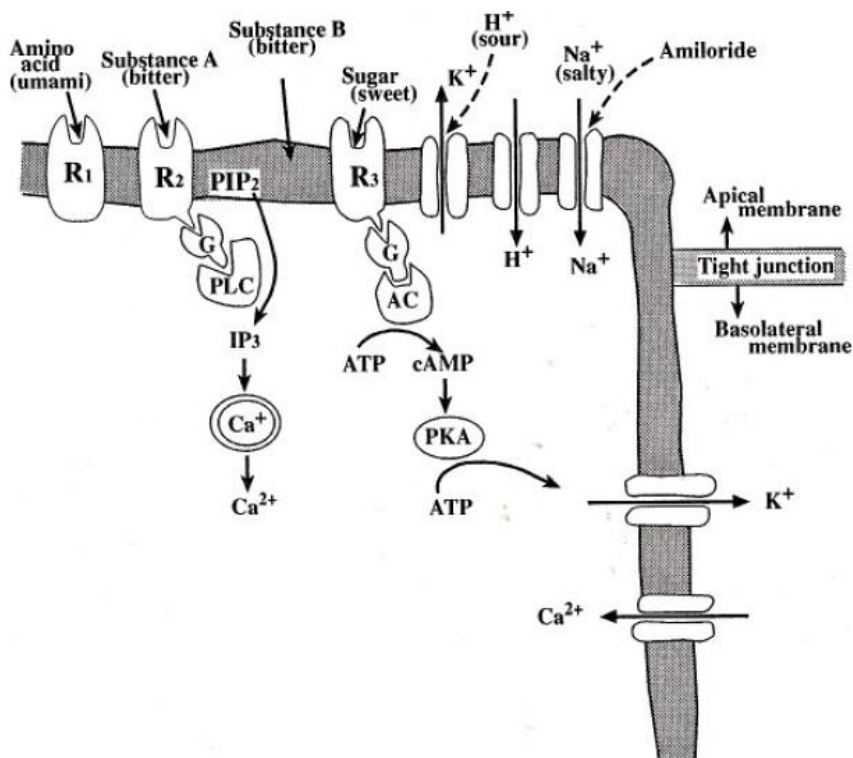
2. ábra Ízlelő szemölcs (Thibodeau, 2006)

Az ízlelő szemölcsöknek három fajtájuk ismeretes: a circumvallate, a foliate és a fungi form, melyek a nyelv tövében, a hátsó-külső szélén, illetve az elülső részén helyezkednek el (Thibodeau, 2006).

A kémiai anyagokat az ízlelő sejt membránja fogadja, mely egyfajta hámsejt. Az ízlelő sejt membránpotenciálja megváltozik a fizikai adszorpció következtében. Bár a részletezett transzdukciós mechanizmus (fizikai energia akciós potenciállá történő átalakítása) nem tisztázott, az ízlelő sejthez kapcsolt idegrost a kapcsolódás hatására ingerületet mutat. A kapcsolat egy szinapszis segítségével valósul meg.

Egy idegrost nem feltétlenül csak egyféle íz minőségről továbbíthat információt. Az idegrost nem-szelektív, nem specifikus választ mutat az egyes ízekre. A helyzet egyes állatfajok esetében eltérő. Hörcsögökben találtak olyan idegrost csoportokat, melyek csak az édes íz anyagokra reagálnak. Az ingerület mintázat az elsőtől a harmadik idegsejtig nem igazán változik. Ez arra utal, hogy az információ feldolgozás csaknem befejezett az első idegsejt szintjén, aztán a második és a harmadik idegsejt egyszerűen továbbítja az agyba. Ez a tény kiemelt fontosságú egy íz szenzor

fejlesztésénél, a receptor résznek információval kell szolgálnia az ízről. A 3. ábra összefoglalja az íz jellemzők érzékelését a biológiai membránon, és az azt követő transzdukciót.

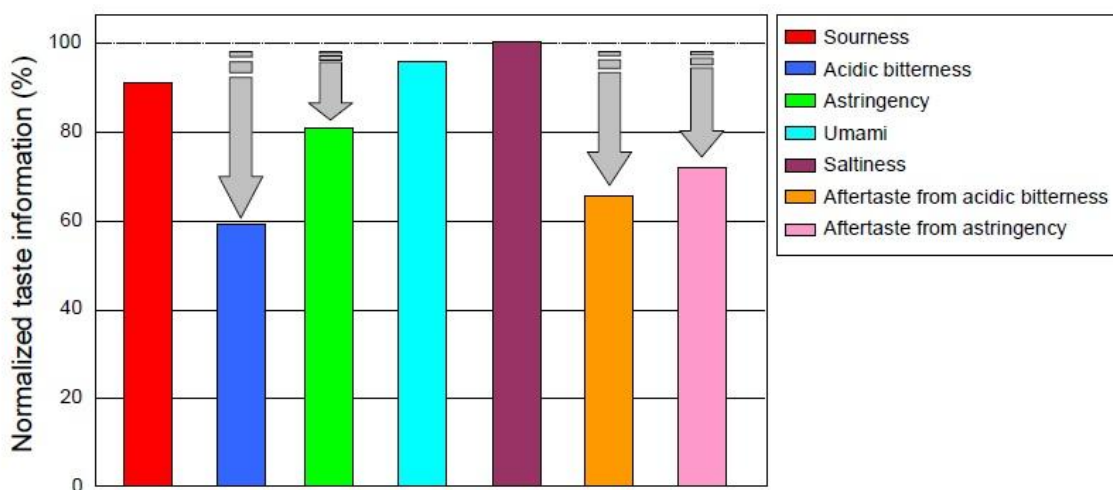


3. ábra Íz anyagok érzékelése a biológiai membránon (Toko, 2000)

Az édes anyagokat kétféleképpen érzékelhetjük. Az egyik az AMP (cAMP)-közvetített ciklus cukroknak, a másik az inozitol-trifoszfát(IP₃)-közvetített útvonal szintetikus édesítőszereknek. Néhány keserű anyagot egy hasonló IP₃-közvetített útvonalon keresztül érzékelünk, de egy másik út másodlagos közvetítők nélkül szintén lehetséges. A keserű anyagokat, mint például a kinin a lipid kettősréteg hidrofób részén érzékeljük. A savanyú íz jelátalakítására két lehetőség adott. Az egyik a H⁺-ionok közvetlen beáramlása, a másik a H⁺-ionok K⁺ csatornára gyakorolt elfojtó hatása. Eme két ízre sem a cAMP, sem az IP₃ koncentrációja nem változik. Az íz stimulus következtében bekövetkező depolarizáció kinyitja a feszültség-függő Ca²⁺ csatornákat, ami Ca²⁺beáramláshoz vezet. A neurotranszmitterek eztán áramlanak ki a szinaptikus hólyagokból az ízlelő idegsejtekhez.

Étkezéseink során mind az öt érzékszervünk által nyújtott információt figyelembe vesszük: az ízlelést, a szaglást, a tapintást, a hallást és a látást. Továbbá az íz érzet kialakításában az egyén mentális és fizikai tényezői is közre játszanak, és erősen függ az ország vagy a népcsoport étkezési szokásaitól (Toko, 2000).

Az íz-anyagok kölcsönhatásba lépnek egymással, növelve vagy csökkentve a hat íz minőség intenzitását (beleértve a fanyar ízt is). Ezt szinergikus vagy elfojtó hatásnak hívjuk. Ennek következtében még, ha az összes íz anyag meg is lett határozva egy termékben kvantitatív módszerrel, a tényleges ízt nem lehet megbecsülni. Ezért szükséges, hogy az íz szenzor érzékelje az egyes íz anyagok közötti kölcsönhatásokat. Az élelmiszeripar számos olajat alkalmaz például íz- vagy a kinetikai stabilitás fokozására. Kísérlet történt egy étkezési olaj ízre gyakorolt hatásának vizsgálatára. Sós, savanyú, umami, keserű és fanyar íz mintákat készítettek felhasználva egyenként: 270 mM NaCl-ot, 0,27 mM borkösavát; 10 mM MSG-t; 0,01 térfogat százalékos izo-alfa savat és 0,05 % csersavat. Kereskedelmi forgalomban lévő Nisshin saláta olajat adtak az összes mintához 0,1 % koncentrációban és homogenizálták a mintákat 10000 rpm-en 1 percig. A 4. ábra bemutatja, hogy az olaj hozzáadása alig változtatta meg a savanyú ízt, a sós ízt és az umamit, azonban nagymértékben megváltoztatta a savas keserűséget, a fanyar ízt, a savas keserűség utóízét és a fanyar utóízt. Ez arra utal, hogy az olaj szelektíven fojtja el a keserű- és a fanyar ízt, könnyebbé téve az élelmiszerek ízét (Kobayashi, 2010).



4. ábra Nisshin salátaolaj íz maszkoló hatása (Kobayashi, 2010)

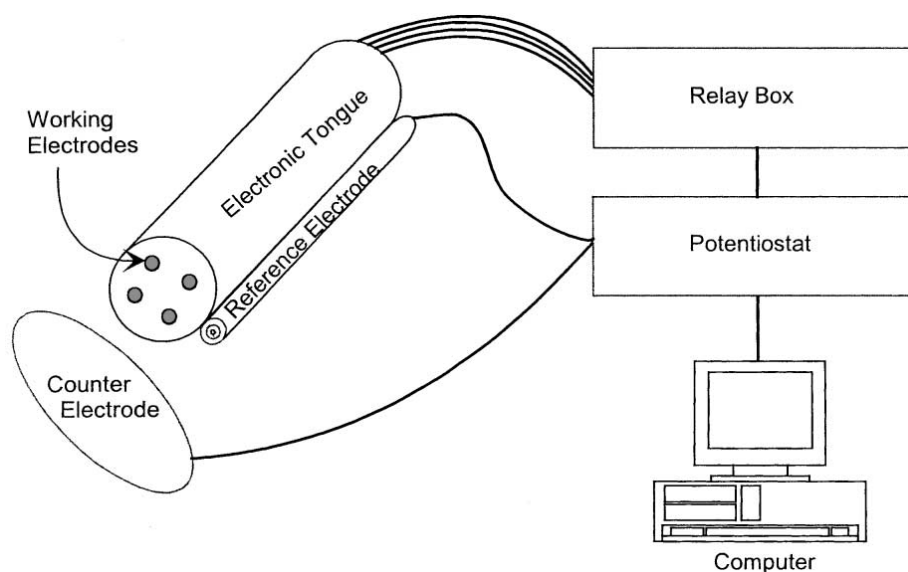
2.2. Az elektronikus nyelv és az íz szenzor

A kémiai szenzorok széles körben ismert és alkalmazott analitikai eszközök. Néhány közülük, mint például az ion-szelektív elektródok több mint száz évesek. Az első potenciometrikus szenzor (az ion-szelektív elektród: ISE) fogalma 1909-ben merült fel. Ez egy üveg pH-szelektív szenzor volt, melyet Haber és Klemensiewicz vetett fel. Eme szenzor kisebb módosításokkal bár, de még ma is a legszelektívebb és széles körben használatos szenzor folyadék minták mérésére. A szelektivitás

növelése elsőrendű paraméter egy kémiai szenzor megtervezésénél. Az egyik lehetséges út az elégtelen szelektivitás növelésére a nem csak nagy szelektivitású, de részlegesen vagy kereszt-szelektív szenzorokból szenzorsorokat kialakítani. Az ilyen szenzorsorok számos anyagra reagálnak egy többkomponensű elegyből, és ennek következtében összetett kimenő jeleket produkálnak, melyek értelmezéséhez többváltozós adatelemzéshez (MVDA: Multivariate Data Analysis) vagy minta felismerő technikákra van szükség. Ezt az elvet elsőként gázok elemzésére alkalmazták az úgynevezett „elektromos orr” esetében. Később folyadék fázisú mintákra is kifejlesztettek hasonló elven alapuló eljárást, így született meg az „elektromos nyelv” és az „íz szenzor”. Az elektromos orr, és kisebb mértékben az elektromos nyelv kifejlesztését minden kétséget kizáróan a biológiai érzékelő rendszerek, elsősorban az emlősök szaglása ihlette. Az emlősök szaglórendszere nagyszámú nem specifikus receptort tartalmaz, melyek reagálnak az illékony komponensekre, és ingereket közvetítenek az idegrendszeren keresztül az agyba, ahol a jelminta feldolgozásra kerül. Végezetül, az emlősök képesek szaganyagok ezreinek felismerésére igen alacsony érzékelési küszöbvel néhány komponensre a nem-szelektív, és az aránylag magas érzékelési határú receptorok ellenére. A szaglórendszer hatékonysága felépítésének köszönhető: különböző receptorok széles csoportja és ezek jeleinek specifikus feldolgozása először a periférikus idegrendszerben, majd az agyban. Az emlősök íz érzékelése hasonlatos a szaglórendszerükhöz, de jellemzően kevesebb receptor alkotja. Ez okból kifolyólag az elektromos orr és az elektromos nyelv megtervezésénél a szaglórendszert utánozták le, mely egy sor nem specifikus vagy kereszt-érzékeny szenzorból áll minta felismerő adatfeldolgozó rendszerrel. Szintén a biológiához hasonlóan az egyik leggyakrabban használt adatfeldolgozó eljárás egy mesterséges ideg-hálózat (ANN: Artificial Neuron Network), melynek algoritmusai egyszerűsített matematikai leképezései a tanuló-, emlékező- és felismerő folyamatoknak, melyek az emberi agyban is lejátszódnak. A klasszikus statisztikai eljárások, úgymint a főkomponens- és faktor analízis, a többváltozós regressziós módszerek szintén széles körben elterjedtek a multiszenzor rendszerek adatfeldolgozásában. Az első kísérlet egy szag-érzékelő kifejlesztésére az 1960-as évek elején történt, azonban az elektromos orr történelme, mint intelligens multiszenzor rendszer 1982-ben kezdődött (Persaud, 1982). Azokban az időkben néhány kutatócsoport nyújtott be pályázatot és fejlesztést ilyen típusú berendezésre. Az 1990-es évek elejétől ugyanezen szemlélet alkalmazása vezetett a folyadék-szenzorok kifejlesztéséhez, úgymint az elektromos nyelv, vagy az íz szenzor. Az első elektromos nyelv-rendszer potenciometrikus szenzorokon alapult, de a későbbiekben más típusú szenzorokat is alkalmaztak. Jelenleg a szenzorok különböző transzdukciós elveken működnek, mint például elektrokémiai (potenciometrikus, amperometrikus, impedimetrikus), gravimetrikus (felszín-

akusztikus hullámok, kvarckristály mikro egyensúly) vagy optikai (fluoreszcencia). (Rudnitskaya, 2008)

Voltametrikus méréseknél különböző nemesfém mérőelektrodákat alkalmaznak (pl.: arany, platina, iridium, ródium), egy ezüst/ezüst-klorid referencia elektródot és egy rozsdamentes acél ellen-elektrodát. A mérőelektrodákat egy jelfogó szervhez csatlakoztatják, míg a feszültség-pulzusokat egy potenciosztát generálja. Az irányító szerv többnyire egy PC, mely működteti a potenciosztátot, a feszültség mérést, ha kell a hőmérséklet szabályozást, a jelfogó berendezést és eltárolja a mérési eredményeket. A hőmérsékletmérő, illetve szabályozó opcionális, a jelfogó berendezéshez csatlakoztatható. A voltametrikus íz szenzor sematikus ábrája az 5. ábrán látható.

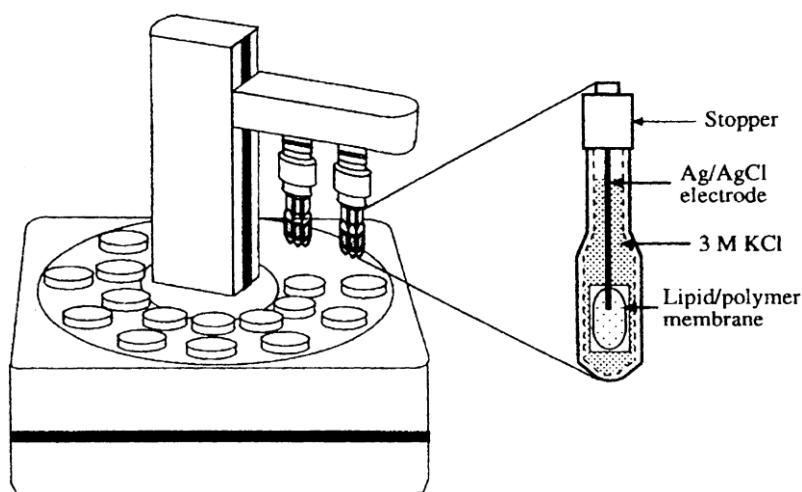


5. ábra Voltametrikus íz szenzor sematikus ábrája (Ivarsson, 2001)

A mérés elve, hogy az érzékelő szenzor membránja és a referencia elektród membránja között fellépő feszültség elektromos áramot indukál. A létrejövő elektrokinetikai jelenségre több modellt is kidolgoztak. Hermann von Helmholtz 1879-ben dolgozta ki síkkondenzátor modelljét, a Gouy-Chapman (vagy diffúziós kettősréteg) modellt 1914-ben dolgozta ki Louis Georges Gouy és David Chapman, majd e modellek kombinációjából alkotta meg modelljét Otto Stern 1924-ben. Az elektród felületének közelében elhelyezkedő elektroaktív részecskék oxidálódnak vagy redukálódnak, s mivel az elektród felületén lévő részecskék lefedésre kerülnek a diffúziós réteg által, az áramerősség lecsökken. A kialakuló áramerősség függ az elektród felületére történő, az elektrokinetikai reakcióban még nem részt vevő részecskék diffúziójától. Az átmeneti jel kezdeti értéke és alakja összefügg a mintában található töltött részecskék számával. A görbék diffúzió által meghatározott része pedig a mintákban található elektroaktív részecskékről nyújt információt.

Voltametrikus módon azonban csak jó elektromos vezetőképességű oldatok mérhetőek. Három különféle hullámforma használatos a voltametrikus méréseknél: a lépcsőzetes, az alacsony amplitúdójú és a nagy amplitúdójú hullámok.

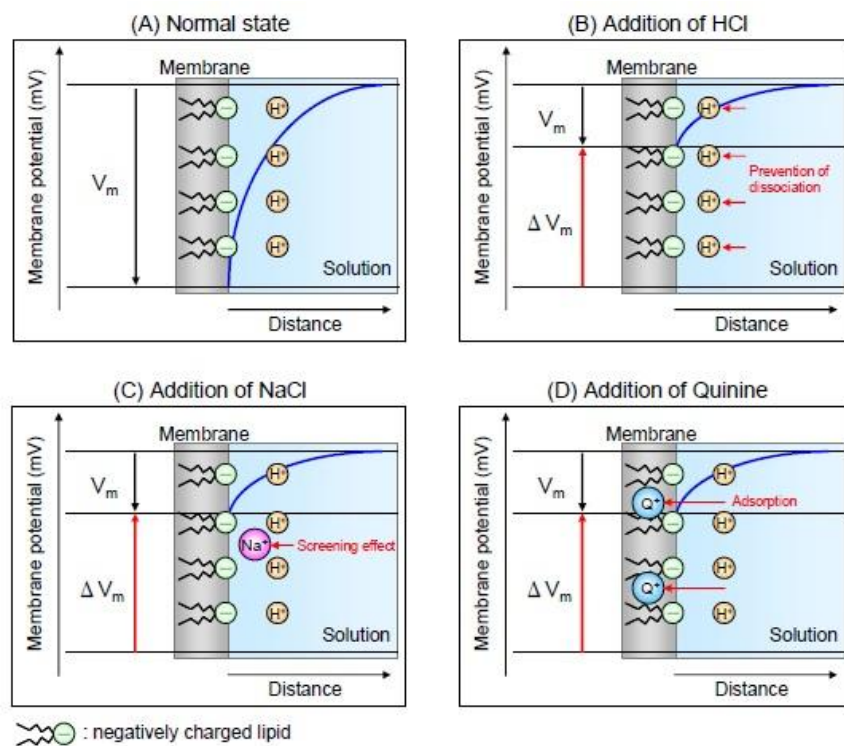
Potenciometrikus mérőműszereknél egy ezüst/ezüst-klorid referencia-elektrodot és több mérőszenzort alkalmaznak. A mérőszenzorok félvezető technológián alapszanak, s mindegyik egy-egy különböző összetételű lipid-polimer membránnal van ellátva. A membránok különböző lipideket tartalmaznak, polyvinil-kloridot(PVC), és alakító anyagot(dioctyl fenilfoszfónát). Az elegyet feloldják tetrahidrofuránban, majd főzőlapon, főzőpohárban kiszáritják (30°C körüli hőmérsékleten), hogy egy áttetsző, lágy filmréteget kapjanak, melynek vastagsága hozzávetőlegesen 200 µm. A membránt ezek után felviszik egy műanyagcsőre, mely egy ezüst huzalt tartalmaz és ezüst/ezüst-kloriddal van bevonva. A cső kálium-kloriddal van feltöltve, s a mérőműszerhez van kapcsolva. A készülék tartalmaz egy robotkart, mely a szondákat a vizsgálati mintákba helyezi, s egy számítógépet, mely a mérési eredményeket rögzíti. A készülék az egyes szenzorok és a referencia-elektrod között fellépő elektromos potenciál különbséget méri. A potenciometrikus mérőműszer sematikus ábrája a 12. Ábrán látható.



6. ábra Potenciometrikus mérőműszer sematikus ábrája

A potenciometrikus mérések egyensúlyi állapotban történnek egy nagy impedanciájú voltmérő segítségével, nulla áramerősség mellett. Amennyiben a vizsgálati minta, illetve a referencia minta nem azonos, potenciálkülönbség lép fel. Mivel a referencia-elektrodon mért elektromos potenciál konstans, az elektrolizáló cellában mért potenciálváltozás a mérő elektródnak tulajdonítható (Ivarsson, 2001).

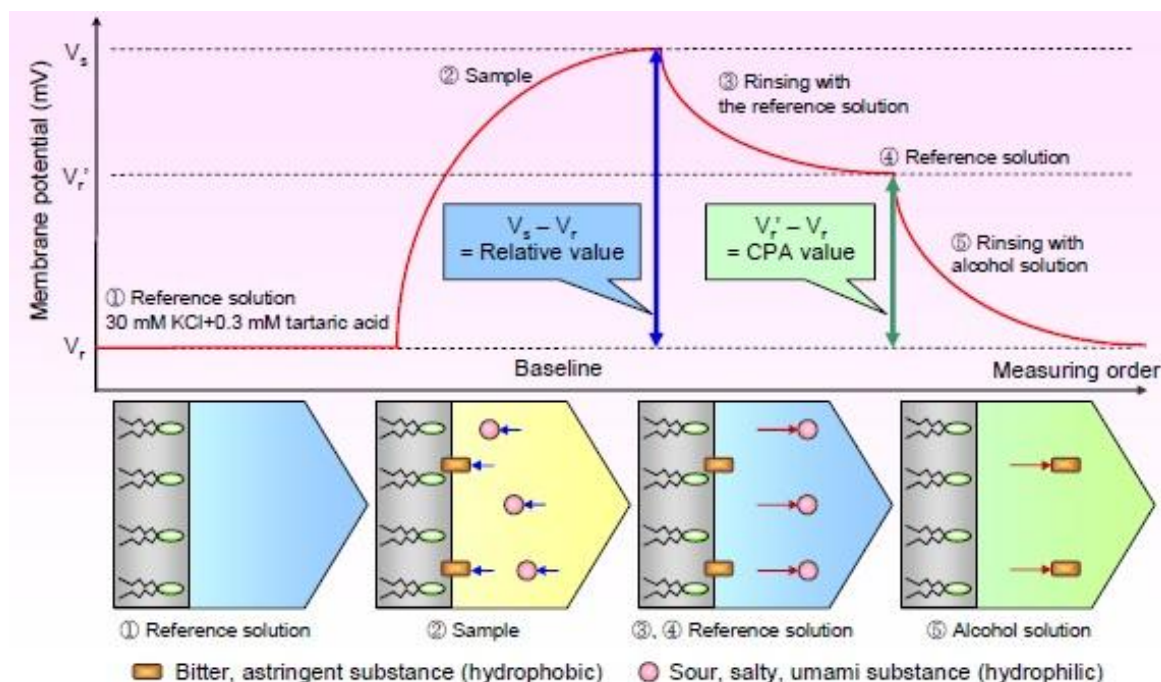
Jelenlegi kutatások azt mutatják, hogy az íz receptorok fehérjéi kulcsszerepet játszanak az ízérzetek kialakításában, de nehéz lenne mesterséges fehérje-alapú íz érzékelőket alkotni, hiszen a fehérjék alacsony kémiai és termodinamikai stabilitással rendelkeznek. Azonban egy 1970-es évekbeli kutatás kimutatta, hogy azon szűrőpapírok membránpotenciálja, melyek szarvasmarhák nyelvének hámszövetéből kivont lipidekkel voltak átitatva, sók és savak hatására hasonlóképp változott a természetes íz receptor sejtekéhez. (Kamo, 1974a, 1974b) Ami fontos, hogy hogyan különbözeteik meg az öt alap ízt, illetve intenzitásukat és mennyiségüket. A lipid membránokat alkalmazó szenzorok kielégítő eredményeket produkálnak. A legtöbb lipid molekulát hidrofób és hidrofil csoportok alkotják, ezért a lipidek képesek kölcsönhatásba lépni számos íz anyaggal elektrosztatikus és hidrofób reakciókon keresztül. Az 1990-es évek közepén az íz érzékelők még nem rendelkeztek elégséges szelektivitással az ízek objektív becsléséhez. 1999-ben Kobayashi és társai kutatást indítottak a magasabb szelektivitás érdekében. Arra a következtetésre jutottak, hogy a szenzorok szelektivitása minden ízre fokozható mind a hidrofób kölcsönhatások változtatásával, mind a membrán töltéssűrűségének változtatásával. Áttörő újítás a szenzormérnökség szempontjából, a mesterséges érzékelőknek négy követelménynek kell eleget tennünk az objektív íz becsléshez: 1. Az íz érzékelőnek következetesen kell reagálnia ugyanazon ízekre csakúgy, mint az emberi nyelvnek (globális szelektivitás), 2. Az íz érzékelő íz küszöb értéke legalább ugyanakkora kell legyen, mint az emberi íz érzékelése, 3. Tisztán definiálható információegységet kell szolgáltatson, 4. Érzékelnie kell az íz anyagok közötti kölcsönhatásokat. A magas korreláció az emberi szenzor jelekkel azt jelenti, hogy az íz érzékelő hasonlóan reagál a mintákra, mint az emberi íz érzékelés, még ha különböző intenzitásúak is. A klasszikus Gouy-Chapman modellre alapozva köztudott, hogy egy elektrokinetika kettősréteg alakul ki a töltött membránon. Hogy tisztázzák az elektromos karakterisztikáját a lipid/polimer membrán különböző íz anyagokra kiváltott reakciójának, először is meghatároztak egy elméleti töltéssűrűséget a membrán felületén a Gouy-Chapman elméletet, és a Poisson-Boltzmann egyenletet felhasználva. Ezt követően megvizsgálták a lipid/polimer membrán reakcióját nátrium-kloridra (sós íz), hidrogén-kloridra (savanyú íz), nátrium-glutamátra (umami) és kinin hidrogén-kloridra (keserű íz), majd összevetették a kísérleti eredményeket a kiszámolt elméleti adatokkal. Az eredményeket a 7. ábra szemlélteti.



7. ábra Íz szenzor membránpotenciál változása különböző íz anyagokra (Kobayashi, 2010)

Amikor a mesterséges lipid-alapú membrán vizes oldatba merül, egy elektromos kettősréteg keletkezik a membrán felületén a lipid molekulák sav csoportjainak disszociációja miatt, mely membrán potenciált hoz létre (7. ábra (a)). A reakció a savanyú mintákra megmutatja, hogy a negatív töltésű membránnak sósavval létrejött reakciója közel megegyezik az elméleti értékkel. Ebből kifolyólag a savanyú anyagok megóvják a lipid molekulák disszociációját, megváltoztatva a membránpotenciált (7. ábra (b)). A szenzor válasza nátrium-kloridra szintén jól közelíti az elméleti értéket, demonstrálva hogy a sós anyagok hatással vannak az elektromos kettősrétegre a szenzor felületén (7. ábra (c)), megváltoztatva a membránpotenciált (screening hatás). A szenzor válasza kinin hidrokloridra alacsonyabb volt, mint az elméleti érték, ami azt sugallja, hogy NaCl-ra és HCl-ra különböző szenzorválasz mechanizmus érvényesül, mint kininre. A keserű anyagok a membrán hidrofób részén adszorbeálódnak, és változást idéznek elő a membránpotenciálban megváltoztatva a töltéssűrűséget (7. ábra (d)). A szenzor válasza monoszódium-glutamátra nem egyezik meg az elméleti értékkel, mely megint csak eltérő válaszmechanizmust mutat a NaCl-hoz és a HCl-hoz képest. Ennek következtében úgy hiszik, az MSG-nek igen csekély hidrofób kölcsönhatása van a lipid membránnal, tehát a MSG könnyen deszorbeálhat a membrán felületéről vizes öblítés hatására. Magyarázat lehet, hogy a MSG a negatív töltésű lipiddel lép kölcsönhatásba a pozitív töltéssel rendelkező amino csoportot használva, mialatt a negatív töltésű karboxil csoport a

membránpotenciált még negatívabbá teszi. A 8. ábra a mérés folyamatát mutatja be az idő függvényében.



8. ábra Íz szenzor membránpotenciál változása mérés közben az idő függvényében

Először a szenzort belemerítjük a referencia oldatba, mely egy 30 mM-os KCl és 0.3 mM-os borkősav oldat, hogy létrehozzuk a membránpotenciált, V_r -t. Ezek után a szenzort belemerítjük a mérendő oldatba, a membránpotenciál megváltozik, majd felveszi a telítési értéket V_s -t. Harmadik lépésként a szenzort leöblítjük a referencia oldattal. Az öblítés után újból belemerítjük a referencia oldatba, melynek következtében kialakul V_r' potenciál. Ahogy a 8. ábra szemlélteti, a V_s és V_r közötti potenciálkülönbség ($V_s - V_r$), melyet relatív értéknek nevezünk, megközelíti a kezdeti ízt a savanyú, a sós és az umami íz esetében. A ($V_r' - V_r$) potenciálkülönbség, melyet CPA-nak nevezünk (adszorpciós membránpotenciál változás) adatokat szolgáltat a keserű és a fanyar anyagok adszorpciójáról a mesterséges lipid-alapú membránra. Ez az érték szignifikáns a keserű íz és a fanyar íz becslésében, mert az ezeknek megfelelő ízű anyagok erősen adszorbeálódnak az emberi nyelvre. Végezetül a szenzor alapos átöblítésre kerül alkohol oldatban, hogy az adszorbeált anyagokat eltávolítsuk a következő mérés megkezdése előtt (Kobayashi, 2010).

2. 3. Az elektronikus nyelv felhasználási lehetőségei

Az elektronikus nyelv tulajdonságainál fogva számos tudományos területen alkalmazható. E műszer egyesíti az objektív érzékszervi minősítés és a kvantitatív komponens meghatározás előnyeit.

Az elektronikus nyelvet sikeresen alkalmazták sörök fiziko-kémiai paramétereinek meghatározására. A műszer egyaránt alkalmas a valódi extrakt, az alkohol koncentráció, a polifenol tartalom és a keserű érték becslésére (Polshin, 2010).

Az elektronikus nyelv képes volt megbecsülni különböző típusú sörök íz jellemzőit. (Rudnitskaya, 2009) Képes volt felismerni az egyes sörmárkákat (Ciosek, 2006).

A berendezést sikeresen alkalmazták vodkák és borpárlatok gyors minőségbecslésére. A műszer alkalmas az egyes szeszes italok eredetvizsgálatára, a hamisítás tényének megállapítására szintűgy, mint az egyes komponensek illetve szennyező anyagok mennyiségi becslésére (Legin, 2005).

A berendezés alkalmazható folyamatok követésére (monitoring), élelmiszerminták frissességének becslésére és eltarthatóságuk vizsgálatára, hitelességük kiértékelésére és számos egyéb minőségbiztosítási feladatra (Escuder-Gilabert, 2010).

A mérőműszer képes volt megkülönböztetni tea fajtákat termesztésük tengerszint feletti magassága alapján, a termőterület fekvése alapján (Kovács, 2009).

A műszer gyógyszeripari alkalmazása a közelmúltban megnövekedett. A műszer egyaránt alkalmas minőség-ellenőrzési célokra, az egyes komponensek kvantitatív vizsgálatára. Mindezekon célokra ráadásul biztonságos megoldást kínál (Woertz, 2011).

A berendezést sikeresen alkalmazták ammónium szennyezettség- és alkáli-ion szennyezettség figyelemmel kísérésére (monitoring) Mexikóban, továbbá nehézfémek emissziójának meghatározására levegőbe és folyóvízbe egyaránt (Mimendia, 2010).

2. 4. A hőmérséklet elektronikus nyelvre gyakorolt hatása

A hőmérséklet elektronikus nyelvre gyakorolt hatásával kapcsolatban eddig kevés publikáció látott napvilágot. Korábbi tanulmányok már foglalkoztak ISFET szenzorok hőmérsékletfüggésével (Bergveld, 2003). A szenzorok hőmérsékletfüggése három fő tényezőből tevődik össze. A referencia elektród hőmérséklet függéséből, a félvezető hőmérséklet függéséből és

a felületi potenciál hőmérséklet függéséből (Chou, 2001). Természetesen a probléma összetettebb, hiszen a hőmérséklet torzító hatása függ a vizsgálandó oldattól is (Chiang, 2001). Ezen hatások közül a referencia elektród hőmérséklet függése a legjelentéktelenebb, míg a félvezető hőmérséklet függése a legmeghatározóbb. A félvezetőn kialakított kompenzáló áramkörök alkalmazásával a torzító hatás csökkenthető (Martinoia, 1998). Ezen tanulmányok azonban nem lipid-polimer membránnal ellátott potenciometrikus szenzorok hőmérsékletfüggésével foglalkoznak, így a téma további kutatást igényel.

3. CÉLKITÚZÉS

Kutatásom során célul tűztem ki az Alpha Astree elektronikus nyelv hőmérséklet változása miatti mérési hibájának minimálisra csökkentését matematikai modell kidolgozásával. Feladatunk volt a modell alkalmazásával elérhető eredmények kísérleti megállapítása, ezzel lehetőség nyílik eltérő hőmérsékleteken végzett mérések összehasonlítására és korrekciójára.

További célunk volt a modell alkalmasságának igazolása különböző hőmérsékleteken végzett mérésekkel és az eredmények statisztikai értékelésével.

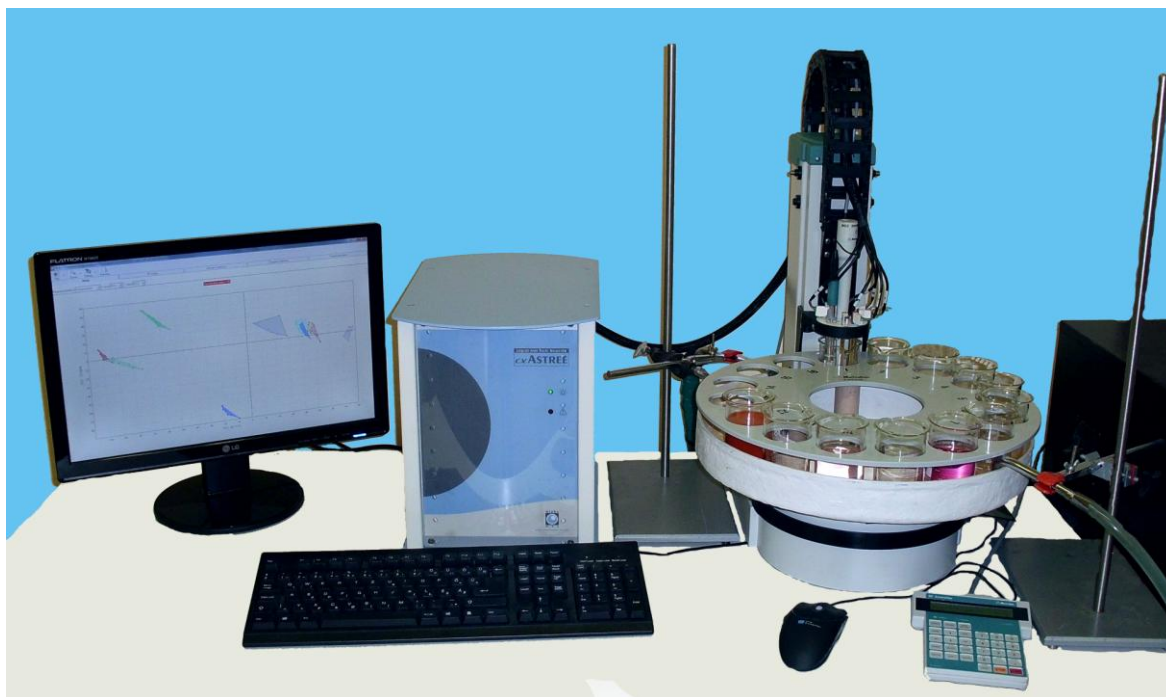
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4. 1. A kísérletek helye

Kísérleteinket a Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer Tudományi Karának Fizika-Automatika Tanszékén végeztük.

4. 2. Mérőműszer leírása

Méréseinket egy Alpha Astree (Alpha M.O.S., Toulouse, Franciaország) márkájú elektronikus nyelvvel végeztük. A mérőműszer egy mintavételező panelből, elektronikus karral vezérelt cserélhető szenzorsorból, vezérlő- és kiértékelő egységből, kemometrikai szoftvercsomagból és egy saját fejlesztésű hőmérséklet-szabályzó egységből áll. A berendezés a 9. ábrán látható.



9. ábra α -ASTREE elektronikus nyelv saját kialakítású hőmérséklet szabályzó egységgel

A szenzorsor automatizált, elektronikusan és manuálisan is vezérelhető. A mintatartó egység 16 férőhelyes, így az egyes tisztításokat is beleszámítva összesen 8 minta mérhető egy beállítással. A szenzorsor egy ezüst-ezüstklorid referencia elektródból, hét különböző mesterséges lipid-alapú membránnal bevont potenciometrikus ISFET szenzorból és egy keverő egységből áll. A szenzorsor szenzorai: ZZ, BA, BB, CA, GA, HA és JB. A referencia elektród és az egyes szenzorok membránpotenciál változásait a szoftver átkonvertálja intenzitássá. Az intenzitás értéke -10000 és +10000 között mozoghat (Alpha M.O.S. Users Manual. 2003).

4. 3. Vizsgált minták és vizsgálati paraméterek

Méréseinket modelloldatokon és komplex élelmiszer mintákon végeztük. Készítettünk 0,01 M-os HCl modell oldatot; 0,1 M-os NaCl modell oldatot; 0,1 M-os Na-glutamát modell oldatot (MSG), mely oldatokkal az egyes alap ízeket szimuláltuk. A HCl modell oldat a savanyú ízt, a NaCl modell oldat a sós ízt, míg a Na-glutamát modell oldat az umami ízt volt hivatott szimulálni. Komplex élelmiszermintáink a gyors hőmérsékletváltoztatások esetében narancslevek, a lassú hőmérsékletváltoztatás esetében almalé minták voltak.

Méréseinket három különböző hőmérsékletváltoztatási mód mellett végeztük el. Alkalmaztunk gyors hőmérsékletemelést, amikor a vizsgált 5°C-os mintákat 35°C-os meleg vízbe helyeztük, és közben végig mértük az egyes szenzorok jelintenzitásait. A mérések megkezdése előtt kondicionálást alkalmaztunk. A kondicionálás 0,01 M HCl oldatban történik 4-4,5 órán át. A kondicionálást követően kalibráció következett, ami az egyes szenzorok értékeinek beállítása egy meghatározott értékre. A szenzor jelek szórásának egy meghatározott intervallumon belülre kell esnie. Az egyes minták mérése között tisztítási fázisokat iktattunk be. A tisztítás szobahőmérsékletű (25°C-os) desztillált vízzel történt. A szenzorsort a fizikai deszorpció kiváltotta egyensúly beálltaig a desztillált vízben hagytuk. A tisztítási fázissal csökkentjük az áthordást az egyik mintából a másikba. Alkalmaztunk gyors hőmérsékletcsökkentést, amikor a minták voltak 35°C-os hőmérsékletűek, és 5°C-os hideg vízbe helyeztük azokat. Mindkét esetben a fizikai adszorpció által kiváltott potenciálváltozás egyensúlyi állapotba kerülése után kezdtük meg a hőmérsékletváltoztatást.

A gyors hőmérsékletnövelés és a gyors hőmérsékletcsökkentés mérési folyamata a következőképpen történt:

1. Kondicionálás
2. Tisztítás
3. HCl modell-oldat mérése
4. Tisztítás
5. MSG modell-oldat mérése
6. Tisztítás
7. NaCl modell-oldat mérése
8. Tisztítás
9. Narancslé vagy almalé minta mérése
10. Tisztítás

Ezek után alkalmaztunk lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelést, amikor az 5°C-os mintákat 7°C-os meleg vízbe helyeztük, majd 6 percenként 2°C-kal növeltük a meleg víz hőmérsékletét, egészen 35°C-ig.

4. 4. Alkalmazott statisztikai szoftver, statisztikai módszerek

Az adatok kiértékelésére, a modell megalkotására és validálására az R-project (R Development Core Team, 2011) statisztikai szoftvert alkalmaztuk.

A kiugró adatok kiszedésére az R-project szoftver 'outliers' kiegészítő könyvtárát alkalmaztuk. A kiugró adatokat az „outlier” függvénnyel detektáltuk, és a „rm.outlier” függvénnyel vettük ki. A módszer kiszámítja az egy x ponthoz tartozó y értékek átlagát, és összeveti ezt az átlagot az egyes y értékekkel. A legnagyobb eltérést produkáló y érték kiugró adat (Komsta, 2011).

A modell megalkotásához a nemlineáris legkisebb négyzetek elvét alkalmaztuk. Az R-project szoftver 'nls' alapkönyvtárában található „nls” függvényt (non-linear least squares) használtuk, az iterációkat a Gauss-Newton formula segítségével vittük véghez (Madsen, 2004).

A modell vizsgálatához többváltozós adatfeldolgozási eljárásokat (MVDA) alkalmaztunk. Főkomponens analízist (PCA: Principal Component Analysis) az előzetes vizsgálatokhoz, a validálásához diszkriminancia analízist (FDA: Flexible Discriminant Analysis), és support vector machine-t (SVM). A többváltozós adatfeldolgozási eljárásokat két csoportba sorolhatjuk. Az egyik csoportba a felügyelt eljárások tartoznak (pl. FDA, PLS: Partial Least Squares regression, SVM), a másik csoportba a nem felügyelt eljárások (pl. PCA). A különbség a két csoport között az, hogy a felügyelt eljárások esetében a mérési eredmények egyértelműen hozzá vannak rendelve a mintákhoz, míg a nem felügyelt eljárások esetében nem. Ebből kifolyólag a nem felügyelt eljárások sikerebben alkalmazhatók előzetes vizsgálatokra, hiszen nem lép fel torzító hatás.

A nem felügyelt módszerek családjába tartozik a főkomponens analízis (PCA), mely lényege, hogy az eredeti adatmátrix tetszőleges n-dimenziós ábrázolásakor alkalmazott tengelyeiből új, n számú tengelyt (főkomponens) hoz létre. Az eljárás menete, hogy az n-dimenziós térben megvizsgáljuk, hogy melyik irányban a legnagyobb az adatok varianciája. Ez az irány tartalmazza a legtöbb információt, ez lesz az első főkomponens. A többi főkomponens az első főkomponensre merőleges lesz, és sorban a második, harmadik, stb. legnagyobb varianciát tartalmazzák. Ezen új tengelyek egymással korrelálatlanok (Vlasov, 2002).

A diszkriminancia analízis a felügyelt módszerek családjába tartozik. Ezen módszerek osztályozásra, csoportosításra alkalmazhatóak. A módszer első lépése szintén egy főkomponens analízis. Ezt követően különböző algoritmusok segítségével minimalizálja az egyes csoportokon belüli távolságokat, és maximalizálja a csoportok közötti távolságokat. A csoportok szeparálására lineáris algoritmusokat alkalmaz (Mika, 1999) (Hastie, 1994).

A support vector machine (SVM) az egyes csoportok szeparálására nem felétetlenül lineáris algoritmusokat alkalmaz. Ezáltal javulhat a klasszifikáció jósága a lineáris metódusokhoz képest, ám ugyanakkor a túlillesztés veszélye is nagyobb (Karatzoglu, 2006).

A modell-korrekción a modellalkotástól független adatokon végeztük el. Az adatmátrixot szétbontottuk szenzoronként, majd az egyes szenzorok jeleit is szétbontottuk az alma lé minták koncentrációi szerint. Az így kapott vektorokra egyenként elvégeztük a modellillesztést. A modell

alapján kiszámoltuk, mekkora jelintenzitást kellett volna kapnunk 25°C-on, és mekkora jelintenzitást kellett volna kapnunk az adott hőfokon. A két érték különbségét hozzáadtuk a mérési eredményekhez.

$$\text{Modell}_{25^{\circ}\text{C}} = A \cdot \log(25) + B \cdot 25^{3.3} + C \cdot 25 + D$$

$$y(T) = A \cdot \log(T) + B \cdot T^{3.3} + C \cdot T + D$$

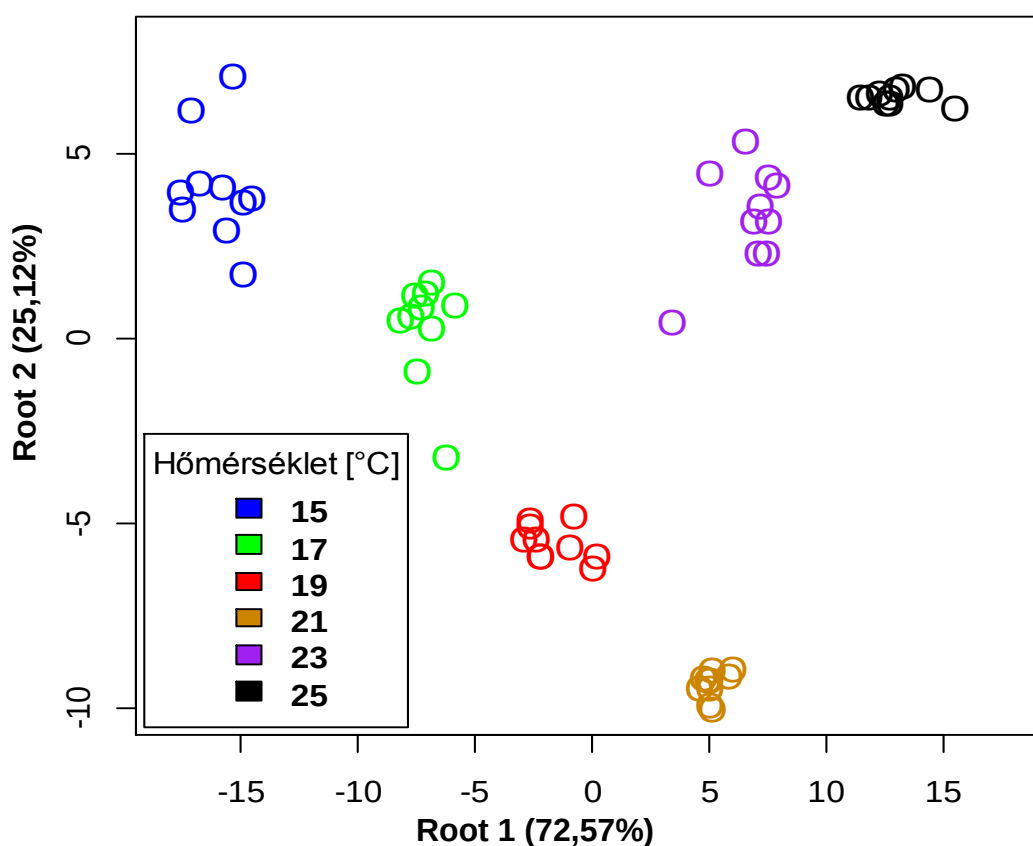
$$\text{Új_adat} = \text{régi_adat} + (\text{Modell}(25^{\circ}\text{C}) - y(T))$$

A diszkriminancia analízisek osztályozási hibájának számításakor összeadtuk a rossz csoportba besorolt adatok számát, és elosztottuk az összes adat számával.

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5. 1. Előzmények ismertetése

A Fizika- Automatika Tanszék munkatársai által egy korábbi tanulmány során már bizonyítást nyert, hogy az elektronikus nyelv mérési eredményeire a hőmérséklet igen komoly zavaró hatást gyakorol. Munkájuk során kereskedelmi forgalomban lévő almalé minta különböző koncentrációit mérték meg elektronikus nyelvvel. Az alkalmazott koncentrációk a 25v/v% gyümölcstartalmú alma lé 1; 2,5; 5; 7,5 és 10v/v%-os desztillált vizes hígításai voltak. Minden koncentráció csoportot a 15-25°C-os hőmérséklettartományon mérték meg, 2°C-os intervallumközökkel. (Szöllősi, 2010) A mérési eredmények előzetes vizsgálatához főkomponens analízist, osztályozásukhoz diszkriminancia analízist alkalmaztunk. A mérési eredmények diszkriminancia analízis ábrái a kiugró adatok kivétele után a 10. és 11. ábrán láthatók.

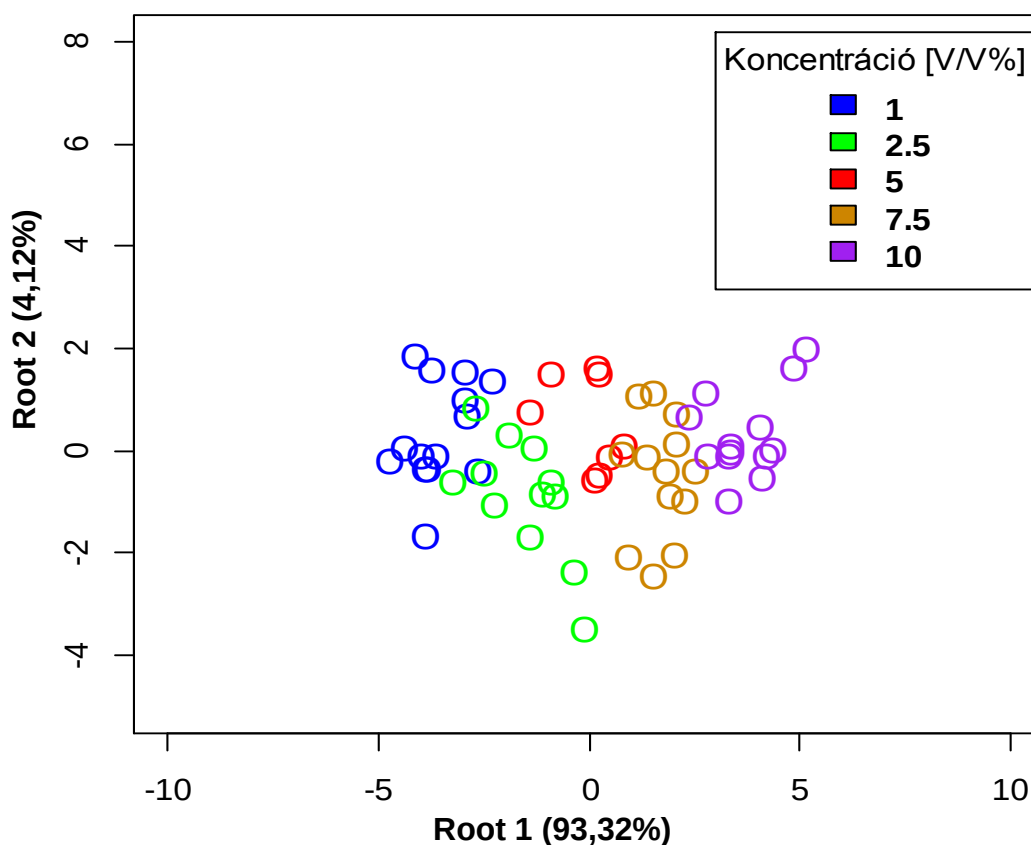


2. táblázat A hőmérséklet szerinti diszkriminancia analízis kereszt-validációja

		Valódi hőmérséklet [°C]					
		15°C	17°C	19°C	21°C	23°C	25°C
Becsült hőmérséklet [°C]	15°C	10	0	0	0	0	0
	17°C	0	10	0	0	0	0
	19°C	0	0	10	0	0	0
	21°C	0	0	0	10	0	0
	23°C	0	0	0	0	10	0
	25°C	0	0	0	0	0	10

Amint a 10. ábrán, és a 2. táblázatból látható, diszkriminancia analízis segítségével az eltérő koncentrációjú minták nagyszerűen elkülöníthetők voltak. Az osztályozás hibája 0% volt. A hőmérséklet szerint tehát tökéletesen szeparálhatók az egyes minták.

A 11. ábra ugyanezen minták diszkriminancia analízis ábráját mutatja be, csak koncentráció szerint csoportosítva. Az öt alkalmazott koncentráció mindegyikével tizenkettő mérései eredményt hagytunk meg a kiugró adatok kiszedése után.



11. ábra Különböző koncentrációjú, eltérő hőmérsékleten mért almálé minták koncentráció szerinti diszkriminancia analízis ábrája

Két-két mérést végeztünk 15, 17, 19, 21, 23 és 25°C-on. A koncentráció szerinti diszkriminancia analízis kereszt-validációját a 3. Táblázat tartalmazza.

3. táblázat A koncentráció szerinti diszkriminancia analízis kereszt-validációja

		Valódi koncentráció [v/v%]				
		1.0%	2.5%	5.0%	7.5%	10.0%
Becsült koncentráció [v/v%]	1.0%	10	2	2	0	0
	2.5%	1	9	2	0	0
	5.0%	1	1	5	1	0
	7.5%	0	0	3	9	1
	10.0%	0	0	0	2	11

Amint a 11. ábrán és a 3. táblázatból látható, hogy a diszkriminancia analízis segítségével az egyes csoportok koncentráció szerint nem különülnek el megfelelően egymástól, átfedés figyelhető meg a koncentrációcsoportok között. Ahogy a 11. ábra és a 3. táblázat mutatja, az osztályozás hibája 26.67%. A hőmérséklet tehát sokkal nagyobb torzító hatást gyakorol a műszerre tíz celsius-fokos hőmérséklet intervallumon, mint a koncentráció 10%-os intervallumban. Megfigyelhető, hogy a két szélső koncentráció értéknél a legjobb az osztályozás (1 és 10 v/v%), míg a legrosszabb osztályozás a középső koncentráció értéknél valósult meg (5 v/v%).

Az adatok további vizsgálatához support vector machine-t alkalmaztunk különböző kernelek használatával. A koncentráció szerinti osztályozás hibája lineáris kernellel 30%, polinomiális kernellel 45%, míg szigmoid kernellel 56,67% volt, így ezen osztályozások ábráit és kereszt-validációikat nem közöljük.

5. 2. A korrekciós modell

Méréseinket mind a hét szenzorral elvégeztük az összes vizsgálati mintára, mindhárom féle hőmérsékletváltoztatás mellett. Mérési eredményeink azt mutatták, hogy az egyes szenzorok jelintenzitásainak hőmérséklet okozta torzítása matematikailag hasonló alakú összefüggéssel írható le. Az általunk megalkotott modell összetett függvény, mely egy logaritmikus, egy hatvány és egy lineáris tagból áll. A függvény alakja szenzortól, vizsgálati mintától és az alkalmazott hőmérsékletváltoztatástól független. Az egyes tagok súlytényezői az előbb említett paraméterektől függenek, a súlytényezőket a Newton-Gauss formula alapján iterációval határoztuk meg.

A modell:

$$y(T) := A \cdot \log(T) + B \cdot T^{3.3} + C \cdot T + D$$

Ahol:

$y(T)$:= az adott szenzor jelintenzitása

T := a hőmérséklet [$^{\circ}\text{C}$]

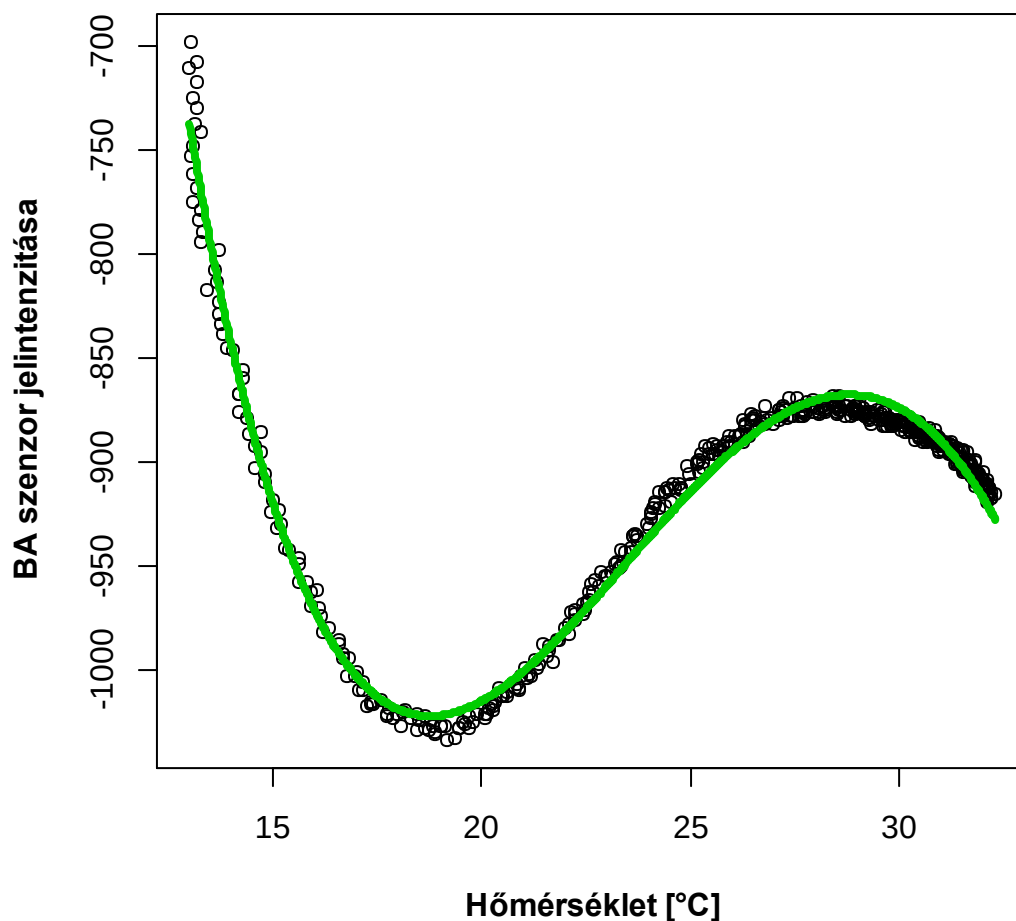
A , B , C és D := az egyes tagok súlytényezői; konstansok

Az általunk megalkotott modell megbízhatósága kiváló, a szignifikancia szintje rendre 0,001. A modell illeszkedése kitűnő, a determinációs együttható néhány esettől eltekintve rendre 0,99; és a legrosszabb esetben is 0,63.

5. 3. Gyors hőmérsékletemelés hatása

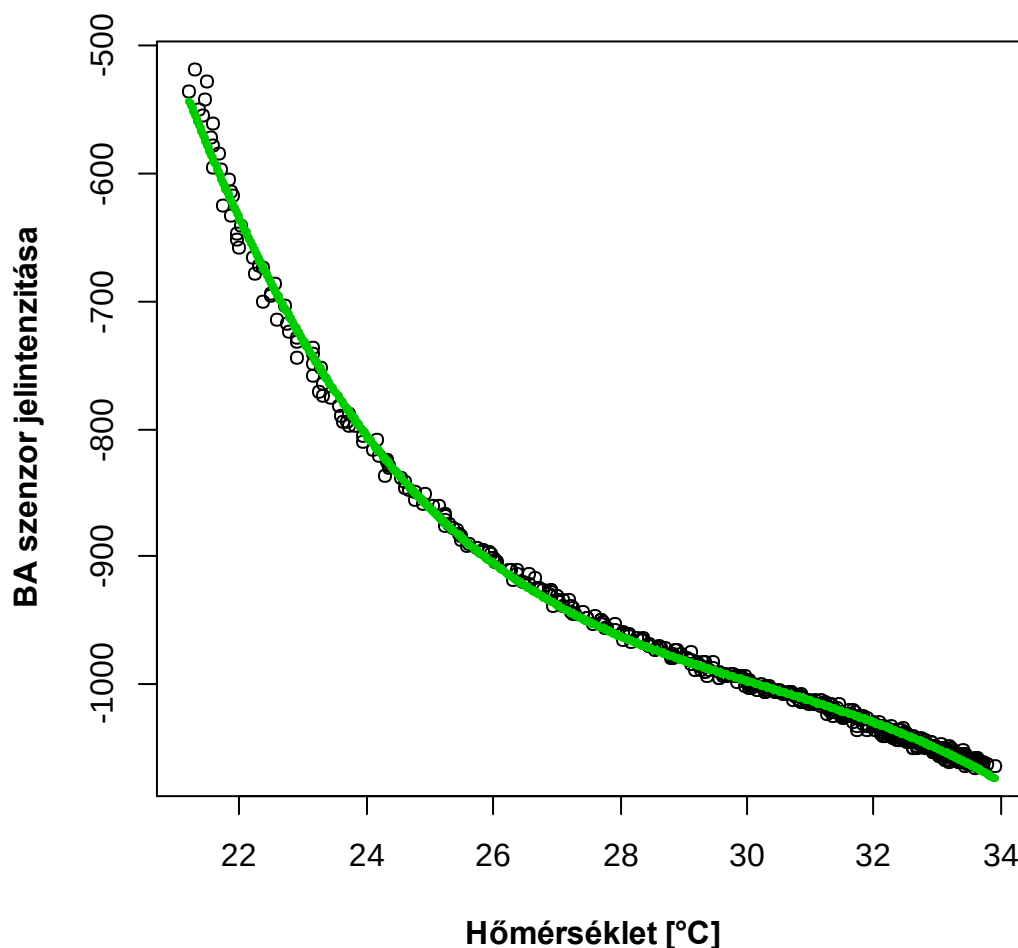
Méréseinket mind a hét szenzorral elvégeztük mind a négy vizsgálati mintára (HCl, NaCl, MSG, narancslé), tehát összesen 28 kombinációban. Az alábbiakban helyszűkében csak a legjellemzőbb vagy a speciális összefüggéseket közöljük.

A 12. ábrán a BA szenzor jelintenzitása látható 0,01 M HCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében.



12. ábra BA szenzor jelintenzitása 0,01 M HCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében

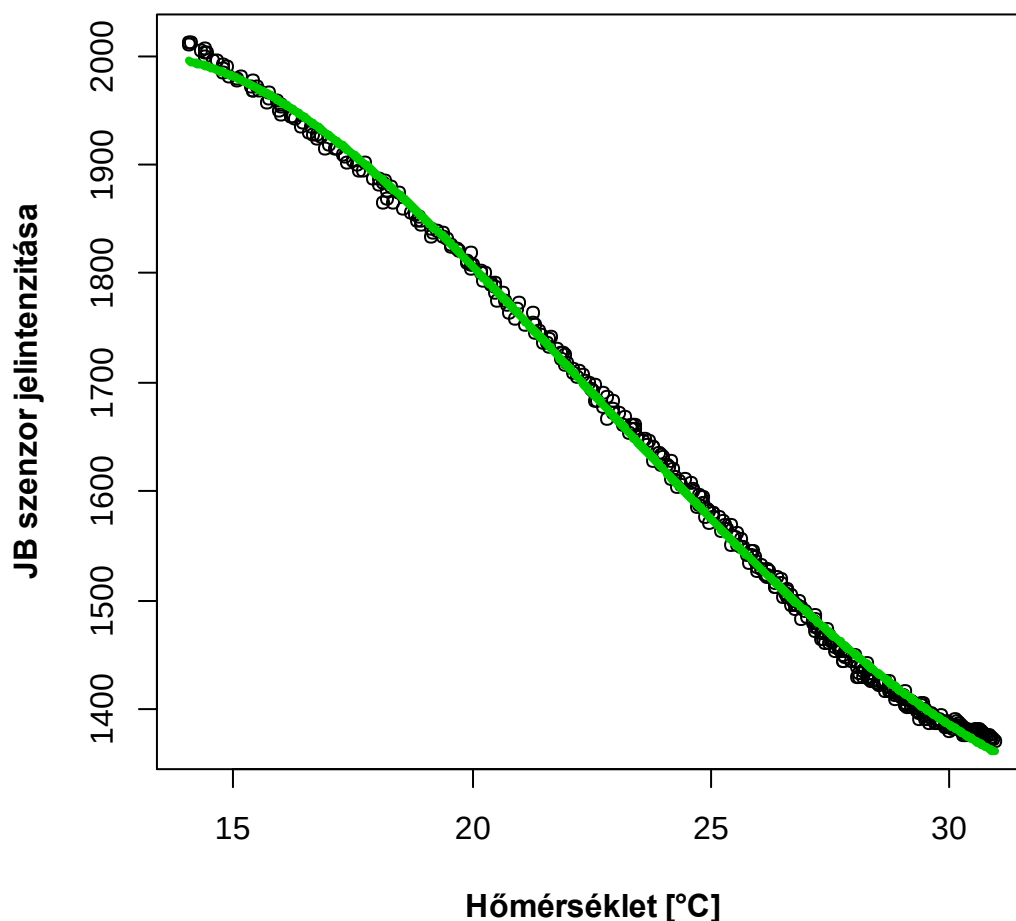
Fekete karikákkal a mérési eredményeket, míg zöld görbével az általunk illesztett modellt jelöltük. A modellt 518 mérési adatra illesztettük, a szignifikancia szintje 0,001. A determinációs együttható értéke 0,98. Ilyen, és ehhez hasonló összefüggést a BA szenzor produkált 0,01 M-os HCl; 0,1 M MSG és 1,2 v/v%-os gyümölcstartalmú narancslé minta esetében. A 12. ábrán látható, hogy a modell remekül illeszkedik változó monotonitású görbére. A 13. ábra szintén a BA szenzor jelintenzitását mutatja be a hőmérséklet függvényében, azonban a mért minta ez esetben 0,1 M NaCl modell-oldat volt. A 13. ábrán megfigyelhető, hogy az egyes szenzorok mérési eredményei a vizsgálati minta függvényében igen eltérőek lehetnek.



13. ábra BA szenzor jelintenzitása 0,1 M NaCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt szintén 518 mérési adatra illesztettük, a modell szignifikancia szintje újfent 0,001. A determinációs együttható NaCl modell-oldatnál 0,99. Látható, hogy az általunk illesztett modell különböző lefutású, eltérő monotonitású görbékre is kiválóan illeszkedik. Gyors hőmérsékletemelés alkalmazásakor a ZZ és a BA szenzor esetében a szenzorjel intenzitásának hőmérséklet szerinti lefutása vizsgálati mintánként eltérő volt. A mérések lebonyolítása közben a ZZ szenzor jelintenzitásában változó, periodikus ingadozást figyeltünk meg. Ez a jelenség bizonyos eseteknél szignifikánsan lerontotta a modell determinációs együtthatóját.

Gyors fűtés alkalmazása esetén a BB, a GA és a JB szenzor jelintenzitásai a hőmérséklet függvényében a mintától függetlenül elsőfokú polinomiális összefüggéshez nagyon hasonló összefüggést mutattak. Ezen eseteknél a hatványtag előtti konstans (B) értéke négy-öt nagyságrenddel kisebb értéket vett fel, mint a többi tag súlytényezője. A 14. ábrán a JB szenzorjel intenzitása látható 1,2 v/v%-os gyümölcstartalmú narancslé mintában a hőmérséklet függvényében.

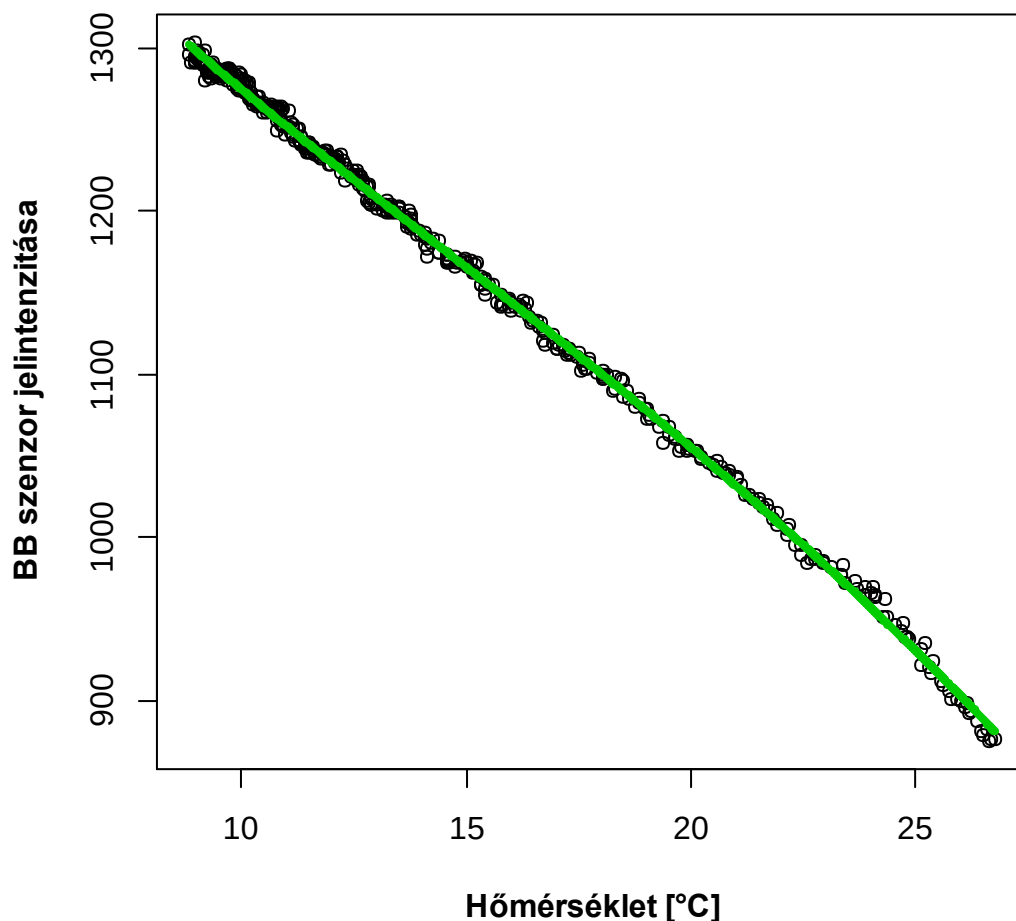


14. ábra JB szenzorjel intenzitása 1,2 v/v%-os gyümölcstartalmú narancslé mintában a hőmérséklet függvényében

A modellt 426 mérési adatra illesztettük, a modell szignifikancia szintje ez esetben is 0,001; a determinációs együttható értéke 0,99. Gyors hőmérsékletemeléskor a modell determinációs együtthatója az általunk megmért 28 esetből 21 esetben 0,99; míg 4 esetben kisebb, mint 0,95; azonban a legrosszabb esetben is 0,85. Mind a 4 esetet a ZZ szenzornál tapasztalható jelingadozás okozta.

5. 4. Gyors hőmérsékletcsökkentés hatása

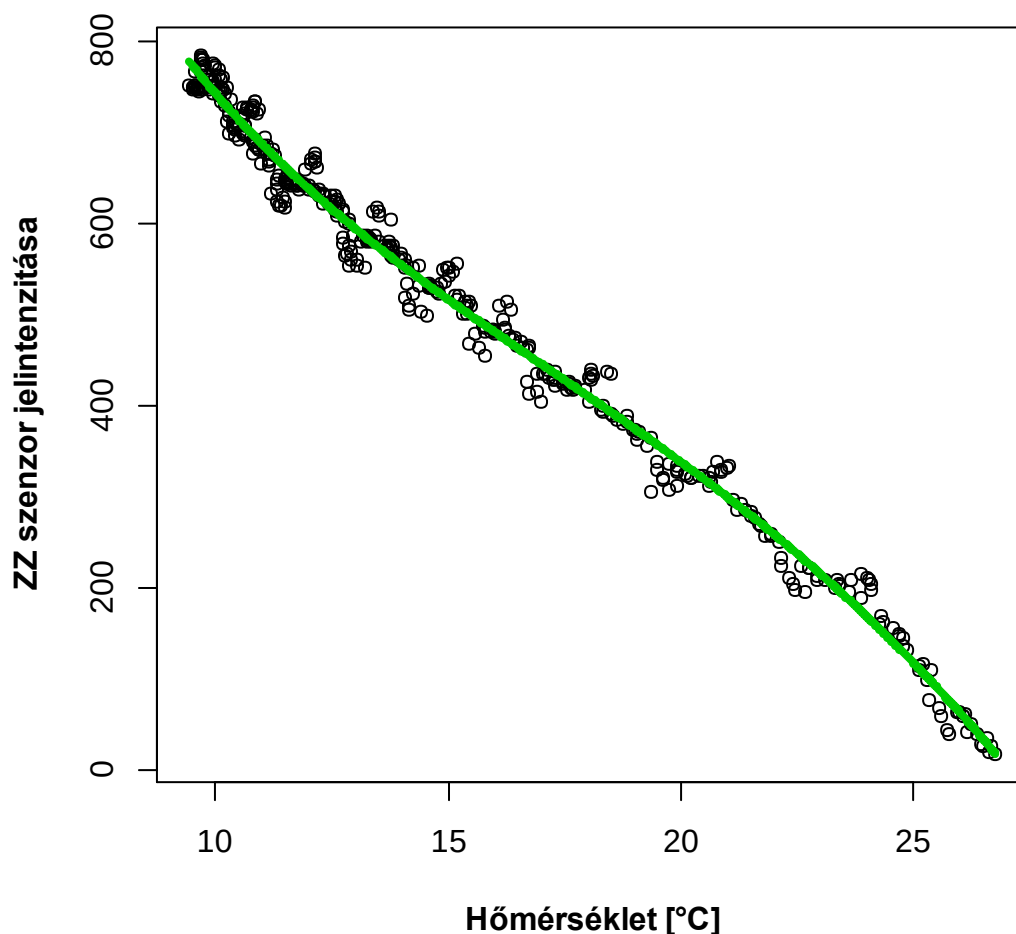
Második hőmérsékletváltoztatásként gyors hőmérsékletcsökkentést alkalmaztunk. Méréseinket az előző ponthoz hasonlóan mind a hét szenzorral elvégeztük mind a négy vizsgálati mintára, tehát összesen 28 kombinációban. Gyors hőmérsékletcsökkentés hatására a vizsgált szenzorok jelintenzitásai elsőfokú polinomiális összefüggéshez közeli függvénykapcsolatot mutattak a hőmérséklet függvényében. A BB szenzor jelintenzitása 0,1 M MSG modell-oldatban a hőmérséklet függvényében a 15. ábrán látható.



15. ábra A BB szenzor jelintenzitása 0,1 M MSG modell-oldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt 476 mérési adatra illesztettük, a modell szignifikancia szintje 0,001; a determinációs együttható értéke 0,99. Ebben az esetben a hatványtag súlytényezője három-négy nagyságrenddel kisebb, mint a többi tag súlytényezője.

A ZZ szenzor esetében ismételtlen változó, periodikus jelingadozást tapasztaltunk. A jelingadozás mértéke egy esettől eltekintve nem volt számottevő. A 16. ábrán a ZZ szenzor jelintenzitása látható 0,1 M MSG modell-oldatban a hőmérséklet függvényében.



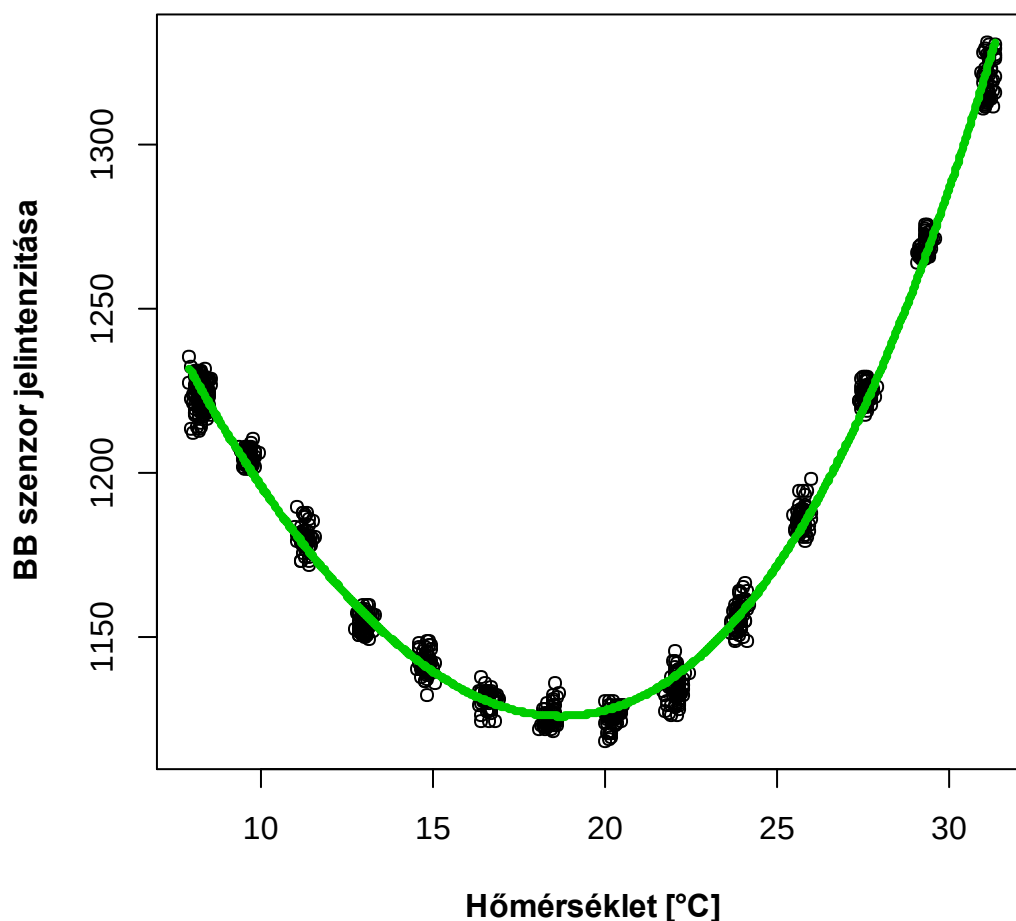
16. ábra ZZ szenzor jelintenzitása 0,1 M MSG modell-oldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt 426 mérési adatra illesztettük, a szignifikancia szintje 0,001. A determinációs együttható értéke 0,99. A 16. ábrán látható, hogy a jelingadozás nem rontotta le szignifikánsan a determinációs együtthatót.

Gyors hőmérsékletcsökkentéskor az általunk megmért 28 esetből a modell determinációs együtthatója 27 esetben 0,99; egy esetben pedig 0,78. Ez az egy eset a ZZ szenzor esetében adódott 1,2 v/v%-os gyümölcstartalmú narancslé mintára.

5. 5. Lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelés hatása

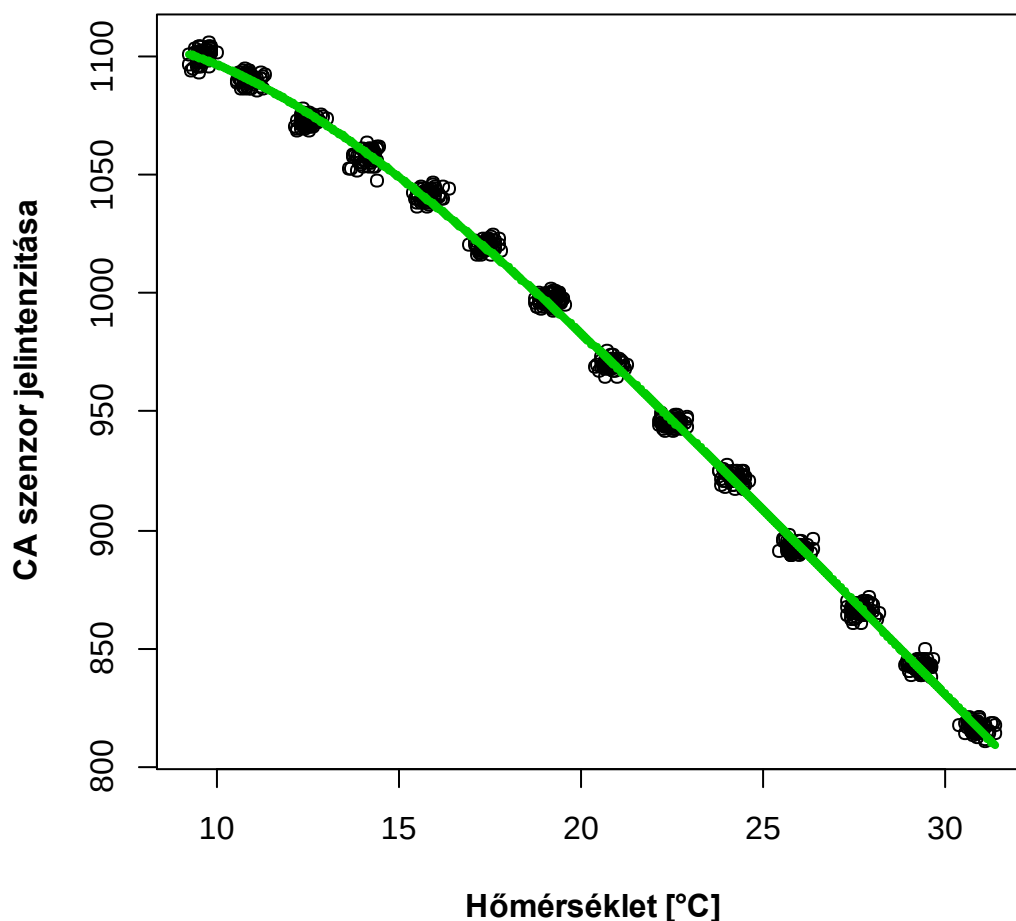
Harmadik, egyben utolsó hőmérsékletváltoztatási módnak a lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelést alkalmaztuk. Modellünket csak a fizikai adszorpció közben kialakult egyensúlyok beállta utáni mérési eredményekre illesztettük, így csak minden hatodik perc eredményeit használtuk fel. A 17. ábrán a BB szenzor jelintenzitása látható 0.1 M MSG modelloldatban a hőmérséklet függvényében.



17. ábra BB szenzor jelintenzitása 0.1 M MSG modelloldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt 900 mérési adatra illesztettük, a szignifikancia szintje 0,001; a determinációs együttható értéke 0,99. A 17. ábrán megfigyelhető, hogy a modell jól követi a mérési adatok tendenciáját. Ez esetben a logaritmikus tag és a lineáris tag volt meghatározó. Ehhez hasonló összefüggést mutatott még a GA szenzor 0,01 M HCl modell-oldatban a hőmérséklet függvényében.

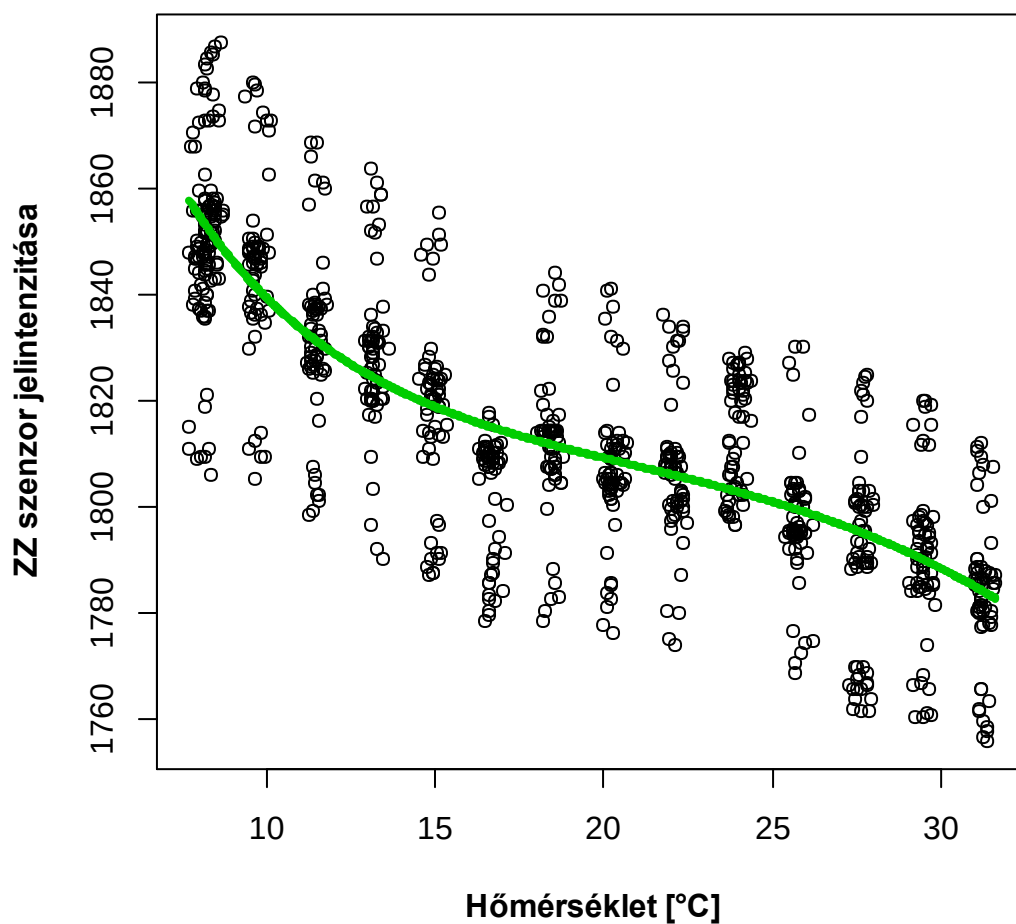
Lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelés hatására is kaptunk lineárishoz közelítő összefüggéseket. A 18. ábrán a CA szenzor jelintenzitása látható 0,01 M HCl modell-oldatban a hőmérséklet függvényében.



18. ábra CA szenzor jelintenzitása 0,01 M HCl modell-oldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt 840 mérési adatra illesztettük, a szignifikancia szintje 0,001. A modell determinációs együtthatója 0,99.

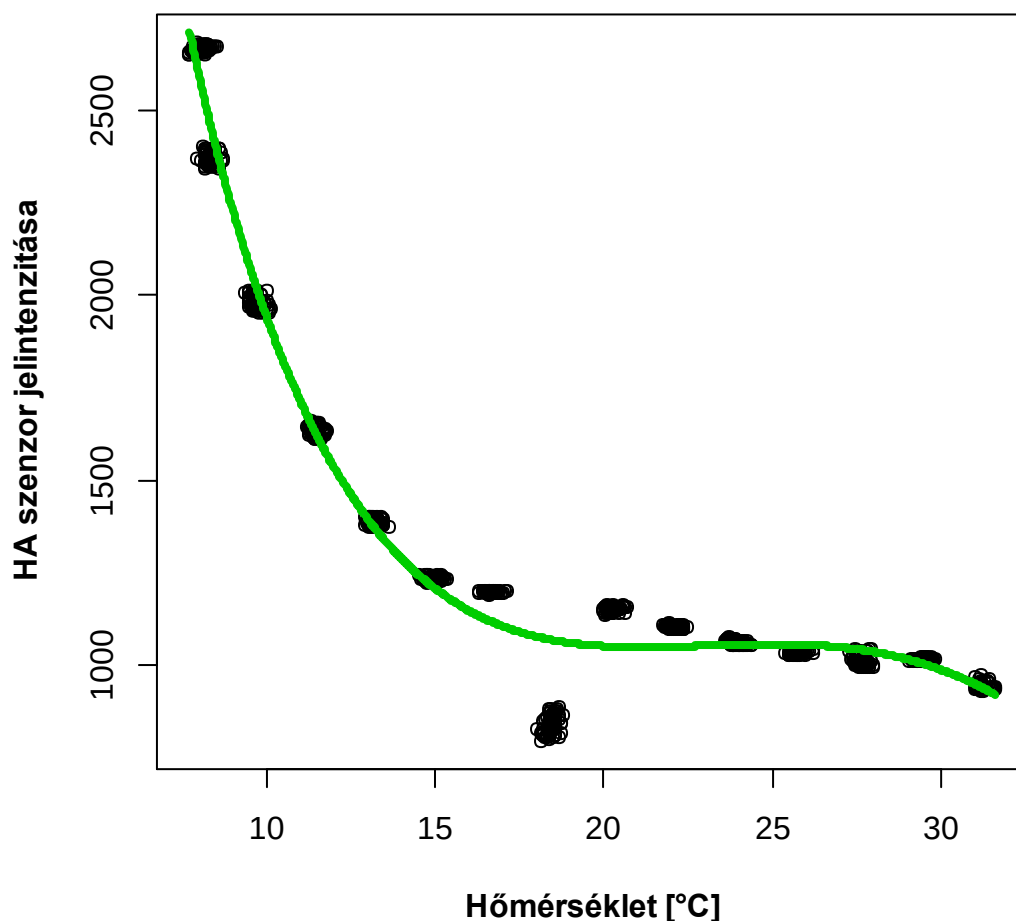
A ZZ szenzor esetében ismételt periodikus jelingadozást észleltünk. A ZZ szenzornál jelentkező zavaró hatás NaCl modell-oldatnál jelentkezett a legintenzívebben. A 19. ábrán a ZZ szenzor jelintenzitása látható 0.1 M NaCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében.



19. ábra ZZ szenzor jelintenzitása 0.1 M NaCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt 900 mérési adatra illesztettük, a szignifikancia szintje 0,001; ez esetben volt a legalacsonyabb a determinációs együttható értéke, csupán 0,63.

Lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelés következtében nem csak a ZZ szenzor esetében tapasztaltunk érdekes jelenséget. A 20. ábrán a HA szenzor jelintenzitása látható 0.1 M NaCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében.



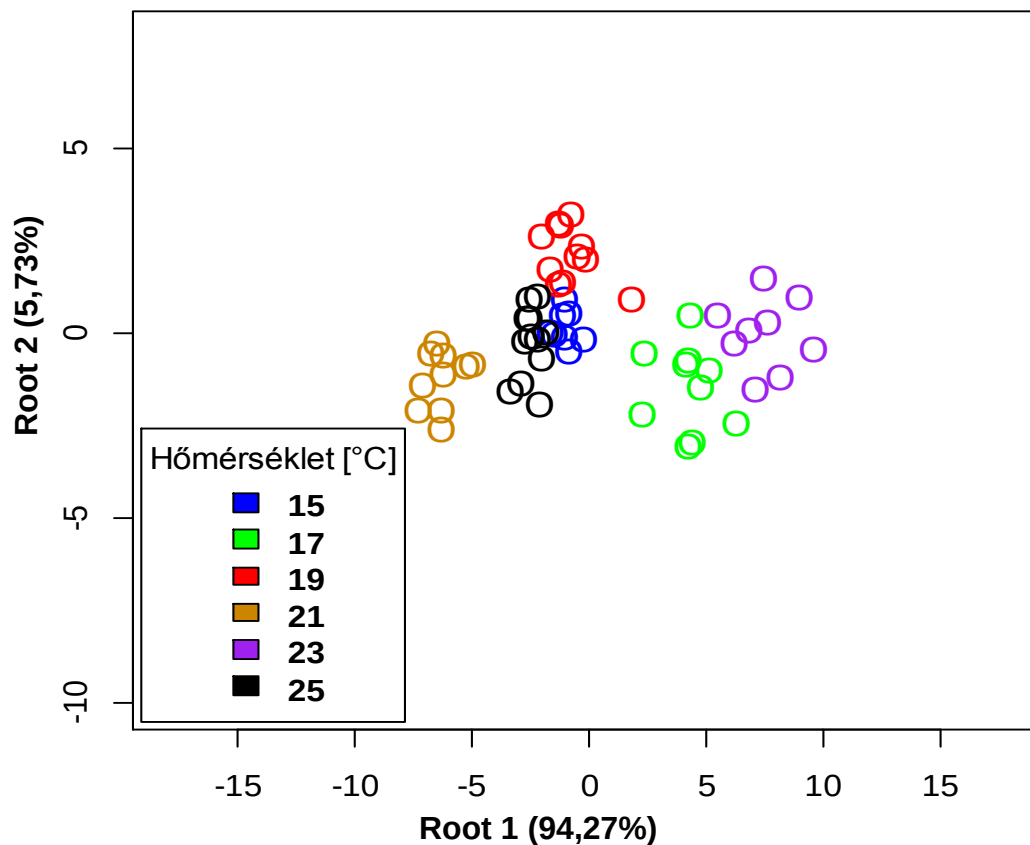
20. ábra HA szenzor jelintenzitása látható 0.1 M NaCl modelloldatban a hőmérséklet függvényében

A modellt 900 mérési adatra illesztettük, a szignifikancia szintje 0,001; a determinációs együttható értékét a 18°C körül tapasztalt szélsőérték rontja le, azonban még így is 0,97. A HA szenzor jelintenzitásában mintánként eltérő, szűk hőmérsékletintervallumon belül lokális szélsőérték figyelhető meg. A szélsőérték 60 mérési adat, így nem kiugró adatról van szó. A lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelések alkalmazásakor megmért 28 esetből a determinációs együttható 16 esetben 0,99; míg 4 esetben nem éri el a 0,95-öt. Ezen 4 esetből kettő a ZZ szenzornál, kettő a HA szenzornál adódott.

A HA szenzor esetében a mintáktól függő hőmérsékletintervallumon tapasztalt lokális szélsőérték csak a lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelések hatására volt megfigyelhető. Magyarázatot adhat a jelenségre a fizikai adszorpciós kötési energiák hőmérséklet függése. A jelenség további kutatást igényel.

5. 6. A modell validálása

A modell validálásához az 5. 1.-es pontban lejegyzett adatokat használtuk. Ezen adatok a modellalkotástól függetlenek. A 21. ábrán a különböző koncentrációjú, eltérő hőmérsékleten mért alma lé minták hőmérséklet szerinti diszkriminancia analízis ábrája látható a modell-korrekció után.



21. ábra Különböző koncentrációjú, eltérő hőmérsékleten mért alma lé minták hőmérséklet szerinti diszkriminancia analízis ábrája a modell-korrekció után

A diszkriminancia analízis kereszt-validációját a 4. táblázat mutatja be.

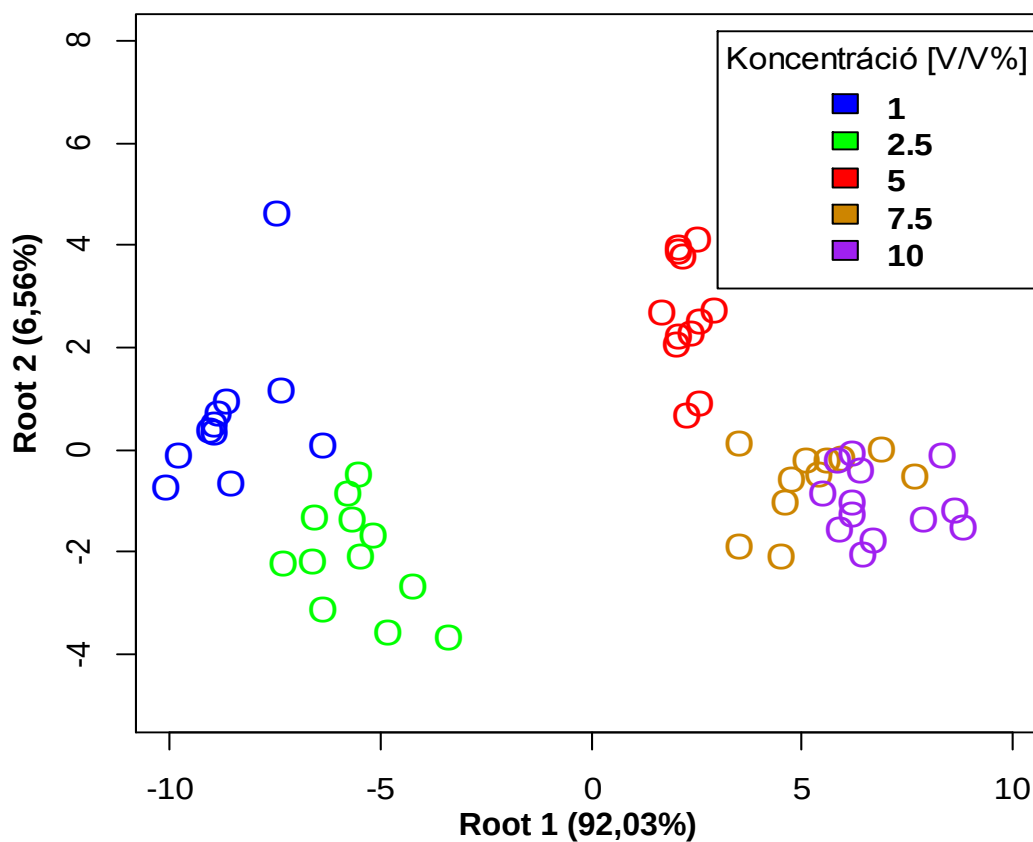
4. táblázat Különböző koncentrációjú, eltérő hőmérsékleten megmért alma lé minták modell-korrektció utáni, hőmérséklet szerinti diszkriminancia analízisének kereszt-validációja

		Valódi hőmérséklet [°C]					
		15°C	17°C	19°C	21°C	23°C	25°C
Becsült hőmérséklet [°C]	15°C	4	0	2	0	0	2
	17°C	0	9	0	0	1	0
	19°C	2	1	8	0	0	0
	21°C	0	0	0	10	0	0
	23°C	0	0	0	0	9	0
	25°C	4	0	0	0	0	8

Amint az a 21. ábráról és a 4. táblázatból leolvasható, a hőmérséklet szerinti osztályozás szignifikánsan leromlott. A csoportosítás hibája 0%-ról 20%-ra növekedett.

A korrekciós-modell alkalmazása tehát nagymértékben rontotta a hőmérséklet szerinti osztályozást, a hőmérséklet diszkrimináló hatása jelentősen csökkent.

A 22. ábrán ugyanezen eredmények koncentráció szerinti diszkriminancia analízis ábrája látható.



22. ábra Különböző koncentrációjú, eltérő hőmérsékleten megmért alma lé minták koncentráció szerinti diszkriminancia analízis ábrája a modell-korrektció után

A diszkriminancia analízis keresztvalidációja az 5. táblázatban látható.

5. táblázat Különböző koncentrációjú, eltérő hőmérsékleten mért almalé minták modell-korrektúra utáni, koncentráció szerinti diszkriminancia analízisének kereszt-validációja

		Valódi koncentráció [v/v%]				
		1.0%	2.5%	5.0%	7.5%	10.0%
Becsült koncentráció [v/v%]	1.0%	12	0	0	0	0
	2.5%	0	12	0	0	0
	5.0%	0	0	12	0	0
	7.5%	0	0	0	9	2
	10.0%	0	0	0	3	10

Amint azt a 22. ábra és az 5. táblázat mutatja, az osztályozás a korrekció után szignifikánsan jobb volt. Az osztályozás hibája 26,67%-ról 8,33%-ra csökkent. A modell segítségével a koncentráció szerinti csoportosítás hibájának több, mint kétharmad részét ki tudtuk küszöbölni.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A fentebb közölt eredményekre alapozva kijelentjük, hogy a hőmérséklet szignifikáns torzító hatást gyakorol az elektronikus nyelv mérési eredményeire. Eme torzító hatás komplex, összetett. Függ mind az alkalmazott szenzortól, a vizsgálati mintától és a hőmérsékletváltoztatás módjától is. Azonban ezen komplexitás ellenére sok közös paraméter is közrejátszik a torzító hatás kialakításában (félvezető anyaga, lipid-alapú membrán). Eme hasonlóságok következtében kivitelezhető, hogy a hőmérséklet okozta torzító hatás matematikai algoritmussal történő leírásakor hasonló alakú összefüggést alkalmazzunk. A tény, hogy a mérési paraméterek nagy számú kombinációja ellenére (alkalmazott szenzor, vizsgálati minta, alkalmazott hőmérsékletváltoztatás) egy összefüggéssel leírható a hőmérséklet torzító hatása, nagyban leegyszerűsíti a hőmérsékletkorrekció elvégzését, és a későbbiekben esetleges ipari alkalmazását, az algoritmus felprogramozását.

Az általunk megalkotott korrekciós modell megbízhatósága az elvégzett mérések és mérési adatok nagy számának köszönhetően kiváló, a szignifikancia szintje rendre 0,001 alatti. A modell determinációs együtthatója az esetek 76%-ánál 0,99-nél nagyobbak adódtak, és csupán az esetek 10%-ánál nem érte el a 0,95-öt. Ezen esetek mind a ZZ és a HA szenzornál adódtak. A ZZ szenzor mérési eredményeire a hőmérséklet hatásától független zavaró jel fejt ki torzító hatást. A HA szenzor mérési eredményeiben vizsgálati mintától függő szélsőértékek jelentkeznek. Mindkét jelenség a jövőben további kutatást igényel.

A korrekciós modell alkalmazása gyors, egyszerű és hatékony megoldást kínál eltérő hőmérsékletű minták elektronikus nyelvvel végzett méréseinek összehasonlítására és a mérési eredmények mérési hőmérsékletintervallumba eső hőmérsékletre történő korrekciójára. A modell alkalmazható a modellalkotástól független mérésekre. A modell alkalmazása szignifikánsan növelte a hőmérséklet szerinti osztályozás hibáját és szignifikánsan csökkentette a koncentráció szerinti osztályozás hibáját. Ebből kifolyólag a modell alkalmazásával szignifikánsan csökkenthető a hőmérséklet elektronikus nyelvre gyakorolt torzító hatása.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteinkkel a hőmérséklet elektronikus nyelvre gyakorolt torzító hatását vizsgáltuk. A torzító hatást matematikai algoritmussal leírtuk, és korrekciós modellt alkottunk meg, majd modellünket matematikai statisztikai módszerekkel felülvizsgáltuk. Kísérleteink során egy Alpha Astree márkájú (Alpha M.O.S., Toulouse, Franciaország) elektronikus nyelvvel dolgoztunk. A hőmérséklet hatását hét különböző szenzoron, öt különböző mintán és három különböző hőmérsékletváltoztatási mód mellett vizsgáltuk. Az alkalmazott szenzorokra a gyártó az alábbi megnevezéseket adja meg: ZZ, BA, BB, CA, GA, HA és JB. Vizsgálati mintáink modell-oldatok (melyekkel az egyes alap ízeket szimuláltuk) és komplex élelmiszer minták voltak (narancs- és alma lé). Alkalmaztunk gyors hőmérsékletemelést, gyors hőmérsékletcsökkentést és lassú, lépcsőzetes hőmérsékletemelést. Mérési eredményeink azt mutatták, hogy a hőmérséklet okozta torzító hatás szenzortól, vizsgálati mintától és a hőmérsékletváltoztatás módjától függetlenül hasonló alakú matematikai algoritmussal írható le. Az általunk megalkotott korrekciós modell összetett függvény, mely egy logaritmikus, egy hatvány, és egy lineáris tagból áll. A korrekciós modell megbízhatósága és illeszkedése a mérési eredményekre kitűnő. Modellünk gyors, egyszerű és hatékony megoldást kínál a hőmérséklet elektronikus nyelvre gyakorolt hatásának korrekciójában. Ezen tulajdonságok megkönnyíthetik a modell jövőbeni ipari alkalmazását, a műszer továbbfejlesztését. A modell a műszer széleskörű felhasználási lehetőségeiből fakadóan nagy hasznára válhat az élelmiszer iparnak, a gyógyszeriparnak, a vegyiparnak és a környezetvédelemnek egyaránt.

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni a Fizika – Automatika Tanszék munkatársainak, hogy mind szakmai tudásukkal, mind emberi hozzáállásukkal segítettek munkám. Különösképp köszönettel tartozom konzulenseimnek: Prof. Dr. Fekete Andrásnak segítségéért, támogatásáért és belém fektetett bizalmáért, és úgyszintén köszönet illeti Szöllősi Dánielt, akihez szintén bármikor fordulhattam tanácsért, segítségért. Külön köszönet illeti Kovács Zoltánt is, aki tanácsaival, ötleteivel úgyszintén segítette munkám.

Köszönet illeti Dr. Amtmann Máriát a téma kolloidkémiai aspektusának megismerésében nyújtott segítségéért.

Továbbá köszönöm családomnak és barátaimnak a támogatásukat, bizalmukat. Nélkülük úgyszintén nem jöhetett volna létre e munka.

Köszönöm

9. IRODALOMJEGYZÉK

Alpha M.O.S. Users Manual. 2003, Electronic Tongue for Liquid and taste Analysis. Toulouse, France

Bleibaum, R. N., et al., (2002): Comparison of sensory and consumer results with electronic nose and tongue sensors for apple juices. *Food Quality and Preference*, 13 (6), 409-422

Vlasov, Y., et al., (2002): Electronic tongues and their analytical application. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373 (3), 136-146

Kobayashi, Y., et al., (2010): Advanced Taste Sensors Based on Artificial Lipids with Global Selectivity to Basic Taste Qualities and High Correlation to Sensory Scores. *Sensors*, 10 (4), 3411-3443

Persaud, K.&Dodd, G., (1982): Analysis of Discrimination Mechanisms in the Mammalian Olfactory System Using a Model Nose. *Nature*, 299 (5881), 352-355

Team, R. D. C., (2011): R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, <http://www.R-project.org>

Singer, S. J., Nicolson, G. L., The fluid mosaic model of the structure of cell membranes, *Science*, 175 (1972), pp. 720–731

Engelman, D. M., Introduction Membranes are more mosaic than fluid, *Nature* 438, 578-580, 2005

Grinstein, S., Dixon, S.J, (1989) Ion transport, membrane potential, and cytoplasmic pH in lymphocytes: changes during activation. *Physiol Rev* 69:417–481

Wendin, K., et. al., Do facial reactions add new dimensions to measuring sensory responses to basic tastes?, *Food Quality and Preference*, Volume 22, Issue 4, June 2011, Pages 346–354

Thibodeau, G. A., Patton, K. T., *Anatomy and Physiology*, 2003, Mosby

Toko, K. , *Biomimetic Sensor Technology*, Cambridge Press, 2000

Rudnitskaya, A., Legin, A., Sensor systems, electronic tongues and electronic noses, for the monitoring of biotechnological processes, *J Ind Microbiol Biotechnol* (2008) 35:443–451

Ivarsson, P., et. al., Comparison of a voltammetric electronic tongue and a lipid membrane taste sensor, *Analytica Chimica Acta* 449 (2001) 59–68

Polshin, E., et. al., Electronic tongue as a screening tool for rapid analysis of beer, *Talanta* 81 (2010) 88–94

Rudnitskaya, A., et. al., Instrumental measurement of beer taste attributes using an electronic tongue, *Analytica Chimica Acta* 646 (2009) 111–118

- Ciosek, P., Wróblewski, W., The recognition of beer with flow-through sensor array based on miniaturized solid-state electrodes, *Talanta* 69 (2006) 1156–1161
- Legin, A., et. al., Electronic tongue for quality assessment of ethanol, vodka and eau-de-vie, *Analytica Chimica Acta* 534 (2005) 129–135
- Escuder-Gilabert, L., Peris, M., (2010): Review: Highlights in recent applications of electronic tongues in food analysis. *Analytica Chimica Acta*, 665 15.-25. p
- Kovács, Z., et. al., Geographical origin identification of pure Sri Lanka tea infusions with electronic nose, electronic tongue and sensory profile analysis, Wiley InterScience: 2010
- Woertz, K., et. al., Taste sensing systems (electronic tongues) for pharmaceutical applications, *International Journal of Pharmaceutics* 417 (2011) 256– 271
- Mimendia, A., et. al., A review of the use of the potentiometric electronic tongue in the monitoring of environmental systems, *Environmental Modelling & Software* 25 (2010) 1023–1030
- Bergveld, P., Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years, *Sensors and Actuators B* 88 (2003) 1–20
- Chou, J.-C., et. al., Study of the temperature effects of Al_2O_3 gate pH-ISFET, *Sensors and Actuators B* 81 (2001) 152-157
- Chiang, J.-L., et. al., Study on the temperature effect, hysteresis and drift of pH-ISFET devices based on amorphous tungsten oxide, *Sensors and Actuators B* 76 (2001) 624-628
- Martinoia, S., et. al., Temperature effects on the ISFET behaviour: simulations and measurements, *Sensors and Actuators B* (1998) 60–68
- R-project (R Development Core Team, 2011)
- Komsta, L., (2011), Package 'outliers', <http://cran.r-project.org/web/packages/outliers/outliers.pdf>
- Madsen, K., et. al., METHODS FOR NON-LINEAR LEAST SQUARES PROBLEMS 2nd Edition, April 2004, Informatics and Mathematical Modelling Technical University of Denmark
- Mikat, S., et. al., FISHER DISCRIMINANT ANALYSIS WITH KERNELS, 0-7803-5673 X/99/\$10.00 01 999 IEEE
- Hastie, T., Tibshirani, R., Buja, A., Flexible Discriminat Analysis by Optimal Scoring, *Journal of the Americal Statistican Association*, vol. 89, No. 428, 1994
- Karatzoglou, A., Meyer, D., Support Vector Machines in R, *Journal of Statistical Software*, vol.15, Issue 9, 2006
- www.biology.arizona.edu

Kamo, N.; Miyake, M.; Kurihara, K.; Kobatake, Y. Physicochemical studies of taste reception. I. Model membrane simulating taste receptor potential in response to stimuli of salts, acids and distilled water. *Biochim. Biophys. Acta* 1974a, 367, 1–10.

Kamo, N.; Miyake, M.; Kurihara, K.; Kobatake, Y. Physicochemical studies of taste reception. II. Possible mechanism of generation of taste receptor potential induced by salt stimuli. *Biochim. Biophys. Acta* 1974b, 367, 11–23.

Rudnitskaya, A., et. al., Instrumental measurement of beer taste attributes using an electronic tongue, *Analytica Chimica Acta* 646 (2009) 111–118

Szöllősi, D., Hőmérséklet hatása modell oldatok és almalevek elektronikus nyelvvel mért eredményeire, 2010