

# Praćenje udjela vlage i fizikalnih svojstava punila primjenom NIR spektroskopije i kemometrije

---

**Gustetić, Nika**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2024**

*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:159:952775>

*Rights / Prava:* [Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported / Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerađivanja 3.0](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-06**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

**Nika Gustetić  
0058221450**

**PRAĆENJE UDJELA VLAGE I FIZIKALNIH SVOJSTAVA PUNILA PRIMJENOM  
NIR SPEKTROSKOPIJE I KEMOMETRIJE**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Tehnologija prahova

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Maja Benković

**Zagreb, 2024.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

### Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za procesno inženjerstvo  
Kabinet za osnove inženjerstva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Biotehnologija

## Praćenje udjela vlage i fizikalnih svojstava punila primjenom NIR spektroskopije i kemometrije

Nika Gustetić, 0058221450

### Sažetak:

Punila su praškaste tvari koje se koriste u farmaceutskoj industriji za povećanje mase tableta i njihove uniformnosti. Ona moraju biti fiziološki inertna, kompatibilna s aktivnom tvari i kemijski stabilna. Cilj ovog rada bio je pratiti fizikalna svojstva dva punila (škrob i laktoza) pri različitim udjelima vlage. Oba praha kondicionirana su na različite sadržaje vlage, u rasponu 0-15 % za laktozu i 0-30 % za škrob. Stvarni udio vlage određen je gravimetrijski. Mjerena fizikalna svojstva su aktivitet vode, boja, Feretov promjer, površina čestica te slobodna i vibraciona nasipna gustoća. Uzorcima su snimani NIR spektri te je primjenom metode parcijalnih najmanjih kvadrata (*engl.* Partial Least Squares, PLS) utvrđivana je povezanost udjela vlage, promatranih fizikalnih svojstava i NIR spektara. Povećanje udjela vlage drugačije utječe na navedena fizikalna svojstva škroba i laktoze što se odražava na NIR spektre. Promjene u NIR spektrima uspješno su analizirane primjenom PLS metode.

**Ključne riječi:** punila, škrob, laktoza, NIR spektroskopija, kemometrija

**Rad sadrži:** 32 stranice, 7 slika, 12 tablica, 24 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Maja Benković

**Datum obrane:** 16. rujna, 2024.

## **BASIC DOCUMENTATION CARD**

**Undergraduate thesis**

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

**Department of Process Engineering  
Section for Fundamental Engineering**

**Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Biotechnology**

### **Monitoring moisture content and physical properties of diluent excipients using NIR spectroscopy and chemometrics**

**Nika Gustetić, 0058221450**

**Abstract:** Diluent excipients are powdery substances which are used as pharmaceutical ingredients to increase the weight and uniformity of tablets. Diluents must be physiologically inert, compatible with the active pharmaceutical ingredient and chemically stable. The aim of this work was to examine physical properties of two specific diluents (starch and lactose) at different moisture contents. Both powders were conditioned to different moisture contents in the ranges 0-15% for lactose and 0-30 % for starch. Their moisture contents were determined via loss on drying. The physical properties measured were water activity, color, Feret diameter, particle area, poured and tap bulk densities. NIR spectra of all samples were recorded. The connection between moisture content, observed physical properties and NIR spectra was determined using the Partial Least Squares method (PLS). Increasing moisture affects certain physical properties more than other, both in lactose and starch, and those changes can be noticed in NIR spectra. The changes in NIR spectra were successfully analyzed using PLS method.

**Keywords:** diluent, starch, lactose, NIR spectroscopy, chemometrics

**Thesis contains:** 32 pages, 7 figures, 12 tables, 24 references

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Maja Benković, PhD, Associate Professor

**Thesis defended:** September 16<sup>th</sup>, 2024

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. TABLETE KAO LJEKOVITI OBLIK .....	2
2.2. PUNILA.....	2
2.2.1. ŠKROB .....	3
2.2.2. LAKTOZA .....	3
2.3. BLISKO-INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA .....	4
2.4. KEMOMETRIJA .....	5
2.5. UTJECAJ VLAGE NA PRAŠKASTE MATERIJALE .....	6
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO .....</b>	<b>7</b>
3.1. MATERIJALI .....	7
3.1.1. UZORCI .....	7
3.1.2. REAGENSI I OTAPALA .....	7
3.1.3. APARATURA .....	7
3.1.4. PRIBOR .....	7
3.2. METODE .....	8
3.2.1. KONDICIONIRANJE PRAHA.....	8
3.2.2. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE U UZORKA .....	8
3.2.3. MJERENJE AKTIVITETA VODE .....	8
3.2.4. KOLORIMETRIJSKA ANALIZA.....	9
3.2.5. MIKROSKOPSKA ANALIZA ČESTICA I ODREĐIVANJE VELIČINE ČESTICA .....	9
3.2.6. ODREĐIVANJE NASIPNE GUSTOĆE I SVOJSTVA TEČENJA .....	9
3.2.7. SNIMANJE NIR SPEKTARA .....	11
3.2.8. IZRADA <i>PARTIAL LEAST SQUARES REGRESSION</i> (PLS) MODELA .....	11
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>12</b>
4.1. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE .....	12
4.2. ANALIZA AKTIVITETA VODE .....	13

4.3.	ODREĐIVANJE PROMJENE BOJE .....	14
4.4.	NASIPNA GUSTOĆA I SVOJSTVA TEČENJA.....	16
4.5.	MIKROSKOPSKA ANALIZA ČESTICA UZORKA .....	19
4.6.	NIR SPEKTROSKOPIJA.....	21
4.7.	ANALIZA METODOM PARCIJALNIH NAJMANJIH KVADRATA .....	23
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČCI .....</b>	<b>29</b>
<b>6.</b>	<b>POPIS LITERATURE.....</b>	<b>30</b>

## 1. UVOD

Punila su neizbježna komponenta skoro svakog procesa proizvodnje ljekovitih oblika u farmaceutskoj industriji. Glavna svrha im je da se koriste kao sredstva za nadopunjavanje kada je količina aktivne tvari u tableti jako mala.

Praškasti materijali koji se koriste kao punila za tablete raznoliki su. Njihova osnovna podjela je s obzirom na porijeklo pri čemu se dijele na organska, anorganska i polusintetska (Nagpal i sur., 2016). U skupinu organskih punila ubrajaju se šećeri, škrobovi, šećerni alkoholi i celuloze.

Bitna karakteristika svih prahova, kao i onih koji se koriste u farmaceutskoj industriji, jest njihov sadržaj vlage te njen utjecaj na svojstva prahova, kao što su, primjerice, kohezivnost, svojstva tečenja, veličina i oblik čestica, boja, stabilnost i rok trajanja.

Cilj ovog rada bio je utvrditi kako različiti udjeli vlage utječu na fizikalna svojstva prahova koji se koriste kao punila. Punila koja su se koristila u radu su škrob (kondicioniran na 0-30 % relativne vlage) i laktoza (0-15% relativne vlage). Pored gravimetrijskog sadržaja vlage, uzorcima se određivao i aktivitet vode, slobodna i vibracijska nasipna gustoća, boja, veličina, oblik i površina čestica. Svim uzorcima snimani su NIR spektri te su se eksperimentalno dobiveni podaci za fizikalna svojstva prahova, primjenom odabranih kemometrijskih metoda (metoda parcijalnih najmanjih kvadrata – PLS), povezivali sa snimljenim NIR spektrima kako bi se razvili modeli koji povezuju pojedino fizikalno svojstvo sa NIR spektrima.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. TABLETE KAO LJEKOVITI OBLIK

Tablete pripadaju skupini čvrstih ljekovitih oblika. One su izrazito zastupljen način doziranja lijeka zbog jednostavnosti primjene, točnosti doziranja te jednostavnog skladištenja i transporta. Svaki ljekoviti oblik sastoji se od aktivne tvari (engl. *active pharmaceutical ingredient*, API), čija je uloga liječenje ili ublažavanje simptoma bolesti te od pomoćnih tvari (engl. *excipients*), koje imaju višestruku ulogu, no generalno za njih vrijedi da pridonose boljem djelovanju lijeka ili čine primjenu lijeka ugodnijom. Tablete nastaju komprimiranjem aktivne tvari uz dodatak raznih pomoćnih sredstava. U pomoćna sredstva spadaju punila, vezivna sredstva, sredstva za raspadanje, sredstva za klizenje, boje, lubrikanti i ostala sredstva. Vezivna sredstva omogućavaju povezivanje čestica aktivne i pomoćnih tvari u veće granule, sredstva za raspadanje olakšavaju dezintegraciju tablete u kontaktu s vodom, a sredstva za klizenje olakšavaju protjecanje granula tijekom tabletiranja. Lubrikanti omogućuju odvajanje tablete od kalupa nakon završetka postupka tabletiranja, dok se boje koriste u proizvodnji tableta iz estetskih razloga.

### 2.2. PUNILA

Punilo je pomoćna tvar koja služi povećanju veličine i poboljšanju ujednačenosti sastava same tablete. Najčešće se primjenjuju ako je aktivne tvari malo te omogućuju da nastane tableta praktične veličine. Punila mogu činiti 5-80 % mase tablete (Pandey i sur., 2009), stoga moraju zadovoljavati nekoliko glavnih kriterija: probavljivost, kemijska i fiziološka inertnost te stabilnost. Većina sredstava za dopunjavanje organskog je porijekla, no primjenjuju se i ona anorganskog, kao što su kalcij hidrogen-fosfat ili natrijev klorid. Prahovi koji se najčešće koriste kao organska punila su šećeri, škrobovi, šećerni alkoholi i celuloze. Sve više su zastupljene i modificirane tvari kao što je mikrokristalna celuloza (Vaidya i Avachat, 2011) i parcijalno hidrolizirani škrob. Osnovni zahtjev koji punilo prilikom komprimiranja mora ispunjavati jest kompresibilnost. Kompresibilnost ovisi o mogućnosti plastične deformacije čestice i o kohezivnim osobinama same tvari (Senjković, 1994). Djelovanjem visokog tlaka prevladaju se intramolekulske sile čestica te nastaje plastična deformacija čestica. Kohezivnije prahove karakteriziraju jače privlačne sile među česticama zbog čega jače prijanjaju jedna uz drugu, što je nužno prilikom komprimiranja.



### 2.2.1. ŠKROB

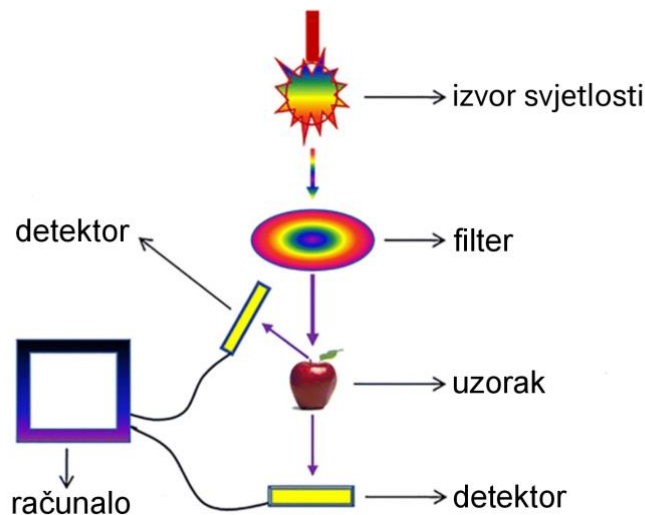
Škrob je po svojoj kemijskoj strukturi polisaharid biljnog porijekla, građen od monomernih jedinica D-glukoze povezanih  $\alpha$ -1,4- i  $\alpha$ -1,6-glikozidnim vezama. Škrob se sastoji od dva strukturalna oblika: amiloze i amilopektina. Amiloza je linearni polimer građen od nekoliko stotina ostataka glukoze povezanih  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama, dok je amilopektin razgranati polimer koji se sastoji od dugog lanca glukoznih jedinica i pobočnih lanaca koji su s njima povezani  $\alpha$ -1,6-glikozidnim vezama. Osim što se koristi kao punilo, često obuhvaća i uloge vezivnog sredstva ili sredstva za raspadanje (Hartesi i sur., 2016). Prema istraživanju kojeg su proveli Stasiak i sur. (2006) medijalna vrijednost promjera čestica kukuruznog škroba je 41,5  $\mu$ m, a 10 % čestica ima promjer veći od 72,0  $\mu$ m. U literaturi se navode vrijednosti vlage od 12 do 14 % (Senjković, 1994). Postoje i varijante modificiranog kukuruznog škroba koje se češće koriste kao sredstva za dopunjavanje, kao što je parcijalno hidrolizirani škrob koji pokazuje bolju kompresibilnost prilikom direktnog komprimiranja (Lefnaoui i Moulai-Mostefa, 2015).

### 2.2.2. LAKTOZA

Laktoza je mliječni šećer. Po kemijskoj strukturi je disaharid građen od  $\beta$ -D-galaktoze i  $\beta$ -D-glukoze povezanih  $\beta$ -1,4-glikozidnom vezom. Zahvaljujući dobroj topljivosti laktoze u vodi i stabilnošću pri visokim temperaturama, jedno je od najčešće korištenih punila koji se primjenjuju u farmaceutskoj industriji te otprilike 60-70% farmaceutskih pripravaka sadrži laktozu kao pomoćnu tvar (Shi i sur., 2023). Rijetko se kao punilo koristi u prirodnom obliku zbog nešto lošijih svojstava tečenja i kompresibilnosti, već se češće koristi laktoza u obliku anhidrida zbog boljih svojstava za komprimiranje. Medijalna vrijednost promjera čestica laktoze izmjerena je i iznosi 130,5  $\mu$ m (Kudo i sur., 2020). Modificirani oblici laktoze posjeduju mnoge karakteristike koje ih čine pogodnim za primjenu u farmaceutskoj industriji, među kojima su inertnost, stabilnost, kompresibilnost, svojstva tečenja i reološka svojstva (Dominici i sur., 2022). Usprkos tome, treba uzeti u obzir potencijalne negativne učinke na zdravlje prilikom primjene laktoze kao punila. Prema Eadala i sur. (2009), intolerancija na laktozu pogađa 70 % svjetske populacije, a njena prisutnost u lijekovima može uzrokovati pojavu probavnih tegoba ili pogoršanje simptoma kod pacijenata koji boluju od gastrointestinalnih poremećaja.

### 2.3. BLISKO-INTRACRVENA SPEKTROSKOPIJA

Spektroskopija označava proučavanje interakcija elektromagnetskog zračenja i materije, a blisko-infracrvena spektroskopija koristi se elektromagnetskim zračenjem u području valnih duljina od 780 do 2500 nm. Kada svjetlost prolazi kroz uzorak, dolazi do selektivne apsorpcije u specifičnim dijelovima molekule uzorka. Apsorpcija fotona događa se kada frekvencija elektromagnetskog zračenja odgovara frekvenciji vibracija pojedinih veza unutar molekule. Bitno je napomenuti da je za apsorpciju u infracrvenom području potrebno da veze imaju određeni dipolni moment. Veze koje imaju veći dipolni moment pokazuju jaču apsorpciju, a NIR svjetlost najviše privlače funkcionalne skupine koje imaju atom vodika (N-H, C-H, O-H).



**Slika 1.** Pojednostavljen prikaz rada NIR spektroskopa (*prema Chandrasekaran i sur., 2019*)

Princip rada NIR spektroskopa prikazan je na slici 1. Kao izvor zračenja koriste se volfram-halogene lampe (engl. *Tungsten-Halogen lamp*) ili svjetleće diode (pc-NIR LED). Svjetlost zatim upada na filter na kojem se odvija izbor valne duljine. Svjetlost koja prolazi kroz uzorak će biti apsorbirana te propuštena ili reflektirana. Sustav poluvodiča, koji ima ulogu detektora, registrira i mjeri propuštenu ili reflektiranu svjetlost. Ako je u pitanju tekući uzorak, mjeri se transmitancija svjetlosti, a krutim uzorcima mjeri se difuzna refleksija svjetlosti.

Prednosti NIR spektroskopije su brzina, minimalna priprema uzoraka i činjenica da se nakon analize uzorci mogu ponovno iskoristiti. Koristi se za kvantitativne i kvalitativne analize u raznim područjima pa tako i u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji. U literaturi postoje razni primjeri primjene NIR-a u kvantitativnoj analizi pojedinih sastojaka ili u određivanju udjela

vlage. U istraživanju koje su proveli Nagarajan i sur. (2006) uspješno se odredio udio vlage u uzorcima mlijeka u prahu, čiji je udio vlage bio u rangu 4 – 10 %. Stvarna vlaga određena je kemijskom metodom, tzv. Karl-Fischer titracijom, a dobivene vrijednosti zajedno s NIR spektrima koristile su se za izradu kalibracijskih modela primjenom metode parcijalnih najmanjih kvadrata (PLS). Slično istraživanje proveli su Lim i sur. (2014) s ciljem razvoja ne-destruktivne i brze metode za određivanje ujela vlage u prahu crvene paprike primjenom NIR spektroskopije i PLS modela. Pokazalo se da razvijeni PLS model točnije predviđa udio vlage u uzorcima crvene paprike s užim rasponom veličine čestica u odnosu na uzorke sa širim rasponom veličine čestica.

NIR spektroskopija izrazito je praktična metoda jer omogućava spajanje na računalo koje zatim prikuplja veliku količinu podataka. Daljnja obrada NIR spektara bila bi gotovo nemoguća da ne postoje razne statističke metode koje omogućuju uspoređivanje spektara s ostalim analizama koje su se provodile tijekom eksperimenta.

## 2.4. KEMOMETRIJA

Kemometrija označava primjenu statistike u analizi kemijskih podataka. Svrha kemometrije je da se odabere optimalni eksperimentalni postupak te da se analizom dobivenih podataka dobije maksimalni broj informacija. Zbog toga je jako korisna u analizi spektroskopskih podataka. Za to se koriste razne statističke metode kao što su analiza glavnih komponenata (engl. *principal components analysis*, PCA) i metoda parcijalnih najmanjih kvadrata (engl. *partial least squares*, PLS).

Analiza glavnih komponenata (PCA) statistička je metoda koja se najčešće koristi kada je u pitanju obrada podataka s više varijabli. Glavni cilj PCA analize je redukcija podataka te njihova interpretacija. Budući da se iz velike količine podataka dobije manji broj bitnih informacija (glavne komponente), uz PCA analizu veže se pojam redukcije dimenzionalnosti prostora (Abdi i Williams, 2010). Interpretacija podataka olakšana je jer je odnos između glavnih komponenti vizualiziran, odnosno u PCA ravnini slični uzorci smješteni su blizu jedan drugome, a oni koji se razlikuju međusobno smješteni su dalje. PCA analiza često služi kao međukorak za provođenje drugih statističkih metoda kao što su regresijske, klaster ili faktorske analize.

Metoda parcijalnih najmanjih kvadrata (PLS) je regresijska statistička metoda kojoj uvijek

prethodi PCA analiza. Cilj PLS analize jest predvidjeti varijable odgovora (engl. *response variables*) iz velikog skupa varijabli prediktora (engl. *predictor variables*) smanjivanjem skupa varijabli prediktora na manji skup nekoreliranih komponenti te izvesti regresiju najmanjih kvadrata na tim komponentama. Time se omogućuje povezivanje spektralnih podataka sa određenim kemijskim ili fizikalnim svojstvima materijala te razvoj modela koji mogu predvidjeti određeno svojstvo na temelju promjena u NIR spektrima.

## **2.5. UTJECAJ VLAGE NA PRAŠKASTE MATERIJALE**

Vlaga je bitna karakteristika prahova jer ona utječe na njihovu obradu, transport i skladištenje, stoga su sva saznanja o utjecaju vlage na odabrane prahove jako korisna za primjenu u industriji. Povećanje udjela vlage u praškastom materijalu utječe na kohezivnost, svojstva tečenja, veličinu čestica, nasipnu gustoću i dr. Što je veći udio vlage u prahu, veća je i kohezivnost, što znači da čestice praha imaju veću tendenciju vezanja jedne za drugu. Tada je pojačana adhezija i tvore se veće nakupine čestica koje su povezane tekućim mostovima. Povećana kohezivnost može negativno utjecati na svojstva praha jer su kohezivni prahovi skloniji tvorenju čvrstog kolača što otežava rukovanje i obradu. U nekim slučajevima poželjna je adhezija čestica uslijed prisutnosti vode ako je cilj dobiti aglomerirani prah porozne strukture i boljih rekonstitucijskih svojstava. Glavna svrha aglomeracije je poboljšati određena fizikalna svojstva prahova kao što su nasipna gustoća, sipkost, disperzibilnost i stabilnost (Dhanalakshmi i sur., 2011). Nadalje, vlaga u prahu isto tako mijenja i svojstva tečenja praškastih materijala. Prema radu autora Opaliński i sur. (2016) vlaga na reologiju prahova može imati dvojak učinak, ovisno o tome koliko je prah higroskopian – uočen je „podmazujući” efekt kod prahova manje higroskopsnosti i povećanje plastičnosti kod prahova veće higroskopsnosti. Isto tako treba napomenuti da povećana prisutnost vode utječe na mikrobiološku stabilnost praha i skraćuje njegov rok trajanja.

Zbog gore navedenog, cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj vlage na fizikalna svojstva odabranih punila (škrob i laktoza) te istražiti mogućnost primjene NIR spektroskopije i kemometrije (PLS) u praćenju promjena koje uzrokuje vlaga na navedena punila.

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

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

- kukuruzni škrob (Podravka d.d., Koprivnica, Republika Hrvatska)
- laktoza (Prolactal GmbH, Hartberg, Austrija)

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

- destilirana voda

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

- analitička vaga (Sartorius AG, Goettingen, Njemačka)
- laboratorijska sušara (INKOlab, Zagreb, Hrvatska)
- $a_w$  metar (Rotronic AG, Bassersdorf, Švicarska)
- kolorimetar (PCE-CSM3, PCE Instruments, Njemačka)
- eksikator (Normax, Marinha Grande, Portugal)
- NIR spektrometar (AvaSpec-NIR-2,5-HSC-EVO, Avantes, Nizozemska)
- vibracioni volumetar (ručna izrada)
- svjetlosni mikroskop (MOTIC B1-150 SP, Hong Kong, Azija) s ugrađenom kamerom (MOTIC Moticam 3 3.0 MP, Hong Kong, Azija)
- lupa s ugrađenom kamerom (Assmann Electronic GmbH, Ludenschied, Njemačka)

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

- vakuum vrećice
- boca za raspršivanje
- aluminijska folija
- plastične posudice
- metalna žlica
- plastične falkonice (50 mL)
- laboratorijske čaše

## 3.2. METODE

### 3.2.1. KONDICIONIRANJE PRAHA

Kondicioniranje prahova provodi se tako da se na određenu količinu praha rasprši zadana količina destilirane vode. Uzorci laktoze kondicioniraju se na 0 % (kontrola), 2 %, 4 %, 6%, 8 %, 10 %, 12 % i 15 % relativne vlage, dok se uzorci škroba kondicioniraju na 0 % (kontrola), 2 %, 4 %, 6 %, 8 %, 10 %, 12%, 15%, 20 % i 30 % relativne vlage. Za svaki uzorak izvaže se 60 g praha te se na prah raspršuje zadana količina vode. Nakon što je prah dobro izmiješan i kondicioniran, pakira se u vakuum vrećice. Vakuum vrećice se zavare, omotaju aluminijskom folijom i stoje na sobnoj temperaturi u mraku do daljnje analize. Na kraju pripreme dobije se 8 uzoraka laktoze i 10 uzoraka škroba kondicioniranih na različite vrijednosti vlage.

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

Na analitičkoj vagi izvaže se 3 grama uzorka koji se stavlja u posudicu za sušenje. Sušenje se provodi u laboratorijskoj sušari pri temperaturi  $105 \pm 2$  °C 3- 4 sata. Nakon sušenja uzorci se premještaju u eksikator i hlade na sobnu temperaturu te važu. Za svaki uzorak provode se dva paralelna mjerenja, a postotak stvarnog sadržaja vlage u uzorku računa se prema jednadžbi (1):

$$\% \text{ vlage} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} * 100 \quad (1)$$

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 i uzorka nakon sušenja.

### 3.2.3. MJERENJE AKTIVITETA VODE

Aktivitet vode u uzorcima analizira se  $a_w$  metrom (Rotronic AG, Bassersdorf, Švicarska). Uzorak se stavi u plastičnu posudicu tako da se napuni do otprilike jedne trećine, stavi se u komoru za mjerenje, pokrije se i pokrene se  $a_w$  metar. Kada je mjerenje završeno, dobiveni rezultat se zabilježi te se mjerenje još jednom ponovi sa svježim prahom (2 paralelna mjerenja po uzorku).

### 3.2.4. KOLORIMETRIJSKA ANALIZA

Boja prahova određuje se primjenom kolorimetra (PCE-CSM3, PCE Instruments, Njemačka) uz prethodnu kalibraciju na bijelu ploču. Određuje se pet parametara boje, tzv. Hunterove koordinate boje:

$L^*$  vrijednost - svjetlost; svijetlo ( $L^*=100$ ) ili tamno ( $L^*=0$ ),

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

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

C vrijednost - predstavlja zasićenje boje,

H (hue) vrijednost - predstavlja ton (kut) boje.

Za određivanje ukupne promjene boje ( $\Delta E$ ) iz izmjerenih vrijednosti  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  koristi se jednačbda (2):

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

gdje su vrijednosti  $L_0$ ,  $a_0$ , i  $b_0$  određene za kontrolni uzorak koji nije kondicioniran, dok su za kondicionirane uzorke određene vrijednosti  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ . Za svaki uzorak provode se dva paralelna mjerenja.

### 3.2.5. MIKROSKOPSKA ANALIZA ČESTICA I ODREĐIVANJE VELIČINE ČESTICA

Kondicionirani prahovi snimaju se pod mikroskopom (MOTIC B1-150 SP, Hong Kong, Azija) s ugrađenom kamerom (MOTIC Moticam 3 3.0 MP, Hong Kong, Azija) pri najmanjem povećanju (4x) kako bi se dobio uvid u veličinu čestica. Prije snimanja mikrografa uzorka potrebno je snimiti mikrograf kalibracijskog stakalca te na mikrografe uzorka staviti mikroskalu prema kojoj će se određivati veličina čestica uzorka. Feretov promjer čestica određuje se metodom analize slike upotrebom programa ImageJ (Nation Institutes of Health, Bethesda, Maryland, SAD). Svaki uzorak snima se jednom uz uvjet da mikrograf obuhvaća minimalno 20 čestica uzorka.

### 3.2.6. ODREĐIVANJE NASIPNE GUSTOĆE I SVOJSTVA TEČENJA

Uzorak se nasipa u plastičnu falkonicu ukupnog volumena 50 mL te izvaže. Nakon očitavanja početne mase i volumena, falkonica s uzorkom se pričvršćuje na postolje vibracionog

volumetra. Volumetar se pokreće te se promjena volumena očitava nakon 10, 100 i 1250 udaraca. Iz dobivenih podataka izračuna se nasipna gustoća uzoraka nakon 0 i nakon 1250 udaraca te se koriste za opisivanje svojstava tečenja prema Hausnerovom omjeru (jednadžba 3) i Carrovom indeksu (jednadžba 4):

$$HR = \frac{\rho_{vibraciona (1250)}}{\rho_{(0)}} \quad (3)$$

$$I_C (\%) = \frac{\rho_{vibraciona (1250)} - \rho_{vibraciona (0)}}{\rho_{(0)}} * 100 \quad (4)$$

gdje je:

$\rho_{(0)}$  = nasipna gustoća nakon nula udaraca ( $\text{g cm}^{-3}$ )

$\rho_{vibraciona (1250)}$  = nasipna gustoća nakon 1250 udaraca ( $\text{g cm}^{-3}$ ).

Na temelju HR i  $I_C$  vrijednosti uzorci su kategorizirani prema skalama prikazanim u tablici 1 za Hausnerov omjer i tablici 2 za Carrov indeks.

**Tablica 1.** Veza između Hausnerovog omjera i svojstva tečenja prahova

HR	PONAŠANJE PRAHA PRI TEČENJU
1,0 < HR < 1,1	slobodno teče
1,1 < HR < 1,25	srednje slobodno teče
1,25 < HR < 1,4	loše teče
HR > 1,4	vrlo loše teče

**Tablica 2.** Veza između Carrovog indeksa i svojstva tečenja prahova

$I_c$ (%)	PONAŠANJE PRAHA PRI TEČENJU
< 15	vrlo dobro
15 – 20	dobro
20 – 35	korektno
35 – 45	loše
> 45	vrlo loše



### 3.2.7. SNIMANJE NIR SPEKTARA

Snimanje spektara provodi se pomoću sonde za krute uzorke upotrebom NIR spektrometra (AvaSpec-NIR-2,5-HSC-EVO, Avantes, Nizozemska) raspona valnih duljina 1000 – 2500 nm. Nakon što se snimanje spektra pokrene, spektar se spremi u obliku podatkovne datoteke. Provode se tri paralelna mjerenja za svaki uzorak. Nakon što se izvrše sva mjerenja, dobivene datoteke prebacuju se u Excel format.

### 3.2.8. IZRADA *PARTIAL LEAST SQUARES REGRESSION* (PLS) MODELA

Sa snimljenim podacima u Excel formatu računaju se prosječne vrijednosti apsorbanci pri svakoj valnoj duljini pri kojoj se provodilo mjerenje te slijedi daljnja kemometrijska analiza u programskom paketu Unscrambler v. 10 (Camo Software, Norveška). Za izradu *Principal Component Analysis* (PCA) i *Partial Least Squares Regression* (PLS) modela potrebni su NIR spektri kao prediktori, a kao varijable odgovora (engl. *response*) korišteni su podaci o stvarnoj vlazi, aktivitetu vode, vrijednosti boje, nasipnih gustoća i prosječnog Feretova promjera i površine čestica. Prikladnost modela procjenjuje se pomoću koeficijenta determinacije ( $R^2$ ) i korijena srednje kvadratne pogreške (RMSE). Koeficijent determinacije označava udio varijance u zavisnoj varijabli koji se može objasniti nezavisnom varijablom, a korijen srednje kvadratne pogreške pokazuje prosječnu razliku između predviđenih vrijednosti statističkog modela i stvarnih vrijednosti.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. GRAVIMETRIJSKA ANALIZA STVARNOG SADRŽAJA VLAGE

**Tablica 3.** Rezultati dobiveni mjerenjem stvarnog sadržaja vlage u uzorcima škroba

uzorak	udio vlage (%)
kontrola	9,128 ± 0,039
2	10,704 ± 0,179
4	11,498 ± 0,276
6	13,642 ± 0,759
8	15,126 ± 0,175
10	15,468 ± 0,333
12	21,143 ± 0,253
15	18,988 ± 0,947
20	23,035 ± 0,529
30	27,597 ± 0,198

U tablici 3 prikazani su rezultati gravimetrijske analize uzoraka škroba.

Udio vlage u uzorcima škroba kreće se od 9,128 % do 27,597 % te je uzorak s najmanjim udjelom vlage kontrola, a s najvećim uzorak 30. Iz rezultata je također vidljivo povećanje udjela vlage s količinom dodane vode, međutim uzorak 15 odstupa od tog trenda sa stvarnim udjelom vlage 18,988 %, što je za više od 2 % manje od uzorka broj 12 (21,143 %). To odstupanje može se objasniti nedovoljno temeljitom homogenizacijom uzorka prilikom njegova kondicioniranja. Kontrola, koja se nije kondicionirala, izmjeren je udio vlage 9,128 % što odgovara podacima u literaturi koji navode da je uobičajen raspon vlage od 10 % do 14 % (Aviara i sur., 2010; Senjković, 1994).

**Tablica 4.** Rezultati dobiveni mjerenjem stvarnog sadržaja vlage u uzorcima laktoze

uzorak	udio vlage (%)
kontrola	0,372 ± 0,004
2	1,811 ± 0,119
4	3,786 ± 0,041
6	5,361 ± 0,219
8	6,775 ± 0,025
10	7,043 ± 0,103
12	9,299 ± 1,414
15	12,254 ± 0,092

U tablici 4 prikazani su rezultati gravimetrijske analize uzoraka laktoze.

Udio vlage u uzorcima laktoze kreće se u rasponu od 0,372 % do 12,254 % te je uzorak s najmanjim udjelom vlage kontrola, a s najvećim uzorak 15. Također je vidljivo povećanje udjela vlage s količinom dodane vode.

#### 4.2. ANALIZA AKTIVITETA VODE

**Tablica 5.** Vrijednosti aktiviteta vode uzoraka škroba

uzorak	aktivitet vode
kontrola	0,413 ± 0,001
2	0,535 ± 0,005
4	0,584 ± 0,004
6	0,693 ± 0,001
8	0,749 ± 0,021
10	0,801 ± 0,004
12	0,9335 ± 0,076
15	0,888 ± 0,004
20	0,916 ± 0,000
30	0,9385 ± 0,001

Prema rezultatima analize aktiviteta vode u uzorcima škroba (tablica 5) može se primijetiti porast aktiviteta vode od kontrole (0,413 ) do uzorka 12 (0,9335). Zatim slijedi uzorak 15 čiji je aktivitet vode značajno manji i iznosi 0,888, što je posljedica nedovoljno dobre homogenizacije uzorka prilikom kondicioniranja. Uzorak 20 ima vrijednost aktiviteta vode 0,888, a najveća vrijednost aktiviteta izmjerena je u uzorku 30 (0,9385), kondicioniranim s najvećom količinom vode.

**Tablica 6.** Vrijednosti aktiviteta vode uzoraka laktoze

uzorak	aktivitet vode
kontrola	0,587 ± 0,017
2	0,934 ± 0,002
4	0,934 ± 0,003
6	0,934 ± 0,000
8	0,937 ± 0,001
10	0,938 ± 0,000
12	0,938 ± 0,001
15	0,943 ± 0,002

Vrijednost aktiviteta vode u uzorcima laktoze (Tablica 6) naglo skače s 0,587 (kontrola) na 0,934 (uzorak 2). Daljnjim porastom udjela vlage (samim time i količine dodane vode) nije

uočen daljnji rast aktiviteta vode te on varira u rasponu od 0,934 do 0,943 za sve preostale uzorke (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15). Slične rezultate pokazalo je istraživanje autorice Ocieccek (2014) u kojem je cilj bio proučiti razliku u vezanju vode između punomasnog mlijeka u prahu i mlijeka u prahu bez laktoze. Izoterme, koje prikazuju ovisnost udjela vlage o aktivitetu vode, bile su kontinuirane u cijelom rasponu aktiviteta vode za mlijeko u prahu bez laktoze, dok su za mlijeko u prahu s laktozom bile diskontinuirane u rasponu aktiviteta 0,4 – 0,5. Prema Ocieccek (2014) do navedene pojave dolazi zbog prijelaza laktoze iz amornog u kristalno stanje. Metodom diferencijalne pretražne kalorimetrije Shukla i Price (1991) utvrdili su da je u uzorku anhidrida laktoze s 5,13 % vlage voda vezana u obliku kristalnog hidrata. S porastom udjela vlage na oko 5 – 7 %, postoji mogućnost kristalizacije laktoze (Chudy i sur., 2020).

### 4.3. ODREĐIVANJE PROMJENE BOJE

**Tablica 7.** Vrijednosti Hunterovih koordinata  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , C, hue i ukupna promjena boje  $\Delta E$  za uzorke škroba

uzorak	$L^*$	$a^*$	$b^*$	C	hue	$\Delta E$
kontrola	94,36 ± 0,81	-0,11 ± 0,00	6,72 ± 1,00	6,73 ± 0,10	90,10 ± 1,39	0,000
2	95,84 ± 1,08	-0,83 ± 0,02	6,37 ± 0,66	6,00 ± 0,06	97,91 ± 0,34	1,682 ± 0,050
4	95,78 ± 0,23	-0,65 ± 0,07	7,03 ± 0,75	7,19 ± 0,92	95,35 ± 1,13	1,546 ± 0,046,
6	95,15 ± 0,50	-0,59 ± 0,18	7,24 ± 0,34	7,27 ± 0,35	94,61 ± 1,22	1,061 ± 0,032
8	94,91 ± 0,79	0,03 ± 0,04	6,38 ± 0,70	6,38 ± 0,70	89,72 ± 0,45	0,664 ± 0,020
10	94,32 ± 0,09	0,25 ± 0,03	6,73 ± 0,13	6,88 ± 0,08	87,88 ± 0,16	0,362 ± 0,011
12	93,37 ± 0,09	0,11 ± 0,01	7,06 ± 0,04	7,06 ± 0,03	87,41 ± 0,12	1,073 ± 0,032
15	94,89 ± 0,02	0,04 ± 0,00	6,05 ± 0,17	5,89 ± 0,09	89,62 ± 0,01	0,864 ± 0,026
20	92,23 ± 0,01	0,45 ± 0,01	7,17 ± 0,00	7,19 ± 0,01	86,45 ± 0,04	2,251 ± 0,068
30	91,30 ± 0,06	0,58 ± 0,02	7,18 ± 0,01	7,2 ± 0,02	85,41 ± 0,13	3,169 ± 0,095

U tablici 7 navedene su izmjerene vrijednosti Hunterovih koordinata i promjene boje za uzorke

škroba. Prema parametru  $L^*$ , čije se vrijednosti kreću u rasponu od 94,36 do 91,30, može se uočiti da dolazi do promjene u svjetlini uzoraka, no ta promjena nije vidljiva ljudskom oku. Najveća je razlika u svjetlini između kontrole (94,36) i uzorka 30 (91,30), no nije vidljiv linearan trend opadanja svjetline s porastom udjela vode. Prema parametru  $a^*$  može se zaključiti da su uzorci s manjim udjelom vlage bliži zelenoj boji, a oni s većim udjelom bliži su crvenoj boji. Najbliži zelenoj boji je uzorak 2 (-0,83), dok je crvenoj boji najbliži uzorak 30 (0,58). Vrijednost parametra  $a^*$  s porastom udjela vode kreće se iz negativne (kontrolni uzorak), koja predstavlja prisustvo zelenih pigmenata u uzorku, prema pozitivnoj strani skale (uzorak 30), čime sa većim udjelom vode do izražaja dolazi prisustvo crvenih pigmenata. Nije uočena velika razlika u promjeni parametra  $b^*$  te su svi uzorci u rasponu plave boje (od 6,05 do 7,24). Također nije uočena velika razlika u zasićenju boje te sve vrijednosti parametra C variraju od 5,89 (uzorak 15) do 7,27 (uzorak 6). Ton boje većih je vrijednosti za uzorke s manjim udjelom vlage i manjih je vrijednosti za uzorke s većim udjelom vlage, no nije uočen pravilan trend promjene parametra H. Vrijednosti ukupne promjene boje također variraju s porastom udjela vlage. Najmanju promjenu boje u odnosu na kontrolu pokazao je uzorak 10 (0,362), a najveću uzorak 30 (3,169).

**Tablica 8.** Vrijednosti Hunterovih koordinata  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , C, hue i ukupna promjena boje  $\Delta E$  za uzorke laktoze

uzorak	$L^*$	$a^*$	$b^*$	C	hue	$\Delta E$
kontrola	93,99 ± 0,63	-2,34 ± 0,14	18,23 ± 0,41	18,38 ± 0,43	97,31 ± 0,27	0,000
2	89,59 ± 0,38	-2,46 ± 0,04	21,76 ± 0,92	21,90 ± 0,91	96,45 ± 0,38	5,638 ± 0,169
4	91,45 ± 0,43	-3,26 ± 0,04	22,43 ± 0,74	22,66 ± 0,74	98,28 ± 0,15	4,990 ± 0,150
6	88,89 ± 0,80	-3,30 ± 0,43	24,84 ± 0,03	25,06 ± 0,08	97,56 ± 0,98	8,403 ± 0,252
8	88,35 ± 1,68	-3,51 ± 0,22	27,42 ± 0,13	27,64 ± 0,10	97,29 ± 0,48	10,845 ± 0,325
10	88,77 ± 0,72	-3,61 ± 0,12	27,24 ± 0,88	27,48 ± 0,85	97,54 ± 0,49	10,487 ± 0,315
12	87,37 ± 0,46	-3,69 ± 0,09	27,63 ± 0,90	27,88 ± 0,09	97,60 ± 0,21	11,576 ± 0,347

**Tablica 8.** Vrijednosti Hunterovih koordinata  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , C, hue i ukupna promjena boje  $\Delta E$  za uzorke laktoze - nastavak

15	88,67 ± 0,77	-4,28 ± 0,06	28,05± 2,19	28,37 ± 2,16	98,7 ± 0,55	11,331 ± 0,340
----	-----------------	-----------------	----------------	-----------------	----------------	-------------------

U tablici 8 navedene su izmjerene vrijednosti Hunterovih koordinata i promjene boje za uzorke laktoze. Prema parametru  $L^*$  vidi se da dodatkom vode dolazi do pada svjetline uzorka što se moglo uočiti i na makroskopskoj razini budući da je laktoza prah žućkaste boje. Najveći pad svjetline izmjeren je između kontrole i uzorka 2 (93,99 i 89,59), no daljnjim porastom vlage ne mijenja se značajno vrijednost  $L^*$  te uzorku 15 svjetlina iznosi 88,67. Vrijednosti parametra  $a^*$  opadaju od kontrole (-2,34) sve do uzorka 15 (-4,28) te se može zaključiti da uzorci bivaju sve bliže zelenoj boji. Raspon parametra  $b^*$  je od 18,23 do 28,045 te je uzorak s najmanjom vrijednošću kontrola, a s najvećom uzorak 15. Budući da postepeno raste  $b^*$  kako raste i udio vlage, može se zaključiti da uzorci bivaju sve bliži žutoj boji kako raste udio vlage, što se moglo uočiti na makroskopskoj razini. Zasićenje boje C također raste u cijelom rasponu udjela vlage, od vrijednosti 18,38 do 27,88. Ton boje ne mijenja se značajno, a sve vrijednosti su u rasponu 96,45 (uzorak 2) do 98,275 (uzorak 4). Uzorci laktoze s većim udjelom vlage također imaju i veće vrijednosti promjene boje. Najveću promjenu boje u odnosu na kontrolu pokazao je uzorak 12 (11,576), a najmanju uzorak 4 (4,990).

#### 4.4. NASIPNA GUSTOĆA I SVOJSTVA TEČENJA

**Tablica 9.** Slobodna nasipna gustoća  $\rho_0$ , vibracijske nasipne gustoće  $\rho_{(vibraciona)10}$ ,  $\rho_{(vibraciona)100}$ ,  $\rho_{(vibraciona)1250}$  te svojstva tečenja prema Hausnerovom omjeru i Carrovom indeksu za uzorke škroba

uzorak	$\rho_0$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\rho_{(vibraciona)10}$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\rho_{(vibraciona)100}$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\rho_{(vibraciona)1250}$ (g cm <sup>-3</sup> )	HR	opis svojstva tečenja prema HR	$I_c$ (%)	opis svojstva tečenja prema $I_c$
kontrola	0,5015 ± 0,0075	0,5374 ± 0,0055	0,6115 ± 0,0215	0,6881 ± 0,0174	1,37	loše teče	37,25	loše
2	0,4909 ± 0,0127	0,5298 ± 0,0005	0,5603 ± 0,0031	0,5603 ± 0,0031	1,14	srednje slobodno	14,14	vrlo dobro
4	0,4668 ± 0,0136	0,4882 ± 0,0157	0,5114 ± 0,0170	0,5343 ± 0,0166	1,14	srednje slobodno	14,46	vrlo dobro

**Tablica 9.** Slobodna nasipna gustoća  $\rho_0$ , vibracijske nasipne gustoće  $\rho_{(vibraciona)10}$ ,  $\rho_{(vibraciona)100}$ ,  $\rho_{(vibraciona)1250}$  te svojstva tečenja prema Hausnerovom omjeru i Carrovom indeksu za uzorke škroba – nastavak

6	0,4477 ± 0,0281	0,4880 ± 0,0026	0,5672 ± 0,0060	0,5672 ± 0,0060	1,27	loše teče	26,90	korektno
8	0,3845 ± 0,0149	0,4454 ± 0,0049	0,4667 ± 0,0051	0,4899 ± 0,0053	1,28	loše teče	27,41	korektno
10	0,3893 ± 0,0025	0,4336 ± 0,0152	0,4652 ± 0,0004	0,4891 ± 0,0005	1,26	loše teče	25,66	korektno
12	0,3273 ± 0,0122	0,3604 ± 0,0049	0,4126 ± 0,0046	0,4414 ± 0,0067	1,35	loše teče	34,86	korektno
15	0,3241 ± 0,0104	0,3684 ± 0,0147	0,3860 ± 0,0165	0,3949 ± 0,0039	1,22	srednje slobodno	21,90	korektno
20	0,3138 ± 0,0136	0,3732 ± 0,0049	0,4238 ± 0,0106	0,4480 ± 0,0121	1,43	vrlo loše teče	42,77	loše
30	0,3616 ± 0,0109	0,4122 ± 0,0084	0,4557 ± 0,0061	0,5123 ± 0,0064	1,42	vrlo loše teče	41,78	loše

U tablici 9 prikazani su rezultati analize nasipnih gustoća i svojstava tečenja škroba. Porastom udjela vlage vrijednost slobodne nasipne gustoće opada sa 0,5015 g cm<sup>-3</sup> na 0,3138 g cm<sup>-3</sup> od kontrole do uzorka 20, no za uzorak 30 nasipna gustoća dosegne vrijednost 0,3616 g cm<sup>-3</sup>. Sličan trend opadanja vrijednosti nasipnih gustoća te rast kada se dosegne veći udio vlage prisutan je i kod vibracionih nasipnih gustoća nakon 10, 100 i 1250 udaraca vibracionog volumetra: vrijednosti  $\rho_{(vibraciona)10}$  padaju od 0,5374 g cm<sup>-3</sup> (kontrola) do 0,3604 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 12) te ponovno počinju rasti do vrijednosti 0,4112 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 30); vrijednosti  $\rho_{(vibraciona)100}$  padaju od 0,6115 g cm<sup>-3</sup> (kontrola) do 0,3860 (uzorak 15) te ponovo počinju rasti do vrijednosti 0,4557 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 30); vrijednosti  $\rho_{(vibraciona)1250}$  padaju od 0,6881 g cm<sup>-3</sup> (kontrola) do 0,3949 (uzorak 15) te počinju rasti do vrijednosti 0,5123 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 30). Vrijednost Hausnerova omjera u rasponu je od 1,14 do 1,42, a najbolja svojstva tečenja prema HR imaju uzorci 2 i 4 (srednje slobodno). Uzorci 20 i 30, koji imaju najveće udjele vlage, isto tako imaju i najlošija svojstva tečenja prema HR (1,43 i 1,42) i prema skali vrlo loše teku. Uzorci 20 i 30 isto tako imaju i vrlo visoke vrijednosti Carrovog indeksa (42,77 % i 42,78 %) u odnosu na ostale uzorke (uzorci 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15) koji su u rasponu od 14,14 % do 34,86 % te jedini spadaju u kategoriju tečenja „loše”. Dobiveni podaci o lošijim svojstvima tečenja škroba u skladu su s onima u literaturi, a mnoga istraživanja provode se s ciljem poboljšanja navedenih svojstava raznim modifikacijama škroba. U istraživanju kojeg su proveli Akhgari i sur. (2014), uspješno su se poboljšala svojstva kompresibilnosti i tečenja škroba nakon rekristalizacije provedene QESD tehnikom (engl. *Quasi-emulsion solvent-diffusion*).

Izmjerena slobodna nasipna gustoća uzorka 4 (udio vlage 11,498 %) iznosi 466,8 kg m<sup>-3</sup>, što je veće od nasipne gustoće škroba sličnog udjela vlage (12 %) koji se navodi u literaturi. Prema Barbosa-Canovas i sur. (2005) nasipna gustoća škroba (12% udio vlage) iznosi 340 kg m<sup>-3</sup>.

**Tablica 10.** Slobodna nasipna gustoća  $\rho_0$ , vibracijske nasipne gustoće  $\rho_{(vibraciona)10}$ ,  $\rho_{(vibraciona)100}$ ,  $\rho_{(vibraciona)1250}$  te svojstva tečenja prema Hausnerovom omjeru i Carrovom indeksu za uzorke laktoze

uzorak	$\rho_0$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\rho_{(vibraciona)10}$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\rho_{(vibraciona)100}$ (g cm <sup>-3</sup> )	$\rho_{(vibraciona)1250}$ (g cm <sup>-3</sup> )	HR	opis svojstva tečenja prema HR	I <sub>c</sub> (%)	opis svojstva tečenja prema I <sub>c</sub>
kontrola	0,7849 ± 0,0507	0,8534 ± 0,0151	0,7849 ± 0,0507	0,9479 ± 0,0214	1,21	srednje slobodno	21,10	korektno
2	0,5499 ± 0,0025	0,6357 ± 0,0230	0,5499 ± 0,0025	0,8090 ± 0,0491	1,47	vrlo loše teče	47,10	vrlo loše
4	0,5340 ± 0,0210	0,6292 ± 0,0089	0,5340 ± 0,0210	0,7054 ± 0,0188	1,32	loše teče	32,14	korektno
6	0,4982 ± 0,0143	0,5887 ± 0,0169	0,4982 ± 0,0143	0,7619 ± 0,0218	1,53	vrlo loše teče	52,94	vrlo loše
8	0,5458 ± 0,0259	0,6131 ± 0,0032	0,5458 ± 0,0259	0,8376 ± 0,0121	1,54	vrlo loše teče	53,57	vrlo loše
10	0,5304 ± 0,0156	0,6167 ± 0,0328	0,5304 ± 0,0156	0,7167 ± 0,0343	1,35	loše teče	35,09	loše
12	0,5228 ± 0,0029	0,6273 ± 0,0035	0,5228 ± 0,0029	0,8662 ± 0,0374	1,66	vrlo loše teče	65,71	vrlo loše
15	0,5623 ± 0,0390	0,6494 ± 0,0247	0,5623 ± 0,0390	0,8349 ± 0,0242	1,49	vrlo loše teče	48,69	vrlo loše

U tablici 10 prikazani su rezultati analize nasipnih gustoća i svojstava tečenja laktoze.

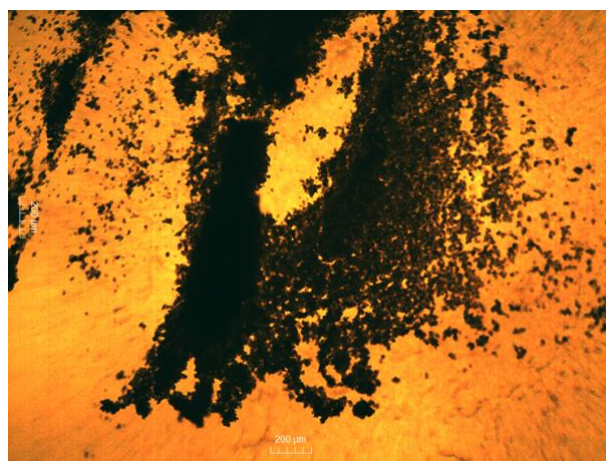
Vrijednosti slobodne nasipne gustoće u rasponu su od 0,4982 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 4) do 0,7849 g cm<sup>-3</sup> (kontrola). Vrijednosti vibracione nasipne gustoće  $\rho_{(vibraciona)10}$  padaju od 0,8534 g cm<sup>-3</sup> (kontrola) do 0,5887 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 5) te počinju rasti do 0,6494 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 30). Vibraciona nasipna gustoća  $\rho_{(vibraciona)100}$  u rasponu je od 0,7849 g cm<sup>-3</sup> (kontrola) do 0,4982 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 6), a  $\rho_{(vibraciona)1250}$  od 0,9479 g cm<sup>-3</sup> (kontrola) do 0,7167 g cm<sup>-3</sup> (uzorak 10). Vrijednosti Hausnerovog omjera i Carrovog indeksa ne pokazuju linearnost. Prema HR, većina uzoraka laktoze vrlo loše teče (uzorci 2, 6, 8, 12, 15), srednje slobodno tečenje karakteristično je za kontrolni uzorak, a uzorci 4 i 10 pripadaju kategoriji „loše teče”. Prema Carrovom indeksu većina uzoraka pripada kategoriji tečenja „vrlo loše” (uzorci 2, 6, 8, 12, 15), dva uzorka



kategoriji „korektno” (kontrola i uzorak 4) te uzorak 10 kategoriji „loše”.

Higroskopni prahovi, kao što su mnogi u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji, vezanjem vlage na sebe postaju kohezivniji zbog jačih sila adhezije među česticama, što bi trebalo uzrokovati smanjenje vrijednosti slobodnih nasipnih gustoća, no za finije prahove to ne vrijedi, osim ako su netom prosijani ili ako teku (Barbosa-Canovas i sur., 2005).

#### 4.5. MIKROSKOPSKA ANALIZA ČESTICA UZORKA

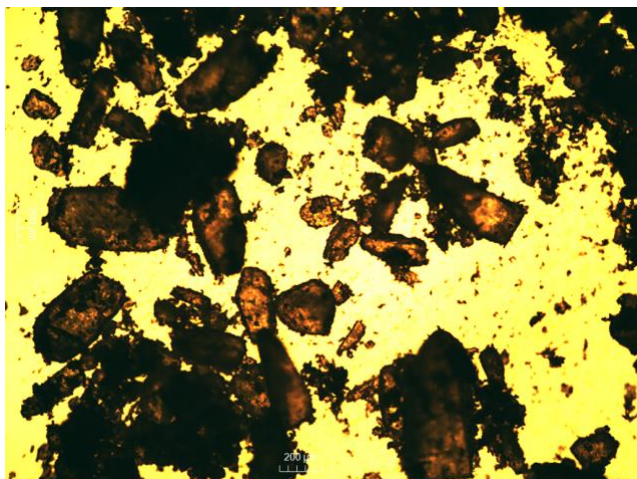


**Slika 2.** Mikroskopska slika škroba (kontrola)

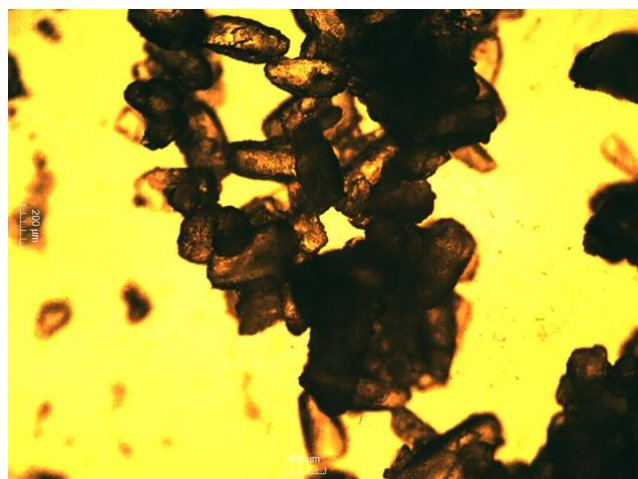
**Slika 3.** Mikroskopska slika škroba (uzorak 30)

Povećanjem udjela vlage u uzorcima škroba raste srednja vrijednost Feretova promjera uzoraka. Na slici 2 prikazane su čestice kontrole, a na slici 3 čestice uzorka 30. Raspon srednje vrijednosti Feretova promjera je između 44,2  $\mu\text{m}$  (kontrola) i 1024,50  $\mu\text{m}$  (uzorak 30). Srednje vrijednosti Feretova promjera za ostale uzorke iznosile su: 49,12  $\mu\text{m}$  (uzorak 2), 60,60  $\mu\text{m}$  (uzorak 4), 51,43  $\mu\text{m}$  (uzorak 6), 52,94  $\mu\text{m}$  (uzorak 8), 73,04  $\mu\text{m}$  (uzorak 10), 82,55  $\mu\text{m}$  (uzorak 12), 68,23  $\mu\text{m}$  (uzorak 15) i 846,29  $\mu\text{m}$  (uzorak 20).

Porastom udjela vlage također raste i srednja površina čestica škroba. Najmanja površina čestica izmjerena je za kontrolni uzorak i iznosi 135,77  $\mu\text{m}^2$ , dok je za uzorak 30 izmjerena najveća površina koja iznosi 41896,55  $\mu\text{m}^2$ . Srednje vrijednosti površine čestica za ostale uzorke iznose: 150,56  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 2), 184,16  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 4), 157,28  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 6), 161,98  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 8), 220,48  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 10), 247,68  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 12), 204,93  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 15) i 34854,11 (uzorak 20).



**Slika 4.** Mikroskopska slika laktoze (kontrola)



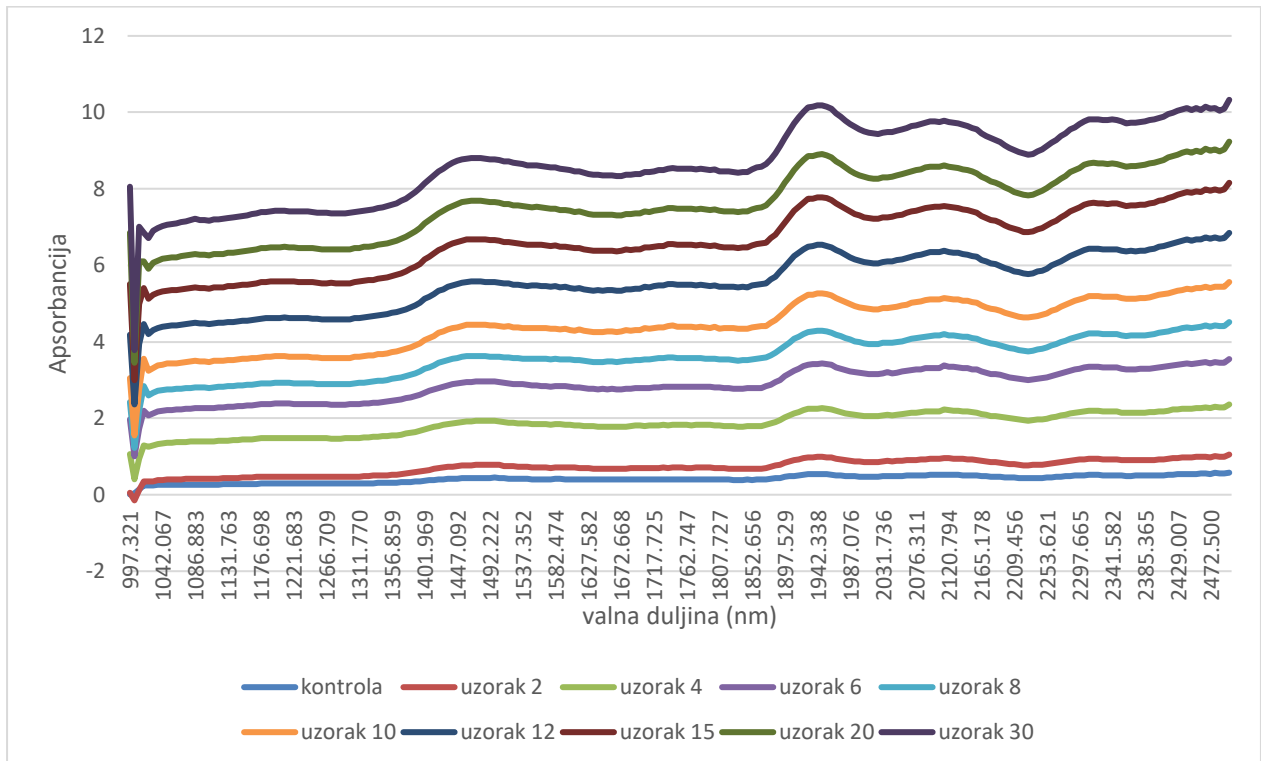
**Slika 5.** Mikroskopska slika laktoze  
(uzorak 15)

Povećanjem udjela vode u uzorcima laktoze raste i srednja vrijednost Feretova promjera uzoraka. Raspon srednje vrijednosti Feretova promjera je između 197,88  $\mu\text{m}$  (kontrola, slika 4) i 849,82  $\mu\text{m}$  (uzorak 15, slika 5). Vrijednosti Feretova promjera za ostale uzorke iznose: 240,21  $\mu\text{m}$  (uzorak 2), 492,01  $\mu\text{m}$  (uzorak 4), 482,46  $\mu\text{m}$  (uzorak 6), 649,35  $\mu\text{m}$  (uzorak 8), 871,88  $\mu\text{m}$  (uzorak 10), 644,54  $\mu\text{m}$  (uzorak 12) i 849,81  $\mu\text{m}$  (uzorak 15).

Porastom udjela vlage također raste i srednja površina čestica laktoze. Vrijednosti površine čestica su u rasponu od 581,81  $\mu\text{m}^2$  (kontrola) do 38223,14  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 15). Površine čestica za ostale uzorke iznose: 11003,13  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 2), 20883,62  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 4), 20482,76  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 8), 35689,66  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 10) te 36721,24  $\mu\text{m}^2$  (uzorak 12).

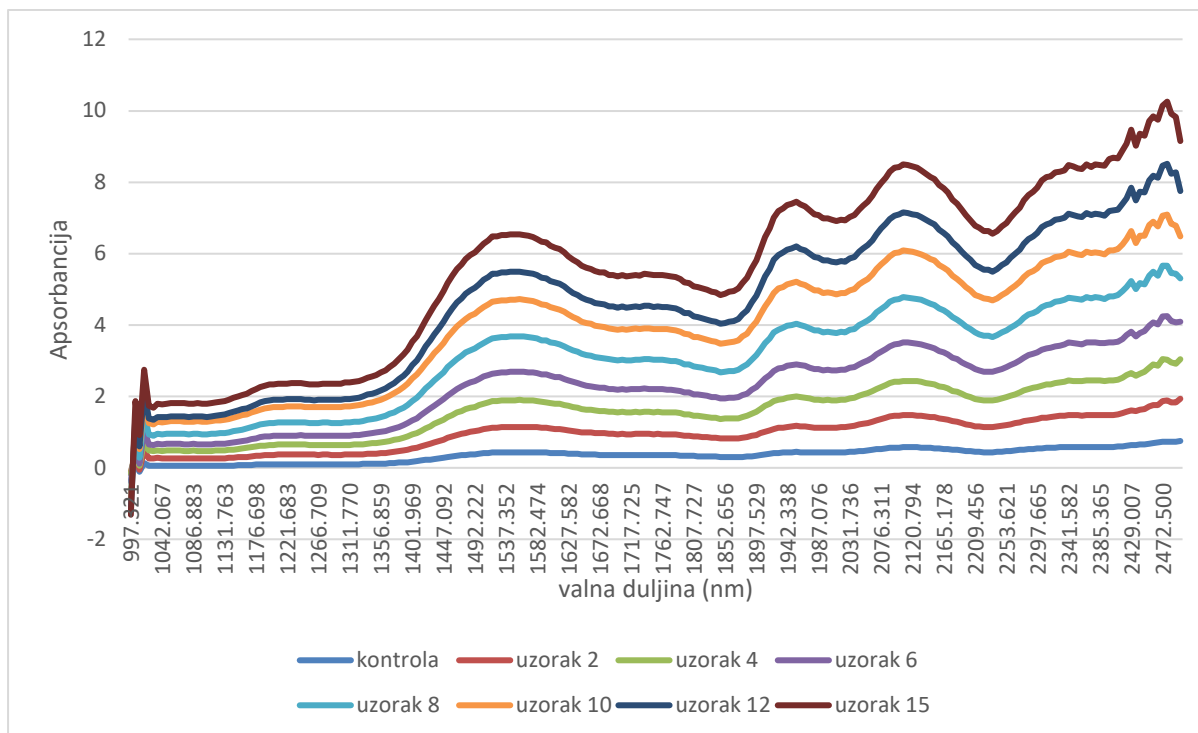
Do saznanja da povećanim udjelom vlage raste i srednja vrijednost veličine čestica došli su i Moon i Yoon (2018). U istraživanju proveli su mljevenje biljke balon cvijet pri različitim udjelima vlage (8 %, 12 % i 20 %) te su utvrdili da nakon jednakog vremena mljevenja čestice s većim udjelom vlage imaju i veću srednju vrijednost promjera.

#### 4.6. NIR SPEKTROSKOPIJA



**Slika 6.** Prikaz sirovih NIR spektara uzoraka škroba kondicioniranih na različite udjele vlage

Prema grafu na slici 6, koji prikazuje apsorbancije pri odgovarajućim valnim duljinama, vidljivo je da krivulje svih uzoraka škroba (kontrola, uzorci 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 20, 30) imaju isti oblik. Voda značajno apsorbira u blisko-infracrvenom spektralnom području, a ustanovljeno je pet apsorpcijskih vrpci pri 760, 970, 1190, 1450 i 1940 nm (Curcio i Petty, 1951). Zbog toga se na krivuljama vide pikovi pri valnim duljinama ~1447,092 nm i ~1942,338 nm, a apsorbancije pri tim valnim duljinama rastu kako raste i udio vlage u uzorcima škroba..



**Slika 7.** Prikaz sirovih NIR spektara uzoraka laktoze kondicioniranih na različite udjele vlage

Prema grafu na slici 7, koji prikazuje apsorbancije pri odgovarajućim valnim duljinama, vidljivo je da krivulje svih uzoraka laktoze (kontrola, uzorci 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15) imaju isti oblik. Kod uzoraka laktoze izraženi su pikovi pri valnim duljinama ~1492,22 nm i ~1942,338 te su svojevrsna oznaka sadržaja vlage. Porastom udjela vlage od kontrole do uzorka 15 rastu i apsorbancije, posebno kod već spomenutih apsorpcijskih vrpci karakterističnih za vodu.

#### 4.7. ANALIZA METODOM PARCIJALNIH NAJMANJIH KVADRATA

**Tablica 11.** PLS modeli pripadnih izlaznih varijabli - nagib, odstupanje, RMSE i  $R^2$  vrijednosti kalibracijskih (cal) i validacijskih modela (val) za uzorke škroba

	nagib (cal)	nagib (val)	odstupanje (cal)	odstupanje (val)	RMSE (cal)	RMSE (val)	$R^2$ (cal)	$R^2$ (val)
udio vlage	0,9865	0,9298	0,2250	1,3761	0,6558	3,7310	0,9865	0,6449
$a_w$	0,9790	0,9869	0,0157	0,05281	0,0255	0,1124	0,9790	0,6692
$\rho_0$	0,95964	1,1287	0,0162	-0,0613	0,0136	0,0463	0,9596	0,6201
$\rho_{\text{vibraciona}}$ (10)	0,8349	0,7162	0,0732	0,1287	0,0253	0,0367	0,8349	0,7153
$\rho_{\text{vibraciona}}$ (100)	0,8604	0,7390	0,0679	0,1371	0,0263	0,0544	0,8604	0,5160
$\rho_{\text{vibraciona}}$ (1250)	0,9064	0,6430	0,0480	0,1787	0,0238	0,0588	0,9064	0,5392
HR	0,9227	0,4770	0,0995	0,6076	0,0272	0,2185	0,9227	nema podatka
$l_c$	0,9228	0,4770	2,2202	8,4640	2,7213	21,8489	0,9227	nema podatka
$L^*$	0,8623	0,5391	12,9747	43,5940	0,5260	1,4077	0,8623	0,2011
$a^*$	0,8221	0,4426	-0,0129	-0,2425	0,1894	0,7528	0,8221	nema podatka
$b^*$	0,7999	0,0745	1,3594	6,060	0,1754	1,0061	0,7998	nema podatka
C	0,7089	0,2232	1,9723	4,9036	0,2647	1,5498	0,7089	nema podatka
h	0,7924	0,8469	18,7770	14,9318	1,7971	9,3352	0,7924	nema podatka
$\Delta E$	0,8532	0,4779	0,1860	0,6945	0,3398	0,7095	0,8532	0,4816
površina čestica	0,9948	0,7779	4,1123	-450,5077	351,8538	5570,7378	0,9995	0,8934
Feretov promjer	0,9990	0,8181	0,2350	-1,0774	11,1363	121,9586	0,9990	0,9030

Za procjenu prikladnosti dobivenih PLS (metoda parcijalnih najmanjih kvadrata) modela primjenjuju se parametri  $R^2$  (cal) i  $R^2$  (val) te parametri RMSE (cal) i RMSE (val) prikazani u tablici 11 za škrob.  $R^2$  označava koeficijent determinacije, a RMSE korijen srednje kvadratne pogreške.

PLS model, koji je kao izlaznu varijablu koristio parametar udio vlage, ima zadovoljavajuće vrijednosti  $R^2$  i RMSE kalibracije i one iznose 0,9865 i 0,6558.  $R^2$  vrijednost validacije manja je i iznosi 0,6449, a RMSE je veća u odnosu na kalibraciju i iznosi 3,731. Unatoč tome, može se reći da PLS model dobro predviđa vrijednosti udjela vlage kod uzoraka škroba.

PLS model s izlaznom varijablom aktivitet vode ( $a_w$ ) ima vrijednosti  $R^2$  i RMSE kalibracije 0,0255 i 0,9790. Za validaciju navedeni parametri iznose 0,1124 (RMSE) i 0,6692 ( $R^2$ ) te se može zaključiti da PLS model dobro predviđa vrijednosti aktiviteta vode kod uzoraka škroba.

PLS modeli, s vrijednostima nasipnih gustoća kao izlaznim varijablama, najbolje su se pokazali u procjeni vibracione nasipne gustoće  $\rho_{\text{vibraciona (10)}}$ . Vrijednosti parametara procjene prikladnosti za kalibraciju iznose 0,0253 (RMSE) i 0,8349 ( $R^2$ ), dok za validaciju iznose 0,0367 (RMSE) i 0,7153 ( $R^2$ ). Na temelju relativno visokih vrijednosti  $R^2$  i niskih vrijednosti RMSE može se zaključiti da je izrađeni PLS model prikladan za procjenu vibracione nasipne gustoće nakon 10 udaraca vibracionog volumetra ( $\rho_{\text{vibraciona (10)}}$ ). PLS model, koji je kao varijablu odgovora imao vibracionu nasipnu gustoću nakon 100 udaraca vibracionog volumetra ( $\rho_{\text{vibraciona (100)}}$ ), pokazao se najlošijim za predviđanje. Vrijednosti parametara procjene za kalibraciju zadovoljavajuće su i iznose 0,0238 (RMSE) i 0,9064 ( $R^2$ ), no  $R^2$  relativno je niski (0,5160) i može se reći da PLS model ne može dobro predvidjeti nasipnu gustoću  $\rho_{\text{vibraciona (100)}}$ . Isto vrijedi i za PLS model koji je kao izlaznu varijablu imao vibracionu nasipnu gustoću  $\rho_{\text{vibraciona (1250)}}$  - za kalibraciju  $R^2$  iznosi 0,9064 i RMSE 0,0263, dok su vrijednosti parametara procjene za validaciju 0,5392 ( $R^2$ ) i 0,0588 (RMSE). Slobodnu nasipnu gustoću  $\rho_0$  PLS model može relativno dobro procijeniti –  $R^2$  i RMSE kalibracije iznose 0,9596 i 0,0136, dok su vrijednosti navedenih parametara za validaciju 0,6201 ( $R^2$ ) i 0,0463 (RMSE)

PLS modeli kojima su izlazne varijable bili parametri procjene svojstava tečenja Hausnerov omjer (HR) i Carrov indeks ( $I_C$ ) ne mogu se koristiti za predikciju. PLS model kojem je varijabla odgovora bila HR ima vrijednosti  $R^2$  i RMSE 0,9064 i 0,0272 za kalibraciju i 0,2185 (RMSE) za validaciju, a vrijednost  $R^2$  validacije uopće se nije mogla izračunati.  $R^2$  validacije nije se mogla izračunati ni kod PLS modela čija je izlazna varijabla  $I_C$  – ostali parametri iznose 0,9227 ( $R^2$  kalibracije), 2,7213 (RMSE kalibracije) i 21,8489 (RMSE validacije).

Također se dobiveni PLS modeli ne mogu koristiti za predikciju parametara boje uzoraka

škroba. PLS model kojem je varijabla odgovora bila Hunterova koordinata  $L^*$  (označava svjetlinu uzorka) ima vrijednosti kalibracije 0,8623 ( $R^2$ ) i 0,5260 (RMSE), dok za kalibraciju vrijede parametri procjene 1,4077 (RMSE) i 0,2011 ( $R^2$ ). Navedeni koeficijent determinacije male je vrijednosti, što znači da regresijski model ne odgovara dobro stvarnim podacima, odnosno da je u ukupnoj varijanci samo 20,11 % varijance objašnjeno. Nešto veća vrijednost  $R^2$  validacije prisutna je kod PLS modela kojem je varijabla odgovora bila ukupna promjena boje  $\Delta E$  te iznosi 0,4816, dok RMSE validacije iznosi 0,7095. Vrijednosti parametara procjene prikladnosti za kalibraciju su 0,8532 ( $R^2$ ) i 0,3398 (RMSE). PLS modeli kojima su izlazne varijable bile Hunterove koordinate  $a^*$  (predstavlja raspon od zelene do crvene boje),  $b^*$  (raspon od plave do žute), C (zasićenje boje) i hue (ton boje) nisu dali vrijednosti koeficijenta determinacije validacije, stoga se ne mogu koristiti za predikciju. Kod PLS modela kojem je varijabla odgovora  $a^*$ , vrijednosti parametara za procjenu prikladnosti su slijedeći: 0,8221 ( $R^2$  validacije), 0,1894 (RMSE kalibracije), 0,7528 (RMSE validacije); za izlaznu varijablu  $b^*$  iznose 0,7998 ( $R^2$  kalibracije), 0,1754 (RMSE kalibracije) i 1,0061 ( $R^2$  validacije); za izlaznu varijablu C iznose 0,7089 ( $R^2$  kalibracije), 0,2647 (RMSE kalibracije) i 1,5498 (RMSE validacije); za izlaznu varijablu hue iznose 0,7942 ( $R^2$  kalibracije), 1,7971 (RMSE kalibracije) i 9,3352 (RMSE validacije).

Kada je izlazna varijabla prilikom kreiranja PLS modela bila površina čestica, dobivene su vrijednosti za kalibraciju 0,9995 ( $R^2$ ) i 351,8538 (RMSE). Vrijednost  $R^2$  validacije izrazito je zadovoljavajuća i iznosi 0,8934 te je razvijeni model prikladan za predviđanje površine čestica. RMSE validacije iznosi 5570,7378. Slično vrijedi i za PLS model kojem je izlazna varijabla promjer čestica (Feret). Dobivena je visoka vrijednost  $R^2$  validacije (0,9030) i kalibracije (0,9990) te je razvijeni model prikladan za predviđanje Feretova promjera u česticama laktoze.

**Tablica 12.** PLS modeli pripadnih izlaznih varijabli - nagib, odstupanje, RMSE i  $R^2$  vrijednosti kalibracijskih (cal) i validacijskih modela (val) za uzorke laktoze

	nagib (cal)	nagib (val)	odstupanje (cal)	odstupanje (val)	RMSE (cal)	RMSE (val)	$R^2$ (cal)	$R^2$ (val)
udio vlage	0,9541	0,8147	0,2680	0,4483	0,7799	1,6145	0,9541	0,8494
$a_w$	0,6426	0,0370	0,3191	0,9027	0,0691	0,1382	0,6426	nema podatka
$\rho_0$	0,5790	-0,1831	0,2383	0,6248	0,0550	0,1268	0,5790	nema podatka
$\rho_{\text{vibraciona (10)}}$	0,6183	-0,1623	0,2488	0,7259	0,0482	0,1054	0,6183	nema podatka
$\rho_{\text{vibraciona (100)}}$	0,6162	-0,2730	0,2886	0,9319	0,0398	0,0934	0,6162	nema podatka
$\rho_{\text{vibraciona (1250)}}$	0,7388	-0,4011	0,2116	1,0999	0,0386	0,1234	0,7388	nema podatka
HR	0,8681	0,5500	0,1906	0,6569	0,0483	0,1147	0,8681	0,4309
$l_c$	0,8681	0,5504	5,8744	20,7230	4,8324	11,4723	0,8681	0,4309
$L^*$	0,8005	0,4001	17,879	53,8160	0,8830	1,7131	0,8005	0,4251
$a^*$	0,9689	0,6431	-0,1026	-1,2030	0,1056	0,3926	0,9689	0,6713
$b^*$	0,9994	0,9580	0,01583	0,7593	0,0846	1,1534	0,9994	0,9087
C	0,9996	0,9570	0,0106	0,7909	0,0700	1,1038	0,9996	0,9186
h	0,8499	-0,6196	14,6529	158,2472	0,2440	1,2346	0,8499	nema podatka
$\Delta E$	0,9620	0,8212	0,3008	1,2591	0,7456	2,0092	0,9620	0,7885
površina čestica	0,9999	0,7149	0,6312	5374,434	63,7174	6048,0898	0,9999	0,8206
Feretov promjer	0,9796	0,7266	11,8064	103,3961	36,0731	145,7108	0,9795	0,7449

PLS model, koji kao izlaznu varijablu koristi udio vlage uzoraka laktoze (Tablica 12), može vrlo dobro predvidjeti udio vlage.  $R^2$  vrijednosti kalibracije i validacije vrlo su visoke i iznose 0,9541 (kalibracija) i 0,9494 (validacija), dok su vrijednosti korijena srednje kvadratne pogreške (RMSE) relativno male i iznose 0,7799 za kalibraciju i 1,6145 za validaciju.

Predvidjeti aktivitet vode ( $a_w$ ) nije moguće primjenom kreiranog PLS modela.  $R^2$  vrijednost validacije nije dobivena, a za kalibraciju parametri procjene prikladnosti iznose 0,0691 (RMSE) i 0,6426 ( $R^2$ ).

Isto tako nije moguće predvidjeti niti slobodnu nasipnu gustoću ( $\rho_0$ ) ili preostale vibracione nasipne gustoće ( $\rho_{\text{vibraciona (10)}}$ ,  $\rho_{\text{vibraciona (100)}}$ ,  $\rho_{\text{vibraciona (1250)}}$ ) primjenom kreiranih PLS modela. Za



PLS model kojem je izlazna varijabla  $\rho_0$ , vrijednosti  $R^2$  i RMSE kalibracije iznose 0,5790 i 0,0550, dok RMSE validacije iznosi 0,1268; kada je izlazna varijabla  $\rho_{\text{vibraciona (10)}}$  oni iznose 0,6183 ( $R^2$  kalibracije), 0,0482 (RMSE kalibracije) i 0,6183 (RMSE validacije); za izlaznu varijablu  $\rho_{\text{vibraciona (100)}}$  iznose 0,6162 ( $R^2$  kalibracije), 0,0398 (RMSE kalibracije) i 0,0934 (RMSE validacije); te kada je izlazna varijabla  $\rho_{\text{vibraciona (1250)}}$  parametri procjene prikladnosti su 0,7388 ( $R^2$  kalibracije), 0,0386 (RMSE kalibracije) i 0,1234 (RMSE validacije).

Za izlaznu varijablu HR su vrijednosti kalibracije  $R^2$  i RMSE 0,8681 i 0,0483. Vrijednosti parametara procjene prikladnosti za validaciju iznose 0,4309 ( $R^2$ ) i 0,1147 (RMSE). Navedena vrijednost koeficijenta determinacije kalibracije je visoka što znači da se navedeni model uspješno može koristiti u predviđanju HR, međutim zbog znatno niže  $R^2$  vrijednosti validacije, preporučena je upotreba modela samo u kvalitativne svrhe, a ne u kvantitativne. Slična vrijednost  $R^2$  validacije pristupa je i kod PLS modela s izlaznom varijablom  $I_C$  te iznosi 0,4309. Ostali parametri procjene prikladnosti iznose 0,8681 ( $R^2$  kalibracije), 4,8324 (RMSE kalibracije) te 11,4723 (RMSE validacije).

Kada je u pitanju predviđanje svjetline uzoraka laktoze ( $L^*$ ), kreirani PLS model ne može se koristiti za predikciju što pokazuje  $R^2$  vrijednost validacije (0,4251) te puno varijance u izlaznoj varijabli ostaje neobjašnjeno. RMSE validacije iznosi 1,7131, dok su za kalibraciju 0,8005 ( $R^2$ ) i 0,8830 (RMSE). Nešto bolja predviđanja postižu se s PLS modelom s izlaznom varijablom  $a^*$  jer su  $R^2$  vrijednosti 0,6713 (validacija) i 0,9689 (kalibracija), te su RMSE vrijednosti relativno niske i iznose 0,3926 (validacija) i 0,1056 (kalibracija). Parametar  $b^*$ , koji predstavlja raspon boje od plave do žute, vrlo se dobro može procijeniti kreiranim PLS modelom.  $R^2$  vrijednosti kalibracije iznose 0,9994, a validacije 0,9087 te su RMSE vrijednosti za kalibraciju 0,0846 i 1,1534 za validaciju. Zasićenje boje uzoraka laktoze također se može dobro predvidjeti budući da su vrijednosti  $R^2$  za kalibraciju i validaciju relativno visoke i iznose 0,9996 i 0,9186, dok su vrijednosti RMSE 0,0846 (kalibracija) i 1,1038 (validacija). Ton boje ne može se predvidjeti pomoću kreiranog PLS modela, a vrijednosti kalibracije iznose 0,8499 ( $R^2$ ) i 0,2440 (RMSE), dok je RMSE validacije 1,2346. Kada je izlazna varijabla PLS modela ukupna promjena boje  $\Delta E$ , dobije se model prikladan za predviđanje navedenog parametra. Iznosi  $R^2$  validacije i kalibracije relativno su visoki i iznose 0,9620 (kalibracija) i 0,7885 (validacija). Isto tako su i vrijednosti RMSE za kalibraciju i validaciju relativno niske te iznose 0,7456 (kalibracija) i 2,0092 (validacija).

PLS model razvijen s ciljem predviđanja površine čestica laktoze, usprkos visokih vrijednosti  $R^2$  kalibracije i validacije (0,9999 i 0,8206), mogu biti nepogodni u predikciji jer je RMSE vrijednost validacije skoro sto puta veća od RMSE kalibracije (63,7174 i 6048,0898). Korijen srednje kvadratne pogreške (RMSE) pokazatelj je prosječne udaljenosti stvarnih varijabli od

onih koje statistički model predviđa, a velika vrijednost tog parametra označava da model lošije predviđa varijable odgovora. Kada je u pitanju predviđanje Feretova promjera, razlika između RMSE kalibracije i validacije manja je (36,0731 i 145,7108) i vrijednosti  $R^2$  kalibracije i validacije relativno su visoke (0,9795 i 0,7449) te je razvijeni PLS model relativno dobar u predviđanju navedenog fizikalnog svojstva čestica laktoze.

## 5. ZAKLJUČCI

- Porastom udjela vlage u uzorcima škroba raste i aktivitet vode, dok porastom udjela vlage u laktozi dolazi do velikog skoka u vrijednosti aktiviteta te daljnjim porastom vlage ostaje nepromijenjen.
- Povećanje udjela vlage u uzorcima škroba uzrokuje pad svjetline ( $L^*$ ), povećanje intenziteta crvene boje ( $a^*$ ) i vrijednosti tona (hue) boje, a ne uzrokuje značajne promjene u rasponu od plave do žute boje ( $b^*$ ) ili u zasićenju boje (C). Povećanje udjela vlage u uzorcima škroba uzrokuje pad svjetline ( $L^*$ ), a uzorci su sve bliže zelenoj boji ( $a^*$ ). Uzorci bivaju sve bliži žutoj boji kako raste udio vlage ( $b^*$ ) te zasićenje boje također raste (C). Ne dolazi do značajnih promjena u tonu boje (hue) porastom sadržaja vlage.
- Ne postoji linearna ovisnost između udjela vlage u uzorcima škroba i laktoze i Hausnerovog omjera ili Carrovog indeksa.
- Porastom udjela vlage u uzorcima škroba i laktoze dolazi do povećanja Feretovog promjera i površine čestice.
- Porast udjela vlage uzrokuje veće apsorpcije u asporpcijskim vrpčama vode.
- Primjenom PLS modela moguća su predviđanja fizikalnih svojstava škroba kao što su stvarni udio vlage, aktivitet vode, vibraciona nasipna gustoća  $\rho_{\text{vibraciona}}^{(10)}$ , slobodna nasipna gustoća  $\rho_0$ , Feretov promjer i površina čestica, dok za parametre boje i svojstva tečenja PLS modeli nisu pokazali dobro predviđanje.
- Primjenom PLS modela moguća su predviđanja fizikalnih svojstava laktoze kao što su stvarni udio vlage, raspon boje od plave do žute ( $b^*$ ) i od zelene do crvene ( $a^*$ ), zasićenje boje (C), ukupna promjena boje ( $\Delta E$ ) te Feretov promjer i površina čestica, dok za aktivitet vode, ton boje, slobodnu i vibracionu nasipnu gustoću te svojstva tečenja PLS modeli nisu pokazali dobro predviđanje.

## 6. POPIS LITERATURE

Abdi H, Williams L (2010) Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics* **2**, 433-459. <https://doi.org/10.1002/wics.101>

Akhgari, A, Sadeghi H, Dabbagh MA (2014) Modification of flow and compressibility of corn starch using quasi-emulsion solvent diffusion method. *Iran. J. Health Sci.*, **17(8)**, 553–559.

Aviara N, Igbeka J, Nwokocha L (2010) Physicochemical properties of sorghum (sorghum bicolor L. Moench) starch as affected by drying temperature. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal* **12**, 85–94. <https://cigrjournal.org/index.php/Ejournal/article/view/1516>

Barbosa-Canovas GV, Ortega-Rivas E, Juliano P, Yan H (2005) Food Powders: Physical Properties, Processing and Functionality, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, str. 76

Chudy S, Biliska A, Kowalski R, Teichert J (2020) Colour of milk and milk products in CIE Lab space. *Medycyna Weterynaryjna* **76**, 77–81. <https://doi.org/10.21521/mw.6327>

Curcio J, Petty C (1951) The Near Infrared Absorption Spectrum of Liquid Water. *Journal of the Optical Society of America* **41(5)**, 302. <https://doi.org/10.1364/josa.41.000302>

Dhanalakshmi K, Ghosal S, Bhattacharya S (2011) Agglomeration of food powder and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **51**, 432–441. <https://doi.org/10.1080/10408391003646270>

Dominici S, Marescotti F, Sanmartin C, Macaluso M, Taglieri I, Venturi F i sur. (2022) Lactose: Characteristics, Food and Drug-Related Applications, and Its Possible Substitutions in Meeting the Needs of People with Lactose Intolerance. *Foods* **11** <https://doi.org/10.3390/foods11101486>

Eadala P, Waud J, Matthews S, Green J, Campbell A (2009) Quantifying the “hidden” lactose in drugs used for the treatment of gastrointestinal conditions. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **29(6)**, 677–687. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2008.03889.x>

Hartesi B, Sriwidodo Abdassah M, Chaerunisaa AY (2016) Starch as pharmaceutical excipient. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, **41(2)**, 59–64.

Kudo Y, Yasuda M, Matsusaka S (2020) Effect of particle size distribution on flowability of granulated lactose. *Advanced Powder Technology*, **31(1)**, 121–127. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2019.10.004>

Lefnaoui S, Moulai-Mostefa N (2015) Synthesis and evaluation of the structural and physicochemical properties of carboxymethyl pregelatinized starch as a pharmaceutical excipient. *Saudi Pharm. J.*, **23(6)**, 698–711. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.01.021>

Lim J, Mo C, Kim G, Kang S, Lee K, Kim MS i sur. (2014) Non-destructive and Rapid Prediction of Moisture Content in Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Powder Using Near-infrared Spectroscopy and a Partial Least Squares Regression Model. *Journal of Biosystems Engineering*, **39(3)**, 184–193. <https://doi.org/10.5307/jbe.2014.39.3.184>

Moon JH, Yoon WB (2018) Effect of moisture content and particle size on grinding kinetics and flowability of balloon flower (*Platycodon grandiflorum*). *Food Sci. Biotechnol.*, **27(3)**, 641–650. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0291-z>

Nagarajan R, Singh P, Mehrotra R (2006) Direct determination of moisture in powder milk using near infrared spectroscopy. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry* **2006**, 1-4. <https://doi.org/10.1155/JAMMC/2006/51342>

Nagpal N, Kaur P, Kumar R, Rahar S, Dhawan R, Arora M (2016) PHARMACEUTICAL DILUENTS AND THEIR UNWANTED EFFECTS: A REVIEW. *Bull. Pharm. Res.*, **6(2)**, 45–49. <https://doi.org/10.21276/bpr.2016.6.2.2>

Ocieczek A (2014) Comparison of the sorption properties of milk powder with lactose and without lactose. *Acta Agroph.*, **21(4)**, 457-468, doi: <http://www.acta-agrophysica.org/Comparison-of-the-sorption-properties-of-milk-powder-with-lactose-and-with-out-lactose,104930,0,2.html>

Opaliński I, Chutkowski M, Hassanpour A (2016) Rheology of moist food powders as affected by moisture content. *Powder Technol.*, **294**, 315–322.

<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2016.02.049>

Pandey VP, Reddy KV, Amarnath R (2009) STUDIES ON DILUENTS FOR FORMULATION OF TABLETS. *Int. J. Chem. Sci.*, **7**, 2273–2277.

Senjković R (1994) Osnove oblikovanja lijekova, 1. izd., Školska knjiga, Zagreb, str. 148-155.

Shi C, Zhao H, Fang Y, Shen L, Zhao L (2023) Lactose in tablets: Functionality, critical material attributes, applications, modifications and co-processed excipients. *Drug Discov. Today*, **28**.  
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2023.103696>

Shukla AJ, Price JC (1991) Effect of moisture content on compression properties of directly compressible high beta-content anhydrous lactose. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **17(15)**, 2067–2081. <https://doi.org/10.3109/03639049109048533>

Stasiak M, Molenda M, Horabik J, Fornal J, Błaszczak W, Ornowski A. (2006). MICROSTRUCTURE AND MECHANICAL PARAMETERS OF FIVE TYPES OF STARCH. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, **15**, 161–168. doi:  
<https://journal.pan.olsztyn.pl/MICROSTRUCTURE-AND-MECHANICAL-PARAMETERS-OF-FIVE-TYPES-OF-STARCH,97933,0,2.html>

Vaidya MP, Avachat AM (2011) Investigation of the impact of insoluble diluents on the compression and release properties of matrix based sustained release tablets. *Powder Technology*, **214(3)**, 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2011.08.035>

## Izjava o izvornosti

Ja Nika Gustetić 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