

# Praćenje sadržaja vlage u instant multivitaminskim prahovima primjenom NIR spektroskopije i kemometrije

---

Morača, Nika

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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:159:000931>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-20**



Repository / Repozitorij:

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



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

**Nika Morača  
0058214998**

**PRAĆENJE SADRŽAJA VLAGE U INSTANT  
MULTIVITAMINSKIM PRAHOVIMA PRIMJENOM  
NIR SPEKTROSKOPIJE I KEMOMETRIJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet: Tehnologija prahova**

**Mentor: doc. dr. sc. Maja Benković**

**Zagreb, 2022.**

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

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

Zavod za procesno inženjerstvo  
Kabinet za osnove inženjerstva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Praćenje sadržaja vlage u instant multivitaminskim prahovima primjenom NIR spektroskopije  
i kemometrije**

**Nika Morača, 0058214998**

## **Sažetak:**

Multivitaminski prahovi su bitan izvor različitih vitamina za ljudski organizam zbog svoje praktičnosti, primamljivog izgleda i okusa. Time se omogućuje jednostavan unos vitamina koje organizam ne može sintetizirati i smanjuje se rizik od zdravstvenih problema prouzročenih manjkom vitamina. Cilj ovog završnog rada je ispitati fizikalna i kemijska svojstva takvih prahova pri različitim sadržajima vlage, simulirajući pritom uvjete pri kojima se prahovi skladište. Multivitaminski prahovi su kondicionirani na različite sadržaje vlage (1, 2, 3, 4, 6, 8 i 10 g/100 g) te im je određivan stvarni sadržaj vlage gravimetrijski, mjereno im je aktivitet vode, boja i snimani su im NIR spektri. Primjenom kemometrije [analize glavnih komponenata (PCA analiza) i modela parcijalnih najmanjih kvadrata (PLS modeli)] utvrđivana je povezanost sadržaja vlage s promatranim svojstvima. Utvrđeno je da povećanje sadržaja vlage u uzorcima značajno utječe na boju i aw uzoraka te dovodi do promjena u NIR spektrima koje se uspješno mogu analizirati primjenom kemometrije.

**Ključne riječi:** multivitaminski prah, vlaga, NIR spektroskopija, kemometrija, kolorimetrija

**Rad sadrži:** 26 stranica, 13 slika, 3 tablice, 21 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** doc. dr. sc. Maja Benković

**Datum obrane:** 8. srpnja, 2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Food Technology

Department of Process Engineering  
Section for Fundamental Engineering

Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Food Technology

### Monitoring of moisture content in instant multivitamin powders using NIR spectroscopy and chemometry

Nika Morača, 0058214498

#### Abstract:

Multivitamin powders are an important source of different types of vitamins for human body, as they are practical and have alluring appearance and taste. That allows easy intake of vitamins that can't be synthesized in the body and decreases the possibility of health problems caused by lack of vitamin intake. The goal of this work was to examine physical and chemical properties of multivitamin powders at different humidity levels, simulating the conditions in which powders are stored. Multivitamin powders were conditioned on different moisture contents (1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 g / 100 g) and their moisture content was determined gravimetrically, their water activity, color and NIR spectra were recorded. Using chemometrics [Partial Component Analysis (PCA) and Partial Least Squares models (PLS models)] the connection between moisture content and observed properties was determined. It was determined that increasing moisture content affects colour and water activity of samples. It also leads to changes in NIR spectra which can successfully be analyzed using chemometrics.

**Keywords:** multivitamin powder, moisture content, NIR spectroscopy, chemometrics, colorimetry

**Thesis contains:** 26 pages, 13 figures, 3 tables, 21 references

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** PhD. Maja Benković, Assistant Professor

**Thesis defended:** June 8, 2022.

# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. MULTIVITAMINSKI PRAHOVI</b> .....	<b>2</b>
2.1.1. VITAMIN B .....	2
2.1.2. VITAMIN C .....	3
2.1.3. VITAMIN E .....	3
<b>2.2. PROIZVODNJA MULTIVITAMINSKIH PRAHOVA</b> .....	<b>4</b>
<b>2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA I SKLADIŠTENJE MULTIVITAMINSKIH PRAHOVA</b> .....	<b>4</b>
2.3.1. UTJECAJ TEMPERATURE NA SVOJSTVA PRAHOVA .....	5
2.3.2. UTJECAJ VLAGE NA SVOJSTVA PRAHOVA .....	5
2.3.3. PAKIRANJE I SKLADIŠTENJE PRAHOVA .....	6
<b>2.4. BLISKO INFRACRVENA SPEKTROKOPIJA (NIR)</b> .....	<b>6</b>
2.4.1. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENTI (PCA).....	8
2.4.2. METODA PARCIJALNIH NAJMANJIH KVADRATA .....	8
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	<b>9</b>
3.1.1. UZORCI.....	9
3.1.2. REAGENSI I OTAPALA .....	9
3.1.3. APARATURA .....	9
3.1.4. PRIBOR.....	9
<b>3.2. METODE</b> .....	<b>10</b>
3.2.1. KONDICIONIRANJE MULTIVITAMINSKOG PRAHA .....	10
3.2.2. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE U UZORKU .....	10
3.2.3. ODREĐIVANJE AKTIVITETA VODE.....	10
3.2.4. KOLORIMETRIJSKA ANALIZA.....	11
3.2.5. SNIMANJE NIR SPEKTARA UZORAKA .....	11
3.2.6. KEMOMETRIJSKA OBRADA PODATAKA (PCA I PLS MODELI) .....	11
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	<b>12</b>
<b>4.1. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE U UZORKU</b> .....	<b>12</b>
<b>4.2. ANALIZA AKTIVITETA VODE</b> .....	<b>13</b>
<b>4.3. ODREĐIVANJE BOJE PRAHOVA</b> .....	<b>14</b>
<b>4.4. NIR SPEKTROKOPIJA</b> .....	<b>16</b>
<b>4.5. KEMOMETRIJSKA ANALIZA PODATAKA</b> .....	<b>17</b>
4.5.1. PCA.....	17
4.5.2. PLS MODELI .....	19
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>24</b>
<b>6. POPIS LITERATURE</b> .....	<b>25</b>

# 1. UVOD

Multivitaminski prahovi su bitan dodatak prehrani zbog svoje nutritivne vrijednosti, jednostavni su za pripremu prije konzumiranja i lako su dostupni. U današnje vrijeme, u kojem prevladava užurban način života, ljudi zapostavljaju hranu bogatu nutrijentima, a teže za hranom visoke energetske vrijednosti. Stoga, multivitaminski prahovi predstavljaju dobru alternativu za unošenje vitamina u organizam te potpuno ili djelomično nadoknađuju njihov nedostatak. Multivitaminski prahovi sadrže vitamine topljive u vodi, a ti se vitamini ne mogu sintetizirati u organizmu, nego se moraju unijeti u organizam putem prehrane. Manjak vitamina doveo bi do problema u zdravlju te postojanjem multivitaminskih prahova ljudima se nudi brz i efikasan način za unos vitamina.

Multivitaminski prahovi pri različitim udjelima vlage imaju drugačija fizikalna i kemijska svojstva. Simulacijom tih uvjeta u laboratoriju moguće je odrediti svojstva multivitaminskih prahova različite vlažnosti analitičkim metodama kao što su NIR spektroskopija, kolorimetrija i kemometrija. Blisko-infracrvena (NIR) spektroskopija je vrsta elektronske spektroskopije koja se koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu uzoraka pri valnim duljinama koje pripadaju blisko-infracrvenom dijelu spektra (800-2500 nm). Kolorimetrija je kemijska i fizikalno-kemijska analitička metoda korištena za mjerenje promjena boje u uzorcima. Kemometrija je zajednički naziv za metode analize koje pomoću statističke i matematičke logike objašnjavaju kemijska svojstva i reakcije (Brown i sur., 1994). Razvojem tehnologije i kompjuterskih softvera u današnje vrijeme omogućena je brza, precizna i lako dostupna kemometrijska analiza. Među kemometrijske metode između ostalih spadaju regresijska metoda najmanjih kvadrata (PLS), analiza glavnih komponenti (PCA), analiza neuronskih mreža (ANN), klaster analiza (CA) i slično.

Cilj ovog završnog rada je kondicioniranjem prahova na različite udjele vlage (1, 2, 3, 4, 6, 8 i 10 g/100 g) te mjerenjem stvarne vlage primjenom gravimetrije, aktiviteta vode, promjene boje te snimanjem NIR spektara utvrditi dolazi li do promjena fizikalnih svojstava u uzorcima s obzirom na sadržaj vlage te kako te promjene utječu na svojstva tih prahova.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. MULTIVITAMINSKI PRAHOVI**

Multivitaminski prahovi su često upotrebljavani kao suplementi prehrane zbog vitamina koje sadrže. Vitamini koji se nalaze u takvim prahovima su vitamini topljivi u vodi koje ljudski organizam ne može sintetizirati već ih mora unijeti putem hrane. Ti vitamini nisu slični po strukturi i funkciji, ali dijele to da su esencijalni za normalno funkcioniranje stanica, rast i razvoj. Manjak vitamina može uzrokovati zdravstvene probleme koji mogu biti lokalni, a mogu utjecati na cijeli organizam u obliku anemije, prestanka rasta kod djece, neuroloških bolesti i sl. (Bier i sur., 2015).

Također, postoji preporučena dnevna količina unosa vitamina koja u slučaju prekoračenja može dovesti do drugačijih zdravstvenih problema. Stoga u multivitaminskim prahovima nalaze količine svakog od vitamina u omjerima koji pri preporučenoj konzumaciji ne bi prekoračili dnevnu granicu (Said, 2015).

U grupu vitamina topljivih u vodi spadaju vitamini iz skupine B i vitamin C.

#### **2.1.1. VITAMIN B**

Vitamini iz skupine B jesu: tiamin (B<sub>1</sub>), riboflavin (B<sub>2</sub>), niacin(B<sub>3</sub>), pantotenska kiselina (B<sub>5</sub>), vitamin B<sub>6</sub>, folna kiselina (B<sub>9</sub>) te vitamin B<sub>12</sub>. Ti vitamini organizmu služe kao mikronutrijenti te pomažu pri različitim funkcijama organizma. Tiamin igra važnu ulogu u energijskom metabolizmu i smanjenju oksidativnog stresa stanica. Riboflavin u svojoj formi koenzima (riboflavin-5-fosfat i flavin adenzin dinukleotid) važan je u metabolizmu ugljikohidrata, masti i aminokiselina te u pretvaranju vitamina B<sub>6</sub> i folne kiseline u njihovu formu koenzima. Isto tako, u svojoj koenzimskoj formi, vitamin B<sub>12</sub> sudjeluje u metabolizmu aminokiselina i propionata. Folat je skupni naziv za folnu kiselinu i derivate koji djeluju kao koenzimi i pomažu pri sintezi timidina i purina. Niacin služi kao prekursor za koenzime NADH i NADPH, a pantotenska kiselina je potrebna za sintezu koenzima A koji su bitan dio metaboličkih reakcija organizma. Vitamin B<sub>6</sub> služi kao kofaktor u metabolizmu masti, proteina i ugljikohidrata (Said, 2015)

### 2.1.2. VITAMIN C

Reducirani oblik vitamina C je askorbinska kiselina koja ima antioksidativno djelovanje. Tim svojstvom održava enzime potrebne za metabolizam u njihovom reduciranom obliku koji je potreban za njihovu aktivnost te štiti željezo u organizmu od oksidacije. Osim toga, vitamin C pomaže u prevenciji oštećenja tkiva, sudjeluje u metabolizmu aminokiselina, bitan je za sintezu kolagena te sintezu karnitina koji je potreban za metabolizam masnih kiselina (Sauberlich, 1994).

Također, zbog svoje antioksidativne aktivnosti služi za regeneraciju vitamina E te se na taj način održava potrebna koncentracija vitamina E u organizmu. Vitamin C se ne može sam sintetizirati u ljudskom organizmu jer ljudi ne posjeduju enzim L-gulonolakton oksidazu te se u organizam unosi pretežno putem voća poput naranče, grejpa, jagoda, mango i povrća kao što su brokula, cvjetača i kupus. Manjak vitamina C smanjuje mogućnost zarastanja rana te poremaćaje u vezivnom tkivu, dok višak uzrokuje probavne smetnje i povećanje proizvodnje oksalata (Said, 2015).

### 2.1.3. VITAMIN E

Iako vitamin E nije vitamin topljiv u vodi, nalazi se u multivitaminском prahu korištenom u ovom radu zbog svojih nutritivnih vrijednosti. Vitamin E je u organizmu većinom pohranjen u obliku  $\alpha$ -tokoferola, a drugi oblici su mu  $\gamma$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokorienol i  $\gamma$ -tokotrienol. Bitan je za organizam zbog svoje antioksidativne aktivnosti, koja koristi protiv oksidativnog stresa i oksidansa formiranih u organizmu. Oksidativni stres uzrokovan je vanjskim faktorima poput alkohola i duhanskog dima, a oksidansi se formiraju u organizmu kao produkt energijskog metabolizma. Vitamin E hvata slobodne radikale te time sprječava lipidnu peroksidaciju koja je opasna za organizam jer oksidativno degradira lipide i dovodi do oštećenja stanica. Vitamin E nakon obavljanja tog procesa potrebno je regenerirati, a najčešći antioksidans koji to radi je vitamin C. Međutim, vitamin E pri pretjeranoj konzumaciji može dovesti do koagulacije krvi i hemoragije (Said, 2015).



## **2.2. PROIZVODNJA MULTIVITAMINSKIH PRAHOVA**

Zbog značaja vitamina za zdravlje, prije industrijske proizvodnje, vitamini su se ekstrahirali iz prirodnih proizvoda kao što su voće, povrće i meso. Podjelom vitamina na one topljive u masti i one topljive u vodi olakšana je njihova proizvodnja i ekstrakcija jer je uklonjen problem nestabilnosti i topljivosti spojeva nastalih tim procesima. Krenuli su se proizvoditi vitamini u formi praha te je takav način proizvodnje kroz godine napredovao. Zbog fizikalnih svojstava takvih prahova i miješanjem vitamina s drugim materijalima postala je moguća proizvodnja aglomerata, kapsula i drugih oblika vitaminskih prahova (Colombo i Gerber, 1991).

Aglomeracija je proces tijekom kojeg se manje čestice međusobno spajaju u veće, porozne čestice. U današnje vrijeme, aglomeracija se često koristi u proizvodnji prehrambenih prahova zbog mogućnosti dobre kontrole poroznosti i gustoće čestica te poželjnih rekonstitucijskih svojstava. Osim toga, aglomeriranje se usko povezuje s instantiranjem zbog svojstva brze rehidracije kao rezultata visoke poroznosti. Proces aglomeracije se može provoditi na nekoliko načina, a odabir operacije ovisi o fizikalnim i kemijskim svojstvima te početnoj veličini materijala koji se treba aglomerirati. U slučaju odabira operacije koja nije pogodna za obradu proizvoda, može doći do promjene nutritivnih svojstava proizvoda ili topljenja tijekom proizvodnje, ako je npr. temperatura faktor koji sprječava korištenje određene operacije. Glavna podjela vrsta aglomeracije jesu tri grupe: tlačna aglomeracija (tabletiranje); aglomeracija rastom (granulacija, peletiranje); aglomeracija sušenjem. Još jedna podjela je na suho i vlažno aglomeriranje, kojima je razlika koristi li se neko aglomeracijsko sredstvo pri procesu ili se proces odvija bez dodataka. Bitno je da nakon procesa aglomeracije proizvod ima dobra rekonstitucijska svojstva, dobra svojstva tečenja, da zadrži nutritivnu vrijednost materijala od kojeg je nastao te da je veličina aglomeriranih čestica u području između 0,1 mm i 3 mm (Danalakshmi i sur., 2011).

## **2.3. FIZIKALNA SVOJSTVA I SKLADIŠTENJE MULTIVITAMINSKIH PRAHOVA**

Fizikalna svojstva multivitaminskih prahova bitna su za njihovu proizvodnju jer dobrim poznavanjem proizvoda i materijala od kojeg proizvod nastaje pomaže pri odabiru prave metode obrade, uređaja, optimizira proces, smanjuje troškove. Neka od fizikalnih svojstava su rekonstitucijska svojstva kao npr. nasipna gustoća, poroznost, protočnost itd. Nasipna gustoća je jako bitno svojstvo prahova koje određuje način procesiranja, pakiranje, transport i

skladištenje. Predstavlja masu čestica koje zauzimaju volumen nekog prostora te u tu masu uključuje sve suhe i vlažne dijelove čestica te njihove pore. Poroznost je fizikalno svojstvo koje označava koliko je pora ostalo u čestici praha. Za aglomerate je poželjna što veća poroznost jer ih to čini bolje topljivima u vodi povećavajući dodirnu površinu između vode i aglomeriranih čestica praha. Svojstvo tečenja praha je svojstvo bitno za osmišljanje oblika uređaja, transportnih cijevi, pakiranja. Da bi mogao teći, prah mora propasti i njegova snaga mora biti manja od opterećenja koje se vrši nad njim. Osnovna svojstva koja opisuju takvo propadanje su: kut trenja stijenke; efektivni kut unutarnjeg trenja; funkcija loma; kohezija; krajnja vlačna čvrstoća (Barbosa-Canovas i sur., 2005).

Također, za proizvodnju i skladištenje prahova bitno je poznavati utjecaj okolišnih uvjeta poput temperature, vlage i svjetlosti.

### 2.3.1. UTJECAJ TEMPERATURE NA SVOJSTVA PRAHOVA

S obzirom da su aglomerati nepravilne strukture, pri porastu temperature, volumen slobodnih čestica raste te se događaju promjene u svojstvima praha. Molekule se slobodno kreću, nepravilno slažu te se struktura praha potpuno promjeni u stanje nazvano staklastim prijelazom. Najniža temperatura pri kojoj se to krene događati predstavlja temperaturu staklastog prijelaza. Takav prijelaz nije izoterman, već se fizikalne promjene događaju postepeno uz stabilan i kontinuiran porast temperature.

### 2.3.2. UTJECAJ VLAGE NA SVOJSTVA PRAHOVA

U proizvodnji aglomerirane hrane, kao što je već navedeno, mogu se koristiti sredstva za pospešivanje aglomeracije na bazi vode. Voda u principu ubrzava proces aglomeracije povećavajući adheziju među česticama te veze među česticama čini stabilnijima. Ako je udio vode u aglomeratu pre nizak, onda će se čestice odvajati zbog manjka sila adhezije. U suprotnom, ako je udio pre visok, aglomeratu će se smanjivati gustoća i viskoznost te će voda se početi nakupljati u slobodnom volumenu aglomerata. Također, i vlaga može prozrokovati staklasti prijelaz i ubrzati ga tako što se adsorpcijom vode u čestice aglomerata smanjuje se temperatura staklastog prijelaza (Palzer, 2009).

Vlaga može imati veliki utjecaj na prahove, pogotovo ako su prahovi osjetljivi na nju. Multivitaminski prahovi, s obzirom da su napravljeni od vitamina topljivih u vodi te šećera koji su higrofilni, spadaju među prahove osjetljive na vlagu. Promjene na prahu pod utjecajem vlage mogu se mjeriti ispitivanjem fizikalnih svojstava kao što su: promjena veličine čestica,

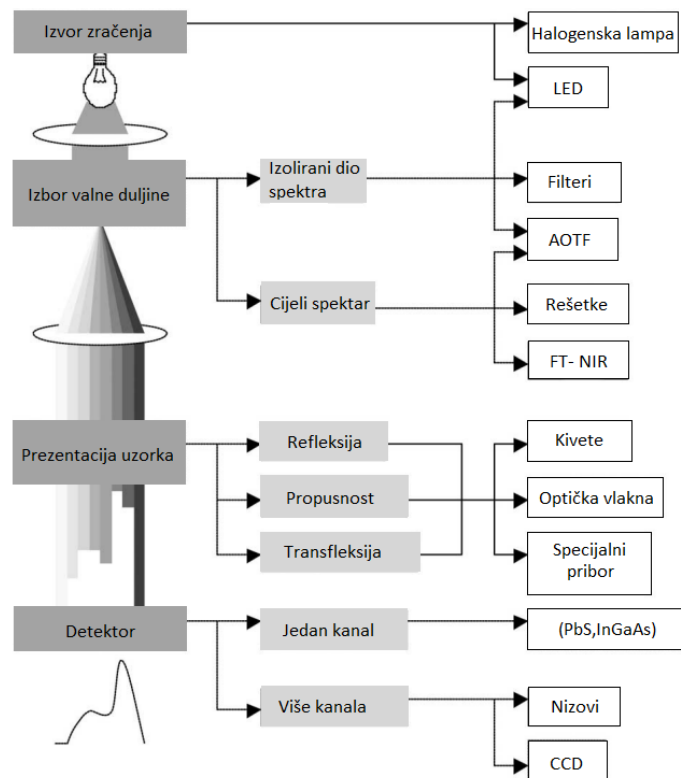
poroznost, nasipna gustoća, svojstvo tečenja, močivost (Mukherjee i Bhattacharya, 2005). Koliko vode aglomerirani prah može primiti prije nego što dođe do promjena njegovih svojstava, funkcija je aktiviteta vode tog praha. Aktivitet vode pri nekoj količini vlage ovisi o kemijskom sastavu praha te molekularnoj strukturi aglomerata (Palzer, 2009).

### 2.3.3. PAKIRANJE I SKLADIŠTENJE PRAHOVA

Pakiranje multivitaminskih prahova te njihovo skladištenje bitno je za održavanje svježine prahova. Pakiranja se vrlo često čine veća nego što bi trebala biti jer volumen koji prah zauzima je manji od volumena pakiranja. To se događa jer pri transportu prahova dolazi do trenja između aglomeriranih čestica te dovodi do njihovog usitnjavanja i popunjavanja volumena pakiranja koji je prije zauzimao zrak u porama aglomerata. Osim toga, pakirani proizvod treba držati što bolje zatvoren jer u kontaktu sa zrakom, u kojem ima vlage, dolazi do stvaranja većih aglomerata što je nepoželjno jer se time otežava rukovanje s prahom i dolazi do promjene fizikalnih i kemijskih svojstava praha (Barbosa-Cánovas i sur., 2005). Bitno je također i da je prah skladišten pri sobnoj temperaturi jer, kao što je već objašnjeno, visoke temperature mogu negativno utjecati na svojstva pakiranog praha.

## 2.4. BLISKO INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (NIR)

Blisko-infracrvena spektroskopija je vrsta elektronske spektroskopije koja se koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu uzoraka. U NIR području (800-2500 nm) apsorpcijski spektar nastaje preklapanjem osnovnih apsorpcijskih vrpci. Rezultat toga je nepravilna krivulja bez oštih skokova. Ta metoda je brza, nedestruktivna i neinvazivna te je za analizu potrebna minimalna ili nikakva priprema uzorka u malim količinama. Zbog brzine izvođenja i mogućnosti ponovne uporabe uzorka, NIR spektroskopija je često korištena metoda. Glavna prednost je mogućnost preciznog određivanja udjela neke komponente uzorka, npr. udio proteina u manje od minutu, dok bi postupak određivanja udjela proteina drugom metodom, kao što je Kjeldhal-ova metoda, iziskivao puno više vremena, kemikalija i aparature za određivanje istog. Uz to, uzorak se ošteti i ne može više koristiti. Iako se korištenjem NIR spektroskopije kao analitičke metode štede uzorci i kemikalije, što ju čini ekonomski isplativom metodom, treba uzeti u obzir da su početna ulaganja visoka. Također, da bi NIR spektroskopija davala precizne rezultate, potrebno je proći „fazu modeliranja“ u kojoj se izrađuju modeli pomoću metoda koje su same jako precizne i dobra referenca za određivanje putem NIR spektroskopije (Ferrari i sur., 2004; Pasquini, 2003).



**Slika 1.** Prikaz principa rada NIR spektroskopa (*prema* Blanco i sur., 2002)

Kao što je prikazano na slici 1, mjerenje NIR spektroskopom započinje od izvora zračenja kao što je halogena lampa ili LED svjetlo. Nakon toga se bira valna duljina pri kojoj će se analizirati uzorak te tu NIR spektroskopi dijelimo na dvije vrste – one koji snimaju sa kontinuirani spektar uzorka i one koji snimaju izoliranim dio spektra (samo određene valne duljine). NIR spektroskopi s izoliranim dijelom spektra su jednostavniji za koristiti jer ozračuju uzorak s malim brojem valnih duljina, ali su i selektivniji, tj. ne mogu se koristiti za sve vrste uzoraka. Takvi spektrometri najčešće koriste LED svjetlo kao izvor zračenja te su brzi za korištenje i čvrsti pa su stoga pogodni za prenošenje. Spektroskopi koji mogu koristiti cijeli spektar su fleksibilniji, odnosno nisu specifični samo za određene uzorke. Za detekciju uzorka koristi se sustav poluvodiča koji su u većini izvedbi poslagani u redove tako da bi se istovremeno uzorak mogao analizirati na što više valnih duljina, time smanjujući vrijeme trajanja analize (Blanco i sur., 2002).

Porastom količine vlage NIR spektar bi trebao imati veću apsorbanciju te bi svaka od krivulja trebala imati vidljiv pik pri valnoj duljini od ~1450 nm jer u tom području apsorbira voda. Takvi su rezultati vidljivi u istraživanju koje su proveli Christoph R. i sur. (2004) proučavajući utjecaj vlage na svojstva mlijeka u prahu. Takvi se podaci mogu dalje analizirati jer je NIR

spektroskop spojen na računalo koje prikuplja podatke o uzorku te prikuplja velike količine podataka sa samo jednim skeniranjem uzorka. Daljnja analiza provodi se pomoću različitih matematičkih i statističkih metoda uspoređujući sličnosti i različitosti NIR spektara različitih uzoraka, što je glavna zadaća kemometrije. Neke od metoda koje se koriste za obradu podataka iz spektra su modeli kao npr. ANN (umjetne neuronske mreže; eng. *Artificial Neuron Networks*), PCA (analiza glavnih komponenti; eng. *Principal Component Analysis*) i PLS (metoda najmanjih kvadrata, eng. *Partial Least Squares*) (Bokobza, 1998).

#### 2.4.1. ANALIZA GLAVNIH KOMPONENTI (PCA)

PCA analiza (analiza glavnih komponenti, eng. *Principal Component Analysis*) je multivarijatna statistička metoda koja se temelji na određivanju veze između pojedinih varijabli pri čemu grupira uzorke u glavne komponente te vizualizira njihov odnos, tj. jesu li te komponente slične ili različite. Rezultat PCA analize prikazuje se u PCA ravnini gdje su slični uzorci smješteni međusobno blizu, dok su različiti udaljeniji u ravnini (Valinger i sur., 2017).

Ciljevi PCA analize su dobivanje bitnih informacija (glavne komponente) iz velike količine podataka te time smanjivanje broja podataka i njihovo pojednostavljivanje; analiziranje sličnosti i različitosti uzoraka iz prikupljenih podataka. Iz glavnih komponenti se izračunavaju tzv. faktori (glavne komponente) za svaki uzorak, koji su kombinacije intenziteta neke od karakteristika uzorka koje su od važnosti za model. Ti se faktori zatim smještaju u jedan od četiri kvadranta PCA ravnine (Abdi i Williams, 2010).

#### 2.4.2. METODA PARCIJALNIH NAJMANJIH KVADRATA

PLS (eng. *Partial Least Squares*) je regresijska metoda korištena u analizi spektralnih podataka. Za dobivanje PLS modela potrebno je prethodno napraviti PCA analizu da bi se definirale glavne komponente. Zatim se provodi regresija određenih izmjerenih veličina s glavnim komponentama koji su u linearnoj ovisnosti. Ovaj model može aproksimirati vezu između izmjerenih veličina i glavnih komponenti u relativno malom području koje slijedi linearnost. PLS model se može koristiti i kada ne postoji linearna ovisnost, ali uzevši u obzir da se za računanje idalje koristi aproksimacija linearnosti te su zbog toga rezultati neprecizni i nepouzdati (Wold, 1992; Sjöström i sur., 1983).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

##### **3.1.1. UZORCI**

Multivitaminski prah okusa limuna (Pak Centar d.o.o., Sarajevo, Bosna i Hercegovina) kupljen je u trgovini živežnim namirnicama i skladišten u originalnom, neotvorenom pakiranju do kondicioniranja i daljnjih analiza.

##### **3.1.2. REAGENSI I OTAPALA**

- Destilirana voda

##### **3.1.3. APARATURA**

- analitička vaga (Sartorius TE214-S0CE, Sartorius AG, Goettingen, Njemačka)
- laboratorijska sušara (INKOlab ST60T, Zagreb, Hrvatska)
- eksikator (Normax, Marinha Grande, Portugal)
- $a_w$  metar (Rotronic AG, Bassersdorf, Švicarska)
- kolorimetar (PCE-CSM3, PCE Instruments, Njemačka)
- NIR spektrometar (Control Development inc., NIR-128-1.7- USB/6.25/50 $\mu$ m, South Bens, SAD)

##### **3.1.4. PRIBOR**

- boca za prskanje
- vakuum vrećice
- aluminijske posudice s poklopcem
- plastična posudica za mjerenje  $a_w$  metrom
- plastična posudica za mjerenje kolorimetrom i NIR spektrometrom

## 3.2. METODE

### 3.2.1. KONDICIONIRANJE MULTIVITAMINSKOG PRAHA

Uzorak multivitaminskog praha od 400 g važe se direktno iz svježe otvorenog pakiranja na analitičkoj vagi te se miješa s određenim količinama destilirane vode pomoću raspršivača. Pri miješanju potrebno je paziti da se voda ravnomjerno raspršuje te da se uzorak dobro homogenizira. Omjeri vode i multivitaminskog praha su: 0 (kontrolni uzorak); 2; 4; 6; 8 i 10 g/100g. Nakon što su prah i voda dobro izmiješani potrebno je izvagati po 100 g svakog uzorka te zapakirati u vakuum vrećice (4 paralele svakog od uzorka). Vakuum vrećice se potom zavare i pokriju aluminijskom folijom i stoje u mraku do daljnje analize.

### 3.2.2. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE U UZORKU

Na analitičkoj vagi potrebno je izvagati 3 g uzorka različite vlage na posudicu za sušenje. Za svaki od uzoraka provode se dva paralelna mjerenja. Sušenje se odvija tijekom 3 h pri temperaturi  $105 \pm 2$  °C u laboratorijskoj sušari.

Nakon sušenja uzorci se premiještaju u eksikator dok se ne ohlade do sobne temperature te se zatim važu. Iz dobivenih podataka potrebno je izračunati postotak vlage prema formuli [1]:

$$\% \text{ vlage} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100 \quad [1]$$

gdje je:

$m_1$  = masa prazne posudice za sušenje (g)

$m_2$  = masa posudice za sušenje i uzorka prije sušenja (g)

$m_3$  = masa posudice za sušenje i uzorka nakon sušenja (g)

### 3.2.3. ODREĐIVANJE AKTIVITETA VODE

Analiza aktiviteta vode u uzorcima provodi se pomoću  $a_w$  metra. Uzorak se stavi u prikladnu plastičnu posudicu koju je potrebno napuniti do otprilike jedne trećine te se ta plastična posudica stavi u komoru za mjerenje, poklopi se i pokrene se  $a_w$  metar. Kada je mjerenje završeno  $a_w$  metar će proizvesti zvučni signal. U tom trenutku potrebno je očitati temperature i vrijednost aktiviteta vode. Mjerenje se ponavlja po 2 puta za svaki od uzorka različite vlažnosti pri temperaturi od 21 °C.

### 3.2.4. KOLORIMETRIJSKA ANALIZA

Boja prahova određuje se pomoću kolorimetra uz prethodnu kalibraciju na bijelu ploču. Za svaki uzorak se provode 3 paralelna mjerenja te se zabilježava 5 parametara boje (Hunterove koordinate boje):

$L^*$  vrijednost – svjetlost; svijetlo ( $L^*=100$ ) / tamno ( $L^*=0$ ),

$a^*$  vrijednost – raspon od zelene do crvene boje; zeleno ( $-a^*$ ) / crveno ( $+a^*$ ),

$b^*$  vrijednost – raspon od plave do žute boje; plavo ( $-b^*$ ) / žuto ( $+b^*$ ),

$C^*$  vrijednost – zasićenje boje,

$h^*$  vrijednost – ton (kut) boje.

Za opisivanje promjerne boje određuje se ukupna promjena boje ( $\Delta E^*$ ) iz izmjerenih vrijednosti  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  koristeći jednadžbu [2] (Valinger i sur., 2021):

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2} \quad [2]$$

gdje se vrijednosti s indeksom 0 ( $L_0$ ,  $a_0$ ,  $b_0$ ) odnose na kontrolni uzorak koji nije kondicioniran, a kondicionirani uzorci su označeni s eksponentom \* ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ).

### 3.2.5. SNIMANJE NIR SPEKTARA UZORAKA

Postupak snimanja provodi se tako da se uzorak prenese u plitku posudicu i poravna na vrhu da bi vanjska svjetlost što manje smetala pri mjerenjima. Uzorci se snimaju sondom za krute uzorke upotrebom NIR spektrometra raspona valnih duljina 904 - 1699 nm. Sonda se prisloni na površinu uzorka, pokrene se snimanje spektra preko računala na kojem je instaliran prikladni software (Control Development software Spec32, NIR-128-1.7-USB/6.25/50 $\mu$ m) spektrometra te se spektar spremi u obliku data file-a. Ti file-ovi se prebacuju u Microsoft Office Excel (.xls format) te se s tim podacima provodi daljnja analiza.

### 3.2.6. KEMOMETRIJSKA OBRADA PODATAKA (PCA I PLS MODELI)

PCA analiza provodi se u programskom paketu Unscrambler v. 10 (Camo software, Oslo, Norveška) iz podataka dobivenih NIR spektroskopijom. PLS modeli omogućuju procjenu utjecaja vlage na svojstva prahova. Za dobivanje tih podataka potrebni su NIR spektri kao prediktori te vrijednosti boje, aktiviteta vode, stvarne i teorijske vlage kao izlazne varijable. Analiza se provodi upotrebom softverskog paketa Unscrambler (Camo software, Oslo, Norveška) te se podaci procjenjuju pomoću dobivenih vrijednosti koeficijenata determinacije, standardne pogreške i srednje kvadratne pogreške (Root Mean Square Error – RMSE).



## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE U UZORKU

Tablica 1. Rezultati gravimetrijske analize stvarnog sadržaja vlage u uzorku

UZORAK(g)	PROSJEČNA KOLIČINA VLAGE (%)
kontrolni uzorak(0)	0,798 ± 0,002
1	1,651 ± 0,044
2	3,551 ± 0,066
3	4,013 ± 0,012
4	4,556 ± 0,106
6	6,051 ± 0,058
8	7,300 ± 0,153
10	5,625 ± 0,009
10 (72 h)	7,921 ± 0,188

Prema rezultatima prikazanim u tablici 1 vidljivo je da prosječna količina vlage raste prema količini dodane destilirane vode u uzorcima. Vidi se da je u kontrolnom uzorku količina vlage veća od 0 % odmah nakon uzimanja uzorka iz originalne ambalaže iako nije dodavana voda, što znači da sam proizvod nakon kupovine sadrži 0,798 % vlage, što je uobičajeno za uzorke multivitaminskih prahova. Također, u uzorcima od 1 g – 4 g je vlaga veća od dodane, što može biti rezultat apsorpcije dodatne vlage iz okoline ili pak neravnomjerne raspodjele vlage u uzorku tijekom kondicioniranja. Vlaga u uzorku sa 6 g dodane vode iznosi 6,051 %, što je približno jednako deklariranoj vrijednosti, a u uzorku s 8 g dodane vode je neznatno manja (7,300 %). U uzorku s 10 g dodane vode došlo je do otapanja praha i pretvaranja u gustu masu. Naime, iz literaturnih je podataka poznato da prahovi koji sadrže velike količine šećera, kao što je slučaj sa multivitaminskim prahom (92 g šećera/100 g proizvoda), pri određenim uvjetima temperature i vlage prelaze u staklasto stanje (tzv. staklasti prijelaz) (Adhikari i sur., 2005). Pri tom se na površini praha stvara kruta opna koja ne dozvoljava daljnje isparavanje vode te je takvim prahovima određivanje vlage potrebno provesti pri temperaturama nižim od temperature staklastog prijelaza i kroz duže vrijeme. Prema literaturnim podacima, čim je viši sadržaj vlage u uzorcima, time je i temperatura staklastog prijelaza niža (Ozmen i Langrish, 2002). Upravo je to bio slučaj sa uzorkom kojem je dodano 10 g vode, koji je bilo potrebno sušiti 72 h pri temperaturi od 50 °C kako bi mu se mogao odrediti sadržaj vlage koji je bliže teorijskom. Konačan sadržaj vlage izmjeren u tom uzorku iznosio je 7,921 %.

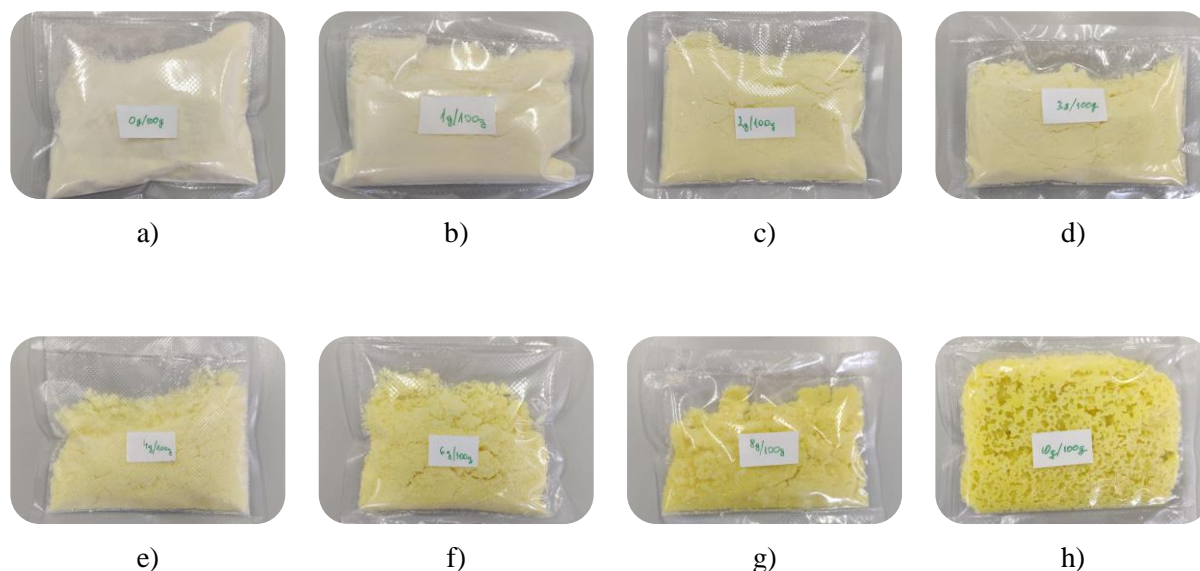
## 4.2. ANALIZA AKTIVITETA VODE

**Tablica 2.** Rezultati mjerenja aktiviteta vode

UZORAK (g)	AKTIVITET VODE
kontrolni uzorak (0)	0,435 ± 0,00495
1	0,606 ± 0,00000
2	0,643 ± 0,00212
3	0,664 ± 0,00707
4	0,710 ± 0,00141
6	0,762 ± 0,00000
8	0,789 ± 0,00141
10	0,791 ± 0,00424

Prema rezultatima analize aktiviteta vode prikazanim u tablici 2 može se primijetiti porast aktiviteta vode s obzirom na povećanje količine vlage u uzorcima, s time da je najniži aaktivitet vode bio izmjeren kontrolnom uzorku (0,435), a najviši uzorku s najvećom količinom dodane vode (0,791). Trend porasta vrijednosti aktiviteta vode s porastom količine dodane vlage u uzorke primijećen je i u radu autora Rhim i Hong (2011) koji su istraživali utjecaj aktiviteta vode i temperature na boju praha crvene paprike. Također, prema literaturnim podacima, vrijednost aktiviteta vode iznad 0,6 smatra se vrijednošću kod koje postoji mogućnost mikrobnog kvarenja uzoraka te je vrijednosti aktiviteta vode gdje je god moguće potrebno držati ispod te razine. Vrijednost aktiviteta vode kod prahova uglavnom su male i kreću se u rasponu od 0,2 do 0,5, što je i slučaj s kontrolnim uzorkom korištenim u ovom istraživanju. Također, korištenom multivitaminskom prahu moguće je dodati maksimalno 1 g vode da bi mu se mogla garantirati mikrobiološka stabilnost (Adams i Moss, 2008).

### 4.3. ODREĐIVANJE BOJE PRAHOVA



**Slika 2.** Makroskopski prikaz multivitaminskih prahova s različitim sadržajima vlage;  
a) 0 g/100 g; b) 1 g/100 g; c) 2 g/100 g; d) 3 g/100 g; e) 4 g/100 g; f) 6 g/100 g; g) 8 g/100 g;  
h) 10 g/100 g

Promjena boje prahova vidljiva je na makroskopskoj razini kao što se može primijetiti na slici 2. Na slici 2a prikazan je kontrolni uzorak, tj. multivitaminski prah iz pakiranja te je blijedo žute boje, čestice praha su međusobno razdvojene. Nadalje, na uzorcima prikazanim na slikama 2b – 2d raste intenzitet boje, dok su čestice praha i dalje razdvojene, ali formirale su veće aglomerate. Na uzorcima prikazanim na slikama 2e, 2f i 2g vidljiva je znatnija promjena u boji, a struktura je sve manje praškasta tj. aglomerati su sve veći. Uzorak na slici 2h je uzorak s najvećim udjelom vlage što se može vidjeti po promjeni boje u žarko žutu i strukturi. Struktura navedenog uzorka više nije praškasta, već je slična gustoj gumenoj masi.

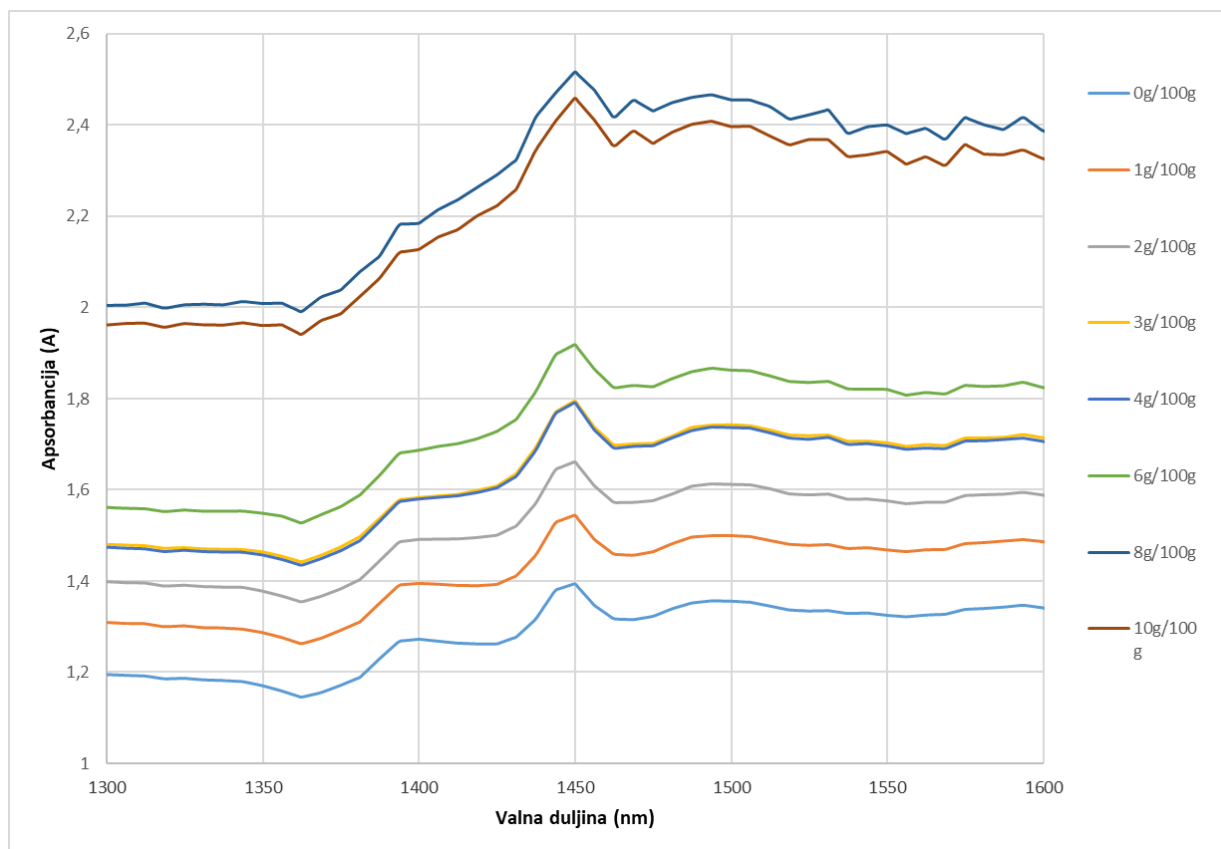
Pored subjektivne analize promjene boje iz makroskopskih fotografija uzoraka, promjena boje određivana je i pomoću kolorimetra. Rezultati su prikazani u tablici 3.

**Tablica 3.** Ukupna promjena boje u uzorcima

UZORAK (g)	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	$\Delta E$
<b>0</b>	94,500 ±	0,47 ±	16,603 ±	16,616 ±	88,400 ±	0,000 ±
	0,754	0,124	0,665	0,671	0,365	0,000
<b>1</b>	90,583 ±	0,47 ±	19,67 ±	19,68 ±	88,75 ±	5,838 ±
	4,933	0,909	1,615	1,641	2,457	4,818
<b>2</b>	92,347 ±	-0,86 ±	25,95 ±	25,96 ±	91,90 ±	10,344 ±
	0,290	0,070	0,459	0,459	0,459	0,527
<b>3</b>	91,053 ±	-1,30 ±	29,61 ±	29,64 ±	92,51 ±	14,147 ±
	0,457	0,065	0,852	0,842	0,841	0,922
<b>4</b>	89,910 ±	-1,73 ±	32,42 ±	32,46 ±	93,06 ±	17,197 ±
	0,917	0,186	0,766	0,768	0,768	1,000
<b>6</b>	84,893 ±	-1,35 ±	37,75 ±	37,78 ±	91,97 ±	24,009 ±
	2,350	0,431	1,201	1,208	1,208	0,346
<b>8</b>	82,680 ±	-1,36 ±	42,79 ±	42,81 ±	91,82 ±	29,417 ±
	0,895	0,210	0,721	0,721	0,721	0,359
<b>10</b>	80,200 ±	-0,99 ±	44,09 ±	44,10 ±	91,30 ±	31,669 ±
	1,324	0,457	1,018	1,028	1,017	0,908

Prema tablici 3, koja prikazuje rezultate kolorimetrijske analize, vidi se da su prema parametru  $L^*$  uzorci svjetliji ako imaju manje vlage te što uzorci imaju više vlage parametar  $L^*$  se smanjuje tj. uzorak postaje tamniji. Parametar  $a^*$ , koji označava raspon od zelene do crvene boje, za uzorke s malom količinom vlage označava da su na tom spektru bliže zelenoj boji, a uzorci veće količine vlage nalaze se bliže crvenoj boji. Uzorak s 4 g dodane vode je uzorak koji je najbliži zelenoj boji, te uzorci s većom količinom vlage prikazuju manje vrijednosti. Parametar  $b^*$  prikazuje raspon između plave i žute boje. Svi su uzorci bliže žutoj boji te intenzitet raste s obzirom na povećanje vlage u uzorcima, a to je vidljivo i u makroskopskom prikazu. Također, zasićenje tih boja (parametar  $C^*$ ) raste s porastom količine vlage u uzorcima, kao i ton boje (parametar  $h^*$ ).  $\Delta E$  izračunat je prema gore navedenoj jednadžbi [2] koji označava ukupnu promjenu boje. Vrijednost promjene boje raste čim je uzorku dodano više vlage, točnije, ti uzorci su tamniji i s izraženim promjenama u svim drugim određivanim parametrima boje.

#### 4.4. NIR SPEKTROSKOPIJA



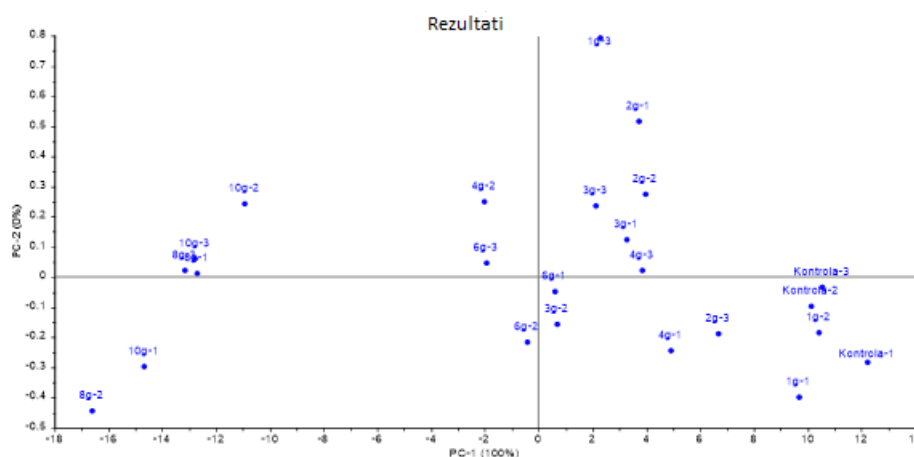
**Slika 3.** Prikaz sirovih NIR spektara uzoraka različite količine vlage

Prema grafu prikazanom na slici 3, vidljivo je da svi uzorci prate istu krivulju, ali različita im je apsorbancija. Na krivuljama se vidi pik na valnoj duljini ~1450 nm te je taj jači signal oznaka sadržaja vode koja na tom dijelu spektra najbolje apsorbira svjetlost. Od te valne duljine do 1600 nm vidi se najveća razlika među uzorcima jer to područje predstavlja promjene nastale s povećanjem količine vlage u uzorku.

Uzorci s 8 g i 10 g vlage na 100 g uzorka imaju znatno veću apsorbanciju od ostalih uzoraka zbog svoje razlike u svojstvima do kojih je došlo zbog staklastog prijelaza uzrokovanog kombinacijom količine šećera i vlage u navedenim uzorcima. Razlika između uzoraka dalje su analizirane primjenom kemometrije.

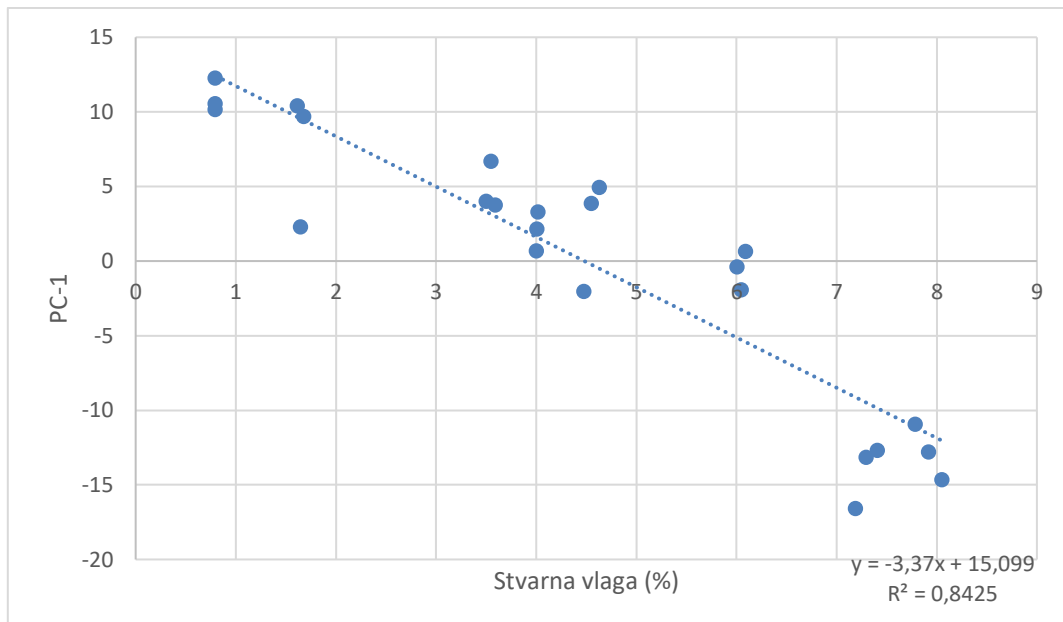
## 4.5. KEMOMETRIJSKA ANALIZA PODATAKA

### 4.5.1. PCA



**Slika 4.** PCA graf s podacima dobivenim NIR spektroskopijom

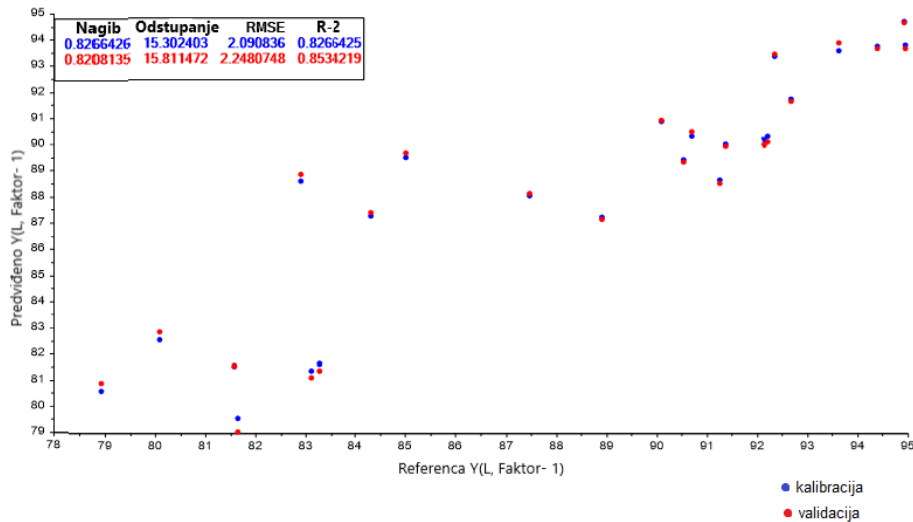
Pomoću podataka dobivenih NIR spektroskopijom provedena je PCA analiza. Rezultati analize prikazani su u grafu s četiri kvadranta gdje su uzorci grupirani po sličnosti. Prema slici 4 može se vidjeti da najveća odstupanja imaju uzorci od 8 i 10 g koji su na grafu smješteni daleko od ostalih uzoraka, ali međusobno blizu što pokazuje njihovu sličnost. Ostali uzorci su grupirani blizu što pokazuje da su sličniji, međutim neke vrijednosti paralelnih mjerenja kao 1 g-3 i 2 g-1 znatnije odstupaju od ostalih uzoraka. To se moglo dogoditi zbog osjetljivosti sonde na NIR spektrometru ako uzorak koji je mjeren nije bio ravnomjerno raspoređen po posudici te je vanjska svjetlost ometala snimanje. Temeljem provedene PCA analize, uzorcima je pridružen prvi faktor koji je bio odgovoran za objašnjenje gotovo 100 % različitosti među uzorcima. Kako bi se potvrdilo da je PC-1 povezan s vlagom u uzorcima, vrijednosti PC-1 faktora prikazane su u međusobnoj ovisnosti o sadržaju vlage u uzorku. Prikaz je vidljiv na slici 5.



**Slika 5.** Ovisnost faktora PC-1 o stvarnoj vlazi uzorka

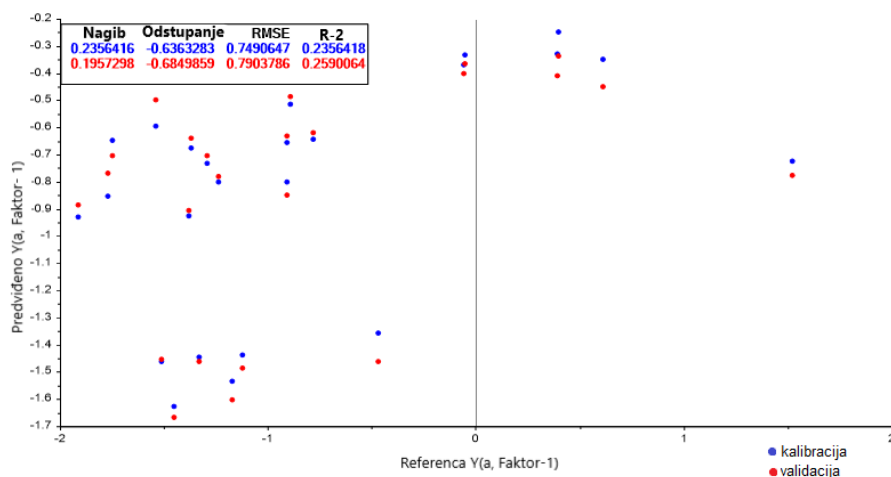
PC-1 faktor je jedan od faktora PCA analize te je na slici 5 prikazana ovisnost tog faktora o stvarnoj vlazi uzorka. Na prikazu se vidi da je ovisnost linearna, što potvrđuje da su uzorci u PCA ravnini (slika 4) grupirani prema sadržaju vlage. Vrijednost  $R^2$  za dobivenu linearnu korelaciju prvog faktora i sadržaja vlage iznosi 0,8425, što se, prema literaturnim podacima, smatra jakom vezom te otvara mogućnost korištenja NIR spektroskopije za kvalitativno, ali i kvantitativno određivanje vlage u uzorcima multivitaminskih prahova (Janči i sur., 2017). Veća odstupanja od linearnosti su, jednako kao u prikazu u četiri kvadranta, rezultat ometanja NIR snimanja vanjskom svjetlosti.

#### 4.5.2. PLS MODELI



Slika 6. PLS model s izlaznom varijablom  $L^*$

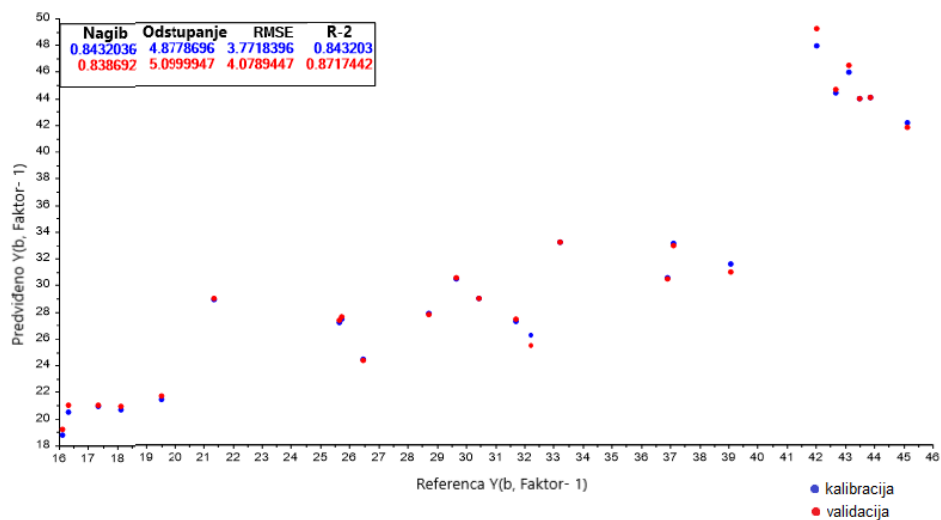
PLS model prikazan na slici 6 kao izlaznu varijablu koristi parametar  $L^*$ , odnosno svjetlinu uzorka dobivenu kolorimetrijskim mjerenjem. Prema grafu se vidi da se točke kalibracije i validacije dobro poklapaju te se to vidi i prema podacima za  $R^2$  koji je uvijek u rasponu između 1 i 100 % te opisuje kolika je varijacija u vrijednostima korištenim za pravljenje modela. Što je  $R^2$  veći, znači da je bolja predikcija PLS modelima. I za kalibraciju (0,8266425) i validaciju (0,8534219) je ta vrijednost visoka i iz toga se vidi da se parametar  $L^*$  može dobro predvidjeti PLS modelima.



Slika 7. PLS model s izlaznom varijablom  $a^*$

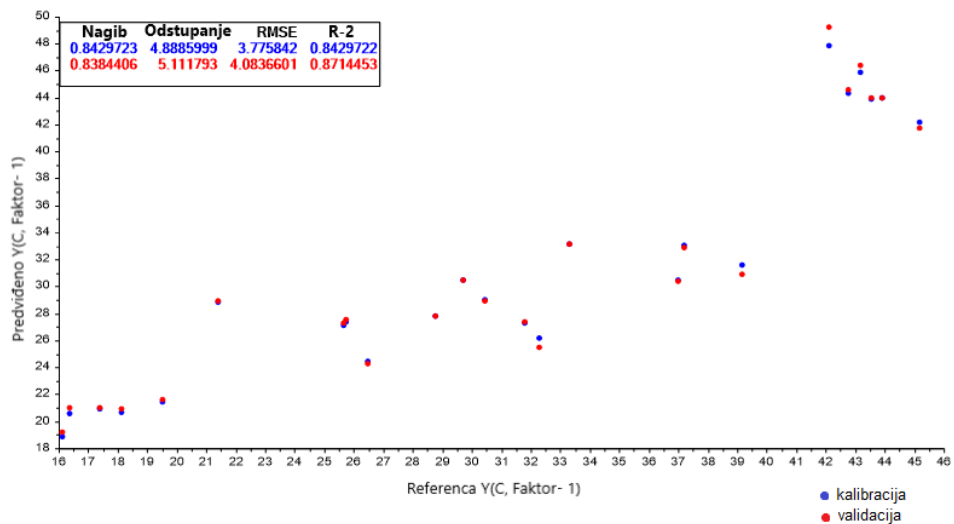


Slika 7 prikazuje PLS model s izlaznom varijablom  $a^*$ , kolorimetrijski dobivenim parametrom koji obilježava raspon između zelene i crvene boje. Prema vrijednostima  $R^2$  koja za kalibraciju iznosi 0,2356418, a za validaciju iznosi 0,2590064 vidi se da se parametar  $a^*$  ne može dobro predvidjeti PLS modelom.



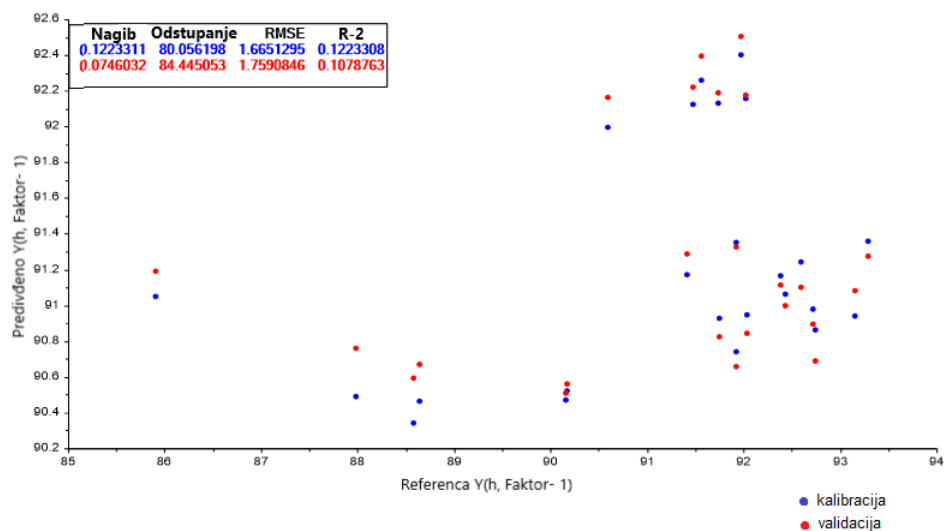
**Slika 8.** PLS model s izlaznom varijablom  $b^*$

PLS model s izlaznom varijablom  $b^*$ , koja označava raspon između žute i plave boje, prikazan je na slici 8. Vrijednosti  $R^2$  su visoke – za kalibraciju iznosi 0,843203, a validaciju iznosi 0,8717442 što znači da se taj parametar može predvidjeti PLS modelom.



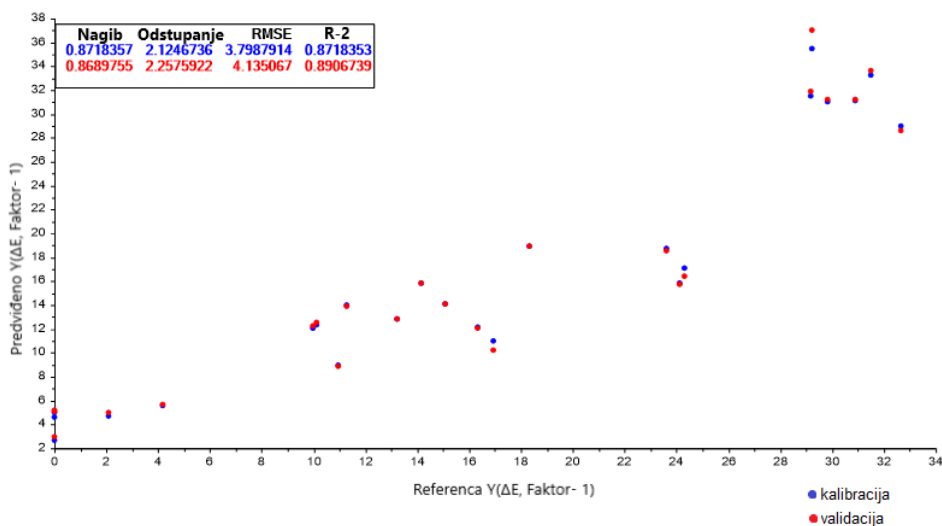
**Slika 9.** PLS model s izlaznom varijablom  $C^*$

Slikom 9 prikazan je PLS model s izlaznom varijablom  $C^*$ . Varijabla  $C^*$  je također dobivena kolorimetrijski, označava zasićenje uzorka.  $R^2$  vrijednost za kalibraciju iznosi 0,8429722, a za validaciju 0,8714453 što su dosta visoke vrijednosti, znači da je PLS model dosta dobar za predviđanje zasićenja.



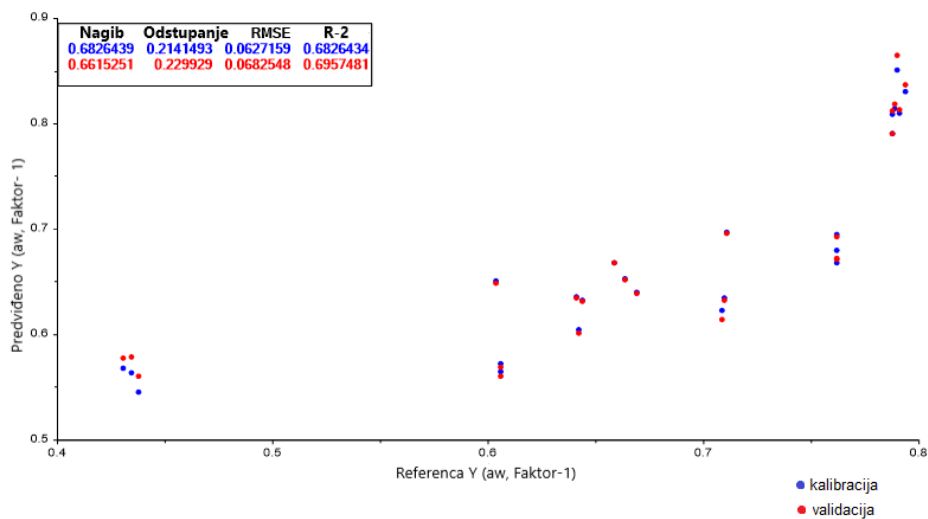
Slika 10. PLS model s izlaznom varijablom  $h^*$

Na slici 10 prikazan je PLS model s izlaznom varijablom  $h^*$ , tonom boje uzorka dobivenog kolorimetrijskom analizom. Vrijednosti  $R^2$  za kalibraciju (0,223308) i validaciju (0,1078763) su jako niske što znači da se PLS modelom dobivaju jako neprecizne predikcije za ton boje.



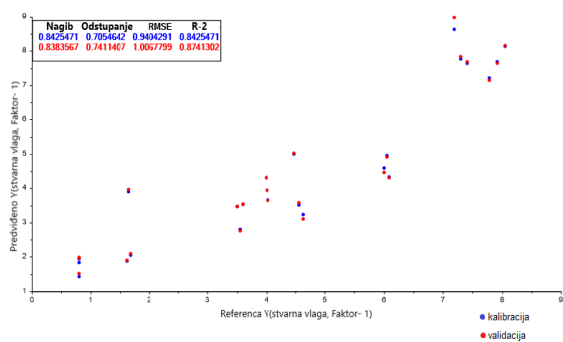
Slika 11. PLS model s izlaznom varijablom  $\Delta E$

PLS model s izlaznom varijablom  $\Delta E$  prikazan je na slici 11.  $\Delta E$  predstavlja ukupnu vrijednost promjene boje između uzoraka. Prema vrijednostima  $R^2$  koje iznose: za kalibraciju 0,8718353, za validaciju 0,8906793 vidi se da se ukupna promjena boje može dobro predvidjeti PLS modelom.

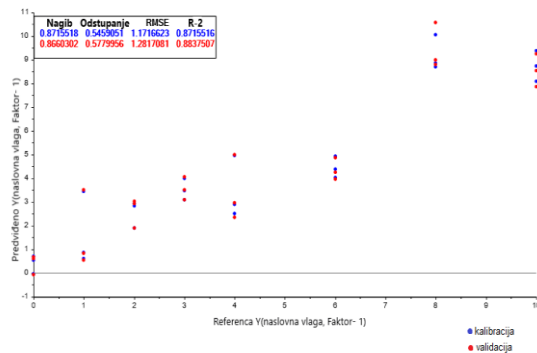


**Slika 12.** PLS model s izlaznom varijablom aktivitet vode ( $a_w$ )

Na slici 12 prikazan je PLS model s izlaznom varijablom aktivitet vodena kojoj su također plavom bojom označeni prediktori (NIR spektri), a crvenom bojom su označene vrijednosti dobivene analizom aktiviteta vode. Na slici se može vidjeti da se plave i crvene vrijednosti ovisno o području preklapaju, odnosno ne preklapaju. To govori da pri nižim vrijednostima aktiviteta vode predviđanja pomoću NIR spektroskopije nisu precizna, dok se uzorci s višim vrijednostima aktiviteta vode gotovo potpuno preklapaju s predviđanjima NIR spektroskopijom.



a)



b)

**Slika 13.** PLS modeli s izlaznim varijablama a) stvarne vlage; b) naslovne vlage

Prema slici 13 na PLS modelima se može vidjeti da se i stvarna (slika 13a) i naslovna vlaga (slika 13b) mogu dobro predvidjeti pomoću NIR spektara, s vrijednostima  $R^2$  u rasponu od 0,84 - 0,87 za predikcijski model te 0,87- 0,88 za kalibracijski model. Slične rezultate za predviđanje vlage u uzorcima prahova dobili su i Nagarajan i sur. (2006) za predviđanje sadržaja vlage u mlijeku u prahu primjenom NIR spektroskopije.

## 5. ZAKLJUČCI

1. Mjerenjem aktiviteta vode može se zaključiti da vrijednosti aktiviteta rastu s porastom dodane vlage u uzorcima.
2. Makroskopskim prikazom te kolorimetrijskom analizom utvrđena je promjena boje uzoraka s obzirom na količinu dodane vlage. S povećanjem vlage uzorci postaju tamniji (prema parametru  $L^*$ ); uzorci s manjom količinom vlage zeleniji su, dok su oni s više vlage crveniji (parametar  $a^*$ ). Uzorcima se također s povećanjem sadržaja vlage povećava intenzitet žute boje (parametar  $b^*$ ), zasićenje (parametar  $C^*$ ) i ton boje (parametar  $h^*$ ).
3. Najveće razlike među uzorcima snimljenim NIR spektroskopijom utvrđene su djelovima spektra od valnih duljina 1400 do 1600 nm, što odgovara području u kojem se pomoću NIR spektroskopije može detektirati sadržaj vlage u uzorku.
4. Primjenom PCA analize utvrđeno je grupiranje uzoraka u PCA ravnini temeljem sadržaja vlage.
5. Primjenom PLS modela moguća su predviđanja nekih svojstava praha temeljem snimljenih NIR spektara (kolorimetrijski parametri  $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $\Delta E$ ; stvarna i naslovna vlaga uzorka), dok su vrijednosti drugih svojstava (kolorimetrijski parametri  $a^*$ ,  $h^*$ ; aktivitet vode) odudarale od vrijednosti dobivenih odgovarajućom analizom.

## 6. POPIS LITERATURE

1. Abdi H, Williams LJ (2010) Principal component analysis. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Stat.*, **2(4)**, str. 433-459. <https://doi.org/10.1002/wics.101>
2. Adams MR, Moss MO (2008) Food Microbiology, *Faraday Discuss. R. Soc. Chem.*, **3**, str. 463. <http://dx.doi.org/10.4236/health.2016.813139>
3. Adhikari B, Howes T, Lecomte D, Bhandari BR (2005) A glass transition temperature approach for the prediction of the surface stickiness of a drying droplet during spray drying. *Powder Technology*, **149(2-3)**, str. 168-179. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2004.11.007>
4. Barbosa-Cánovas GV, Juliano, P (2005) Physical and chemical properties of food powders. *Encapsulated and powdered foods* str. 51-86 doi:10.1007/0-387-27613-0
5. Bier DM, Mann J, Alpers DH, Este Vorster HH, Gibney MJ (2015) Nutrition for the primary care provider. *World Rev. Nutr. Diet.* **111**, str 30–37. <https://doi.org/10.4103%2F0971-5916.208443>
6. Blanco M, Villarroya I (2002) NIR Spectroscopy: A Rapid-Response Analytical Tool. *TrAC, Trends Anal. Chem.*, **21**, str. 240-250. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00404-1](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00404-1)
7. Bokobza L (1998) Near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.*, **6(1)**, str. 3-17. <https://doi.org/10.1255%2Fjnirs.116>
8. Brown SD, Blank TB, Sum ST, Weyer LG, (1994) Chemometrics. *Anal. Chem.*, **66(12)**, pp.315-359. <https://doi.org/10.1021/ac00084a014>
9. Dhanalakshmi K, Ghosal S, Bhattacharya S (2011) Agglomeration of Food Powder and Applications, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **51(5)**, str. 432-441. <https://doi.org/10.1080/10408391003646270>
10. Ferrari M, Mottola L, Quaresima V (2004) Principles, techniques, and limitations of near infrared spectroscopy. *Can. J. Appl. Physiol.*, **29(4)**, str. 463-487. <https://doi.org/10.1139/h04-031>
11. Janči T, Valinger D, Gajdoš Kljusurić J, Mikac L, Vidaček S, Ivanda M (2017) Determination of histamine in fish by Surface Enhanced Raman Spectroscopy using silver colloid SERS substrates, *Food Chem.*, **224**, str. 48-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.032>

12. Nagarajan R, Singh P, Mehrotra R (2006) Direct Determination of Moisture in Powder Milk Using Near Infrared Spectroscopy. *Journal of automated methods & management in chemistry, J. Autom. Methods Manage. Chem.* doi:10.1155/JAMMC/2006/51342.
13. Ozmen L, Langrish TAG (2002) Comparison of glass transition temperature and sticky point temperature for skim milk powder, *Drying Technol.*, **20(6)**, str. 1177-1192. <https://doi.org/10.1081/DRT-120004046>
14. Palzer S (2009) Influence of material properties on the agglomeration of water-soluble amorphous particles. *Powder Technol.*, **189(2)**, str. 318-326. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2008.04.034>
15. Pasquini C (2003) Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *J. Braz. Chem. Soc.*, **14**, str. 198-219. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200006>
16. Reh C, Bhat SN, Berrut S (2004) Determination of water content in powdered milk. *Food chem.*, **86(3)**, str. 457-464. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.10.028>
17. Rhim JW, Hong SI (2011) Effect of water activity and temperature on the color change of red pepper (*Capsicum annum* L.) powder. *Food Sci. Biotechnol.*, **20**, str. 215–222. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0029-2>
18. Sauberlich HE (1994) Pharmacology of vitamin C. *Annu. Rev. Nutr.*, **14**, str. 371-391. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.14.070194.002103>
19. Sjöström M, Wold S, Lindberg W, Persson JK (1983) A multivariate calibration problem in analytical chemistry solved by partial least-squares models in latent variables. *Analytica Chimica Acta* (izd. 150). [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)85460-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)85460-4)
20. Valinger D, Benković M, Jurina T, Jurinjak Tušek A, Belščak-Cvitanović A, Gajdoš Kljusurić J, Bauman I (2017) Use of NIR spectroscopy and 3D principal component analysis for particle size control of dried medicinal plants. *J. Process. Energy Agric.*, **21(1)**, str. 17-22. <http://dx.doi.org/10.5937/JPEA1701017V>
21. Wold S (1992) Nonlinear partial least squares modelling II. Spline inner relation. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **14(1-3)**, str. 71-84. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(92\)80093-J](https://doi.org/10.1016/0169-7439(92)80093-J)

## Izjava o izvornosti

Ja                     Nika Morača                     izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Vlastoručni potpis