



*A kép illusztráció / Picture is for illustration only  
Fotó/Photo: Shutterstock*



Vitális Flóra<sup>1</sup>, Bodor Zsanett<sup>1</sup>, John-Lewis Zinia Zaukuu<sup>1</sup>, Bázár György<sup>2</sup>, Kovács Zoltán<sup>1</sup>

Érkezett: 2019. november – Elfogadva: 2019. december

## *Aquaphotomics: a közeli infravörös spektroszkópia innovatív, vízközpontú alkalmazása*

**KULCSSZAVAK:** Aquaphotomics, NIR, PLSR, O-H vegyértékrezgés, víztükör-megközelítés, WABS, WASP, aquaphotome, WAMACS, aquagram, többváltozós módszerek, élelmiszerhamisítás, kukoricaliszttel hamisított fűszerpaprika-őrlemény

### ÖSSZEFOGLALÁS

Az élelmiszertudomány területén sokféle alkalmaznak olyan indirekt módszereket az élelmiszerhamisítás detektálására, amelyekkel a mért fizikai-kémiai jellemzők korreláltatása alapján meghatározható a vizsgált minta valamely tulajdonsága. Gyors, mintaelőkészítést általában nem igénylő, roncsolásmentes módszernek bizonyul a többváltozós statisztikai elemzésekkel kiegészített közeli infravörös spektroszkópia (NIR). A vizes - vagy vizes oldatba vitt - rendszerek és az elektromágneses sugárzás (fény) következtében megfigyelhető kölcsönhatásokat, tehát a különböző perturbációk a víz szerkezeti és funkcionális tulajdonságaira gyakorolt hatását egy új, dinamikus fejlődő tudományterület, az aquaphotomics vizsgálja. Több kutatási eredmény is bizonyítja, hogy az ún. „víztükör-megközelítés” alkalmazásával a vizes rendszerekben a konvencionális megközelítéssel elérhető detektációs határ átléphető, esetenként akár néhány nagyságrenddel kisebb mennyiségben jelen lévő komponensek kimutatása is megvalósítható. Az aquaphotomics technikát a tudomány olyan területein tesztelték, mint például a gyógyászat, a mikrobiológia, a növényélettan vagy az élelmiszervizsgálat. Kísérletsorozatunkban fűszerpaprika-őrlemények kukoricaliszttel 0-40%-ban történő hamisításának detektálhatóságát vizsgáltuk az aquaphotomics metodika alkalmazásával azok adatainak felhasználásával. Az eredmények értékelése során a víz első felharmonikus tartományát használtuk (1300-1600 nm). A spektrális mintázatokat aquagramon szemléltettük, majd parciális legkisebb négyzetek regressziója (Partial Least Squares Regression – PLSR) -módszerrel modellt építettünk a kukoricaliszt-tartalom becslésére. A PLSR-eredmények szoros korrelációt mutattak a hozzáadott és a NIR-spektroszkópiával (Near Infra Red spectroscopy) becsült kukoricaliszt mennyisége között. A kisebb kukoricaliszt tartalmú minták (0-3%) 1450 nm körül mutattak nagyobb elnyelést, míg a nagyobb kukoricaliszt tartalmú minták (15-40%) 1364-1412 nm között. Ezeket a különbségeket a hidrogénkötésekkel eltérő mértékben kötött víz spektrális elnyelése magyarázza. Az elmúlt években végzett kutatások eredményei azt mutatják, hogy az aquaphotomics-technika több tudományterület mellett az élelmiszertudományban is ígéretesnek bizonyul.

#### BEVEZETÉS AZ AQUAPHOTOMICS-BA

Az aquaphotomics a víz mint komplex, számos konformációból álló és különböző funkcionalitásokkal rendelkező molekuláris rendszer vizsgálatát célzó új tudományterület, amely a vízmolekulák és a fény kölcsönhatásán alapszik [1].

#### AZ AQUAPHOTOMICS CÉLJA ÉS FEJLŐDÉSÉNEK RÖVID TÖRTÉNETE

Korábbi, vizes közegek közeli infravörös spektroszkópiás mérése során kapott saját, valamint más kutatók eredményeire alapozva a japán Kobei Egyetem professzora, Roumiana Tsenkova 2005-ben egy kifejezetten a víz-fény kölcsönhatást

<sup>1</sup> Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Fizika-Automatika Tanszék

<sup>2</sup> Kaposvári Egyetem, Agrár- és Környezettudományi Kar, Táplálkozástudományi és Termékfejlesztési Intézet

vizsgáló és a megszerzett ismereteket rendszerező tudományterület felállítását javasolta, amelynek az aquaphotomics nevet adta [2, 3]. A víz-fény interakció hatalmas információforrásnak bizonyul a vizes rendszerek szerkezeti és funkcionális tulajdonságait illetően. A víz egyike a természet alapvető építőelemeinek. Ez a tudományterület a víz átfogó tanulmányozásával foglalkozik, mint a vizes rendszer „molekuláris- és energiatükre”.

Az aquaphotomics kidolgozásakor a fő cél az volt, hogy közös platformot és stratégiát biztosítson a víz funkcionalitásának jobb megértéséhez a víz-fény interakció által, az elektromágneses spektrum minden frekvenciáján. Az eddigi munkák többsége közeli infravörös (NIR)-spektroszkópiával történt, jellemzően az O-H vegyértékrezgés első felharmonikus (1300-1600 nm) tartományában, ahol a korábbi munkák eredményeképpen sok specifikus, a vízre jellemző abszorpciós sávot azonosítottak [4–6]. A tudományággal kapcsolatos kutatások azt mutatják, hogy az aquaphotomics jelentősen hozzájárulhat a vizkutatáshoz és a víz molekuláris rendszerének jobb megértéséhez [1].

A NIR a közép- és távoli infravörös fényhez képest mélyebb penetrációt tesz lehetővé, ezáltal megbízhatóbb, ugyanakkor gyors és roncsolásmentes mérést valósít meg, amely különösen alkalmas akár intakt biológiai rendszerek tanulmányozására is [1, 7]. A NIR-spektroszkópia analitikai gyakorlatban történő felhasználása során (például gyógyszerészeti alkalmazásokban) a víz az egyik fő gátja az egyes összetevők közvetlen tömegmeghatározásának [8], mivel a víz – jelentős fényelnyelése okán – az abszorpciós spektrumon belül elfedi az egyéb összetevőket, abszorpciós sáveltődést okoz, és jelentősen megváltoztatja a vizsgálandó minta spektrumát. Mivel a víz a NIR tartományban jelentős fényelnyelést mutat és mennyiségi változása is könnyen mérhető, ezért a NIR-spektroszkópia egyik fő és leggyakoribb alkalmazási területe a nedvességmeghatározás. A víztartalom, a hidrogénkötések és a hidratációs állapot vizsgálatára [9] felhasználja például a mezőgazdaság, az élelmiszeripar, az orvostudomány, a gyógyszeripar, a polimer- és textilipar.

Az aquaphotomics fejlődésével írták le a víz kollektív anyag- és energiatükör tulajdonságait [1]. Az úgynevezett „víztükör-megközelítés” (*Water Mirror Approach*) az aquaphotomics egyik alapvető spektrumelemző és -értelmező módszere. A víz hidrogénkötéseinek nagyfokú érzékenységét használja, ahol a vizes rendszer és a környező energiák valamennyi összetevője befolyásolja a víz szerkezetét [1]. Minden vizes rendszer a vízmolekulák hálózatának dinamikus elrendeződése. A vízmolekulák közti másodlagos kötések erősségét, számát és minőségét a benne lévő komponens(ek) hidratációja és a különböző perturbációk együttesen befolyásolják, amik hatással vannak az egész

víztömegre [10]. A vizes rendszer bármely típusú megzavarása a vízmolekulák konformációinak megváltozását okozza, ami a NIR-spektrumban változásokat eredményez a vízre jellemző abszorpciós sávokban.

Fizikai és kémiai változás hatására az abszorpciós mintázat minden esetben megváltozik. A víz ezen tulajdonságai lehetővé teszik a kis mennyiségben oldott anyag(ok) indirekt mérését [11] még akkor is, ha NIR-tartományban fényt nem abszorbeáló összetevőről van szó [12]. Az aquaphotomics kutatásokban közös, hogy a vizsgált rendszerek mátrixa a víz. Az ilyen rendszerek bonyolult és sokváltozós spektrumába rejtett információk kinyeréséhez speciális adatelemzési módszertanra van szükség [13]. Az aquaphotomics eszköztára magában foglalja a NIR-spektroszkópiában alkalmazott és az évek során egyre kifinomultabbá váló sokváltozós adatelemzési módszerek alkalmazását, miközben bővíti is azt.

A fény-víz interakció aquaphotomics metodikával történő tanulmányozása révén a víz szerepét leíró ismeretek folyamatosan bővülnek. A minőségbiztosítási rendszerekben egyre jellemzőbb követelmény, hogy a különböző kutatásokban alkalmazott módszerek gyorsak, roncsolásmentesek, illetve vegyszerigény-nélküliek legyenek. A módszer tagadhatatlan előnye, hogy alap és alkalmazott kutatásokban egyaránt hatékonyan alkalmazható, nem invazív, azaz beavatkozás nélküli megfigyeléseket tesz lehetővé. Jellemző, hogy az egyedi paraméterek mérésével szemben holisztikus megközelítés valósul meg [13].

Az aquaphotomics fejlődésével új terminológia bontakozott ki annak érdekében, hogy az újonnan megszerzett ismeretek alapján minél pontosabban leírja a vizsgálat tárgyát. Az előbbieken részletezetteket lehetővé tevő metodika folyamatát az **1. ábra** szemlélteti. A kísérlettervezést, pontos műszerbeállítást követően a vizsgálandó mintákat zavarásnak teszik ki. A kísérletek végrehajtása (spektrumok felvétele) után a nyers adatok vizsgálata történik, amit a spektrális adatok előkezelése és elemzése követ. Az elemzések eredményeként nyert víz abszorpciós sávok (Water Absorption – WABS) alapján kerülnek azonosításra az aktivált víz abszorpciós sávok. Az aktivált víz abszorpciós sávok spektrális mintázatokat (Water Absorption Spectral Pattern – WASP) alakítanak ki, amelyek aquagramokon jeleníthetők meg. A víz abszorpciós sávok adatbázisa az *aquaphotome*.

#### WAMACS

*Water Matrix Absorbance Coordinates*, azaz vízmátrix abszorpciós koordináták. Ezek azok a spektrális tartományok, ahol legnagyobb valószínűséggel található meg a specifikus, vízre jellemző abszorpciós sávok (WABS), amelyeket

a víz különböző molekuláris konformációinak különböző energiatarományban megjelenő fényelnyelése eredményeznek (vízmódosulatok, vízmolekuláris struktúrák). Az O-H vegyértékrezgés első felharmonikus tartományában (1300-1600 nm) kísérletileg 12 WAMACS-ot azonosítottak [1].

#### AKTIVÁLT VÍZSÁVOK

A különböző perturbációk során a víz abszorpciós sávjai különböző mértékben aktiválódnak. Az aquaphotomics kutatásokban konzisztens módon ismétlődő aktivált sávok alapján az egyes perturbációk jól azonosíthatók és jellemezhetők. Ezért az elemzések során a víz aktivált abszorpciós sávjai kerülnek azonosításra.

#### WASP

*Water Absorbance Spectral Pattern*, azaz víz abszorpciós spektrális mintázat. A WASP-ot az egyes perturbációk által okozott aktivált vízszávok kombinációja határozza meg, amely leírja a teljes vízmolekuláris rendszer állapotát. Nagy mennyiségű kémiai és fizikai információt szolgáltat, a rendszer egészének szerkezetét és dinamikáját rögzíti [10]. A WASP holisztikus biomarkerként alkalmazható a rendszer funkcionalitásának felderítéséhez.

#### AQUAPHOTOME

A teljes elektromágneses spektrumban a vízabszorpciós sávok és mintázatok adatbázisát aquaphotome-nak nevezik. Az aquaphotome a különböző vízmolekuláris szerkezetek egésze, amelyet vizes vagy biológiai rendszerek alakítanak ki különböző körülmények között. Adott rendszer

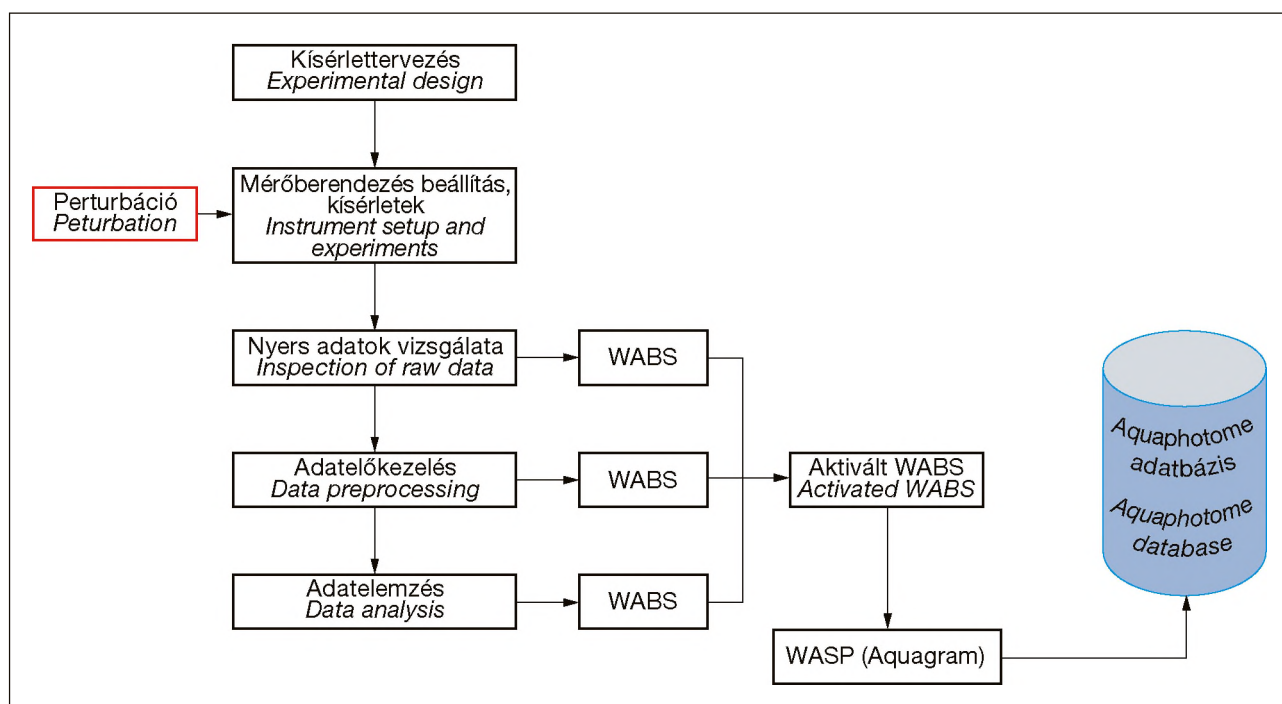
és adott körülmények között a teljes aquaphotome meghatározható az összes különálló WASP funkcionalitásának értelmezésével azok átfogó adatbázisaként. A jellemző vízszávokról megszerzett nagy adatbázis kapcsolódhat specifikus biológiai funkciókhoz, gyors összehasonlítást és azonosítást tesz lehetővé, valamint a továbbiakban felhasználható biológiai, kémiai és fizikai előrejelzésre, diagnosztizálásra [1, 10].

#### AQUAGRAMOK

Az aquagram az eredmények egy új grafikus megjelenítési módja, amelyet a víz abszorpciós spektrális mintázat tömör és szemléletes ábrázolására fejlesztettek ki [14]. Az aquagram kiválasztott hullámhosszokon mutatja különböző mintacsoportok normalizált és átlagolt abszorbancia-értékeit. [14, 15]. Az aktivált víz abszorpciós sávok által meghatározott tengelyeken az értékek radarvagy lineáris diagramon is ábrázolhatók [16].

Az aquagramokon perturbáció- és rendszerspecifikusan meghatározott számú tengely és WABS kerül megjelenítésre. A vízvegyérték-rezgés első felhangsávjában az aquagram tengelyei (általában) a korábban felfedezett 12 vízmátrix abszorpciós koordinátákon (WAMACS) alapulnak [13].

A klasszikus aquagram viszonylagos, függ a számításban foglalt mintáktól. Fejlettebb változata a standardizált és konfidencia-intervallumokkal ellátott aquagram [17]. Ezzel a bővítéssel egyszerűbben megállapítható, hogy az aquagramokon megjelenített vízre jellemző abszorpciós spektrális mintázatok (WASP) közötti különbségek statisztikailag szignifikánsak-e [13].



1. ábra. Az aquaphotomics módszer áttekintése; Tsenkova et al., 2018 alapján  
Figure 1. Overview of the aquaphotomics methods according to Tsenkova et al., 2018



## AZ AQUAPHOTOMICS MÓDSZERTAN

## KÍSÉRLETI ELRENDEZÉS

Az aquaphotomics vizsgálatok kulcseleme a jó minőségű spektrumok rögzítése, amelyhez nagy spektrális felbontású (0,5-1nm) precíziós spektrométerek (nagy jel-zaj arány, S/N) szükségesek [18]. A kísérlettervezés során a hagyományos megközelítésű NIR-elemzéseknél alkalmazandó szabályok mellett további speciális elemeket is biztosítani kell. Ilyen például az egyes minták több ismétlésben történő spektrumfelvételezése, ugyanazon minta több egymást követő megvilágítással történő elemzése, a környezeti paraméterek (például hőmérséklet és páratartalom) folyamatos monitorozása. A vizsgálat során továbbá bizonyos mintaszámok szerint a tiszta víz mérésére is sor kerül; a vízspektrumok a környezetben vagy a berendezésben esetlegesen bekövetkezett nem kívánt hatások korrekciójára szolgálnak. A kísérleti minták spektrumfelvételezése a rendszeres tiszta vízmin-ták lemérése között véletlenszerű elrendezésben történik ugyanazzal a küvetttával, fokozott figyelmet fordítva a minták precíz termosztálására. A mérési körülmények rögzítése azért szükséges, mert az aquaphotomics kutatások során általában olyan parányi, a víz molekuláris szerkezetéből adódó spektrális eltéréseket keresünk, amely elemzésekre a műszer mérési beállítás geometriájából vagy a hőmérséklet ingadozásból adódó legkisebb eltérések is zavaróan hatnak.

Az aquaphotomics kísérletek során gyakran alkalmaznak különböző kontrollált perturbációkat, amelyek segítséget nyújtanak a rejtett információk feltárásában. A gyakorlatban leggyakrabban alkalmazott szándékos perturbáció a hőmérséklet [6], az egymást követő megvilágítás és a különböző mértékű hígítás [19]. A vizes rendszerek NIR-spektruma nagyon összetett, és az egyes perturbációk által okozott abszorbancia spektrumuk változásai általában nagyon finomak, mindazonáltal állandók és konzisztensek. Egy meghatározott perturbáció nem eredményez mindig azonos változást a spektrumban. A NIR-tartományban a vízspektrumban négy hangsúlyos csúcs található, körülbelül 970, 1190, 1450 és 1940 nm-nél. A vizsgált vizes rendszertől függően egyes régiók alkalmasabbak lehetnek az elemzésre és több információt szolgáltatnak [1, 19].

## SPEKTRÁLIS ELŐKEZELÉSI MÓDSZEREK

A rögzített spektrumok elemzésének első lépése a nyers spektrális adatok vizuális vizsgálata, amely információt szolgáltat az egyértelműen kiugró értékekről és a szükséges spektrum előkezelési módszerekről egyaránt. Az előkezelési módszerek elsődleges célja a kutatás szempontjából fontos információk erősítése és a nem kívánt hatások csökkentése. Az adatelemzés során számos

előkezelési módszer alkalmazható. A zajcsökkentési módszerek közé tartozik például az átlagolás és a simítás [20]. Az aquaphotomics módszertanban leggyakrabban alkalmazott zajcsökkentési technika a Savitzky-Golay-szűrő alkalmazása (általában másodrendű polinom függvényvel és optimalizált hullámhossz tartománnyal) [21]. Az alapvonal-eltolódás korrigálására gyakran alkalmazzák a normalizálást, a standard normál változó transzformációt (Standard Normal Variate – SNV) [22, 23] és a többszörös szóródási korrekciót (Multi Scattering Correction – MSC) [23]. A „detrending” szintén lehetséges módszere az alapvonal-eltolódás korrekciójának, de ez hatékonyan alkalmazható a meredekség-változás kiküszöbölésére is. A spektrumok és a spektrális deriváltak közötti különbség az egyes abszorpciós csúcsok között található, ami az aquaphotomics-metodikában elsősorban az aktivált víz abszorpciós sávjainak hatékonyabb felderítését teszi lehetővé. A deriválásnak két NIR-technikában leggyakrabban alkalmazott módja a Norris-Williams- [24] és a Savitzky-Golay-féle [21] deriválás. A deriváltak két alapvető problémát oldanak meg: az átfedő csúcsokat és a nagy alapvonal-változást. Az első derivált az additív, a második derivált a multiplikatív hatásokat is korrigálja. Az aquaphotomics kutatásokban az aktivált víz abszorpciós sávok feltárásához jellemzően a második deriváltakat használják [25]. A kiterjesztett többszörös szóródási korrekció (Extended Multi Scattering Correction – EMSC) egyike azoknak az eszközöknek, amellyel ismert hatás spektrumra gyakorolt torzítása mérsékelhető [26].

## KEMOMETRIAI MÓDSZEREK

Az abszorpciós spektrumok által kódolt nagymennyiségű információ értékeléséhez kémiai ismeretekkel vezérelt többváltozós adatelemzésre, ún. kemometriai módszerek használatára van szükség. Az aquaphotomics-módszertanban a többváltozós spektrális elemzés első kvalitatív értékelése leggyakrabban főkomponens-elemzéssel történik, amelynek elsődleges célja a spektrális variabilitás mögött rejlő fő mintázatok mélyebb megértése.

A főkomponens-elemzés (Principal Component Analysis – PCA) egyike a spektroszkópia leghasznosabb és valószínűleg leggyakrabban alkalmazott felderítő technikáinak [27]. Célja a minták közötti lehetséges kapcsolatok meghatározása, azaz elsődleges információt szolgáltat az adatkészlet főbb irányában és varianciájában. A kiindulási adatmátrixot redukálja, a teljes mátrixot pedig jól reprezentáló, kisebb számú háttérváltozóba tömöríti. Az így kialakuló sokdimenziós térben olyan irányokat határoz meg, ahol az eredmények varianciája a legnagyobb. A variancia legnagyobb részét az első főkomponens magyarázza [28]. Az eredmények scores és loadings grafikonokon illusztrálhatók. A scores grafikon az egyes minták mért spektruma-

inak az újonnan épített változók (főkomponensek) által transzformált térben való helyzetét mutatja be – lehetővé téve az egyes minták spektrális térben kialakult, egymáshoz képest főbb mintázatainak megismerését –, míg a loadings grafikon az eredeti változók (hullámhosszak) fent említett mintázatainak kialakításában való szerepének súlyát jeleníti meg. A főkomponens-elemzéssel az aktivált víz abszorpciós sávok deríthetők fel.

A diszkriminancia analízis (DA) felügyelt módszer (a minták csoportba sorolása definiálásra kerül az elemzés során). A részleges legkisebb négyzetek diszkriminancia elemzése (Partial Least Squares Discrimination Analysis – PLS-DA) [29] segítséget nyújt azoknak a víz abszorpciós sávoknak a kimutatásában, amelyekben a legnagyobb különbség mutatkozik az egyes előre definiált csoportok között. A módszer a PLS regresszió algoritmusán alapszik, amely a látens változókat keresi az Y változók maximális kovariációjával [30]. A SIMCA (*Soft Modeling of Class Analogies*) alkalmazása során [31, 32] az egyes előre definiált mintacsoportokra egyenként, több lépésben egyedi PCA modellek kerülnek építésre és a további mintacsoportok belevetítésével történik a csoportok hasonlóságának, megkülönböztethetőségének az elemzése. A módszer végeredményben megad egy úgynevezett discrimination power vektort, amely bemutatja, hogy mely hullámhosszaknak van leginkább szerepe a különbségtételben, információt szolgáltatva ezáltal az aktiválódott víz abszorpciós sávokról.

A víz abszorpciós sávjai felhasználhatók többek között közvetett módon a vízben jelenlévő anyag(ok) koncentráció változásának megállapításához is [12, 13]. A részleges legkisebb négyzetek regressziómódszer (PLSR) általánosítja és egyesíti a főkomponens-elemzés és a többszörös regresszió tulajdonságait. Célja az összefüggés feltárása a függő változó(k) és a független változók között [33–35]. A független változókból, vagyis a spektrumokból látens változókat (LV) hoz létre, amelyek lineáris kombinációi az eredeti változóknak. Az LV-k úgy kerülnek kialakításra, hogy a becsülni kívánt függő változó variációját is maximálisan leírják. A PLSR alkalmazásakor a regressziós egyenlet együtthatóit számoljuk és az egyes változókra vonatkozó eredményeket becsüljük, amelyek arról szolgáltatnak információt, hogy mely hullámhosszak, illetve vízre jellemző abszorpciós sávok változnak leginkább a vizsgált függő változó megváltozásával.

Az aquaphotomics első sorban vízben gazdag rendszerekben alkalmazható. A vízben oldódó, kis koncentrációban jelenlévő molekulák nagy mennyiségű vízmolekulával hidratálódnak. Az oldott molekulák körüli hidratáció áttételesen hatással van a hidratációban nem érintett vízmolekulák közötti H-kötésekre is. Így a víz egyfajta erősítőként működik. A kimutatandó alkotó közvetlen mérése helyett a koncentrációra vonatkozó információ megszerzése

közvetetten, az oldószermolekulák változásainak mérése alapján valósul meg [36].

A kétdimenziós korrelációs spektroszkópiában a spektrális mérés alatt külső zavarást (legyen az például hőmérséklet, koncentráció stb.) alkalmaznak a rendszeren, ami mélyebb feltárást tesz lehetővé az idő vagy a zavarás függvényében. A spektrális régiót egy másik dimenzióra is kiterjeszti és az átfedő hullámhosszavokat összetevőire bontja fel [37]. A 2D korrelációs spektrumok (amelyekben erősítettek az egyes spektrális intenzitások közötti hasonlóságok és különbségek) közvetlenül a dinamikus spektrumokból származnak. Ezáltal a spektrális intenzitás nyomon követése megvalósítható. A spektrális intenzitások szórását (eltérését) a várt értéktől – amelyet bizonyos fizikai változók (például idő vagy hőmérséklet) sorrendjében egymást követően gyűjtenek –, két független hullámszámmal hasonlítják össze [38].

Az analízis utolsó lépése a víz abszorpciós spektrális mintázatok illusztrálása aquagramokon.

#### AZ AQUAPHOTOMICS MÓDSZER ALKALMAZÁSAI

A közeli infravörös spektroszkópia gyors és roncsolásmentes technika, olyan szerteágazó alkalmazási területtel, amit az aquaphotomics-módszertan tovább szélesít. Az aquaphotomics-diszciplína kidolgozása óta multidiszciplináris tudományterületté fejlődött [39]. Az első publikációkban a víz abszorpciós sávok alapján értelmeztek és írtak le jelenségeket, mint például a tejelőtehének tőgygyulladásának (mastitis) diagnosztizálási lehetőségét [40, 41]. Állatélettani kutatásokban alkalmazták a módszert óriáspandák [15] és tehének ivarzási periódusának [42] kimutatására.

A módszert orvostudományi kutatási céllal alkalmazták HIV-vírus fertőzöttség megállapítására [43], dialízis hatékonyságának növelésére, vastagbélrák korai szűrésére, valamint lágy kontaktlencsék jellemzésére [44]. A módszer mikrobiológiai alkalmazásai során különböző tejsavbaktérium-törzsek gyors azonosítását [45], valamint probiotikus és nem probiotikus tejsavbaktériumok elkülöníthetőségét és rezisztenciáját [46, 47] vizsgálták. Növénybiológiai kutatásokban mozaikvírussal fertőzött szójabab diagnózisát végezték [48], valamint a vízmolekuláris szerkezet alapján alátámasztották a jerikó rózsa (*Haberlea rhodopensis*) extrém kiszáradási toleranciáját [49].

Az aquaphotomics élelmiszeripari alkalmazásai során vizsgálták a tej minőségi jellemzőit [40, 41], a zöld kávébabok ochratoxin-A szennyezettségét [50], tanulmányozták az olasz Taleggio sajt eltarthatóságát [51] és sikerrel nyomon követték a bolgár sárga sajt (Kashkaval) érlelését [52] is. Barzaghi, Cremonesi & Cattaneo projektjükben olasz propolisz bioaktív



összetevőinek azonosítását végezték intelligens élelmiszer csomagolóanyagokban. Vanoli et al. munkájának célja innovatív, cellulóz polimer alapú bevonat „Salame Piacentino” szalámi érlelésére gyakorolt hatásának tanulmányozása volt [53, 54].

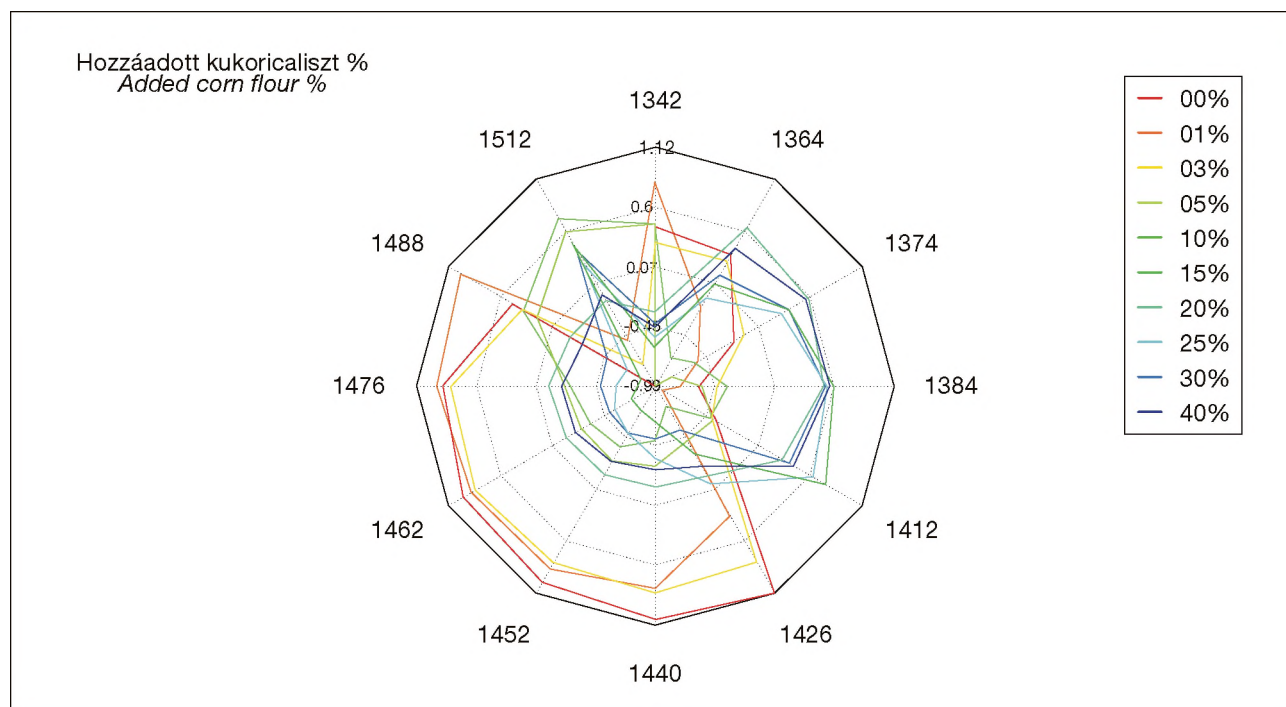
Az aquaphotomics széleskörű elismertségéhez hozzájárultak a vízminőség mérésére irányuló kutatások [55] és a vizes oldatokon végzett kísérletek is. Vizsgálatokat végeztek többek között víz peszticidtartalmának mérhetőségére [56], de szennyező anyagok sóoldatokban történő kimutathatóságára is [19]. A víztükör-megközelítés lehetővé tette a ppm ( $1:10^6$ ) - bizonyos körülmények között akár a ppb ( $1:10^9$ ) - koncentrációban jelen lévő összetevők közvetett meghatározását, amelyre a konvencionális NIRS elemzési technikával korábban nem volt lehetőség [6, 7, 11]. Kutatások bebizonyították, hogy ezzel a koncepcióval a víz spektriális mintázata használható holisztikus vízminőség-jelzőként [25].

Legújabb kutatásunkban paprikaporok kukoricaliszttel történő hamisításának detektálhatóságát teszteltük az aquaphotomics technikával. A vizsgálatok során magyar csemege fűszerpaprika-őrlemény hamisítását végeztük el kukoricaliszttel 0 és 40 % közötti koncentrációban, több lépésben. Az így elkészített mintákból tízszeres desztilláltvízes hígítással oldatokat állítottunk elő, amelyeket homogenizálás után megszürtünk. Az így kapott oldatok transzlektációs spektrumait MetriNIR (MetriRep Kft., Magyarország) készülékekkel rögzítettük a 740-1700 nm hullámhossz-tartományban, három párhuzamos spektrum felvételével. A spektrumok értékelése során az 1300-1600 nm

tartományt használtuk. A spektrumokon Savitky-Golay-simítást és többszörös szóródási korrekciót (MSC) alkalmaztunk, majd modellt építettünk részleges legkisebb négyzetek regressziója módszerével (PLSR) a hozzáadott kukoricaliszt koncentrációjának megbecslésére. A WASP ábrázolásához klasszikus aquagramot készítettünk. Az adatok kiértékelésére az R-projekt és R-studio 3.5.2. szoftvereket használtuk.

A PLS regresszió modelljének eredményei szoros korrelációt (modellépítés:  $R^2=0,97$ ; modellvalidáció:  $R^2CV= 0,90$ ) mutattak a becsült és a valós hozzáadott kukoricaliszt mennyisége között. A modell építése során 2,14%-os hibával, míg a validáció során 4,04%-os hibával tudtuk helyesen megbecsülni a hozzáadott kukoricaliszt mennyiségét.

A aquagram adatainak értelmezését szemlélteti a **2. ábra**, amelyen olyan fűszerpaprika-őrlemények eredményei láthatók, amelyekhez különböző koncentrációban kukoricalisztet kevertünk ( $n = 85$ ). Az ábra azt mutatja, hogy a kevesebb kukoricalisztet (1%, 3%) illetve a kukoricalisztet egyáltalán nem tartalmazó minták magasabb abszorbancia értékkel rendelkeznek az 1426 nm, 1440 nm, 1452 nm, 1462 nm, 1476 nm és 1488 nm-es hullámhosszokon, amely arra utal, hogy az autentikus minta, valamint az 1% és a 3% kukoricalisztet tartalmazó minták több hidrogénkötésben levő vízmolekulát tartalmaznak. Ezzel szemben a több kukoricalisztet tartalmazó minták magasabb abszorbancia értékkel rendelkeztek az 1364 nm, 1374 nm, 1384 nm, valamint 1412 nm-es régióban. Ez utóbbi arra utal, hogy a magasabb kukoricaliszt mennyiséget tartalmazó minták (15-40%) kevesebb vagy gyengébb



2. ábra. Különböző koncentrációban kukoricalisztet tartalmazó paprikaporok oldatainak aquagram ábrája ( $n = 85$ )  
Figure 2. Aquagram of the solutions of ground paprika samples containing various concentrations of corn flour ( $n = 85$ )

H-kötéssel kötött vízmolekulákat tartalmaznak [57]. A fenti hullámhosszok esetében egyfajta trend figyelhető meg a növekvő hozzáadott kukoricaliszt koncentrációjának függvényében: 1426-1488 nm-en csökkenő, míg 1364-1412 nm-en növekvő trend.

## ÖSSZEFOGLALÁS

Az aquaphotomics technika egy új és ígéretes módszer vizes rendszerek szerkezeti és funkcionális tulajdonságainak gyors és roncsolásmentes feltárására. A klasszikus NIR-spektroszkópiában a víz – jelentős fényelnyelése miatt – megváltoztatja a vizsgált minta spektrumát, így egyike a leggyakoribb, közvetlen tömegmeghatározást akadályozó alkotónak. A vizes rendszerek másodrendű kötése (például a hidrogén-hidak) bármilyen perturbációra nagy érzékenységgel reagálnak a vízmolekulák konformációinak változásával, ami a NIR-spektrumban vízre jellemző abszorpciós sávot eredményez. Ezt használja ki az aquaphotomics. A különböző perturbációk hatására – legyen az fizikai vagy kémiai – az abszorpciós mintázat megváltozik, így a víz spektrális jelvélszeit felhasználva a konvencionális NIR-elemzéshez képest esetenként akár néhány nagyságrenddel kisebb mennyiségben jelen lévő komponensek kimutatása is megvalósítható.

A fűszerpaprikából gyártott porított termékek minőségét meghatározza az egészségügyi biztonság, valamint a használati- (eltarthatóság, csomagolás), a táplálkozásélettani- és az élvezeti érték. A kereskedelmi forgalomba kerülő fűszerpaprika-őrlemények talán legfontosabb értékmérő tulajdonsága a szín és az íz. A magyar fűszerpaprika jövedelmező és fontos exportcikk, ez indokolhatja a hamisítást. Az élelmiszerhamisítás egyben élelmiszerbiztonsági kérdés is. Az élelmiszerhamisítás – történjen természetes vagy mesterséges anyaggal – detektálására indirekt módszerek terjedtek el. Különösen az élelmiszeripari minőségbiztosításban figyelhető meg a gyors, megbízható, roncsolás- és vegyszermentes vizsgálati módszerek elterjedése. Erre a többváltozós statisztikai elemzéssel kiegészített NIR-spektroszkópia tökéletesen alkalmasnak bizonyul. Jelen kutatásban célunk az aquaphotomics-módszertan alkalmazása kukoricaliszttal hamisított fűszerpaprika-őrlemények vizsgálatára. A metodika magában foglalja a kísérlettervezést, a mérőrendszer összeállítását-beállítását, meghatározott perturbációk mellett az egyes kísérletek randomizált sorrendben történő végrehajtását, a nyers adatok vizsgálatát, előkezelését és a kemometriai módszerekkel történő adatelemzést. Ezeknek célja a perturbációnak megfelelő koncentrációváltozással járó, vízre jellemző abszorpciós sávok azonosítása és az így meghatározott spektrális mintázat aquagramon történő összesítése.

A PLS regresszió modelljének eredményei szoros korrelációt (modellépítés:  $R^2=0,97$ ; modellvalidáció  $R^2CV=0,90$ ) mutattak a NIR által becsült és a valós hozzáadott kukoricaliszt mennyisége között. A modell - annak építése során - 2,14%-os, míg a validáció során 4,04%-os hibaszázalékkal becsülte meg a hozzáadott kukoricaliszt mennyiségét. Az aquagramon szemléltetett eredmények tükrözik azt a tendenciát, miszerint az O-H vegyértékrezgés első felharmonikus tartományában (~1450 nm) az autentikus és a minimális kukoricalisztet tartalmazó minták több hidrogénkötésben lévő vizet tartalmaznak a nagyobb mértékben hamisított mintákhoz képest.

A kutatás során alkalmazott NIRS alapú módszer gyorsan és kellő érzékenységgel nyújt objektív eredményt. A vizsgálatok eredményei hozzájárulnak a minőségi termékek jellemzőinek megismeréséhez, eredetiségüknek és hamisításuknak a detektálásához.

## Köszönetnyilvánítás

A projekt a Szent István Egyetem Élelmiszertudományi Doktori Iskola és az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005), valamint az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-18-4 és az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-4-SZIE, ÚNKP-19-3 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programja és a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatásával készült (Kovács Zoltán).