

VILNIAUS UNIVERSITETAS
FIZIKOS FAKULTETAS
BENDROSIOS FIZIKOS IR SPEKTROSKOPIJOS KATEDRA

Dominyka Blaževič

GLIUKOZĖS, MALTOZĖS, MALTOTRIOZĖS IR MALTOTETRAOZĖS KONCENTRACIJŲ
NUSTATYMAS *PLS* METODU VIDURINIOJOJE IR ARTIMOJOJE INFRARAUDONOJOJE
SPEKTRINĖSE SRITYSE

Magistrantūros studijų baigiamasis darbas

Aplinkos ir cheminės fizikos studijų programa

Studentas
Darbo vadovas
Konsultantas
Recenzentas
Katedros vedėjas

Dominyka Blaževič
dr. Raimundas Steponavičius
prof., dr. (HP) Valdas Šablinskas
prof. Gediminas Niaura
prof., dr. (HP) Valdas Šablinskas

Vilnius 2016

TURINYS

Įvadas	2
LITERATŪROS APŽVALGA	3
Virpesinės spektrometrijos principai.....	3
Spinduliuotės sugertis <i>NIR</i> spektrinėje srityje.....	6
<i>ATR (attenuated total reflection)</i> metodas	7
Daugiamatė kalibracija.....	9
Eksperimento plano sudarymas.....	10
<i>PLS (Partial least squares)</i> kalibracija	11
EKSPERIMENTINĖ DALIS	16
Eksperimento plano sudarymas.....	16
Tyrime naudojamų medžiagų spektriniai skirtumai	20
Tyrimo rezultatai	31
Pagrindiniai rezultatai ir išvados	43

Ivadas

Maisto ar chemijos pramonėje vis intensyviau gaminant naujas daugiakomponentes medžiagas yra itin svarbi komponentų koncentracijų kontrolė. Taikant dabartinius komponentų koncentracijų kontrolės metodus, procesas vyksta lėtai ir neefektyviai. Iki to laiko, kol nustatoma, kad produktas neatitinka kokybinių reikalavimų, gali būti pagaminama net kelios tonos netinkamos produkcijos, sukeliančios didelių nuostolių įmonėms. Todėl operatyvus medžiagų koncentracijų nustatymas technologinio proceso metu yra ypač aktuali problema. Šiuo metu įvairiose pramonės srityse vis aktyviau taikomi medžiagų koncentracijų nustatymai naudojantis infraraudonaisiais sugerties spektrais, nes šis metodas leidžia greitai ir gana tiksliai iširti gaminamą produkciją [1,2,3,4,5].

Spektrai užregistruoti viduriniojoje infraraudonojoje (*MIR – middle infrared*) srityje gali būti tinkami koncentracijų nustatymui, nes viduriniojoje srityje stebimi normalieji molekulių darinių virpesiai ir galime gauti vienareikšmę informaciją apie mišinio sudėtį. Tačiau norint užregistruoti IR sugerties spektrus šioje spektrinėje srityje reikia, kad bandinių storis neviršytų 10 μm [6]. Reikalavimai bandinio storiui apsunkina bandinio paruošimą ir tuo pačiu ilgina spektrų registravimo procesą, tačiau naudojant *ATR (attenuated total reflection)* metodą, bandinio paruošimas tampa paprastesniu ir IR (infraraudonoji) vidurinioji spektrinė sritis tampa labiau pritaikoma pramoninių procesų stebėjimui.

Pramoninių procesų stebėjimui taip pat gali būti taikoma artimoji IR (*NIR – near infrared*) spektrinė sritis. Šioje srityje spinduliuotė daug skvarbesnė, nereikia papildomo bandinio paruošimo, taip pat yra galimybė naudoti šviesolaidžius ir vienu metu stebėti procesus keliuose skirtingose taškuose vienu prietaisu. Tačiau spektrų interpretavimas šioje srityje yra sudėtingesnis, lyginant su viduriniąja infraraudonąja sritimi, ir gali sukelti papildomų sunkumų nustatinėjant produkcijos medžiagų koncentracijas [7].

Viena iš įmonių, kuriai yra svarbi jos gaminamų medžiagų komponentų koncentracijų kontrolė – „Amilina“. Šiai įmonei reikšminga iširti, kiek gaminamuose sirupuose yra gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės

Darbo tikslas yra nustatyti, ar vidurinėsios ir artimosios infraraudonosios srities spektriniai tyrimai tinkami gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymui, bei įvertinti, koku tikslumu šios koncentracijos gali būti nustatomos naudojant *PLS (partial least squares)* metodą.

LITERATŪROS APŽVALGA

Virpesinės spektrometrijos principai

Naudojantis Borno ir Openheimerio artiniu molekulės vidinę energija galima traktuoti kaip susidedančią iš elektroninės, virpesinės ir rotacinės energijų. Infraraudonoji spinduliuotė nagrinėja kvantuotų virpesinių energijų šuolius tarp lygmenų. Bangos skaičių intervale nuo 4000 cm^{-1} iki 400 cm^{-1} (vidurinioji infraraudonoji sritis, *MIR* – *middle infrared*) yra beveik visi molekulės branduoliniai virpesiai. Taigi iš užregistruotų medžiagų spektrų *MIR* srityje galima identifikuoti daugumą tiriamų medžiagų. Bangos skaičių intervalas nuo 4000 cm^{-1} iki 12500 cm^{-1} (artimoji infraraudonoji sritis, *NIR* – *near infrared*) susijęs su fundamentinių virpesių virštoniais ir kombinaciniais virpesiais. Nors šią spektrinę sritį interpretuoti sudėtingiau nei *MIR*, šioje srityje spinduliuotė yra skvarbesnė, taigi ir bandinių paruošimas tampa paprastesnis.

Dviatomių molekulių virpesiai

Nagrinėjant branduolių virpesius dviatomėje molekulėje dažnai pasitelkiamas dviatomės molekulės modelis, kuriame molekulė įsivaizduojama kaip sudaryta iš dviejų spyruokle sujungtų skirtingos masės rutuliukų. Jei atstumas tarp rutuliukų kinta nežymiai (spyruoklės deformacija yra maža, galioja Huko dėsnis), galima naudoti harmoninės svyruoklės artinį. Pasinaudojus šiuo artiniu dviatomei molekulei, jos virpesinę energiją galime išreikšti:

$$v = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{m_{red}}} \quad (1.1)$$

Naudojant mechaninį molekulės aprašymą virpesinis dažnis priklauso nuo redukuotos masės m_{red} ir nuo cheminio ryšio konstantos k . Molekulės virpesinis dažnis didėja, didėjant cheminio ryšio jėgos konstantai, ir mažėja, didėjant redukuotai masei.

Naudojant kvantinį molekules aprašymą, molekules energija išreiškiama:

$$E_v = hv \left(v + \frac{1}{2} \right), \quad (1.2)$$

čia $v = 0, 1, 2, \dots$ yra virpesinis kvantinis skaičius, ν – virpesinis dažnis, h – Planko konstanta. Aprašant molekulę naudojant kvantinę mechaniką molekules energijos vertės yra kvantuotos.

Kiekviena molekulė turi jai būdingas kvantuotas energijas arba būdingus virpesinius dažnius. Molekulę paveikus infraraudonąja elektromagnetine spinduliuote, ji gali sugerti šviesos kvantus. Sugertas spinduliuotės dažnis parodo energijos pokytį molekulėje. Molekulei sąveikaujant su IR spinduliuote, kinta jos virpesinės energijos. Pagal šiuos dažnius (energijas) iš užregistruoto spektro identifikuojama molekulė.

Ne visi molekules virpesiai bus aktyvūs IR srityje. Norint užregistruoti molekules spektrą IR srityje, ji šioje srityje turi sugerti arba išspinduliuoti elektromagnetinę spinduliuotę. Molekules spektras IR srityje bus stebimas tada, kai molekules šuolio dipolinis momentas \mathbf{R}_{nm} nebus lygus nuliui:

$$\mathbf{R}_{nm} = \int \psi_n^* \boldsymbol{\mu} \psi_m dx, \quad (1.3)$$

čia $\boldsymbol{\mu}$ yra elektrinio dipolinio momento operatorius, x – atstumo pokytis tarp branduolių, ψ – banginė funkcija, indeksai n ir m virpesinių energijų kvantiniai skaičiai. Elektrinio dipolinio momento operatorius $\boldsymbol{\mu}$ gali būti išreikštas:

$$\boldsymbol{\mu} = \sum_i q_i \mathbf{r}_i, \quad (1.4)$$

čia q_i ir r_i yra krūvis ir padėties vektorius i -tosios dalelės, atomo, molekulėje. Šuolio dipolinis momentas nelygus nuliui tada, kai pakinta molekules elektrinis dipolinis momentas, t.y. kai $d\boldsymbol{\mu}/dt \neq 0$.

Dviatomių molekulių, sudarytų iš vienodų atomų, dipolinis momentas, kaip ir jo operatorius, lygus nuliui, taigi ir šuolio momentas lygus nuliui. Iš to seka, kad dviatomių molekulių, sudarytų iš vienodų atomų, spektrai infraraudonojoje srityje nėra užregistruojami. Iš dalies tai palengvina spektrų registravimą atmosferoje, nes užregistruotame spektre nėra N_2 ar O_2 spektrinių juostų. Jei jos būtų registruojamos, ore esančių molekulių spektrinės juostos galėtų persidengti su bandinio spektru ir spektro interpretacija taptų sudėtingesnė.

Elektrinio dipolio kitimas nėra vienintelė sąlyga tam, kad spektre būtų stebimos spektrinės juostos. Skleidžiant dipolinio momento skaliarą Teiloro eilute pusiausvyrinio atstumo aplinkoje, šuolio dipolinį momentą galima išreikšti kaip (kai $n \neq m$):

$$R_{nm} = \left(\frac{d\mu}{dx} \right)_e \int \psi_n^* x \psi_m dx + \dots, \quad (1.5)$$

Šis integralas nelygus nuliui tada, kai $\Delta v = \pm 1$. Vadinasi infraraudonuosiuose spektruose bus aktyvūs tie virpesiniai šuoliai, kurių virpesinis kvantinis skaičius pakis vienetu.

Spektre informaciją suteikia ne tik spektrinės juostos dažnis, bet ir jos intensyvumas. Norint įvertinti juostos stiprį, reikia nagrinėti dipolinio šuolio momento modulio kvadratą $|R_{nm}|^2$, kuris priklauso nuo dipolinio momento išvestinės $(d\mu/dx)_e^2$. Ši savo ruožtu priklauso nuo pusiausvyrinio atstumo tarp branduolių. Jei molekulės dipolinis momentas yra didžiausias ties pusiausvyrinio atstumu, tai dipolinio momento išvestinė bus artima nuliui, o sugerties juosta labai silpna. Vadinasi, nors kvantinis skaičius ir pakis vienetu, dar nereiškia, kad IR spektre matysime spektrinę juostą. Atrankos taisyklė $\Delta v = \pm 1$ nurodo tik galimus šuolius, bet informacijos apie juostos intensyvumą, kuris gali būti lygus nuliui, nesuteikia [8].

Daugiaatomių molekulių virpesiai

Daugiaatomės molekulės virpesinių energijų aprašymas yra sudėtingas. Naudojantis klasikine mechanika parodoma, kad jei tarpusavyje sąveikaujanti sistema sudaryta iš N dalelių, tai ji turi $3N$ laisvės laipsnius. Trys iš šių laisvės laipsnių aprašo slenkamąjį judėjimą x , y , z ašimis, dar trys sukamąjį judėjimą apie šias ašis. Likę $3N-6$ laisvės laipsniai aprašo virpesinius laisvės laipsnius.

Tiesinei molekulei sukamasis judėjimas apie ašį nepakeičia tarpatominio atstumo, prarandamas vienas rotacinis laipsnis, todėl tokia molekulė turi $3N-5$ virpesinius laipsnius.

Tačiau molekulė, turinti N atomų, nebūtinai turės $3N-6$ spektrines juostas (arba $3N-5$ linijinės molekulės atveju). Spektrinių juostų skaičius gali sumažėti dėl šių juostų persidengimo, mažo juostų intensyvumo ar jų neaktyvumo IR srityje, gali būti keli virpesiai, turintys vienodą dažnį.

Taip pat spektre gali padaugėti spektrinių juostų, kurių dažnis lygus kelių normaliųjų virpesių sudėčiai arba skirtumui (sudėtinai dažniai). Taip pat gali atsirasti virštoniai, kuomet dėl virpesių anharmoniškumo spektre pastebimos juostos sąlygotos šuolių, kuriems galioja atrankos

taisyklės $\Delta v = \pm 1, \pm 2, \pm 3 \dots$. Kitas atvejis, kuomet spektre gali padaugėti spektrinių juostų – Fermi rezonansas. Fermi rezonansas – atsitiktinai išsigimusių to paties simetrijos tipo virpesių sąveika (Fermi dupletų susidarymas). Dėl šios sąveikos spektre atitinkamos spektrinės juostos atitolsta viena nuo kitos ir pasikeičia jų intensyvumas [6,8].

Spinduliuotės sugertis *NIR* spektrinėje srityje

NIR sritis apima $4000\text{--}12500\text{ cm}^{-1}$ ($2500\text{--}800\text{ nm}$) bangos skaičių intervalą. Šioje srityje stebimi virpesinių juostų virštoniai ir kombinaciniai virpesiai. Naudojantis harmoninio osciliatoriaus artiniu, virpesiai, kurių kvantinis skaičius pakinta daugiau negu vienetu yra draudžiami. Tačiau remiantis eksperimentiniais matavimais yra žinoma, kad molekulės nėra idealūs osciliatoriai. Todėl virpesiai, kurių kvantinis skaičius pakinta daugiau nei vienetu nėra draudžiami. Tai seka iš kelių prielaidų.

Pirmoji prielaida – mechaninis anharmoniškumas. Įskaičius potencinės energijos aukštesnius narius, potencinė funkcija išreiškiama:

$$V = \frac{1}{2}kx^2 + k'x^3 + \dots \quad (1.6)$$

Įrašius potencinės energijos išraišką į Šriodingerio lygtį, gauname energijos vertes:

$$E(v) = \tilde{\nu} \left(v + \frac{1}{2} \right) - x_e \tilde{\nu} \left(v + \frac{1}{2} \right)^2 = \tilde{\nu} \left(v + \frac{1}{2} \right) - X \left(v + \frac{1}{2} \right)^2, \quad (1.7)$$

čia x_e – anharmoniškumo konstanta, $X = x_e \tilde{\nu}$. Atsižvelgus į anharmoniškumą, kitaip nei harmoniniam osciliatoriuje, energetiniai lygmenys nėra vienodai nutolę vienas nuo kito.

Antroji prielaida – elektrinis anharmoniškumas. Šiuo atveju į dipolio momento išraišką įtraukiami kvadratiniai ir aukštesnės eilės nariai. Dipolio išraiška:

$$\mu = \mu_0 + \left(\frac{d\mu}{dx} \right)_e x + \frac{1}{2} \left(\frac{d^2\mu}{d^2x} \right)_e x^2 + \dots \quad (1.8)$$

Anharmoniniam osciliatoriui virštonių dažniai nėra tiksliai 2,3... kartais didesni nei fundamentinių virpesių dažniai, dėl anharmoniškumo jie turi mažesnes vertes. Pavyzdžiui, OH radikalui harmoninio virpesio bangos skaičius, neatsižvelgus į anharmoniškumą $\tilde{\nu} = 3735,2\text{ cm}^{-1}$;

šiam radikalui anharmoniškumo konstanta padauginta iš bangos skaičiaus yra $X = 82,8 \text{ cm}^{-1}$. Fundamentinio virpesio bangos skaičius, atsižvelgus į anharmoniškumą, $\tilde{\nu} = 3569,6 \text{ cm}^{-1}$. Atsižvelgus į fundamentinio virpesio reikšmę, jau įskaičius anharmoniškumą, pirmojo virštonio ($\Delta v = 2$) bangos skaičius $\tilde{\nu} = 6973,6 \text{ cm}^{-1}$ (t.y. mažesnis nei neįskaičius anharmoniškumo) [9]. Šis virpesys stebimas *NIR* srityje. Taigi *NIR* spektrinėje srityje stebimi fundamentinių virpesių virštoniai bei kombinaciniai virpesiai. Virštonių intensyvumas taip pat priklauso nuo anharmoniškumo. Tie virpesiai, kurių anharmoniškumo konstanta yra maža, silpnai pasireiškia *NIR* srityje. Didžiausią anharmoniškumą turi X-H virpesiai (X – atomas, H – vandenilio atomas), taigi yra intensyviausi *NIR* spektrinėje srityje. Priešingai karbonilo (C=O) virpesiams, kurie yra gana harmoniški ir jų intensyvumas *NIR* srityje yra mažas [9,10]. Kai kurios anharmoniškumo konstantos pateiktos 1 lentelėje .

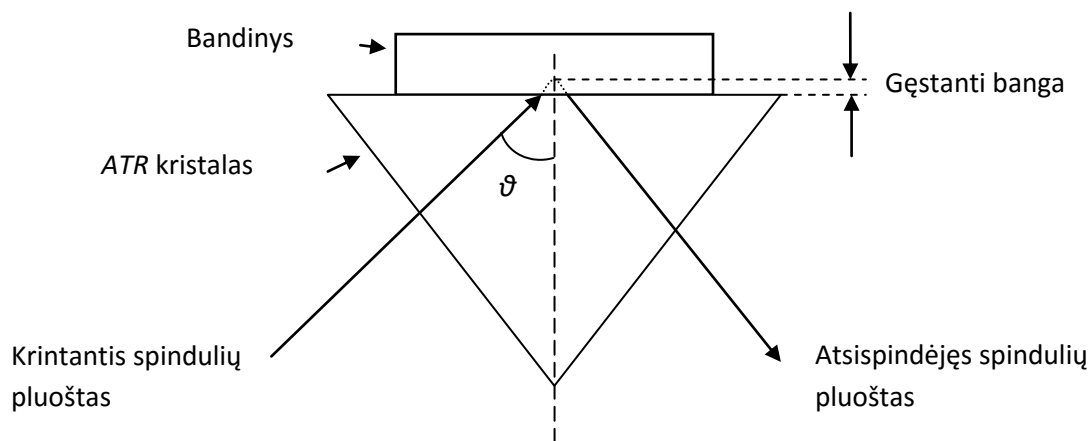
1 lentelė. Anharmoniškumo konstantų vertės kai kuriems virpesiams [11].

Virpesys	Anharmoniškumo konstanta
x_e (v OH)	$1,95 \cdot 10^{-2}$
x_e (v CH)	$1,9 \cdot 10^{-2}$
x_e (v CD)	$1,5 \cdot 10^{-2}$
x_e (v CF)	$4 \cdot 10^{-3}$
x_e (v CCl)	$6 \cdot 10^{-3}$
x_e (v C=O)	$6,5 \cdot 10^{-3}$

ATR (attenuated total reflection) metodas

Norint išvengti papildomo bandinio paruošimo *MIR* spektrinėje srityje ir pagreitinti bei supaprastinti spektrų registravimą dažnai naudojamas *ATR* metodas. Metodas yra patogus tuo, kad jam nereikia plonų bandinių, - užtenka bandinį prispausti prie *ATR* kristalo.

Kitaip nei matuojant pralaidumo spektrą, naudojant *ATR* metodą, elektromagnetinė banga per visą bandinį nesklinda, o informacija registruojama iš kelių mikronų paviršiaus sluoksnio. Metodas remiasi visiško vidaus atspindžio reiškiniu. Spinduliuotei sklindant tam tikru kampu iš optiškai tankesnės medžiagos į retesnę, vyksta visiškas vidaus atspindys. Spindulių pluoštas patekęs į *ATR* kristalą sklinda iki bandinio, pasiekęs *ATR* kristalo paviršių visiškai atsispindi, prieš tai įsiskverbęs kelis mikronus į bandinį, ir pasiekia jutiklį (1 pav.).



1 pav. Spindulių eiga vieno atspindžio ATR kristale.

Minimalus kampas θ_c , dar vadinamas kritiniu, kuriam esant vyksta visiškasis vidaus atspindys:

$$\theta_c = \sin^{-1} \frac{n_2}{n_1}, \quad (1.9)$$

čia n_2 ir n_1 aplinkų lūžio rodikliai. Šiuo atveju n_2 – bandinio lūžio rodiklis, n_1 – ATR kristalo lūžio rodiklis. Taigi, ATR kristalo lūžio rodiklis turi būti didesnis nei tiriamos medžiagos, $n_1 > n_2$. Renkantis ATR kristalą reikia atsižvelgti ne tik į kristalo lūžio rodiklį, bet ir į jo tvirtumą. Pavyzdžiui, germanio ar silicio lūžio rodiklis yra didesnis už deimanto, tačiau šis yra patvaresnis. Tai didelis privalumas turint omenyje, kad ATR metodu registruojant spektrą bandinį prie kristalo reikia prispausti ir tai gali pažeisti kristalą.

Vykstant visiškam vidaus atspindžiui, į bandinį prasiskverbia gęstanti banga, kurios amplitudė gęsta eksponentiškai:

$$E = E_0 \exp(-\gamma z), \quad (1.10)$$

čia E – amplitudė bandinyje z gylyje, γ – konstanta, kuri gali būti išreikšta $\gamma = 1/d_p$, E_0 – amplitudė, kai $z = 0$. Šios bangos išsiskverbimo į bandinį gylis d_p , kai yra tenkinama visiško vidaus atspindžio sąlyga, t.y., spindulys sklinda iš optiškai tankesnės aplinkos į retesnę ir kritimo kampas θ yra didesnis už minimalų kampą θ_c :

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi n_1 \sqrt{\sin^2 \theta - \left(\frac{n_2}{n_1}\right)^2}}. \quad (1.11)$$

Įsiskverbimo gylis d_p yra atstumas, kuriame elektromagnetinės bangos amplitudė sumažėja e kartų lyginant su amplitude prie bandinio paviršiaus. Spektrinė informacija surenkama iš d_s gylio, kuris išreiškiamas $d_s = 3d_p$. Spinduliuotė į bandinį prasiskverbia nuo kelių dešimtųjų iki kelių mikronų, taigi matuojamas bandinys turi būti homogeniškas, kad iš kelių mikronų spektrinės informacijos galėtume spręsti apie visą bandinį.

ATR metodu galima užregistruoti tokių medžiagų spektrus, kurių IR pralaidumo būdu užregistruoti nepavyktų. Pavyzdžiui, stori bandiniai; bandiniai, turintys didelį sugerties koeficientą; labai ploni bandiniai, kurių paviršiai lygiagretūs ir pralaidumo spektre matomos interferencijos juostos, kurios apsunkina spektro interpretavimą, dažniausiai tiriami naudojant *ATR* metodą. Šiame darbe nagrinėjamų sirupų IR pralaidumo spektrų paprastai užregistruoti nepavyktų, nes sirupai labai sugeria viduriniąją infraraudonąją spinduliuotę ir reiktų labai plonų bandinių. Kadangi vėliau užregistruoti spektrai būtų naudojami medžiagų kalibraciniam modeliui sudaryti, reiktų užtikrinti, kad užregistruojamas vienodas bandinio storis. To neužtikrinus, spektrinių linijų pokyčiai atspindėtų ne tik koncentracijų pokyčius, bet ir bandinio storio kitimą, o tai apsunkintų kalibracinio modelio sudarymą bei sąlygotų didesnes paklaidas.

Tačiau kaip ir visi metodai, šis turi trūkumų. Kai kurių bandinių spektrus registruoti šiuo metodu gali būti sudėtinga, ypač tuos, kuriuos sunku gerai prispausti prie *ATR* kristalo (sudaryti gerą fizinį kontaktą). Tokie bandiniai gali būti: medžiagos šiurkščiais paviršiais, medžiagos ant nelygių metalinių paviršių, stambūs milteliai ir pan. Kadangi spektras registruojamas kelių mikronų sluoksnyje, tiek bandinio, tiek kristalo paviršiai turi būti švarūs, kitaip bus užregistruotas paviršinio užterštumo, o ne bandinio spektras. Pašalinių medžiagų prilipimas prie bandinio ir *ATR* kristalo gali apsunkinti bandinio spektro registravimą. Norint registruoti naujo bandinio spektrą reikia valyti *ATR* kristalą, tai gali sukelti papildomų sunkumų [6,12].

Daugiamatė kalibracija

Esant mažoms medžiagų koncentracijoms, t.y. kai galioja Bero–Lamberto dėsnis, koncentracijų nustatymas iš užregistruotų spektrų yra paprastas. Pagal Bero–Laberto dėsnį, optinis tankis A tiesiškai priklauso nuo koncentracijos c ir spinduliuotės kelio ilgio bandinyje l :

$$A(\tilde{\nu}) = \varepsilon(\tilde{\nu})cl, \tag{1.12}$$

čia ε – molinis sugerties koeficientas.

Norint iš užregistruoto spektro apskaičiuoti koncentraciją, spektre atrenkama spektrinė juosta, kuri priklauso tik mus dominančiai medžiagai. Tada apskaičiuojamas šios juostos integralinis

intensyvumas, kai medžiaga yra mišinyje. Integrinio intensyvumo, užregistruoto matuojant mišinį, ir integrinio intensyvumo grynos medžiagos santykis nusako medžiagos dalį mišinyje [8].

Tačiau jei Bero-Lamberto dėsnis negalioja, anksčiau aptartas koncentracijos nustatymo būdas yra netinkamas. Tokiu atveju naudojama daugiamatė kalibracija. Norint atlikti daugiamatę kalibraciją, iš pradžių reikia paruošti eksperimento planą, t.y. numatyti, kiek bandinių pasiruošti eksperimentui ir kokios medžiagų koncentracijos bandiniuose bus naudojamos. Vėliau užregistravus mėginių spektrus atliekama pasirinkta daugiamatė kalibracija, parenkami tinkami parametrai, ištrinami netinkami taškai daugiamatei kalibracijai [13].

Eksperimento plano sudarymas

Planuojant eksperimentą, svarbu atsižvelgti į du pagrindinius aspektus:

1. Pasirinkti pakankamai plačią bandinių imtį, kuri atspindėtų prietaiso netiesiškumus, pokyčius, kintant tam tikrų medžiagų koncentracijoms, medžiagų sąveikoms, ir pan.
2. Eksperimente turi būti minimizuotos atsitiktinės paklaidos, galinčios atsirasti dėl įvairių priežasčių, pvz.: kintanti bandinio temperatūra, bandinio užsiteršimas ir pan.

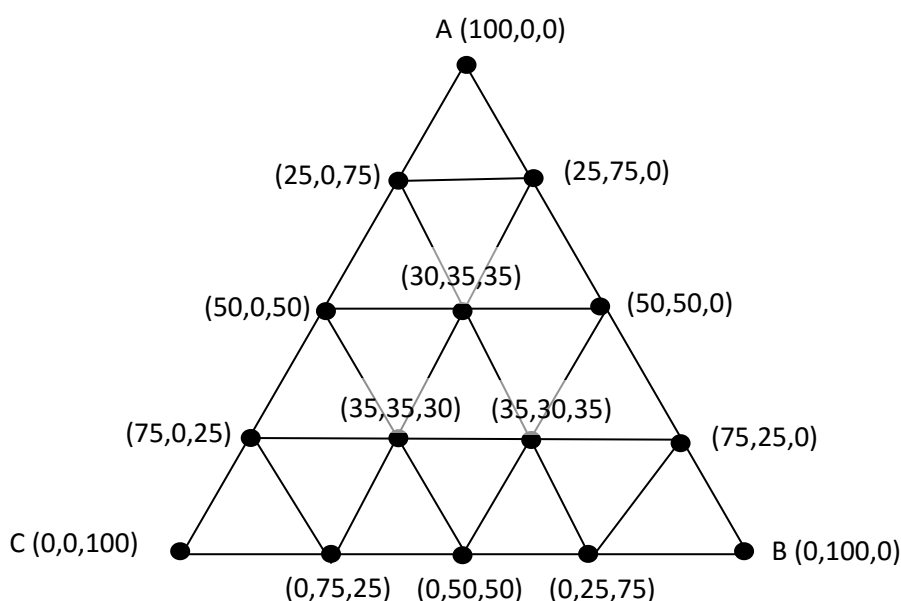
Tačiau pasirinkus labai plačią bandinių imtį, didesnė tikimybė, kad susidursime su sudėtingais netiesiškumais, kurie apsunkins kalibracijos sudarymą ir kalibraciniame modelyje bus didelės paklaidos. Taigi eksperimentas turi būti pakankamai didelės imties, kad galėtume nustatyti mus dominančius parametrus, bet pakankamai siauros imties, kad skaičiavimai netaptų per daug sudėtingi [13,14].

Taip pat labai svarbu, kad matuojamų medžiagų koncentracijų pokyčiai tarpusavyje būtų kuo mažiau priklausomi, t.y. sudaryto eksperimento plano bandinių su skirtingomis koncentracijomis koreliacijos koeficientas turi būti kuo mažesnis (kuo labiau artimas nuliui). Kitaip, sudarinėjant kalibracinį modelį, apskaičiuotos koncentracijos neatitiks realių verčių. Esant didelei medžiagų koreliacijai, t.y. kai skirtinguose bandiniuose matoma tendencija, kad viename bandinyje esant daugiau vienos medžiagos, yra daugiau ir kitos (priklausomybė atsiranda netinkamai paruošus bandinius eksperimentui), sudarinėjant kalibracinį modelį spektrinė informacija priklausanti vienai medžiagai, gali būti klaidingai priskirta kitai. Nustatinėjant medžiagų koncentracijas tokiu kalibraciniu modeliu, padidėjus vienos medžiagos koncentracijai, bus klaidingai įvertinta kitos medžiagos koncentracija, modelis nustatys antrosios medžiagos koncentracijos padidėjimą, nors realybėje ji (koncentracija) galėjo ir sumažėti.

Pats paprasčiausias būdas sudaryti eksperimento planą yra naudoti trikampio modelį. Pavyzdžiui norime sukalibruoti trijų medžiagų koncentracijas A, B ir C. Trikampio viršūnės

reprezentuos tirpale nemaišytas medžiagas. Taškai, esantys ant trikampio kraštinių, – dvi sumaišytas medžiagas. Taško padėtis ant trikampio kraštinės atspindi santykį, kuriuo maišomos medžiagos. Atitinkamai taškai esantys trikampio viduje rodo, kokių santykiu maišomos visos trys medžiagos (3 pav.). Tarkim, (30,35,35) reiškia, kad mišinyje A medžiagos yra 30%, B medžiagos 35% ir C medžiagos 35% [13].

Šis eksperimento plano sudarymo būdas, kai turime daug medžiagų ir reikia turėti daug kalibracinių taškų ar kai medžiagos koncentracijos nevarijuojame nuo 0 iki 100 procentų, tampa sudėtingas ir atima daug laiko. Todėl sudarinėjant sudėtingesnę eksperimentą, dažniausiai rašomi tam tikri algoritmai, kurie išpildo norimas eksperimento plano sąlygas.



3 pav. Eksperimento dizaino sudarymas, kai maišomos trys medžiagos A, B ir C.

PLS (Partial least squares) kalibracija

Daugeliu atveju Bero–Lamberto dėsnis negalioja ir koncentracijų nustatymas naudojantis šiuo dėsniu yra neįmanomas. Tokiu atveju pasitelkiami daugiamačiai kalibraciniai metodai. Vienas iš šių metodų – *PLS (Partial least squares)*.

Bet koks kalibracinis modelis aprašomas bendra lygtimi:

$$\hat{Y} = f(\mathbf{X}) \quad (1.13)$$

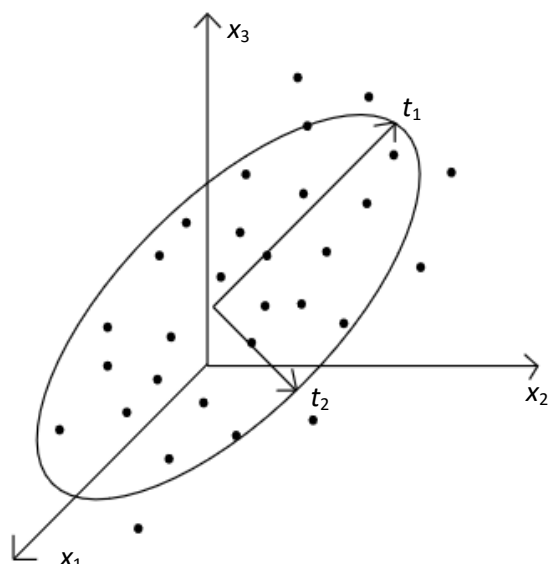
t.y. \mathbf{Y} informacijos nustatymas iš \mathbf{X} duomenų, $\hat{\mathbf{Y}}$ – apskaičiuotos (naudojant sudarytą kalibracinį metodą) \mathbf{Y} vertės. Nustatinėjant medžiagų koncentracijas iš spektrinių duomenų, \mathbf{Y} yra koncentracijų vertės, \mathbf{X} – spektrinė informacija.

Naudojant *PLS* kalibraciją \mathbf{X} matricoje esanti spektrinė informacija (pvz. optinio tankio vertės) sutraukiama į kelis svarbiausius principinius komponentus \mathbf{T} :

$$\mathbf{X} = (x_1, x_2, \dots, x_k) \quad (1.14)$$

$$\hat{\mathbf{T}} = (\hat{t}_1, \hat{t}_2, \dots, \hat{t}_A). \quad (1.15)$$

PLS kalibraciniame modelyje nustatinėjant svarbiausius principinius komponentus, panaši informacija sustruktūrizuojama į vieną, kaip, tarkim, kintant tos pačios medžiagos koncentracijai tam tikra spektrinė informacija turi tą patį pokytį (pavyzdžiui, intensyvėja spektrinė juosta), tada šis pokytis įtraukiamas į vieną principinį komponentą ir sumažiname duomenų apimtį. Taip pat šiame modelyje atsižvelgiama ir į \mathbf{Y} matricos informaciją (pvz., medžiagų koncentracijas), tokiu atveju galima išvengti klaidingų principinių komponentų sudarymo, kuomet vienas ryškus spektrinis pokytis interpretuojamas kaip principinis komponentas, tačiau jis yra atsiradęs ne dėl medžiagų koncentracijų pokyčio, o pavyzdžiui, eksperimentatoriaus klaidos. Kita spektrinė informacija, kuri nepatenka į principinius komponentus modelyje nenaudojama, taigi taip sumažinama triukšmų įtaką kalibraciniame modelyje (dažniausiai į principinius komponentus triukšmai neįtraukiami, nes jie yra atsitiktiniai ir kintant koncentracijoms kinta netolygiai, neįtraukiami į principinius komponentus). Kitaip sakant, \mathbf{X} matricos informacija (k – matės erdvės) atsižvelgiant į \mathbf{Y} matricos informaciją suprojektuojama į mažesnę erdvę (A – matė erdvė), kuri ir yra mūsų modelis. Imant trimatę erdvę grafiškai procesas pavaizduotas 4 pav. Imamos trys spektrinės vertės x_1, x_2, x_3 (trimetė erdvė) esant skirtingoms koncentracijoms (kiekvienas taškas atspindi spektrines vertes esant skirtingoms koncentracijoms, t.y. skirtingus bandinius) ir iš šių duomenų suprojektuojama dvimatė erdvė iš dviejų principinių komponentų t_1 ir t_2 . Projektuojant naują spektrinę informaciją į šią erdvę, apskaičiuojama medžiagos koncentracijos vertė mišinyje.



4 pav. Kalibracinio modelio sudarymas trimatėje erdvėje.

Matematiškai kalibracinis *PLS* modelis \mathbf{X} ir \mathbf{Y} kintamiesiems gali būti užrašytas:

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}^T + \mathbf{E}, \quad (1.16)$$

$$\mathbf{Y} = \mathbf{TQ}^T + \mathbf{F}, \quad (1.17)$$

čia \mathbf{P} žymi regresijos koeficientus tarp \mathbf{X} ir \mathbf{T} , \mathbf{Q} – tarp \mathbf{Y} ir \mathbf{T} . \mathbf{E} ir \mathbf{F} žymi unikalias \mathbf{X} ir \mathbf{Y} variacijas (paklaidas), kurių \mathbf{T} matrica neįskaito [13,15].

Dažniausiai \mathbf{X} turi per daug kintamųjų, t.y. yra verčių, kurios yra kolinearios ir naujos informacijos neduoda. Todėl naudojamos ne visos \mathbf{X} vertės, o jau atrinktos \mathbf{T} vertės. Norint rasti \mathbf{T} vertes, ieškoma \mathbf{V} matrica, kuri priklauso nuo \mathbf{X} ir \mathbf{Y} kintamųjų:

$$\hat{\mathbf{V}} = f(\mathbf{X}, \mathbf{Y}). \quad (1.18)$$

Žinant \mathbf{V} , galime apskaičiuoti \mathbf{T} :

$$\hat{\mathbf{T}} = \mathbf{X}\hat{\mathbf{V}}. \quad (1.19)$$

Žinant \mathbf{T} vertes, galime apskaičiuoti likusius narius, t.y. $\mathbf{P}, \mathbf{Q}, \mathbf{E}, \mathbf{F}$.

T vadinamas principiniu komponentu. Principinių komponentų skaičius turėtų būti ne mažesnis nei kintančių faktorių skaičius (skirtingų medžiagų skaičius, jų sąveika, aplinkos įtaka ir kita). Tačiau pasirinkus per daug principinių komponentų, kalibracinis modelis gali pasidaryti per jautrus ir stipriai reaguoti į triukšmą, o tai didintų paklaidas nustatinėjant koncentracijas. Per mažas principinių komponentų skaičius taip pat didintų paklaidas, nes į kalibracinį modelį nebūtų įtraukta reikalinga informacija, paaiškinanti, pvz., spektro pokyčius kintant koncentracijoms.

Pilnas *PLS* algoritmas vienam y kintamojo kalibravimui:

C1 Kintamieji X ir y yra centruojami apie vidurkį:

$$X_0 = X - \mathbf{1}\bar{x}^T, y_0 = y - \mathbf{1}\bar{y}. \quad (1.20)$$

Pasirenkamas principinių komponentų skaičių A_{MAX} didesnis, nei prognozuojamas kintančių faktorių skaičius kintamajame X . Kiekvienam principiniam komponentui $a = 1, \dots, A_{MAX}$ atliekamai žingsniai C 2.1 – C 2.5:

C 2.1 Variacijos esančios y naudojamos w_a koeficientams apskaičiuoti:

$$X_{a-1} = y_{a-1} w_a^T + E. \quad (1.21)$$

Vektoriaus ilgis normuojamas:

$$\hat{w}_a = c X_{a-1}^T y_{a-1}, \quad (1.22)$$

čia c – vektoriaus normavimo konstanta, kuri lygi:

$$c = (y_{a-1}^T X_{a-1} X_{a-1}^T y_{a-1})^{-0.5} \quad (1.23)$$

C 2.2 Ieškomos principinio komponento \hat{t}_a vertės:

$$X_{a-1} = t_a \hat{w}_a^T + E, \quad (1.24)$$

$$\hat{t}_a = X_{a-1} \hat{w}_a. \quad (1.25)$$

C 2.3 Ieškome \mathbf{p}_a verčių:

$$\mathbf{X}_{a-1} = \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{p}_a^T + \mathbf{E}, \quad (1.26)$$

$$\hat{\mathbf{p}}_a = \frac{\mathbf{X}_{a-1} \hat{\mathbf{t}}_a}{\hat{\mathbf{t}}_a^T \hat{\mathbf{t}}_a}. \quad (1.27)$$

C 2.4 Ieškome \mathbf{q}_a verčių:

$$\mathbf{y}_{a-1} = \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{q}_a + \mathbf{f}, \quad (1.28)$$

$$\hat{\mathbf{q}}_a = \frac{\mathbf{y}_{a-1}^T \hat{\mathbf{t}}_a}{\hat{\mathbf{t}}_a^T \hat{\mathbf{t}}_a}. \quad (1.29)$$

C 2.5 Apskaičiuojami nauji reziduumai \mathbf{X} ir \mathbf{y} kintamiesiems:

$$\hat{\mathbf{E}} = \mathbf{X}_{a-1} - \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{p}_a^T, \quad (1.30)$$

$$\hat{\mathbf{f}} = \mathbf{y}_{a-1} - \hat{\mathbf{t}}_a \mathbf{q}_a. \quad (1.31)$$

Buvę \mathbf{X}_{a-1} ir \mathbf{y}_{a-1} pakeičiami naujais reziduumais imamas antras principinis komponentas:
 $\mathbf{X}_a = \hat{\mathbf{E}}, \mathbf{y}_a = \hat{\mathbf{f}}, a = a+1.$

C 3 Nustatoma, kiek principinių komponentų verčių A reikia įtraukti į kalibracinį modelį [13].

Sudarius kalibracinį modelį, tikrinama, kurie nariai įneša dideles paklaidas. Dažniausiai tokie nariai atsiranda dėl išorinių veiksnių, pavyzdžiui, ruošiant bandinius eksperimentui neteisingai sumaišytos koncentracijos. Todėl siekiant geresnio kalibracinio modelio, šie taškai ištrinami ir iš naujo kalibruojamos koncentracijos *PLS* metodu, kol pašalinami visi taškai, duodantys dideles paklaidas, ir sudaromas optimalus kalibracinis modelis.

EKSPERIMENTINĖ DALIS

Darbe siekiama išsiaiškinti, ar registruojant bandinių spektrus artimojoje ir viduriniojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje galima nustatyti gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijas. Koncentracijų kalibravimui naudota „Matlab“ programos „PLS toolbox“ paketo *PLS* kalibracinis modelis. Jei iš užregistruotų spektrų koncentracijas nustatyti įmanoma, patikrinti, koku tikslumu jos nustatomos bei kurios spektrinės sritys geriausiai tinka kalibracijai. Įvertinti, kuri spektrinė sritis (vidurinioji ar artimoji infraraudonoji sritis) labiau tinka pramoniniam gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymui.

Eksperimento plano sudarymas

Bandiniai eksperimentui paruošti iš trijų UAB „Amilina“ gaminamų sirupų, kuriuose yra skirtingos gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės ir kitų polisacharidų koncentracijos. Koncentracijos sirupuose nustatytos naudojant *HPLC* (*high precision liquid chromatography*), esančiu UAB „Amilina“. Prie maltotetraozės koncentracijos taip pat priskirtos ir kitų daugiažiedžių cukrų koncentracijos, kurios sirupuose sudaro labai mažą dalį (lyginant su maltotetraoze) ir atskirai neišskiriamos.

Turimuose sirupuose yra penkios medžiagos (gliukozė, maltozė, maltotriozė, maltotetraozė ir vanduo), kurių koncentracijas norime nustatyti, taigi reikia penkių sirupų norint išskaičiuoti penkių medžiagų koncentracijas. Du trūkstami sirupai pagaminti į turimus papildomai pridėjus gliukozės arba maltozės bei vandens. Sirupai gauti iš UAB „Amilina“ pažymėti B1, B2 ir B3 (2 lentelė). Papildomai pagaminti B4 ir B5 sirupai. Sirupas B4 pagamintas papildomai į B3 įdedant gliukozės ir vandens, B5 – į B3 įdedant papildomai maltozės ir vandens. Vandens įpilta tiek, kad galutiniame sirupe jo masės dalis būtų tarp 0,22 ir 0,28 (tokios vandens koncentracijos būna gaminant sirupus). Kiek papildomai įdėti maltozės arba gliukozės bei vandens parinkta taip, kad koncentracijos tarp penkių medžiagų sirupuose būtų nepriklausomos, t.y. maišant turimus sirupus nebūtų galima pasigaminti tokio, kurio medžiagų koncentracijos yra identiškos turimam sirupui. Į 62,47 g B3 sirupo įdėta 36,66 g gliukozės ir 8,01 g vandens, sumaišytas B4 sirupas. Sirupas B5 sumaišytas į 63,48 g B3 sirupo įdėjus 27,09 g maltozės ir 8,14 g vandens. Pirmiausia patikrinta, ar

penkių sirupų koncentracijos penkiuose sirupuose yra tarpusavyje nesusijusios, t.y. ar sumaišius kelis jau pagamintus sirupus negausime tokio, kurį jau turime. Penkių sirupų koncentracijų susietumas įvertintas apskaičiavus matricos rangą, kai į matricą surašytos penkiuose sirupuose esančios medžiagų koncentracijos. Rangas skaičiuotas „Matlab“ programoje naudojant komandą *rank*. Apskaičiuotas matricos rangas lygus penkiems, kadangi matrica turi penkis stulpelius ir penkias eilutes, matricos nariai yra nepriklausomi, taigi ir koncentracijos yra nepriklausomos [16]. Penkių sirupų koncentracijos pateiktos 2 lentelėje.

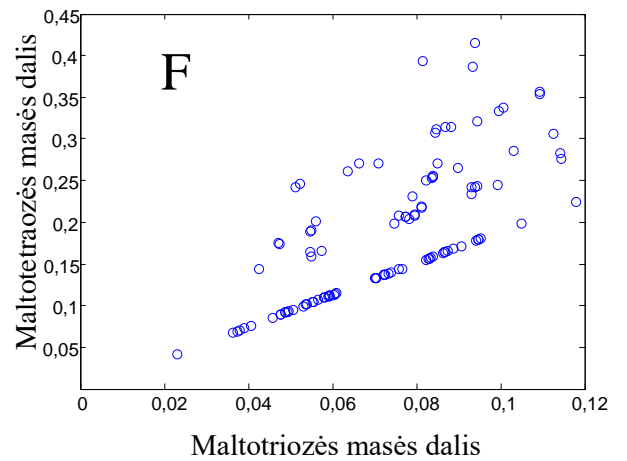
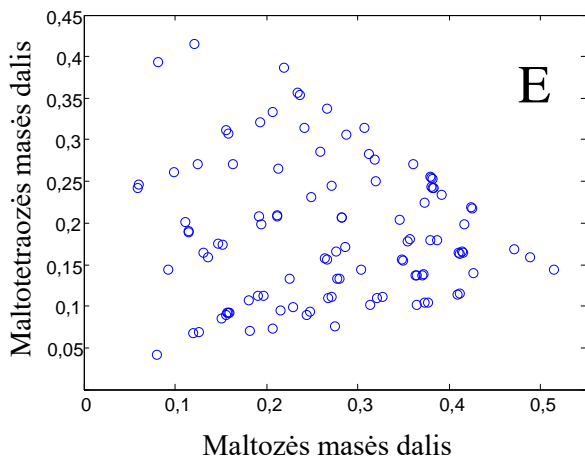
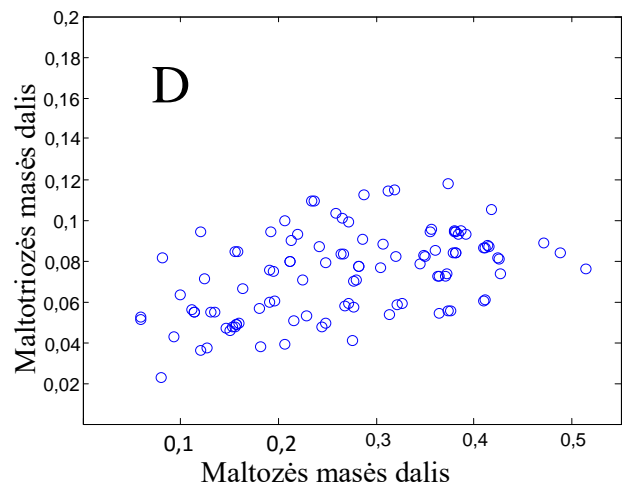
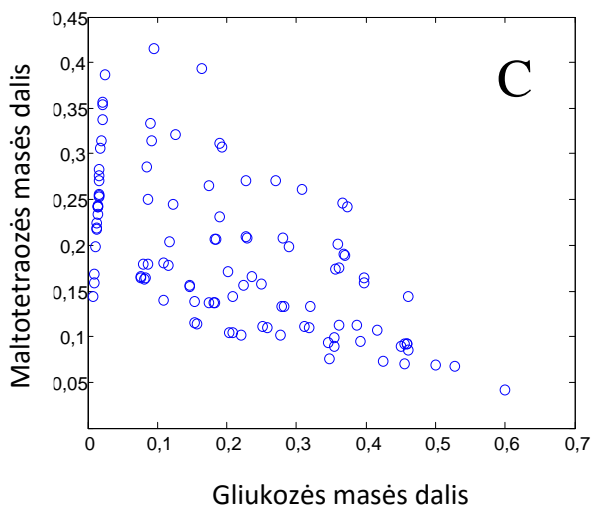
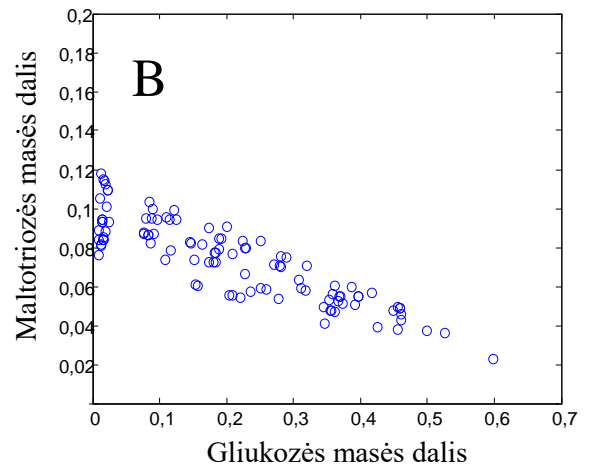
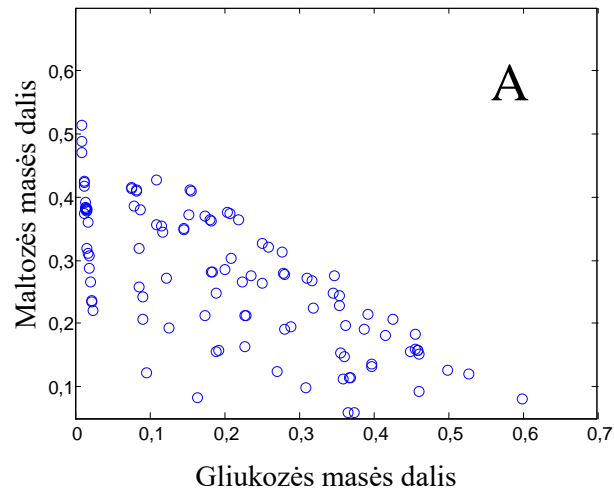
Turint penkis sirupus, kurių koncentracijos tarpusavyje nesusijusios, sudaromas eksperimento planas (nustatoma, kiek bandinių ruošti ir kokiomis koncentracijomis), kuriame siekiama, kad koncentracijos tarpusavyje kuo mažiau koreliuotų. Didelė koreliacija tarp skirtingų medžiagų, didesnė nei 0,9 absoliučios vertės, gali sąlygoti paklaidas naudojant *PLS* modelį, nes vienos koncentracijos sąlygoti spektriniai pokyčiai gali būti klaidingai priskirti kitai medžiagai, kuri koreliuoja su pirmąja. Eksperimento planas sudarytas parašius programą Matlab aplinkoje (programa pateikta 1 priede). Programoje teoriškai atsitiktinai maišomi trys sirupai iš penkių skirtingomis koncentracijomis. „Maišoma“ 20, 30 ir 50 procentų kiekvieno atsitiktinai parinkto sirupo. Tokiu būdu atsitiktinai sumodeliuojama 100000 bandinių. Vėliau iš sumodeliuotų bandinių pašalinami bandiniai su labai panašiomis medžiagų koncentracijų vertėmis (medžiagų koncentracijų vertės įsivaizduojant kaip vektorinę erdvę, lyginami vektorių ilgiai ir panašių ilgių vektoriai trinami) ir tikrinama medžiagų koncentracijų koreliacija sudarytame eksperimento plane. Imama didžiausia absoliutinė koreliacijos vertė, jei koreliacija netenkina, ieškoma kito eksperimento dizaino (vėl atsitiktinai teoriškai maišomi sirupai), kol pasiekama norima koreliacijos vertė. Šiuo atveju ieškota tokio eksperimento plano, kurio maksimali koreliacija tarp dviejų medžiagų būtų mažesnė nei 0,88 (absoliučios vertės). Tokiu būdu sudarytas eksperimento planas, kuriame yra 106 bandiniai, medžiagų koncentracijų koreliacija sudarytame eksperimento plane pateikta 3 lentelėje. Didžiausia absoliuti eksperimente esanti koreliacijos vertė tarp dviejų medžiagų yra 0,86. Sudarytas eksperimentas grafiškai pavaizduotas 5 pav. Matome, kad maišant atsitiktinai tris sirupus iš penkių vienalyčio koncentracijų pasiskirstymo negauname ir koncentracijų vertės yra apribotos. Dėl šio apribojimo kai kurioms medžiagoms turime dideles koreliacijas (didesnes nei 0,5 absoliučios vertės).

2 lentelė. Sirupuose esančių medžiagų koncentracijos procentais.

Sirupas	Gliukozė %	Maltozė %	Maltotriozė %	Maltotetraozė%	Vanduo %
B1	70,4	2,3	0,4	0,4	26,5
B2	3,1	9,6	10,1	48,8	28,4
B3	1,3	37,3	11,8	22,4	27,2
B4	35	21,8	6,9	13,1	23,3
B5	0,8	51,4	7,6	14,4	25,7

3 lentelė. Sudaryto eksperimento plano medžiagų koncentracijų koreliacijos koeficientai.

	Gliukozė	Maltozė	Maltotriozė	Maltotetraozė	Vanduo
Gliukozė	1	-0,6663	-0,8647	-0,5637	-0,6951
Maltozė	-0,6663	1	0,3591	-0,2385	0,3356
Maltotriozė	-0,8647	0,3591	1	0,7049	0,4229
Maltotetraozė	-0,5637	-0,2385	0,7049	1	0,5515
Vanduo	-0,6951	0,3356	0,4229	0,5515	1



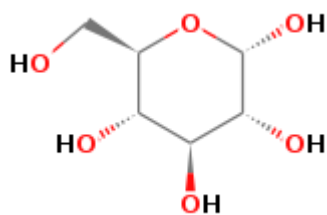
5 pav. Sudaryto eksperimento plano grafinis atvaizdavimas. A – gliukozės ir maltozės masės dalis bandinyje sudarytame eksperimento plane, B – gliukozės ir maltotriozės, C – gliukozės ir maltotetraozės, D – maltozės ir maltotriozės, E – maltozės ir maltotetraozės, F – maltotriozės ir maltotetraozės.

Tyrimė naudojamų medžiagų spektriniai skirtumai

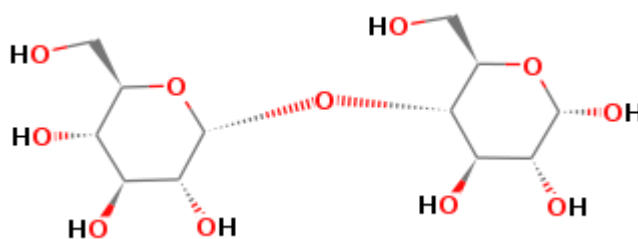
Eksperimente bus bandoma nustatyti gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijas mišiniuose iš užregistruotų spektrų viduriniojoje ir artimojoje infraraudonojoje srityse. Tam, kad duomenis interpretuoti būtų efektyviau, prieš sudarinėjant kalibracinius modelius, nagrinėti gliukozės, maltozės ir maltotriozės spektrai viduriniojoje ir artimojoje spektrinėse srityse. Tyrimų metu grynos maltotetraozės spektrai neužregistruoti.

Prieš nagrinėjant medžiagų spektrus viduriniojoje ir artimojoje infraraudonojoje spektrinėse srityse, panagrinėtos gliukozės, maltozės, maltotetraozės ir maltotetraozės molekulių cheminės struktūros (6 pav.) Matome, kad gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės molekulės yra panašios, sudarytos iš tų pačių atomų. Molekulės skiriasi susijungusių žiedų skaičiumi. Dėl skirtingo susijungusių žiedų skaičiaus galime tikėtis skirtingų spektrų, tačiau tikėtina, kad spektrinė informacija bus labai panaši. Spektrinės informacijos panašumas atsiras dėl to, kad medžiagas sudaro tie patys atomai susijungę labai panašiomis jungtimis (turėsime panašius virpesius) ir pagrindiniai skirtumai atsiras dėl kitokio atomų išsidėstymo molekulėje susijungus didesniai žiedų (piranozės (*pyranose*)) skaičiui. Taip pat susijungus keliems žiedams atsiranda papildoma glikozidinė (*glycoside*) jungtis (C-O-C tarp piranozės) [17], taip pat sumažėja C-H jungčių, tai taip pat turės įtakos spektrinei informacijai.

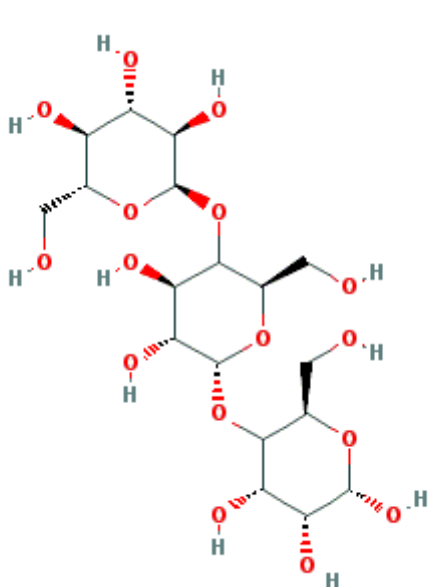
Artimojoje infraraudonojoje srityje spektrinę informaciją interpretuoti bus sudėtingiau nei viduriniojoje: artimojoje srityje pasireiškia virštoniai bei kombinaciniai virpesiai, spektrinės juostos dažniausiai yra plačios bei sunkiai interpretuojamos, sudėtingiau spektrines juostas priskirti konkrečiam virpesiui, ypač srityje, kurioje stebimi kombinaciniai virpesiai (2000–2500 nm). Panašioms molekulėms, jų virštoniai bei kombinaciniai virpesiai gali būti labai panašūs ir sunkiai atskiriami. Nagrinėjant gliukozės, maltozės ir maltotriozės molekules, užregistruoti jų spektrai viduriniojoje ir artimojoje spektrinėse srityse. Šie spektrai pavaizduoti 7–17 pav. Viduriniojoje infraraudonojoje srityje užregistruoti sausų medžiagų spektrai (miltelių). Tuo tarpu registruojant spektrus *NIR* srityje, medžiagos ištirpintos vandenyje ir tik tada registruoti medžiagų spektrai (naudota 1 mm optinio kelio kiuvetė), kadangi kietoje fazėje šių medžiagų pralaidume užregistruoti nepavyktų (visa spinduliuotė būtų sugerta ir nepasiektų detektoriaus). Viduriniojoje srityje spektrai užregistruoti „Hyperion 3000“ mikroskopu su *ATR* priedu sujungtu su „Vertex 70“ spektrometru naudojant 4 cm^{-1} skyrą, artimojoje srityje spektrai registruoti „Perkin Elmer Lambda 1050“ spektrofotometru naudojant 2 nm skyrą.



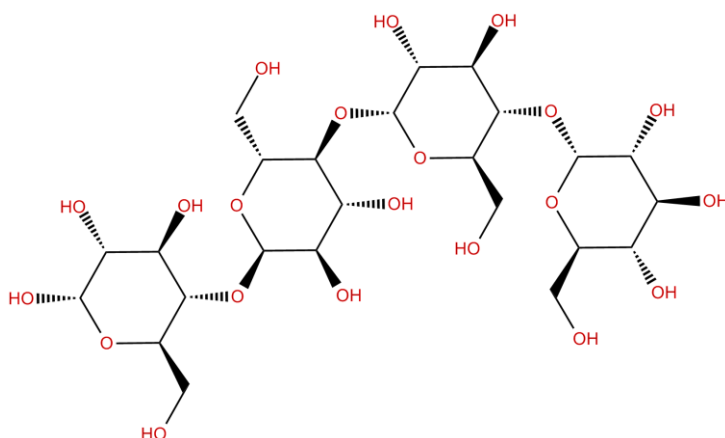
Gliukozė ($C_6H_{12}O_6$) [18]



Maltozė ($C_{12}H_{22}O_{11}$) [19]



Maltotriozė ($C_{18}H_{32}O_{16}$) [20]



Maltotetraozė ($C_{24}H_{42}O_{21}$) [21]

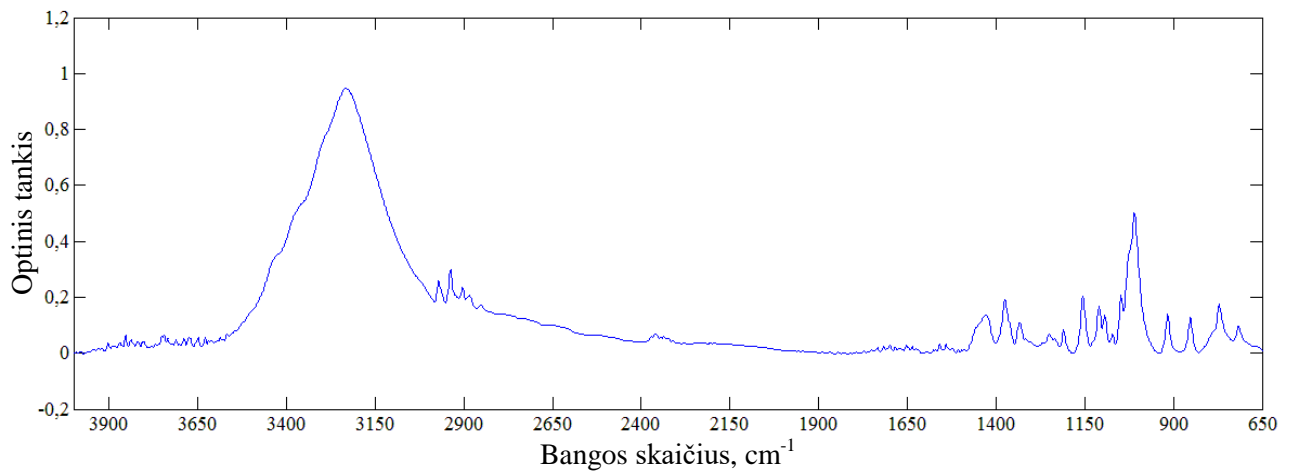
6 pav. Gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės struktūrinės formulės.

Iš spektrų užregistruotų viduriniojoje srityje (7–12 pav.), matyti, kad nors molekulės tarpusavyje skiriasi mažai, tačiau spektriniai neatitikimai išskiriami. Nežymūs spektriniai skirtumai matomi srityje $3650\text{--}2650\text{ cm}^{-1}$, tačiau aiškiausi skirtumai stebimi $1500\text{--}650\text{ cm}^{-1}$ spektrinėje srityje. Virpesiai, esantys $3650\text{--}2650\text{ cm}^{-1}$, susiję su vandenilio ir prisijungusio kito atomo valentiniais virpesiais (O-H ir C-H virpesiai), o nagrinėjant žemesnių bangos skaičių sritį daugiausia susiduriame su sunkesnių atomų virpesiais (4 lentelė) [22,23]. Taip pat galime pastebėti, kad maltotriozės spektras turi mažiau išraiškingų spektrinių juostų lyginant su gliukoze ir maltoze. Taip yra todėl, kad maltotriozę sudaro daugiau atomų (lyginant gliukozę ir maltozę), turime daugiau virpesių, kurie yra panašaus dažnio, ir spektre šie virpesiai persikloja.

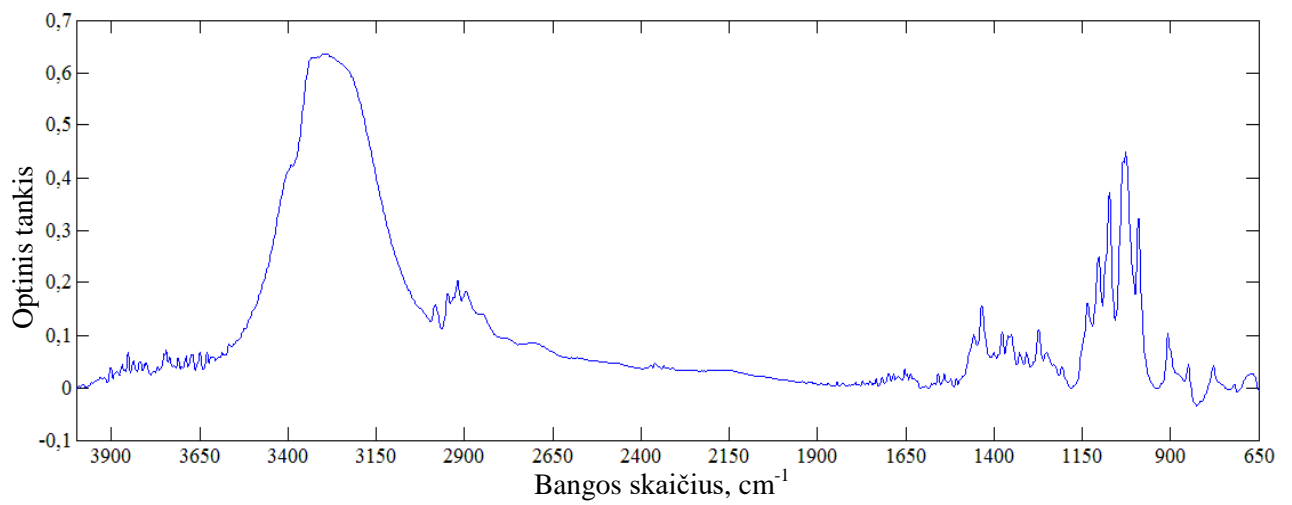
Iš teorijos žinoma, kad *NIR* srityje daugiausiai stebimi vandenilio ir kito atomo, su kuriuo jis susijungęs, virpesio virštoniai ir kombinaciniai virpesiai. Į *NIR* sritį papuola didesnio bangos skaičiaus virpesiai esantys *MIR* srityje. *MIR* srityje esančio virpesio virštonis ar virpesių kombinacinis virpesys sumoje turi būti didesnis nei 4000 cm^{-1} , kad papultų į *NIR* sritį [1].

Nagrinėjant gliukozės, maltozės ir maltotriozės spektrus artimojoje infraraudonojoje srityje galime pastebėti, kad spektriniai skirtumai yra minimalūs. Kadangi medžiagų spektrai *NIR* spektrinėje srityje registruoti gliukoze, maltoze ir maltotrioze ištirpinus vandenyje, spektrinius pokyčius atsiradusius dėl tiriamų medžiagų atskirti nuo vandens iš pirmo žvilgsnio nėra trivialu (13–17 pav.). Spektrinė juosta, esanti ties 1450 nm, susijusi su O-H antruoju virštoniu, šis virštonis būdingas tiek vandens, tiek tiriamų medžiagų molekulėms. Spektrinė juosta, esanti ties 1932 nm, yra susijusi su OH-OH kombinaciniu virpesiu. Ši juosta atsiranda tik dėl mišinyje esančių vandens molekulių. Juostos, esančios virš 2000 nm, susijusios su X-H kombinaciniais virpesiais, kur X yra anglies arba deguonies atomas [15,24]. Siekiant geriau matyti spektrinius skirtumus, iš užregistruotų spektrų artimojoje infraraudonojoje srityje atimtas vandens spektras. Kadangi spektrinė juosta ties 1932 nm susijusi tik su vandens molekulių OH-OH kombinaciniu virpesiu, ši juosta pasirinkta nustatant, kokią dalį vandens spektrinės informacijos atimti, t.y. vandens spektrinių juostų intensyvumas sumažintas atitinkamai medžiagų ir vandens mišinio spektrui ir atimtas. Spektrai, atėmus vandens spektrines juostas bei sunormavus pagal spektrinę juostą esančią ties 2115 nm, pavaizduoti 18 paveiksle. Matome, kad pagrindinė informacija yra 2000–2400 nm spektrinėje srityje, šioje srityje yra kombinaciniai virpesiai [9]. Atėmus vandenį nepavyko visiškai pašalinti OH-OH kombinacinio virpesio, nes didėjant sugerčiai spektrinės juostos intensyvumas bei plotis ties puse maksimumo (*FWHM*) didėja neproporcingai ir todėl spektrinė juosta pilnai neatimta. Net ir atėmus vandens spektrą, gliukozės, maltozės ir maltotriozės spektriniai pokyčiai yra beveik nepastebimi, visų medžiagų spektrinės juostos yra tose pačiose spektrinėse srityse. Tam, kad geriau būtų įvertinti spektriniai skirtumai apskaičiuotos šių spektrų pirmosios išvestinės (19 pav.). Galima pastebėti, kad gliukozės, maltozės ir maltotriozės spektrinių juostų maksimumai šiek tiek skiriasi. Ši išvada daroma iš to, kad spektrų pirmos išvestinės vertės kerta nulį šiek tiek skirtingose padėtyse. Vadinasi, gliukozės, maltozės ir maltotriozės spektrinę informaciją sudaro labai panašių virpesių kombinaciniai virpesiai bei virštoniai. To galima buvo tikėtis, nes gliukozės maltozės ir maltotriozės spektrai viduriniojoje infraraudonojoje srityje tarpusavyje skyrėsi mažai, o *NIR* sritis yra *MIR* srities virpesių virštoniai bei kombinaciniai virpesiai.

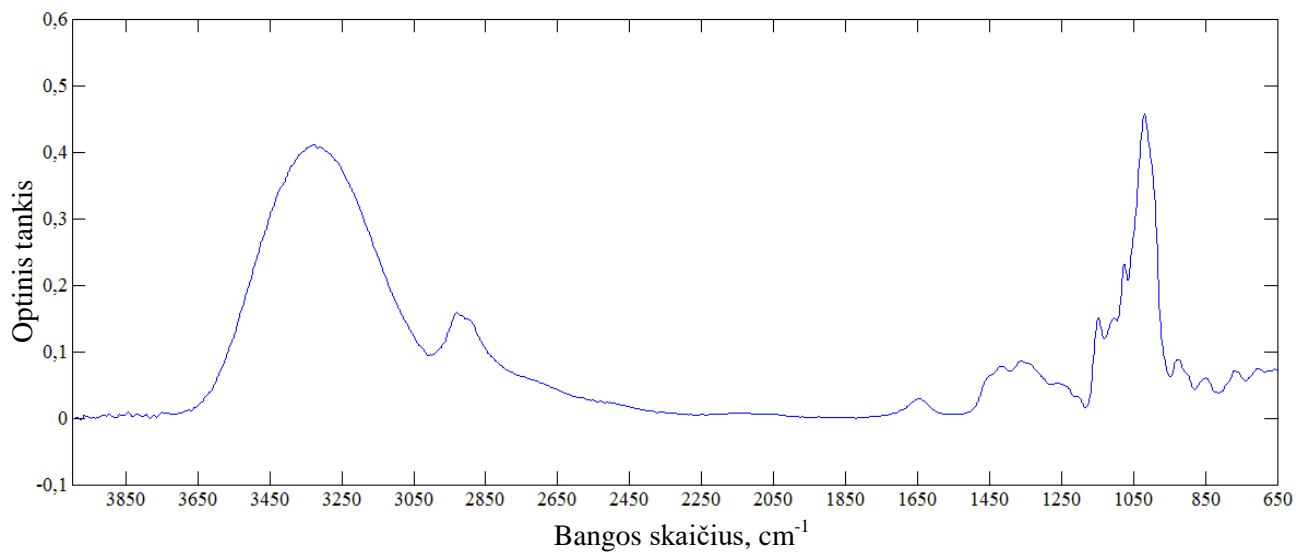
Matyti, kad gliukozės, maltozės ir maltotriozės spektriniai skirtumai yra nežymūs, ypač artimojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje, todėl naudojant tiesinę kalibraciją tiriamų medžiagų koncentracijų nustatyti nepavyktų. Todėl vienintelis būdas nustatyti medžiagų koncentracijas naudojant artimąją ir viduriniąją infraraudonąją sritį galima tik naudojant daugiamatę kalibraciją.



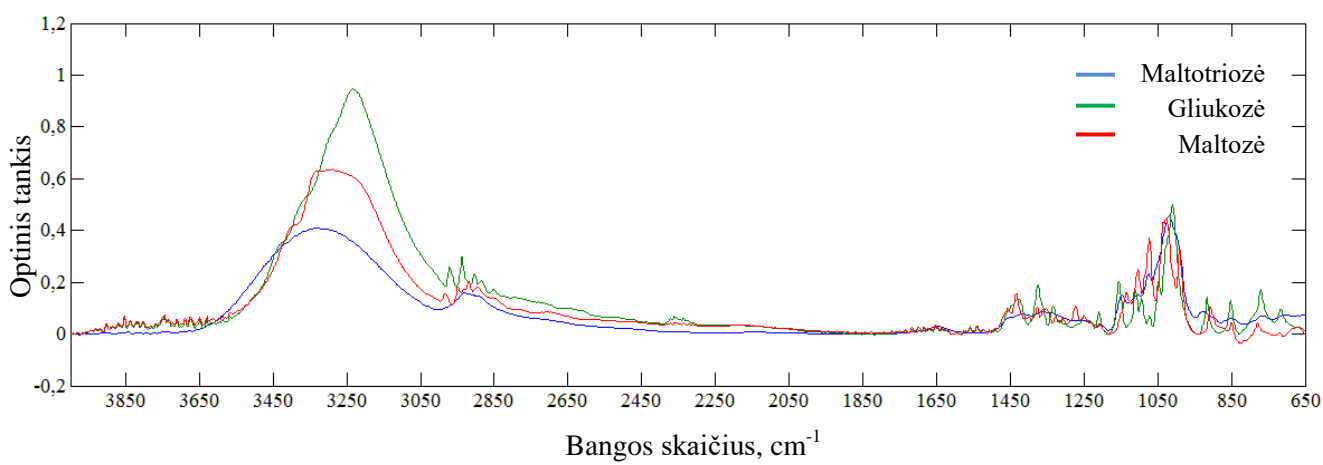
7 pav. Gliukozės IR sugerties spektras viduriniojoje infraraudonojoje srityje.



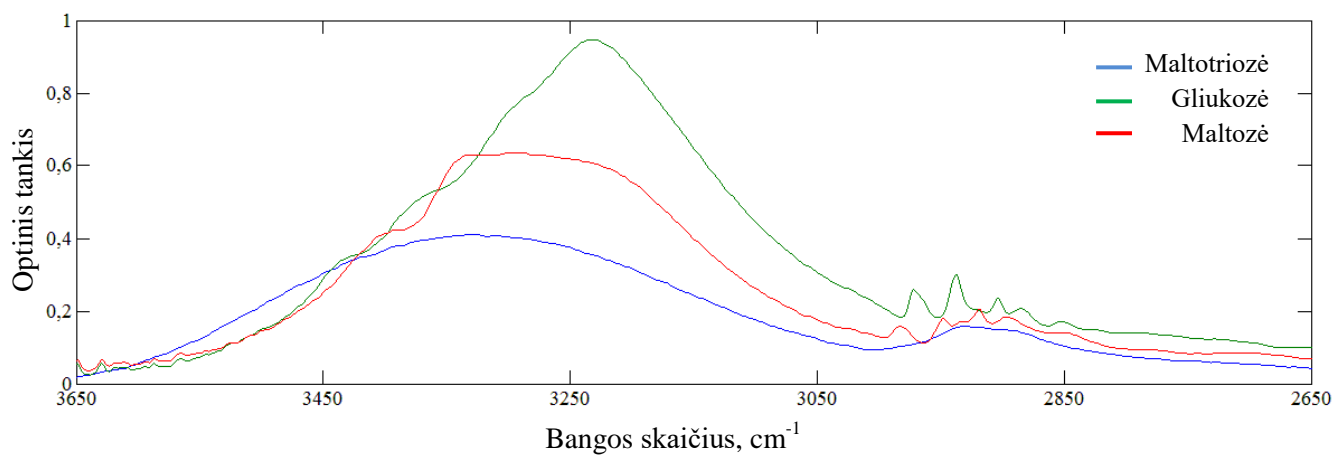
8 pav. Maltozės IR sugerties spektras viduriniojoje infraraudonojoje srityje.



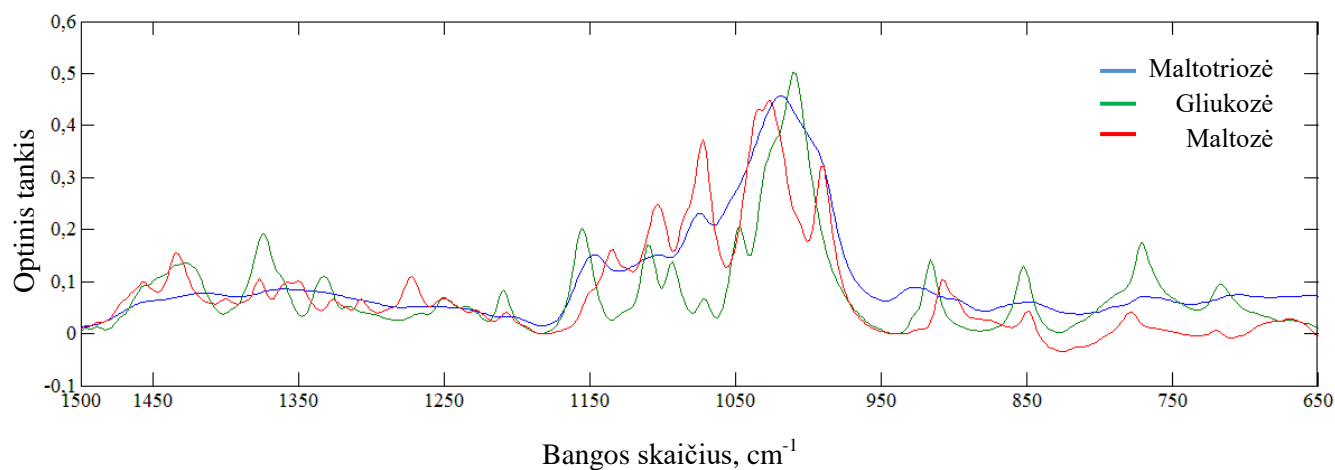
9 pav. Maltotriozės IR sugerties spektras viduriniojoje infraraudonojoje srityje.



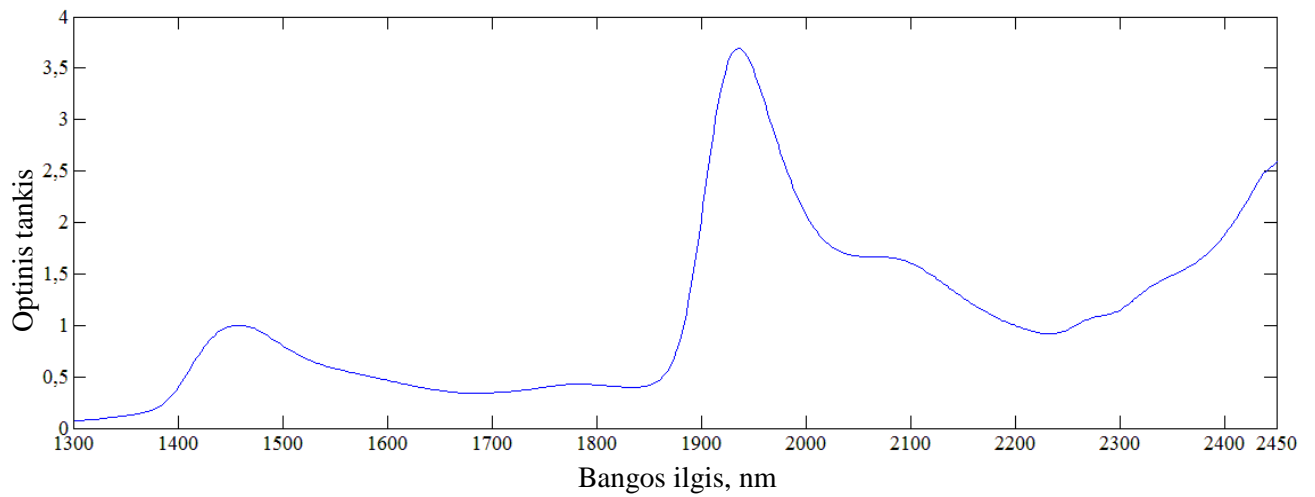
10 pav. Gliukozės, maltozės ir maltotriozės IR sugerties spektrai viduriniojoje infraraudonojoje srityje.



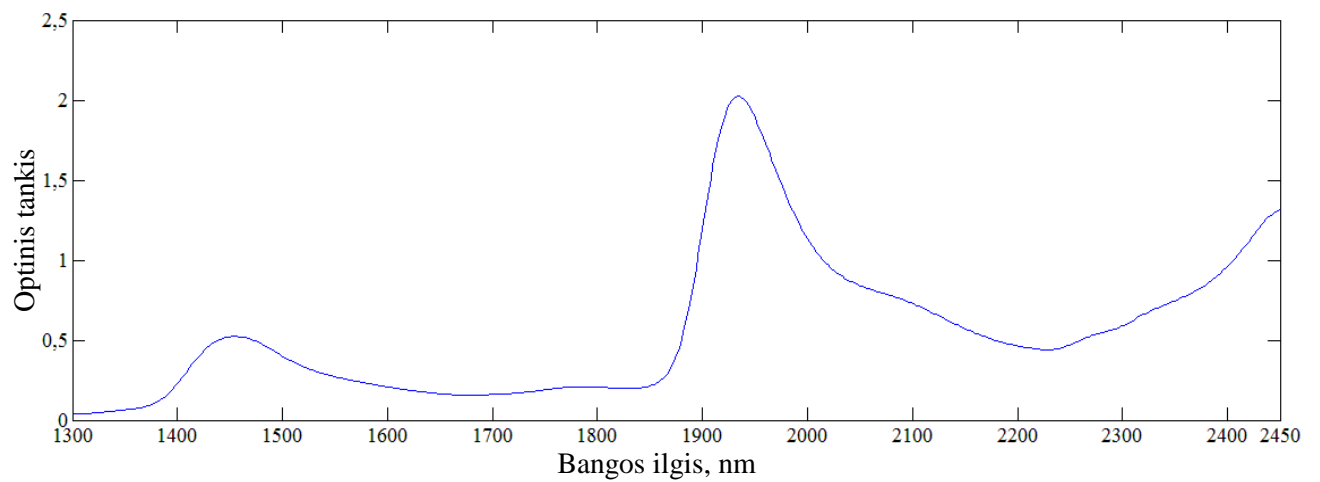
11 pav. Gliukozės, maltozės ir maltotriozės IR sugerties spektrai 3650–2650 cm⁻¹ viduriniojoje infraraudonojoje srityje.



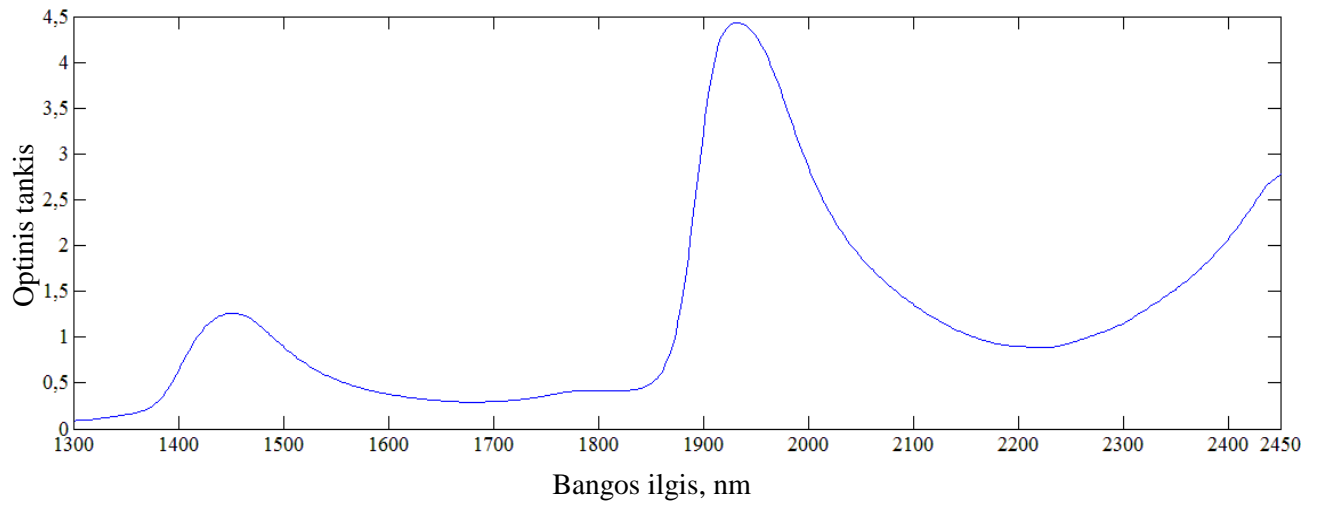
12 pav. Gliukozės, maltozės ir maltotriozės IR sugerties spektrai 1500–650 cm⁻¹ viduriniojoje infraraudonojoje srityje.



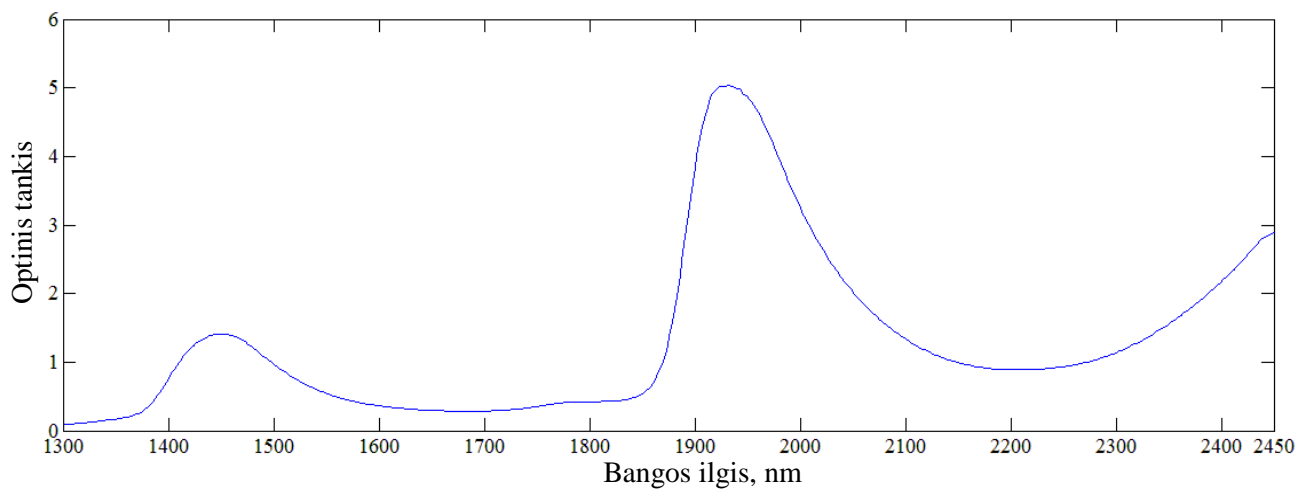
13 pav. Gliukozės ir vandens mišinio IR sugerties spektras artimojoje infraraudonojoje srityje.



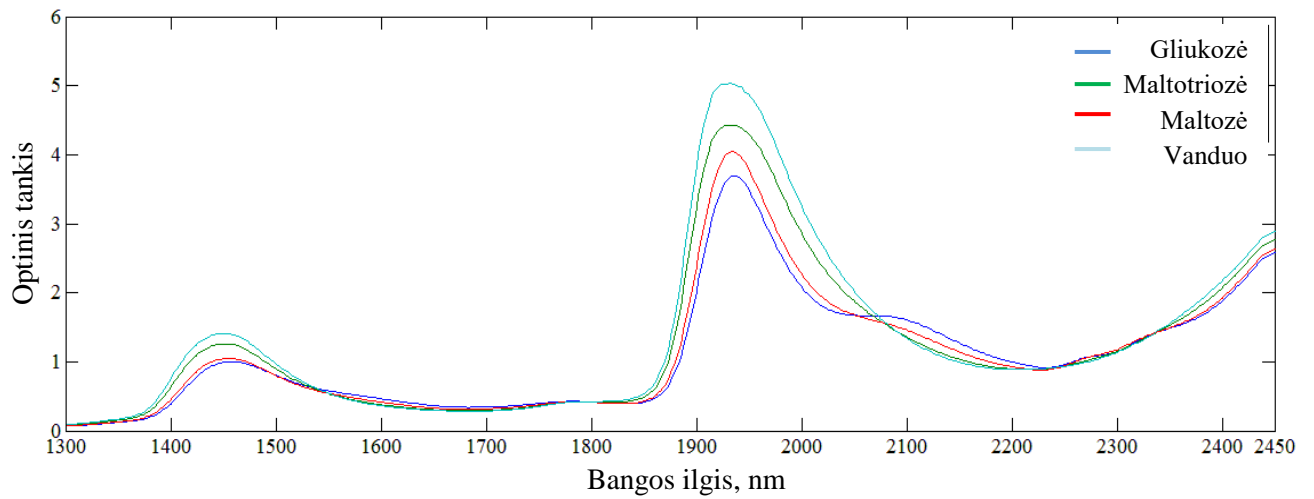
14 pav. Maltozės ir vandens mišinio IR sugerties spektras artimojoje infraraudonojoje srityje.



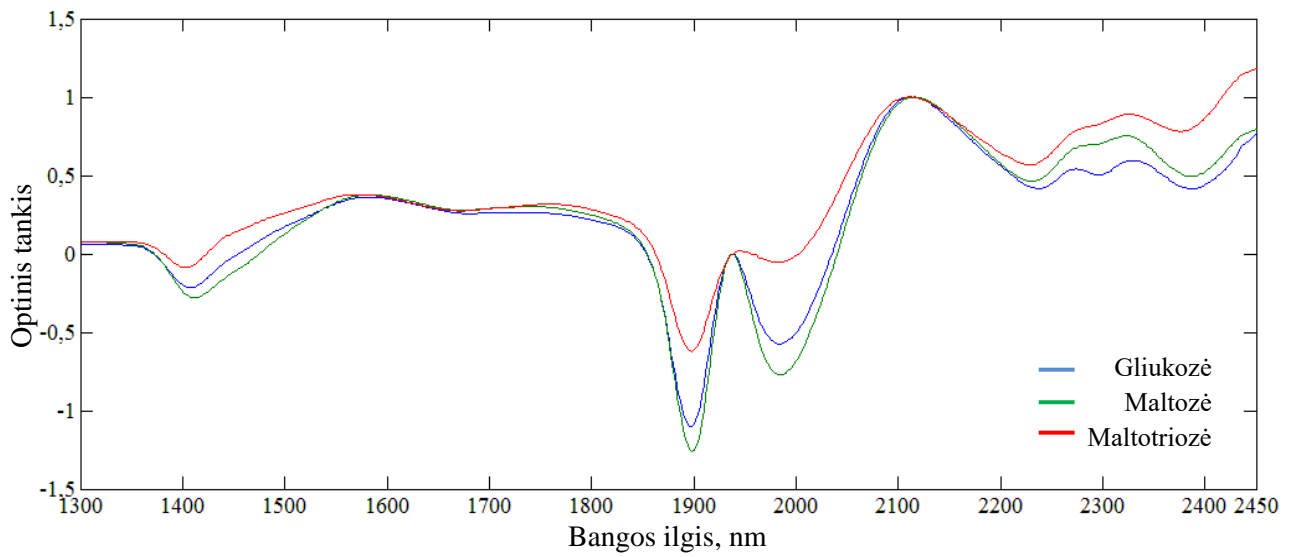
15 pav. Maltotriozės ir vandens mišinio IR sugerties spektras artimojoje infraraudonojoje srityje.



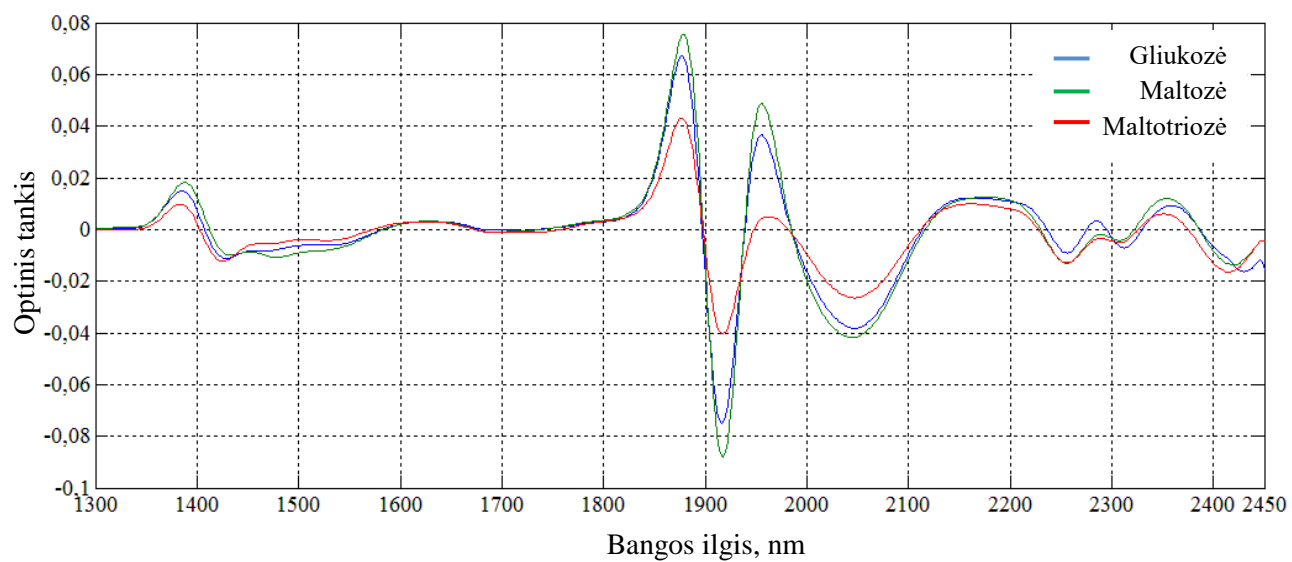
16 pav. Vandens IR sugerties spektras artimojoje infraraudonojoje srityje.



17 pav. Gliukozės, maltozės, maltotriozės vandens mišinių ir vandens IR sugerties spektrai artimojoje infraraudonojoje srityje.



18 pav. Gliukozės, maltozės ir maltotriozės IR sugerties spektrai artimojoje infraraudonojoje srityje atėmus vandens spektrą.



19 pav. Gliukozės, maltozės ir maltotriozės IR sugerties spektrai artimojoje infraraudonojoje srityje atėmus vandens spektrą ir paskaičiavus pirmą išvestinę.

4 lentelė. Gliukozės molekulės virpesių priskyrimas [23].

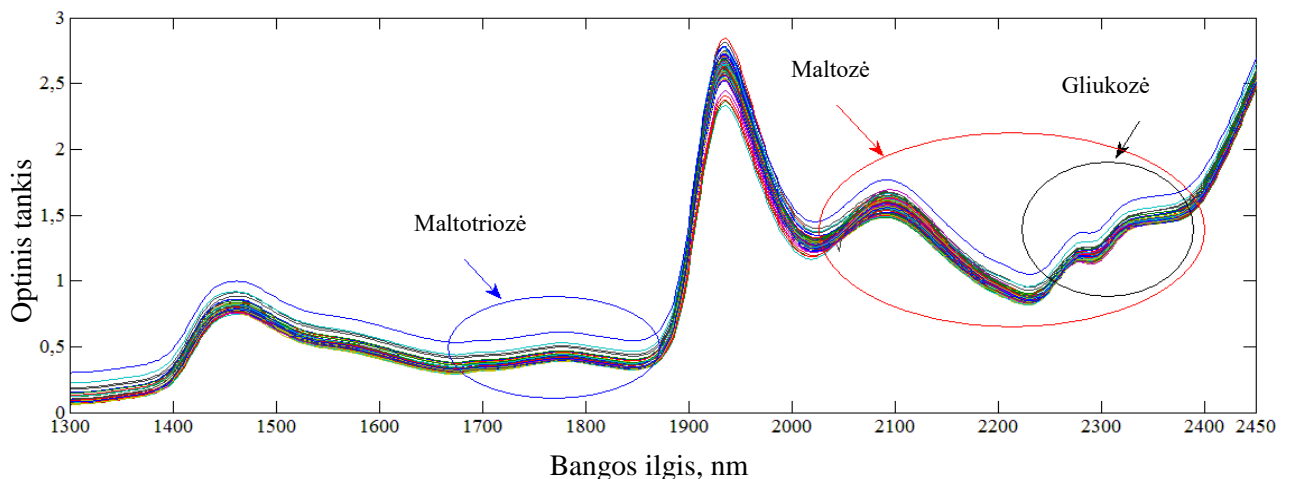
Bangos skaičius, cm^{-1}	Virpesys
3418	ν OH
3408	ν OH
2963	ν_s CH
2939	ν_{as} CH
1441	δ CH ₂ + δ OCH + δ CCH
1352	δ OCH + δ COH + δ CCH
1333	δ CCH + δ OCH
1218	δ CH + δ OH
1220	δ CH + δ OH
1137	ν CO + ν CC
1116	ν CO
1058	ν CO + ν CC
1026	ν CO
944	ν CO + ν CC
900	ν CO + ν CCH + ν_{as} piranozės žiedo
834	δ CH
762	δ CCH + δ CCO
619	δ CH ₂

Tyrimo rezultatai

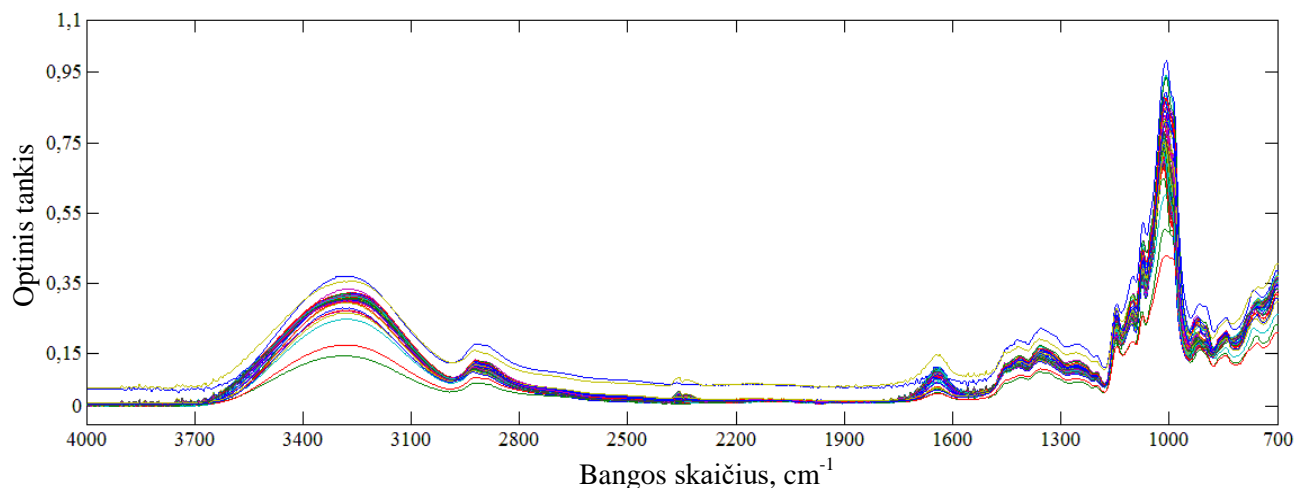
Registruojant spektrus artimojoje infraraudonojoje srityje eksperimentui naudota 1 mm optinio kelio kiuvetė. Matavimams naudotas „Perkin Elmer Lambda 1050” spektrofotometras, registruotas 1300–2450 nm spektrinis diapazonas, naudota spektrinė skyra 2 nm. Spektrai viduriniojoje infraraudonojoje srityje užregistruoti „Inerspec 300-X” spektrometru, naudojant *ATR* metodą. Registruota sritis $4000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$, skyra 4 cm^{-1} .

Užregistruoti sugerties spektrai artimojoje infraraudonojoje srityje pavaizduoti 20 pav., viduriniojoje infraraudonojoje srityje 21 pav. Iš viso užregistruoti 106 mėginių spektrai su skirtingomis gliukozės, maltozės, maltotriozės, maltotetraozės bei vandens koncentracijomis.

Spektruose, pavaizduotuose 20 pav. ir 21 pav., matome bazinės linijos pokyčius. Šie pokyčiai atsirado dėl to, kad ruošiant B5 sirupą ištirpo ne visa maltozė ir registruojant bandinio spektrą, kuriame yra B5 sirupo, neištirpusios dalelės papildomai sklaidė infraraudonąją spinduliuotę. Papildoma spinduliuotės sklaida kompensuota naudojant *EMSC (Extended Scatter Correction)* korekciją prieš spektrinius duomenis naudojant kalibracinio modelio sudarymui.

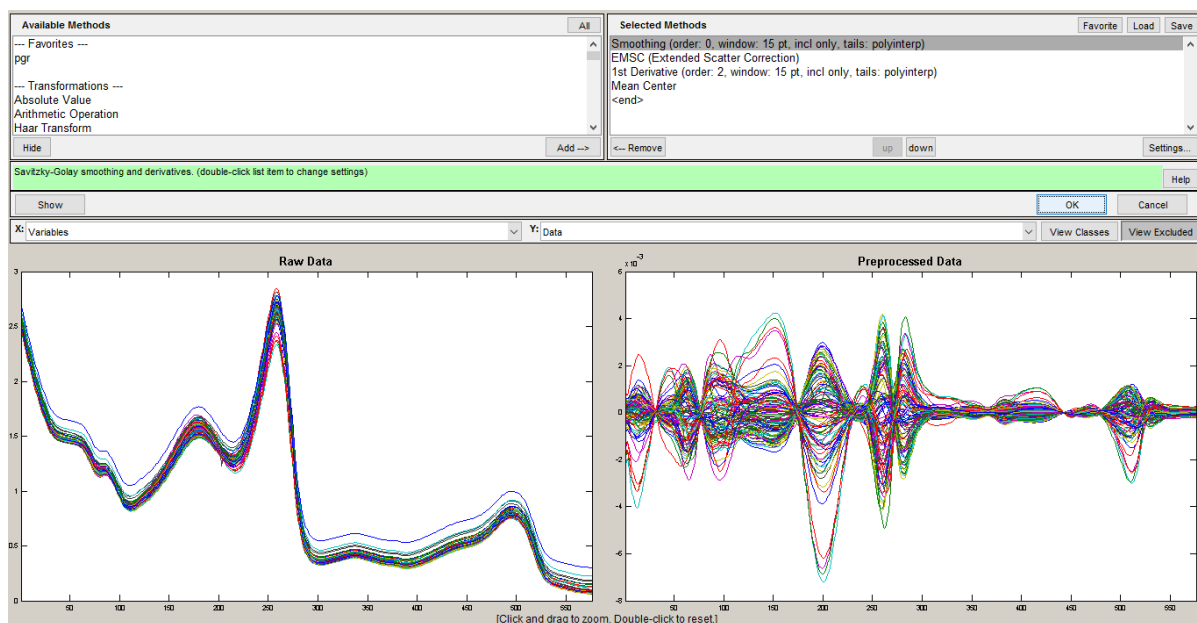


20 pav. Eksperimente naudotų bandinių IR sugerties spektrai artimojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje.



21 pav. Eksperimente naudotų bandinių IR sugerties spektrai viduriniojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje.

Užregistruoti spektrai ir medžiagų koncentracijų vertės mišiniuose įkeltos į “Matlab” programos “PLS toolbox” paketą. Pasirinktas kalibravimo modelis – *PLS*. Prieš kalibraciją, atliekamas spektrų glodinimas (*smoothing*), apskaičiuojama pirma išvestinė ir centruojama apie vidurkį (*meancenter*), bei atliekama sklaidos korekcija (*extended scatter correction*) (22 pav.). Spektrų glodinimas *MIR* srityje nenaudotas, nes glodinant spektrą būtų prarasta dalis spektrinės informacijos. Kita vertus, analizuojant spektrus artimojoje srityje, pastebėta, kad spektrofotometrui keičiant naudojamą difrakcinę gardelę buvo neteisingai užregistruojamas vienas bangos ilgis, todėl ši klaida ištaisyta glodinant spektrą. Kadangi spektrinės linijos *NIR* srityje plačios, glodinimas informacijos netekimui įtakos neturėjo. Spektrų apdorojimas prieš sudarant kalibracinį modelį mažina koncentracijų nustatymo paklaidas. Spektro glodinimas sumažina signalo ir triukšmo santykį, pirmoji išvestinė ir centravimas apie vidurkį leidžia geriau įvertinti spektrinius pokyčius, sklaidos korekcija sumažina sklaidos įtaką, kuri atsirado dėl bandiniuose neištirpusios maltozės.



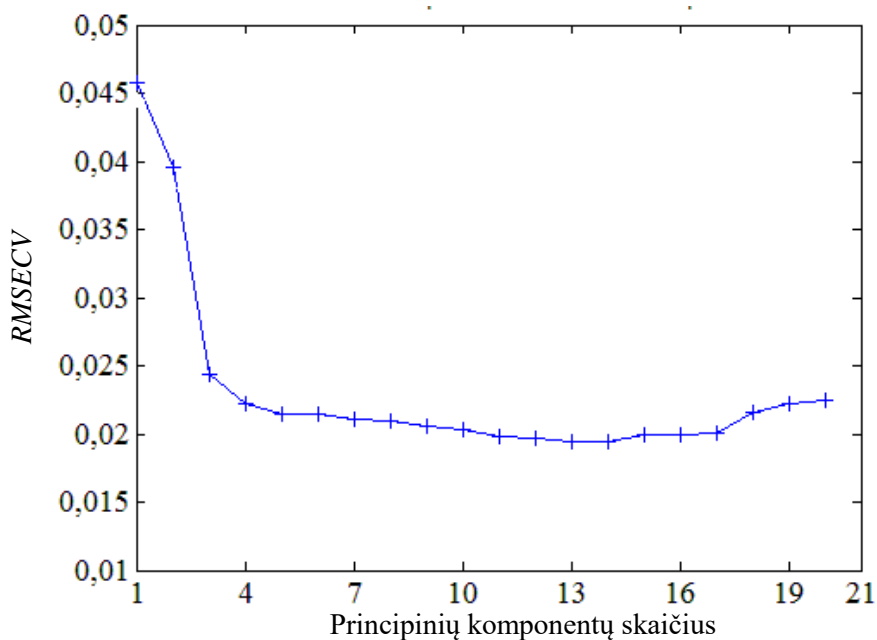
22 pav. Užregistruotų spektrų apdorojimas prieš sudarant kalibracinį modelį.

Atlikus duomenų korekcijas, sudaromas kalibracinis modelis. Pasirenkama spektro sritis, kurią naudojant gaunamos mažiausios koncentracijų nustatymo paklaidos. Spektro sritys parenkamos spėjimo būdu tikrinant, kada paklaidos yra mažiausios. Spektrinės sritys, kai kalibracinis modelis sudarytas artimojoje infraraudonojoje srityje, kiekvienai medžiagai pavaizduotos 20 pav. Gliukozės koncentracijai kalibruoti parinkta 2230–2412 nm, maltozės 2016–2414 nm, maltotriozės 1652–1856 nm, maltotetraozės koncentracijų nustatymui naudotas visas užregistruotas spektras. Naudojant viduriniąją sritį, naudotas visas spektras, išskyrus CO₂ spektrines juostas, esančias 2390–2290 cm⁻¹ srityje [25], nes šios juostos niekaip su koncentracijų kitimu nesusijusios ir galėtų būti klaidingai priskirtos sudarant kalibracinį modelį.

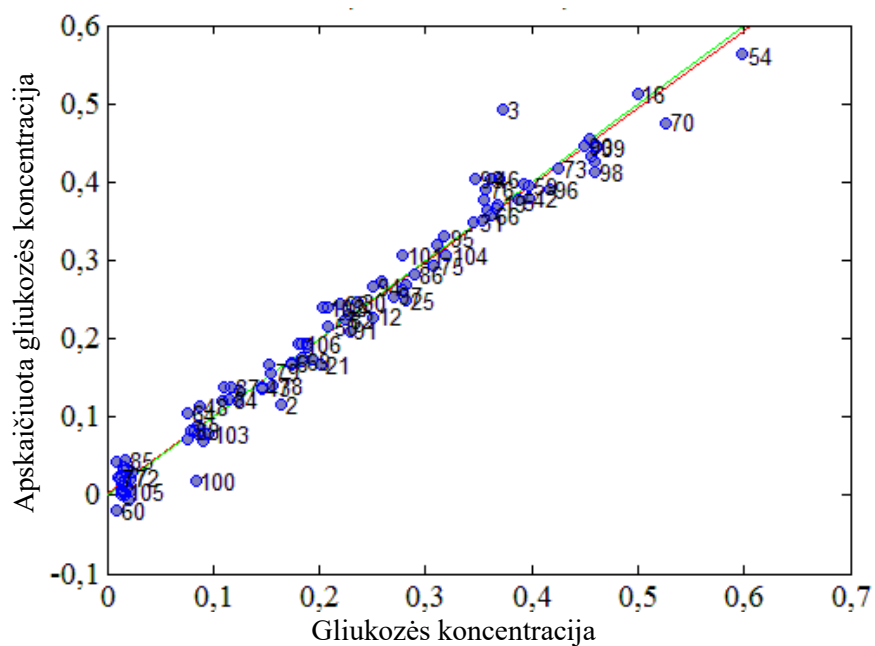
Nustačius tinkamas spektrines sritys kiekvienos medžiagos koncentracijų kalibravimui, sudaromas kalibracinis modelis. Iš pradžių į kalibracinį modelį įtraukiami visi bandinių spektrai (prieš tai atlikus spektrines korekcijas ir pasirinkus reikiamą spektrinę sritį). Nustatomas optimalus principinių komponentų skaičius. Taip pat parenkamas ne maksimalus principinių komponentų skaičius, nes parinkus per didelį, nustatinėjant koncentracijas didelę įtaką turėti spektruose esantys triukšmai. Paklaidų priklausomybė nuo principinių komponentų skaičiaus pavaizduota 23 pav. (*RMSECV (Root Mean Square Error of Cross Validation)*).

Šiuo atveju sudarinėjamas modelis gliukozės koncentracijų nustatymui *NIR* srityje jau atlikus spektrų korekcijas ir išskyrus tinkamą spektrinę sritį. Pasirinkta 11 principinių komponentų. Parinkus principinių komponentų skaičių sudaromas kalibracinis modelis. Tikrinama, kurie taškai

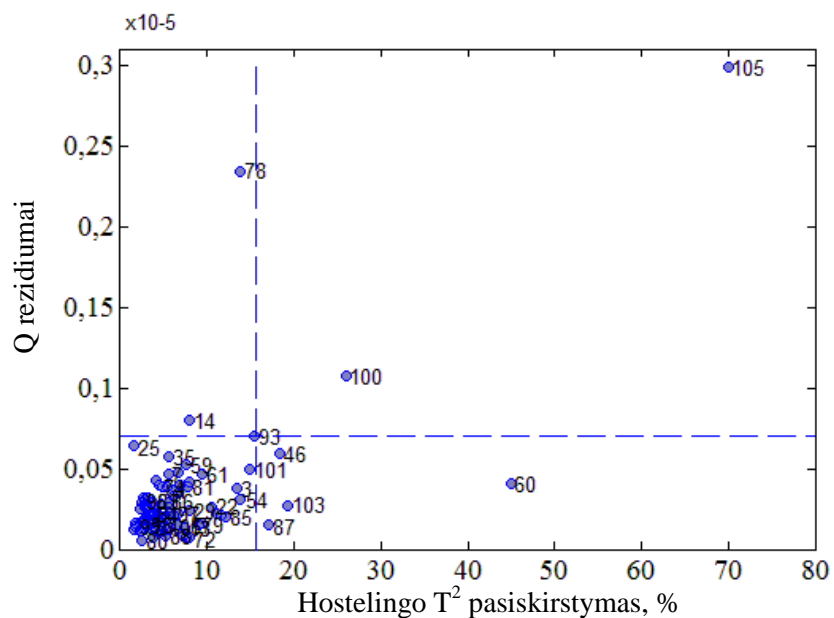
(užregistruoti bandinių spektrai) gali iškraipyti kalibracinį modelį, ir tie taškai trinami. Netinkamų taškų nustatymui braižomas grafikas, kuriame atidedamos apskaičiuotos ir tikrosios koncentracijų vertės (24 pav.), taip pat kalibracinio modelio Q reziduumai ir Hostelingo T^2 pasiskirstymas (25 pav.). Q reziduumai parodo, kiek išmatuoti taškai kalibraciniame modelyje yra nutolę nuo sudarytos A-matės erdvės, kuri ir sudaro tą modelį (A vertė priklauso nuo principinių komponentų skaičiaus), T^2 taškai suteikia informacijos, kiek eksperimentiniai taškai nutolę pačioje A-matėje erdvėje [13].



23 pav. *RMSECV* paklaidų priklausomybė nuo principinių komponentų skaičiaus sudarinėjant gliukozės koncentracijų kalibracinį modelį.

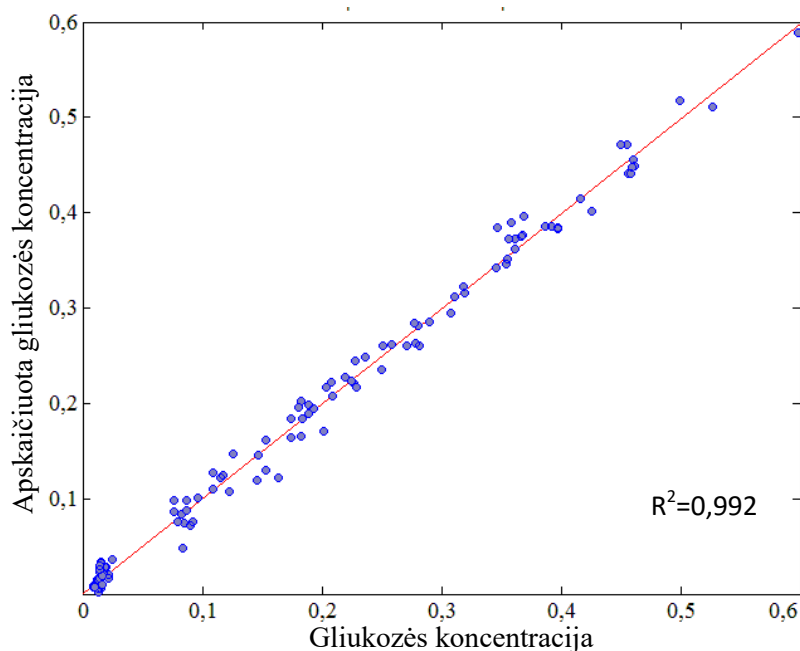


24 pav. Apskaičiuotos ir tikrosios gliukozės koncentracijos vertės kalibracijai naudojant artimąją infraraudonąją sritį.

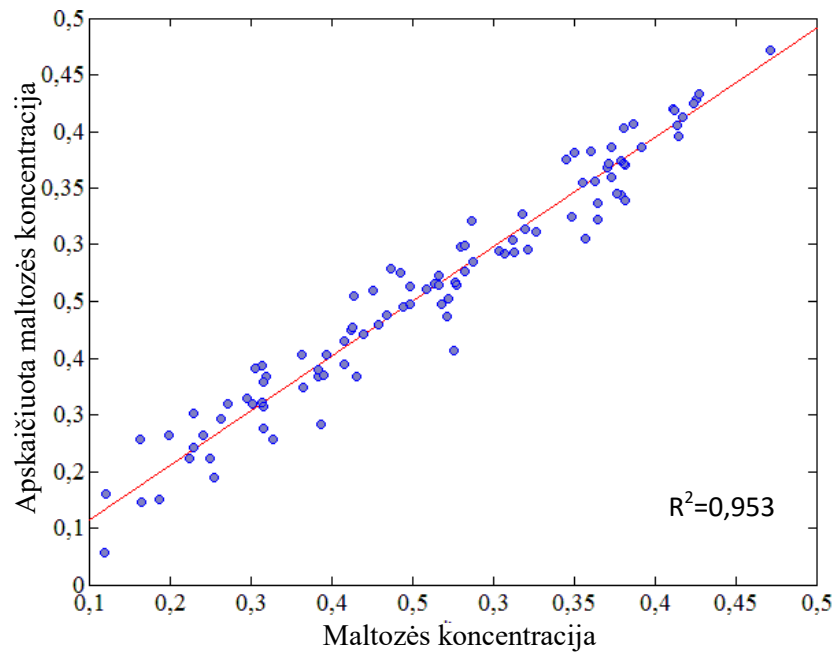


25 pav. Gliukozės kalibracinio modelio Q reziduumai ir Hostellingo T^2 pasiskirstymas kalibracijai naudojant artimąją infraraudonąją sritį.

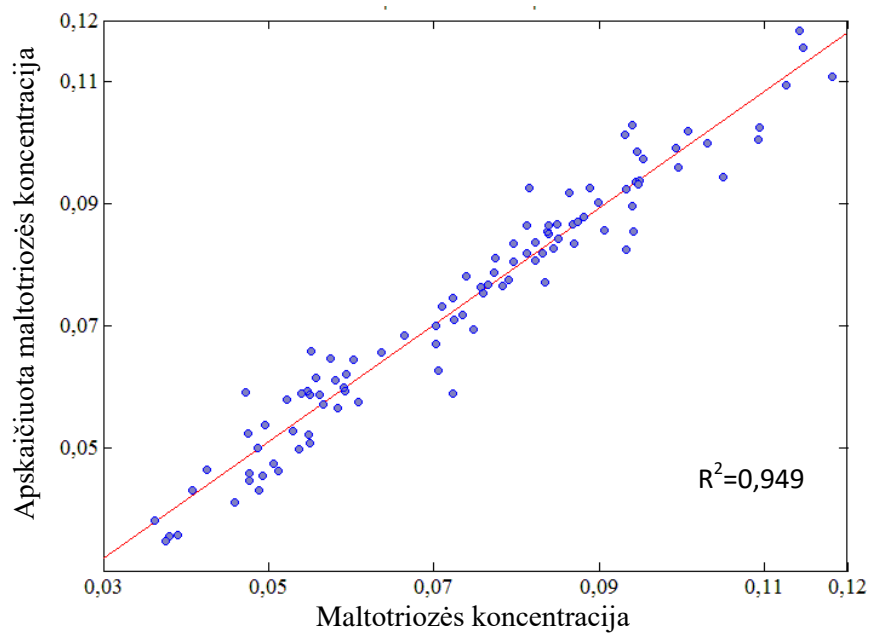
Iš 24 ir 25 paveikslo matome, kad taškai 3, 78, 100, 105, 60 (nurodo atitinkamo bandinio spektrą) gali gadinti kalibracinį modelį, todėl šie taškai į kalibracinį modelį neįtraukiami (išmetami). Ištrynus taškus sudarinėjamas naujas kalibracinis modelis su likusiais taškais. Iš naujo parenkamas principinių komponentų skaičius, tikrinamas likusių taškų tinkamumas kalibraciniam modeliui, jei yra, netinkami taškai trinami. Analogiškai procedūra pakartojama maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų kalibraciniam modeliui sudaryti. Taip pat tie patys žingsniai atliekami kalibraciniam modeliui sudaryti viduriniojoje infraraudonojoje srityje. Medžiagų kalibracinės kreivės *NIR* srityje pavaizduotos 26–29 pav., *MIR* srityje 30–33 pav. Kalibracinių modelių rezultatai pateikti 5 ir 6 lentelėse. Paveiksluose 26–33 taip pat nurodytas R^2 determinacijos koeficientas, kuris nurodo, kokia dalis pokyčių paaiškinta sudarytame modelyje.



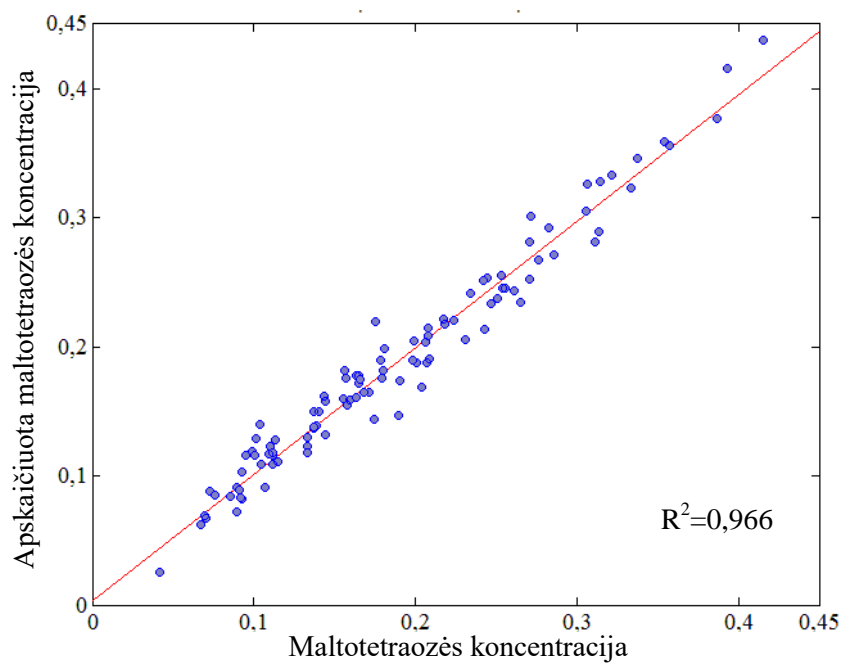
26 pav. Apskaičiuota ir tikroji gliukozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant artimąją infraraudonąją sritį.



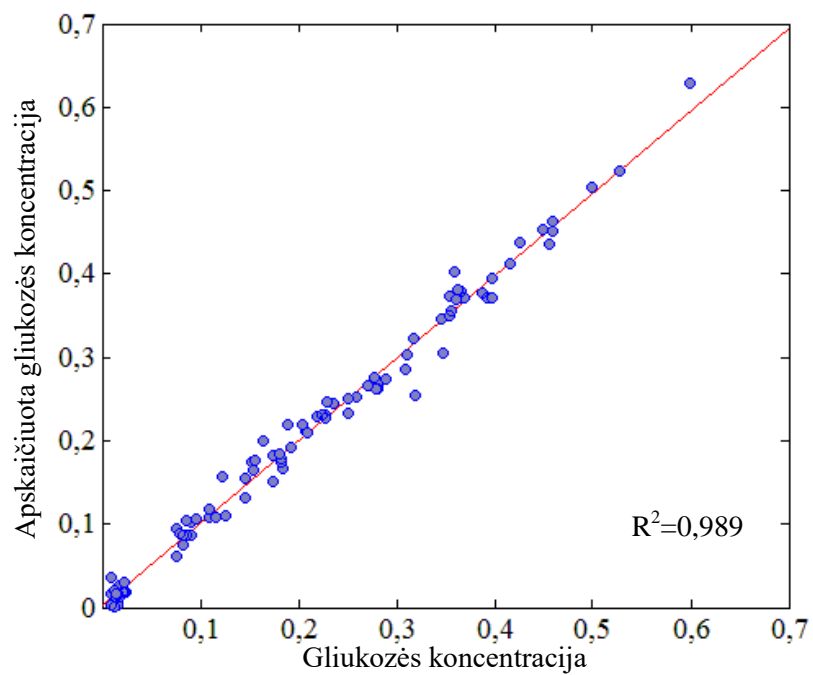
27 pav. Apskaičiuota ir tikroji maltozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant artimą infraraudonąją sritį.



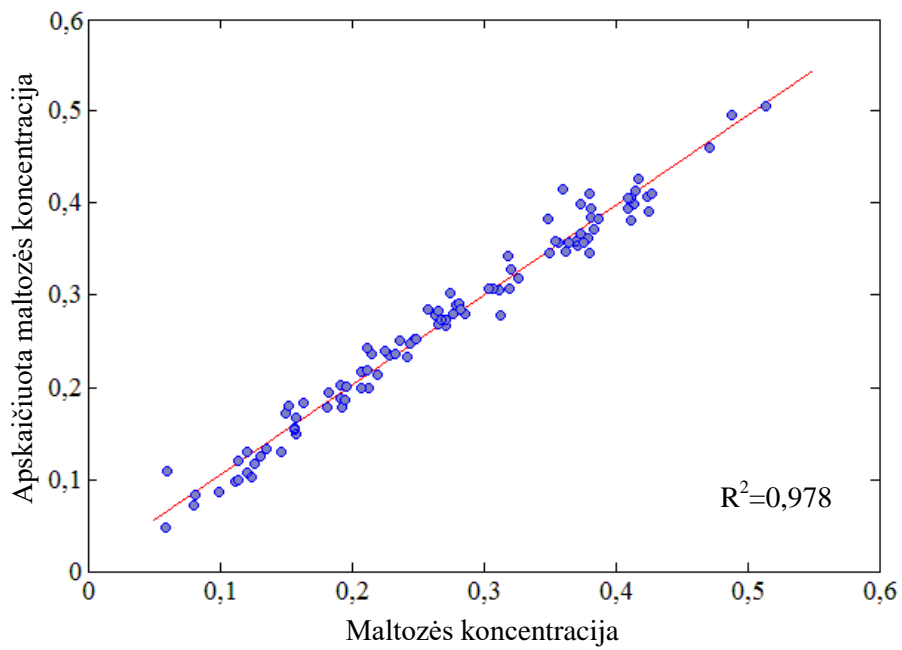
28 pav. Apskaičiuota ir tikroji maltotriozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant artimą infraraudonąją sritį.



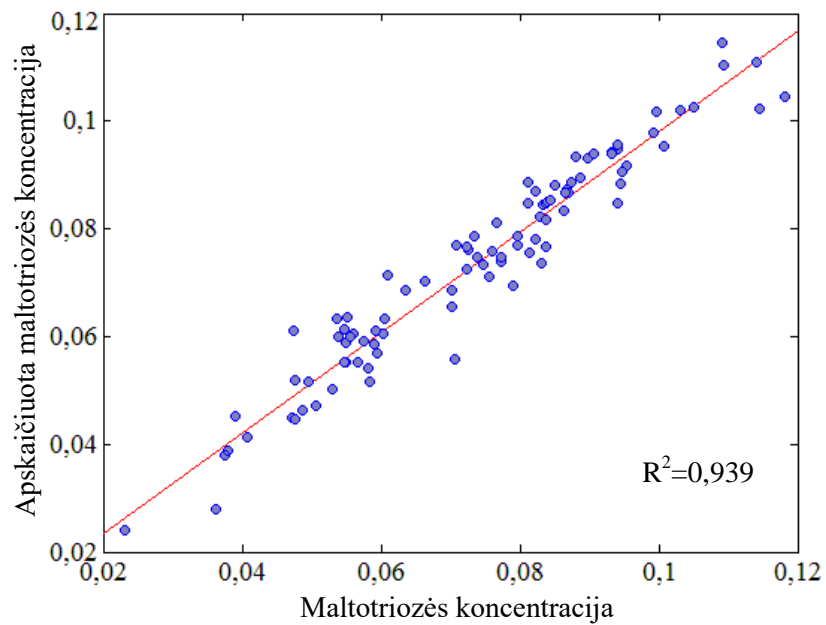
29 pav. Apskaičiuota ir tikroji maltotetraozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant artimą infraraudonąją sritį.



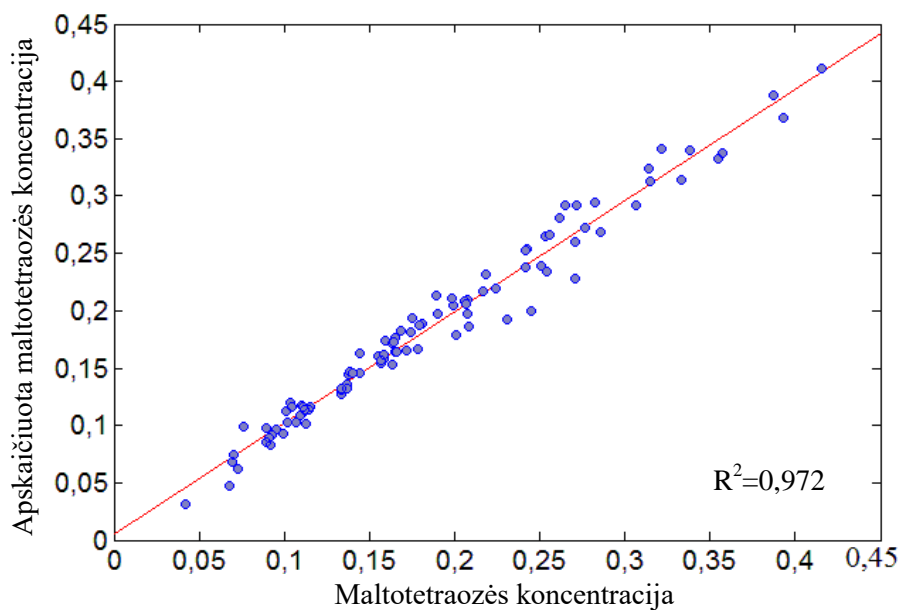
30 pav. Apskaičiuota ir tikroji gliukozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant vidurinią infraraudonąją sritį.



31 pav. Apskaičiuota ir tikroji maltozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant viduriniąją infraraudonąją sritį.



32 pav. Apskaičiuota ir tikroji maltotriozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant viduriniąją infraraudonąją sritį.



33 pav. Apskaičiuota ir tikroji maltotetraozės masės dalis sirupe, kalibracijai naudojant viduriniąją infraraudonąją sritį.

5 lentelė. Gliukozės, maltozės, maltotriozės, maltotetraozės koncentracijų kalibracinio modelio *NIR* srityje, sudaryto *PLS* metodu, rezultatai.

Medžiaga	Tikslumas (<i>RMSECV</i>) %	Kalibracijai naudotas bangos ilgių diapazonas	Principinių komponentų skaičius
Gliukozė	1,4	2230-2412 nm	11
Maltozė	2,3	2016-2414 nm	10
Maltotriozė	0,5	1652-1856 nm	14
Maltotetraozė	1,6	1300-2450 nm	9

6 lentelė. Gliukozės, maltozės, maltotriozės, maltotetraozės koncentracijų kalibracinio modelio *MIR* srityje, sudaryto *PLS* metodu, rezultatai.

Medžiaga	Tikslumas (<i>RMSECV</i>) %	Kalibracijai naudotas bangos ilgių diapazonas	Principinių komponentų skaičius
Gliukozė	1,3	4000-2390 ir 2290-700 cm^{-1}	6
Maltozė	1,6	4000-2390 ir 2290-700 cm^{-1}	9
Maltotriozė	0,5	4000-2390 ir 2290-700 cm^{-1}	10
Maltotetraozė	1,4	4000-2390 ir 2290-700 cm^{-1}	5

Iš 26–33 pav. matome, kad taškų išsibarstymas tiek viduriniojoje, tiek artimojoje infraraudonojoje srityse nėra didelis, taškai nėra toli nutolę nuo kalibracinės tiesės (paveikslėlyje raudona linija), determinacijos koeficientai artimi vienetui. Tai rodo, kad kalibraciniai modeliai gali prognozuoti koncentracijas iš spektrinių pokyčių tiek viduriniojoje, tiek artimojoje infraraudonojoje srityse. Koncentracijų nustatymo paklaidos tiems patiems bandiniams priklauso nuo to, kokią spektrinę sritį pasirinkime sudarinėjant kalibracinį modelį, taip pat kiek nagrinėsime principinių komponentų. Tam tikros spektrinės srities išskyrimas gali sumažinti paklaidas, nes tada eliminuojamos sritys, kurios tiriamos medžiagos pokyčių neatspindi ir trukdo sudaryti tikslesnį kalibracinį modelį. Norint išlaikyti minimalias paklaidas, kalibraciniam modeliui vertinant viduriniąją sritį naudota beveik visa spektrinė informacija (išskyrus CO_2 virpesines juostas). Taip yra todėl, kad visoje srityje yra vienodai svarbi informacija apie koncentracijų pokyčius. Nagrinėjant spektrus pavaizduotus 7–12 pav. matome, kad atskirų medžiagų virpesiai visoje viduriniojoje spektrinėje srityje yra skirtingi. Tačiau nagrinėjant *NIR* sritį (13–19 pav.) matome, kad medžiagų spektriniai skirtumai yra minimalūs ir skirtingų spektrinių sričių parinkimas kalibracijai gali būti naudingas. Tą matome iš eksperimentinių rezultatų (pasirinkus tam tikrą spektrinę sritį, sudarytos kalibracijos paklaidos (*RMSECV*) mažėja).

Šiuo atveju didžiausios paklaidos yra nustatinėjant maltozės koncentracijas, tam įtakos turėjo tai, kad ruošiant vieną iš sirupų ištirpo ne visa maltozė. Be to, tai turėjo įtakos ir kitų medžiagų koncentracijų nustatymo paklaidoms, nes atsirado papildoma infraraudonosios medžiagos sklaida.

Galime pastebėti, kad *MIR* srityje daugeliu atveju turime didesnę tikslumą, t.y. didesniu tikslumu nustatomos gliukozės, maltozės, maltotetraozės koncentracijos, maltotriozė abiem atvejais nustatoma tuo pačiu tikslumu. Taigi lyginant abi sritis kalibracinio modelio sudarymui, galima

matyti, kad *MIR* srityje galima nustatyti medžiagų koncentracijas keliomis dešimtosiomis procento tiksliau arba tuo pačiu tikslumu (didžiausias maltozės atveju – 0,7%) . Galima daryti išvadą, kad abi sritys yra tinkamos gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymui.

MIR sritis gali būti naudojama tiesioginiam pramoninio proceso stebėjimui naudojant *ATR* priedą, tačiau tada reikia sudėtingesnio valymo (*ATR* kristalas labai jautrus paviršiaus užterštumas) ir šviesolaidžių panaudojimas yra sudėtingas. Taip pat naudojant *MIR* sritį ir naudojant Maikelsono interferometrą, matavimai yra jautrūs vibracijoms, kurios trukdo užregistruoti maksimaliai kokybišką spektrą. Atsižvelgiant į tai, kad *NIR* sritis yra patogesnė procesų stebėjimui gamybinėje linijoje („on-line“), nes yra galimybė naudoti šviesolaidžius stebint procesą keliose vietose, nereikia bandinio paruošimo, spinduliuotė yra skvarbi, šiuo atveju *NIR* sritis yra labiau tinkama gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymui naudojant *PLS* kalibracinį modelį.

Pagrindiniai rezultatai ir išvados

1. Artimoji ir vidurinioji infraraudonoji spektrinės sritys yra tinkamos gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymui mišinyje naudojant *PLS* metodą.
2. Sudarius kalibracinį modelį *PLS* metodu artimojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje gliukozės koncentraciją galima nustatyti 1,4% tikslumu, maltozės – 2,3%, maltotriozės – 0,5%, maltotetraozės – 1,6%.
3. Sudarius kalibracinį modelį *PLS* metodu viduriniojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje gliukozės koncentraciją galima nustatyti 1,3% tikslumu, maltozės – 1,6%, maltotriozės – 0,5%, maltotetraozės – 1,4%.
4. Nustatytas medžiagų koncentracijų tikslumas yra tinkamas nustatinėjant gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijas gamyboje tiek artimojoje, tiek viduriniojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje.
5. Įvertinus medžiagų koncentracijų nustatymo tikslumą ir atsižvelgus į tinkamumą stebėti pramoninius procesus, artimoji infraraudonoji spektrinė sritis yra tinkamesnė gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymui *PLS* kalibraciniu modeliu.

Literatūra

- [1] H. Cen and Y. He, Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality, *Trends Food Sci. Technol.*, **18**(2), 72–83 (2007).
- [2] F. R. van de Voort, A. A. Ismail, J. Sedman, J. Dubois, and T. Nicodemo, The determination of peroxide value by fourier transform infrared spectroscopy, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **71**(9), 921–926 (1994).
- [3] A. U. Vanarase, M. Alcalà, J. I. Jerez Rozo, F. J. Muzzio, and R. J. Románach, Real-time monitoring of drug concentration in a continuous powder mixing process using NIR spectroscopy, *Chem. Eng. Sci.*, **65**(21), 5728–5733 (2010).
- [4] A. Rohman and Y. B. C. Man, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for analysis of extra virgin olive oil adulterated with palm oil, *Food Res. Int.*, **43**(3), 886–892 (2010).
- [5] H. Huang, H. Yu, H. Xu, and Y. Ying, Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review, *J. Food Eng.*, **87**(3), 303–313 (2008).
- [6] P. R. Griffiths and J. a de Haseth, *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (JohnWiley&Sons, 2007).
- [7] T. Genkawa, M. Watari, T. Nishii, and Y. Ozaki, Development of a near-infrared/mid-infrared dual-region spectrometer for online process analysis, *Appl. Spectrosc.*, **66**(7), 773–781 (2012).
- [8] J. Michael Hollas, *Modern Spectroscopy*, 4th ed. (EditionJohnWiley&Sons, 2007).
- [9] S. Kawata, H. M. Heise, Y. Ozaki, and H. W. Siesler, *Near-Infrared Spectroscopy*. (Weinheim: Wiley-VCH, 2002).
- [10] H. Mark, *Near-Infrared Analysis*. (EditionJohnWiley&Sons, 2008).

- [11] W. Groh, Overtone absorption in macromolecules for polymer optical fibers, *Die Makromol. Chemie*, **189**(12), 2861–2874 (1988).
- [12] F. M. Mirabella, *Modern Techniques in Applied Molecular Spectroscopy* (INC John Wiley & Sons, 2007).
- [13] T. N. H. Martens, *Multivariate calibration* (New York: John Wiley & Sons, 1991).
- [14] M. J. Adams, *Chemometrics in Analytical Spectroscopy* (The Royal Society of Chemistry, 2004).
- [15] D.-W. Sun, *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (Elsevier Inc. 2009).
- [16] G. Strang, *Introduction to Linear Algebra* (Wesley Cambridge Press, 2003).
- [17] C. B. Barnett, K. A. Wilkinson, and K. J. Naidoo, Pyranose ring transition state is derived from cellobiohydrolase i induced conformational stability and glycosidic bond polarization, *J. Am. Chem. Soc.*, **132**(37), 12800–12803 (2010).
- [18] <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C492626&Mask=2>
- [19] <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C69794>
- [20] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/91746257#section=Top>
- [21] <http://wtt-pro.nist.gov/wtt-pro/index.html?cmp=maltotetraose#maltotetraose/A;0,0,508,424;help,about/aa2;50,50,508,424/aa1;100,100,508,424/>
- [22] B. Brauer, M. Pincu, V. Buch, I. Bar, J. P. Simons, and R. B. Gerber, Vibrational spectra of α -glucose, d -glucose, and Sucrose: Anharmonic calculations and experiment, *J. Phys. Chem. A*, **115**(23), 5859–5872 (2011).

- [23] M. Ibrahim, M. Alaam, H. El-Haes, A. F. Jalbout, and A. De Leon, Analysis of the structure and vibrational spectra of glucose and fructose, *Eclética Química*, **31**(3), 15–21 (2006).
- [24] Y. Jung and J. Hwang, Near-infrared studies of glucose and sucrose in aqueous solutions: Water displacement effect and red shift in water absorption from water-solute interaction, *Appl. Spectrosc.*, **67**(2), 171–180 (2013).
- [25] <http://www.eng.buffalo.edu/~ajs42/pchem/co2/co2.html>

Dominyka Blažević

DETERMINATION OF GLUCOSE, MALTOSE, MALTOTRIOSE AND MALTOTETRAOSE
CONCENTRATION IN MIDDLE AND NEAR INFRARED USING PLS CALIBRATION
MODEL

Summary

The development of rapid analytical methods is needed in various kinds of industries, such as food, chemical, pharmaceutical, fertilizer. In some cases analysis of products concentration can take too long and in that time tons of unsuitable production can be made. In order to reduce production analysis time, product concentration may be determined from spectral information. Near and middle infrared spectra can be used. Although middle infrared yields more spectral information about molecule than near infrared, it has thickness restrictions and makes analysis of product concentration more difficult. Therefore near infrared is more applicable in various industries since near infrared radiation can penetrate in to the sample few millimetres.

In this work glucose, maltose, malotriose and maltotetraose concentrations are determined by PLS calibration model in middle and near infrared. In order to avoid the thickness restriction in middle infrared ATR technique was used. It is shown that PLS calibration in middle infrared gives more accurate concentrations determination results than calibration in near infrared. Using near infrared spectra glucose concentrations can be determined by 1,4%, maltose – 2,3%, maltotriose – 0,5%, maltotrtraose 1,6%. Using middle infrared spectra glucose concentrations can be determined by 1,3%, maltose – 1,6%, maltotriose – 0,5%, maltotrtraose 1,4%. Although calibration results are better in middle infrared, they are not significantly better (biggest difference is for maltose – 0,7%) and near infrared, due to its simpler application in industry, is better spectral region for glucose, maltose, maltotriose and maltotetraose concentration determination by PLS calibration model.

BLAŽEVIČ, Dominyka.: *Gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų nustatymas PLS metodu Viduriniojoje ir artimojoje infraraudonojoje spektrinėje srityje*: Aplinkos ir cheminės fizikos magistro studijų programos baigiamasis darbas. Vad. dr. Raimundas Steponavičius. Vilnius: Vilniaus universitetas Fizikos fakultetas, 2016, 50p.

Maisto ar chemijos pramonėje vis intensyviau gaminant naujas daugiakomponentes medžiagas yra itin svarbi komponentų koncentracijų kontrolė. Gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijos tirtos artimojoje ir viduriniojoje spektrinėje srityje naudojant *PLS* kalibracinį modelį. Koncentracijų nustatymo paklaidos viduriniojoje srityje sudarius *PLS* kalibracinį modelį buvo mažesnės nei artimojoje, tačiau skirtumas nebuvo žymus. Atsižvelgus į artimosios srities didesnę pritaikomumą pramoniniams procesams stebėti, ši sritis yra labiau tinkama gliukozės, maltozės, maltotriozės ir maltotetraozės koncentracijų pokyčiams stebėti.

1 priedas. Programos kodas, parašytas „Matlab“ aplinkoje, eksperimento planui sudaryti.

```
function [A_Dizainas, A_KaMaisyti, A_Koreliacija]=rand_konc...
    (Baziu_matrica, maksimali_koreliacija, kiek_misiniu_maisom)

close all
Koreliacija=1;
kiek_rand_verciu=100000;
% Sukuriant S=zeros ir KaMais=zeros, pagreitinam skaiciavimus, nes
% isansko sukuriama vieta naujam kintamajam (preallocation)
S=zeros(kiek_rand_verciu,length(Baziu_matrica));
KaMais=zeros(kiek_rand_verciu,kiek_misiniu_maisom);
Kokia_dalim_maisyti=[0.2 0.3 0.5;0.2 0.5 0.3;...
    0.3 0.2 0.5; 0.3 0.5 0.2;0.5 0.3 0.2; 0.5 0.2 0.3];

while abs(Koreliacija)>=maksimali_koreliacija
% maisom misinius lygiom dalim, gali pasitaikyt,
% kad maisom kelis kartus ta pati misini

for i=1:kiek_rand_verciu
    R=randi(5,kiek_misiniu_maisom,1);
    D=randi(6);
    E=Baziu_matrica(R,:);
    S(i,:)=E(1,:)*Kokia_dalim_maisyti(D,1)+...
        E(2,:)*Kokia_dalim_maisyti(D,2)+...
        E(3,:)*Kokia_dalim_maisyti(D,3);
    KaMais(i,1:kiek_misiniu_maisom)=R' ;
    KaMais(i,kiek_misiniu_maisom+1)=Kokia_dalim_maisyti(D,1);
    KaMais(i,kiek_misiniu_maisom+2)=Kokia_dalim_maisyti(D,2);
    KaMais(i,kiek_misiniu_maisom+3)=Kokia_dalim_maisyti(D,3);
%
end

% trinam panasius taskus
ilgis=sqrt(S(:,1).^2+S(:,2).^2+S(:,3).^2+S(:,4).^2+S(:,5).^2 );
f=length(ilgis);
k=f;
A_Dizainas=S;
sumaz_ilgis=ilgis;
A_KaMaisyti=KaMais;
```

```

for i=1:length(sumaz_ilgis)-1
del_index=[];
for j=i+1:length(sumaz_ilgis)
ifabs(ilgis(i)-ilgis(j))<= 0.2
del_index=[del_index;j];
end
end
A_Dizainas(del_index,:)=[];
sumaz_ilgis(del_index)=[];
A_KaMaisyti(del_index,:)=[];

end
% kokias bases maisomA_KaMaisyti
% Baziusumaisymo produktas A_Dizainas
A_Koreliacija=corrcoef(A_Dizainas);
%Randam didziausia koreliacijos koeficienta, vienetus ismetam
Koreliacija=max(max(abs(A_Koreliacija-eye(length(A_Koreliacija))))))
end

```