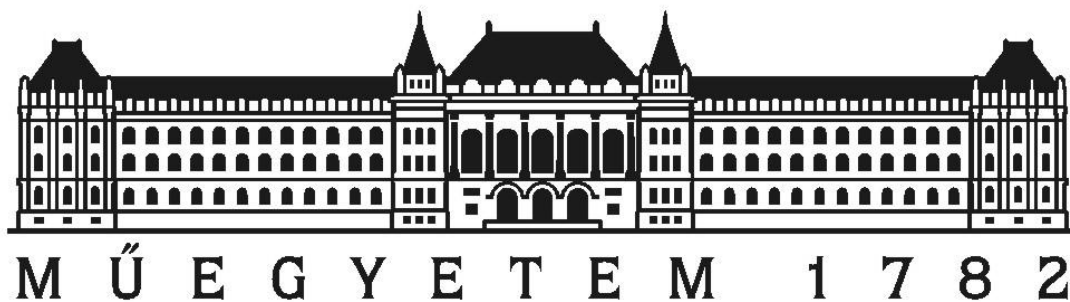




Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

Vegyésszmérnöki és Biomérnöki Kar

Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

**Szénhidrátkeverékek vizsgálata
közeli infravörös spektroszkópiával
és sokváltozós adatelemzéssel**

TDK-dolgozat

Készítette:

Gál Zalán

biomérnök Bsc hallgató

Témavezetők:

Slezsák János

egyetemi tanársegéd

Dr. Gergely Szilveszter

egyetemi docens

Budapest 2022

Tartalom

1.	Bevezetés és célkitűzés.....	3
2.	Irodalmi áttekintés.....	4
2.1.	Minőségirányítási rendszerek, a minőség jelentősége az iparban	4
2.1.1.	A minőségirányítás szerepe a gyógyszeriparban.....	4
2.1.2.	Minőségirányítás az élelmiszeriparban	6
2.2.	Közeli infravörös spektroszkópia	7
2.2.1.	A közeli infravörös spektroszkópia kialakulása	7
2.2.2.	A közeli infravörös spektroszkópia elméleti háttere	8
2.2.3.	A közeli infravörös spektrumok asszignálása	9
2.2.4.	A közeli infravörös készülékek működése	10
2.3.	Porkeverékek.....	11
2.3.1.	Porkeverékek jelentősége	11
2.3.2.	Porkeverékek analízise NIR spektroszkópiával	12
3.	Anyagok és módszerek.....	13
3.1.	A minták kiválasztásának elve	13
3.2.	A minták jellemzése	13
3.2.1.	Glükóz	13
3.2.2.	Fruktóz.....	14
3.2.3.	Szacharóz.....	14
3.3.	Mintaelőkészítés, mintakezelés	15
3.3.1.	A minták fizikai megjelenése	17
3.4.	Spektroszkópiai mérési módszerek	19
3.4.1.	Diszperziós (DS) optikai elrendezésű készülék adatai	20
3.4.2.	Diódasoros (DA) optikai elrendezésű készülék adatai	21
3.5.	Statisztikai módszerek	22
3.5.1.	SNV és MSC normálás.....	22
3.5.2.	Simítással kombinált deriválás	22
3.5.3.	Főkomponens-elemzés (PCA).....	23
3.5.4.	Alkalmazott szoftverek.....	23
4.	Eredmények és értékelésük	24
4.1.	A diszperziós készülékkel kapott spektrumok elemzése	24
4.2.	A diódasoros készülékkel kapott spektrumok elemzése.....	31
4.3.	Matematikailag előkezelt spektrumok értékelése.....	33
4.4.	Főkomponens-elemzés eredményei.....	38
4.4.1.	Kezeletlen Vis-NIR spektrumok főkomponens-elemzése.....	38
4.4.2.	Normált és derivált NIR spektrumok főkomponens-elemzése	41
4.4.3.	DA készülék spektrumainak főkomponens-elemzése	44
5.	Összefoglalás.....	47
	Irodalomjegyzék.....	48
	Köszönetnyilvánítás	50

1. Bevezetés és célkitűzés

A gyógyszer- és élelmiszeriparban gyakran van szükség nem csak tiszta komponensek, hanem különböző porkeverékek gyors, nagy áteresztőképességű vizsgálatára. Az említett iparágakban a minőségre vonatkozó előírások tekintetében elengedhetetlen a megbízható és pontos analitikai módszerek alkalmazása, illetve a korszerű technológiák megfelelő felhasználása és beépítése a gyártási folyamatokba.

A rezgési spektroszkópiai módszerek közül a közeli infravörös (*near infrared*, NIR) technika roncsolásmentesen képes nem csak kémiai, hanem egyes fizikai jellemzők meghatározására is. Kutatásom során a technika alkalmazhatóságát vizsgálom különböző, eltérő fizikai és kémiai jellemzőkkel bíró szénhidrát alapú modellrendszerek mérésével. Dolgozatomban külön figyelmet szentelek a mintaelőkészítés mérési eredményeket befolyásoló aspektusának, nevezetesen az eltérő szemcseméret és a szétosztályozódás NIR mérésekre gyakorolt hatásának.

A vizsgált többkomponensű porkeverékek összeállításakor a céloom többek között az volt, hogy bennük az egyes monoszacharidok, illetve a belőlük felépülő diszacharidok arányát közelítő jelleggel, kvalitatív jelleggel meg tudjam határozni az infravörös spektrumok alapján. A keverékekről az eltérő optikai rendszerű készülékkel felvett spektrumokat különböző spektrum-előkezelési és sokváltozós adatelemző módszerekkel értékeltem ki.

Céloom hogy megtaláljam az alkalmazott készülékek és a kiértékelési módszerek olyan kombinációját, melyet a megfelelő spektrumszakaszokon alkalmazva a későbbiekben lehetővé válhat a vizsgált rendszerekhez hasonló porkeverékek pontos minősítése akár kvalitatív, akár kvantitatív tulajdonságok alapján.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Minőségirányítási rendszerek, a minőség jelentősége az iparban

A különböző termékek és szolgáltatások minőségét már a történelem kezdete óta igyekeznek az emberiség valamilyen módon monitorozni, ezáltal, ahogyan a gyártási folyamatok és a technológia fejlődött az idők során, a minőség fogalma és minőség vizsgálata is folyamatosan változott. A legjelentősebb változások az Ipari Forradalomhoz köthetők, mely során az addig kis mennyiségben, esetenként kézzel készített termékek gyártását a tömeggyártás vette át. Innentől egyre inkább szerepet kapott a különböző gyártási folyamatok külön-külön történő vizsgálata. Ahogy az iparágak fejlődtek, úgy a különböző gyártási technológiák és folyamatok is egyre összetettebbé váltak, ezáltal a minőség biztosítása egyre nagyobb feladatnak bizonyult. Mivel ekkorra már a tömeggyártás elérte azt a szintet, ahol az egyszerre megtermelt termékek mennyisége már túl sok volt az individuális minőségellenőrzésre, egyre nagyobb lett az igény a statisztikai minőségirányításra, mely a reprezentatív mintákon keresztül adott információt az előállított termékek minőségéről. [1]

Napjainkban már számos minőségirányítási rendszer áll rendelkezésre a piac és a fogyasztók egyre inkább növekvő minőségorientált szemléletének kielégítésére. A minőségirányítás alatt az egész gyártási folyamatra és vállalati struktúrára kiterjedő princípiumokat értünk, melyek magukba foglalják a vonatkozó szabályozásokat és szabványokat így alapot szolgáltatnak a megfelelő működésre. [2]

A gyógyszer- és élelmiszeriparokban hangsúlyos szereppel rendelkező termékbiztonság és termékminőség biztosítására a GMP (*Good Manufacturing Practice*), azaz „jó gyártási gyakorlat” foglalja össze az irányelveket és alkalmazható gyakorlatokat. Fő elemei a megfelelő gyártási műveletek és megfelelő ellenőrzés melyek egymással összefüggésben állnak. Az innováció is nagy szerepet kap a GMP rendszerekben, főként a gyógyszeripar területén, ezáltal a korszerű technológiák és statisztikai elemek egyaránt helyet kapnak benne. [2]

2.1.1. A minőségirányítás szerepe a gyógyszeriparban

A gyógyszeripar egyike a legnagyobb globális iparágaknak, így kiemelten fontos a megfelelő minőségirányítás alkalmazása ahhoz, hogy a folyamatosan változó technológiai és szabályozási környezethez alkalmazkodni tudjon. A 20. század végére azonban a gyógyszeriparban országonként eltérő gyakorlatok jelentősen megnehezítették az új típusú gyógyszerkészítmények behozatalát, gyakorlatilag minden ellenőrzési és engedélyeztetési

folyamatot duplikálni kellett, ami az ipar költségeit is jelentősen növelte, a betegellátást pedig lassította. Így született meg a Nemzeti Egységesítési Konferencia (*International Conference on Harmonization*, ICH) 1990-ben, egy WHO konferencia keretein belül. Az ICH ajánlásai egyszerűsítették a gyógyszerekre vonatkozó szabályozási környezetet, így a fejlesztési idő is csökkent. [3]

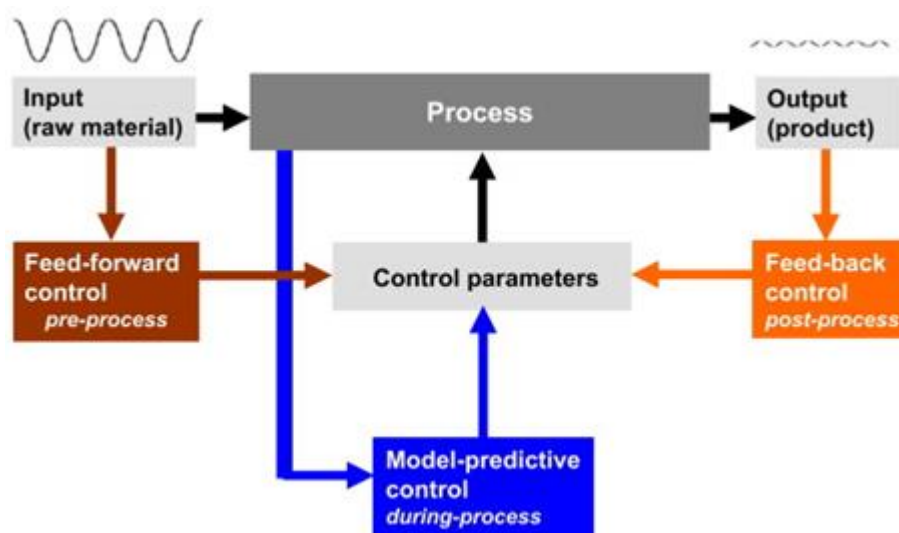
Végül az ICH által bevezetett irányelvek mentén kialakult a „tervezés általi minőség” (*Quality by Design*, QbD) fogalma melyből a gyógyszerészeti QbD kifejlődött. A QbD koncepció megfogalmazásában a termékbe épített minőséget tartja a központi elemnek. Az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (*Food and Drug Administration*, FDA) arra ösztönzi a gyógyszergyártókat, hogy alkalmazzák a QbD elveket a fejlesztési, gyártási és szabályozási folyamatokban, ezzel együtt a kockázatalapú megközelítéseket is ösztönzi. [4]

A gyógyszerészeti QbD szisztematikusan közelíti meg a fejlesztést, ezáltal olyan célokat fogalmaz meg, amelyek a termékek és folyamatok megértését és ellenőrzését helyezik fókuszba. Ezek a célok megalapozott tudományos és minőségi kockázatkezelésen alapulnak. A megfogalmazott célok közé tartozik a klinikai teljesítményen alapuló minőségi előírások kialakítása; a folyamattervezésen, megértésen és ellenőrzésen alapuló termékhiba-csökkentés és kapacitásnövelés, termékfejlesztés a gyártás hatékonyabbá tétele által és végül a kiváltó okok (gyökérokok) elemzése. [4]

A minőségközpontú gyártás-fejlesztés megvalósulásának legfontosabb elemei közé tartoznak a korszerű folyamatelemző és ellenőrző technológiák, az úgynevezett PAT rendszerek (*process analytical technologies*). Az ilyen rendszerek beépítésével lehetőség nyílik egy adott gyártási folyamat például, termékhomogenitás monitorozására. A tervezett vagy beépített minőség koncepciójának eléréséhez a PAT rendszer önmagában ötvözi a különböző mérnöki és tudományos területeket egy többdimenziós multidiszciplináris adatparadigmán keresztül. Az elmúlt években nagy fejlődés tapasztalható az on-line és in-line folyamatok modern spektroszkópiai műszerekkel történő kombinálása terén. Ezek közül kiemelendő a spektroszkópiai mérésekre alkalmas NIR és Raman-spektroszkópiai technikák. A gyors és nagy áteresztőképességgel rendelkező készülékek beépítése által alkalmasak alapanyag, gyártásközi- vagy végtermék analízisre is. [5]

2.1.2. Minőségirányítás az élelmiszeriparban

A gyógyszeriparhoz hasonlóan az élelmiszeripar is egy hasonlóan szigorú szabályozási és előírási rendszerben működik, így nem meglepő, hogy a QbD paradigma is megjelent az iparágban, hasonlóan „termékbe tervezett minőségen” (tehát a folyamatkontroll és a gyártási szegmensek ellenőrzése) és nem posztmaunfakturális minőségtesztelésen alapulva. Eltérően a gyógyszerektől azonban az élelmiszerek mátrixa jóval összetettebb, heterogén molekulákból állnak (főként lipidek, fehérjék, szénhidrátok stb.), így ellenőrzésük jóval nehezebb, azonban ennek köszönhetően talán még fontosabb. A korábbi, jóval időigényesebb, *off-line* laboratóriumi ellenőrzést lassanként felváltja az *in situ*, *on-line*, *in-line* többváltozós adatgyűjtéseken alapuló analitikai megközelítés, nevezetesen a PAT rendszerekbe megfelelően integrálható spektroszkópai technikák. Ezáltal a gyártók képesek a kívánt minőségű végtermékeket a gyártást követő minőségtesztelés (*post-problem*), vagy visszacsatolós szabályozás helyett a probléma közbeni (*during problem*) illetve az ún. modell-prediktív folyamatvezérlés elve szerint előállítani (1. ábra). Ez röviden annyit tesz, hogy a nyersanyagok nagyobb eltéréseit a gyártás közbeni folyamatbeállításokkal kompenzálják. A PAT rendszerekben leggyakrabban implementált spektroszkópai módszerek az ultraibolya-látható (UV-Vis), a közeli infravörös (*near-infrared*, NIR), a közép infravörös (*mid infrared*, MIR) spektroszkópia illetve a Raman-spektroszkópia. Míg az UV-Vis jóval korlátozottabb és szelektívebb felhasználhatóságot nyújt működési elvéből fakadóan, addig a NIR és Raman spektroszkópia nagyobb felhasználhatósági körrel rendelkezik. [6][7][8]



1. ábra: Különböző elveken működő folyamatirányítási rendszerek

2.2. Közeli infravörös spektroszkópia

A NIR spektroszkópia alapja a molekulák közötti kölcsönhatások eltérő kölcsönhatása a közeli infravörös tartományú (800-2500 nm) sugárzással, ezáltal szolgáltatnak adatot az összetételükről. Ebből fakadóan a NIR technikát a gyorsaságából és egyszerű mintaelőkészítést igénylő metodikájából fakadóan a gyorsvizsgálati módszerek egy igen praktikus, gyakran alkalmazott módszereként tartjuk számon. [9]

2.2.1. A közeli infravörös spektroszkópia kialakulása

A spektroszkópia, azon belül a NIR technika alapjait *Sir Isaac Newtonnak* köszönhetjük, aki kísérletei során bizonyította és dokumentálta a fénytörés jelenségét prizmán keresztül. A prizma a szobájába besűrűdő fehér fényt különböző színekre bontotta fel, leginkább eltérítve a vörös illetve legkevésbé a lila színt. [10]

Sir William Herschel volt az, aki későbbi kutatásai során a fény emberi szemmel láthatatlan tartományainak, ezzel együtt az infravörös tartomány létezését bizonyította. Teóriáját a prizma által felbontott fény különböző hullámhosszokhoz tartozó energiáinak észlelésével sikerült bizonyítania. Első mérése során hőmérőre történő fényprojekcióval sikerült felismernie, hogy az akkor még elméletben nem ismert, emberi szám által nem látható fénytartományok is jelen vannak a felbontott napfény spektrumában, mivel amikor a vörös fény tartományán túlhaladt, a hőmérő a szobahőmérséklettől magasabb hőmérsékletet mutatott. Ezt követően a latin *infra* előtagot adta az újonnan felfedezett tartománynak, mely annyit tesz, „alatt”, utalva a vörös színtartomány alatti elhelyezkedésre. Kutatásait később megismételte vízmintákkal is, melyből egyértelműen azt az eredményt tudta kimutatni, hogy az infravörös tartományú fénnel besugárzott vízminta felmelegedett. [9][10]

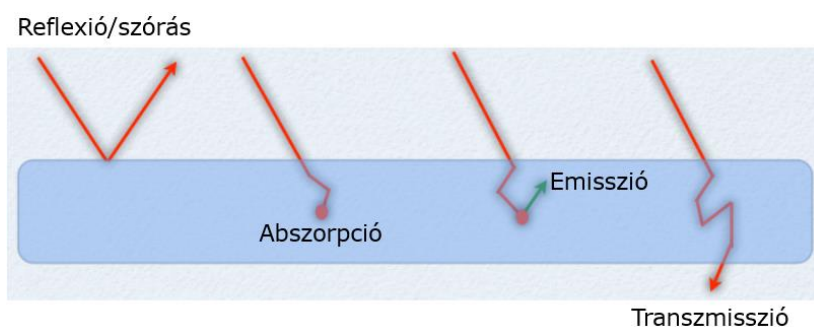
Herschelt követően *William Weber Coblentz* az általa készített infravörös spektrométert alkalmazva hosszas kutatás után (melyet az 1000-15000 nm közötti hullámhossztartományban végzett több mint száz vegyülettel) megállapította, hogy nem létezik két olyan vegyület, melynek spektruma megegyezne egymással. *Coblentz* továbbá dokumentálta azt a felfedezését is, miszerint adott vegyületcsoportokba tartozó vegyületek abszorpciós sávjai között párhuzam áll fent, ezáltal előrelépést tett a szerkezetfelderítés területén is. [9][10]

A modern közeli infravörös tartományon alapuló technikák egyik pionírja *Karl H. Norris*, akinek munkássága fektette le az alapjait NIR módszerek napjainkig tartó fejlődésének és elterjedésének. *Norris*, aki az agrárterületen végezte kezdetben kutatásait, elsőként az akkor még kezdetleges technológiával szójabab nedvességtartalmát próbálta kimutatni 1940 nm hullámhosszon. [11]

2.2.2. A közeli infravörös spektroszkópia elméleti háttere

A módszer a fény-anyag kölcsönhatáson alapszik. Az elektromágneses sugárzás természetét *Maxwell* fogalmazta meg, miszerint a sugárzást két, egymásra merőleges elektromos és mágneses mezőnek tekintjük, amelyek egymásra merőleges síkban rezegnek. Ezek a mezők egymással fázisban vannak és szinuszhullámként terjednek. [11]

Az infravörös fotonok a molekulák forgási és rezgési állapotát változtatják meg (gerjesztik), ezáltal a fotonok egy része elnyelődik (abszorpció), másik része áthalad a mintán (transzmisszió), megint másik rész pedig teljesen más utat jár be (pl. reflexió; elhajlás, szóródás stb.) (2. ábra).



2. ábra: Fény-anyag kölcsönhatások

A közeli infravörös spektroszkópia tartománya a 800-2500 nm közötti tartomány, melyből a 800-1100 nm között elhelyezkedő tartományt a transzmissziós méréseknél, az 1100-2500 nm közötti tartományt a reflexiós méréseknél alkalmazzuk. A módszer spektrumok formájában szolgáltat adatokat, mely a fény a molekulákban található kötések különböző hullámhosszokon történő abszorpciójából tevődik össze. A kétatomos molekulák klasszikus, rugó-modell szerinti leírásával szemben a molekulák véges számú rezgési energiaszinttel rendelkeznek, azaz a folytonos eloszlás helyett diszkrét energiaszintek léteznek, tehát ideális esetben független, kétatomos harmonikus oszcillátorok sorozataként foghatjuk fel. Egy N atomból álló molekula $3N-6$ független rezgéssel rendelkezik, amennyiben nem lineáris (ebben az esetben $3N-5$ a független rezgések értéke). [8][9]

Amennyiben az 0. energianívóról az energiaszint az első energianívóra ugrik, alaprezgésről beszélünk, azonban ha ennél magasabb nívóra történik a gerjesztődés, felhangként definiáljuk azt. Az alapállapotról, tehát a 0. energianívóról két külön energiaszintre történő ugrások ún. kombinációs sávokat eredményeznek. A felhangok és kombinációs átmenetek úgynevezett tiltott átmenetnek tekinthetők, ennek ellenére legtöbbször megjelennek a spektrumban. [9][10]

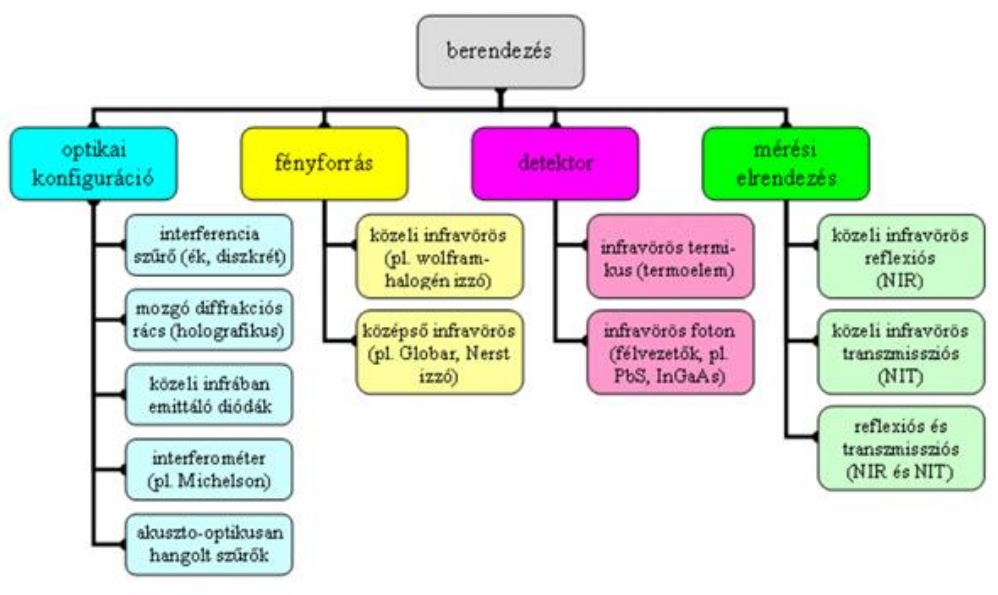
2.2.3. A közeli infravörös spektrumok asszignálása

A NIR spektrumok mind fizikai, mind kémiai információval szolgálnak az anyag természetét illetően. Mivel a NIR spektroszkópia roncsolásmentesen és vegyszeres előkészítést nem igényelve képes vizsgálni a mintákat, így alkalmas kémiai analízisre, molekuláris összetétel vizsgálatára. A különböző funkciós csoportok, különösen a $-CH$, $-OH$ és $-NH$ miatti abszorpciók molekuláris felhangokként és kombinált rezgéseként jelennek meg meghatározott hullámhosszakon. A NIR spektrális adatokat a részecskeméret (például őrölt vagy szemcsés minták) befolyásolja, és megfelelően kalibrálni kell. Az említett aspektusoknak köszönhetően a NIR módszert „ujjlenyomat-technikának” is nevezik. [13][14]

A kvantitatív elemzés alapelvei alapvetően változatlanok minden optikai és spektrális mérési módszernél. Bármely kvantitatív elemzés alapelve az, hogy a kívánt mennyiség, tulajdonság, paraméter vagy vegyület meghatározható egy műszerrel kapott jelből, és ez a jel egy adott kísérleti rendszerre vonatkozóan előre láthatóan különbözik. A kvalitatív elemzés fontos velejárója a matematikai elemzés és a nyers spektrumok matematikai kezelése (pl. alapvonalkorrekció). A főkomponens-elemzés (*principal component analysis*, PCA) és a részleges legkisebb négyzetek módszere alapvető statisztikai módszerek a spektrumból nyert adatok elemzésére, de természetesen a sokváltozós adatelemzés eszköztárából más módszereket is szokás alkalmazni a spektrumok értékelésére. [13]

2.2.4. A közeli infravörös készülékek működése

A közeli infravörös tartományt alkalmazó készülékek csoportosítása többféleképpen történhet. A legjelentősebb csoportosítás a mérési elrendezés szerinti elkülönítés (3. ábra).



3. ábra: Az infravörös készülékek különböző csoportosítási lehetőségei

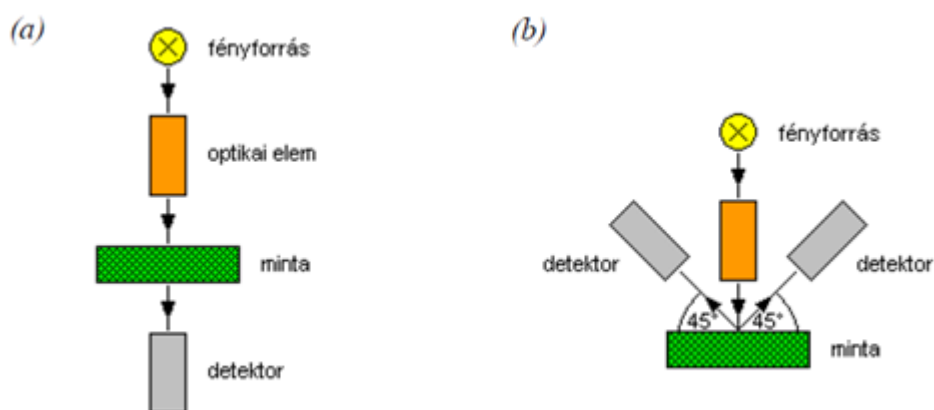
A transzmissziós elrendezésű mérések során a fény áthatol a mintán. Ennél az elrendezésnél a szemcseméret fontos szempont, mivel a nagyobb szemcsemérettel rendelkező minták informatívabb spektrumokat szolgáltatnak a porózusabb, kisebb szemcseméretű mintáknál. Ez a sugárzás nagyobb mértékű visszaverődésére vezethető vissza, ami által a detektorra jutó fény mennyisége csökken és negatívan befolyásolja a jel/zaj arányt. [9][10]

Transzmissziós mérési elrendezés esetén (4/a ábra) a transzmittancia (T) a mintát érő sugárzás (I_0) és a mintán áthatoló sugárzás (I_T) hányadosaként felírható és definiálható. A transzmittancia a vizsgált alkotó koncentrációjával nem lineáris, hanem logaritmikus kapcsolatban áll, így bevezetésre került egy származtatott mennyiség, az abszorbancia (A). Az abszorbancia a transzmittancia negatív tízes alapú logaritmus, így kapcsolatot teremt a koncentráció és a transzmittancia között. [9][10]

Az abszorbancia függ a vizsgált minta rétegvastagságától illetve az úgynevezett abszorpciós koefficiensről is. Ezt a spektroszkópai összefüggést nevezzük Lambert–Beer-törvénynek.

A reflexiós elrendezésű (4/b ábra) méréseknél a minta felszínére merőlegesen esik a kibocsájtott fénysugár, ami ezt követően minden irányba visszaverődik. Ebben az esetben a mintát érő fénysugár igen csekély mértékben (maximum néhány tized milliméter) jut be a

mintamátrixba úgy, hogy onnan ún. diffúz reflexióval a minta ugyanazon oldalán kilépjen, így az ilyen formán nyert adatok a minta felszíni rétegére vonatkoznak. A transzmittanciával ekvivalens módon a reflektancia (R) is felírható hányados alakban, azonban itt a visszavert (I_R) illetve egy nem abszorbeáló standrand felületről (I_{ST}) visszavert fény intenzitásának hányadosaként. Reflexiós méréseknél is definiálható az abszorbancia, mely itt is logaritmikus függést jelöl. [9][10]



4. ábra: Transzmissziós és reflexiós elrendezés összehasonlítása

2.3. Porkeverékek

2.3.1. Porkeverékek jelentősége

Számos iparág számára a porkeverékek készítése az egyik legjelentősebb egységműveletnek számít. Ilyen például az élelmiszer- és gyógyszeripar valamint a kozmetikai- és vegyipar, de példának okáért a cement- illetve üveggyártás folyamatához is elengedhetetlen procedúra. [16]

A porkeverékek megfelelő homogenitása különösen nagy jelentőséggel bír a gyógyszeriparban. A tabletták készítésének alapját képezik a különböző méretű, alakú és szilárdságú komponensekből álló kohezív porkeverékek. A gyártási és keverési metódusok során fennáll a komponensek fent említett különbözőségein alapuló fajtázódás/szétosztályozódás, amely könnyen a porkeverék inhomogenitását okozhatja, mely a gyógyszeriparban kevésbé hatékony vagy túl hatékony gyógyszerkészítményt is eredményezhet, így akár egészségügyi kockázattal is járhat. [16]

A szemcsés anyagok megfelelő minőségű keverékének előállítása meglehetősen bonyolult, így nem meglepő, hogy az ebből, és a fentebb említett kockázatokból kifolyólag az ellenőrző hatóságok figyelmét is felkeltették. Manapság már a keverési folyamatok mennyiségi validálása is egyike a legfontosabb ipari követelményeknek. [15]

2.3.2. Porkeverékek analízise NIR spektroszkópiával

A porkeverékek analízise kvantitatív és kvalitatív értelemben is jelentős feladat. A gyógyszeriparban a porkeverékek vizsgálata során a keveredés mértékének és a komponensek arányának is megfelelő figyelmet kell szentelni. Az ideális keverékben homogén eloszlás áll fent a keverék minden pontján, gyógyszeripari tekintetben azonban csak a hatóanyagra vonatkozik ez a feltevés miközben feltételezi a kísérő anyagok szintén tökéletes eloszlását. [17]

A porkeverék homogenitásának igazolására szolgáló hagyományos módszerek főként invazív mintavételen és folyadékkromatográfiával vagy UV-Vis spektroszkópiával végzett *off-line* roncsolásos analízisen alapulnak. Ezek azonban időigényes módszerek, amelyek csak pillanatszerű képet adnak a keverék tényleges minőségéről. Ezzel szemben a nem invazív, roncsolásmentes módszerek, mint például a NIR vagy a Raman-spektroszkópia lehetővé teszik a felhasználók számára, hogy a keverési folyamatot közvetlenül, egymástól függetlenül elkészített keverékkészletekből előállított kalibrált adatok alapján nyomon kövessék. Az ilyen non-invazív elemzési módszernek megvan az az előnye, hogy a mintavételi térfogat megmarad a további vizsgálatok számára, amelyek mélyebb megértést tesznek lehetővé. Ez nagyon fontos a gyógyszeripari porkeverési eljárásoknál, ahol a tabletták külső rétegei gyakran a hatóanyag agglomerációjából vagy szegregációjából keletkeznek, ami gátolhatja a homogén diszperziót és befolyásolhatja a felszabadulási tulajdonságokat. A legtöbb ilyen rendszer felszerelhető száloptikai szondákkal, amelyek *in-line* folyamatfigyelő eszközként használhatók. Az optikai reflexiós szondák hasznosnak bizonyulnak szilárd minták, például porok analízisében, ahol a mért diffúz reflektancia egyaránt tartalmaz információt az abszorpcióról és a szórásról, amelyeket az anyag fizikai tulajdonságaiban bekövetkező változások (például a részecskeméret vagy a kristályosság), vagy valamely komponens mennyiségi hibája okoz. [18][19]

3. Anyagok és módszerek

3.1. A minták kiválasztásának elve

A kutatási munkám során olyan modellrendszer kialakítása volt a célom, mellyel megfelelően szemléltethetőek a NIR spektroszkópia által nyújtott lehetőségek a porkeverékek kvalitatív analízisére – mivel hosszabb távú cél a mérések kiterjesztése kvantitatív vizsgálatokra alkalmasabb modellrendszerre. A vizsgált minták közötti szerkezeti különbségek állnak fenn, melyek reprezentatív képet, modellt adnak egy komplexebb mintamátrix összetételének vizsgálatához.

A modellrendszerben alkalmazott minták egyszerű mono- és diszacharidokból álltak össze illetve ezek meghatározott arányú keverékeiből. A szénhidrátok egyszerűségükből adódóan szerkezetileg nagyban hasonlítanak egymásra, mely megfigyelhető infravörös karakterisztikájukon is. A későbbiekben látható lesz, hogy a minták szemcsemérete kulcsfontosságú lehet a NIR spektrumokon alapuló megkülönböztetés szempontjából. A kiválasztott szénhidrátok nem mellesleg jelen vannak az élelmiszeripari termékek nagyrésztében, hozzáférhetőségük is kedvező, így ideálisaknak bizonyultak kísérleteim elvégzéséhez.

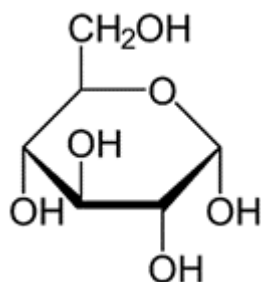
3.2. A minták jellemzése

A kiválasztott mintáim vízmentes glükóz, fruktóz és szacharóz porok voltak, ezeket tisztán vizsgáltam, illetve keverékeket készítettem belőlük annak érdekében, hogy az eltérő összetétel miatt kémiai, az eltérő szemcseméret miatt pedig fizikai változékonyságot is tartalmazzon a modellrendszerem. Az alábbiakban röviden ismertetem a vizsgált mintákat.

3.2.1. Glükóz

A glükóz monoszacharid, szerkezetileg az aldohexózok közé soroljuk. Az emberi szervezet legfőbb energiaforrása, biokémiai folyamatainkban hasznosul D-glükóz formában. Keményítő savas hidrolízisével állítják elő ipari környezetben. A C- vitamin gyártás alapjául szolgál.

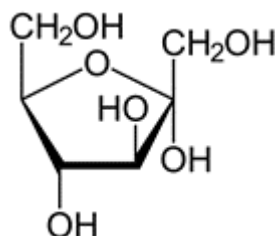
Szerkezetét tekintve (5. ábra) ismeretes gyűrűs és nyílt láncú alakban is, „szék” konformációja a legstabilabb. A gyűrűjében található C–H és C–O kötésekhez kapcsolódva 5 hidroxilcsoport található benne, melyek jellegzetes NIR elnyelést mutatnak 1420 és 1580 nm hullámhosszokon.



5. ábra: A glükóz ($C_6H_{12}O_6$) szerkezeti képlete

3.2.2. Fruktóz

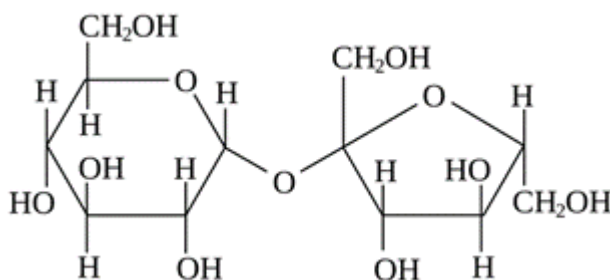
A glükózzal analóg a molekulát alkotó atomokat tekintve, annak izomerje. Nyílt láncú formája miatt a ketózok közé soroljuk, mivel karbonilcsoportja a 2. szénatomon helyezkedik el. Izomerjétől eltérően a fruktóz 2 db hidroximetil-csoportot tartalmaz, amely szintén a megkülönböztethetőségét segíti elő a szénhidrátok között (6. ábra).



6. ábra: A fruktóz ($C_6H_{12}O_6$) szerkezeti képlete

3.2.3. Szacharóz

A szacharóz molekula (7. ábra) egy alfa-D-glükopiranoz és egy béta-fruktofuranóz összekapcsolódásából jön létre. Monomerjei nem redukáló hatásúak, így a szacharóz sem redukáló diszacharid. Optikai forgatása savas hidrolízis során változik negatívvá, melyet inverzióknak nevezünk. NIR spektrumában megfigyelhetők intenzív abszorbanciák, melyek főleg a gyűrűs csoportjaihoz kapcsolódó O–H kötésekhez tartoznak. Az első felharmonikus 1410-1440 nm-nél jelenik meg, a második felharmonikus 970 nm-nél válik láthatóvá. A C–H kötések kisebb intenzitással, 1100-1230 nm között jelennek meg.



7. ábra: A szacharóz ($C_{12}H_{22}O_{11}$) szerkezeti képlete

3.3. Mintaelőkészítés, mintakezelés

A méréseim során 7 db eltérő mintával dolgoztam. 3 minta tiszta vegyület volt (D(+)-glükóz, D(-)-fruktóz és D(+)-szacharóz). 3 mintát a három komponens 1:1 tömegarányú keverékei adtak (glükóz-fruktóz, glükóz-szacharóz, fruktóz-szacharóz keverékek). A hetedik minta a három komponens tömeg alapján 1/3-1/3-1/3 összetételű keveréke volt.

A felhasznált tiszta komponensek a *MOLAR CHEMICALS* termékei, a gyártási számuk (lot) a következő: DU9315148 (glükóz), DC8914148 (fruktóz) és DV6815412 (szacharóz).

A minták optimális mennyiségének meghatározásához figyelembe vettem a készülékek mintatartóinak térfogatát, így egységesen 15 g kimérését jelöltem ki a mintákból és keverékeikből. Ez a mintamennyiség elegendő volt ahhoz, hogy megtöltse az alkalmazott mintatartókat, viszont nem volt túl sok ahhoz, hogy a homogenizálást megnehezítse. A mintákat külön-külön 50 ml-es műanyag centrifugacsövekbe töltöttem, a tiszta komponensekből 15-15 g-ot, a kétkomponensű keverékek esetében 7,5-7,5 g-ot a két komponensből, a háromkomponensű elegy esetén pedig 5-5 g-ot a három összetevőből.

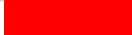
A tiszta komponensek tekintetében egy kardinális szempontot jelent a három tiszta, kezeletlen szénhidrátminta eltérő szemcsemérete, ami természetesen gyártónként, vagy akár gyártási tételenként is változhat. Az eltérő szemcseméret a porkeverékek összeállítása során okozhat nehézséget, hiszen az inhomogén eloszlású keverékek a mérés során nem reprezentatívak, könnyedén hamis adatot szolgáltathatnak. Ennek egyik oka a szétosztályozódás jelensége, mely során a kisebb szemcséjű anyagok a nagyobb szemcseméretű komponensek közötti hézagokon keresztül a tárolóegység aljára kerülnek.

További problémát jelenthet az eltérő szemcseméretnek eltérő fényreflexiója, mely befolyásolhatja a detektorba kerülő sugárzás intenzitását. Ennek magyarázata az, hogy a nagyobb szemcsemérettel bíró minta a finom, porszerű mintánál jobban szórja a fényt, amit a detektor egyfajta „látens” abszorbanancia-növekményként érzékel. A szemcsésebb mintáknál ez a jelenség sokkal kevésbé reprodukálható, így azok esetében intenzívebb szórásra számíthatunk a spektrumok között.

A keverékminták homogenizálását a centrifugacsövek óvatos forgatásával végeztem el, ügyelve arra, hogy elkerüljem a szétosztályozódást. Erre a későbbiekben is figyelnem kellett, amikor a mintákat a mintatartókba öntöttem.

A három kiválasztott szénhidrát meglehetősen eltérő szemcseméret-tartománnyal rendelkezett, amely a homogenitás szabad szemmel látható különbségeiben is megjelent. Annak érdekében, hogy a szemcseméreteket NIR mérésekre gyakorolt hatását is vizsgálhassam, az eredeti mintáimat a mérések után aprításnak vettem alá. Az aprítást egy Sencor SCG 3050SS elektromos kávédarálóval végeztem, a minták felmelegedését elkerülendő az következő módon: az adott mintát (tisztá szénhidrát vagy keverék) a darálóba töltve 2 másodpercig járatom a rotort, majd 3 másodperc szünet után finoman leráztam a daráló belső terének aljára az esetlegesen a falra tapadt mintákat. Ezt a 2+3 másodperces szekvenciát összesen 10 alkalommal ismételt meg mind a 7 minta esetében, így az őrlést követően homogén, egymáshoz rendkívül hasonló kinézetű porokat kaptam. A következőekben az őröletlen mintákra több esetben a „szemcsés” kifejezést használom.

Összesen tehát 14 mintát vizsgáltam, mely 7 eltérő összetételű minta szemcsés és őrölt formáját jelentette. A későbbiekben, az eredmények értékelése során az *1. táblázatban* található szín- és kódrendszert alkalmazom a minták megjelölésére. A táblázatban szereplő jelöléseken túl egyes esetekben **sötétnarancs színnel** jelölöm a szemcsés, és **narancs színnel** az őrölt mintákat.

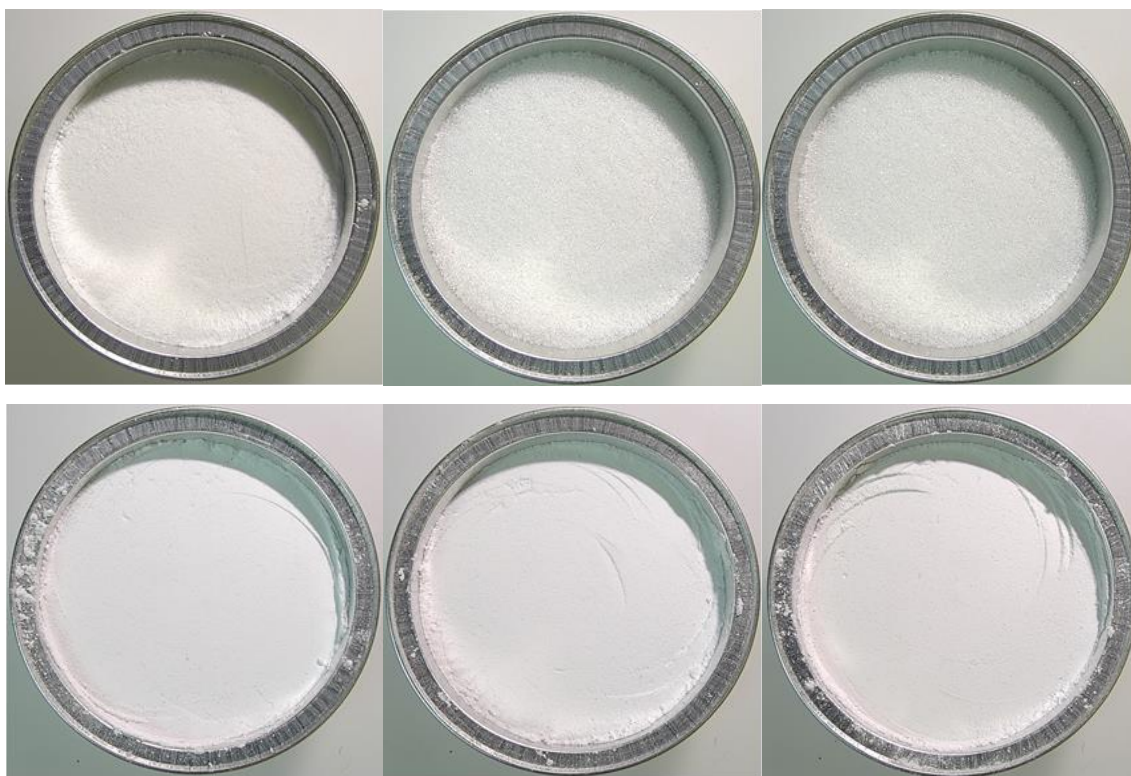
Komponens	Jelölés	Szín
tiszta glükóz	G	
tiszta fruktóz	F	
tiszta szacharóz	S	
glükóz-fruktóz keverék (1:1 m/m)	GF	
glükóz-szacharóz keverék (1:1 m/m)	GS	
fruktóz-szacharóz keverék (1:1 m/m)	FS	
glükóz-fruktóz-szacharóz keverék (1:1:1 m/m)	GFS	

1. táblázat: a mintáknál alkalmazott jelölésrendszer

3.3.1. A minták fizikai megjelenése

A mintákról *Tagarno FHD Trend* digitális mikroszkóp segítségével képeket készítettem az őrlés előtt illetve az őrlést követően is, a diódasoros készülékhez alkalmazott mintatartó edényben (a mérés paramétereiről, a készülékekről a későbbiekben részletesen írok). A fényképet közvetlenül a NIR mérést megelőzően készítettem el az után, hogy a mintatartóba töltött mintát egy ún. „reflektorral” elsimítottam/lelapítottam (e célra bármilyen sima felületű eszközt használhattam volna, a célom az volt, hogy minden mintánál lehetőleg lapos felület képződjön). A szemcsés és őrlt minták között szemmel is látható különbségek álltak fenn, melyet a következőkben ismertetek.

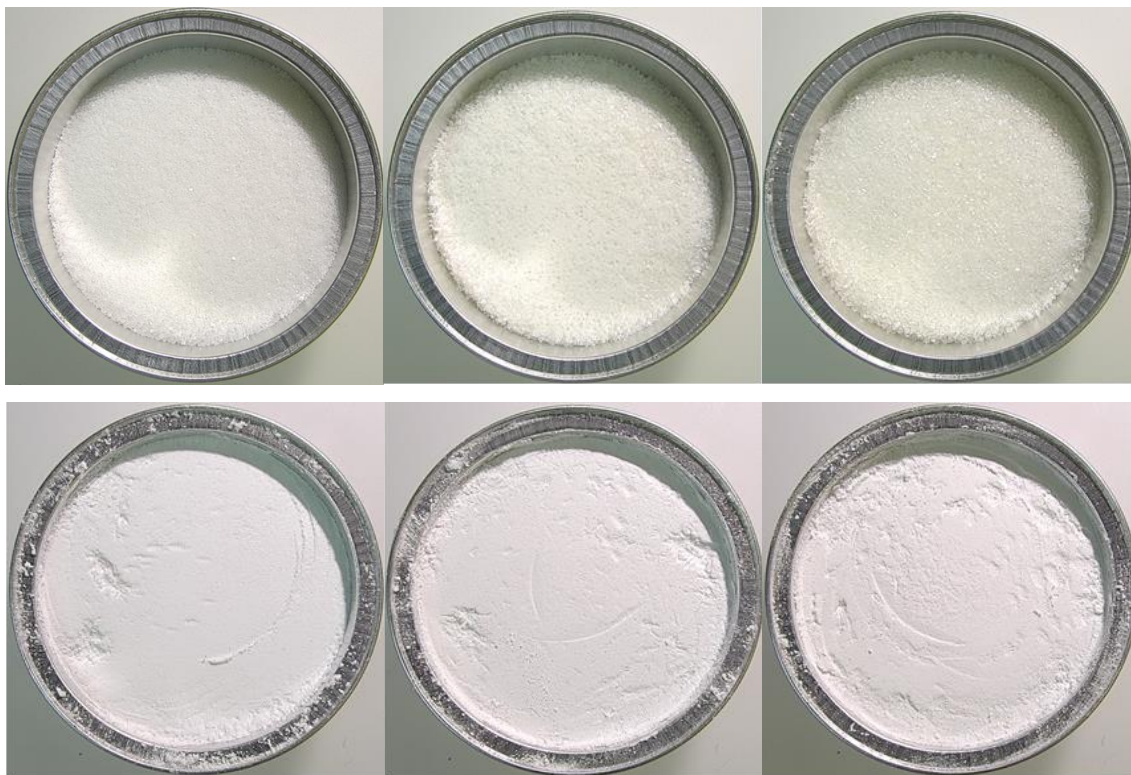
A 8. ábrán látható a három tiszta komponens, a fenti sorban a szemcsés, alul pedig az őrlt forma, balra a glükóz, középen a fruktóz, jobbra pedig a szacharóz minta látható.



8. ábra: A glükóz (bal oldalon), a fruktóz (középen) és a szacharóz (jobb oldalon) szemcsés (felső sor) és őrlt (alsó sor) formában

A vízmentes, tiszta D-glükóz finomszemcsés por állagú volt, higroszkópos jellegéből adódóan a felületekre tapadt eredeti állapotában is. Az őrlést követően a szemcsék mérettartománya tovább csökkent, az addig minimálisan fennálló kristályos jelleg érzékelhetetlenné vált. A fruktóz a három minta között fennálló mérettartomány-beli különbségben középen helyezkedett el, részben finomabb, azonban a glükóztól jóval erősebb

kristályos jelleget mutatott. Az őrlés nagyban redukálta ezt a jelleget és a glükózhoz hasonló finom por-jelleget vett fel. A szacharózminta a legnagyobb szemcseméretű mintának bizonyult, a glükóztól nagyban elütöt. Emiatt az őrlés ennél a mintánál csökkentette leginkább a szemcseméretet, porózus állagot produkálva. A 9. ábrán a kétkomponensű keverékek láthatóak a 8. ábrához hasonló elrendezésben, bal oldalon a glükóz-fruktóz keverék, középen a glükóz-szacharóz keverék, jobb oldalon pedig a fruktóz-szacharóz keverék.



9. ábra: A glükóz-fruktóz keverék (bal oldalon), a glükóz-szacharóz keverék (középen) és a fruktóz-szacharóz keverék (jobb oldalon) szemcsés (felső sor) és őrlött (alsó sor) formában

Az őrletlen keverék mintáknál kiütözik a szemmel is látható inhomogén jelleg, a szemcsék közötti eltérés jelentősnek mondható. A mintaőrléssel egymáshoz közelebbi mérettartományba hozott minták homogénebb porkeveréket alkotnak. A glükóz-fruktóz keveréknél a kiindulási szemcsés mintában látható, hogy inkább a szemcsés minta, azaz a fruktóz dominál. Az őrlést követően pedig ennél a mintánál is egy finom port kaptam. A legnagyobb méretbeli eltérés a glükóz és a szacharóz között állt fent, így nem meglepő, hogy a glükóz az őrlés előtti stádiumban alig vehető ki a keverék megjelenésében. Őrölt formában az előzőekhez hasonló állagú port láthatunk. A fruktóz és szacharóz keverék (lévén egymáshoz jóval közelebb álltak szemcsésség tekintetében, mint a glükózhoz), eredendően egységesebb, homogénebb volt, amit az aprítás tovább fokozott, azonban még így is kevésbé volt porózus.

A 10. ábrán a háromkomponensű keverék látható szemcsés és őrölt formában. Látható, hogy az őröletlen keverékben a szemcsésebb anyagok dominálnak a glükózzal szemben. Az őrölt minta meglepően homogénnek bizonyult.



10. ábra: A glükóz-fruktóz-szacharóz keverék szemcsés (bal) és őrölt (jobb) formában

Látható, hogy a minták őrlése nagyságrendekkel növeli a homogenitást, ezáltal az osztályozódás lehetősége is csökken, így jóval pontosabb mérési eredmények az elvártak, amennyiben a kémiai összetétel vizsgálata a cél. Ha a szemcseméret a minősítés alapja, akkor pedig számolhatunk a fényszóródásból adódó nehézségekre, melyeket matematikai módszerekkel szükséges korrigálnunk.

3.4. Spektroszkópiai mérési módszerek

Méréseimet két eltérő optikai konfigurációjú készülékkel végeztem. A diszperziós (*dispersive*, DS) és diódasoros (*diode array*, DA) berendezések közötti egyik lényegi különbség a mintát érő fény helyzetében, irányában rejlik. A DA készülék esetén a korábbiakban bemutatott fényképeken szereplő mintatartót használtam, mivel ezen készüléknél felülről éri a mintát a fény. A DS készülék esetében pedig olyan mintatartót alkalmaztam, amelynek az alján egy kvarcüveg található, a minta e fölé helyezkedik el, és alulról éri a sugárzás a mintát az üvegen keresztül. Fontos különbség továbbá a két készülék között hogy a DA esetén az optikai elrendezés posztdiszperzív (tehát a mintával való kölcsönhatást követően történik meg a sugárzás felbontása), a diszperziós pedig prediszperzív. Emiatt a DA készüléknél egy intenzívebb, nagyobb fluxusú sugárzás éri a mintát, ez pedig a spektrumok jellegére is hatással van.

Minden mintával 3 párhuzamos mérést végeztem, a mérések között ismételtelen homogenizálva a mintákat.

3.4.1. Diszperziós (DS) optikai elrendezésű készülék adatai

A látható (Vis) és a közeli infravörös (NIR) tartományú spektrumok reflexiós (R) módban a következő diszperziós (DS) készülékkel és beállításokkal kerültek rögzítésre:

• spektrofotométer (11. ábra)	<i>Foss NIRSystems 6500*</i>
• mintakezelő egység (11. ábra)	<i>Rapid Content Analyzer* (RCA)</i>
• mintatartó	<i>Standard Sample Cup*</i>
• elektromágneses tartomány	<i>látható (VIS) és közeli infravörös (NIR)</i>
• optikai elrendezés	<i>diszperziós (DS)</i>
• működési mód	<i>reflexiós (R)</i>
• hullámhosszválasztó elem	<i>billegő, konkáv, holografikus rács</i>
• fényforrás	<i>volfrám-halogén izzó</i>
• referencia	<i>kerámia</i>
• mérési hullámhossztartomány	<i>400-1098 nm (Vis) / 1100-2498 nm (NIR)</i>
• detektor	<i>Si (Vis) / PbS (NIR)</i>
• lépésköz	<i>2 nm</i>
• spektrum adatpontjainak száma	<i>350 (Vis) / 700 (NIR)</i>
• alminták száma	<i>3</i>
• spektrumok száma almintánként	<i>32</i>
• készüléket vezérlő szoftver	<i>Vision 3.20*</i>

(* Foss NIRSystems, Silver Spring, Inc., MD, USA)



11. ábra: A Vis-NIR tartományú mérésekhez használt diszperziós (DS) Foss NIRSystems 6500 készülék a Rapid Content Analyzer (RCA) mintakezelő feltétellel

3.4.2. Diódasoros (DA) optikai elrendezésű készülék adatai

A közeli infravörös (NIR) tartományú spektrumok reflexiós (R) módban a következő diódasoros (DA) készülékkel és beállításokkal kerültek rögzítésre:

• spektrofotométer (12. ábra)	<i>DA 7250 NIR Analyzer*</i>
• mintakezelő egység	<i>Rotary Accessory Holder*</i>
• mintatartó	<i>Disposable Cup*</i> („eldobható” fém mintatartó)
• elektromágneses tartomány	<i>közeli infravörös (NIR)</i>
• optikai elrendezés	<i>diódasoros (DA)</i>
• működési mód	<i>reflexiós (R)</i>
• hullámhosszválasztó elem	<i>aranybevonatú diffrakciós rács</i>
• fényforrás	<i>volfrám-halogén izzó</i>
• referencia	<i>teflonbevonatú kerámia</i>
• mérési hullámhossztartomány	<i>950-1650 nm</i>
• detektor	<i>256 elemű InGaAs detektorsor</i>
• lépésköz	<i>2 nm</i>
• spektrum adatpontjainak száma	<i>351</i>
• alminták száma	<i>3</i>
• elemzés ideje	<i>6 s</i>
• készüléket vezérlő szoftver	<i>Results Plus*</i>

(* Perten Instruments AB, Hägersten, Svédország)



12. ábra: A NIR tartományú mérésekhez használt diódasoros (DA)
Perten DA 7250 NIR Analyzer készülék

3.5. Statisztikai módszerek

A mérésekből nyert adatokat nyers spektrumok formájában kapjuk meg. Ezek a kezeletlen spektrumok hordoznak önmagukban is információt, azonban ahhoz a teljes kinyerhető adathalmazra szert tehessünk, különböző matematikai és statisztikai módszerekkel kell kezelnünk ezeket. A részletes kiértékeléshez pedig szükséges valamilyen sokváltozós adatelemző technika.

3.5.1. SNV és MSC normálás

Az alapvonal-korrekció elvégzésére normálást alkalmaztam. Az alkalmazott két módszer, a standard normál változó (*standard normal variate*, SNV) és a többszörös szórás-korrekció (*multiplicative scatter correction*, MSC) módszere. A kettő között az a különbség, hogy míg az SNV módszer egy adott spektrumot korrigál az adott spektrum átlagával (ennek eredményeként az összes transzformált spektrum átlaga 0 lesz, szórása pedig azonos, egységnyi), addig az MSC az egész spektrumpopulációval, pontosabban az azokból képzett átlagspektrummal (vagy – ha rendelkezésre áll – egy referencia spektrummal) korrigálja az adott spektrumot. Az MSC ezt úgy hajtja végre, hogy a kezelést követően az összes spektrum a legjobban illeszkedjen a populációból képzett átlagspektrumhoz. Amennyiben a spektrumok eloszlására normális eloszlást feltételezünk, úgy az átlagspektrum a legnagyobb valószínűséggel fordul elő a spektrumok közül. Az eltérő módszerek eltérő eredményeket adnak, azonban az esetek többségében megfelelően korrigálják az alapvonal-eltolódást. A két technika különbözőségéből fakad, hogy az MSC normálás eredményei félrevezetőek lehetnek, amennyiben egy kiugró (*outlier*) spektrum is az átlagszámítás részét képezi.

3.5.2. Simítással kombinált deriválás

Szintén az alapvonal-eltolódás korrigálására, de a spektrumokban rejlő finom, alig megjelenő csúcsok kiemelésére is alkalmas spektrumkezelési módszer a deriváltak alkalmazása. A spektrum első deriváltjának lokális maximuma van az eredeti spektrum felmenő meredeksége maximumot (csúcsot) ér el, hasonlóan a lokális minimum az eredeti meredekség minimumánál található. A deriválás előtti spektrum lokális minimumainak, illetve maximumainak helyén az első derivált nulla értéket vesz fel. A második derivált ezzel szemben az eredeti spektrum csúcsainál völgyet, az eredeti völgyek helyén pedig csúcsot képez. Ezen tulajdonságoknak köszönhetően az eredeti spektrumon átlapoló csúcsok szétválnak és láthatóvá válnak olyan inflexiós pontok, melyek a deriválást megelőző spektrumon nem látszódtak. A deriválás lineáris matematikai mivoltának köszönhetően a Lambert-Beer törvény szerint

menyiségi meghatározásra alkalmasak a derivált spektrumok is. Mivel a deriválás a zajokat is felerősíti, ezért szükséges a spektrum simítása a deriválást megelőzően. Erre egy elterjedt módszer az általam is alkalmazott rés-kapu (vagy gyakrabban: *gap-segment*) módszer. Ennek kivitelezése során fontos a simításhoz felhasznált simítóablak mérete (ez a *segment*, vagy kapu), illetve az egymás melletti simítóablakok között kihagyott pontok száma (*gap*, vagy rés). A kutatócsoport korábbi tapasztalatai, alapján a simítással kombinált deriváltak közül a 2. deriváltakat alkalmaztam, 1 pontos rés és 5 pontos kapu beállítással (ezt a kiértékelés során 'D2g1s5'-ként jelölöm).

3.5.3. Főkomponens-elemzés (PCA)

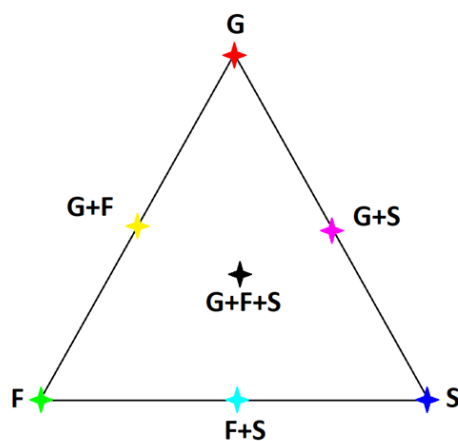
A főkomponens-elemzés egy ún. adatstruktúra-elmező módszer, mely a dimenziócsökkentő sokváltozós adatelemző eljárások közé tartozik. Lényege, hogy a rendelkezésre álló adathalmazt – ami gyakorlatilag az objektumok (minták) és a változók (hullámhosszak) által kifeszített mátrix – olyan transzformációnak veti alá, mely során a sokdimenziós térben kijelöli azon irányokat, amelyek az objektumok közötti variancia legnagyobb részét leírják. Ezek az új „irányok” az ún. főkomponensek (*principal component*, PC), melyek az eredeti változók (tehát a hullámhosszak) lineáris kombinációi. Az egymás után bevezethető PC-k egymásra ortogonálisak, ezáltal mindegyik PC magyarázza a lehető legnagyobb hányadát annak a varianciának, amit az őt megelőző PC-k nem magyaráztak. Ennek köszönhető a PCA hasznos hozadéka: sokszor több ezer dimenziót képes alacsonyabb dimenziójú térbe transzformálni, ráadásul független változókkal. Legtöbbször néhány (3-4) PC már leírja a változékonyság döntő hányadát, így túlzott főkomponens bevezetése felesleges. A PCA grafikus szemléltetésére alkalmas az ún. „score ábra”, amely az egyes objektumokat (spektrumokat) az új változók (PC-k) szerinti térben ábrázolja a látens változókhoz tartozó értékük (*score*) alapján, tehát egy spektrum egy pontként jeleníthető meg egy olyan koordináta-rendszerben, amely a változékonyság döntő részét bemutatja. Egy másik fontos kimenet a súlyfüggvény (*loading*), ami az egyes változók fontosságát jeleníti meg az adott PC vonatkozásában – minél inkább eltér 0-tól a súlyfüggvény értéke egy adott eredeti változónál, annál inkább összefügg a az adott változó az adott főkomponens irányával a sokdimenziós térben. A PCA számítása során a nem iteratív részleges legkisebb négyzetek algoritmusát alkalmaztam, teljes keresztvalidálással.

3.5.4. Alkalmazott szoftverek

A spektrumok kiértékeléséhez a Microsoft® Excel 2019 (Microsoft Co., Redmond, WA, USA) és a The Unscrambler® X 10.4 (CAMO Software, Oslo, Norvégia) programokat használtam fel.

4. Eredmények és értékelésük

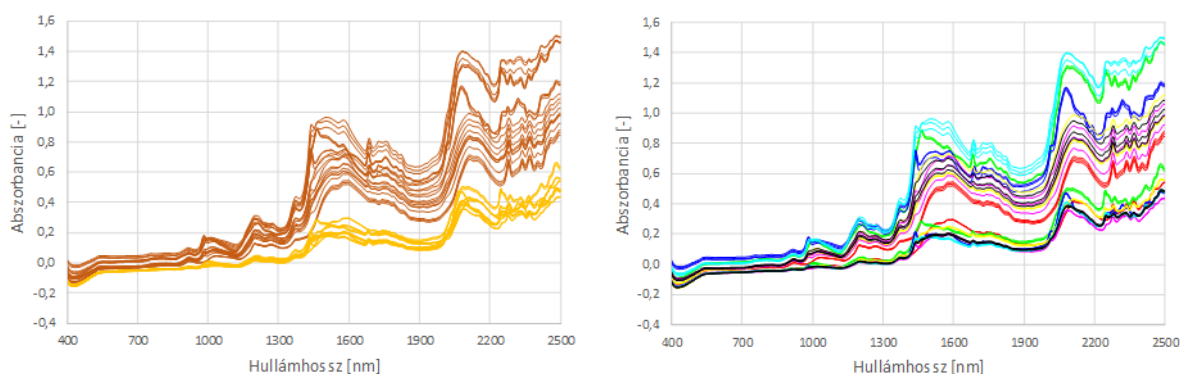
Kutatásom során több szempontból közelítettem meg a NIR mérésekkel elkülöníteni kívánt keverékarányokat. Ahogy az eredmények bemutatásánál is látható lesz, mindkét optikai elrendezésű berendezéssel végeztem méréseket egyrészt a kezdeti, örletlen mintákkal, majd ezt követően az örölt mintákat is hasonló mérési metodika alapján vizsgáltam. Eredményeim prezentálása során szeretnék rávilágítani a korábban már taglalt kérdéskörre, nevezetesen a minták szemcsemérete közötti eltérések NIR mérésekre gyakorolt hatásaira. Ennek szellemében kontrasztba helyezem a kapott eredményeket mind a minták, mind az őrlés szempontjából. A kísérletterv összeállítása során az összeállított mintarendszert várt összetételeit mutatja be a 13. ábra.



13. ábra: A kísérletterv

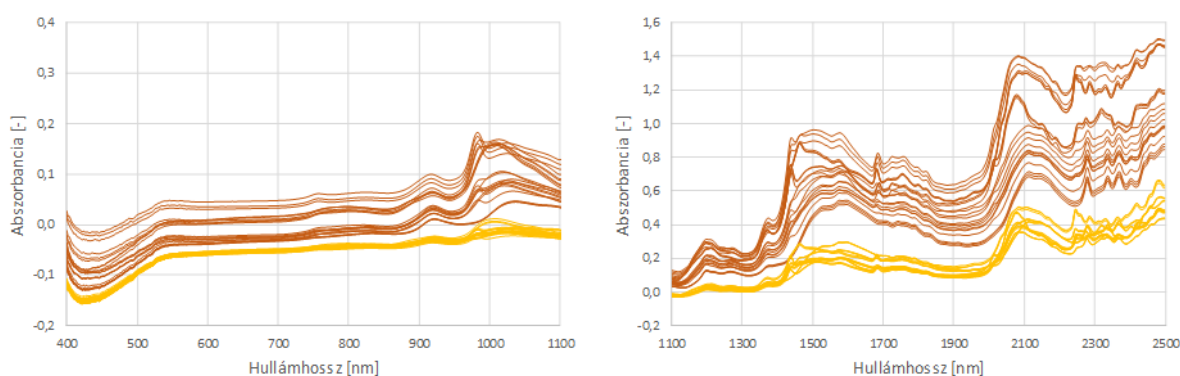
4.1. A diszperziós készülékkel kapott spektrumok elemzése

A 14. ábrán a Vis-NIR tartományú spektrumok láthatóak az mind őrlés, mind minták szerint külön kategorizálva a kapott eredményeket.



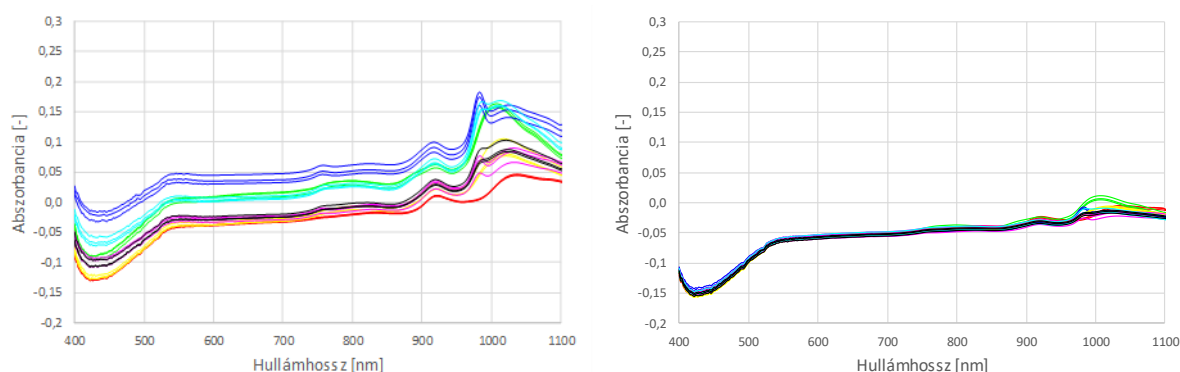
14. ábra: Vis-NIR spektrumok mintaelőkészítés (balra) illetve a minták (jobbra) szerint színezve

A bal oldali ábrán látható a szórásbeli különbség a **szemcsés** és az **őrölt** párhuzamos mérések eredményei között. Szinte egyből levonható a következtetés, hogy az őrlés nagyban csökkentette a minták közötti szórást. A jobb oldali ábrán a 7 mintára kapott minták együtt láthatóak ábrázolva, külön színnel jelölve minden minta, a korábban ismertetett színkódolásnak megfelelően. A spektrumokat praktikus felbontani két régióra: 400-1098 nm és 1098-2498 nm tartományokra. Ennek az egyszerű oka detektorok közötti váltás. A Vis tartományon, illetve a NIR tartomány látható fényhez közelebbi hullámhosszainál az Si detektor rendelkezik megfelelő érzékenységgel, míg a NIR tartományban a PbS detektor, emiatt a készülékben két detektor működik a két taglalt szakaszra. Így adott hullámhossznál megfigyelhető kiugrás látható, ahol a detektorok közötti váltás megtörténik (15-16. ábra).



15. ábra: Vis-NIR spektrumok mintaelőkészítés szerint színezve, felbontva a két detektor szerinti tartományokra

A Vis tartományt (15. ábra, bal) tekintve megfigyelhető, hogy nem hogy a tartományban kapott spektrumok nem nyújtanak túl sok információt, nincsenek karakterisztikus csúcsok. Érdekes ezt a minták szerinti színezésben is ábrázolni, külön a szemcsés és az őrölt mintákat, ez látható a 16. ábrán.

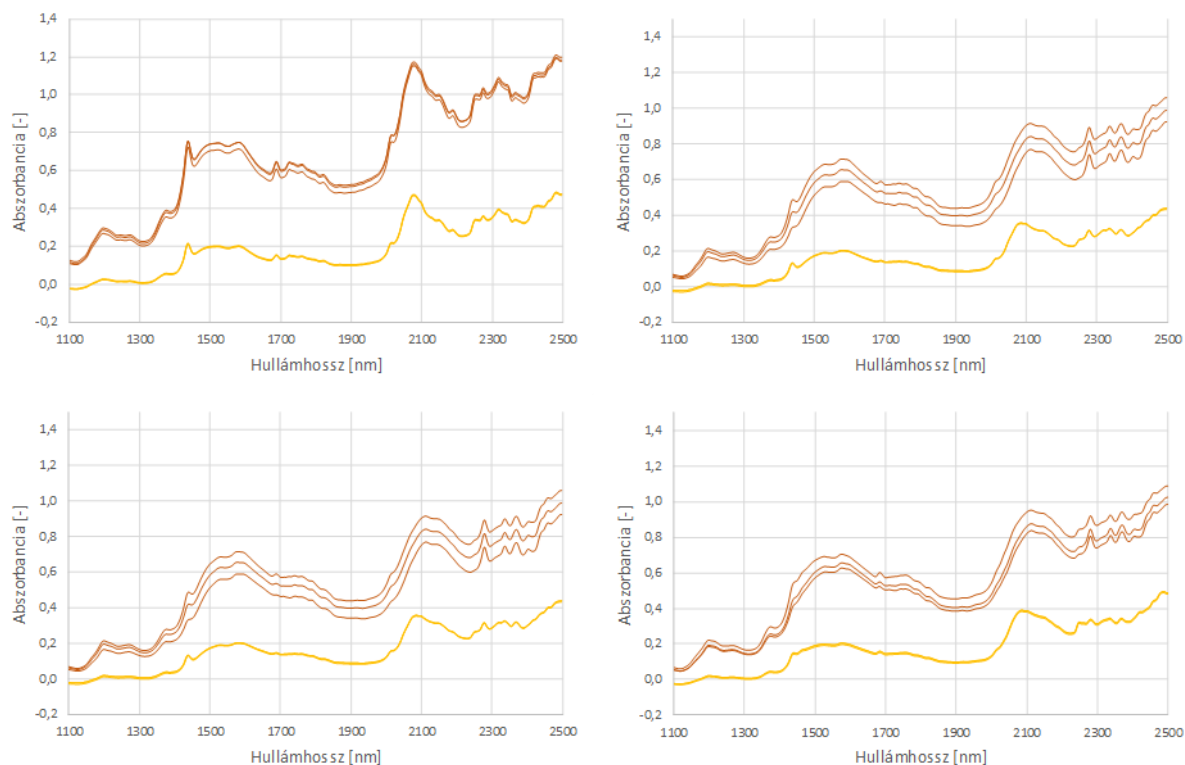


16. ábra: Diszperziós spektrumok a Vis tartományban (bal: szemcsés minták, jobb: őrölt minták)

A látható tartomány első hányadában látható, hogy a spektrum negatív abszorbancia értékeket vesz fel. Ez a minták szemcseméretéből és színéből eredeztethető, hiszen fehér porkeverékekről beszélünk, míg a berendezés által alkalmazott referencia inkább sárgásfehér árnyalattal rendelkezik, ezért érzékeli a készülék úgy, mintha a minták „fényt bocsájtának ki”. Mivel a Vis tartomány nem sok információt tartalmaz a mintákról (különösen igaz ez az őrölt mintákra), ezért a továbbiakban csak a PbS detektor tartományával (NIR tartomány) foglalkozom. A következő ábrákon (17-18. ábra) a szemcsés és őrölt minták spektrumait külön-külön ábrázolom mintánként, hogy megvizsgáljam az egyes minták karakterisztikáját.



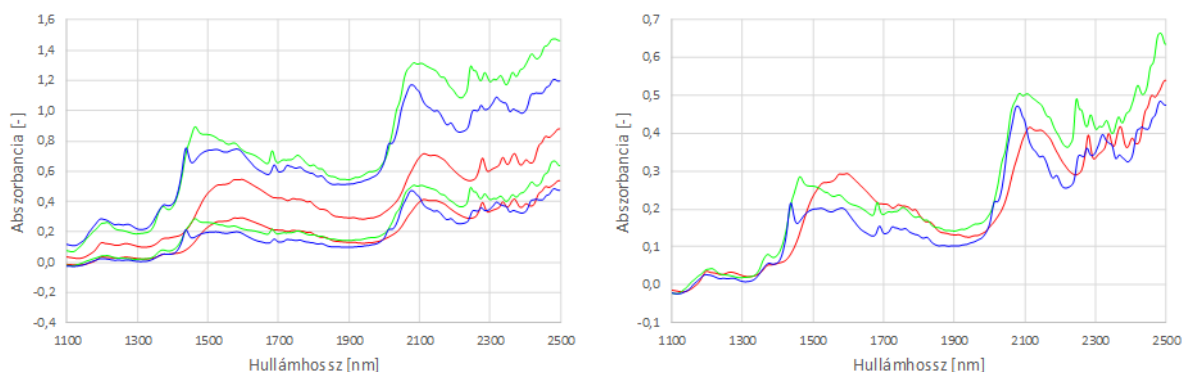
17. ábra: Glükóz (fent, balra), fruktóz (fent, jobbra) és szacharóz (lent) spektrumai a Vis tartományban, mintaelőkészítés szerint színezve



18. ábra: Glükóz-fruktóz keverék (fent, balra), glükóz-szacharóz keverék (fent, jobbra), fruktóz-szacharóz keverék (lent, balra) és a háromkomponensű keverék (lent, jobbra) spektrumi mintaelőkészítés szerint színezve

Az ábrákon a tiszta komponensek spektrumait mintaelőkészítés szerint szétbontva látjuk, azonos skála szerint a NIR tartományban. Itt a vártnak megfelelően, a homogén összetételből adódóan csak alig észrevehető szórás tapasztalunk, mely esetleges mérési hibából eredeztethető. A keverékeknél már hangsúlyosabb a szórás a minták között, és látható, hogy az őrlés szinte eliminálja a szemcseméretből eredő alapvonal eltolódást, a spektrumok összetolódnak. A NIR tartományban már jól láthatóak az adott szénhidrátokra jellemző spektrumcsúcsok, melyek érzékelhetően elkülönülnek egymástól.

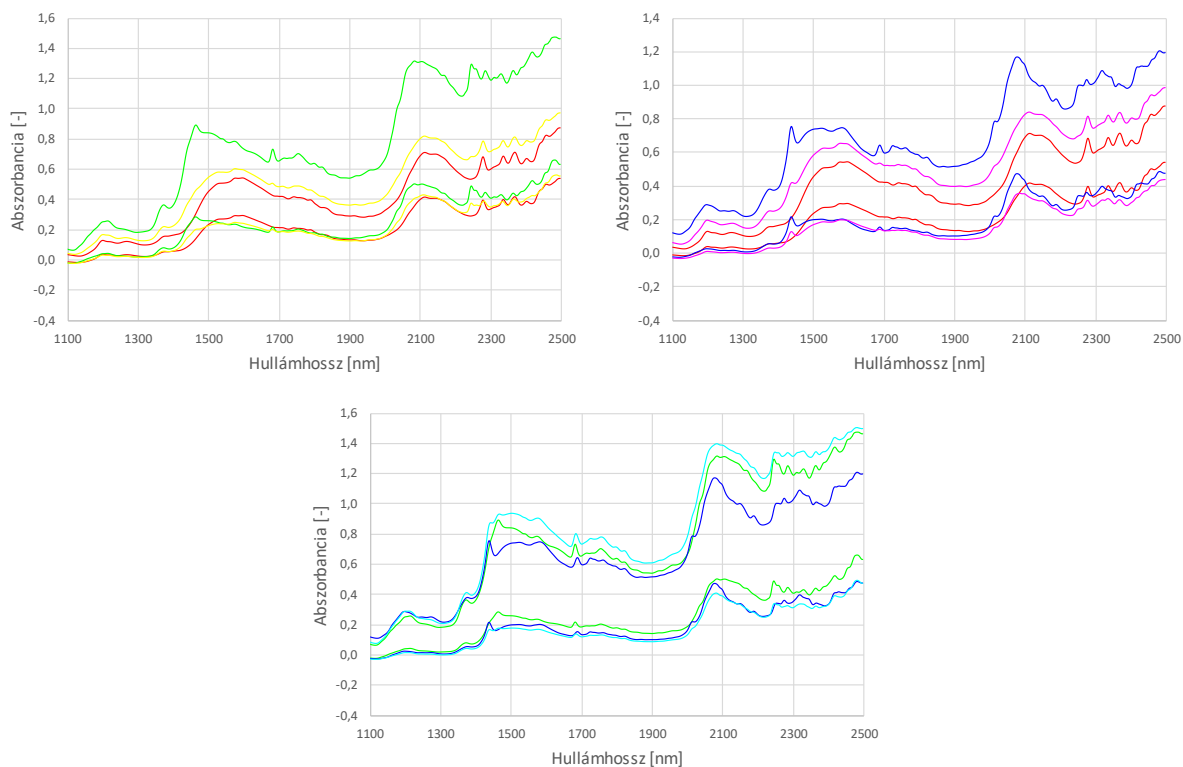
A keverékek karakterisztikájának alaposabb vizsgálatához érdemes a különböző tiszta mintákat külön-külön is ábrázolni, hogy lássuk mely szénhidrátokhoz milyen spektrumok tartoznak. A 19. ábrán láthatóak az őrlés előtt és utáni tiszta komponensek spektrumai. Ha külön ábrázoljuk az őrlés után kapott spektrumokat (19. ábra, jobb), látható, hogy az eredetileg merőben eltérő karakterisztikájú spektrumok sokkal jobban egybevágnak, köszönhetően a mérettartományok szintén egymáshoz való közelítésének.



19. ábra: A három tiszta komponens spektrumai: bal oldalon a szemcsés és az őrölt, jobb oldalon csak az őrölt minták spektrumai. Az ábrán a könnyebb értelmezés miatt csak 1-1 reprezentatív spektrumot tüntettem fel a 3-3 párhuzamos mérésből.

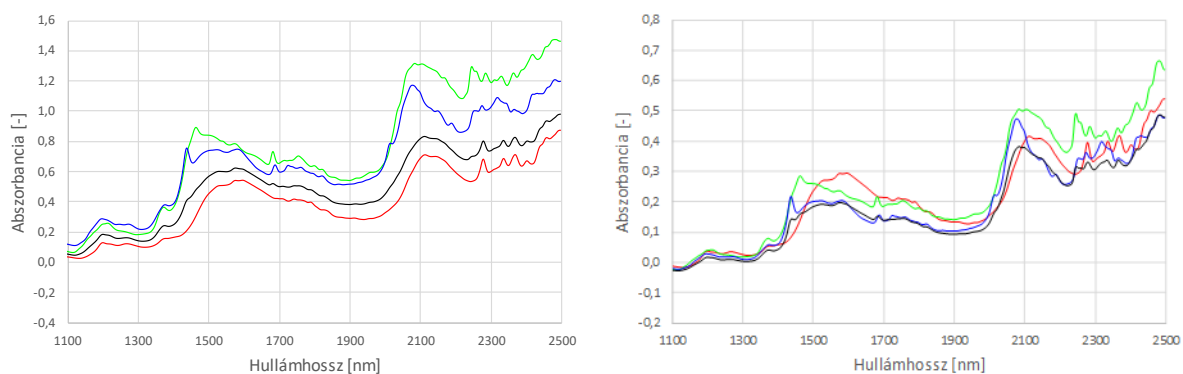
A keverékek és a tiszta minták összehasonlítását az eredeti elméleti feltevésre vezetem vissza, miszerint a három komponens és ezek keverékei dimenziócsökkentés után egy egyenlő szárú háromszöggént ábrázolhatóak, ebből arra következtethetünk, hogy a keverékek spektrumai az azt alkotó tiszta komponensek spektrumai között „félúton” helyezkednek el. A 20. ábrán látható, hogy az egykomponensű minták spektrumai között pontosan ennek az elvnek megfelelően a helyezkednek el a kétkomponensű minták spektrumai.

A 20. ábrán feltüntetésre került az őrlés utáni állapot is, mely minimális kivétellel szintén követi ezt a trendet. Megjegyzendő, hogy az elméleti feltevés valamennyire teljesül az őrletlen minták esetében, mivel annak ellenére, hogy a két tiszta spektrum között helyezkedik el, a glükózt tartalmazó mintakeverékek inkább a glükóz spektrum alakjára hasonlítanak. Ez ismételten a szemcseméret különbségből adódó jelenség, mivel itt feltételezhetően a sokkal finomabb szerkezetű glükóz a mintatartó aljára osztályozódik, így jobban dominálja a keverék spektrumokat.



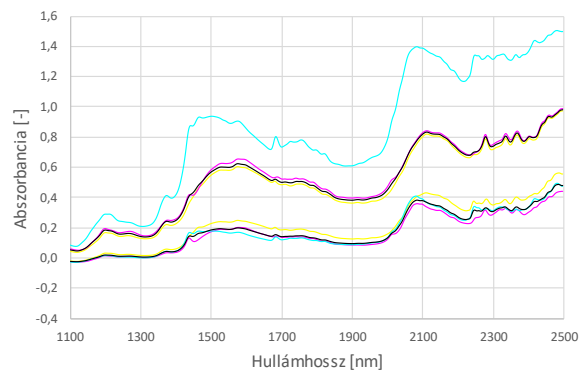
20. ábra: Tiszta komponensek és keverékek spektrumai szemcsés és őrölt minták esetén (fent, balra: glükóz, fruktóz és glükóz-fruktóz keverék; fent, jobbra: glükóz, szacharóz és glükóz-szacharóz keverék; alul: fruktóz, szacharóz és fruktóz-szacharóz keverék)

A fenti állítás a hármaskomponensű keverékben is jól szemléltethető (21. ábra). Itt a fruktóz és szacharóz csúcsoktól jóval távolabb helyezkedik el a keverék spektrum és szinte megegyezik a glükóz spektrális képével.



21. ábra: A három tiszta komponens és a háromkomponensű keverék 1-1 reprezentatív spektruma szemcsés (bal) és őrölt (jobb) minták esetén

Tovább erősíti a feltevést, ha csak a keverékeket szemléltetem egy azonos ábrán őrölt és őrletlen formában (22. ábra).



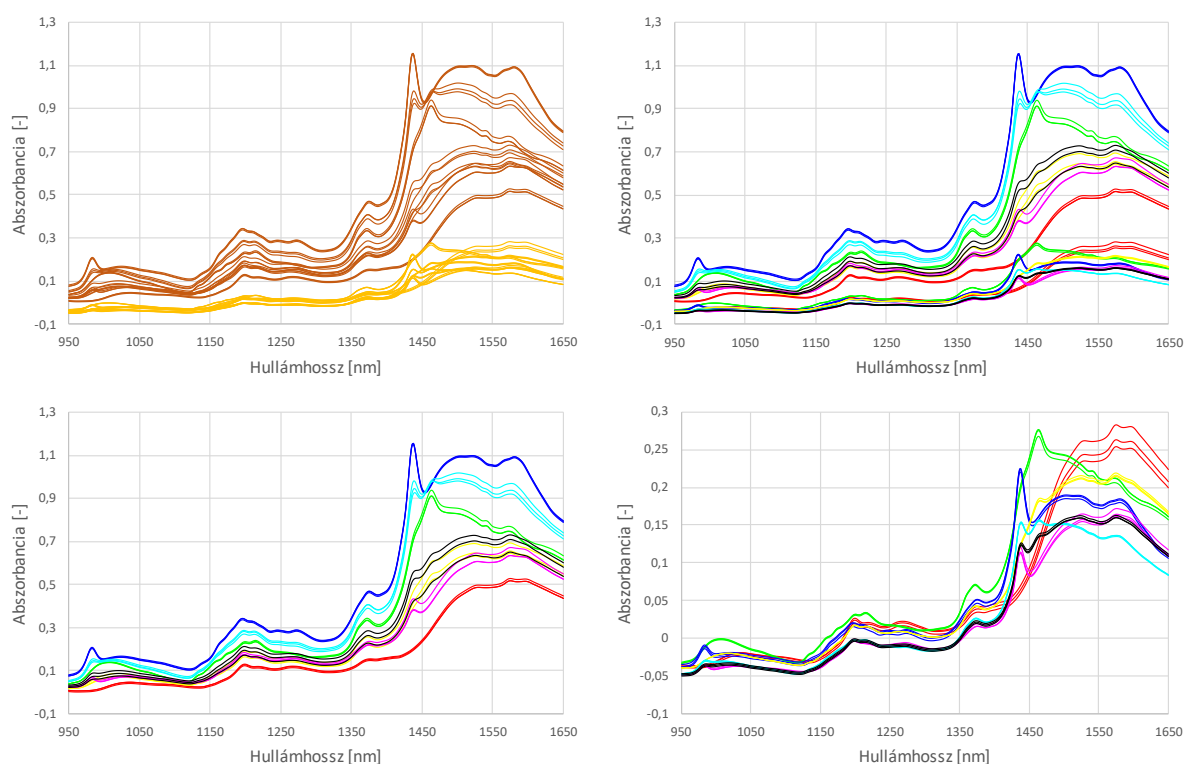
22. ábra: A két- és háromkomponensű keverékek spektrumai
(szemcsés és őrlt minták esetén)

Megfigyelhető, hogy a glükóztartalmú keverékek szinte teljesen analógok a tiszta glükóz spektrumával, míg a fruktóz-szacharóz keverék láthatóan elválík a többi spektrumtól szemcsés formában. Leszögezhető továbbá, hogy az őrlés feloldja ezt a problémát, az őrlt porkeverékek spektrumai egybeesnek. Összességében úgy tűnhet, hogy a szemcseméret domináns hatással van a spektrumok alakjában, a szemcsés minták közötti szórás jelentős, amit az őrlés csökkent, azonban ahhoz hogy tiszta képet kapjunk, alapvonal-korrekciókat kell végeznünk, hogy biztosan elmondhassuk, mi okozza a jelenséget.

4.2. A diódasoros készülékkel kapott spektrumok elemzése

Ennél a mérési rendszerénél is a korábban már ismertetett kettős ábrázolás szerint ismertetem a kapott eredményeket, azaz őrlési és összetételbeli szempontok szerint, a spektrumok színezése is a korábban ismertetett színekódrendszer szerinti.

A 23. ábrán láthatóak a DA készülékkel kapott spektrumok, a mintakezelés és a minták szerint színezve. Szemléletesen látszik a különböző minták eltérése, de több szakaszon is csekélyebb mértékű szórás tapasztalható, mint a Vis-NIR készülék esetében tapasztaltuk. Különösen jól látható mindez akkor, ha külön tüntetjük fel a szemcsés és az őrlött minták DA spektrumait.

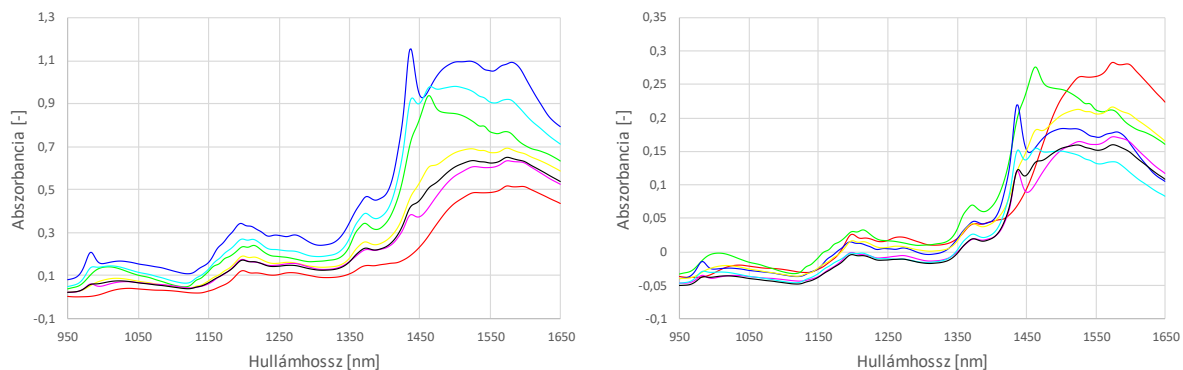


23. ábra: DA készülékkel kapott spektrumok (fent, balra: minden spektrum, az őrlés szerint színezve; fent, jobbra: minden spektrum, a minták szerint színezve; lent, balra: csak a szemcsés minták spektrumai; lent, jobbra: csak az őrlött minták spektrumai)

A szemcsés minták esetében a DS-el kapott eredményeknél jóval kisebb alapvonal-eltolódás látható. Az őrlött minták spektrumai szinte teljesen egybeesnek, ez kiemelten értékes eredmény a DS készüléknél inhomogénnek talált glükóz-szacharóz keveréket tekintve.

A DA spektrumok esetén is érdemes külön ábrázolni 1-1 spektrumot mintánként. Ebben az ábrázolásban (24. ábra) szintén megállapítható, hogy a DA készülékkel kapott spektrumok közül a szemcsések szignifikánsan kisebb szórást mutatnak a DS készülékkel kapottaknál,

illetve az itt ábrázolt eredményekre is igazolható az elméleti alapfeltevés, a keverékek a tiszta spektrumok közé esnek, illetve az őrölt minták esetében láthatóan nem „téríti el” a glükóz a spektrumokat a saját spektruma felé jelentős mértékben.

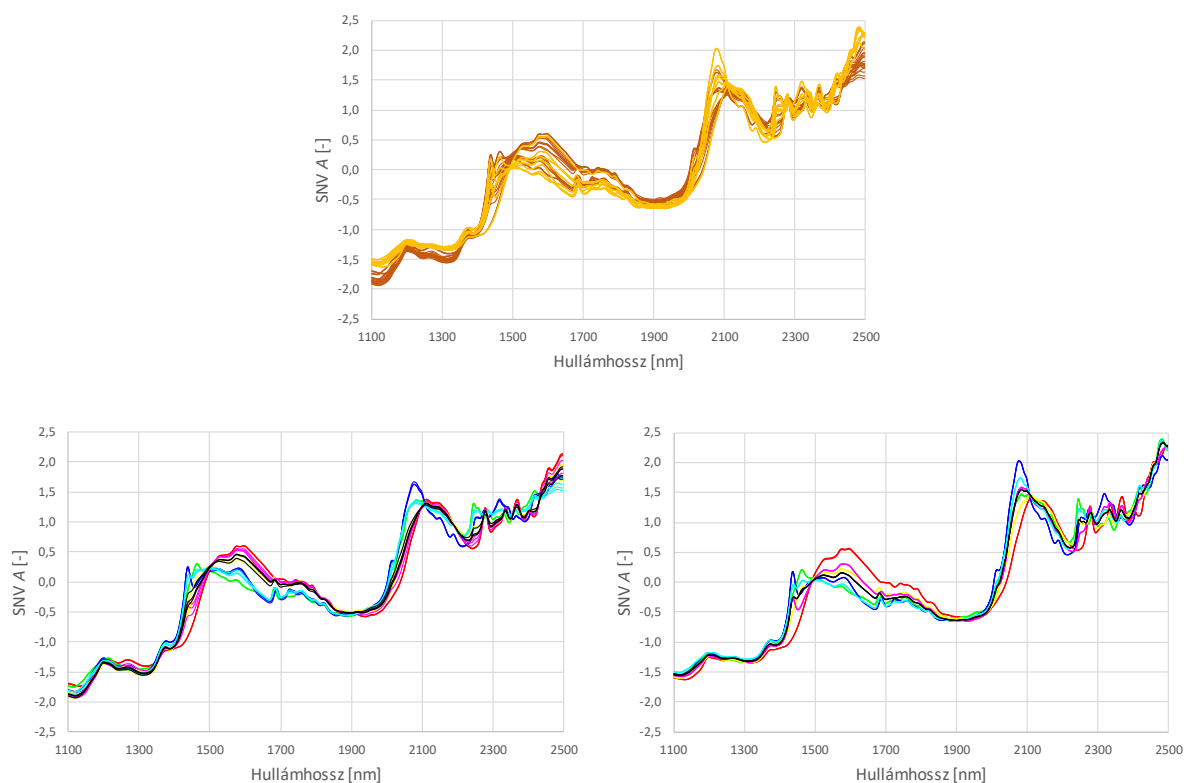


24. ábra: DA készülékkel kapott spektrumok (bal: szemcsés minták, jobb: őrölt minták, 1-1 reprezentatív spektrum mintaként)

4.3. Matematikailag előkezelt spektrumok értékelése

Az előbbiekből látható, hogy a kapott kezeletlen (ún. *as is*) spektrumképek is jelentős információval szolgálnak a mintákról és közöttük fennálló különbségekről, azonban jóval pontosabb következtetéseket vonhatunk le a spektrumok kezelése/korrekciója után.

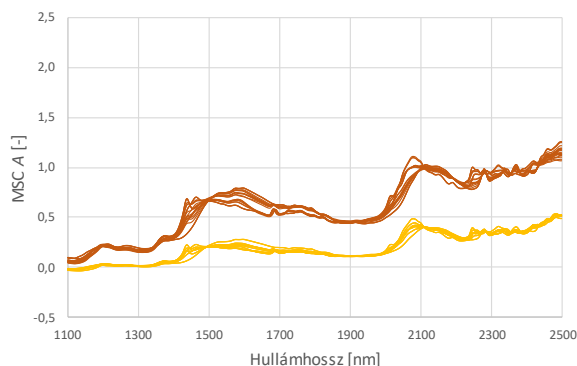
Első lépésben az SNV-t alkalmaztam a DS készülékkel kapott eredményekre. Először az összes minta tekintetében ábrázolom a normált spektrumokat eredményeket. A 25. ábrán felül az összes minta spektruma látható aprítottság szerint színezve, az SNV korrekciót követően. Ezeket jobb szemléltetésére szétbontottam és külön ábrázoltam az őrölt és őröletlen mintákat. Látható hogy az alapvonal-korrekció megtörtént, illetve elmondható, hogy az őrölt mintákra is nagy hatással volt, mivel a 3-3 párhuzamos szinte mindenhol egybeesik. A korrekció szemléltetése céljából ezeknél az ábráknál azonos skálázást alkalmaztam az y tengelyen



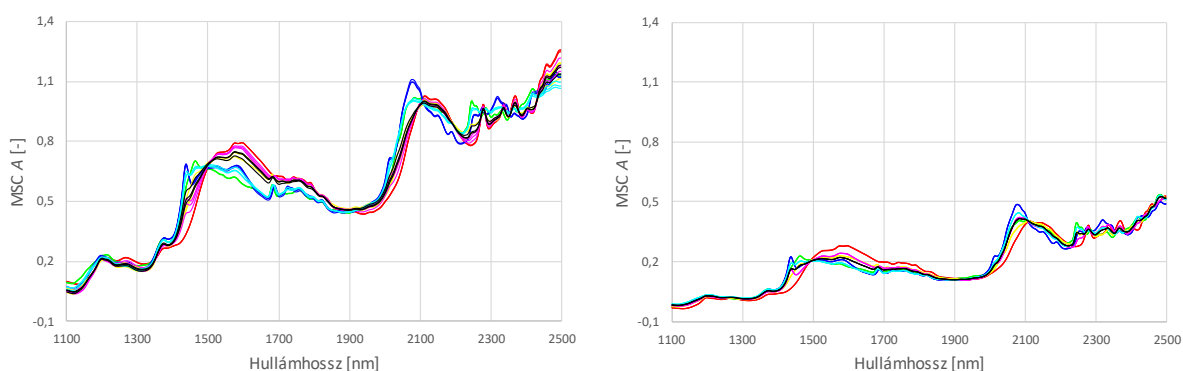
25. ábra: DS készülékkel kapott, NIR tartományra SNV-normált spektrumok (fent: őrlés szerint színezve; lent balra: csak a szemcsés minták, lent jobbra: csak az őrölt minták)

A következő lépésben szintén a DS spektrumokra elvégeztem a többszörös szórás-korrekciót (MSC), ennek eredményei a 26. ábrán láthatóak. Itt az SNV-re kapott eredményektől eltérően a szemcsés és őrölt minták spektrumai különválnak egymástól, ami nem meglepő, mivel a normáláshoz felhasznált átlag képzéséhez csak az adott mintakezeléshez tartozó spektrumokat használtam fel, így a szemcsés és őrölt minták MSC-normált spektrumainak eltérése

felerősödik. A párhuzamos mérések spektrumai azonban közelebb kerülnek egymáshoz, ami az SNV-hez hasonló hatással jár. Ez különösen jól megfigyelhető, ha külön ábrázoljuk a szemcsés és az őrölt minták MSC-normált spektrumait (27. ábra).

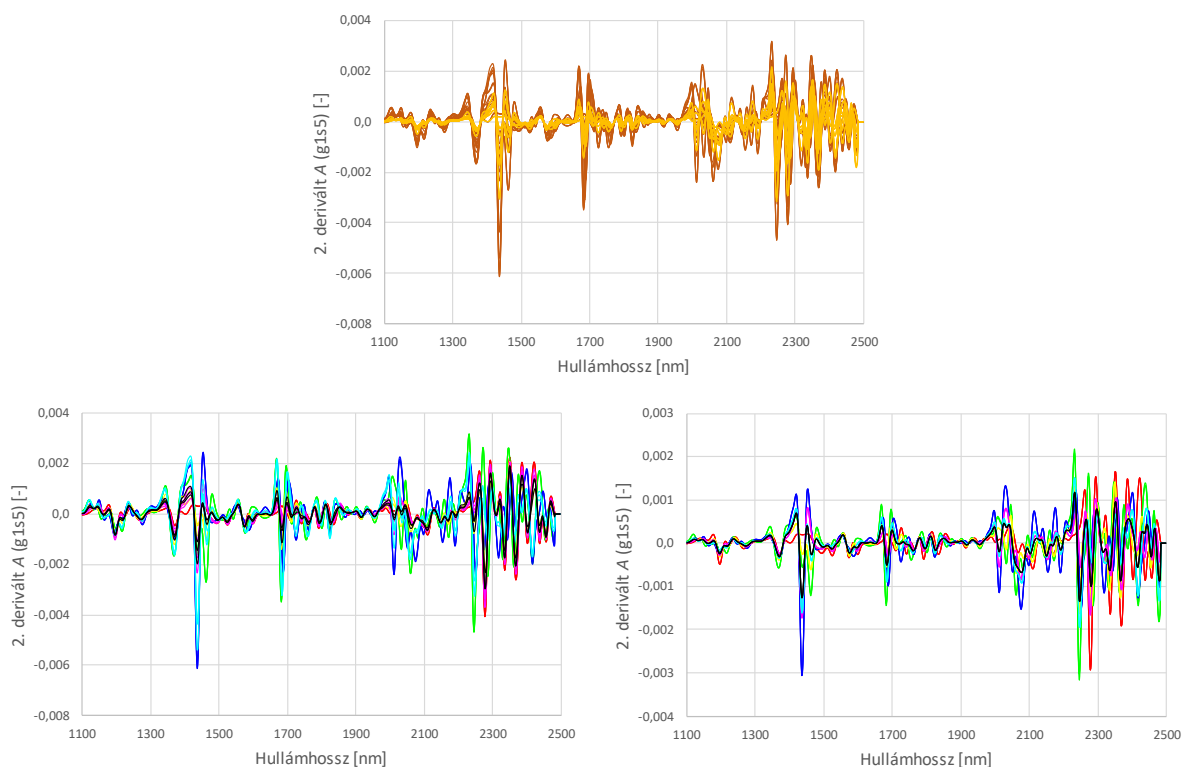


26. ábra: DS készülékkel kapott, NIR tartományra MSC-normált spektrumok az őrlés szerint színezve



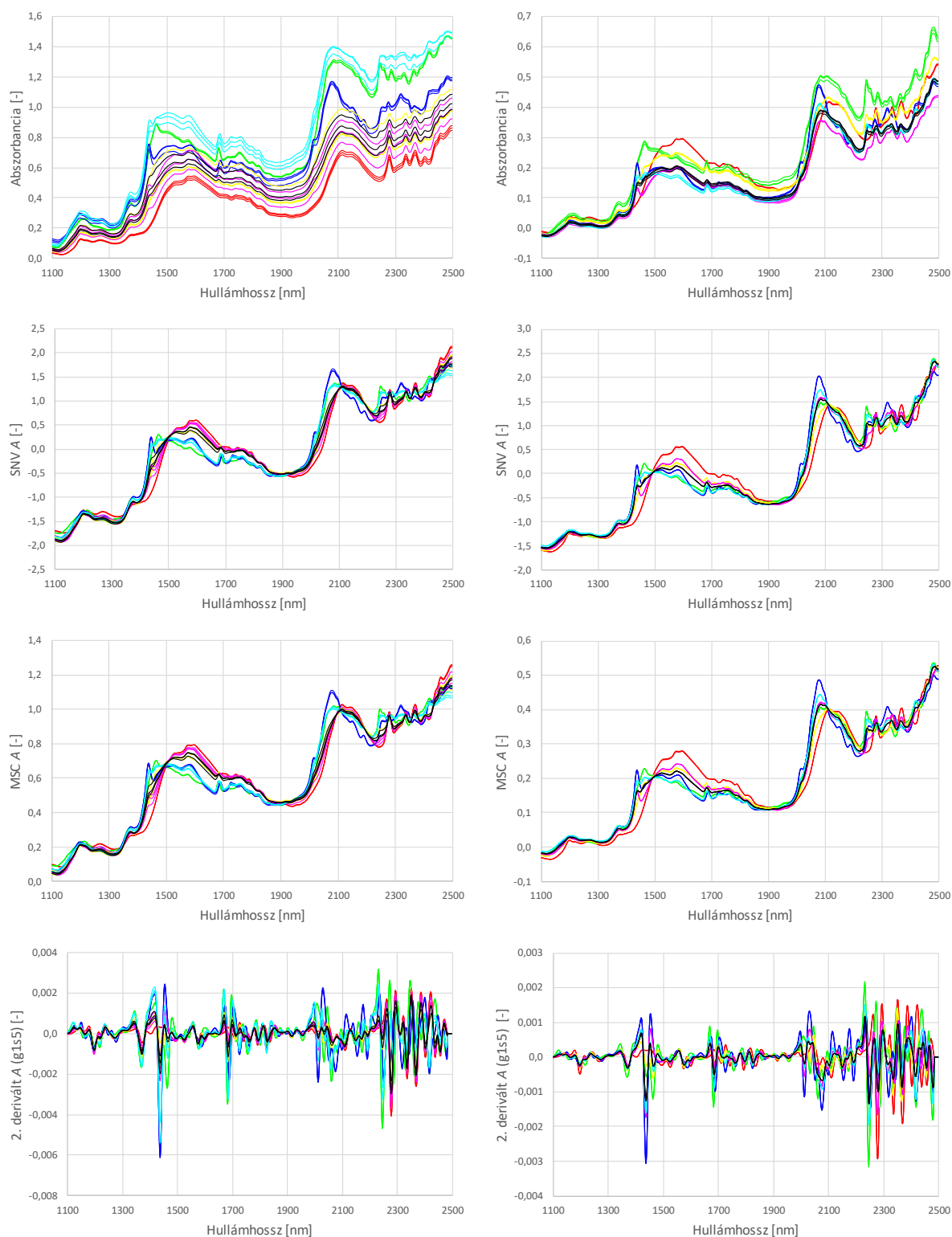
27. ábra: DS készülékkel kapott, NIR tartományra MSC-normált spektrumok a minták szerint színezve (bal: szemcsés, jobb: őrölt minták)

A deriválás által kapott eredmények talán látványosabbak abból a szempontból, hogy ebben az esetben az őrölt és őrletlen minták eltérő abszorbanciákkal ugyan, de azonos hullámhosszon mutatnak szélsőértékeket a spektrumképükön. Ez érthető, mivel a deriválás az alapvonal-korrekción túl a spektrumok inflexiós pontjainak kiemelését végzi el, a spektrumok között pedig a mintakezelés nem okoz kémiai változást, hanem csak az alapvonalra van hatással (28. ábra). Látható, hogy a második derivált spektrum még egy viszonylag nagy (5 pontos) simítóablak alkalmazása mellett is számos csúcsot tartalmaz.



28. ábra: DS készülékkel kapott, simítással kombinált második derivált (D2g1s5) spektrumok a mintakezelés szerint (fent), illetve a minták szerint színezve (lent, balra: szemcsés, jobbra: őrölt minták)

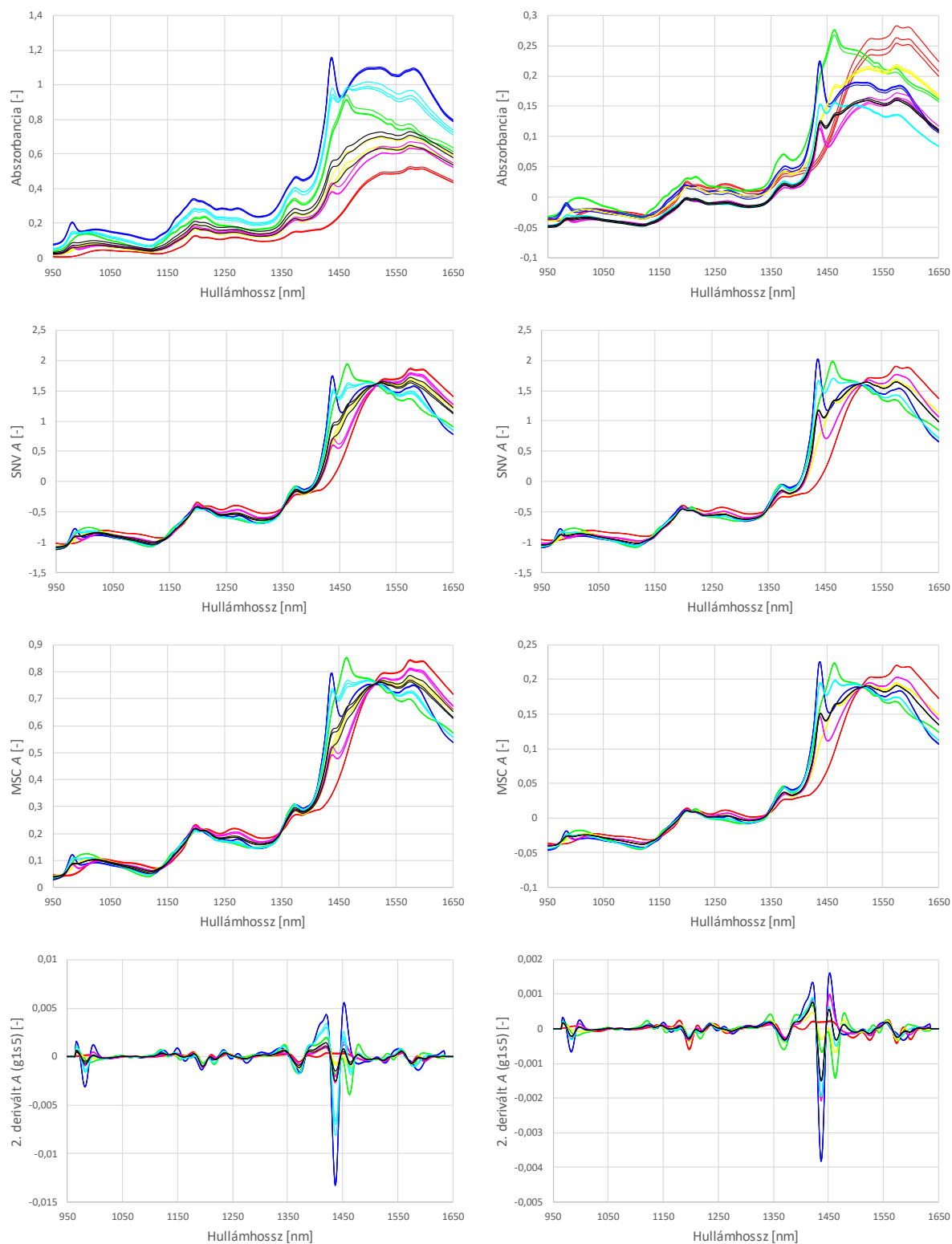
A korrekciók hatása akkor a legszemléletesebb, ha egymás mellett hasonlítjuk őket össze. A kezeletlen, SNV-kezelt, MSC-kezelt és simítással kombinált 2. derivált spektrumok összefoglalva a 29. ábrán láthatóak. Az összehasonlító ábrákon mindenhol automatikus skálázás látható, hogy jól megfigyelhetővé váljanak a kezeléseik hatásai. Az ábrán bal oldalon a szemcsés, jobb oldalon az őrölt minták spektrumai láthatóak, fentről lefelé pedig sorrendben a kezeletlen, az SNV-normált, az MSC-normált és a derivált spektrumok. Látható, hogy mind a normálás, mind a deriválás közel azonos hatással bír a szemcsés és az őrölt minták esetében is, tehát feltételezhető, hogy az őrlés elkülöníthetőségre gyakorolt pozitív hatása valamilyen szinten kiváltható az alapvonal-korrekcióval.



29. ábra: DS készülékkel kapott spektrumok minták szerinti színezésben: bal oldalon a szemcsés, jobb oldalon az örlött minták. Fentről lefelé sorrendben: kezeletlen spektrumok, SNV-normált spektrumok, MSC-normált spektrumok, 2. derivált spektrumok (D2g1s5)

A DA spektrumoknál hasonló jelenségeket tapasztaltam, mint a DS spektrumok esetén taglaltak, így itt csak az összehasonlító ábrákat mutatom be, melyen jól láthatóak a

spektrumkezelések hatásai. (30. ábra). A két készülék eredményeit összevetve pedig jól megfigyelhetők a korábbiakban taglalt különbségek a mérés technikát illetően.



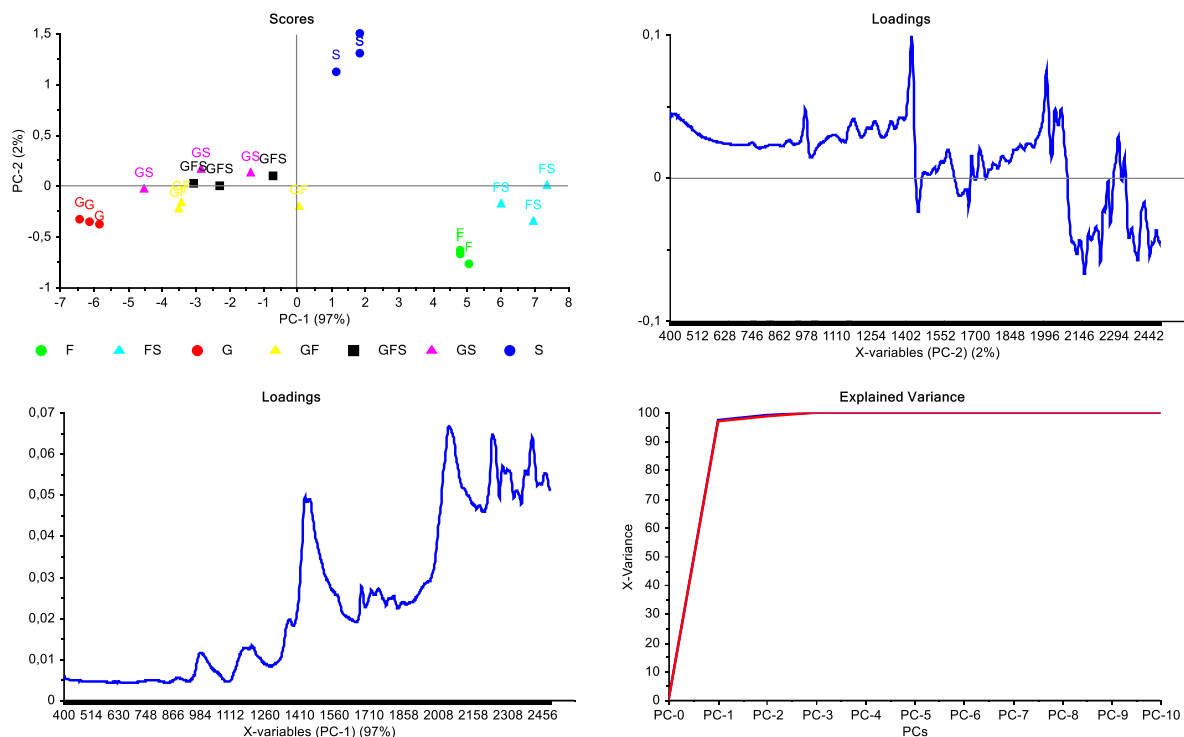
30. ábra: DA készülékkel kapott spektrumok minták szerinti színezésben: bal oldalon a szemcsés, jobb oldalon az örvölt minták. Fentről lefelé sorrendben: kezeletlen spektrumok, SNV-normált spektrumok, MSC-normált spektrumok, 2. derivált spektrumok (D2g1s5)

4.4. Főkomponens-elemzés eredményei

A következőkben a spektrumok sokváltozós adatelemzésének eredményeit ismertetem. A PCA elvégzésekor alapvetően külön kezeltem a szemcsés és az örölt mintákat. Ennek több oka is volt. Egyrészt a spektrumok vizuális értékelésekor is egyértelműen látszott, hogy a spektrumok szórása – tehát gyakorlatilag a spektrumokban rejlő változékonyság – a szemcsés minták esetén jóval nagyobb, és ezt a különböző alapvonal-korrekciók sem tudták minden esetben eliminálni. Másrészt az egyik célom az volt, hogy a mintakezelés hatását vizsgáljam (tehát összehasonlítsam a szemcsés és örölt minták spektrumait), így nem szükségszerű, hogy egy elemzésen belül felhasználjam a két mintakezelésből kapott spektrumokat.

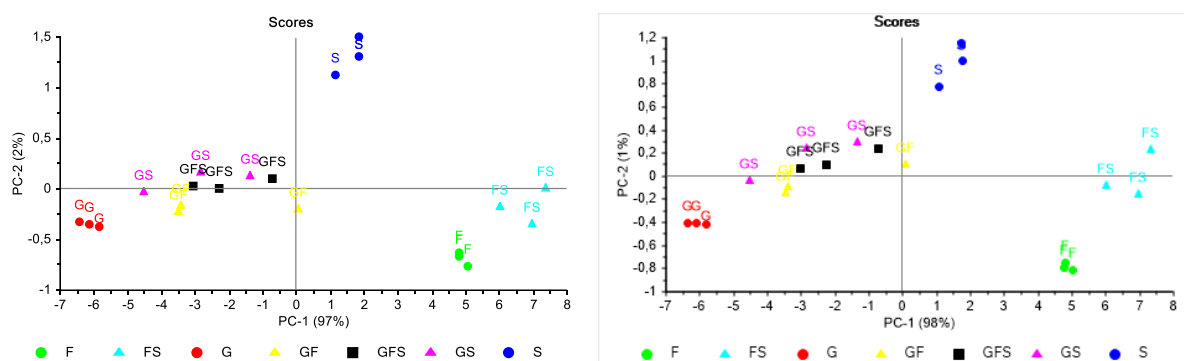
4.4.1. Kezeletlen Vis-NIR spektrumok főkomponens-elemzése

A 31. ábrán láthatóak a szemcsés minták diszperziós készülékkel rögzített, teljes tartományú spektrumaira végzett PCA kimeneti ábrái: az egyes spektrumok *score* értékei az első két főkomponens szerint, illetve az egyes főkomponensek által leírt kumulatív variancia, valamint az első 2 főkomponens súlyfüggvénye. Látható, hogy már 2 főkomponens leírja a teljes változékonyság 99%-át. A *score* ábrán jól megfigyelhető, hogy az egyetlen pontként megjelenő spektrumok elrendeződése közelíti a kísérlettervben leírt háromszög alakot, bár a párhuzamos mérések közötti szórás viszonylag nagy, illetve a keverék minták (GF, GS, FS, GFS) spektrumai által képzett hármas csoportok nem különíthetők el egymástól, tehát a spektrumokon megfigyelt trendek itt is jelen vannak. Az első főkomponens súlyfüggvénye leginkább a minták spektrumára hasonlít a teljes tartományban, ami az alapvonal-eltolódásból adódik. A második főkomponens súlyfüggvénye pedig számos, szénhidrátokhoz köthető csúcsot tartalmaz.



31. ábra: Szemcsés minták DS készülékkel felvett teljes tartományú spektrumaira végzett PCA kimeneti ábrái

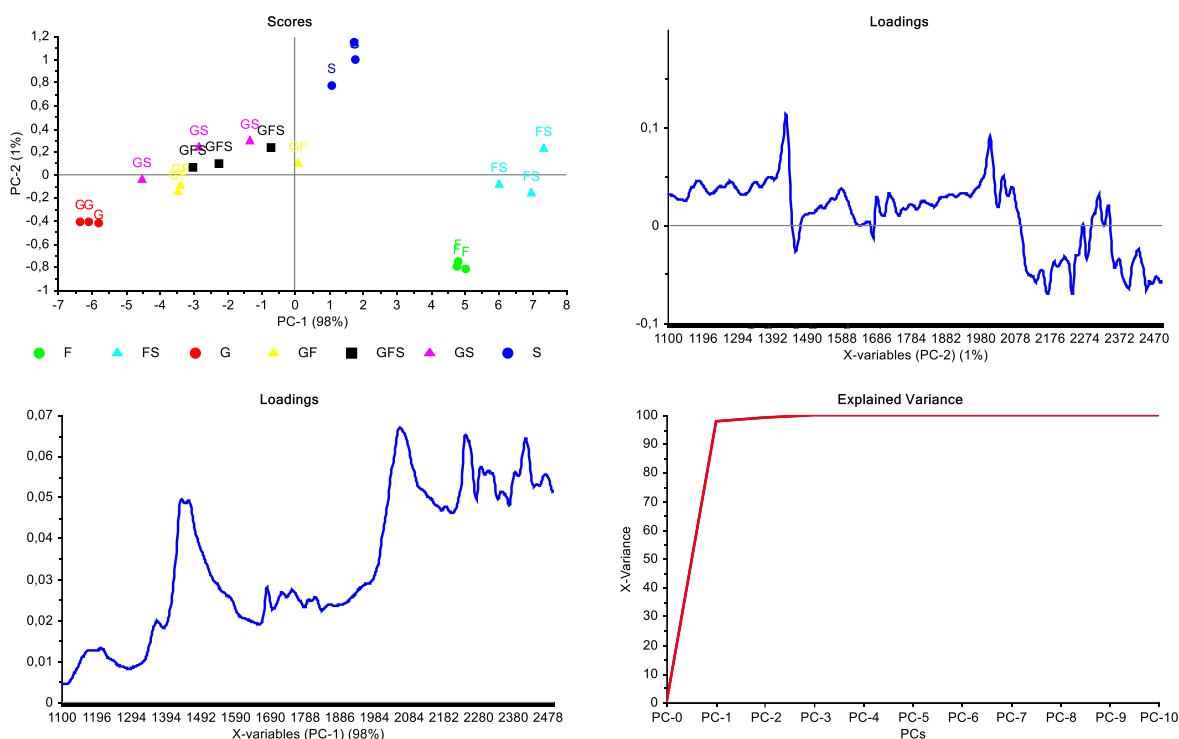
Mivel a Si detektor tartománya (400-1098 nm) a PbS detektoréhoz képest jóval kisebb változékonysággal bír, ezért az elemzést megismételtem az 1100-2500 nm tartományt kiemelve, a két tartományra kapott score diagram látható a 32. ábrán. Ez alapján is megerősítést nyer, hogy a Si detektor tartománya (amely magában foglalja a látható fény régióját) a szemcsés minták esetében jóval kevésbé informatív, mint a NIR tartomány, így a továbbiakban a diszperziós készülék esetén csak az 1100-2500 nm spektrumszakasszal foglalkozom a kiértékelés ezen szakaszában is.



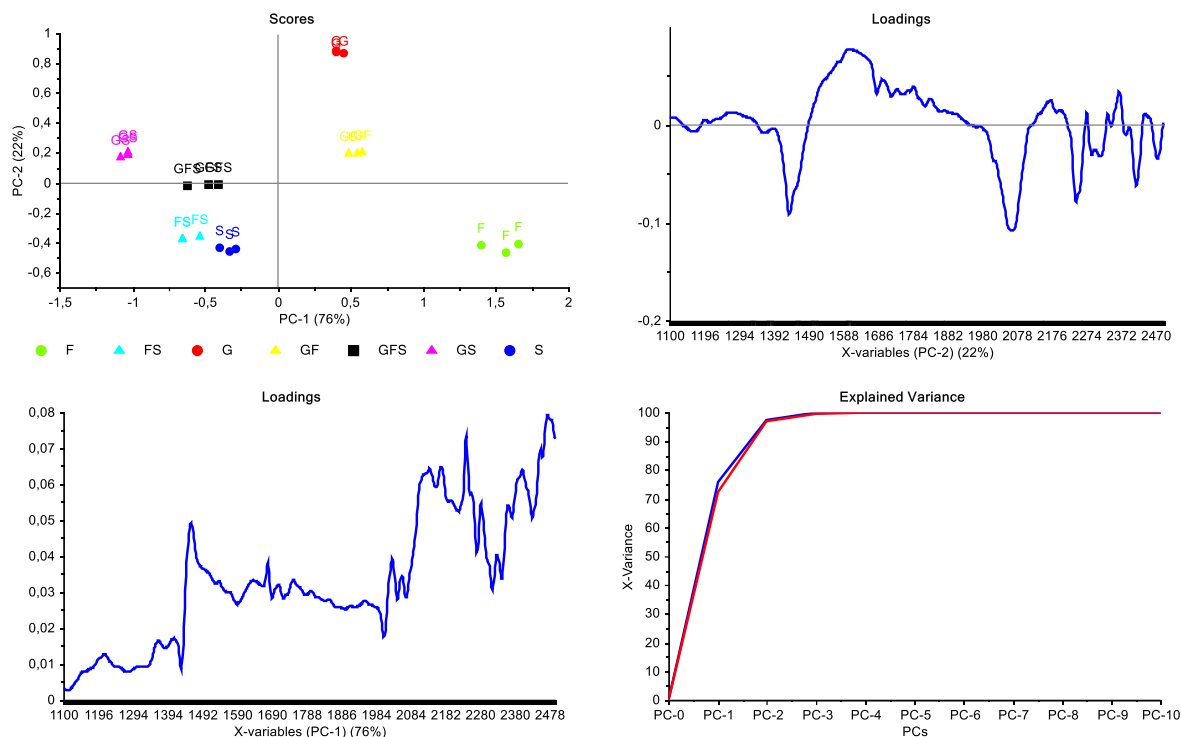
32. ábra: Szemcsés minták DS készülékkel felvett spektrumaira végzett PCA score diagramjai (bal: 400-2500 nm tartomány elemzése, jobb: 1100-2500 nm tartomány elemzése)

A tartomány kiválasztásán (változószelekció) túl érdemes a mintakezelés hatását is összehasonlítani a kezeletlen spektrumok esetén. A 33. ábrán a szemcsés minták NIR tartományú spektrumaira végzett PCA kimeneti ábrái láthatóak, a 34. ábrán pedig ugyanez az

őrölt mintákra, a két ábra összevetésével tehát önmagában a mintakezelés hatásáról kapunk információt. Megfigyelhető, hogy bár a spektrumokat reprezentáló pontok szórása csökken az őrlés hatására, a keverék minták elkülönítése nem tökéletes (az őrölt minták esetén az FS és S minták spektrumai egymáshoz közel helyezkednek el). A súlyfüggvényeken megjelenő csúcsok kevésbé szélesek, elkentek az őrölt minták esetén, ami abból következik, hogy a szemcseméretbeli különbségek kiiktatásával sokkal inkább a kémiai különbségek jelentkeznek. Összességében erről a két ábráról az olvasható le, hogy a szemcseméret hatása döntő az elkülönítés sikerességét tekintve, az alapvonal-eltolódások kiküszöbölése mindenképpen szükséges, ajánlott tehát a spektrumok előkezelése normálással vagy deriválással mindkét mintatípus esetén.



33. ábra: Szemcsés minták DS készülékkel felvett, NIR tartományú spektrumaira végzett PCA kimeneti ábrái



34. ábra: Örölt minták DS készülékkel felvett, NIR tartományú spektrumaira végzett PCA kimeneti ábrái

4.4.2. Normált és derivált NIR spektrumok főkomponens-elemzése

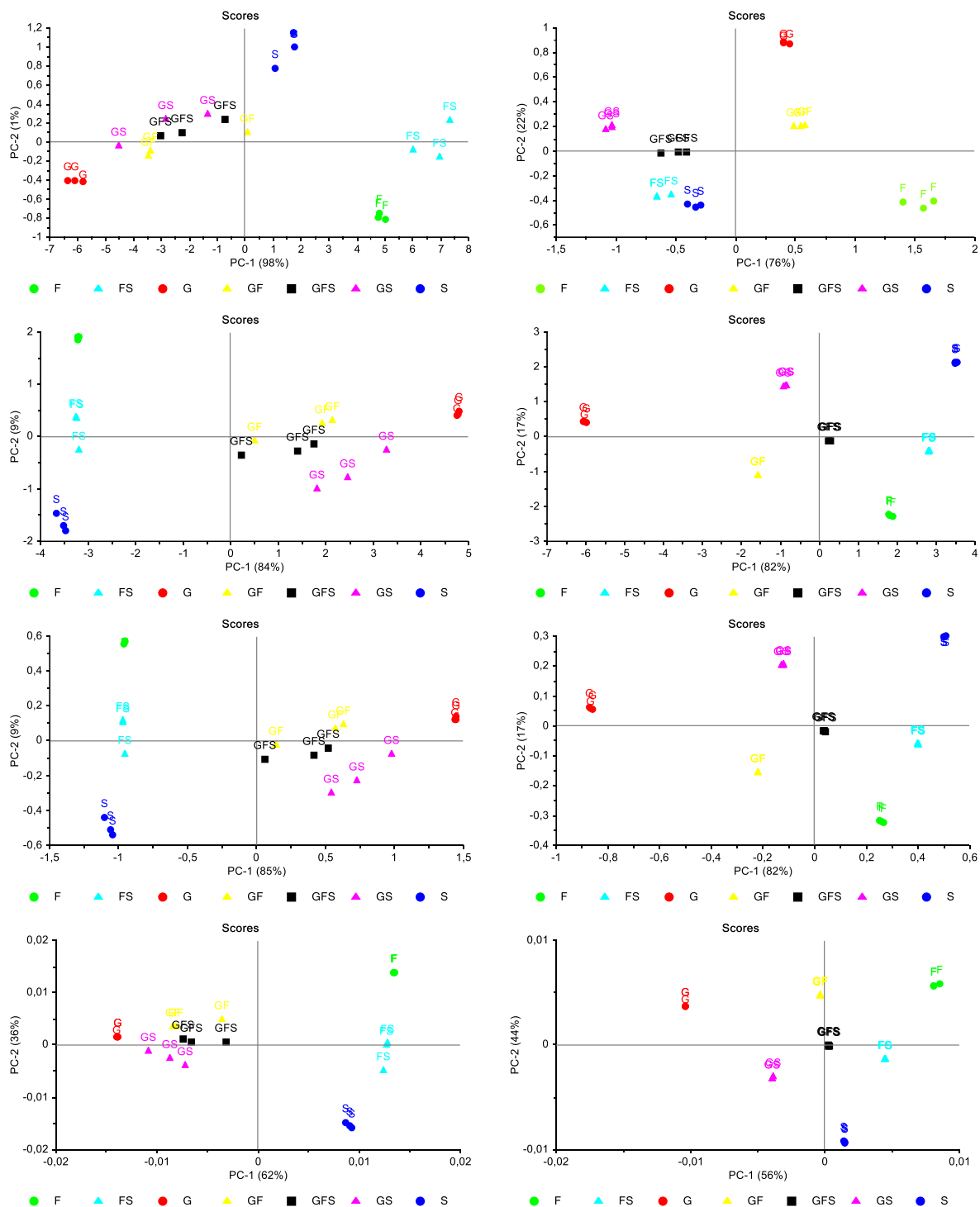
A kezeletlen spektrumokon túl a PCA-t elvégeztem a normált, és a derivált spektrumokra is. A kumulált variancia tekintetében nagy különbségek nem mutatkoztak, jellemzően 1-2 főkomponens elegendő volt ahhoz, hogy a változékonyság minimum 95%-át (vagy akár ennél is többet) leírja. Így a következőkben elsősorban a *score* ábrák és a súlyfüggvények segítségével mutatom be az eredményeket.

A diszperziós készülékkel rögzített, NIR tartományú (1100-2500 nm) spektrumokkal kapott eredmények láthatóak a 35. ábrán. Az ábrán az első két főkomponens szerint ábrázolom a *score* értékeket, bal oldalon mindig a szemcsés, jobb oldalon pedig az örölt minták azonos spektrum-előkezelésével kapott eredményei láthatóak. Fentről lefelé pedig a már ismertetett kezeletlen, majd az SNV normált, az MSC normált, és a második derivált spektrumok szerinti bontásban láthatóak az eredmények. Korábban már ismertetésre került, de érdemes itt is megemlíteni, hogy az MSC transzformációt külön végeztem el a két mintakezelés spektrumaira, a *gap-segment* deriváltak esetén pedig 5 pontos simítóablakot használtam 1 pontos réssel.

Az ábrán látható *score* diagramokat összevetve megfigyelhető, hogy az örölt minták spektrumainak elhelyezkedése sokkal jobban közelíti a kísérletterv alapján elvártat, mint a szemcsés esetben. Az SNV és az MSC transzformáció mindkét mintakezelés esetén nagyon

hasonló eredményekkel járt a szemcsés és az őrölt minták esetén is, azonban a deriválás alkalmazása a szemcsés minták esetén csak minimálisan javította a csoportosulást, az ezen elemzéshez tartozó diagramokon a glükózt tartalmazó keverékminták spektrumai jelentősen a glükózminták irányába tolódnak el, a tiszta fruktóz és szacharóz minták spektrumai azonban így jobban elkülönülnek egymástól. Vélhetően ennek az az oka, amit már korábban is említettem, nevezetesen hogy a diszperziós készülék esetén a mintát a mintatartó aljára helyezett kvarcüvegen, „alulról” éri a fény, így a homogenizálás ellenére a kisebb szemcseméretű glükózzemcsék a mintatartó aljára tudnak osztályozódni. A deriválás pedig az alapvonal-korrekción túl a kémiai különbözőséget is felerősíti a csúcsvállak kiemelésével. Nem meglepő tehát, hogy a szemcsés minták esetén a glükóztartalom dominálja a spektrumokat a PCA kimeneti ábráin is.

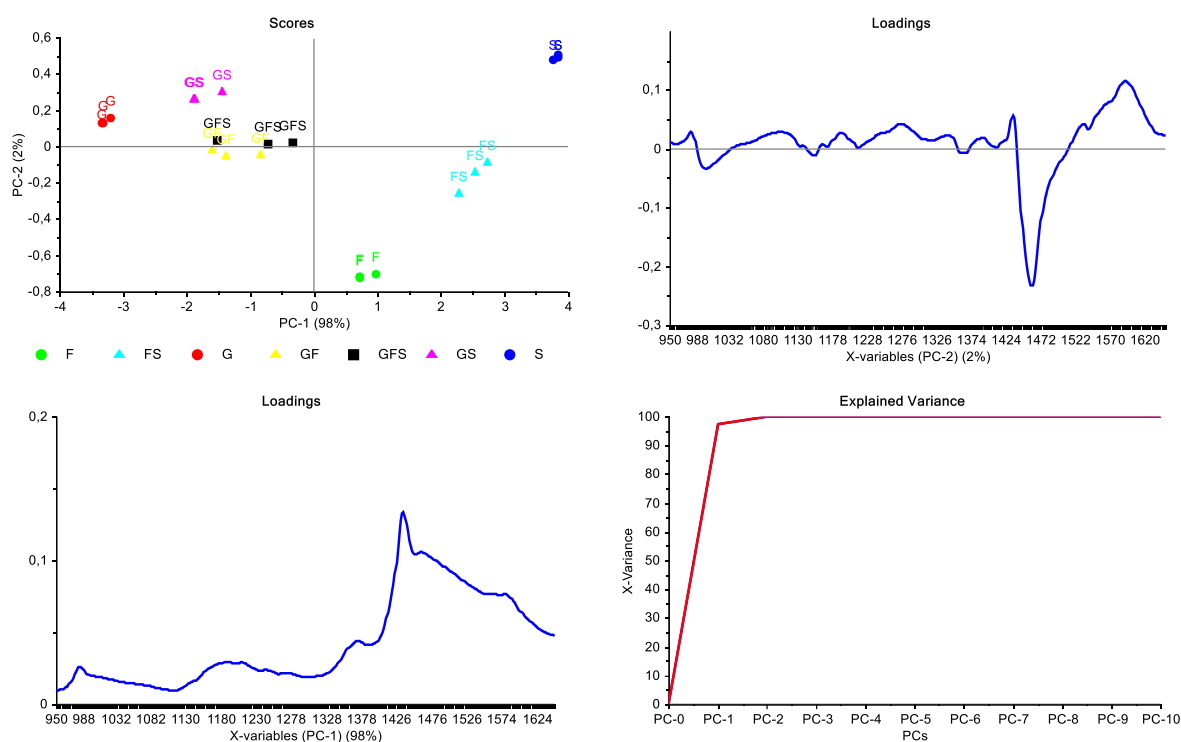
A minták őrlése, és az ezekről felvett spektrumok alapvonal-korrekcója jótékony hatással van az elkülönítésre. A legjobb eredményt itt a deriváltak alkalmazása adja, ami nem meglepő, mivel a szemcseméret homogénné tételével az alapvonal-eltolódás csökken a spektrumok között, így az eltérések inkább a kémiai tulajdonságokból fakadnak, amit a deriválás a normálásnál jobban ki tud emelni.



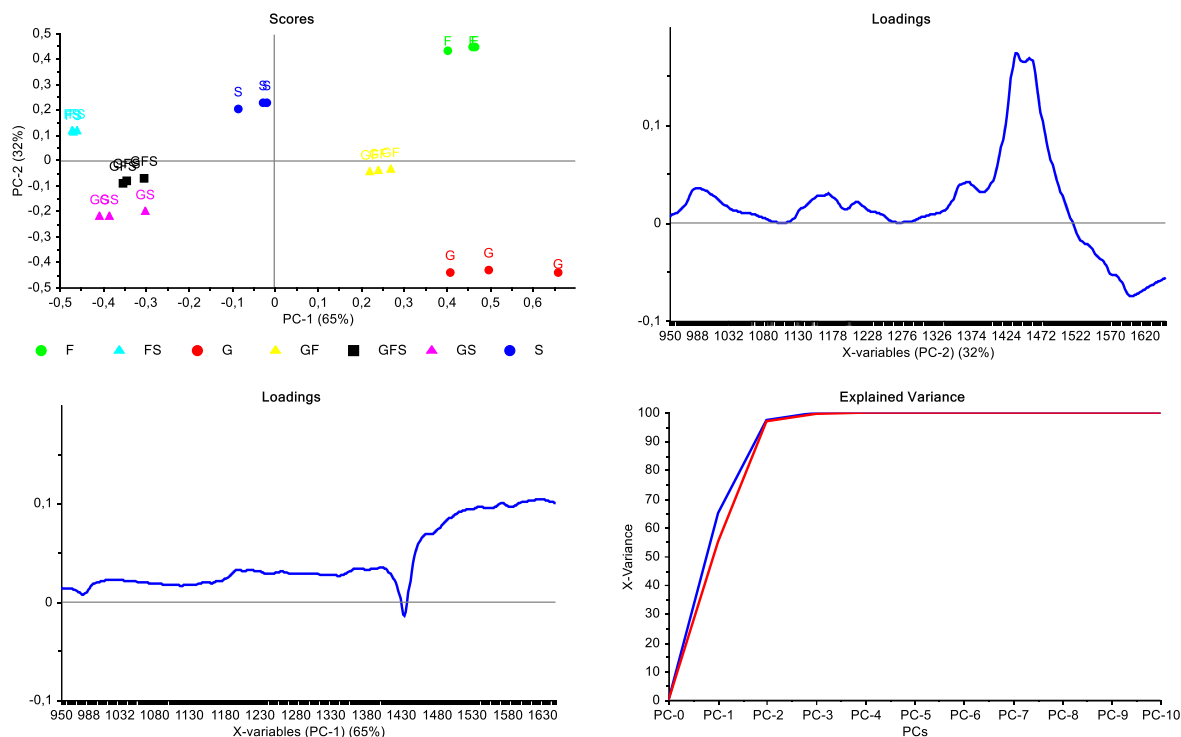
35. ábra: Score diagramok a minták DS készülékkel felvett, NIR tartományú spektrumaira különböző előkezelések után elvégzett PCA-k esetén (bal: szemcsés minták, jobb: őrölt minták; fentről lefelé sorrendben: kezeletlen spektrumok, SNV-normalt spektrumok, MSC-normalt spektrumok és derivált spektrumok)

4.4.3. DA készülék spektrumainak főkomponens-elemzése

A diódasoros készülék detektorsorában nincs meg a diszperziós készüléknél meglévő „váltás”, így az ezzel felvett spektrumokat teljes tartományukban (950-1650 nm) értékelem ki. A kezeletlen spektrumok főkomponens-elemzését összevetve (36. és 37. ábra) látható hogy a DS készülékkel ellentétben az örölt minták esetén több esetben nagyobb a szórás, mint a szemcsés mintáknál tapasztalt, ez vélhetően azzal függ össze, hogy a DA készülék az alacsonyabb hullámhossz-tartományának köszönhetően a kémiai különbségességeket mutató spektrumszakaszokat (a DS készülékkel kapott spektrumok 2000 nm feletti tartományát) nem tartalmazza, így az elkülönítés sokkal inkább a szemcseméret alapján történik. Azonban itt a mintát felülről éri a fény, így a DS készülék mintatartójánál ismertetett negatív hatások (szétosztályozódás) kevésbé jelentkeznek. Ezt alátámasztják a két elemzés hasonló lefutást követő súlyfüggvényei is.

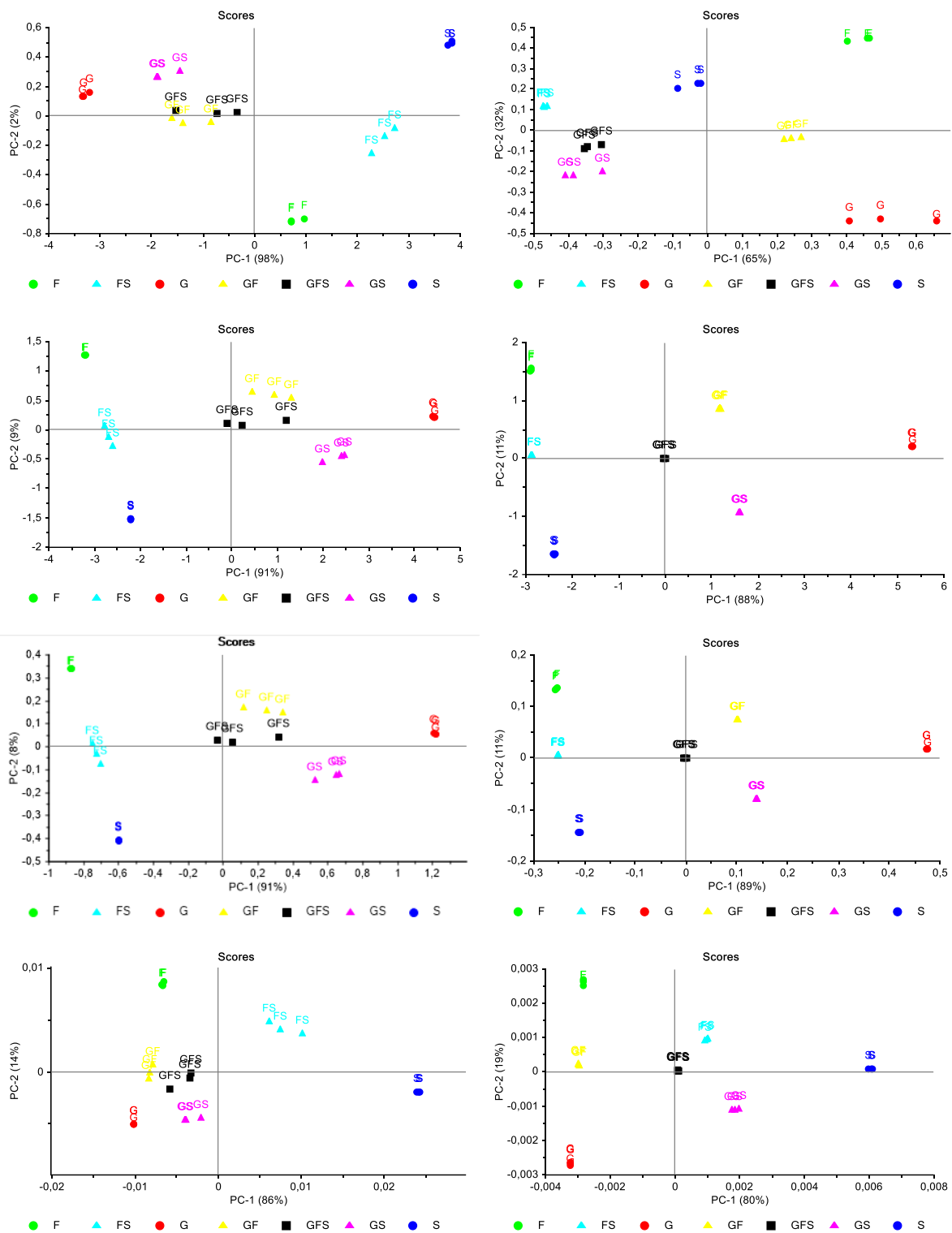


36. ábra: A szemcsés minták DA készülékkel felvett spektrumaira végzett PCA eredményei



37. ábra: Az őrlött minták DA készülékkel felvett spektrumaira végzett PCA eredményei

Célszerű a DA készülékkel rögzített spektrumok matematikai előkezelését követően is a DS készülékhez (35. ábra) hasonló szisztémában, összefoglalva ábrázolni a score diagramokat, ez látható a 38. ábrán. Megfigyelhető, hogy a szemcsés minták esetén az alapvonal-korrekciónak a DS készüléknél tapasztaltakhoz képest jóval nagyobb hatása van. Az őrlés a DA készülék spektrumainál kevésbé ér el jó hatást, mint a diszperziós készüléknél tapasztalhattuk, az MSC és az SNV kezeléssel normált spektrumokra végzett PCA pedig szinte teljesen azonos eredménnyel jár. Fontos eredmény lehet, hogy a szemcsés minták deriválása jelentősen javította a csoportosulást az egyes minták között. Az őrlött minták deriválása esetén – akárcsak a DS készüléknél – szinte tökéletesen sikerült visszahozni a kísérlettervben leírt „háromszög alakot” a score diagramokon.



38. ábra: Score diagramok a minták DA készülékkel felvett, NIR tartományú spektrumaira különböző előkezelések után elvégzett PCA-k esetén (bal: szemcsés minták, jobb: örölt minták; fentről lefelé sorrendben: kezeletlen spektrumok, SNV-normált spektrumok, MSC-normált spektrumok és derivált spektrumok)

5. Összefoglalás

A kezdeti elhatározásom mentén haladva végrehajtottam a kiválasztott mintákon a tervezett méréseket. Már a kísérlettervezéskor felmerült az eltérő szemcseméretből adódó kihívások kérdése, így későbbi méréseim során hangsúlyos szerepet kapott ennek megválaszolása. Az első mérések után már gyanítható volt, hogy a szemcseméret különbségei jócskán nagyobb szórást eredményeznek a minták spektrumai között, így nagyban megnehezíti a kiértékelést. Így végül kutatásom kettős aspektussal rendelkezik, mely egyrészt a minták kvalitatív azonosítását és egymástól való megkülönböztetését célozza, másrészt egy alapvető ipari problémát vizsgál.

Összességében elmondható, hogy a minták között szabad szemmel is érzékelhető különbségek már a nyers spektrumokról is kivehetőek voltak, azonban jóval torzultabb eredményeket kaptam a diszperziós készülékkel történő mérésekből, mely felvetette a más szempontból való megközelítést ellenőrzés gyanánt. Mivel a finomszemcsés glükóz a mintatartó alján gyűlt össze így domináns jelleget alakított ki a DS spektrumokban. A DA készülék ezzel szemben a vártan megfelelően ellensúlyozta ezt a problémát így hatékonyabbnak tekinthető ilyen szempontból. Az őrlés bevezetése drasztikusan csökkentette a minták közötti különbségek, összecsúszó spektrumaik a kívánt homogenitás tényéről árulkodtak, melyeket spektrális adataik is megerősítettek, különösen a DS készülék esetén.

A matematikai korrekciókból tisztán látható, hogy a kezelések döntő fontosságúak, és bár az őrléssel jó eredményeket lehet elérni az inhomogén szemcseméretű minták NIR tartományú vizsgálatával, számos esetben a szemcsés mintákkal is hasonló eredmények érhetőek el, ha a megfelelő spektrum-előkezelést alkalmazzuk. Így ezek által a szemcseméret problémája és az alapvonal-eltolódások valamennyire kiküszöbölhető a jól megválasztott matematikai módszerekkel. Ez a tény is bizonyítja, hogy a NIR technikában rejlő lehetőségek sokoldalúak, alkalmazásuk ténylegesen előremutató lehet az iparban éppúgy kvantitatív és kvalitatív meghatározásra, mint folyamatirányítási kulcstechnikaként.

Terveim között szerepel a jövőre nézve a kombinált előkezelések vizsgálata hasonló modellrendszerben, illetve a spektrumok értékelése különböző osztályozási modellek, algoritmusok segítségével, hogy az egyes kezelések hatásait még inkább megérthessem. Elképzelhető, hogy létezik olyan matematikai előkezelés-kombináció, amely alkalmazásával a szemcsés minták elkülöníthetősége jobban megközelíti, vagy akár el is éri az őrlött mintákét. Ez esetben szükségtelenné válna a minták fizikai előkezelése, őrlése. Ennek igazolása további kutatásokat igényel – bízom benne, hogy munkám ehhez jó alapot szolgáltat.

Irodalomjegyzék

- [1] Mitra, A. (2016). Fundamentals of quality control and improvement. John Wiley & Sons.
- [2] Dr. Topár József (2020) Minőségmenedzsment jegyzet. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
- [3] Singh, J. (2015). International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics, 6(3), 185-187.
- [4] Yu, L. X., Amidon, G., Khan, M. A., Hoag, S. W., Polli, J., Raju, G. K., & Woodcock, J. (2014). Understanding pharmaceutical quality by design. The AAPS journal, 16(4), 771-783.
- [5] Chew, W., & Sharratt, P. (2010). Trends in process analytical technology. Analytical Methods, 2(10), 1412-1438.
- [6] van den Berg, F., Lyndgaard, C. B., Sørensen, K. M., & Engelsen, S. B. (2013). Process analytical technology in the food industry. Trends in food science & technology, 31(1), 27-35.
- [7] Grassi, S., & Alamprese, C. (2018). Advances in NIR spectroscopy applied to process analytical technology in food industries. Current Opinion in Food Science, 22, 17-21.
- [8] Trienekens, J., & Zuurbier, P. (2008). Quality and safety standards in the food industry, developments and challenges. International journal of production economics, 113(1), 107-122.
- [9] Balázs G., Bugyi Zs., Gergely Sz., Hegyi A., Hevér A., Salgó A., Tömösközi S., Élelmiszeranalitika gyors és automatizált módszerei. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2011)
- [10] Gergely Sz.: Gabonák nyersanyag minősítése: Közeli infravörös spektroszkópia. Kézirat. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Biokémiai és Élelmiszerteknológiai Tanszék, Budapest (2005)
- [11] Williams, P. (2019). Karl H. Norris, the Father of near-infrared spectroscopy. NIR news, 30(7-8), 25-27.

- [12] Stuart, B. H. (2004). *Infrared spectroscopy: fundamentals and applications*. John Wiley & Sons.
- [13] López, M. G., García-González, A. S., & Franco-Robles, E. (2017). Carbohydrate analysis by NIRS-Chemometrics. *Developments in Near-Infrared Spectroscopy*, 10, 67208.
- [14] Ozaki, Y. (2012). Near-infrared spectroscopy—Its versatility in analytical chemistry. *Analytical Sciences*, 28(6), 545-563.
- [15] Realpe, A., & Velázquez, C. (2003). Image processing and analysis for determination of concentrations of powder mixtures. *Powder Technology*, 134(3), 193-200.
- [16] Muzzio, F. J., Robinson, P., Wightman, C., & Brone, D. (1997). Sampling practices in powder blending. *International journal of pharmaceuticals*, 155(2), 153-178.
- [17] Sekulic, S. S., Ward, H. W., Brannegan, D. R., Stanley, E. D., Evans, C. L., Sciavolino, S. T., ... & Aldridge, P. K. (1996). On-line monitoring of powder blend homogeneity by near-infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 68(3), 509-513.
- [18] Berntsson, O., Danielsson, L. G., Lagerholm, B., & Folestad, S. (2002). Quantitative in-line monitoring of powder blending by near infrared reflection spectroscopy. *Powder Technology*, 123(2-3), 185-193.
- [19] Koller, D. M., Posch, A., Hörl, G., Voura, C., Radl, S., Urbanetz, N., ... & Khinast, J. G. (2011). Continuous quantitative monitoring of powder mixing dynamics by near-infrared spectroscopy. *Powder technology*, 205(1-3), 87-96.

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Slezsák Jánosnak és Dr. Gergely Szilveszternek hogy munkájukkal és segítségükkel hozzájárultak a dolgozatomhoz, és akik kitartó motiválása nélkül nem készülhetett volna el ez a munka. Köszönettel tartozom az Alkalmazott Biotechnológiai és Élelmiszertudományi Tanszéknek valamint a NIR Spektroszkópai Csoportnak, hogy lehetőséget és helyet biztosítottak kutatásomhoz.

Köszönöm Családomnak és Barátaimnak, hogy végig támogattak és bíztattak munkám során.

A bemutatott kutatás a BME-EGA-02 számú projekt részeként az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatással, a TKP2021 pályázati program finanszírozásában valósult meg.