

Primjena blisko-infracrvene spektroskopije u analizi sokova od jabuka

Šegmanović, Viktor

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:700777>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

Viktor Šegmanović

6847/N

**PRIMJENA BLISKO INFRACRvene
SPEKTROSKOPIJE U ANALIZI SOKOVA OD
JABUKA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Modeliranje i optimiranje u nutricionizmu

Mentor: doc.dr.sc. Davor Valinger

Zagreb, 2018.

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno – biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam

Zavod za procesno inženjerstvo

Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Primjena blisko-infracrvene spektroskopije u analizi sokova od jabuka

Viktor Šegmanović, 0058204708

Sažetak:

Razvojem blisko infracrvene spektroskopije (NIRs) kroz povijest dolazi do njene sve veće primjene u prehrambenoj industriji. Povećanje tržišnih i potrošačkih želja za kvalitetom hrane s pozitivnim zdravstvenim prednostima stvorilo je potrebu za učinkovitim i točnim analitičkim metodama gdje se NIR pokazala kao uspješna metoda. NIR se koristi za praćenje fizikalnih i kemijskih svojstava prehrambenih proizvoda, te se zbog specifičnosti i osjetljivosti na promjene u kemijskim i fizikalnim svojstvima uzorka koji se analizira može upotrijebiti za praćenje autentičnosti i podrijetla različitih prehrambenih proizvoda. Cilj ovog rada je bio ispitati mogućnost razlikovanja dvije sorte jabuka (granny smith i idared) i njihovih sokova te utjecaj dodatka različitih koncentracija šećera u sokove jabuka pomoću NIR spektroskopije. Rezultati su pokazali da je NIR spektroskopija uspješna prilikom razlikovanja sorti jabuka, njihovih sokova i različitih koncentracija šećera u sokovima.

Ključne riječi: *analiza glavnih komponenata, blisko infracrvena spektroskopija, jabuke, umjetne neuronske mreže*

Rad sadrži: 30 stranica, 12 slika, 5 tablica i 28 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc.dr.sc. Davor Valinger

Datum obrane: 21. rujna 2018

University of Zagreb

Faculty of Food and Technology and Biotechnology

University undergraduate study Nutrition

Department of Process Engineering

Laboratory for Measurement, Control and Automation

Abstract: Development of near infrared spectroscopy (NIRs) through history is increasing its application in food industry. Increasing market and consumer desires for quality food with positive health benefits created the need for efficient and accurate analytical methods where NIR proved to be a successful method. NIR is used to monitor physical and chemical properties of food products, and due to the specificity and susceptibility to changes in the chemical and physical properties of the sample being analyzed, it can be used to track the authenticity and origin of different food products. The aim of this paper was to examine the possibility of distinguishing two apple varieties (granny smith and idared) and their juices and the influence of the addition of different concentrations of sugar in apple juices using NIR spectroscopy. The results showed that NIR spectroscopy was successful in distinguishing apple varieties, their juices, and varying sugar concentrations in juices.

Keywords: *apples, artificial neural networks, near infrared spectroscopy, principal component analysis*

Thesis contains: 30 pages, 12 figures, 5 tables, 28 references

Original in: Croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited: In the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Phd. Davor Valinger, Assistant professor

Defence date: September 21th 2018

Sadržaj

1	Uvod.....	1
2	Teorijski dio.....	2
2.1	Jabuke	2
2.1.1	Granny Smith	2
2.1.2	Idared.....	3
2.2	NIR spektroskopija	3
2.2.1	Nir i autentičnost hrane	4
2.2.2.	Nir i njegova uporaba u agrokulturi i prehrambenom inženjerstvu	8
2.2.3.	Primjena NIR tehnologije na područje voća i povrća	9
2.3.	Kemometrijske tehnike.....	11
2.3.1.	Analiza glavnih komponenti (PCA)	11
2.3.2.	Umjetne neuronske mreže	11
3	Eksperimentalni dio.....	12
3.1	Materijali	12
3.1.1	Uzorci	12
3.1.2	Laboratorijski pribor.....	13
3.1.3.	Uređaji i software	13
3.1.4	Priprema uzoraka	13
3.2	Metode.....	15
3.2.1	NIR spektroskopija.....	15
3.2.2	<i>Kemometrija – Analiza glavnih komponenti</i>	15
3.2.3	Umjetne neuronske mreže.....	16
4	Rezultati i rasprava	16
5	Zaključak	27
6	Popis literature.....	28

1 Uvod

Povećanje potražnje potrošača i tržišta za boljom kvalitetom hrane, stvorilo je potrebu za učinkovitim i točnim analitičkim metodama za procjenu kvalitete i autentičnosti prehrambenih proizvoda. Redovno ili linijsko mjerenje veličine čestica biljnih dijelova može biti jedan od načina za kontrolu kvalitete određenih proizvoda od biljaka. Jedna od metoda za praćenje fizikalnih i kemijskih svojstava prehrambenih proizvoda je blisko-infracrvena (NIR) spektroskopija. NIR spektroskopija je specifična i osjetljiva na promjene u kemijskim i fizikalnim svojstvima uzorka koji se analizira, te se na taj način može koristiti praćenje autentičnosti i podrijetla različitih proizvoda. Prednosti NIR spektroskopije kao nedestruktivne metode je potreba vrlo male ili nikakve prethodne pripreme uzorka te mogućnost analize tekućina, pasta i krutih tvari. U ovom radu korištena je blisko-infracrvena spektroskopija za snimanje uzoraka dvije različite sorte jabuka (granny smith i idared) te sokove napravljene od jabuka u koji se zatim dodavala različita koncentracija šećera. Kako bi se prikazali rezultati različitosti dvije sorte jabuka korištena je analiza glavnih komponenata, a za određivanje i predviđanje koncentracija dodanog šećera u sokove jabuka korištene su umjetne neuronske mreže.

2 Teorijski dio

2.1 Jabuke

Jabuka (*Malus domestica*) je listopadno drvo iz porodice ruža (*Rosaceae*). Stablo može narasti i do 12 metara te tvori razgranatu, široku i gustu krošnju. Deblo je promjera do 1 metar, a kora debela je tamnosiva. Listovi su jednostavni, ovalnog oblika, dugi 4-13 centimetara, široki 3-7 centimetara, kratko ušiljeni i pravilno sitno nazubljenih rubova. Listovi su na licu zeleni, malo sjajni i blago prekriveni dlačicama, dok su na naličju sivkasto zeleni i gusto dlakavi te imaju peteljke. Cvjetovi su dvospolni, pravilni, promjera 3-4 cm i rastu pojedinačno ili po 2-3 u cvatovima. Ocvijeće je dvostruko, sastavljeno od čaška i vjenčića. Čašku čine pet zelenih lapova, dok je vjenčić sačinjen od pet okruglastih bijelih latica koje su s vanjske strane malo crvenkaste. Prašnici su mnogobrojni, sa žutim prašnicama dok je tučak, građen od 4-5 međusobno sraslih plodnih listova, a plodnica je podrasla. Cvatu prije listanja u travnju i cvatnja može trajati do 20 dana. Plod je okruglast, jezgričav, obično veći od 5cm, zelene, žutkaste ili crvenkaste boje, na vrhu s ostacima čaška te sadrži desetak sjemenki koje su jajasto izdužene, suženog vrha, duge oko 7mm. Dozrijeva ljeti ili u ranu jesen (Kremer i Tomaić, 2015).

2.1.1 Granny Smith

Možda najprepoznatljivija od svih sorti jabuka i sigurno jedna od najpoznatijih, Granny Smith jedan je od najslavnijih izvoznih proizvoda Australije. Otkrivena je u Australiji 60 – ih godina 19. stoljeća kao slučajni sjemenjak na odlagalištu za otpad. Pretpostavlja se da je slučajni hibrid europske divlje i domaće jabuke. Granny Smith odlična je za kuhanje, te i za konzumaciju u svježem stanju. Do 60-ih godina 20. stoljeća Granny Smith je postala praktički sinonim za jabuku. Ova pomalo neobična jabuka privlači oko svojom bojom trave (tamnozeleno boja koja dozrijevanjem postaje svjetlija), dugo se čuva, te ima svestranost, koju potrošači vole. Kod nas je poznata kao sorta za netipična jabučarska područja, poput Dalmacije, Istre i Baranje. Dozrijeva u drugoj polovici listopada, te početkom studenog. Plodovi su krupni okruglastog oblika (200-250g).

Okus je naglašeno kiselkast. To je hrskava jabuka, tvrdog, sočnog mesa bijele boje i vrlo oštrog okusa. Ipak, njeno meso dugotrajnim dospijevanjem postaje mekše, a poslužena malo ohlađena može biti vrlo osvježavajuća. Odlična je za potrošnju u svježem stanju, u pitama, a isto tako vrlo dobra za voćne salate (i narezana zadržava svoju boju) (Anonymous 1, 2018).

2.1.2 Idared

Diploidna američka sorta nastala 1935. križanjem sorata Jonathan i Wagner. U proizvodnji je od 1942. godine. Visokoproduktivna je sorta i neosporno najpopularnija jabuka kod nas. Slabo bujna je sorta koja dozrijeva od 1. do 10. listopada i pogodna je za uzgoj u gustom sklopu. Rano ulazi u rod i redovito rađa. Plodovi su krupni do vrlo krupni, težine od 150 do 350 g, okruglastog do blago spljoštenog oblika. Osnovna boja je žutozelena koja dospijevanjem prelazi u zelenkastožutu, a prosječno 80% površine prekriva vinsko crvena boja. Meso ploda je gotovo bijele boje, srednje fine teksture, srednje sočno, srednje kiselog okusa, zbog jače izraženih kiselina i manjeg sadržaja šećera okus je manje pun i skladan, a aroma je srednje izražena i nenametljiva. U hladnjači se može čuvati i do 7 mjeseci bez posebnih prohtjeva.

Odlična je jabuka za konzumaciju u svježem stanju, voćne salate te za kuhanje i pečenje (Anonymous 2, 2018).

2.2 NIR spektroskopija

Otkriće NIR spektroskopije zabilježeno je početkom devetnaestog stoljeća, ali NIR spektroskopija nije se pojavila kao potencijalna analitička metoda do sredine dvadesetog stoljeća. Nakon 1950-ih i 1960-ih, NIR spektroskopija je postala sve popularnija. Blisko-infracrvena spektroskopija se koristi za mjerenje apsorpcije elektromagnetske energije nekog uzorka u rasponu valnih duljina od 800 do 2500 nm, odnosno od 12 500 do 4000 cm^{-1} . Vrpce koje čine NIR spektar rezultat su rastezanja O—H, C—H, i N—H veza. (Kradjel, 1991).

Valjalo bi naglasiti da blisko infracrveno područje pruža dobru priliku za traženje slobodnih radikala u koncentriranim otopinama i tekućinama zbog relativne čvrstoće slobodnih vrpca i kombinacije vrpca. (Ozaki Y. i sur. 2007).

NIR spektroskopija je instrumentalna metoda koja se u današnje vrijeme koristi za dobivanje spektara hrane i drugih materijala. Dobiveni spektri se kasnije koriste prilikom određivanja kvalitativnih i kvantitativnih svojstava ispitivanih uzoraka. Glavne prednosti NIR spektroskopije su brzina (spektar se može dobiti u desetinki sekunde), mala količina uzorka (ako je potrebna priprema, obično je vrlo jednostavna), višestruke analize iz jednog skeniranja (nije potrebno skenirati uzorak za svaki sastavni dio) i nedestruktivni postupak

mjerjenja (dopuštajući povratak analiziranog uzorka u izvornom stanju). Neki od nedostataka NIR spektrometrije su: instrumentacija mora biti kalibrirana skeniranjem skupa uzorka s poznatim kvalitativnim/kvantitativnim parametrima, poznate razine često uključuju skupe i složene referentne metode, moderne metode kalibracije oslanjaju se na sofisticirane kemometrijske tehnike, te je potrebna pomoć osoblja visoko obučenih u kemometrijskim tehnikama. NIR spektroskopija se koristi u analizi hrane zbog velike mogućnosti smanjenja utjecaja navedenih problema. Unatoč činjenici da je NIR instrument kojem je potrebna kalibracija, to je instrumentalna tehnologija koja nudi ogromne uštede, kako za proizvodnju tako i za preradu u prehrambenoj industriji.

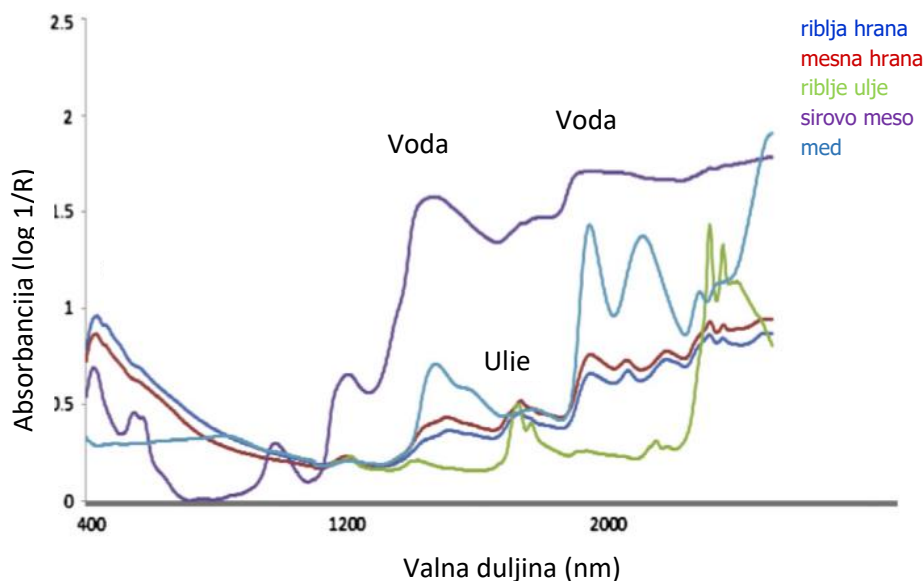
2.2.1 Nir i autentičnost hrane

Autentičnost hrane je dobro utemeljeno područje istraživanja koje uključuje uporabu različitih analitičkih tehnika kao što su plinska kromatografija (GC), masena spektrometrija (MS), NMR, DNA otisak prsta (fingerprinting) i vibracijske spektroskopije (NIR). Autentičnost hrane i poljoprivrednih proizvoda od primarne je važnosti kako bi se zadržali zahtjevi potrošača i održala priroda prehrambene industrije. S pravnog gledišta, industrija i vlada uspostavili su standarde kvalitete kako bi postavili zahtjeve za oznake kvalitete koje određuju kemijski sastav sirovina i hrane. S ekonomskog stajališta, autentičnost proizvoda je neophodna kako bi se izbjegla nepoštena konkurencija koja na kraju može stvoriti destabilizirano tržište i poremetiti regionalna ili nacionalna gospodarstva (Downey, 2013).

Autentičnost namirnica ima dva različita aspekta: autentičnost s obzirom na proizvodnju (npr. zemljopisno podrijetlo, organska i anorganska) i autentičnost u odnosu na opis. Krivotvorenje hrane prakticirano je od davnih vremena, međutim postalo je sofisticiranije. Krivotvorenje obično proizlazi iz dva glavna razloga: prvo može biti profitabilno, a drugo, krivotvoritelji se lako mogu miješati i nakon toga se teško mogu otkriti (Arvantoyannis i sur., 2005; Weeranantanaphan i sur., 2011).

Visokovrijedna hrana ili sastojci hrane najčešće će biti krivotvoreni. Krivotvorenje može imati mnoge oblike, uključujući dodavanje šećera, kiselina, hlapljivih ulja, prekoračenja koncentrata, dodavanja sokova ostalih voća, upotrebe koncentrata u "svježem" proizvodu ili uporabe proizvoda slabog kvaliteta koji se oporavlja od onoga što je obično otpadni proizvodi proizvodnje kao vrhunski proizvodi.

Infracrvena (IR) spektroskopija proizlazi iz apsorpcijskih mjerenja različitih IR frekvencija pomoću uzorka smještenog na putu IR zrake (npr. blisko-infracrvene (NIR) i srednje-infracrvene (MIR) zrake). Kada je frekvencija specifične vibracije jednaka frekvenciji IR zračenja usmjerenom na molekulu, ova molekula apsorbira zračenje. NIR karakterizira preklapanje mnogih različitih vrpca i kombinacije vibracija (vibracije kemijskih veza C-H, N-H i O-H) što rezultira širokim pojasevima koji rezultiraju NIR spektralnim podacima. NIR spektrofotometri prikladno se klasificiraju prema vrsti monokromatora. Na primjer, u instrumentu za filtriranje, monokromator je kotač koji ima brojne filtre apsorpcije ili smetnji, dok je spektralna rezolucija ograničena. U instrumentu za monokromator skeniranja koristi se rešetka ili prizma za odjeljivanje pojedinačnih frekvencija zračenja ulaska ili izlaska iz uzorka. Razdjelnik valne dužine rotira, dopuštajući zračenju pojedinih valnih duljina da naknadno dođu do detektora. Razvoj mikro elektro-mehaničkih sustava (MEMS) kombinira mehaničke dijelove, senzore, aktuatore i elektroniku na zajedničku podlogu uporabom tehnologije mikrofabriciranja. Ostala dostignuća instrumentacije uključuju žarišne ravne kamere u kombinaciji s filtrom koji se može prilagoditi tekućim kristalima, filterima koji se mogu prilagoditi akustičkim optičkim svjetlima, uporabom LED-a ili ostalim principima monokromata koji omogućuju mnogo brže snimanje spektara. Multispektralni i hiperspektralni sustavi snimanja ugrađeni su u bezbroj dostupnih instrumenata. Multispektralni (nekoliko valnih duljina) ili hiperspektralni (kontinuirani raspon valnih duljina) sustavi za snimanje stvaraju spektralnu podatkovnu kocku - spektar u svakom 2-D prostornom položaju. Niz prostornih slika dobiven je pomoću NIR fotoaparata i seta band-pass filtera. Međutim nedostatak ovog pristupa je da se može analizirati samo ograničeni broj valnih duljina. (McClure, 2004; Cozzolino i sur., 2003, 2009; Roggo i sur., 2007; Nicolai i sur., 2007; Huang i sur., 2008; Manley, 2014). Tipični prikaz NIR spektra prikazan je na slici 1.



Slika 1. Prikaz NIR spektara hrane i poljoprivrednih proizvoda na kojima su vidljive regije vode i ulja (Cozzolino, 2016).

Prednosti i nedostaci NIR spektroskopije u usporedbi s drugim uobičajenim metodama i tehnikama koje se koriste u autentičnosti prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Prednosti i nedostaci NIR spektroskopije (Cozzolino, 2016).

Prednosti	Nedostaci
Nedestruktivna metoda	Niska osjetljivost u usporedbi s drugim tehnikama
Mala ili nikakva priprema uzorka za analizu	Niska selektivnost u usporedbi s drugim metodama
Moguća analiza tekućina, pasta i krutih tvari	

Kombinacija kemometrije ili multivarijantne analize s analitičkim instrumentima ima sposobnost odrediti više od jedne komponente u isto vrijeme i može poslužiti kao podrška za uspostavljanje veza s ostalim karakteristikama uzorka (McClure, 2003; Karoui i sur., 2010; Weeranantanaphan i sur., 2011; Cozzolino, 2009).

Kemometrija obuhvaća sasvim širok spektar metoda kao što su analiza istraživanih podataka prepoznavanje uzoraka (Pattern Recognition, PR) i dizajn eksperimenta (DoE). Najčešće korištene tehnike primijenjene na području autentičnosti hrane su analiza glavnih komponenata (Principal Component Analysis - PCA), metoda najmanjih kvadrata (PLS) i

multilinearna regresija (MLR). Kemometrija, za razliku od klasične statistike, razmatra više varijabli istovremeno i uzima u obzir kolinearnost (varijacija u jednoj varijabli, ili skupini varijabli, u smislu kovarijacije s drugim varijablama). Razvijanje umjeravanja može matematički opisati kovarijancu (stupanj povezanosti) između varijabli ili pronaći matematičku funkciju (regresijski model), pomoću kojeg se vrijednosti ovisnih varijabli izračunavaju iz vrijednosti izmjerenih (nezavisnih) varijabli. PCA se koristi kao alat za skeniranje, vađenje i komprimiranje multivarijantnih podataka. PCA koristi matematički postupak koji pretvara skup mogućih koreliranih varijabli odgovora u novi skup nekoreliranih varijabli, nazvanih glavnih komponenti. PCA se može izvesti na matrici podataka ili matrici korelacija ovisno o vrsti varijabli koje se mjere. PCA proizvodi linearne kombinacije varijabli koje su korisni deskriptori ili čak prediktori neke posebne strukture u matrici podataka. Diskriminacijska analiza (DA), Linearna diskriminantna analiza (LDA) i diskriminacijska analiza parcijalno najmanjih kvadrata (PLS-DA) mogu se smatrati kvalitativnim metodama kalibracije i najčešće su korištene metode u autentičnosti. Umjesto kalibriranja za kontinuiranu varijablu, dovoljna je jedna kalibracija za grupu. Dobiveni modeli procjenjuju se u smislu prediktivne sposobnosti predviđanja novih i nepoznatih uzoraka (Standard Error of Prediction, SEP). Modeli diskriminacije obično se razvijaju pomoću PLS regresijskih tehnika. LDA je nadzirana klasifikacijska tehnika. Kriterij LDA za odabir latentnih varijabli je maksimalna različitost između kategorija i minimalne varijance unutar kategorija. Ova metoda proizvodi niz ortogonalnih linearno diskriminativnih funkcija, jednak broju kategorija minus jedan, koji omogućuju da se uzorci klasificiraju u jednu ili drugu kategoriju. Primjena umjetnih neuronskih mreža (ANN) kao tehnike za obradu podataka koja je karakterizirana njegovom analogijom s biološkim neuronima. Za razliku od linearne regresije, PCR i PLS, ANN se može nositi s nelinearnim odnosima između varijabli. Oba PLS i PCA su dva najsnažnija alata za analizu podataka koji zahtijevaju instrumentalne metode za izdvajanje informacija o atributima kvalitete koji su skriveni u podacima ("kalibracija modela") (Tzouros i Arvantoyannis, 2001; Naes i sur., 2002; Reid i sur., 2006; Oliveri i sur., 2011)

Glavne prednosti NIR spektroskopije u odnosu na tradicionalne kemijske i kromatografske metode (npr. HPLC, GC, GC-MS) su brzina, minimalna priprema uzoraka i jednostavnost korištenja u industrijskim uvjetima ili rutinskim operacijama. Međutim, prilagodbom i primjenom ove metode za učinkovito i dosljedno praćenje autentičnosti moramo povećati naše razumijevanje kemijske i biokemijske osnove povezane s podrijetlom / autentičnosti / sljedivosti dobivenim iz NIR spektara, kako bismo održali održivu proizvodnju hrane i kako

bismo jamčili potrošačima porijeklo hrane. NIR apsorpcijski spektri su općenito široki i preklapaju se radi izdvajanja korisnih informacija iz NIR spektralnih podataka, te su potrebni alati za multivarijantnu analizu podataka kao što su PCA i PLS. Osim toga, korištenje analize multivarijantnih podataka čini provjeru metode vrlo izazovnom. Novi pristupi, kao što su upotreba novih algoritama, preprocesiranje podataka, kombinacija različitih senzora (senzorska fuzija) i razvoj hiperspektralne spektroskopije pokazali su se kao alternativa "klasičnoj" uporabi NIR spektroskopije kako bi se poboljšala klasifikacija točnost modela. (D.Cozzolino 2016). U skoroj budućnosti možemo zamisliti da će prijenosni i jednostavni NIR instrumenti (npr. instrumenti i aplikacije u mobilnim telefonima) omogućiti potrošačima da provjeravaju vjerodostojnost njihove hrane, kao i da prate porijeklo proizvoda u trgovinama, djelujući kao prva linija obrane od prijevare hrane.

2.2.2. Nir i njegova uporaba u agrokulturi i prehrambenom inženjerstvu

Odabir valne duljine postiže se moduliranjem izvora, kao što je snimanje Fourier-transformacije (FT) ili pomoću filtriranja slike pomoću podesivih ili fixed-bandpass filtara. Ovisno o upotrijebljenoj optici, NIR snimanje može biti mikroskopska ili makroskopska metoda. Iako postoje brojne eksperimentalne implementacije za generiranje NIR spektroskopskih podataka, prilagodljivi filtarski pristup pomoću tekućeg kristala koji se može namjestiti (LCTF) ima određene prednosti. Brzo ugađanje diskretnih valnih duljina putem kontrole programa bez pokretnih dijelova omogućuje prikupljanje skupova podataka koji sadrže približno 80 000 spektara u trajanju od nekoliko minuta. Uz kontinuirano ugađanje čitavog raspona NIR spektara, LCTF je također u mogućnosti prikupljati podatke preko uskog spektralnog raspona ili diskretno koristeći samo nekoliko analitički relevantnih valnih duljina. Sustav za sinkronizaciju s mogućnošću slučajnih odabira nudi prednost pred FT metodama, na primjer, umanjujući veličinu skupova podataka i dramatično ubrzavajući postupak prikupljanja podataka. Jednom kada je metoda prikupljanja podataka optimirana i validirana, ona se lako može "povezati" tako da je zbirka i analiza integrirana i ostvarena u "stvarnom vremenu" (Treado i sur., 1992). Tipični komercijalno dostupni NIR slikovni sustav prikuplja približno 80 000 prostorno razlučivih spektara istovremeno, pružajući više spektralnih podataka nego što ih se skuplja pomoću monokromatskih spektrometara. Kemijski slikovni skup podataka prikazan je trodimenzionalnom kockom u kojoj dvije osi opisuju vertikalne i horizontalne prostorne dimenzije, a treća dimenzija predstavlja dimenziju spektralne valne duljine. Različite analize podataka mogu se primijeniti za vizualizaciju i procesiranje skupova

podataka kemijskih snimaka, a cilj je ocijeniti i kvantificirati heterogenost (kontrast) uzorka. Međutim, proces se može generalizirati u četiri osnovna koraka: spektralna korekcija, spektralno preprocesiranje, klasifikacija i analiza slike. Prva dva koraka su uobičajena za sve komparativne spektroskopske analize. Spektralna korekcija uključuje preuzimanje omjera podataka u pozadinsku referencu kako bi se uklonila komponenta odgovora instrumenta (Baeten i Dardenne, 2005). NIR spektroskopska kvantitativna analiza koja karakterizira nutritivnu i komercijalnu vrijednost žitarica široko je rasprostranjena. Tipično, količina kvantificiranja komponenti uzorka poput ulja, proteina, škroba i vode je informacija od interesa i može se odrediti NIR spektroskopijom. Dodavanjem prostorne dimenzije, kemiju uzorka može se istražiti u svrhu usporedbe fiziologije različitih sorti i njihovom ekonomskom i nutritivnom vrijednosti. Očekuje se da bi ove informacije mogle omogućiti razvoj strožih standarda za kontrolu uzgojnih programa i proporcionalna poboljšanja kvalitete proizvoda.

Prodor ove tehnike u području tehnologije hrane bit će potaknut brojnim čimbenicima, od kojih je nedvojbeno nedavno obnovljeni interes za zaštitu opskrbe hranom. Sposobnost NIR spektroskopije da brzo, neinvazivno i nedestruktivno analizira velike količine uzoraka razlikuje ju od mnogih drugih analitičkih metoda (Ozaki Y. i sur. 2007). Osim toga, tehnika je vrlo robusna i prijenosna, a kao takva je također pogodna za široku upotrebu, dajući joj dodatnu vrijednost za prehrambenu industriju.

2.2.3. Primjena NIR tehnologije na područje voća i povrća

Primjena NIR tehnologije na područje voća i povrća danas privlači veliku pozornost. Nekada se mislilo da nema znatnog značenja, posebice u prisutnosti vode u svježem voću i povrću, međutim, za NIR spektre utvrđeno je da sadrže znatne informacije vezane uz kvalitetu voća i povrća.

Od početaka istraživanja, mjerenje unutarnje ili prehrambene kvalitete voća i povrća je bilo vrlo aktivno područje istraživanja. Korištenjem izmjerene vrijednosti apsorbancije moglo se predvidjeti unutarnju kvalitetu jabuke mjerenjem klorofila. U toj ranoj fazi studija nije se pokušalo izravno odrediti kemikalije koje se odnose na ukus i okus, poput šećera ili kiseline. Umjesto toga, mjerenje klorofila bilo je neizravna ili sekundarna korelacija s kvalitetom proizvoda (Slaughter i Abbot, 2004). Najvažnija stvar za uspješno kalibriranje je osigurati da se područje uzorkovanja i NIR područje osvjetljavaju, kako bi NIR energija duboko ušla u uzorak. Voće i povrće mogu imati koru različite debljine, te se za voće i povrće sa tanjom

korom (jabuka, kruška) te voće i povrće deblje kore (naranča, banana) koriste različite metode. Metode se biraju prema traženoj kemikaliji, ovisno o njenoj lokaciji u voću i povrću. Što se tiče izbora valnih duljina, to ovisi o potrebnoj energiji (što je kraća valna duljina veća je energija). Stoga ako se tražena kemikalija nalazi duboko u uzorku uporaba područja kratkih valnih duljina morala bi dati pouzdanu informaciju. S druge strane, područje dugih valnih duljina bit će korisno ako se kemikalija nalazi u kori (Slaughter i Abbott, 2004).

Postoje određeni mjerni uvjeti koji se moraju uzeti u obzir kako bi se dobili zadovoljavajući rezultati. Najistaknutiji čimbenik za analizu voća i povrća je temperatura uzorka, koja je važna zbog sadržaja vode u voću i povrću (to su proizvodi visokog sadržaja vode). Pri povećanju temperature, udio molekula vode s manjim brojem vodikovih veza se povećava, uzrokujući pomake spektra vode - i magnitude apsorpcije i pozicije valne duljine. Ovaj utjecaj temperature ne može se zanemariti u situacijama u kojima se temperatura uzorka ne može kontrolirati - na primjer pri korištenju prenosivih ili ručnih NIR instrumenata u voćnjaku. Također sunčeve zrake mogu utjecati na točnost analize uzorka, prilikom mjerenja izvan laboratorija (Ozaki Y. i sur. 2007).

Brix vrijednost

Brix je jedan od najčešćih čimbenika kvalitete voća. Voda, topljivi šećeri, određeni kao Brix, glavni su sastojci u većini voća - recimo 10-20 % po svježoj težini. Stoga, u spektru tipičnog voća, postoji odgovarajuća količina informacija vezanih uz apsorpciju šećera. Referentna mjerenja Brix također su jednostavna. Vrijednost se može precizno odrediti s digitalnim refraktometrom. Kritični faktor je mjerenje Brix vrijednosti što je brže moguće nakon ekstrakcije soka. Isparavanje vode soka će povećati Brixov broj. Međutim, za referentne vrijednosti koje se koriste u NIR spektroskopiji, možda je bolje istisnuti sok izravno ručno i odmah sipati sok na refraktometar. Gaza može apsorbirati vodu iz sokova, povećavajući Brixovo očitavanje, što dovodi do neusklađenosti između očitavanja Brix izmjenjenog refraktometrom i Brix izmjenjenog NIR spektroskopijom.

Suha tvar (ST)

Za mnoga voća i povrća, određivanje suhe tvari uključuje šećere, škrob i vlakna. Sadržaj će varirati ovisno o vrsti i zrelosti. Vrlo je važno izraditi kalibracijsku jednadžbu za suhu tvar iz kalibracijskog seta koji predstavljaju mjerljive uzorke. Kalibracijska jednadžba za suhu tvar razvijena za nezrele jabuke treba uzeti u obzir apsorpcijski pojas škroba, dok razvijena jednadžba za zrele jabuke treba razmotriti apsorpcijski pojas šećera. Drugi čimbenik koji

utječe na određivanje suhe tvari je struktura voća ili povrća. Ako je voće homogeno, kao što su jabuke ili mango, vrlo je jednostavno izmjeriti spektar i dobiti točan rezultat umjeravanja suhe tvari po jednom mjerenju NIR spektroskopije po voću. Međutim, ako plod nema homogenu strukturu, na primjer, rajčice, određivanje suhe postaje komplicirano. Tada su potrebna mjerenja iz više položaja kako bi se omogućilo preciznije određivanje suhe tvari.

2.3. Kemometrijske tehnike

2.3.1. Analiza glavnih komponenti (PCA)

Analiza glavnih komponenta omogućava kvalitativnu analizu i grupiranje podataka bez postavljenog fizičkog modela. Koristi se i za brzu procjenu strukture podataka prije detaljne analize ili kvantifikacije fizičkog ili kemijskog procesa (Jednačak, 2013). Specifični su ciljevi analize glavnih komponenti dobivanje glavnih obrazaca odnosa između promatranih varijabli, svođenje velikog broja promatranih varijabli na manji broj faktora, dobivanje operacijske definicije (regresijske jednadžbe) za temeljni proces uporabom promatranih varijabli ili testiranje hipoteze o prirodi temeljnih procesa. Analiza glavnih komponenti od značajne je koristi jer svodi brojne varijable na nekoliko faktora. Matematički gledano, ove analize daju nekoliko linearnih kombinacija promatranih varijabli, od kojih je svaka linearna kombinacija faktor. Faktori sumiraju obrasce korelacija u promatranoj korelacijskoj matrici i mogu se, s različitim stupnjevima uspjeha, koristiti za reprodukciju promatrane korelacijske matrice (Rajačić, 2015). Ova metoda temelji se na određivanju korelacija između pojedinih varijabli pri čemu grupira uzorke u glavne komponente i opisuje odnos između pojedinih varijabli te omogućuje vizualizaciju njihovog odnosa, tj. da li su one slične ili različite. Objekti koji su slični jedan drugome grupirat će se zajedno, dok će oni različiti biti udaljeniji.

2.3.2. Umjetne neuronske mreže

Umjetne neuronske mreže su među najraširenijim matematičkim algoritmima za prevladavanje nelinearnosti. Neuroni (čvorovi) formiraju slojeve koji čine tzv. "mrežnu arhitekturu". Sloj čvora preko kojeg se podaci šalju mreži označen je kao "ulazni sloj" i koristi se isključivo u tu svrhu. S druge strane, sloj koji sadrži čvorove s odgovorom ili odgovorima - ovisno o tome je li jedan ili više parametara kvantificiran - naziva se "izlazni sloj". Broj "skrivenih slojeva" i čvorova koji sadrže razlikuju se ovisno o problemu. Od svih ANN-ova,

algoritam za širenje unatrag možda je najčešće korišten nadgledani algoritam za obuku višeslojne mreže napajanja naprijed. Faza napajanja unaprijed izvodi se na ulaznom uzorku za izračunavanje neto pogreške, a zatim algoritam koristi ovu izračunatu izlaznu pogrešku za promjenu vrijednosti težine u smjeru unatrag. Pogreška se polako širi unatrag kroz skrivene slojeve. Smanjenje broja ulaza u mrežu smanjuje vrijeme treninga i stoga se to pokušava postići jer omogućuje određivanje više mrežnih rješenja u određenom vremenu (Ying Dou i sur. 2007).

Rezultati glavnih komponenatai često se koriste za smanjenje velikog broja podataka na mnogo manje glavne komponente (PC), koji se zatim koriste kao mrežni ulazi umjesto izvornih podataka. Osim toga, buka i slučajna pogreška u izvornim podacima bit će isključeni upotrebom tih rezultata. Artijalne neuronske mreže koje koriste glavne komponente kao ulazne čvorove obično se zovu PC-ANN. Stupanj aproksimacije koristi se kao kriterij optimizacije mreže kako bi se izbjeglo prekoračenje broja iteracija.

Međutim, umjetne neuronske mreže sadrže tri glavna nedostatka: (1) prediktivna svojstva umjetnih neuronskih mreža snažno ovise o parametrima učenja i topologiji mreže; (2) količina vremena obuke je velika; i (3) ANN modeli su složeni i teški za interpretaciju. Da bi se izbjegli problemi, istraživane su osnovne komponente umjetne neuronske mreže (PC-ANN). U modelima PC-ANN, rezultati analize glavnih komponenti (PCA) podataka o odgovoru kalibracijske smjese upotrijebljeni su kao ulazni sloj. PC-ANN su arhitekture konstruirane korištenjem različitog broja glavnih komponenti (PC). Korištenje rezultata smanjuje ulazne čvorove pa je vrijeme treninga mreže skraćeno. Metoda PC-ANNs je izvrstan izbor za najučinkovitije modeliranje ne-linearnih sustava (Ying Dou i sur. 2007).

3 Eksperimentalni dio

3.1 Materijali

3.1.1 Uzorci

- sorta jabuke granny smith kupljena u trgovini za prodaju voća i povrća
- sorta jabuke idared kupljena u u trgovini za prodaju voća i povrća
- šećer kupljen u trgovini

3.1.2 Laboratorijski pribor

- staklene čaše volumena: 200, 400, 600, 800, 1500 ml
- stakleni lijevak
- celulozni filter papir (LLG Labware, Njemačka)
- nož
- menzure volumena: 100 mL, 500 mL
- plastične kivete volumena 15 ml
- plastične kivete volumena 3 mL za spektroskopiju
- pipetman 100-1000 μ L(LLG Labware, Njemačka)

3.1.3. Uređaji i software

- Analitička vaga (Sartorius TE214-S0CE, Njemačka)
- Vorteks (BiosanVortex V1 Pus, Latvija)
- Konduktometar (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska)
- Sokovnik (Slow juicer Vivax SJ 150, Hrvatska)
- pH metar (Jenco 601A, SAD)
- NIR-128-1.7-USB/6.25/50 μ m skenirajući monokromator (Control Development, SAD) s pripadajućim softwareom Spec32 (Control Development, SAD)
- Statistica 10.0 (StatSoft, SAD)

3.1.4 Priprema uzoraka

Kako bi se dobio sok od dvije vrste jabuka (granny smith i idared) potreban za daljnje istraživanje, bilo je potrebno narezati jabuke na komadiće te ih staviti u sokovnik (Slow juicer Vivax SJ 150, Hrvatska) pomoću kojeg se dobio sok. Prilikom rezanja jabuka odvajane su koštice koje su kasnije analizirane.

Napravljena su dva tipa uzorka soka za svaku sortu jabuka. Jedan sok je nakon cijedenja u sokovniku bio filtriran kroz celulozni filter papir dok je drugi ostao nefiltriran.

U plastičnim kivetama volumena 15 mL pripremano je 15 uzoraka od 5 mL filtriranog soka i 15 uzoraka od 5 mL nefiltriranog soka obje vrste jabuka koje su homogenizirane na vorteksu (BiosanVortex V1 Pus, Latvija) prije NIR analize.

U plastičnim kivetama volumena 15 mL pripremano je 15 različitih omjera filtriranih sokova granny smith i idared jabuka prema volumim udjelima koji su prikazani u tablici 2.

Tablica 2. Prikaz volumnog udjela filtriranog soka granny smith jabuka u filtriranom soku idared jabuka

Broj uzorka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Volumni udio filtriranog soka granny smith jabuka u filtriranom soku idared jabuka (%)	0	2,5	5	10	20	30	40	50	60	70	80	90	95	97,5	100

U plastičnim kivetama volumena 15 mL pripremano je 15 uzoraka od 5 mL dodavanjem šećera u sokove jabuka (obje sorte i oba soka). Plastične kivete sa sokovima prije dodavanja šećera te šećer vagan za dodavanje u sokove odvagani su na analitičkoj vagi (Sartorius TE214-S0CE, Njemačka). Masene koncentracije dodanih šećera u filtrirane i nefiltrirane sokove obje sorte jabuka prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. Maseni udjeli dodanih šećera u filtrirane i nefiltrirane sokove jabuka granny smith i idared

Broj uzorka	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Maseni udio šećera dodan u sokove (g/g)	0	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50

3.2 Metode

3.2.1. Određivanje vodljivosti, udjela otopljenih čvrstih tvari i pH

Za svaki uzorak soka od jabuke (filtrirani i nefiltrirani) je dva puta izmjerena električna vodljivost i udio otopljenih čvrstih tvari (TDS) pomoću konduktometra (SevenCompact, MettlerToledo, Švicarska) iz kojih se izračunala srednja vrijednost.

Uzorci su rađeni u triplikatima i prije mjerenja homogenizirani na vorteksu (BiosanVortex V1 Pus, Latvija).

3.2.1 NIR spektroskopija

Za snimanje uzoraka u rasponu valnih duljina od 904 do 1699 nm korišten je NIR-128-1.7-USB/6.25/50 μ m skenirajući monokromator (Control Development, SAD) s instaliranim pripadajućim softwareom Spec32 (Control Development, SAD). Uzorci (duplikati za svaki pripremljeni uzorak) su prethodno homogenizirani te potom snimani u plastičnim kivetama od 3 mL, na postolju s poklopcem kako bi se spriječio utjecaj vanjskog izvora svjetlosti. Neobrađeni blisko-infracrvenog spektri pohranjeni su kao .xls datoteke u softwareu Microsoft Office Excel te kasnije korišteni za obradu podataka PCA metodom.

3.2.2 Kemometrija – Analiza glavnih komponenti

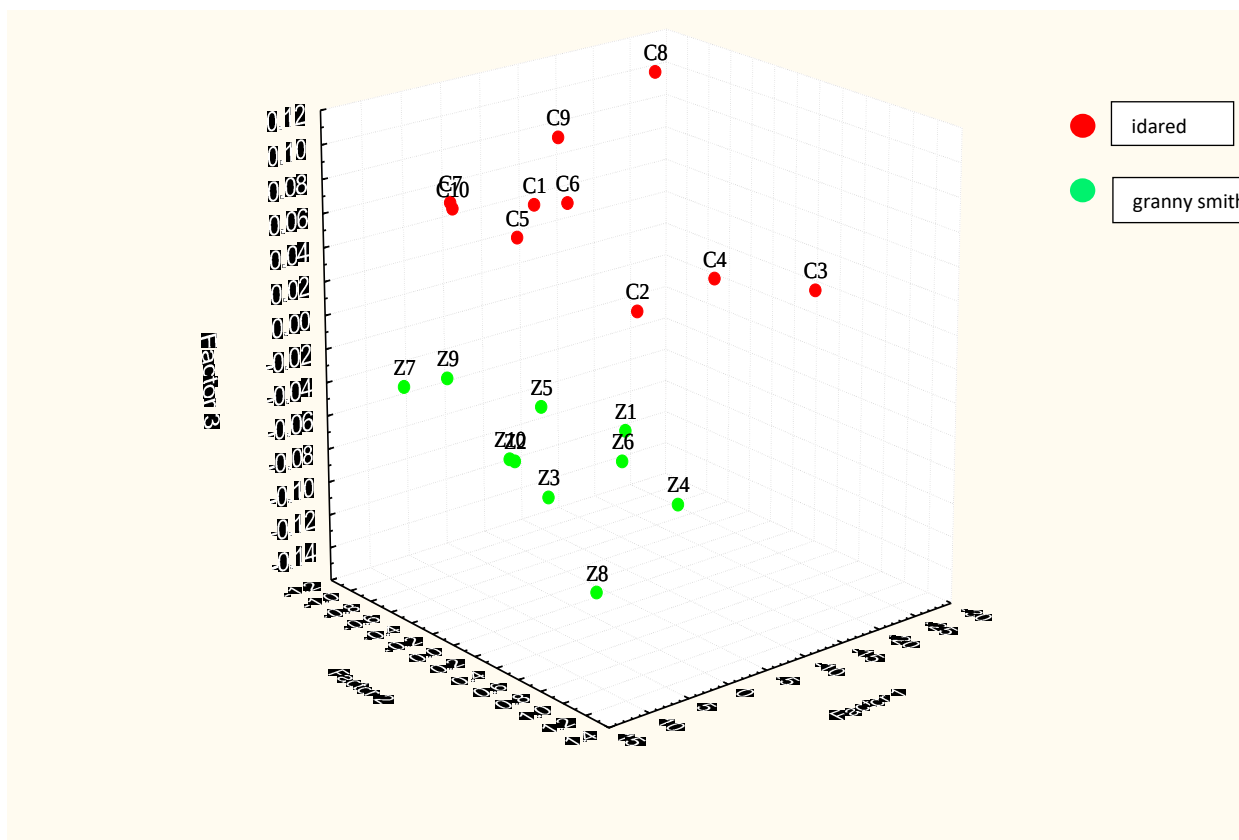
U svrhu obrade podataka NIR spektroskopije korištena je kemometrijska metoda analize glavnih komponenti (PCA). Analiza glavnih komponenti koristi se kako bi se izdvojile specifične informacije iz velike baze podataka i radi lakšeg uočavanja sličnosti i razlike među podacima na temelju njihovog međusobnog razdvajanja i grupiranja. Najznačajnije informacije, koje proizlaze iz vrijednosti apsorpcija (u raspona valnih duljina 904-1699 nm) pri zadanim volumnim udjelima pretvorene su u skup novih ortogonalnih varijabli koje zovemo glavne komponente ili faktori (Abdi i Williams, 2010). Za analizu podataka NIR spektra PCA metodom korišten je software Statistica 10.0 (StatSoft, SAD).

3.2.3 Umjetne neuronske mreže

Umjetne neuronske mreže korištene su za kako bi se na temelju podataka iz NIR spektra predvidjele vrijednosti volumnog udjela soka granny smith jabuka u soku idared jabuka te također masenog udjela dodanog šećera u pripremljenim uzorcima sokova od jabuka. Koristeći software Statistica v.10.0 (StatSoft, USA) razvijene su mreže s 3 – 9 neurona u skrivenom sloju. Kao ulazne varijable korišteno je prvih 5 faktora dobivenih analizom glavnih komponenti koji su bili odgovorni za 99,9% varijabilnosti u podacima. Kao izlazne varijable postavljene su pH vrijednost, električna vodljivost, koncentracija ukupnih otopljenih čvrstih tvari (TDS) i volumni udio čaja industrijske konoplje. Učenje umjetnih neuronskih mreža provedeno je podjelom podataka u skupove za učenje, test i validaciju u omjeru 70:20:10.

4 Rezultati i rasprava

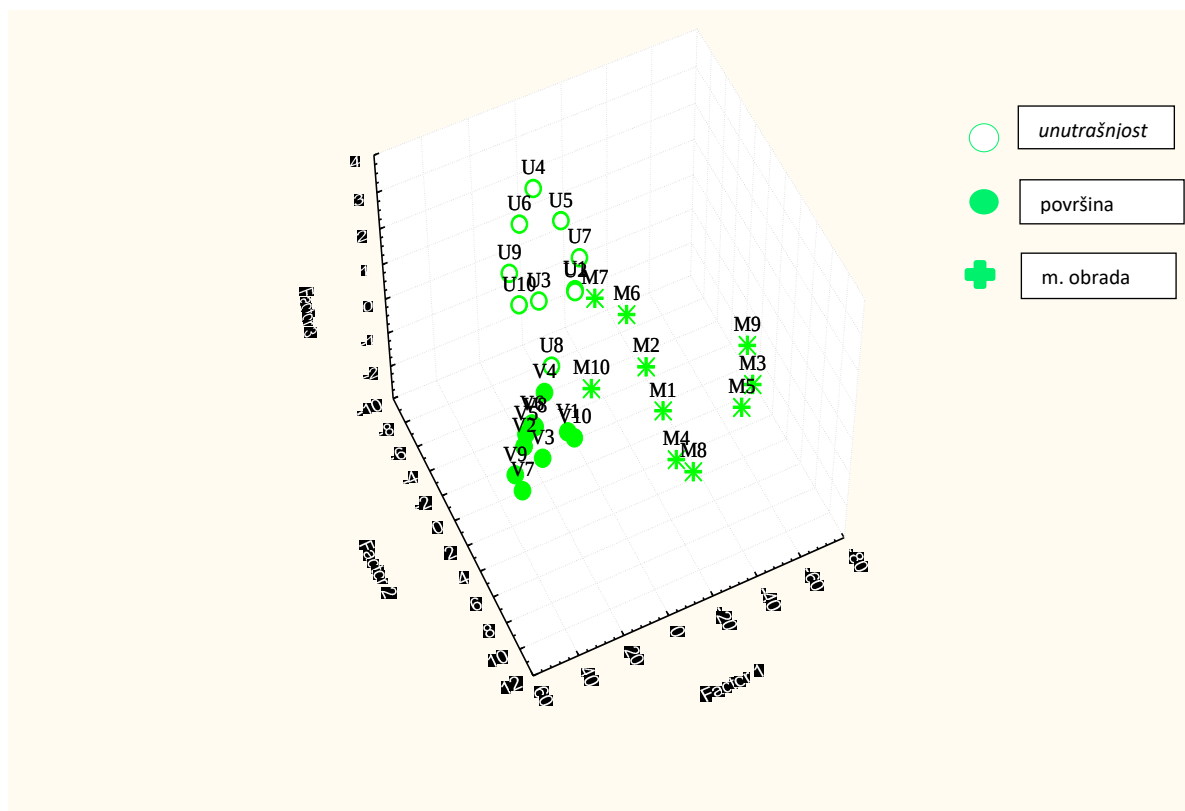
Istraživanja u ovom radu bila su provedena na dvije sorte jabuka (granny smith i idared). Fokus je bio na blisko-infracrvenoj spektroskopiji i njenoj mogućnosti u detekciji razlika u sortama te njenoj potencijalnoj primjeni za određivanje patvorenosti sokova. Kako bi se ispitala mogućnost primjene NIR spektroskopije za razlikovanje sorti jabuka na 10 različitih uzoraka jabuka (obje sorte) snimljeni su spektri površina jabuka. Primjenom analize glavnih komponenata prikazani su rezultati grupiranja u 3D prikazu (slika 2) gdje su korištena prva tri faktora. Razlog korištenja 3D prikaza je u tome da koji puta kada se prikazuje analiza glavnih komponenata u 2D (najčešće prva dva faktora) može doći do preklapanja uzoraka i stoga izgleda da nije došlo do dobrog razdvajanja.



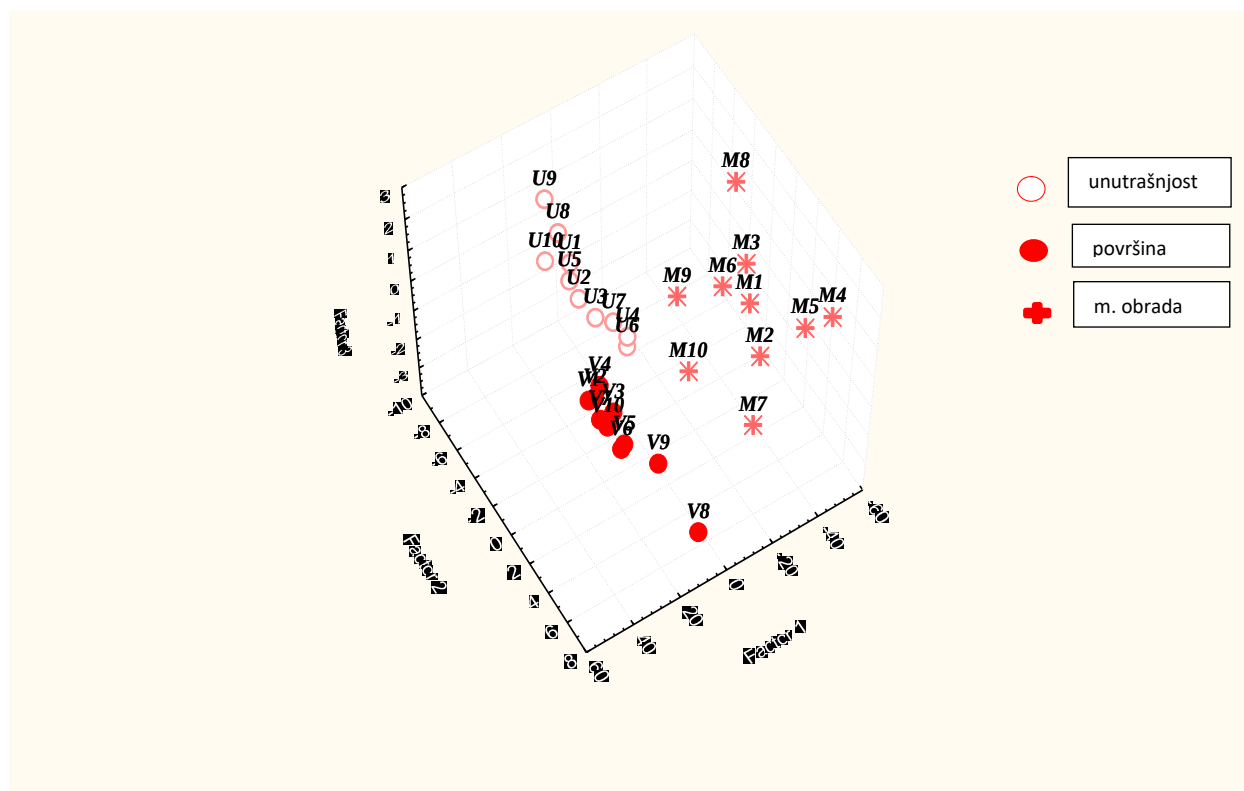
Slika 2. 3D prikaz PCA analize za prva tri faktora uzoraka površina jabuka granny smith i idared

Na slici 2 vidljivo je da je analizom glavnih komponentata došlo do grupiranja dvije sorte jabuka odnosno može se zaključiti da snimanjem površine jabuka NIR spektroskopija može bez problema razlikovati sorte granny smith i idared.

Prilikom pripreme sokova od jabuka, jabuke su bile narezane te su također snimljeni površinski sloj (kora), unutrašnjost jabuke i ostaci jabuke koji su prošli mehaničku obradu prilikom pripreme soka. Rezultati dobiveni analizom glavnih komponentata od 10 uzoraka za svaki dio jabuka (površina, unutrašnjost i ostaci nakon pripreme soka) i svaku sortu prikazani su na slikama 3 i 4.



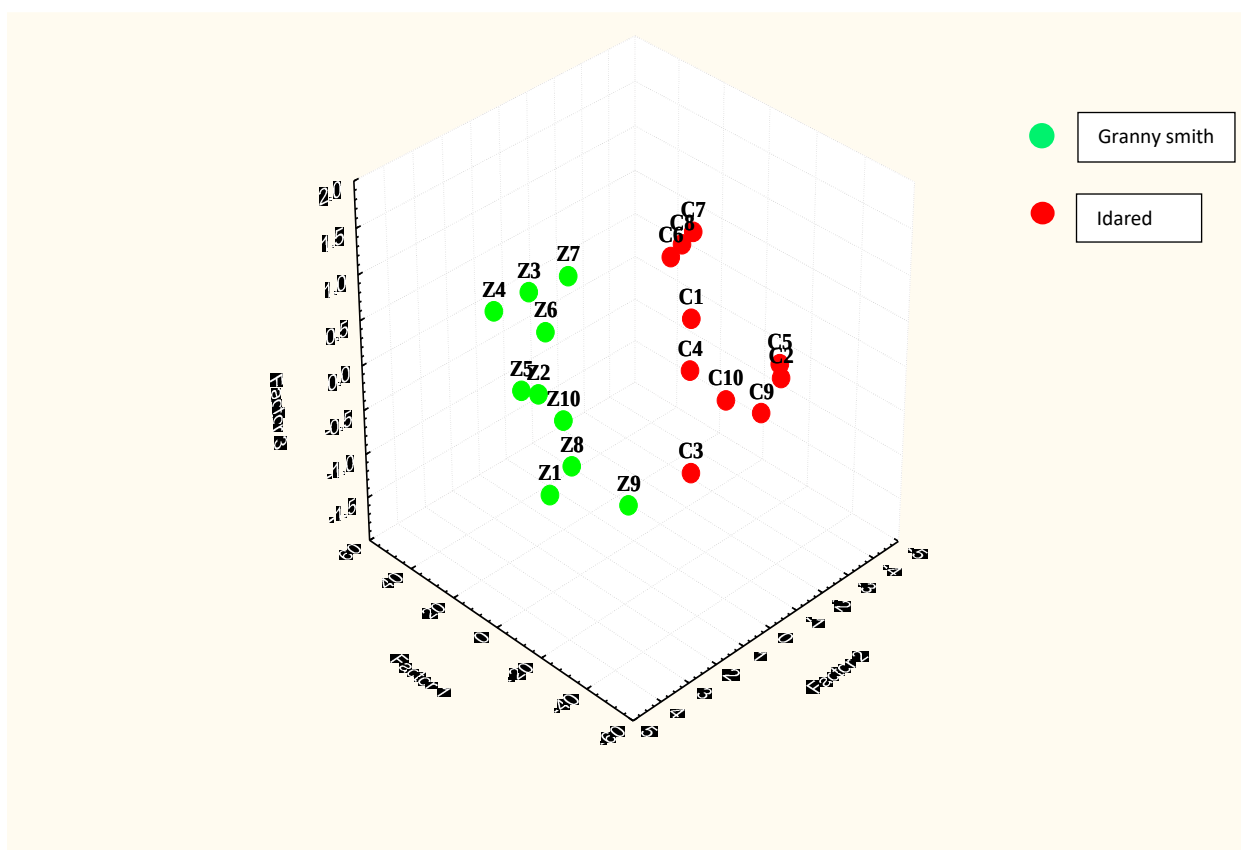
Slika 3. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora uzoraka površina, unutrašnjosti i ostataka nakon pripreme soka jabuka granny smith



Slika 4. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora uzoraka površina, unutrašnjosti i ostataka nakon pripreme soka jabuka idared

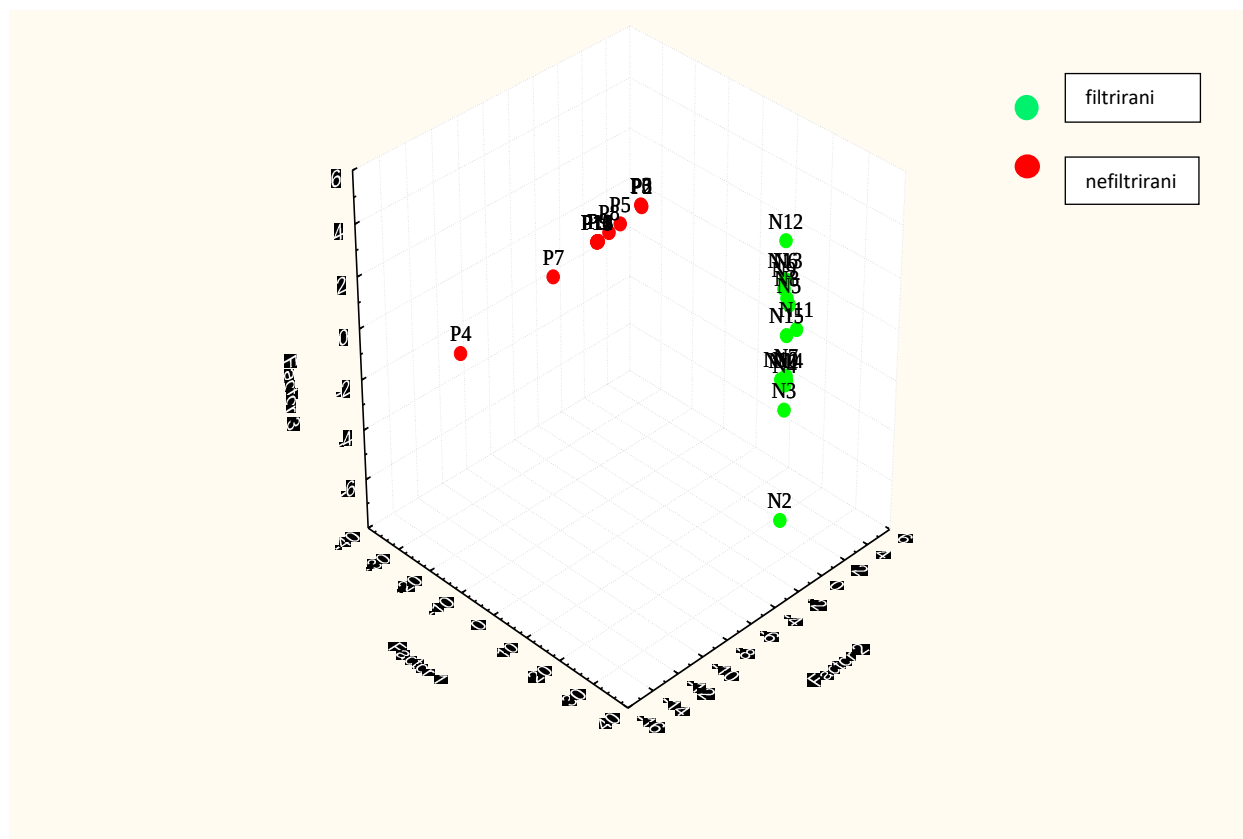
Na slikama 3 i 4 vidljivo je grupiranje uzoraka kako za površinski sloj, unutrašnjost tako i za mehanički obrađene jabuke i to za obje sorte. Kako za pripremu soka nije bila odstranjena kora jabuka vrlo je zanimljivo primjetiti da je mehanički obrađena jabuka u oba slučaja grupirana između uzoraka snimljenih na površini i unutrašnjosti jabuka što na neki način ipak pokazuje kako su se ti uzorci sastojali od kore i unutrašnjosti. Iako su grupirani između uzoraka površine i unutrašnjosti vidljiv je mali pomak na desnu stranu tj. prema prvom faktoru koji je najvjerojatnije odgovoran u ovom slučaju za udio vode tj. soka u ispitivanim uzorcima.

Prilikom rezanja jabuka, pažljivo su odvojene koštice za svaku sortu te su i one snimljene NIR spektroskopijom. Cilj je bio ispitati mogućnost NIR-a za mogućnost ispitivanja sjemena različitih sorti te određivanja autentičnosti u svrhu kontrole kvalitete. Rezultati PCA analize koštica prikazani na slici 5.

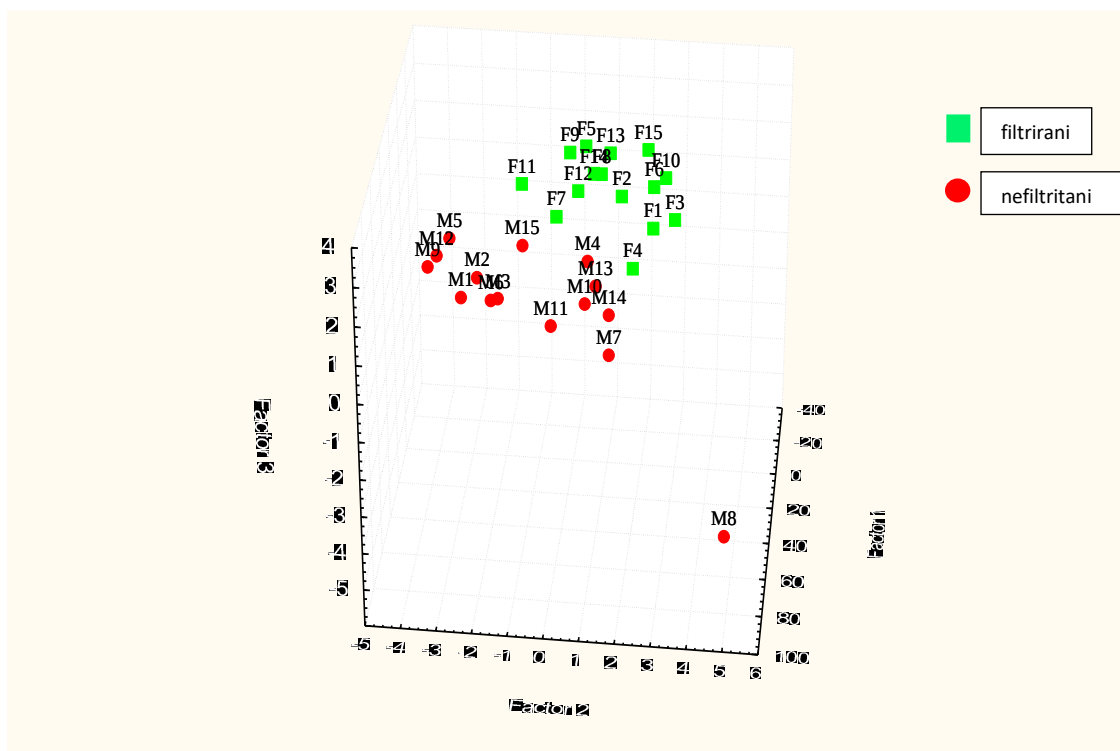


Slika 5. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora uzoraka koštica granny smith i idared jabuka

Dio dobivenog soka nakon mehaničke obrade bio je filtriran, te se ispitivalo mogućnost razlikovanja bistrog (filtriranog) i mutnog (nefiltriranog) soka. Dobiveni rezultati razdvajanja za sokove obje vrste jabuka prikazani su na slikama 6 i 7.



Slika 6. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora uzoraka filtriranog i nefiltriranog soka granny smith jabuka



Slika 7. 3D prikaz PCA analize prva tri faktora uzoraka filtriranog i nefiltriranog soka idared jabuka

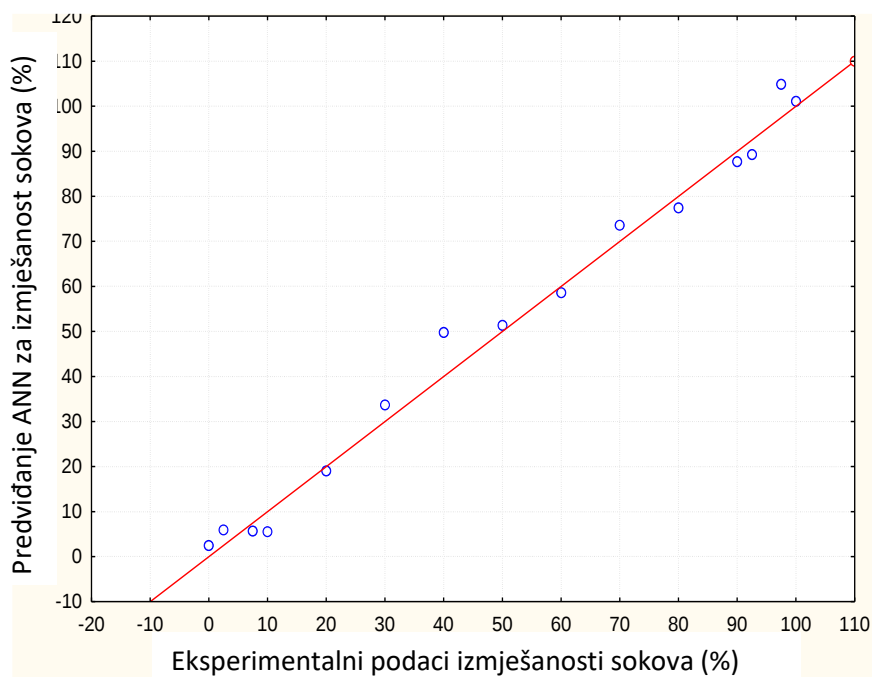
Puno bolje razdvajanje filtriranog i nefiltriranog soka vidljivo je na slici 6 za granny smith jabuke, dok izgleda zbog jednog uzorka (uzorak 8) nefiltriranog soka idared jabuka (slika 7) grupiranje uzoraka nije bilo tako dobro izraženo. Iako su uzorci prije svakog mjerenja bili vorteksirani moguće je da je u tom uzorku NIR spektar registrirao malo veći komadić jabuke koji je bio prisutan u nefiltriranom soku.

Na uzorcima bistrih sokova isprobana je kalibracija njihove izmješanosti u različitim volumnim omjerima odnosno u razmacima od 10 % (od 100 % soka granny smith jabuka do 100 % soka idared jabuka).

Prilikom ispitivanja kalibracija izmješanosti sokova korištene su umjetne neuronske mreže. To je provedeno odvajanjem podataka na učenje, testiranje i validaciju prema omjeru 70:20:10. Broj neurona u skrivenom sloju bio je postavljen na raspon od 3 do 8, a najbolja neuronska mreža je izabrana na osnovu R^2 vrijednosti te najmanje pogreške.

Kao ulazne varijable korišteno je prvih pet faktora dobivenih analizom glavnih komponenti koji su se pokazali odgovorni za 99,9% varijabilnosti u podacima, a izlaz je bio omjer sokova jabuka u rasponu od 0-100% (s podjelom svakih 10%).

Grafički prikaz kalibracije eksperimentalnih podataka i predviđanja umjetne neuronske mreže prikazan je na slici 8, a vrijednosti preciznosti učenja, testiranja i validacije za odabranu neuronsku mrežu prikazani su u tablici 4.



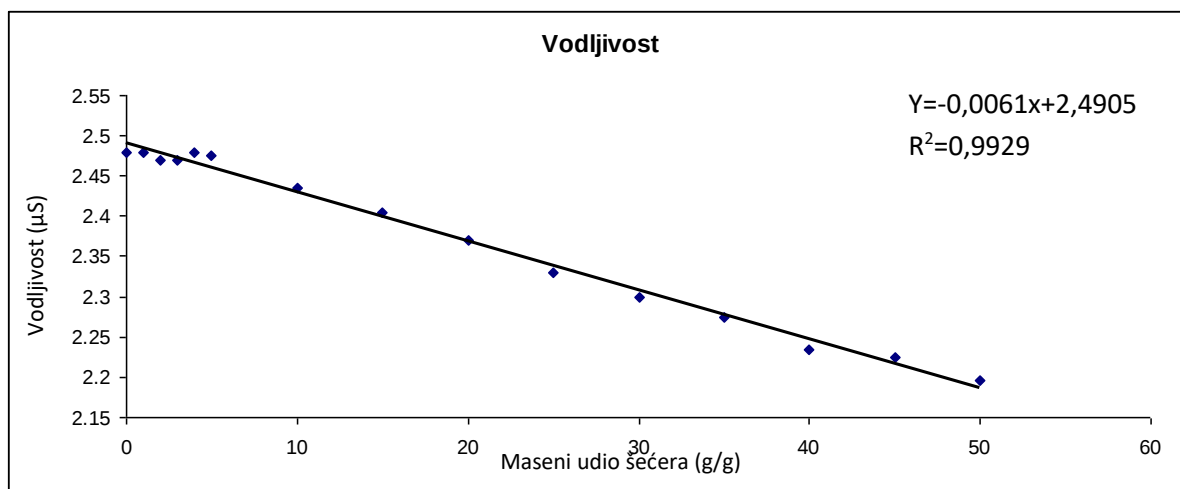
Slika 8. Prikaz kalibracije eksperimentalnih podataka i predviđanja umjetne neuronske mreže

Tablica 4. Karakteristike modela odabrane umjetne neuronske mreže (ANN) razvijene za predviđanje izmješnanosti bistrih sokova granny smith i idared jabuka

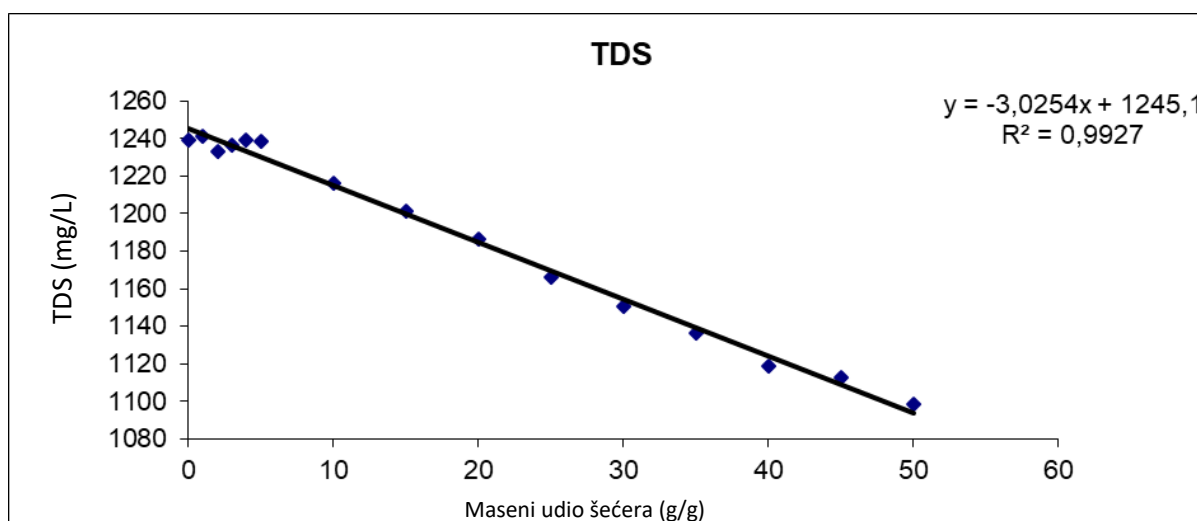
Naziv mreže	Preciznost učenja	Pogreška učenja	Preciznost testiranja	Pogreška testiranja	Preciznost validacije	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
5-4-1	0,9973	0,0045	0,9999	0,0012	0.9933	0,0018	Exponential	Exponential

Iz tablice 4 vidljivo je da je izabrana neuronska mreža naziva 5-4-1 što bi značilo da je neuronska mreža imala 5 ulaza (prvih pet faktora PCA analize), 4 neurona u skrivenom sloju i jedan izlaz (omjer izmješnanosti – volumnih koncentracija). Na temelju izabrane neuronske mreže za učenje, testiranje i validaciju sve vrijednosti R^2 iznose više od 0,99 što je rezultat izvrsnog slaganja eksperimentalnih podataka i neuronske mreže.

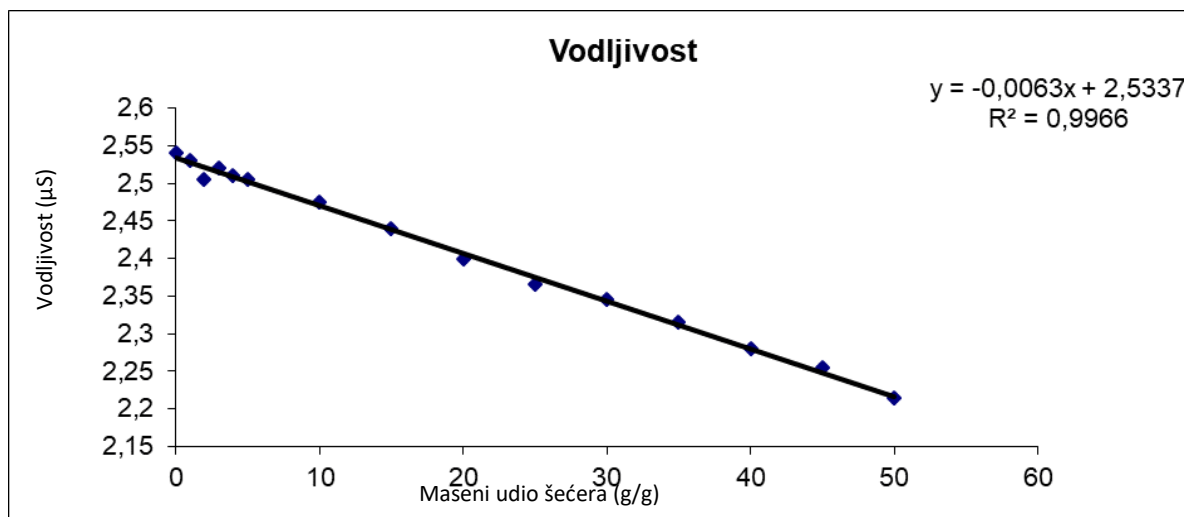
U uzorcima filtriranih sokova obje vrste jabuka nakon dodatka šećera različitih masenih omjera izmjerena je vodljivost i koncentracije ukupnih otopljenih čvrstih tvari (TDS). Rezultati su prikazani na slikama 9-12.



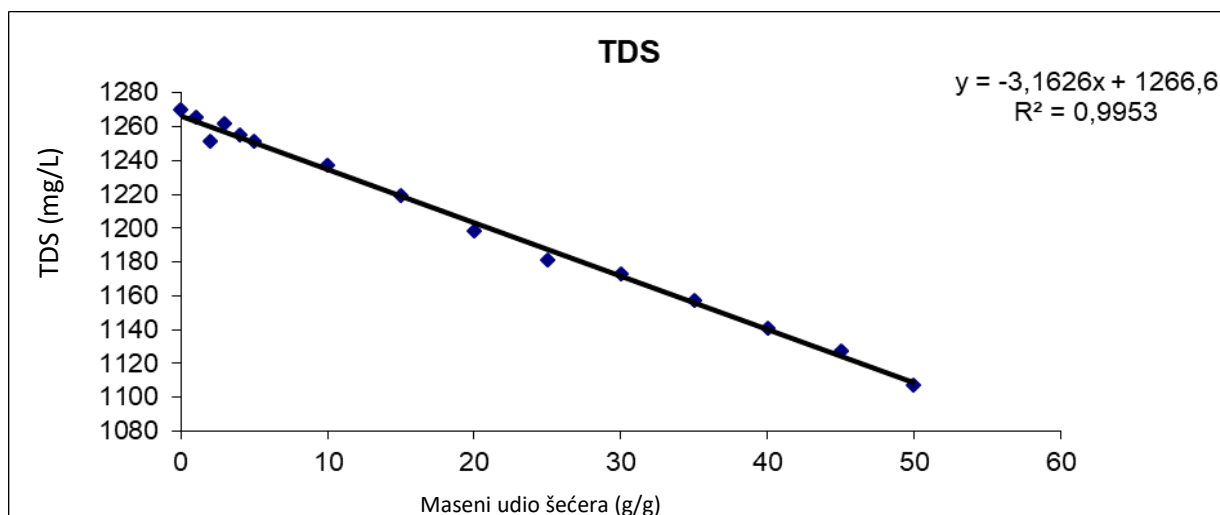
Slika 9. Električna vodljivost u uzorcima različitih koncentracija šećera u filtriranom soku granny smith jabuka



Slika 10. TDS u uzorcima različitih koncentracija šećera u filtriranom soku granny smith jabuka



Slika 11. Električna vodljivost u uzorcima različitih koncentracija šećera u filtriranom soku idared jabuka



Slika 12. TDS u uzorcima različitih koncentracija šećera u filtriranom soku granny smith jabuka

Na slici 9 i 11 prikazane su promjene vrijednosti električne vodljivosti u ovisnosti o promjeni masenog udjela šećera dodanog u filtrirane sokove. Već na prvi pogled je vidljivo kako uzorci prate isti trend, pad električne vodljivosti s povećanjem udjela dodanog šećera. Također vrijednost koeficijenta determinacije je prilično visoka za oba slučaja; $R^2=0,9634$ za sok od idared jabuka i $R^2=0,9926$ za sok granny smith jabuka. Može se reći da na temelju izmjerenih vrijednosti električna vodljivost vrlo dobro prati promjenu masenog udjela dodanog šećera u oba soka. Slični rezultati dobiveni su pri određivanju koncentracije ukupnih otopljenih čvrstih tvari. Na slikama 10 i 12 vidljiv je pad vrijednosti TDS s povećanjem masenog udjela šećera kao i u istim uzorcima pri određivanju električne vodljivosti.

Koeficijenti determinacije daju gotovo jednaku sliku o izmjerenim podacima kao i za slike 9 i 11, pa je i u ovom slučaju zavisnost vrlo visoka, što ima i smisla budući da se TDS i električna vodljivost često spominju zajedno zbog svoje velike povezanosti kada se radi o ovakvoj vrsti vodenih uzoraka.

Isti uzorci na kojima je ispitivana električna vodljivost i TDS snimljeni su s NIR instrumentom i na temelju prvih 5 faktora analize glavnih kompenenata ispitivane su umjetne neuronske mreže kako bi se vidjelo može li se NIR koristiti kao jedan od instrumenata za praćenje udjela šećera u sokovima. Kao izlaz neuronskih mreža korištene su maseni udjeli dodanih šećera u sokove. Podaci su kao i u slučaju kalibracije raspodjeljeni na učenje, testiranje i validaciju prema omjeru 70:20:10. Broj neurona u skrivenom sloju bio je postavljen na raspon od 3 do 8, a najbolja neuronska mreža je izabrana na osnovu R^2 vrijednosti te najmanje pogreške.

Tablica 5. Karakteristike modela odabranih umjetnih neuronskih mreža (ANN) razvijenih za predviđanje koncentracija šećera u filtriranim i nefiltriranim uzorcima sokova jabuka granny smith i idared

Naziv mreže	Preciznost učenja	Pogreška učenja	Preciznost testiranja	Pogreška testiranja	Preciznost validacije	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
Filtrirani sok (granny smith jabuke)								
5-6-1	0.9732	0.0045	0.9873	0.0179	0.9813	0.0004	Exponential	Exponential
Nefiltrirani sok (granny smith jabuke)								
5-7-1	0.9202	0.0106	0.9999	0.0106	0.9811	0.0249	Logistic	Identity
Filtrirani sok (idared jabuke)								
5-6-1	0.9836	0.0021	0.9920	0.0299	0.9820	0.0002	Exponential	Exponential
Nefiltrirani sok (idared jabuke)								
5-3-1	0.9600	0.0080	0.9428	0.0178	0.9738	0.0246	Tanh	Logistic

Iz podataka prikazanih u tablici 5 vidljivo je kako su vrijednosti R^2 za učenje, test i validaciju kod razvijenih ANN modela vrlo visoke i za sva 4 tipa uzoraka veće od 0,92 što ove modele čini prilično preciznim. Generalno gledano model se pokazao najuspješniji za uzorke filtriranog soka idared jabuka u koji je dodan šećer u različitim koncentracijama, a najslabije za nefiltrirani sok granny smith jabuka.

Za predviđanje masenog udjela šećera u filtriranom soku idared jabuka dobiveni su najbolji rezultati, s najvišim vrijednostima koeficijenta determinacije, koji za učenje iznosi 0,9836, za test 0,9920 i 0,9820 za validaciju. Za sve uzorke, po svim promatranim parametrima vrijednost R^2 za validaciju iznosi više od 0,97 što ove modele čini vrlo preciznim i generalno dobrim za predviđanje koncentracije šećera u sokovima na temelju podataka NIR spektara.

5 Zaključak

1. Zbog visoke osjetljivosti NIR spektroskopije bilo je moguće razlikovati dvije sorte jabuka (granny smith i idared) ne samo prema njihovoj površini već i prema košticama. Također moguće je razlikovati površinu od unutrašnjeg dijela i isto tako od mehanički obrađenih jabuka što bi se moglo iskoristiti prilikom praćenja kontrole kvalitete različitih načina obrada jabuka u prehrambenoj industriji.
2. Pomoću NIR spektroskopije moguće je razlikovati različite udjele sokova što je dosta bitno ukoliko se prilikom proizvodnje miješaju sokovi u različitim omjerima. Pomoću NIR spektroskopije moglo bi se na brz i neinvazivan način on-line pratiti omjer izmješanosti sokova.
3. Rezultati dobiveni mjerenjem električne vodljivosti i ukupnih otopljenih tvari pokazuju na mogućnost praćenja dodatka šećera u jabučne sokove, a isto tako NIR spektroskopija pokazala je da se primjenom umjetnih neuronskih mreža također može koristiti u tu svrhu.
4. Iako obrada podataka NIR spektroskopije zahtjeva poznavanje kemometrije kalibrirani sustav se može koristiti kao kontinuirani bez potrebne dodatne obrade podataka (primjer je u prehrambenoj industriji mjerenje vlage uzoraka na pokretnoj traci).

6 Popis literature

Abdi, H., Williams, L. J. (2010) Principal component analysis. Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics, 2(4), 433-459.

Anonymous 1 (2018) <http://www.volim-jabuke.com/sorte/granny-smith/> pristupljeno 6.8.2018.

Anonymous 2 (2018) <http://www.volim-jabuke.com/sorte/idared/> pristupljeno 7.8.2018.

Arvantoyannis, I.S., Chalhoub, C., Gotsiou, P., Lydakis-Simantiris, N., Kefalas, P. (2005) Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **45**: 193–203.

Baeten V. and Dardenne P. (2005). Applications of near-infrared imaging for monitoring agricultural food and feed products, In: Spectrochemical Analysis using Infrared Multichannel Detectors, R. Bhargava, I. W. Levin eds. Blackwell Publishing, str. 283–301.

Cozzolino, D., Smyth, H.E., Gishen, M. (2003) Feasibility study on the use of visible and near-infrared spectroscopy together with chemometrics to discriminate between commercial white wines of different varietal origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 7703.

Cozzolino, D. (2009) Near infrared spectroscopy in natural products analysis. *Planta Medica* **75**: 746–757.

Cozzolino, D. (2016) Near Infrared Spectroscopy and Food Authenticity Advances in Food Traceability Techniques and Technologies, Improving Quality Throughout the Food Chain, Woodhead Publishing Series in Food Science, *Technology and Nutrition*, 119-136.

Doua, Y., Zoub, T., Liuc, T., Qub, N., Renb, Y. (2007) Calibration in non-linear NIR spectroscopy using principal component artificial neural networks. *Spectrochimica Acta Part A* **68**: 1201–1206.

Downey, G. (2013) Vibrational spectroscopy in studies of food origin. U: Brereton, R.G., ur. New Analytical Approaches for Verifying the Origin of Food. Woodhead Publishing.

Huang, H., Yu, H., Xu, H., Ying, Y. (2008) Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. *Journal of Food Engineering* **87**: 303–313.

Jednačak T., Novak P. (2013) Procesne analitičke tehnike temeljene na vibracijskoj spektroskopiji in-line i primjena u industriji. *Kem. Ind.* **62** (3-4): 71–80.

Jednačak T. (2013) Razvoj metodologije vibracijske spektroskopije in-line za praćenje kemijskih reakcija i kristalizacije biološki aktivnih molekula. Doktorski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Karoui, R., Downey, G., Blecker, C. (2010) Mid-infrared spectroscopy coupled with chemometrics: a tool for the analysis of intact food systems and the exploration of their molecular structure–quality relationships – a review. *Chemical Reviews* **110**: 6144–6168.

Kradjel, C. (1991). An overview of near infrared spectroscopy: from an application's point of view. *Fresenius' journal of analytical chemistry* **339(2)**: 65-67.

Kremer, D., Krušić Tomaić, I. (2015) OD SJEMENKE DO PLODA - Vodič kroz svijet drveća i grmlja Nacionalnog parka Sjeverni Velebit

Manley, M. (2014) Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews* **43**: 8600.

McClure, W.F. (2003) Review: 204 years of near infrared technology: 1800–2003. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **11**: 487–518.

Naes, T., Isaksson, T., Fearn, T., Davies, T. (2002) A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification. NIR Publications, Chichester, UK.

Nicolai, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I., Lammertyn, J. (2007) Non-destructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. *Postharvest Biology and Technology* **46**: 99–118.

Oliveri, P., Di Egidio, V., Woodcock, T., Downey, G. (2011) Application of class-modelling techniques to near infrared data for food authentication purposes. *Food Chemistry* **125**: 1450–1456.

Ozaki, Y., Fred McClure, W., Alfred A. Christy, A. Near-infrared spectroscopy in food science and technology, John Wiley & Sons.

Rajčić K. (2015) Usporedba analize glavnih komponenti i faktorske analize, diplomski rad. Prirodoslovno-matematički fakultet, matematički odsjek. Sveučilište u Zagrebu.

Reid, L.M., O'Donnell, C.P., Downey, G., 2006. Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends in Food Science & Technology* **17**: 344–353.

Roggo, Y., Chalus, P., Maurer, L., Lema-Martinez, C., Edmond, A., Jent, N. (2007) A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **44**: 683–690.

Slaughter, D., C., Abbott, J., A. (2004) U: Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America.

Treado, P., J., Levin, I., W., Lewis, E., N. (1992) High fidelity Raman imaging spectroscopy: a rapid method using an acousto-optic tunable filter. *Appl Spectrosc* **46**: 1211–1216.

Tzouros, N.E., Arvantoyannis, I.S. (2001) Agricultural produces: synopsis of employed quality control methods for the authentication of foods and application of chemometrics for the classification of foods according to their variety or geographical origin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **41**: 287–319.

Weeranantanaphan, J., Downey, G., Allen, P., Da-Wen, S. (2011) A review of near infrared spectroscopy on muscle food analysis: 2005–2010. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **19**: 61–104.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in blue ink, reading "Viktor Šegvanović", is written over a horizontal line.

Ime i prezime studenta