



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Behi esnearen gantz edukiaren
determinazioa NIR espektroskopia
eta kimimetria erabiliz**

*Jokin Ezenarro, Iker García
eta Miren Ostra*

95-101 or.
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.05.12>



Behi-esnearen gantz edukiaren determinazioa NIR espektroskopia eta kimiometria erabiliz

Ezenarro, J.¹; García, I.² eta Ostra, M.¹

¹*Kimika Aplikatua, Kimika Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU*

²*AOTECH
jezenarro001@ikasle.ehu.eus*

Laburpena

Esnearen gantz edukia ezagutzea beharrezkoa da gaur egungo elikagaien industrian, eta metodo tradizionalak erabili beharrean NIR espektroskopia erabiltzeak bertako eta zuzeneko analisiak egitea ahalbidetzen du. Hau honela, esnearen gantz edukia determinatzeko metodo alternatibo honen azterketa egin da, espektrometro berri baten garapenak beharrezkoak dituen kalibratuak sortuz aldagai anitzeko analisia (kimiometria) eta NIR espektroen prozesaketaa baliatuz esne motaren arabera sailkapen ereduak eta gantz edukia aurrerako ereduak sortzeko modu ezberdinak aztertuz.

Hitz gakoak: esne, gantz, NIR, espektroskopia, kimiometria

Abstract

Knowing the fat content of the milk is compulsory in the modern industry, and using NIR spectroscopy instead of the traditional methods allows for the analysis to be carried out in the place and immediately. This being a need, this alternative method for the milk fat content determination has been researched, building the calibration models that the development of a new spectrometer needs, using multivariable analysis (chemometrics) and different processings of NIR spectra to examine different ways of creating models for classifying milks by type and predicting its fat content.

Keywords: milk, dairy, fat, NIR, spectroscopy, chemometrics

1. Sarrera eta motibazioa

Behi-esnea gizartearen gehiengoaren dietan dagoen elikagaia da, jatorrizko egoeran edo deribatu moduan (jogurta, gazta, etab.), beraz, funtsezkoa da honen ezaugarriak eta kalitatea ezagutzea. Honetarako gehien erabiltzen diren metodoak laborategiko analisi tradizionalak dira: gantzarentzat Mojonier (AOAC, 2007) edo Gerber (AOAC, 2007) metodoak. Metodo hauek prestaketa eta analisi prozesu luzeak dituzte, ordea, eta lagina hartzen denetik emaitzak izan arte orduak edo egunak igaro daitezke.

Teknika espektroskopikoek, tradizionalak ez bezala, berehalako emaitzak eskaini ditzakete kasu honetan bezala laginaren prestakuntzarik behar ez bada, hau da, laginak bildu, tratatu, seinale bat neurtu eta prozesatu beharrean, zuzenean emaitza bat lor daiteke. Horregatik interesgarria da hauen garapena, batez ere industriarentzat. Kimika berdearen 11. printzipioa (Anastas eta Warner, 1998) jarraituz, produkzioaren ezaugarrien momentuko ezagutzak beharrezkoa bada momentuko aldakuntzak egitea ahalbidetzen du, galerak eta ingurugiroan duen eragina murriztuz.

Esnea matrize oso konplexuko lagina izaki, infragorri hurbilean (NIR) erreflektatzen duen argia sustantzia kopuru oso handi batek eragindakoa da, beraz, ez da nahikoa uhin-luzera batean dagoen aldakortasuna aztertzea analitoen kontzentrazioarekin zuzenean erlazionatzeko. Beharrezkoa da esnearen espektro osoa aztertzea analito edukia, hau da, gantz edukia aurrerango duen eredu bat eraiki nahi bada, edo esne motaren arabera sailkatu nahi bada. Hau egitea ahalbidetzen duen tresna da kimiometria, eta honek lantzen dituen arloen artean aldagai anitzeko analisia da lan honetan erabiliko dena. Estatistikaren adar honek aldagai (uhin-luzera) bakoitzaren balioetan dagoen aldakuntza eta azaldu nahi den propietatearen aldakuntza, kasu honetan gantz edukiaren aldakuntza, elkarren artean erlazionatzen ditu enpirikoki. Pisu gehiago duten aldagaiak aurkitu eta hauei koefiziente handiago bat esleitzen die erregresio bat sortzerako garaian, honela begi bistaz ikusten ez den eta korrelazio sinpleak erabiliz aurkitu ezin den informazioa erabilgarri bihurtzen da.

NIR espektroak lortzeko AOTECH enpresak garatutako espektrometroa erabili da: enpresa hau EHUKo Fotonika Aplikatuko Taldeko *spin-off* bat da, helburutzat industriarako baliabide fotonikoak garatzea duena. Elikagaien industriarako NIR espektroskopiarentzat AONIR izeneko plataforma sortuz merkatuko ekipoen prezioa asko murriztea lortu da, horrez gain informazioaren prozesaketa guztia egiten duten eta intereseko datuak (analisiaren emaitzak) bakarrik bidaltzen dituzten aparailuak garatuz. Gainera, espektrometro hau laginik hartu beharrik gabe lan egiteko garatu da, hau da, analizatu nahi den produktuarekin, kasu honetan esnearekin, denbora guztian kontaktuan egoteko, espektroak nahi denean bilduz. Sistema esne fluxua daraman hodira zuzenean konektatu daiteke, nahi adina neurketa eginez eta zuzeneko emaitzak lortuz inolako lanik egin gabe.

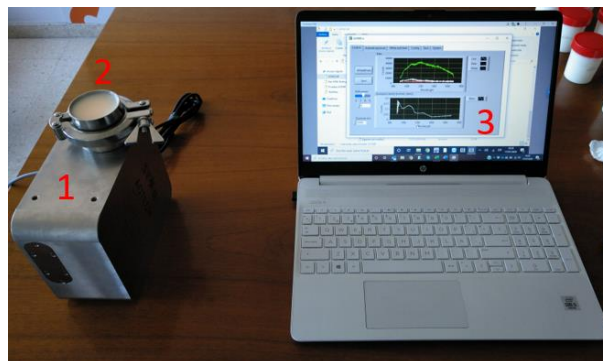
2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

NIR espektroskopia industrian gero eta gehiago erabiltzen den teknika analitikoa da, batez ere elikagaien industrian. Hainbat lan eta ikerketa egin dira metodo honekin behi-esnearen gantz edukia determinatzeko: hala nola Petri plaketan (dos Santos Pereira et al., 2020) edo hauspeakin ontzietan zunda baten bidez (Růžičková eta Šustová, 2018). Metodo hauek laginen bilketa, garraioa eta neurketa beharrezkoa dute oraindik, baita espektroen ondorengo prozesaketa ere. Bestalde, esan bezala, lan honetan erabili den AOTECH espektrometroaren helburua zuzeneko analisiak egitea da, hau da, sistema esnea produzitzen, garraiatzen edo prozesatzen den gunean bertan kokatzeko garatu da, zuzenean hodira edo tankera konektatu daiteke. Honek espektroak nahi denean neurtzea ahalbidetzen du, eta erregresio ereduak sistemak barneratuta dituzenez hauen prozesaketa ere berehalakoa da, neurtzen ari den produktuaren zuzeneko monitorizazioa egitea ahalbidetuz, beste inolako prozesaketa edo tratamendurik egin gabe. Gainera, IoT (Internet of Things) sistema baliatuz emaitza hauek nahi den lekuan jaso eta bildu daitezke, urruneko jarraipena ere posible eginez. Horregatik, ikerketa honen helburua neurtuko diren espektro hauek erabilgarria den datu bihurtuko dituen ereduak garatzea da, hala nola zein esne mota den edo zein den honen gantz edukia.

3. Ikerketaren muina

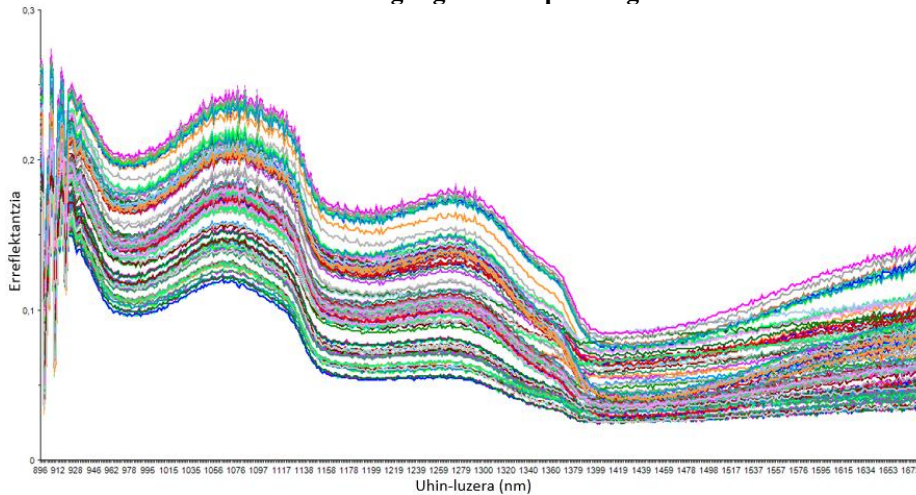
Ikerketa honen helburua hodietan zehar doan esnearen kalitatearen kontrola egiteko gai den instrumentu bat garatzea da. Horregatik espektroak lortzeko esnea espektrometroaren leihoaren kontra jarri da, esnea garraiatzen duen hodira zuzenean konektatzea simulatuz, 1. irudian ikus daitezkeen bezala. Espektrometro hau ordenagailu batetara konektatuta dago, espektroak berehala eskuratuz, eta behin ereduak sortutakoan baita esne mota eta gantz edukiaren datua ere.

1. irudia. 1: NIR espektrometroa; 2: Leihoa, esnearekin kontaktuan;
- 3: Espektrometroa kontrolatzeko ordenagailua eta softwarea.



Behin sistema hau funtzionala dela egiaztatuta laginketarekin ekin da: kalibratu bat osatzeko lehen pausoa adierazgarriak diren laginen karakterizazioa da, horretarako jatorri eta gantz eduki ezberdineko esne laginen NIR espektroak lortu dira, temperatura ezberdinetan. Espektro hauek 2. irudian ikus daitezkeen bezala 896 nm-tik 1685 nm-tarainoko tartea hartzen dute eta espektrometroaren ezaugarriek eraginda zaratsatuak dira eta gainezarri beharrean paraleloak dira, eta hau, ondoren azalduko den bezala, kontuan hartu behar da.

2. irudia. Esne lagin guztien espektro gordinak.



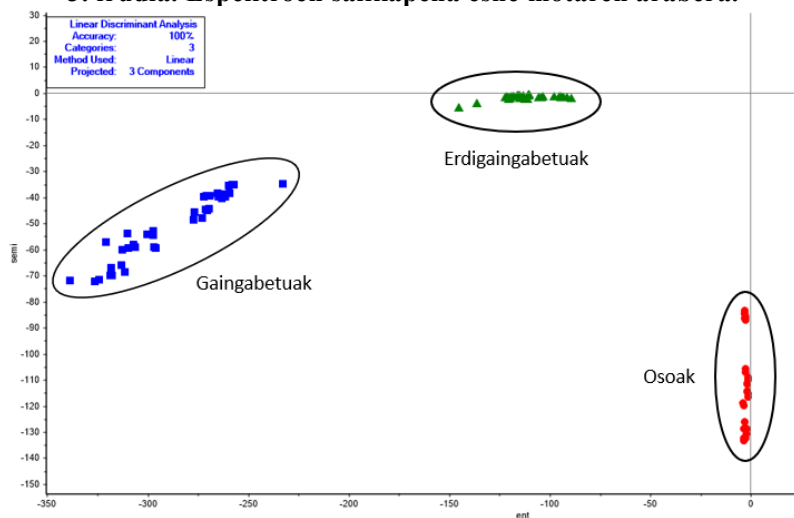
3.1. Sailkapen algoritmoa

Esan bezala izaera ezberdineko esne laginen espektroak neurtu dira, hala nola esne osoa (% 2-tik gorako gantz edukia), erdigaingabetua (% 0,5 eta 2 arteko gantz edukia) eta gaingabetua (% 0,5etik beherako gantz edukia), eta interesgarria denez NIR espektroskopiarekin hauek sailkatzea, hau egin dezakeen algoritmo bat sortu da.

Esne mota ezberdinen espektroak oso ezberdinak direnez zaratak ez du gehiegizko garrantzirik, beraz, espektro gordinak eta The Unscrambler© estatistika aurreratuko programaren LDA (Linear Discriminant Analysis) metodoa erabiliz espektro hauek esne mota bat edo bestean sailkatuko dituen algoritmo bat sortzea posible da. Honetarako kalibrazio laginak erabiltzen dira, hau da, espektroa zein esne mota ezaguna duten laginak. Algoritmo honek balio bat esleitzen dio banatu nahi diren taldeetako bakoitzari, ondoren, uhin-luzera bakoitzean dagoen aldakuntza balio hauekin erlazionatzen du, garrantzi gehien duten uhin-luzerei pisu handiagoa emanez. Azkenik, uhin-luzera bakoitzari koefiziente bat esleituz espektro bakoitzetik balio bat lortzen du, eta balio hori hasieran taldeei esleitutako zein balioetatik hurbilago dagoen ikusita talde horretan sailkatzen du.

3. irudian ikus daitekeenez LDA metodoak 3 talde oso banatuta sailkatzen ditu esne mota ezberdinen espektroak, horrek esan nahi duena da algoritmoa ona izango dela espektro berriak sailkatzen, ez baitu ziurra ez den tarterik. Are gehiago, programak aurreratu duen zehaztasuna %100ekoa da. Hau da, laginak ez direnez nahasten edo gainezartzen, argia izango da lagin bat talde batekoa edo bestekoa den espektroari eredu hau aplikatzerakoan.

3. irudia. Espektroen sailkapena esne motaren arabera.



Algoritmo hau baliozkotzeko kalibrazio eredutik kanpo utzi diren laginen espektroak aurrean dira algoritmo honekin, 1. taulan ikus daitezkeen emaitzak lortuz. Programak aurrean bezala, talde egokian sailkatutako laginen kopurua %100ekoa da.

1. taula. Sailkapenaren balidazioko emaitzak.

Lagina	Temperatura (°C)	Esne mota	Auresana
661-P 1	19	Osoa	Osoa
661-P 2	19	Osoa	Osoa
663-P 1	19	Erdigaingabetua	Erdigaingabetua
663-P 2	19	Erdigaingabetua	Erdigaingabetua
665-P 1	19	Gaingabetua	Gaingabetua
665-P 2	19	Gaingabetua	Gaingabetua
661-P 1	24	Osoa	Osoa
661-P 2	24	Osoa	Osoa
663-P 1	24	Erdigaingabetua	Erdigaingabetua
663-P 2	24	Erdigaingabetua	Erdigaingabetua
665-P 1	24	Gaingabetua	Gaingabetua
665-P 2	24	Gaingabetua	Gaingabetua
661-P 1	30	Osoa	Osoa
661-P 2	30	Osoa	Osoa
663-P 1	30	Erdigaingabetua	Erdigaingabetua
663-P 2	30	Erdigaingabetua	Erdigaingabetua
665-P 1	30	Gaingabetua	Gaingabetua
665-P 2	30	Gaingabetua	Gaingabetua

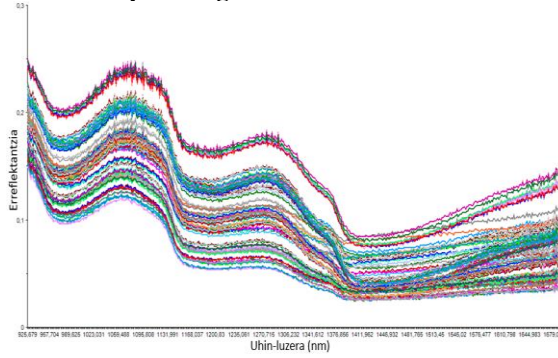
3.2. Gantz kontzentrazioaren determinazioa

Hurrengo pauso naturala esnearen gantz eduki zehatza auresango duen algoritmo bat sortzea da. Kalibratu hobeak lortzeko asmoz espektroen prozesaketa ezberdinak probatu dira, hala nola informazio baliagarrik ez duten 925 nm arteko uhin-luzerak kentzea (4. irudia), zarata ezkutatzeko leuntze Gaussiarra (5. irudia), efektu biderkakorrak gutxitzeko lehen deribatua (6. irudia) edo efektu gehikor eta biderkakorrak gutxitzeko SNV (Standard Normal Variate) algoritmoa (7. irudia).

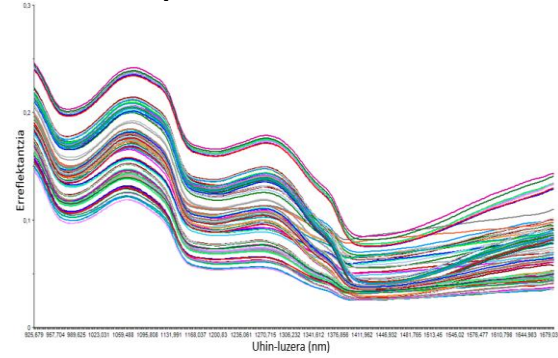
2. irudian ikus daitekeen bezala espektro gordinak zaratatsuak dira, hau da, esnearen propietateekin zerikusirik ez duen informazio ez-baliagarria gordetzen dute, beraz, aipatu diren prozesaketa hauek informazio hori kendu eta garrantzizkoa dena bakarrik uzteko ahaleginak dira. Zarata hau espektroak neurtzeko erabili den lekuak, ingurunea edo espektrometroaren lan-baldintzek (temperatura, bibrazioak...) eragindakoa izan daiteke. 5. irudian ikus daitekeenez leuntzeak uhin-luzera bat eta hurrengoaren arteko jauzi txiki horiek ezabatzen ditu eta deribatuak eta SNVk efektu gehikorak, hau da, espektro bat bestearekiko guztiz paraleloki baina gorago edo beherago egotea, gehienetan tenperaturak eragindako efektua. Honela 6 eta 7. irudietan ikus daiteke espektroak tarte handiago batean gainezartzen direla, benetan informazioa duten aldakuntzak agerian utziz.

Espektro hauei PLS (Partial Least Squares) algoritmoa aplikatu zaie esnearen gantz edukia auresango duten ereduak sortzeko eta ikusi da eredu guztiak antzekoak direla, baina apur bat hobea dena eta aplikatzeko errazena, 4. Irudiko espektroak (gordinak baina 925 nm arteko uhin-luzerak kenduta) erabili eta erreflektantziaren balioak batezbestekoan zentratu eta autoeskalatuz egin den kalibratua da, uhin-luzera batzuetan besteetan baino balio eta aldakuntza handiagoak daudenez estatistikoki garrantzia berdina emateko.

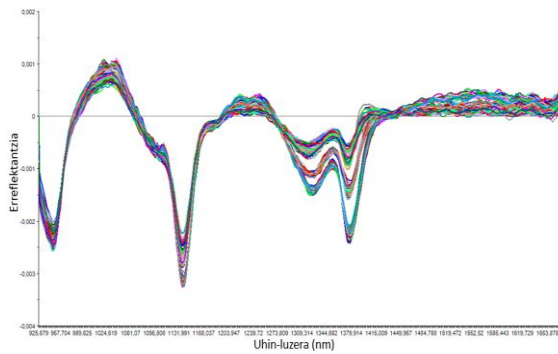
4. irudia. Espektrο gordina 925 nm-tik aurrera.



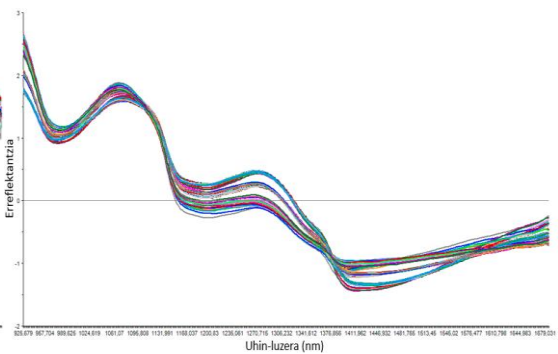
5. irudia. Espektrοak leuntze Gaussiarrarekin.



6. irudia. Espektrοak lehen deribatuarekin.



7. irudia. Espektrοak SNVrekin.

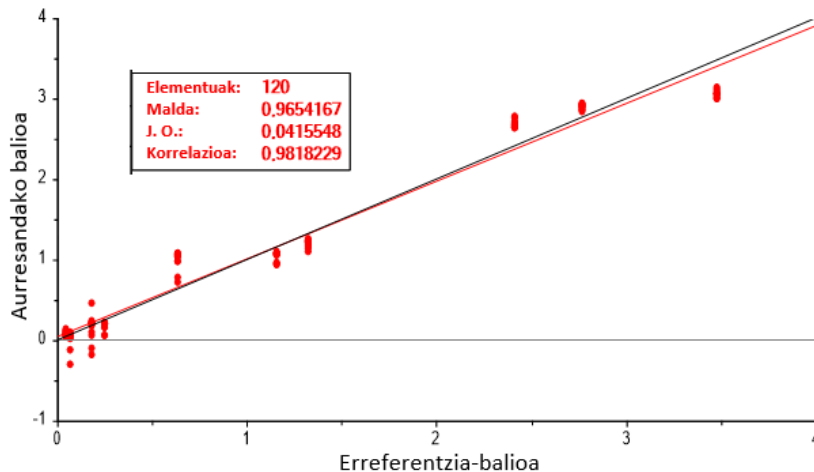


PLS algoritmoak LDA algoritmoaren antzeko funtzionamendua du, baina kasu honetan ez dago talderik ezta baliorik esleitu beharrik hauei ere, zuzenean uhin-luzera bakoitzean dagoen aldakuntza gantz edukian dagoen aldakuntzarekin erlazionatzen du, uhin-luzera bakoitzari koefiziente bat esleituz, ondoren espektrοaren balioekin biderkatuz gantz edukia auresango duena. Aldagai murrizketan oinarrituz egiten du hau: funtsean, aldagai kopuru handi batetik abiatuz (kasu honetan NIR espektrοaren uhin luzerak) aldagai berri batzuk sortzen ditu (aldagai sorrak), elkarren artean independenteak direnak eta laginen gantz kontzentrazioa azaltzeko helburuarekin sortuak.

Eredu honek 491 aldagai, 491 uhin-luzera, 3 faktoretara edo aldagai sorretara murrizten ditu, hau da, esnearen gantz edukia hiru aldagairen funtzio gisa adierazten du (aldakuntzaren % 96 azalduz), aldi berean aldagai hauek 491 uhin-luzeren funtzio izanik.

Kalibratuaren balioztatze gurutzatua egiterakoan, hau da, eredia sortzeko erabili diren laginak kalibratutik banan-banan atera eta gelditu direnekin sortutako kalibratuarekin honen gantz edukia auresaterakoan 8. irudia lortu da, erreferentziatzko balioekiko irudikatuz. Bertan ikus daitekeenez idealki $y = 1 \cdot x + 0$ izan beharko lukeen ekuazioa $y = 0,97 \cdot x + 0,04$ da, kalibratu ona denaren adierazgarri.

8. irudia. Ereduaren auresandako balioak erreferentzia-balioen aurrean.



Benetan kalibratua fidagarria dela eta emaitza onak eskaintzen dituela ziurtatzeko, ordea, ereduak sortzeko erabilitako lagin taldetik at dauden laginen gantz edukia aurrean behar da, horretarako tenperatura eta gantz eduki ezberdineko laginen espektroak erabiliz. Emaitza hauek 2. taulan adierazi dira eta hauek objetiboki baloratzeko 3. taulan ageri diren errore erlatiboak kalkulatu dira.

2. taula. Kalibratuaren balidazioko emaitzak.

Lagina	Erreferentziako gantz edukia (%)	Aurreandako gantz edukia (%)			
		T guztiak	19 °C	24 °C	30 °C
661-P	3,47	3,04 ± 0,05	3,1 ± 0,3	3,1 ± 0,11	3,0 ± 0,11
663-P	1,32	1,23 ± 0,05	1,2 ± 0,2	1,26 ± 0,08	1,3 ± 0,10
672-P	0,25	0,18 ± 0,06	0,11 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,2 ± 0,11
675-P	0,64	1,0 ± 0,14	0,8 ± 0,3	1,07 ± 0,004	1,1 ± 0,11
679-P	2,41	2,68 ± 0,05	2,7 ± 0,2	2,65 ± 0,003	2,64 ± 0,08
684-P	0,18	0,2 ± 0,13	0,1 ± 0,2	0,22 ± 0,04	0 ± 1,3

3. taula. Kalibratuak sortutako emaitzen balorazio estatistikoa.

	Batezbesteko balioa	Errore absolutua	Errore erlatiboa (%)	Desbideratzea
Osoa	2,88	0,28	9,6	0,16
Erdigaingabetua	1,06	0,20	19,3	0,12
Gaingabetua	0,25	0,07	53,7	0,12

Emaitza hauetan ikus daitekeenez kalibratuak dituen helburuak ondo betetzen ditu, gai da behi-esnearen NIR espektro batetik abiatuz, ohikoa den edozein gantz eduki zein tenperatura duelarik, honen gantz edukia aurreateko onargarria den errore batekin. Gantz eduki baxuko esneentzat errore erlatiboak altuagoak izanik ere, balioak hain baxuak direnez, lortutako errore absolutuak onak baitira.

4. Ondorioak

Aztertu diren ereduak ikusiz ondorioztatu daiteke NIR espektroskopia eta AOTECHen espektrometroa egokiak bezain baliagarriak direla esnearen industrian kalitatearen kontrola egiteko. Metodo tradizionalak ez bezala espektroskopiak berehalako emaitzak eskaini ditzake, produkzioaren zuzeneko kontrola ahalbidetuz, egon daitezkeen akatsak edo anomaliak detektatuz, eta era berean zuzenketak ahal bezain azkar egitea ahalbidetuz. Honek izan daitezkeen galerak edo baztertu beharreko produkzioa minimizatzen laguntzen du, enpresaren ekonomiari zein ingurugiroari lagunduz. Gainera metodo ez-destruktiboa da eta ez du inolako erreaktibo kimiko zein prozesaketaren beharrik, gastu horiek aurreztuz.

5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Lan honetan erakutsi diren emaitzak aurrera pauso bat dira baina lan gehiago egin beharra dago espektrometro hau industrian lan egiteko prest egon dadin: lehenik esnea mugimenduan dagoen bitartean espektroak lortzeko eraginik duen ikusi behar da, eta hala bada kalibratuak berritu. Honetarako zirkuitu itxi bat duen simulagailu bat eraiki da eta horrez gain enpresa batean instalatu da espektrometroa, orain espektro eta datu berriekekin lan egiteko.

Bestalde, NIR espektroskopiarekin esnearen beste ezaugarri batzuk determinatzen diren lanak jada argitaratu dira (Mohamed et al., 2021), hala nola proteina, laktosa, urea, pHa, estraktu lehorra, etab. Beraz, hauentzat ere industrian erabil daitezkeen kalibratuak lortzea da hurrengo helburuetako bat, gantzarekin egin den bezala.

6. Erreferentziak

Anastas, P. T. eta Warner, J. C. (1998): *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press, Oxford.

AOAC International (2007): *Official Methods of Analysis*. 989.05 metodo ofiziala.

AOAC International (2007): *Official Methods of Analysis*. 2000.18 metodo ofiziala.

dos Santos Pereira, E. V., de Sousa Fernandes, D. D., Ugulino de Araújo, M. C., Gonçalves Dias Diniz, P. H., Sucupira Maciel, M. I. (2020): Simultaneous determination of goat milk adulteration with cow milk and their fat and protein contents using NIR spectroscopy and PLS algorithms, *LWT - Food Science and Technology*, 127, 109427.

Mohamed, H., Nagy, P., Agbaba, J., Kamal-Eldina, A. (2021): Use of near and mid infra-red spectroscopy for analysis of protein, fat, lactose and total solids in raw cow and camel milk, *Food Chemistry*, 334, 127436.

Růžičková, J. eta Šustová, K. (2018): Determination of selected parameters of quality of the dairy products by NIR spectroscopy, *Czech Journal of Food Sciences*, 24 (6), 255-260.

7. Eskerrak eta oharrak

Eskerrak AOTECH enpresari, lan honen oinarri den espektrometroa garatu eta ikerkuntza hau finantzatu dutelako.