

Tapasztalatok búza nedvesség- és fehérjetartalmának NIR módszerrel történő mérésénél

Barabás Béla

Gödöllői Agrártudományi Egyetem, Központi Laboratórium

Érkezett: 1995. szeptember 15.

A közeli infravörös reflexiós (NIR) és transzmissziós (NIT) spektrofotometriát ma már elterjedten alkalmazzák termények, élelmiszerek összetételének gyors meghatározására. A két legtöbbet tanulmányozott komponens a búza fehérje- és nedvességtartalma. A rájuk vonatkozó mérési adatok szinte összehasonlítási alapul szolgálnak műszerek, módszerek között.

A NIR módszer gyakorlati bevezetésénél a fő problémát az jelentette, hogy az eredmények véletlenszerűen ingadoznak a referenciának tekintett hagyományos módszerekéhez képest. Az ingadozást okozó hibafaktorok közül a termesztés klimatikus viszonyai, a fajta, az évjáratok közötti eltérés a legjelentősebbek [1]. A NIR módszerrel elérhető mérési megbízhatóság tisztázására a '70-es évek második felétől Kanadában és az Egyesült Államokban, később Európában nagyszabású vizsgálatok indultak [1-10]. A összehasonlítható adatok közül 10-16 % nedvességtartalmú búza esetén a mérés megbízhatósága fehérjetartalomnál 0,28-0,34 %, nedvességtartalomnál 0,28-0,40 % között volt.

Az irodalmi adatok elemzése alapján az a következtetés vonható le, hogy a NIR mérési módszer megbízhatóságára mérvadó eredményt csak gondosan összeválogatott, nagy elemszámú mintasorozaton alapuló, több évre kiterjedő vizsgálatok adnak.

A külföldi adatok hazai viszonyokra csak korlátozottan vonatkoztathatók, az eltérő termesztési viszonyok és más alkalmazott műszerkonstrukciók miatt. A közeli infravörös spektrofotometria hazai kutatási hátterének fejlettsége ellenére búza fehérje- és nedvességtartalom mérésére viszonylag kevés publikáció jelent meg [11-15], a vizsgálatok egy része kis mintaszámon alapszik, és általában nem készült a kalibrációtól független mintasorozattal ellenőrzés. Hiányzik egy több évet átfogó, egymással összehasonlítható eredményeket tartalmazó vizsgálatosorozat. Ezen információk hiányával magyarázható a NIR módszer indokoltnál kisebb hazai elterjedtsége. Másrészt az

utóbbi években ugrásszerűen megnőtt az összetétel-mérések iránti igény és a NIR/NIT módszer iránti érdeklődés.

Munkánkban több éves mérési eredmények elemzése alapján a következő kérdésekre kerestünk választ:

- Milyen a NIR mérési eredmények megbízhatósága hazai termesztésű búzák fehérje- és nedvességtartalmának meghatározásánál? Van-e számottevő különbség egyes évjáratok között?
- Észlelhető-e a kiugró hibával mért minták reflektancia-adataik alapján?
- Új évjáratú minták vizsgálatánál szükség van-e új kalibrációs egyenlet meghatározására?

Anyag és módszer

A NIR módszer megbízhatóságának tanulmányozására a tízéves vizsgálati időszak alatt öt mintasorozattal (A, B, C, D, E) végeztünk vizsgálatokat (1. táblázat). Az A mintasorozat kutatóintézetekből és termelési rendszerektől származott, a többi elsősorban gabonafelvásárló telepekről. A begyűjtésnél törekedtünk arra, hogy a mintahalmaz képviselje az országos termés összetételét. A legnagyobb sorozat (C) 16 megye 26 gabonafelvásárló telepéről származott. Az A sorozat mintegy 20, köztermesztésben lévő fajtából tevődött össze, a többinél a fajta általában ismeretlen volt.

A begyűjtött minták fehérjetartalmát Kjeldahl módszerrel ($6,25 \times N$), nedvességtartalmát szárítószekrényes módszerrel ($130\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 h) határoztuk meg. Ezután a mintákat kalibráló és kalibráció-ellenőrző csoportokra bontottuk.

1. táblázat: A vizsgált búza mintasorozatok összetételi adatai

Jelölés	Évjárat	Kalibráló mintasorozat			Ellenőrző mintasorozat						
		Minták száma n	Fehérje [%]		Nedvesség [%]		Minták száma n	Fehérje [%]		Nedvesség [%]	
			min.	max.	min.	max.		min.	max.	min.	max.
A	1984-85	50	9,5	16,0	11,0	15,0					
B	1986	50	9,6	17,4	10,3	14,4	85	9,5	18,0	10,2	14,1
C	1987	84	10,2	15,2	10,1	13,5	273 ¹	10,3	15,9	10,0	13,7
D	1991	99	10,6	16,2	9,7	13,9	45	10,5	15,1	10,0	13,6
E	1994	41	9,9	15,6	9,2	13,1	12	10,3	15,7	9,3	12,6

¹ nedvességtartalomnál n=115

A NIR mérésekhez a mintákat 1,3 mm-es szitabetéttel ellátott kalapácsos darálóval aprítottuk meg. Az így kapott anyag vizsgálata Infrapid 61 (Labor MIM, Budapest) spektrofotométeren, az adatfeldolgozás a hozzákapcsolt számítógépen történt.

Az összetétel mérésére alkalmas egyenlettípust és a legjobbnak talált hullámhosszakat többváltozós lineáris regresszióval (MLR) határoztuk meg [13] az A mintasorozat felhasználásával (1. és 2. egyenlet). A későbbi években az így kapott egyenlettípussal történt a gabonaiparban lévő Infrapid készülékek kalibrálása. A többi évjáratnál már csak a regressziós együtthatókat és konstansokat módosítottuk a megfelelő kalibrációs mintasorozat alapján. A NIR módszernek a referencia-módszerhez viszonyított *megbízhatóságát* a becsült mérési hibával (SEP) jellemeztük.

$$\text{Fehérje \%} = K_0 + K_1 \cdot R_{2172} + K_2 \cdot R_{2108} + K_3 \cdot R_{1744} \quad /1/$$

$$\text{Nedvesség \%} = K_0 + K_1 \cdot (R_{1944} - R_{2054}) \quad /2/$$

A *kiugróan nagy hibával* mérhető mintáknál feltételeztük, hogy a hiba reflektancia-adataik anomáliáiból ered és diszkriminancia-analízissel — reflektancia-adatból számított Mahalanobis-távolságuk alapján — felismerhetők. A módszert a C mintasorozat fehérje-komponensénél próbáltuk ki.

A kalibrációs egyenlet *más évjára*ra illesztését az egyenlet konstans taggal ($K_{\text{év}}$) történő bővítésével próbáltuk megoldani [2]. Illesztendőnek az 1984-85-ös (A) és 1986-os (B) egyenletet választottuk. Az illesztés az 1987-es (C) évjára történt. A $K_{\text{év}}$ tagot a C mintasorozat 20, véletlenszerűen kiválasztott mintájának korrigálatlan egyenlettel kapott hibájából számítottuk ki. Tízféle mintakombinációt vizsgáltunk.

Eredmények

A 2. táblázat szerint a kalibráció hibájához (SEC) képest a becsült mérési hiba (SEP) azonos évjáratoknál alig növekedett. Ez a kalibráció robusztusságára utal.

a) A mérés megbízhatóságának vizsgálata

A nedvességtartalomnál az 1994-es évjárat SEP adata (2. táblázat) a kis mintaszám miatt figyelmen kívül hagyható. Az 1987-es évfolyam SEP adatai független mintahalmazzal (A) végzett kalibrációra vonatkoznak, valamint nagyszámú mérésen alapulnak, így mérvadónak tekinthetők. Ezek szerint a nedvességtartalomnál 10-14% közötti méréstartományban a NIR mérés megbízhatósága 0,20 % alatt van. Ez az adat lényegesen

kedvezőbb a szakirodalomban talált értékeknél, azonban azoknál szűkebb tartományra vonatkozik.

Az 1987-es évjáratú minták fehérjetartalom mérésénél (n=273) a becsült hiba (SEP) értéke 0,37 %-ra adódott. Egyetlen minta elhagyásával az érték 0,31 %-ra változott. (A minta fajtája, eredete ismeretlen.) Mivel a vizsgálsorozathoz több, ilyen nagy hibával mért mintával nem találkoztunk, ez a minta nem tekinthető jellemzőnek. Elhagyása után a négy különböző évjáratra kapott hiba értéke közel azonosra vált. Az adatok szerint fehérjetartalomnál 10-16 % méréstartományban a referenciára vonatkozó mérési megbízhatóság 0,3% körül volt. Az érték gyakorlatilag megegyezik az irodalomban található, más országokra vonatkozó adatokkal.

2. táblázat: A NIR kalibráció eredményeinek matematikai-statisztikai jellemzői

Jelölés	Évjárat	Kalibrálás		Ellenőrzés		
		SEC [%]	R	SEP [%]	BIAS [%]	r
Nedvesség						
A	1984-85	0,16	0,99	-	-	-
C ¹	1987	-	-	0,17	- 0,04	0,98
D	1994	0,20	0,97	(0,24)	0,06	0,96
Fehérje						
A	1984-85	0,25	0,98	-	-	-
B	1986	0,26	0,99	0,28	0,04	0,99
C	1987	0,30	0,94	(0,37) ²	0,02	0,92
C	1987			0,31 ³	0,02	0,94
D	1991	0,30	0,95	0,32	0,02	0,94
E	1994	0,23	0,98	0,30	0,05	0,93

¹ Az 1984-85-ös évjárat kalibrációs egyenletének felhasználásával ($K_{év}=0,08$ % korrekció figyelembevételével).

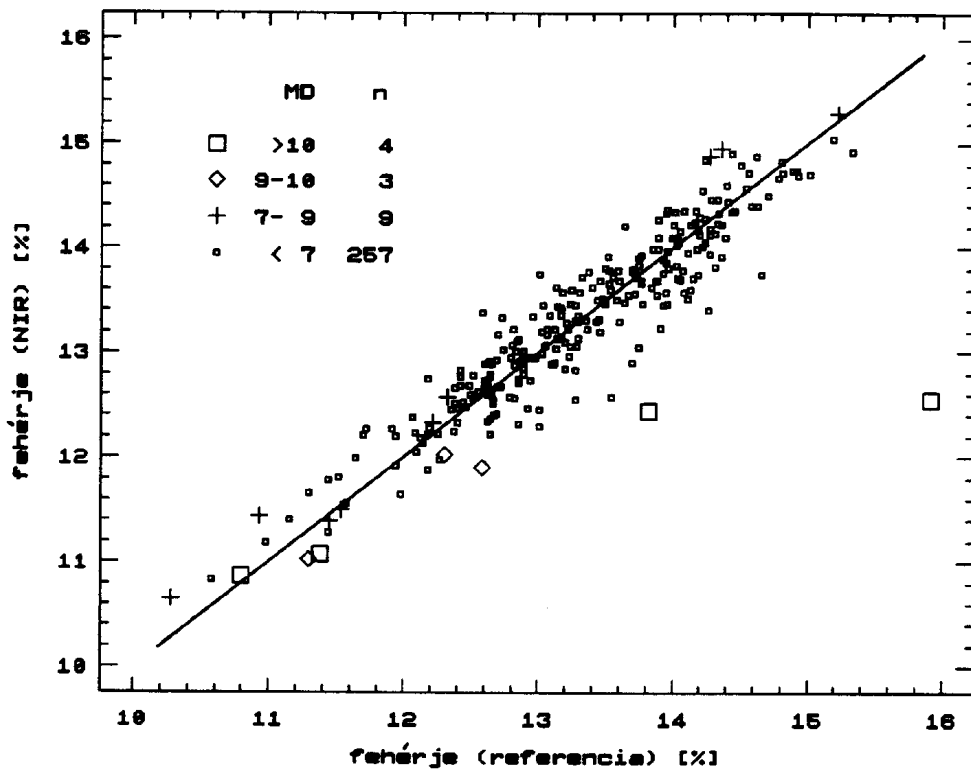
² n=273

³ n=272 (az ellenőrző mintasorozatból egy kiugró hibájú minta elhagyása után)

b) Kiugróan nagy hibával mért minták észlelése

Az előbbieket szerint ritkán bár, de előfordulhatnak kiugróan nagy hibával mérhető minták. Az ezek kiszűrésére kipróbált módszer eredményeit az 1. ábra szemlélteti. Eszerint összefüggés van az átlagtól

eltérő tulajdonság (például összetételnél a szélső értékek) és Mahalanobis-távolság nagysága között. A két kiugró hibájú minta ezek között is a legnagyobb távolságúak ($MD > 10$) csoportjába tartozott. A Mahalanobis-távolság alapján kiszűrt, kis hibával mért mintákat is tartalmazó csoport (esetünkben $MD > 9$ -nél az összes minták 3 %-a) összetételét hagyományos módszerrel kell ellenőrizni.



1. ábra: A mért értékek ábrázolása

c) Korábbi évben használt kalibrációs egyenlet illesztése új évjáratú minták összetételének meghatározására

Az új évjáratú búza minták összetételét mérve korábbi évben kapott kalibrációs egyenlettel a 3. táblázatban található adatokat kaptuk. Eszerint az eredeti (korrekció nélküli) egyenlet használata esetén az eredmények átlagos eltolódása (BIAS) elfogadhatatlanul nagy volt. Húsz minta alapján korrigálva az egyenletet ($K_{\text{év}}$ korrekció) az eltolódás gyakorlatilag megszűnt, a statisztikai paraméterek pedig megegyeztek a kalibrációnál kapottal (2. táblázat, C). A korrekcióhoz felhasznált valamennyi mintakombinációnál — kis BIAS-ingadozástól eltekintve — azonos statisztikai paramétereket kaptunk, tehát 20 minta elegendő a $K_{\text{év}}$ tag megfelelő pontosságú meghatározásához. Ezt megerősítik a kalibrációval, illetve $K_{\text{év}}$ -korrekcióval kapott összetételi adatok között elvégzett lineáris regresszióanalízis eredményei is. Eszerint a két

módszerrel kapott eredmények között (95 %-os valószínűségi szinten) nincs szignifikáns eltérés, kivéve egyes kombinációknál a mérési átlagot. De a legnagyobb eltérés itt sem éri el a 0,1 %-ot. Tehát a $K_{\text{év}}$ korrekció a kalibrációval egyenértékűnek bizonyult, megerősítve Osborne vizsgálati eredményeit [2].

3. táblázat: Az 1987-es évjáratú (C) minták NIR összetétel-mérési eredményei korábbi években kapott kalibrációs egyenletek felhasználásával, búza fehérjénél

Kalibrációs egyenlet		$K_{\text{év}}$ -korrekció nélkül BIAS	$K_{\text{év}}$ -korrekcióval		
jele	év		BIAS	SEP	r
A	1984-85	0,78	$\pm 0,06$	0,37	0,92
B	1986	0,17	$\pm 0,08$	0,375	0,92

A $K_{\text{év}}$ korrekciós módszer a kalibrációnál lényegesen egyszerűbb eljárás. Fő előnye azonban az, hogy új évjáratoknál már az első néhány minta alapján elvégezhető, szemben a kalibrációval, melynél legalább 40-50 minta szükséges.

Összefoglalásképpen a következők állapíthatók meg. A kifejlesztett kalibrációs egyenletek több év eredményei alapján megfelelőnek bizonyultak a búza fehérje- és nedvességtartalmának mérésére. Az eredmények megbízhatósága gyakorlatilag azonos volt más országban kapott eredményekkel. Ez közvetve a hazánkban elterjedt műszerek és módszerek alkalmasságára is utal. A kipróbált számítási eljárással a kiugró hibával mért minták kiszűrhetők. A mérőkészüléket nem szükséges minden évjáratnál újrakalibrálni, elegendő a kalibrációs egyenlet korrigálása.

Irodalom

- [1] Williams P.C.: Application of the near infrared reflectance spectroscopy to analysis of cereal grains and oilseeds. *Cereal Chemistry*, **52**; (1975) 561-576.
- [2] Osborne B.G., Douglas S., Fearn T., Willis K.H.: The development of universal calibrations for measurement of protein and moisture in UK home-grown wheat by near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **33**; (1982) 736-740.

- [3] Osborne B.G.: Investigation of the performance of an improved calibration for the determination of protein in UK home-grown wheat by near infrared reflectance analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **34**; (1983) 1441-1443.
- [4] Hunt W.H., Fulk D.W., Elder B., Norris K.: Collaborative study on infrared reflectance devices for determination of protein in hard red winter wheat , and for protein and oil in soybeans. *Cereal Foods World*, **22**; (1977) 534-536.
- [5] Miller B.S., Pomeranz Y., Thompson W.O., Nolan T.W., Hughes J.W., Davis G., Jackson N.G., Fulk D.W.: Interlaboratory and intralaboratory reproducibility of protein determination in hard red winter wheat by Kjeldahl and near infrared procedures. *Cereal Foods World*, **23** (1978) 198-201.
- [6] Williams P.C.: Screening wheat for protein and hardness by near infrared reflectance spectroscopy. *Cereal Chemistry*, **56**; 3; (1979) 169-172.
- [7] Bolling H., Zwingelberg H.: Infrarotspektroskopie- Einsatz bei der Getreideerfassung und Endproduktkontrolle bei Mahlerzeugnissen. *Getreide Mehl und Brot*, **36**; (1982) 197-201.
- [8] Downey G., Morrissey A., F- S.: Protein testing of wheat by near infrared reflectance. *Farm and Food Research*, **13**; (1982) 14-16.
- [9] Downey G., Byrne S.: Determination of protein and moisture in ground wheat by near infrared reflectance spectroscopy. *Irish Journal of Food Science and Technology*, **7**; (1983) 135-146.
- [10] Osborne B.G., Fearn T.: Collaborative evaluation of near infrared reflectance analysis for the determination of protein, moisture and hardness in wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **34**; (1983) 1011-1017.
- [11] Kóta B., Szalánczy É.: Infrapid 31-gyel végzett takarmány-alapanyag vizsgálatok. *Gabonaipar*, (1982) 148-152.
- [12] Kemény G., Pokorny T., Fórizs K.: Application of the near infrared diffuse reflectance analyzer INFRAPID 61 in the animal food industry. *Hungarian Scientific Instruments*, **58**; (1984) 51-56.
- [13] Barabás B.: Búza összetétel-mérés Infrapid 61 gyorselemzővel. *Országos Kalászgabona Termesztési Tanácskozás, Gödöllő, Proceedings*, (1986) 313-317.
- [14] Barabás B.: Búza minőség meghatározása Infrapid 61 készülékkel. *Műszaki Fejlesztési Eredmények, Agroinform, Budapest*, (1989) 325/1989.
- [15] Draskovics I., Szabó E.: The use of a network of NIT instruments to control wheat quality in Hungary. *Making Light Work. Advances in near infrared spectroscopy*. I. Murray, I.A. Cowe (Eds.) VCH Weinheim, 1992. 233-235.

Tapasztalatok búza nedvesség- és fehérjetartalmának NIR módszerrel történő mérésénél

Barabás Béla

A szerző a NIR összetétel-vizsgálati módszer megbízhatóságát vizsgálta búza fehérje- és nedvességtartalmának mérésénél magyarországi körülmények között. A vizsgálatok tízéves időtartam alatt 5 évjárat mintegy 700 mintája felhasználásával készültek. Az összetétel-mérési eredmények referencia-módszerhez viszonyított megbízhatósága nedvességtartalomnál 0,2 %, fehérjetartalomnál 0,3 % volt. A kiugró hibák észlelésére a reflektancia-adatokból számított Mahalanobis-távolság alkalmasnak bizonyult. Az összetétel számításához kidolgozott kalibrációs egyenlet egyszerű korrekció után más évjáratoknál is használható volt.

Experiences in determination of moisture and protein contents of wheat by means of NIR method

Barabás Béla

Accuracy of NIR method for determination of the moisture and protein contents of wheat grains was studied under Hungarian conditions. On a total 700 samples were analyzed over 10 years. Accuracy of measurement corresponded to 0.2 and 0.3 % with moisture and protein content, respectively. Extreme errors of measurement could be detected by the Mahalanobis-distance derived from the reflectance data. A calibration equation was introduced that could be corrected for measuring the content of wheat from various years.

Erfahrungen mit Feuchtigkeits- und Proteinmessungen von Weizen mit der NIR-Methode

Barabás Béla

Das Ziel der Untersuchungen war die Beurteilung der Zuverlässigkeit der NIR Meßmethode für Protein- und Feuchtigkeitsbestimmung von Weizenkörnern in Ungarn. Die konkreten Messungen wurden während einer Zeitspanne von 10 Jahren durchgeführt, davon wurden insgesamt 700 Proben aus 5 Jahren ausgewählt. Die Zuverlässigkeit der Meßmethode im Vergleich zu Referenzmethode beträgt 0,2 % bei der Feuchtigkeits- und 0,3 % bei der Proteingehaltsbestimmung. Zur Feststellung von auffallenden, groben Fehler konnte der aus den Reflektanzdaten gerechnete Mahalanobis-Wert verwendet werden. Zur Berechnung der Zusammensetzung konnte die erarbeitete Kalibrierungsgleichung mit einer einfachen Korrektur auch für andere Weizenproben verschiedener Jahrgänge verwendet werden.