



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

№ 3

GABONÁK NYERSANYAG MINŐSÍTÉSE: KÖZELI INFRAVÖRÖS SPEKTROSKÓPIA

ÉLELMISZERVIZSGÁLATI KOMPLEX LABOR
(BME VEBEU 424 / BME VEBE 4675)

2005/2006 I. (ősz) félév

mérésvezető:

Gergely Szilveszter

készítette:

Gergely Szilveszter

✉ : H-1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3., K. épület 2. emelet 3. ajtó

☎ : (1) 463 14 22 fax : (1) 463 38 55

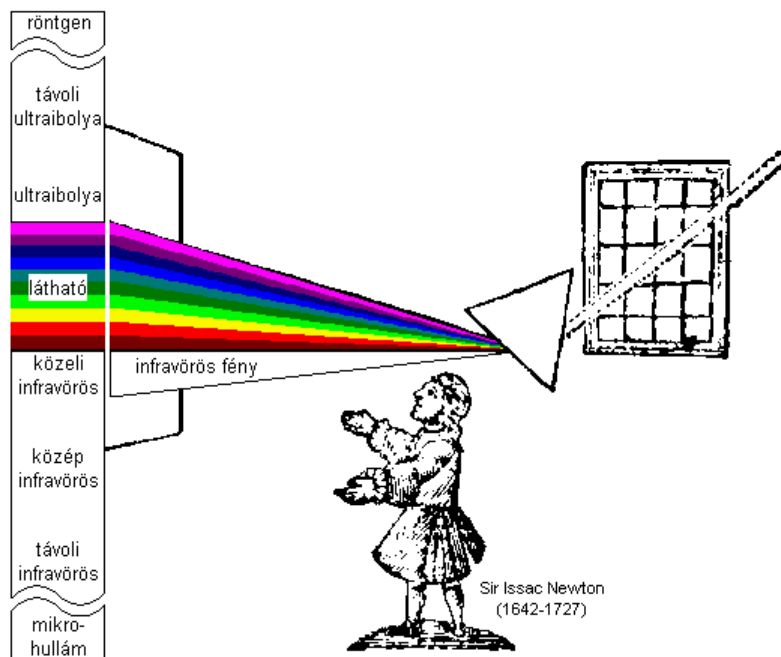
E-mail : gergely@mail.bme.hu

Budapest • 2005

A gyors, roncsolásmentes vizsgálati eljárások legígéretesebb csoportja a közeli infravörös spektroszkópiái módszerek köre, amelyek egyre szélesebb körű alkalmazást nyernek a mezőgazdasági és élelmiszeripari alapanyagok, kiegészítő és adalékanyagok, intermedierek és végtermékek minősítésében. A jelenlegi gyakorlatban a közeli infravörös tartományt felhasználó spektroszkópiái technikák közül a reflexiós (near-infrared reflectance = NIR), és a transzmissziós (near-infrared transmittance = NIT) vizsgálati módszerek terjedtek el széles körben. Ma már rutinszerűen alkalmazzák ezen technikákat olyan összetett biológiai rendszerek minőségi paramétereinek vizsgálatára, mint a búza vagy az árpa nedvesség-, illetve fehérjetartalmának meghatározása, sőt a fejlődő adatfeldolgozási eljárások lehetővé teszik az egyes gyártásközi paraméterek (pl. technikai szemkeménység) analízisét is.

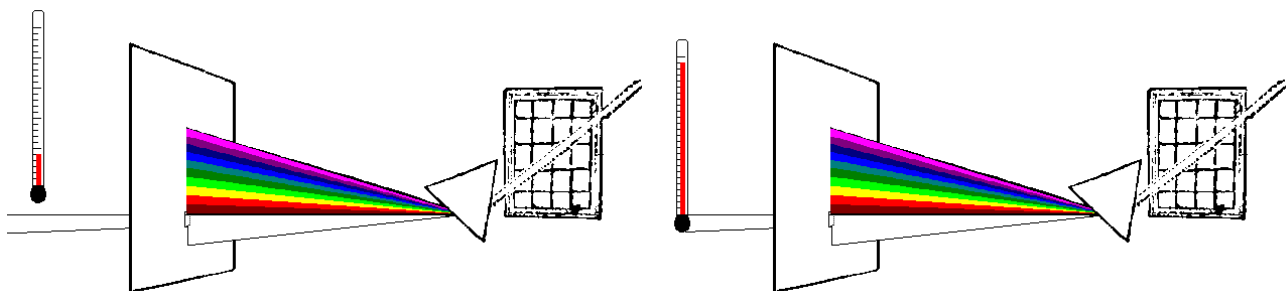
A közeli infravörös spektroszkópia kialakulása

Az infravörös spektroszkópia története Sir Issac Newtonnal (1642–1727) kezdődik. Az ablak zsaluin egy sötét szobába besűrődő fénysugár útjába prizmat helyezve Newton kimutatta, hogy a fehér fényt különböző színek alkotják (*1. ábra*). A prizma az ibolya színt hajlította el leginkább, míg a vöröset a legkevésbé. Bár ezek a tények Newton kísérletei előtt is ismertek voltak, de ő volt az első, aki pontosan leírta tapasztalatait.

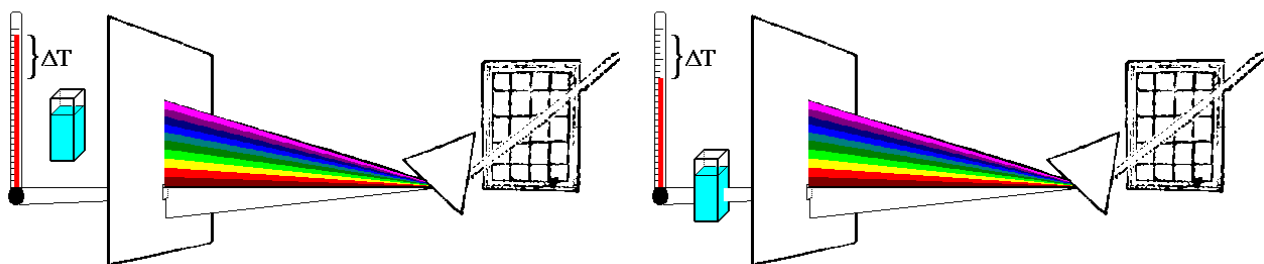


1. ábra: Sir Issac Newton kísérlete, illetve az infravörös fény helye az elektromágneses spektrumban

Sokkal később Sir Frederic William Herschel (1738–1822) a fehér fény egyéb, a látható régió kívüli komponenseinek létezését képzelte el. A látható spektrum vörös része utáni tartományt hívják infravörös régióknak, s tekintve azt, hogy ez a tartomány az emberi szem számára láthatatlan, Herschelnek valahogy észlelnie kellett. Egy hőmérő befeketített tartálya volt a megoldás: amint az infravörös sugár útjába helyezte, úgy a hőmérő a szobahőmérsékletnél melegebbet mutatott (2. ábra). Végül is Herschel 1800 májusában a fénysugár útjába kis üvegcsőben kútvíz mintát helyezett. A referencia és a vizsgált minta hőmérséklete közti különbség az infravörös fény abszorpciójának volt köszönhető (3. ábra). [1]



2. ábra: Herschel kísérlete – az infravörös tartomány detektálása

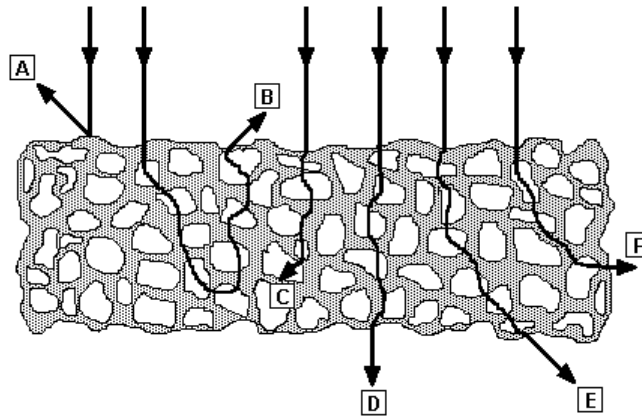


3. ábra: Herschel kísérlete – az infravörös fény elnyelődése vízben

A közeli infravörös spektroszkópia alapjai

A közeli infravörös hullámhossz tartomány 800-2500 nm között helyezkedik el. Pontos optikai jelet két tartományban kaphatunk: a transzmissziós méréseknél általában a 800-1100 nm-es, míg a reflexiós méréseknél főként az 1100-2500 nm-ig terjedő régiót használják fel.

A NIR/NIT technika a minta és az infravörös fotonok kölcsönhatását használja fel: a fénkvantum hatására a molekulák rezgési és forgási állapotai gerjesztődnek, eközben a fotonok egyik része elnyelődik (abszorpció), másik része áthalad a mintán (transzmisszió), és bizonyos része más utat jár be (4. ábra).



4. ábra: A fény és az anyag egymással való kölcsönhatásai
A – spekuláris reflexió, B – diffúz reflexió, C – abszorpció,
D – transzmisszió, E – elhajlás, F – szóródás

A spektrum a szerves molekulákban előforduló kötések különböző hullámhosszoknál való fény abszorpciójának eredményeképp jön létre. A kvantummechanikában a kétatomos molekulákon belüli kötések harmonikus rezgést végző rugókkal modellezik (5. ábra), amelyek viselkedését a Hooke-törvény (1) írja le:



5. ábra: Rugómodell kétatomos molekulára

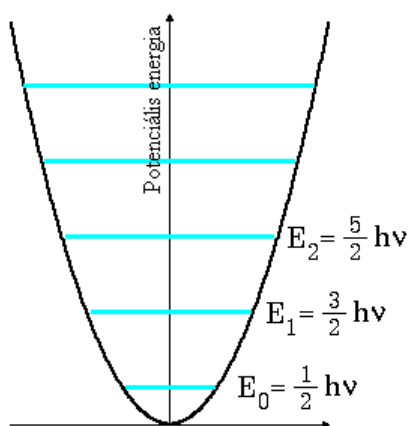
$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (1)$$

ahol ν a rezgés frekvenciája;
 k a klasszikus erőállandó;
 μ a két atom redukált tömege: $\mu = m_1 \cdot m_2 / (m_1 + m_2)$.

A klasszikus rugómodellel szemben a kétatomos molekulák rezgési energiaszintjeinek száma véges: az energiák folytonos eloszlása helyett itt diszkrét energiaszintek vannak (6. ábra). Több atomos molekulák esetén az energiaszintek egész sorozatát kapjuk. Ideális esetben úgy lehet felfogni, mint független, kétatomos harmonikus oszcillátorok sorozatát. Ekkor a lehetséges energiaszintekre a következő (2) kifejezést kapjuk:

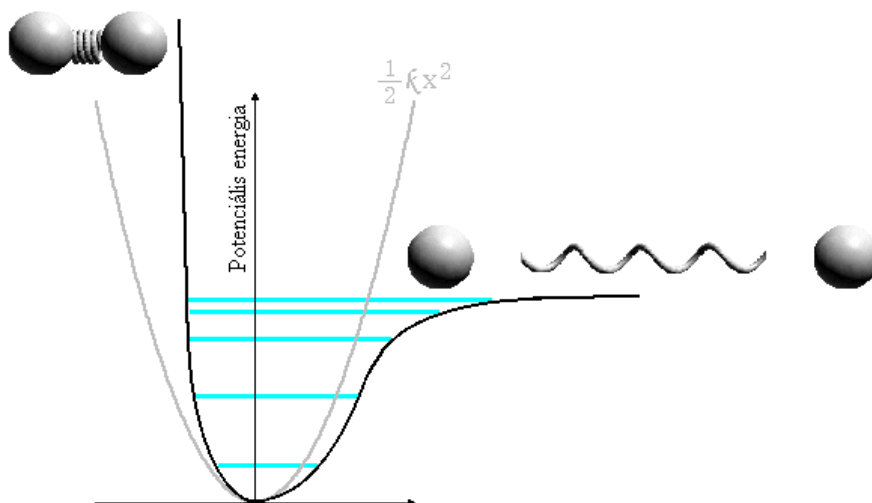
$$E_{\nu_1, \nu_2, \nu_3, \dots} = \sum_{i=1}^{3N-6} \left(\nu_i + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} i \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (2)$$

Abban az esetben, ha egy rezgési állapot ($\nu_1, \nu_2, \nu_3, \dots$) energiaállapota a 0. nívóról az 1. energianívóra kerül, alaprezgésről beszélünk. Ha az átmenet az alapállapotból valamelyik $\nu_i = 2, 3, \dots$ nívóra történik, és nincs más átmenet, akkor felhangról beszélhetünk. Ha az átmenet az alapállapotból két különböző nívóra történik, akkor az kombinációs sávot eredményez. A spektroszkópiai kiválasztási szabályok szerint a felhangok és kombinációk megjelenése tiltott, de az anharmonicitás és a Fermi-rezonancia miatt – ha nagyon kis intenzitással is –, de megjelennek a spektrumban.



6. ábra: Harmonikus oszcillátor

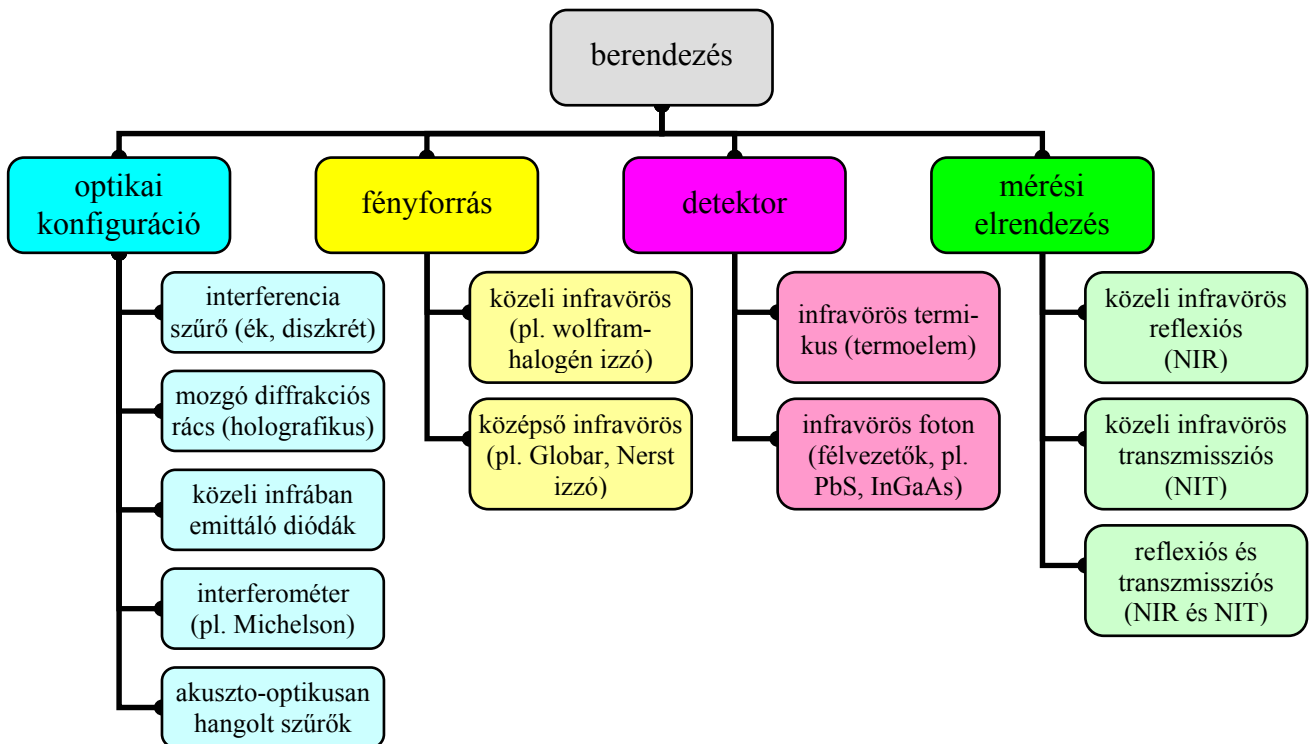
A harmonikus oszcillátorral szemben (7. ábra) a kétatomos molekulában az atomok elektronfelhője határt szab a két atom közeledésének, ami egy gátlási energiával jellemezhető. Nyújtáskor viszont, ha a rezgési energia szintje eléri a disszociációs energiát, a kötés elszakad. Az energiaszintek az anharmonikus oszcillátor esetén nem ekvidisztánsak: az energia növekedésével egyre közelebb kerülnek egymáshoz. [2, 3]



7. ábra: Anharmonikus oszcillátor

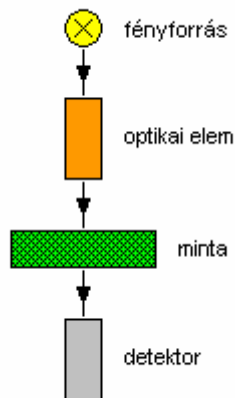
A közeli infravörös készülékek felépítése és működése

A közeli infravörös tartományban működő berendezéseket több szempont szerint is jellemezhetjük (8. ábra):

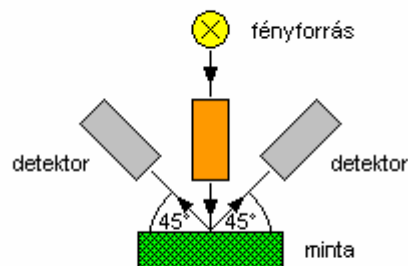


8. ábra: A közeli infravörös tartományban működő berendezések csoportosítása

A mérési elrendezés alapján transzmissziós és reflexiós berendezések használatosak, melyek elvi vázlatát a következő oldal két ábrája szemlélteti (9. és 10. ábra).



9. ábra: Transzmissziós mérési elrendezés



10. ábra: Reflexiós mérési elrendezés

Transzmissziós mérési elrendezésnél a fény áthatol a mintán, ezzel is csökkentve a minta heterogenitásából eredő mérési hibát. Ezzel a mérési elrendezéssel a nagyobb szemcséjű mintákról informatívabb színeképet kapunk, mint az apróbb szemcsékből állókról. A mérések megkezdése előtt optimálni kell a minta rétegvastagságát. Ahhoz, hogy az elektromágneses sugárzás áthatoljon a mintán, a méréseket a nagyobb frekvenciájú tartományban (800-1100 nm) kell végezni, ugyanis a kisebb energiájú elektromágneses sugárzás nem képes áthatolni azon a rétegvastagságon, amekkora ahhoz szükséges, hogy megfelelő minőségű spektrumot

kapjunk. Ha a minta részecskéi túl kicsik, akkor róluk a sugárzás olyan nagy hányada verődik vissza, hogy a detektorra nem jut kellő mennyiségű energia a méréshez, illetve jelentősen lecsökken a jel/zaj viszony. [2]

Legyen a mintát érő beeső sugárzás intenzitása I_0 , míg a mintát elhagyó sugárzásé I_t . Az átladást és az eredeti fény intenzitásának aránya a transzmittancia (3):

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (3)$$

A transzmittancia nem lineárisan, hanem logaritmikusan változik a koncentrációval, így célszerűbb a transzmittancia negatív tízes alapú logaritmusát használni, amit abszorbanciának (4) nevezünk:

$$A = -\lg T = \lg \frac{1}{T} \quad (4)$$

Ha a mérendő minták zavarosak, átlátszatlanok vagy túl nagy mértékben abszorbeálják a rajtuk áteső fényt, egy másik, diffúz reflektanciának nevezett megközelítés használható. A diffúz reflektanciában a beeső fénysugár a felszínre merőlegesen éri a mintát. A fény behatol a mintába, és minden irányba visszaverődik. Kísérleti módon meghatározták a hasznos információ és a visszaverődési szög közötti összefüggést, mely segítségével megtervezhető a diffúz reflexiós mérések legjobb geometriai felépítése. Arra a következtetésre jutottak, hogy a mintára 90° -ba beeső fénysugárral 45° -ot bezáró irány mentén elhelyezett detektor méri a legnagyobb mennyiségű diffúzan visszavert fényt. A reflexiós mérés során a fénysugár a minta 1-4 mm mélységéig hatol be, így a detektorra jutó elektromágneses sugárzás információtartalma is erre a mintarétegre vonatkozik. A reflexióra az előző (3) egyenlethez hasonló logikát alkalmazva definiálható a reflektancia (5). Ez a mintáról diffúzan visszavert fény intenzitásának (I_r), és egy nem abszorbeáló standard felületről (általában fehér kerámia, BaSO_4 , Al_2O_3 vagy MgO lapról) diffúzan visszavert fény intenzitásának (I_{st}) aránya:

$$R = \frac{I_r}{I_{st}} \quad (5)$$

A mintákról nyert reflektancia tehát egy nem abszorbeáló diffúz felülethez viszonyított relatív érték. Olyan reflektancia mérések során, ahol a fény nem halad át a „végtelenül vastag” mintán, a Lambert–Beer-törvény az alábbi (6) alakot veszi fel:

$$A = -\lg R = \lg \frac{1}{R} \quad (6)$$

Az összes itt definiált mennyiség, illetve előforduló arányossági tényező egy adott λ hullámhosszra (azaz monokromatikus sugárzásra) vonatkozik. [4]

A közeli infravörös technika előnyei és hátrányai

A közeli infravörös technika előnyös tulajdonságai miatt az utóbbi évtizedekben széles körben terjedt el analitikai feladatkörök elvégzésére. Viszonylag egyszerű, gyors mérésekkel lehetőség nyílik nagy fontosságú és gazdasági jelentőségű mennyiségi és minőségi vizsgálatok elvégzésére.

A közeli infravörös technika előnyei

- A spektrumok komplex információk hordozói, és így több összetevő egyidejű meghatározására adnak lehetőséget.

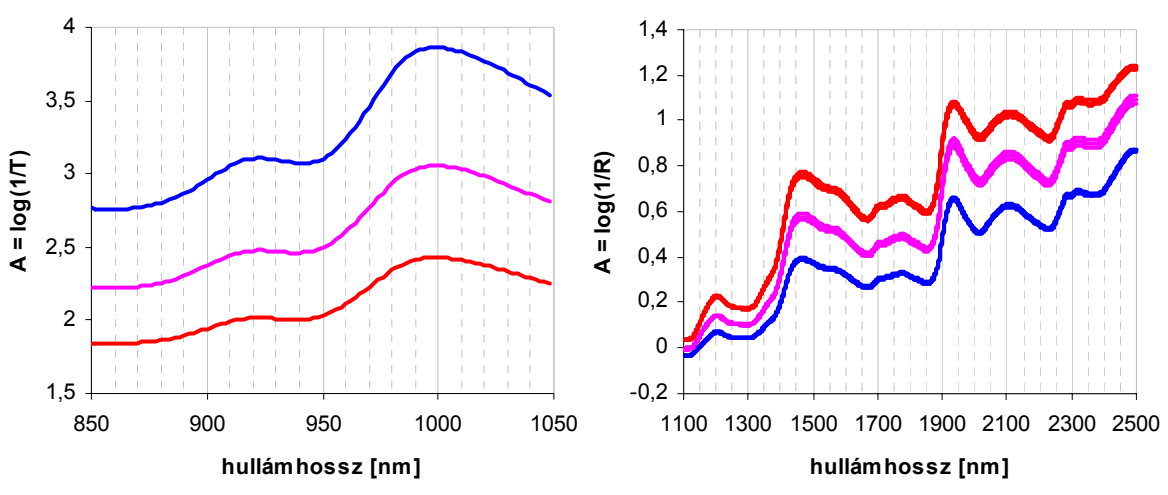
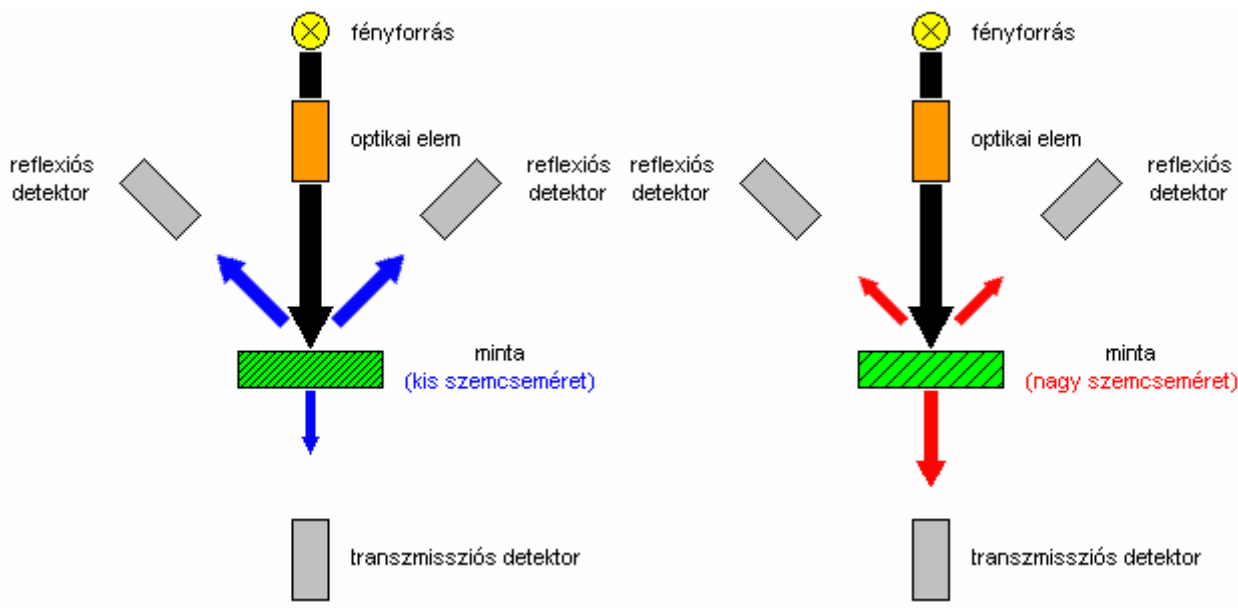
- A minták fő kémiai alkotóelemein túl lehetőség nyílik azok minor komponenseinek (pl. klorofill, pigment, rost), valamint fizikai jellemzőinek (pl. részecskeméret, keménység) mérésére is.
- A mérés időigénye jelentősen lecsökken. A minta állapotáról szinte azonnal kaphatunk információt, mely jelentősége egyes esetekben számottevő (pl. a gabonabetakarítás optimális idejének meghatározásánál vagy a betárolási feltételek optimalásánál), hisz gyakran többet ér egy közelítő adat pár percen belül, mint egy pontos három nap múlva.
- A minta-előkészítés olyan mértékben egyszerűsödik (pl. teljes szem vizsgálata), hogy a mérés a mintavétel helyszínén is elvégezhető.
- Azáltal, hogy a vizsgálat roncsolásmentes, nagyon kis mértékben avatkozunk be a mintában lejátszódó folyamatokba, így alkalom nyílhat arra, hogy fiziológiai folyamatokat kövessük nyomon, illetve élő rendszereket vizsgálhassunk.

A közeli infravörös technika hátrányai

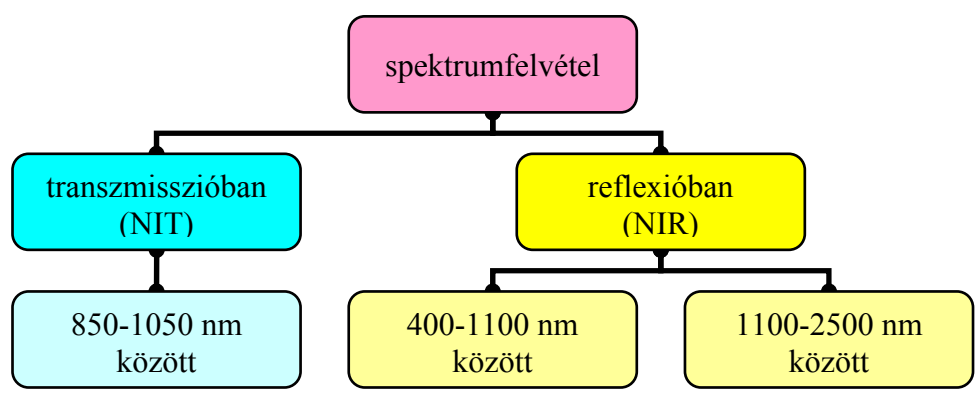
- A mennyiségi meghatározás minden esetben kalibrációt igényel. A mérés pontossága teljes mértékben a kalibrációs adatok – azaz a hagyományos analízis – mérési pontosságától függ, ugyanis a közeli infravörös spektroszkópia összehasonlító (korrelatív) vagy másodlagos mérési technika, mely statisztikai alapokon nyugszik, és egy előzetesen validált laboratóriumi eljárás eredményeire épül. Míg a gyógyszerkémia területén találunk példákat mesterségesen előállított standardok használatára, addig a mezőgazdasági alkalmazások során a legtöbb kalibrációs minta természeti eredetű.
- A sokkomponensű, természeti eredetű minták NIR/NIT spektrumai bonyolultak, „zsúfoltak”, ezért gyakran előfordul az, hogy az egyik alkotóelem csoportrezgéseinek (lokális) abszorbancia-maximuma egybeesik a másikkal, és az intenzitások arányától függően többé-kevésbé elfedik egymást. (Az egybeesés egyik legegyszerűbb oka az lehet, hogy mindkét alkotóelem ugyanazt az atomcsoportot tartalmazza. Ilyen például az O–H csoport a víz és a szénhidrátok esetén.) A karakterisztikus vibrációs frekvenciák felhangjai olyan közel esnek egymáshoz, hogy a spektrum általában burkológörbe jellegű, a csatolt széles sávok miatt. Ez nehezíti az egyes csoportok asszignációját a spektrumban jelentkező elnyelési sávok értékelésénél. A hiteles mérések kivitelezése és kiértékelése ezért elképzelhetetlen statisztikai módszerek, illetve számítógépek segítségével nélkül.
- Reflexiós mérés esetén a mintatartóban levő minta felülete szolgáltatja az adatokat az adott mintáról, így az inhomogenitás, mintaszerkezet, felületi nedvesség stb. jelentős mértékben befolyásolja a mért adatokat. [4] A következő ábrán (11. ábra) az is látható: a minta szemcsemérete – mint a mérést befolyásoló tényező – nem csak a NIR, hanem a NIT spektrumokra is hatással van.

Spektroszkópiai mérések

A gyakorlat elvégzésére rendelkezésre álló készülékek működési módját és hullámhossztartományait a 12. ábra szemlélteti:



11. ábra: A kukoricadara szemcseméretének hatása a NIT és NIR spektrumokra
kék – $d < 315 \mu\text{m}$, *rózsaszín* – $315 \mu\text{m} < d < 710 \mu\text{m}$, *vörös* – $710 \mu\text{m} < d$



12. ábra: A spektrumfelvételek mérési elrendezése és hullámhossztartománya

Transzmissziós mérések

A gyakorlat során a minták transzmissziós spektrumait az alábbi paraméterek mellett veszszük fel:

- | | |
|----------------------------------|---|
| • spektrofotométer | <i>Infratec 1255 (13. ábra)</i> |
| • mintakezelő egység | <i>Food & Feed Analyzer</i> |
| • mintatartó | <i>spinning cup + collars</i> |
| | <i>(4, 6, 8, 10, 12, 15, 18, 22, 30 mm)</i> |
| | <i>transzmissziós</i> |
| • működési mód | <i>850-1048 nm</i> |
| • mérési hullámhossztartomány | <i>2 nm</i> |
| • lépésköz | <i>100</i> |
| • spektrum adatpontjainak száma | <i>5</i> |
| • alminták száma | <i>1</i> |
| • almintánkénti spektrumok száma | <i>IRIS 2.60 (FOSS Tecator AB, 1997)</i> |
| • műszert vezérlő szoftver | |



13. ábra: Infratec 1255 Food & Feed Analyzer

- | | |
|----------------------------------|--|
| • spektrofotométer | <i>Infratec 1241 (14. ábra)</i> |
| • mintakezelő egység | <i>Grain Analyzer</i> |
| • mintatartó | <i>conveyor (6-33 mm) / flour module (3, 6 mm)</i> |
| • működési mód | <i>transzmissziós</i> |
| • mérési hullámhossztartomány | <i>850-1048 nm</i> |
| • lépésköz | <i>2 nm</i> |
| • spektrum adatpontjainak száma | <i>100</i> |
| • alminták száma | <i>5</i> |
| • almintánkénti spektrumok száma | <i>1</i> |
| • műszert vezérlő szoftver | <i>ISW 3.10 (FOSS Tecator AB, 2003)</i> |



14. ábra: Infratec 1241 Grain Analyzer

Reflexiós mérések

A gyakorlat során a minták reflexiós spektrumait az alábbi paraméterek mellett vesszük fel:

• spektrofotométer	<i>NIRSystems 6500 (15. ábra)</i>
• mintakezelő egység	<i>Sample Transport Module</i>
• mintatartó	<i>standard sample cup / coarse sample cell</i>
• működési mód	<i>reflexiós</i>
• mérési hullámhossztartomány	<i>400-1098 nm / 1100-2498 nm</i>
• lépésköz	<i>2 nm</i>
• spektrum adatpontjainak száma	<i>350 / 700</i>
• alminták száma	<i>1</i>
• almintánkénti spektrumok száma	<i>32</i>
• műszert vezérlő szoftver	<i>Vision 2.51 (FOSS NIRSystems, 2001)</i>



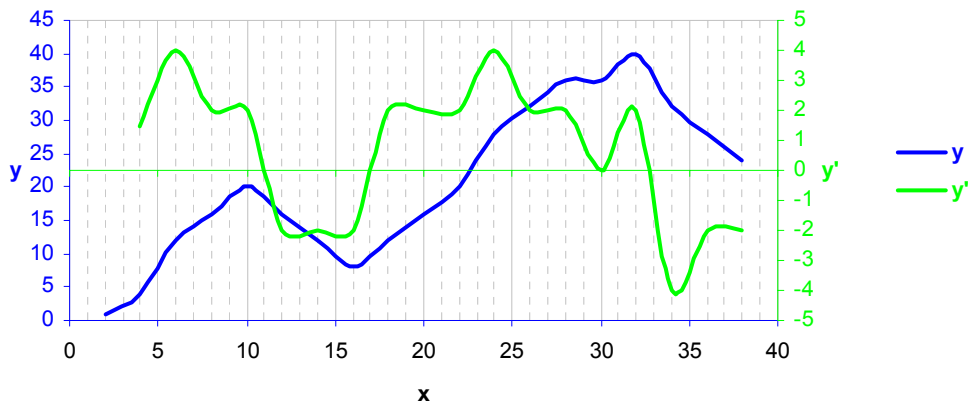
15. ábra: NIRSystems 6500 Sample Transport Module

A spektrumok feldolgozásához használt számítási módszerek

Előkezelés: deriváltak

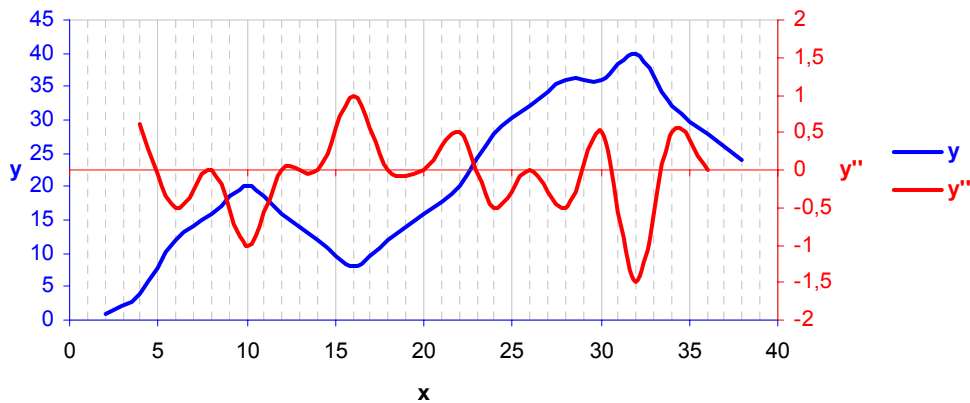
A korábbiakban már szó esett az átlapoló csúcsok és az alapvonal-eltolódás problémájáról. E probléma megoldását megközelíthetjük a derivált spektrumok használata felől is.

Az első derivált spektrumnak (16. ábra) ott van (lokális) maximuma (csúcsa), ahol az eredeti spektrum felfelé irányuló meredeksége maximumot ér el. Hasonlóképpen: ott kapunk (lokális) minimumot (völgyet), ahol az eredeti spektrum lefelé irányuló meredeksége maximumot mutat. Az eredeti spektrum (lokális) minimumai, illetve maximumai helyén az első derivált spektrum nulla értéket vesz fel.



16. ábra: Az első derivált hatása az alapfüggvényre
 kék – $y = f(x)$ függvény, fényesöld – $y' = \partial y / \partial x$ első derivált

Sokkal érdekesebb a második derivált spektrum (17. ábra), melyet az első derivált spektrum további deriválásával kaphatunk meg. Ahol ez eredeti spektrumban csúcs volt, az a második derivált spektrumban völgyként jelentkezik, és viszont.



17. ábra: A második derivált hatása az alapfüggvényre
 kék – $y = f(x)$ függvény, vörös – $y'' = \partial^2 y / \partial x^2$ második derivált

Hogy mit nyerhetünk ezzel, az az előző ábrán jól látható: az eredeti spektrumban lényegileg átlapoló csúcsok tisztán szétválnak, és azok a csúcsvállak, illetve inflexiók pontok, melyek korábban szinte észrevehetetlenek voltak, most könnyen láthatóvá válnak, és kiértékelésre alkalmasak lesznek. Ráadásul a függőleges alapvonal-eltolódást is eliminálja ez a matematikai kezelés, de meg kell jegyeznünk: annak megítélése, hogy ez előny-e vagy hátrány, a spektrumfeldolgozás céljaitól függ.

Előny például akkor, ha a reflexióban összegyűjtött spektrumpopuláció szemcseméret-eloszlás hatására bekövetkező alapvonal-eltolódását ki akarom küszöbölni, mely változékonyság zavarja vagy elfedi valamely beltartalmi komponens meghatározásához szükséges spektruminformációt (pl. lisztek nedvesség-, fehérje- vagy hamutartalmának meghatározása esetén). Hátrányos például akkor lehet, ha éppen az előzőekben említett alapvonal-eltolódás hordozza azt a változékonyságot, amelyet a minta modellezendő fizikai és/vagy kémiai tulajdonságai okoznak a spektrumban (pl. műanyag pelleték átmérőjének meghatározása esetén).

Általánosságban a deriválások további előnye, hogy matematikailag lineáris műveletek, ezért ha a Lambert–Beer-törvény érvényes az eredeti spektrumra, akkor mennyiségi meghatározásra bármely rendű deriváltat ugyanúgy fel lehet használni.

A deriválásból fakadó előnyök mellett a negatívumokról is szót kell ejteni. Mivel a deriválás felnagyítja a zajt és fokozza a spektrum összetettségét, a jel-zaj arány romlik. Többek között ez az oka annak, hogy a harmadik, negyedik vagy magasabb rendű deriváltak használata ritka

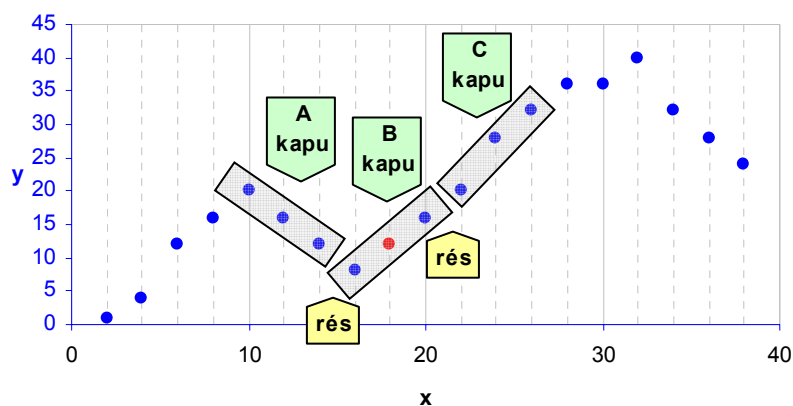
– annak ellenére, hogy elvi akadálya nincs –, hisz minden egyes további deriválás erősíti az imént felsorolt kedvezőtlen hatásokat.

A zaj növekedése miatt sokszor a deriválást valamilyen más transzformációval (pl. simítással) kombinálják. Általában ennek is ára van: mivel legtöbbször valamilyen átlagképzést használnak, ezért veszteség léphet fel azokban az információkban, amelyek a spektrumsávok finom struktúrájában rejlenek. [5]

A második derivált képzésének leírása előtt egy-két fogalmat definiálni kell:

- kapu (segment) *meghatározza azoknak az adatpontoknak a számát, melyet a deriválás előtt átlagolni kell*
- rés (gap) *meghatározza azoknak az adatpontoknak a számát, melyet a deriválás során a kapuk között ki kell hagyni*

Ezen paraméterek megadása után az általunk használt szoftvercsomag a második derivált számítása során először három kaput jelöl ki a spektrum elején (A kapu, B kapu és C kapu), melyeket a rések választanak el egymástól (18. ábra). A szoftver kapunként kiszámítja az abszorbanciaértékek átlagát (A, B és C), majd az $A-2B+C$ összefüggés alapján kapott értéket a B kapu középső pontjához rendeli. Ezután az egész – három kapuból és két résből álló – szekvencia egy adatponttal eltolódik, s a számítás mindaddig folytatódik, míg az utolsó adatpont is sorra nem kerül. [6]



18. ábra: Második derivált számítása kapu = 3 adatpont, rés = 0 adatpont esetén

Kalibrálás: részleges legkisebb négyzetek módszere (PLS)

Az (előkezelt) spektrumok és a referencia eredmények birtokában különböző matematikai-statisztikai eszközökkel megvizsgálhatjuk az összefüggést a két adathalmaz (értsd: spektroszkópiai, illetve fizikai és/vagy kémiai adatkészlet) között. Az idők folyamán – főként a megoldandó problémák jellege és a számítástechnika fejlődésének köszönhetően – számos matematikai módszer került át a közeli infravörös spektroszkópia területére. Napjainkban a lineáris regresszióval dolgozó technikáktól kezdve, a főkomponens analízisen át, a nemlineáris feladatok kidolgozására alkalmas mesterséges neurális hálózatokig megannyi lehetőség közül választhatunk.

A gyakorlat során a spektrumok és a referencia tulajdonságok kapcsolatát a részleges legkisebb négyzetek módszerével (Partial Least Squares = PLS) vizsgáljuk. A PLS egy regressziós módszer, mely megengedi számos hullámhossz – akár széles szegmensek, akár az egész spektrum – használatát, mialatt elkerüli a kollinearitás problémáját. (Ha két vagy több hullámhossznál mért abszorbanciaértéket használunk a kalibrációhoz, akkor előfordulhat, hogy azok nem függetlenek egymástól.)

A hagyományos legkisebb négyzetek módszereitől eltérően a PLS nem azt tételezi fel, hogy a spektrum adatok pontosak, és az összes hiba a referencia értékekben van. A spektrum és a re-

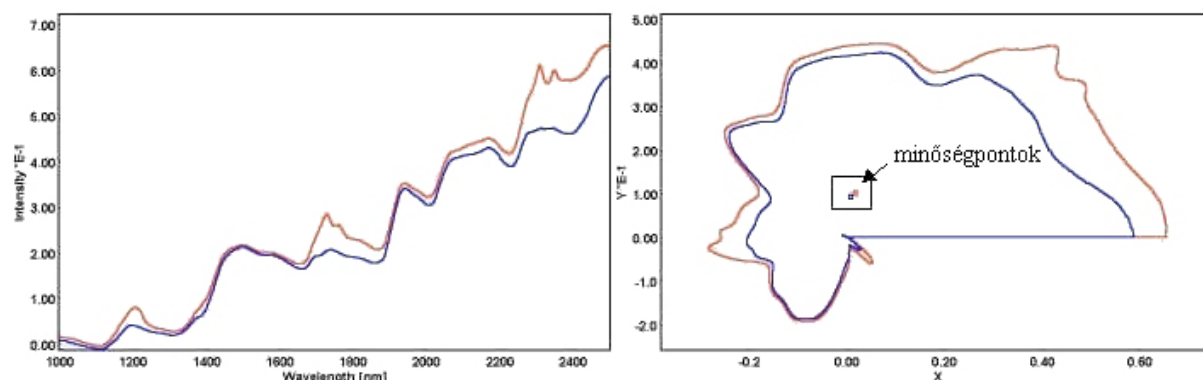
ferencia adatokat egyidejűleg modellezi, egyfajta iteratív úton: mindegyik lépésben az adatkészletből kivonja a spektrum és referencia adatok egy részét, maradékokat képezve. A modell a látens változók (vagy faktorok) számának növelésével egyre nagyobb mértékben írja le az adathalmaz változékonyságát. A PLS ezekre a faktorokra – spektrumoknál az ún. loadingokra, a referencia adatoknál az ún. score-okra – részleges kalibrációkat alkalmaz a variancia összegének modellezésére, amelyeket a művelet végén egy átfogó kalibrációs egyenletbe összegyűjt.

Általában több PLS faktor kerül kiszámításra, mint ahány a végső kalibrációhoz kell. Az optimális faktorszám meghatározása a PLS kalibráció fontos része: túl kevés faktor esetén a kalibráció kevés információt hordoz és nagy predikciós hibával dolgozik, míg túl sok faktor alkalmazásakor a modell túlilleszti a kalibrációs adatokat, és az így elveszti robusztusságát, stabilitását. Az optimális faktorszámot rendszerint keresztvalidálással vagy a kalibráló mintapopulációtól független, predikciós mintasereg segítségével határozzuk meg.

A keresztvalidálás során a kalibráló mintapopulációt alcsoportokba osztjuk. Ezen alcsoportok közül egyet visszatartunk addig, míg a maradék mintákkal megtörténik a kalibráció. Az így nyert kalibrációs egyenlettel úgy analizáltatjuk a visszatartott alcsoportot, mintha független, ismeretlen minták lennének benne. A statisztikai értékelés után a visszatartott alcsoport visszakerül a kalibráló mintaseregbe. A keresztvalidálás során az előbbieken ismertett műveletsor a többi alcsoporttal megismétlődik, majd az alcsoportokra kapott részeredmények összegződnek. [6]

Minősítés: polár minősítő rendszer (PQS)

A polár minősítő rendszert (polar qualification system, PQS), mint új adatredukciós és minősítő módszert, először 1991-ben mutatták be. A PQS terminológiája alapján definiálható a minták „minőségpontjai” a kétdimenziós „minőségsíkon” és a minőségi különbségek kifejezésére az ún. „polár távolság” használható. A vizsgált anyag minőségpontját a polár koordinátarendszerben ábrázolt spektrumának középpontjaként határozható meg (19. ábra).

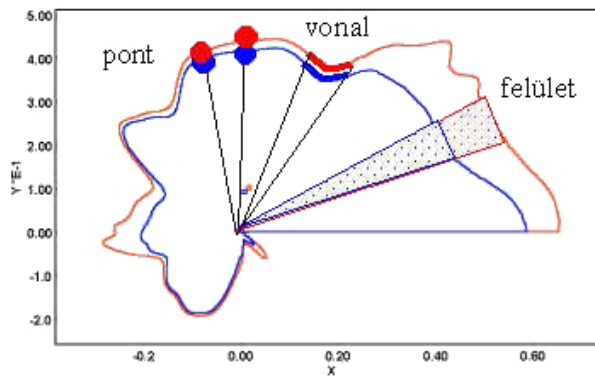


19. ábra: Egy alacsony (kék) és egy magas (piros) zsírtartalmú tejporminta $\log(1/R)$ spektruma a derékszögű (balra) és a polár (jobbra) koordinátarendszerben ábrázolva

A spektrumot a polár koordináta-rendszerben ábrázolva a sugár a spektrumérték, míg a szög a hullámhossz függvénye. A polár spektrum abszorpciós csúcsai természetesen ugyanazon hullámhosszértékeknél vannak, mint a Descartes-koordinátarendszerben. A minta összetételének változásával a minőségpont a változó komponens abszorpciós csúcsával párhuzamos irányba toródik el, így a minőségpont eltolódásának irányából következtetések vonhatók le a változás okáról. A minőségsíkon minden egyes mintához egy minőségpont tartozik, de elméletileg különböző összetételű minták minőségpontja azonos lehet – ez azonban rendkívül ritka.

A minőségpont koordinátáinak meghatározására három lehetőség van (20. ábra). Az ún. „pont-módszer” alkalmazása egy olyan rendszer tömegközéppontjának meghatározását jelenti, ahol az egyes spektrumokban egységnyi tömegeket helyeztünk el. Az ún. „vonal-

módszer” egy a spektrum alakjára meghajlított huzal tömegközéppontjának meghatározását jelenti, míg az ún. „felület-módszer” alkalmazásakor a minőségpont a spektrum által körülzárt terület – egy a spektrumalakra kivágott lemez – tömegközéppontja. [7]



20. ábra: A három spektrumközéppont számítási alapelv bemutatása

Két spektrumsereg minőségpontjainak megfelelő elkülönülését (21. ábra) az abszolút távolsággal (7), a normalizált távolsággal (8), vagy az érzékenység (9) maximumával jellemezhetjük [8]:

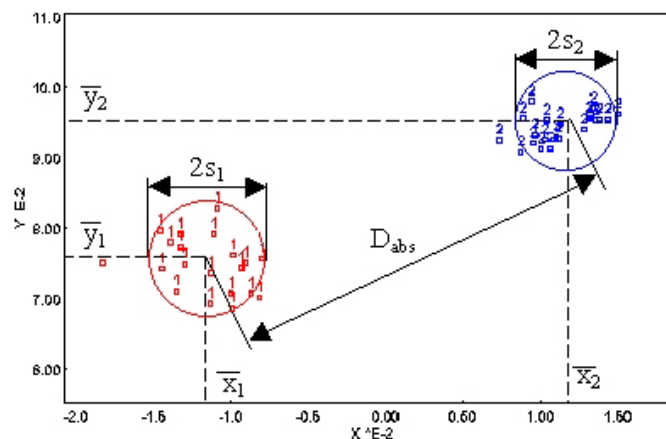
$$D_{abs} = \sqrt{(\bar{x}_2 - \bar{x}_1)^2 + (\bar{y}_2 - \bar{y}_1)^2} \quad (7)$$

ahol (x_1, y_1) az első, az (x_2, y_2) a második mintasereg átlag minőségpontja;

$$D_{norm} = \frac{D_{abs}}{D_{abs} + s_1 + s_2} \quad (8)$$

ahol s_1 , illetve s_2 az első, illetve a második mintasereg átlag minőségpontjainak szórása;

$$S = \frac{D_{abs}}{s_1 + s_2} \quad (9)$$



21. ábra: Az elkülönülést jellemző paraméterek grafikus értelmezése

ÁJÁNLOTT ÉS FELHASZNÁLT IRODALOM



-
- [1] **Abrams, C.B.** (1992-3)
IR Tutor v1.0 (Infrared Spectroscopy Tutorial and Reference).
- [2] **Fábián, Z.** (1994)
Az infravörös spektroszkópiai élelmiszeripari analitikai alkalmazásai.
Doktori értekezés, BME, Általános és Analitikai Tanszék, Budapest.
- [3] **Nyerges, D.** (1996)
Növényfiziológiai folyamatok vizsgálata közeli infravörös spektroszkópiai módszerekkel.
Diplomamunka, BME, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, Budapest.
- [4] **Utasi, K.** (1995)
Növényfiziológiai folyamatok nyomon követése NIR módszerrel.
Szakdolgozat, BME, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, Budapest.
- [5] **Osborne, B.G.; Fearn, T.** (1986)
Physics of the interaction of radiation with matter.
In *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis*, pp. 43–56. Harlow: Longman
Scientific & Technical
- [6] **FOSS NIRSystems** (2000)
Vision® Manual: Theory.
- [7] **Kaffka, K.J.; Gyarmati, L.S.** (1998)
Investigating the polar qualification system.
Journal of Near Infrared Spectroscopy 6, A191–A200 (1998).
- [8] **Metrika R&D Co.**
PQS: egy új adatredukciós és minősítő módszer.
[http://www.metrika.hu/Hun/\(PQS\).htm](http://www.metrika.hu/Hun/(PQS).htm)
-

Ez a kiadvány az alábbi munkák alapján készült:

Gergely, Sz. (1998)
Közeli infravörös spektroszkópia alkalmazása növényfiziológiai folyamatok követésében.
Diplomamunka, BME, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, Budapest.

Gergely, Sz. (2002)
A búza virágzás utáni szemkialakulásának NIR/NIT technikával történő nyomon követése.
Szakmérnöki záródolgozat, BME, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, Budapest.

E kiadvány bármely részét bármely módon közölni a szerző írásbeli engedélye nélkül tilos!

Gergely Szilveszter
H-1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3., K. II. 3.
telefon : (1) 463 14 22 / fax : (1) 463 38 55
e-mail : gergely@mail.bme.hu
