

Közeli infravörös spektroszkópia és mikroszkópia

black box
▼
grey box

(N)IR
elfogad-
tatása

Gergely Szilveszter

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem

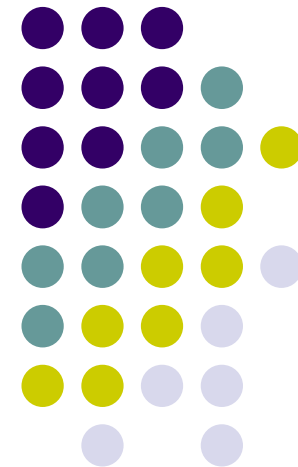
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék



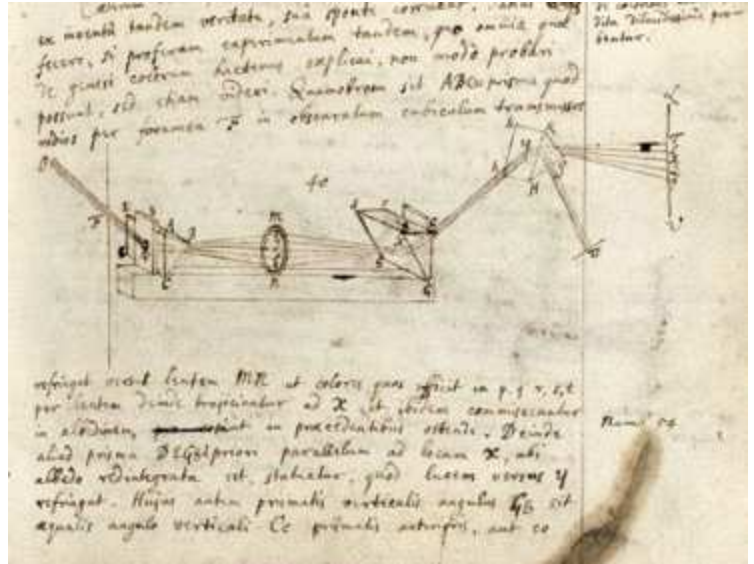
M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

Optikai spektroszkópia

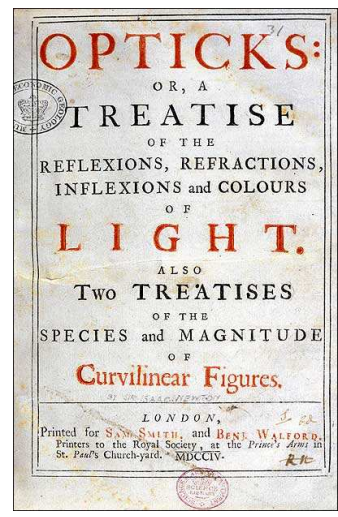
2014. október 29.



Newton kísérletei I. – a fehéren túl

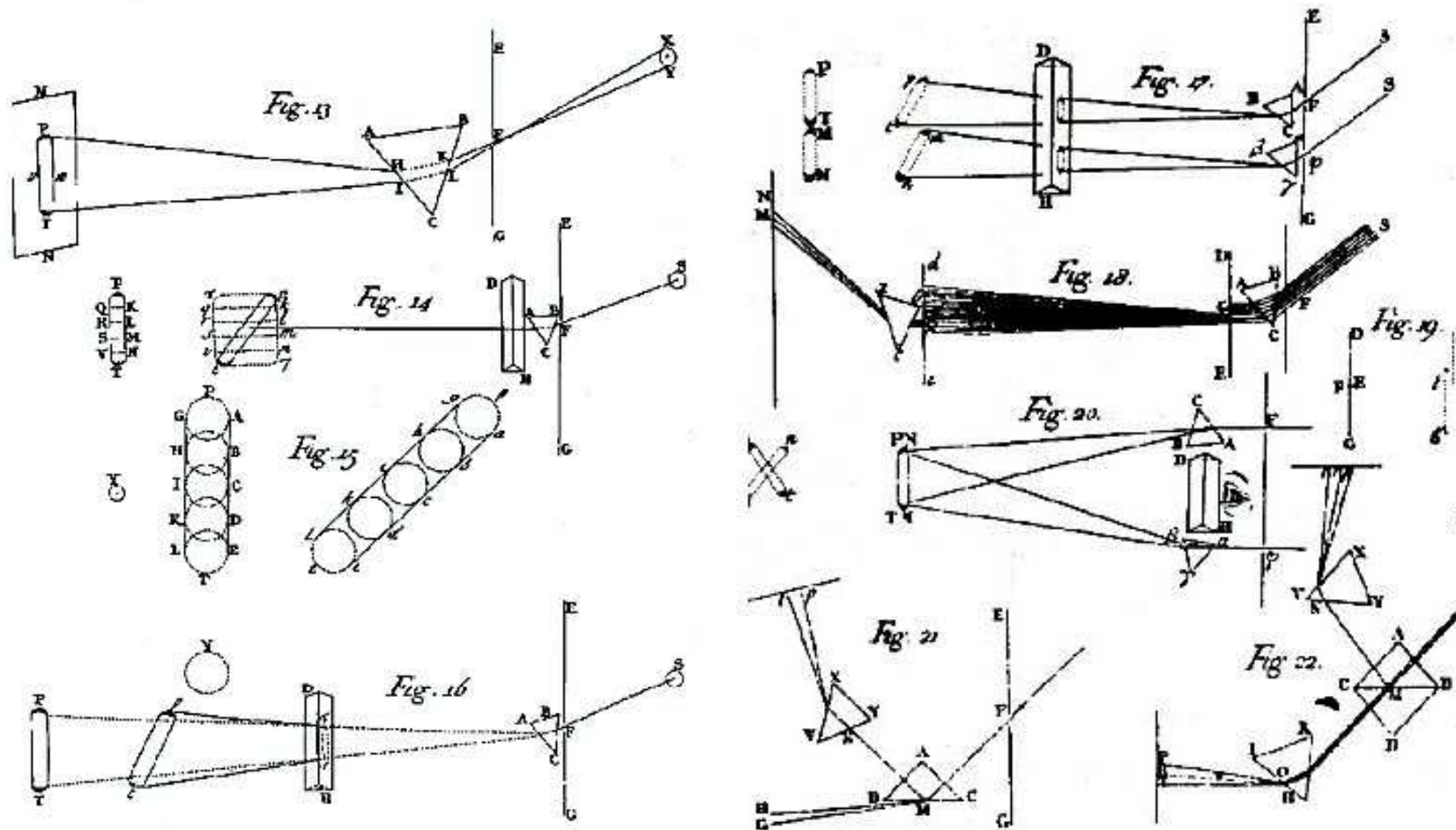


Már korábban más is megcsinálta, de ő le is írta...



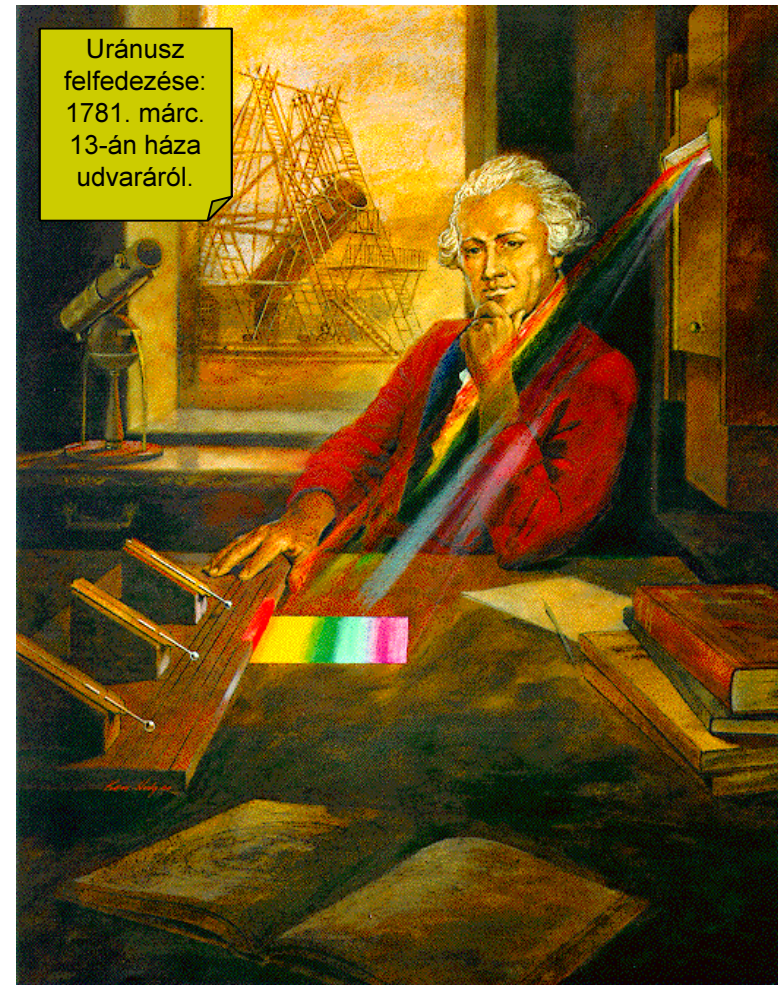
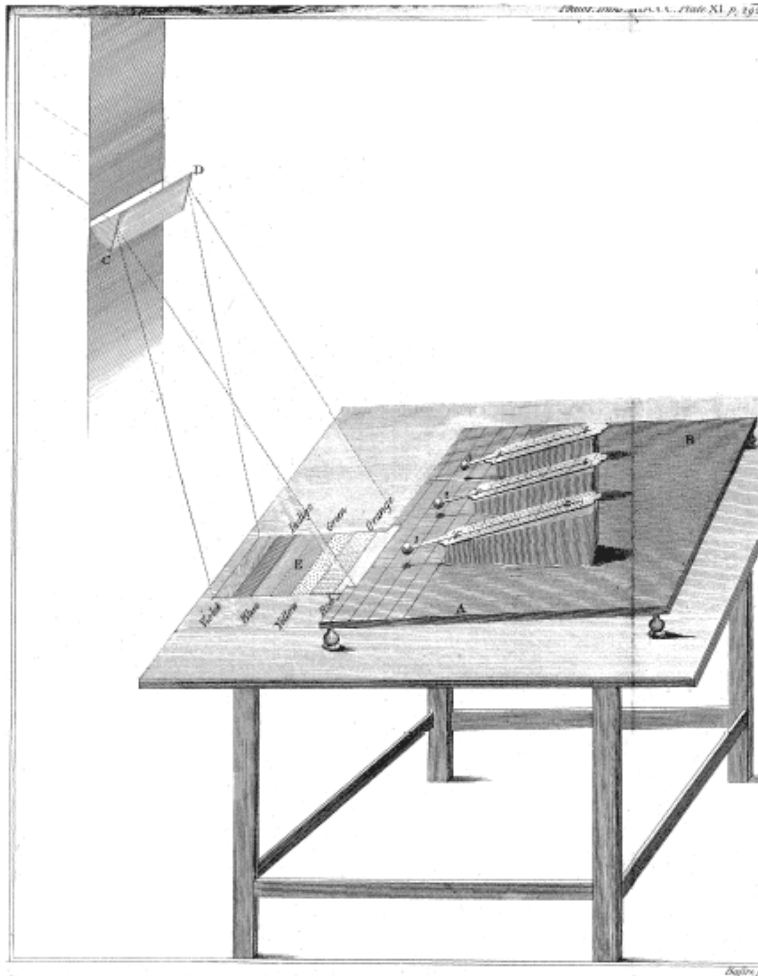
(1704)

Newton kísérletei II. – a fehéren túl



(1704)

Herschel kísérletei – a vörös alatt (no meg az Uránusz és a marslakók...)



1800. február 11.

IR – hő – energia (egy régi trükk mai kivitelben)



An AC-130U gunship fires flares to emit masses of infrared and confuse heat seeking missiles.
<http://www.wired.com/dangerroom/2012/10/infrared-obscurant/>

Rezgések és hullámok (USA vs. Magyarország)



(Tacoma Narrows Bridge, “Gallopín’ Gertie”, 1940. november 7.)



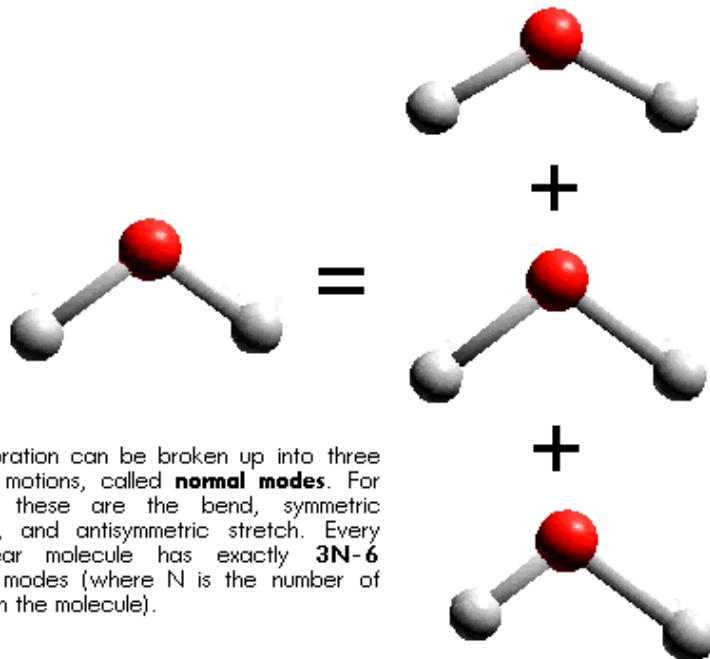
BME:
Schönherz
Qpa
vs. 4-6
villamosok.

(egy budapesti villamos, “sárga szöcske”, 2011)

A molekulák rezgései



Theory of Infrared Spectroscopy



The vibration can be broken up into three simpler motions, called **normal modes**. For water, these are the bend, symmetric stretch, and antisymmetric stretch. Every non-linear molecule has exactly **$3N-6$** normal modes (where N is the number of atoms in the molecule).

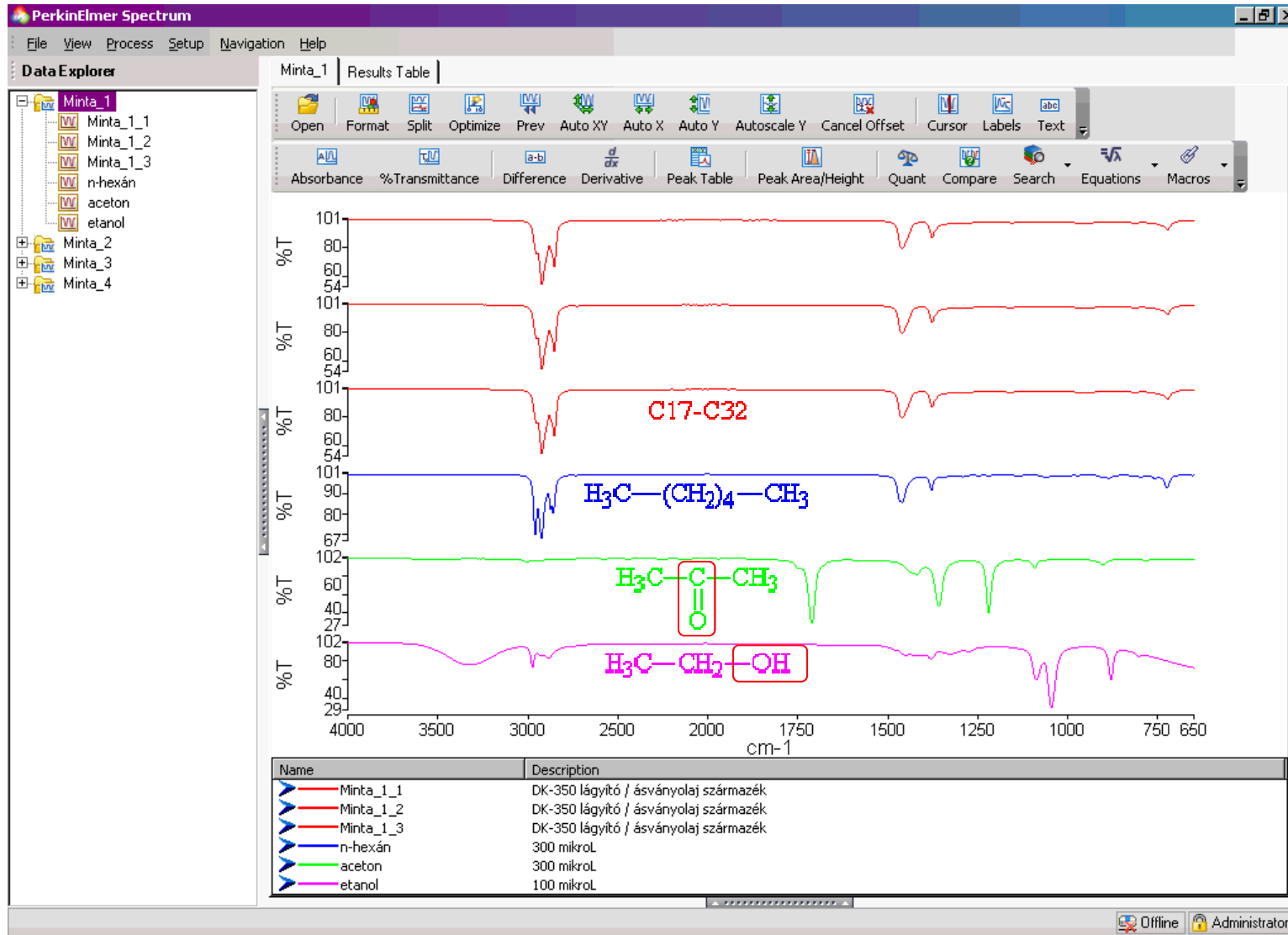
- deformációs rezgés
változás a **kötésszögben**
- szimm. vegyértékrezgés
változás a **kötéshosszban**
- aszimm. vegyértékrezgés
változás a **kötéshosszban**



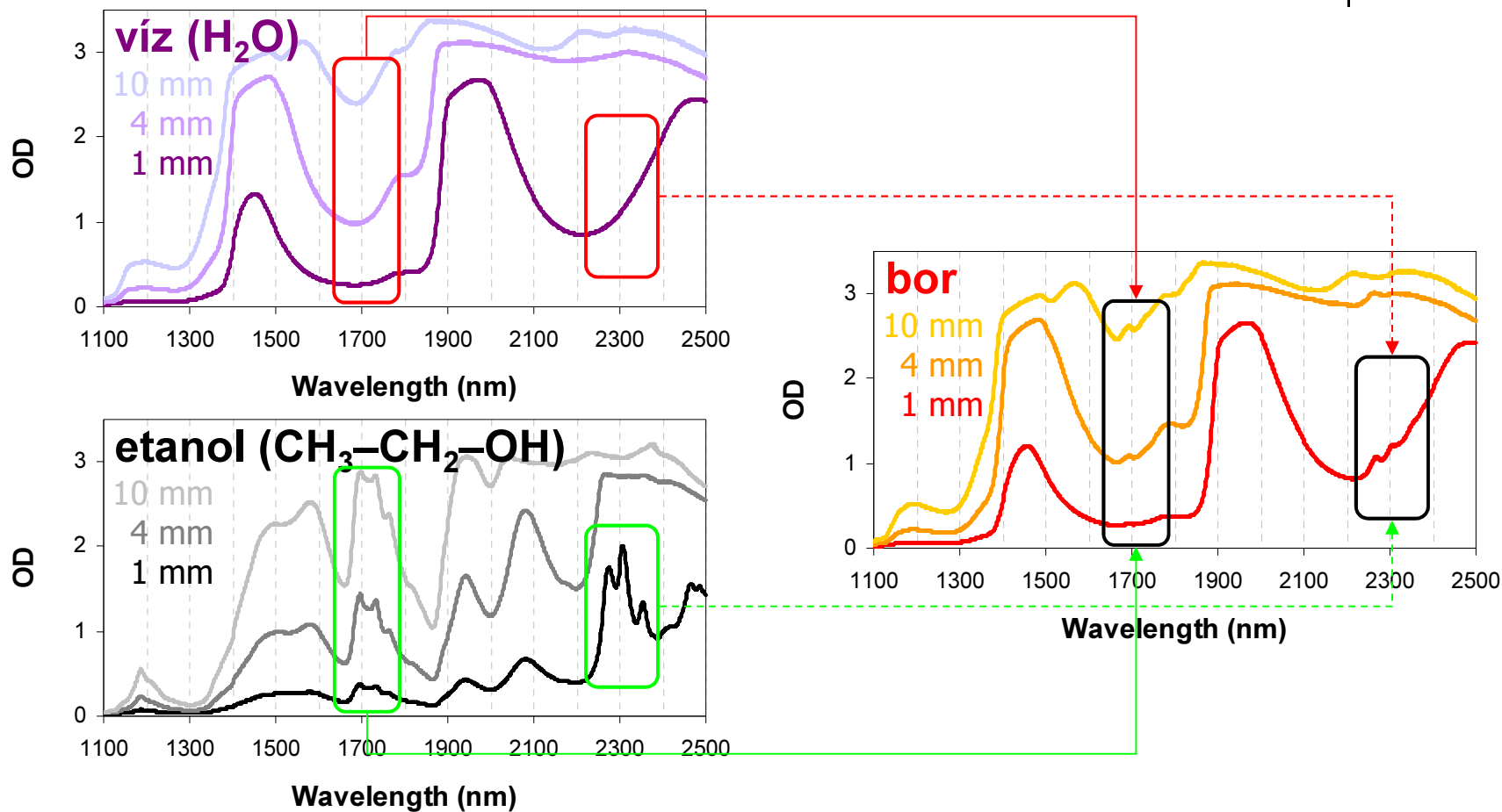
A spektrum a molekuláris állapotváltozások összessége:
kémiai és fizikai „ujjlenyomat”.

Egy gyors példa a (M)IR-re

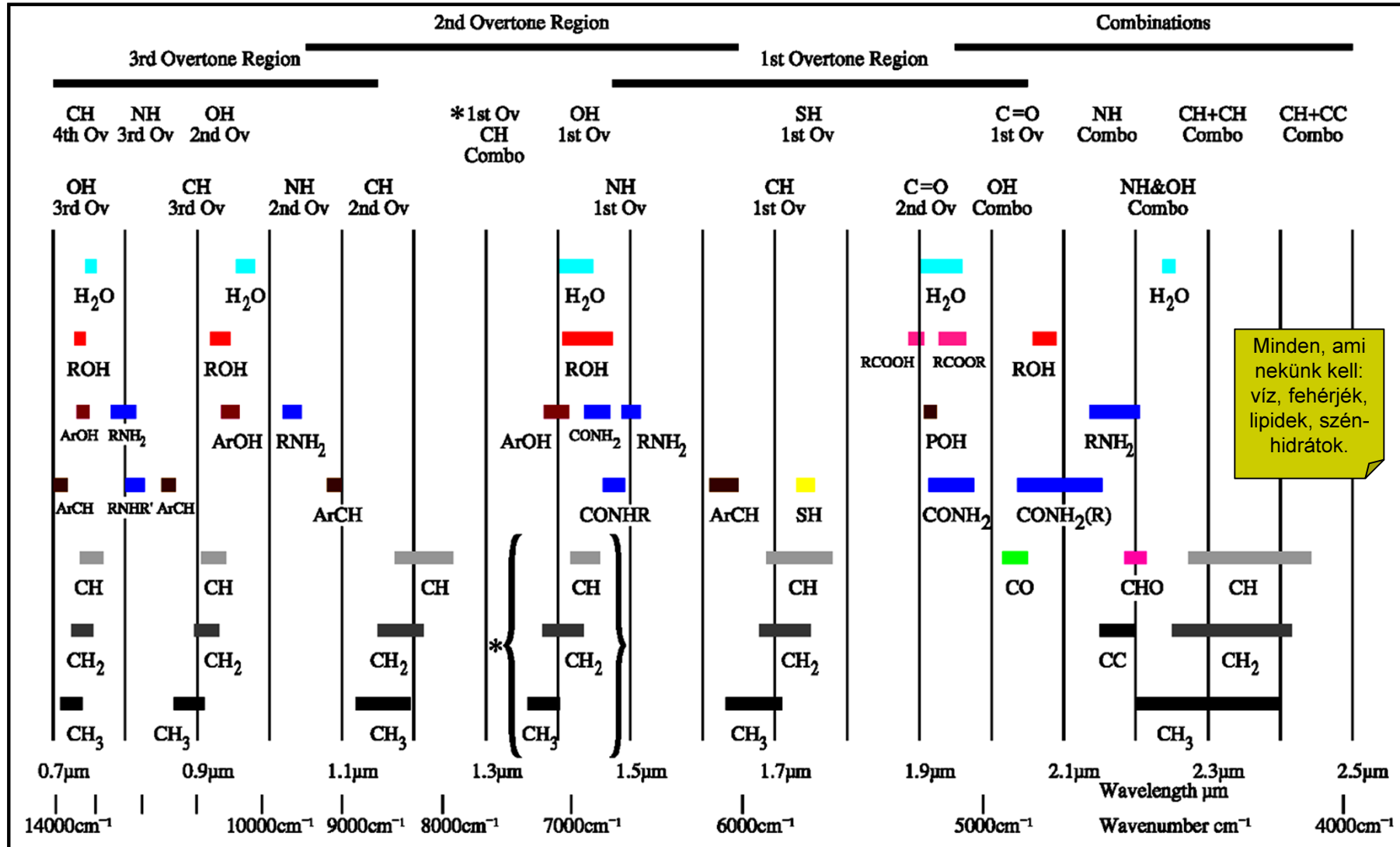
NIR : IR
1 : 100



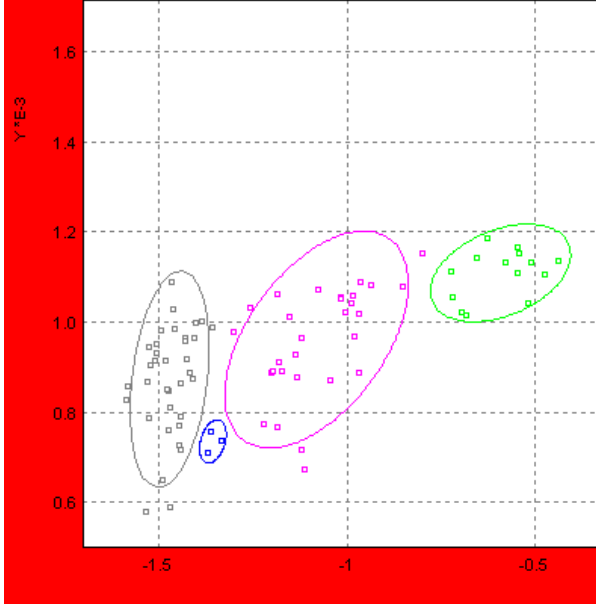
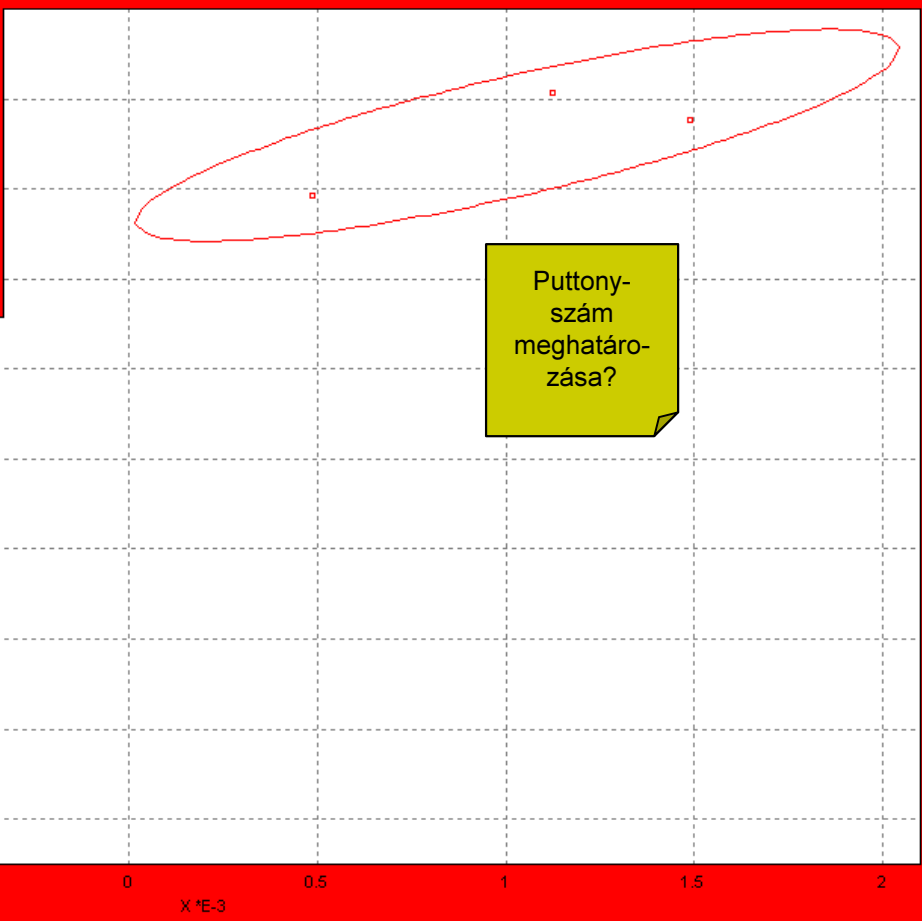
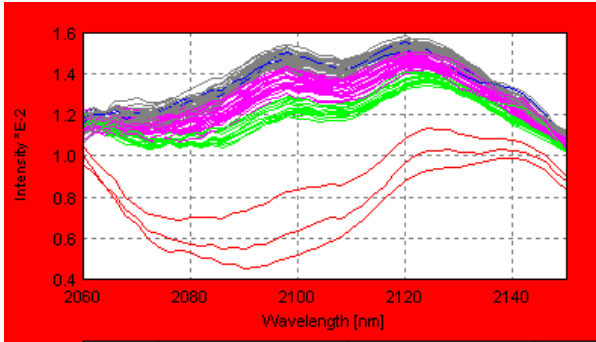
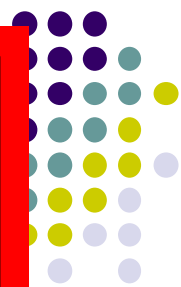
És egy másik gyors példa NIR-re



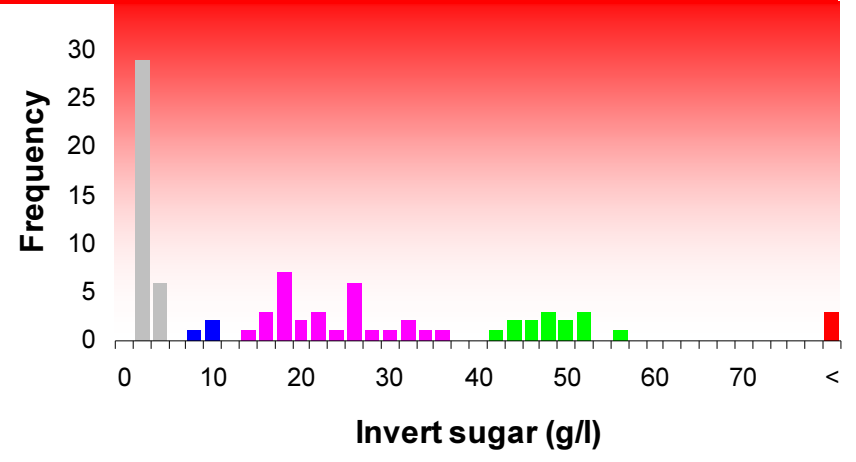
Jellemző NIR elnyelési sávok



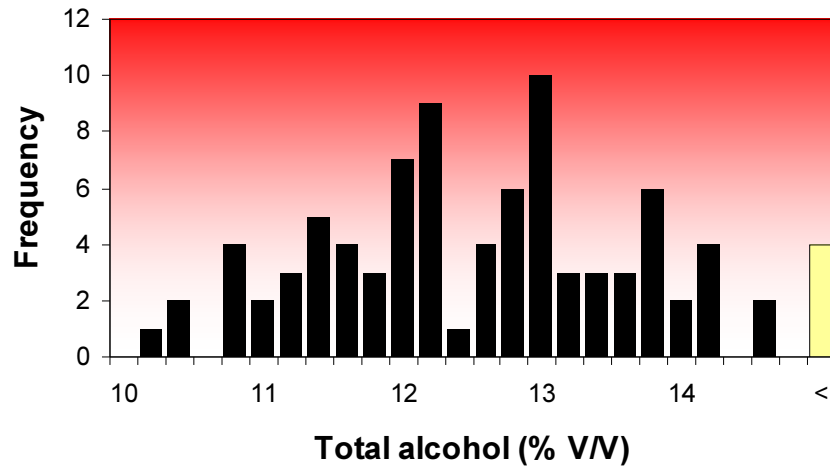
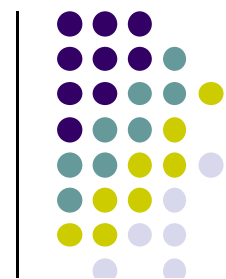
Minden, ami nekünk kell: víz, fehérjék, lipidek, szénhidrátok.



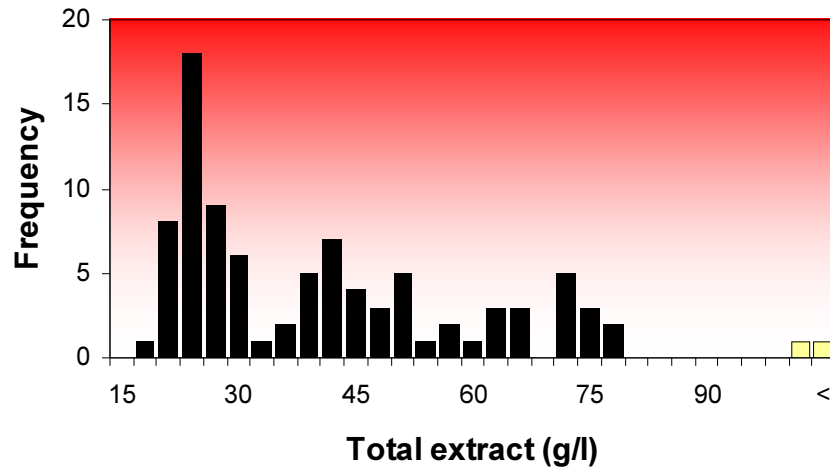
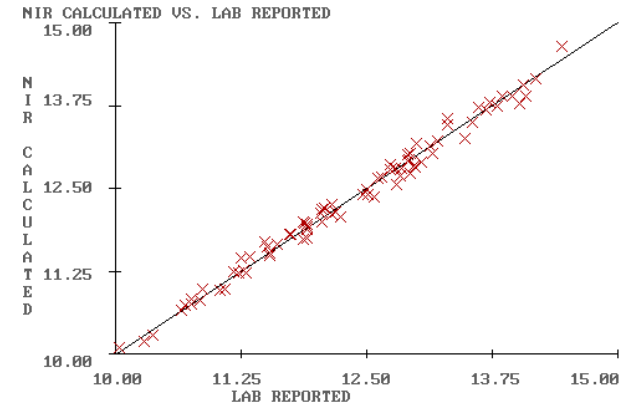
- dry wines ■
- medium dry wines ■
- medium sweet wines ■
- sweet wines ■
- ‘aszú’ wines ■



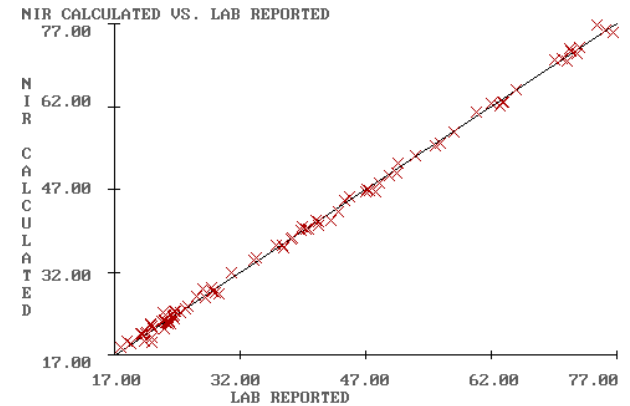
Bor – PQS után PLS I.



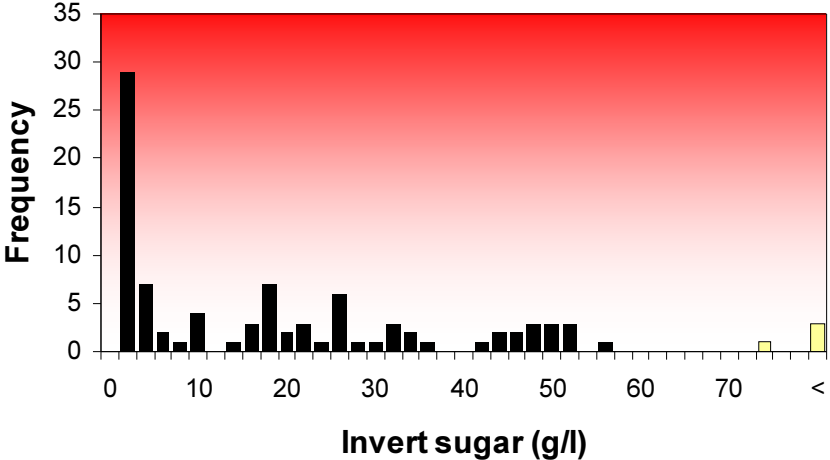
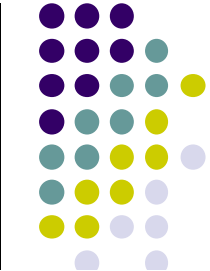
factor 7
 R 0.9943
 SEC 0.1176
 MSEC V 0.006



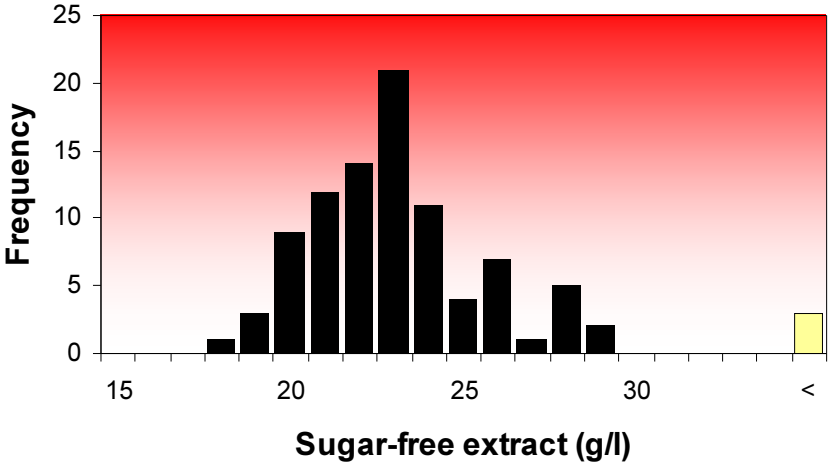
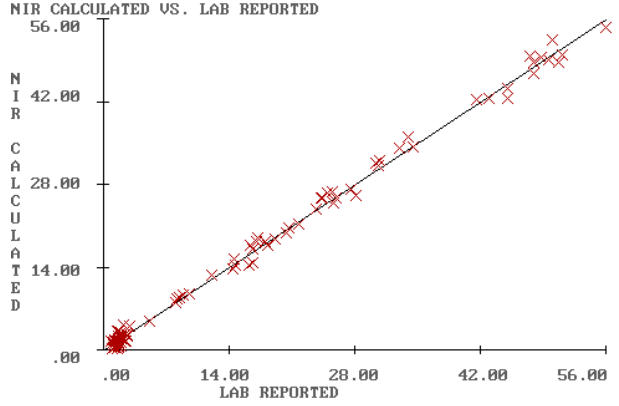
factor 5
 R 0.9990
 SEC 0.8146
 MSEC V 0.226



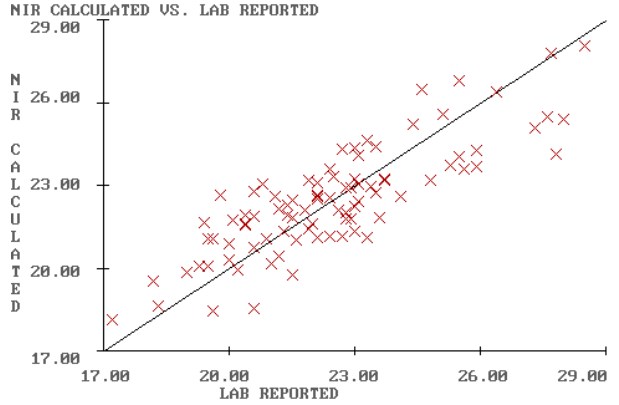
Bor – PQS után PLS II.

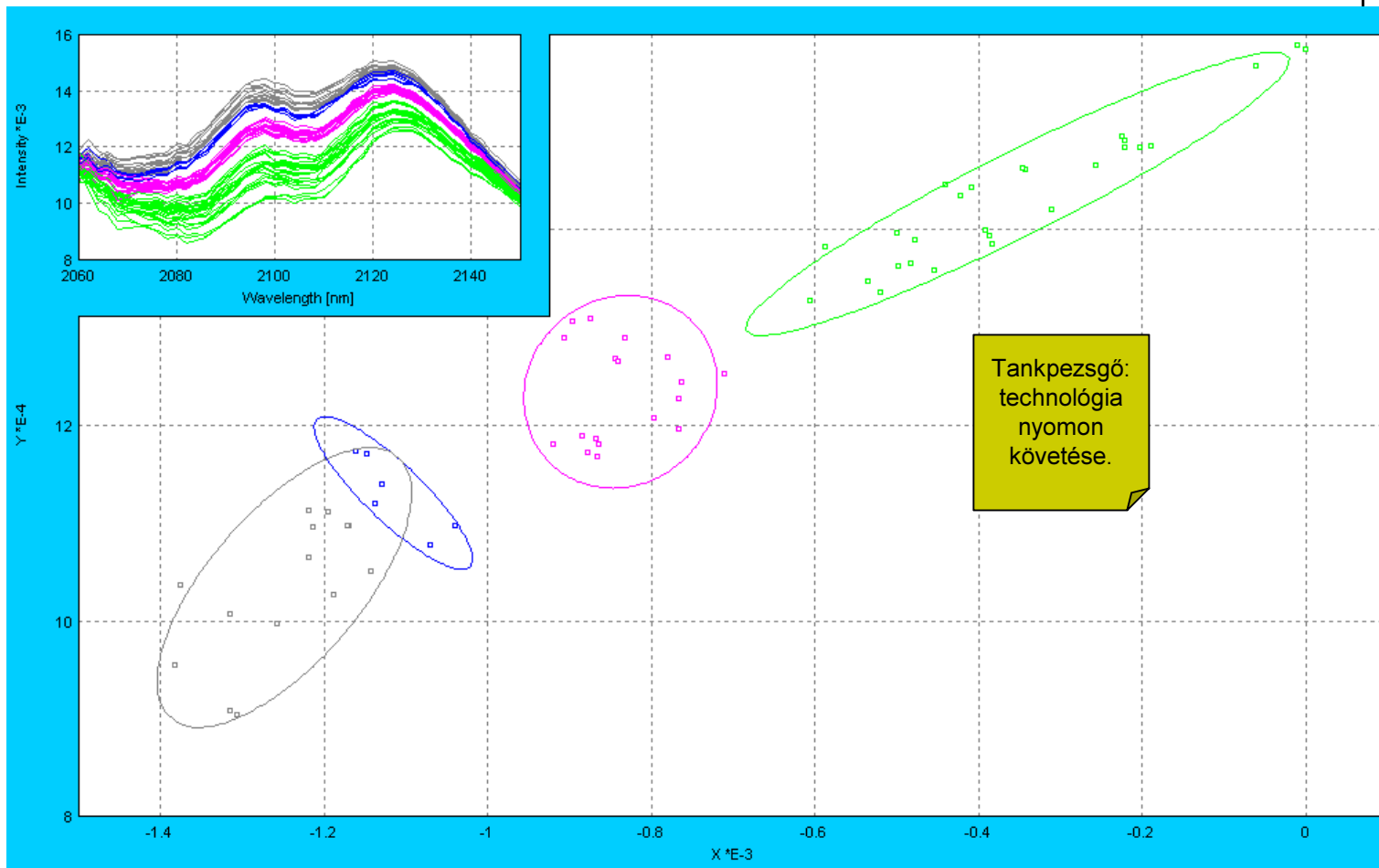
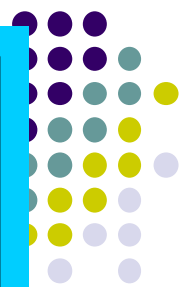


factor 7
 R 0.9981
 SEC 1.1012
 MSECVC 0.796

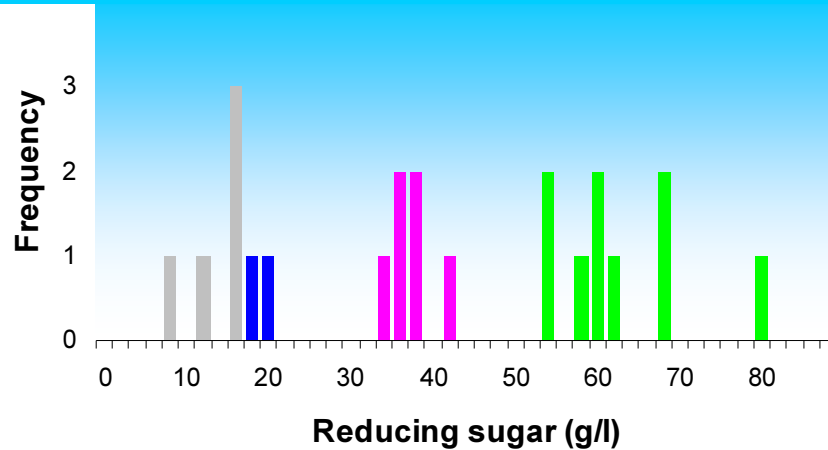


factor 7
 R 0.8328
 SEC 1.1369
 MSECVC 0.847

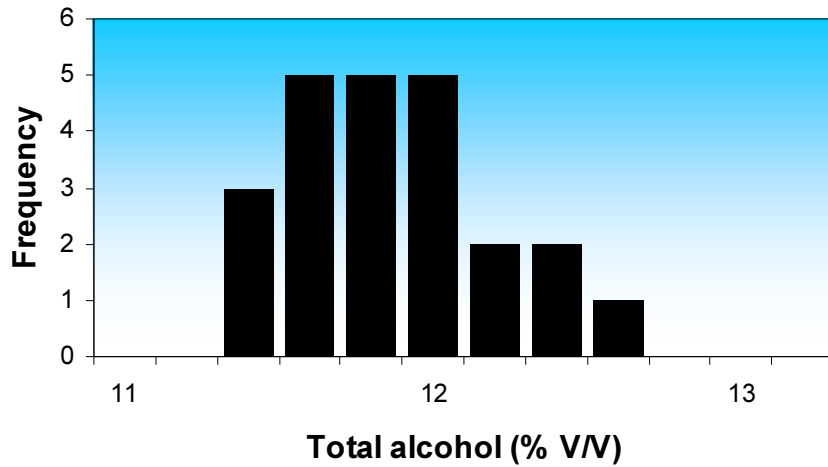
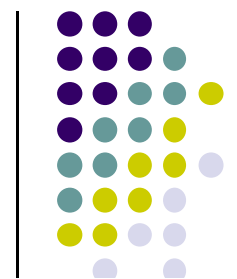




brut and extra dry champagne ■
 dry champagne ■
 medium dry champagne ■
 sweet champagne ■

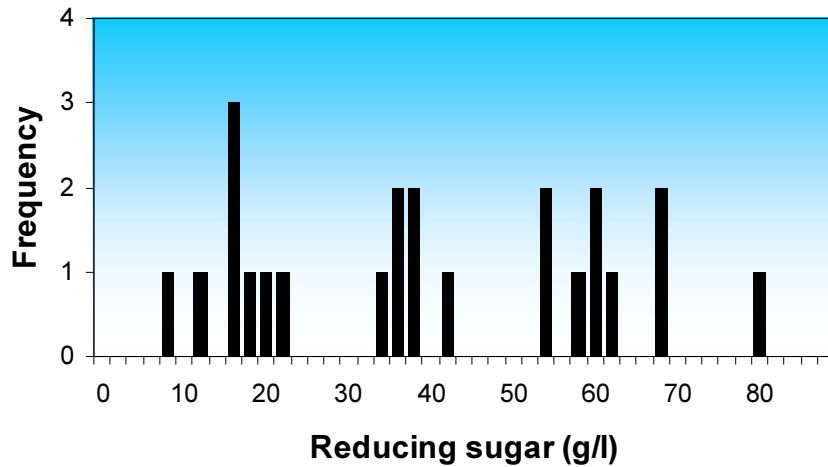
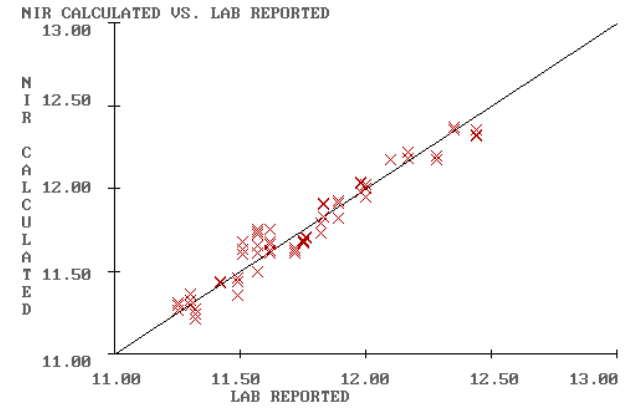


Pezsgő – PQS után PLS



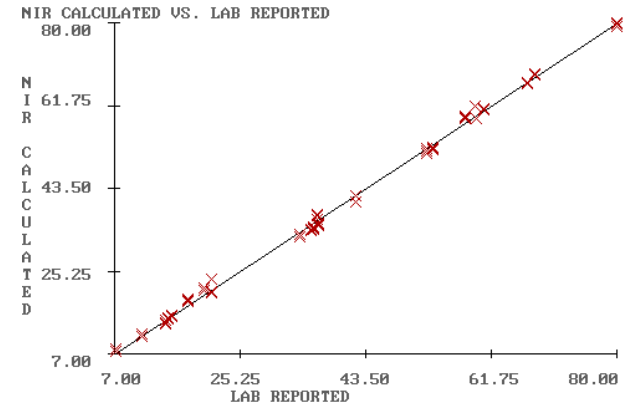
factor 7
 R 0.9726
 SEC 0.0816
 MSECVC 0.003

(refilling 3x)

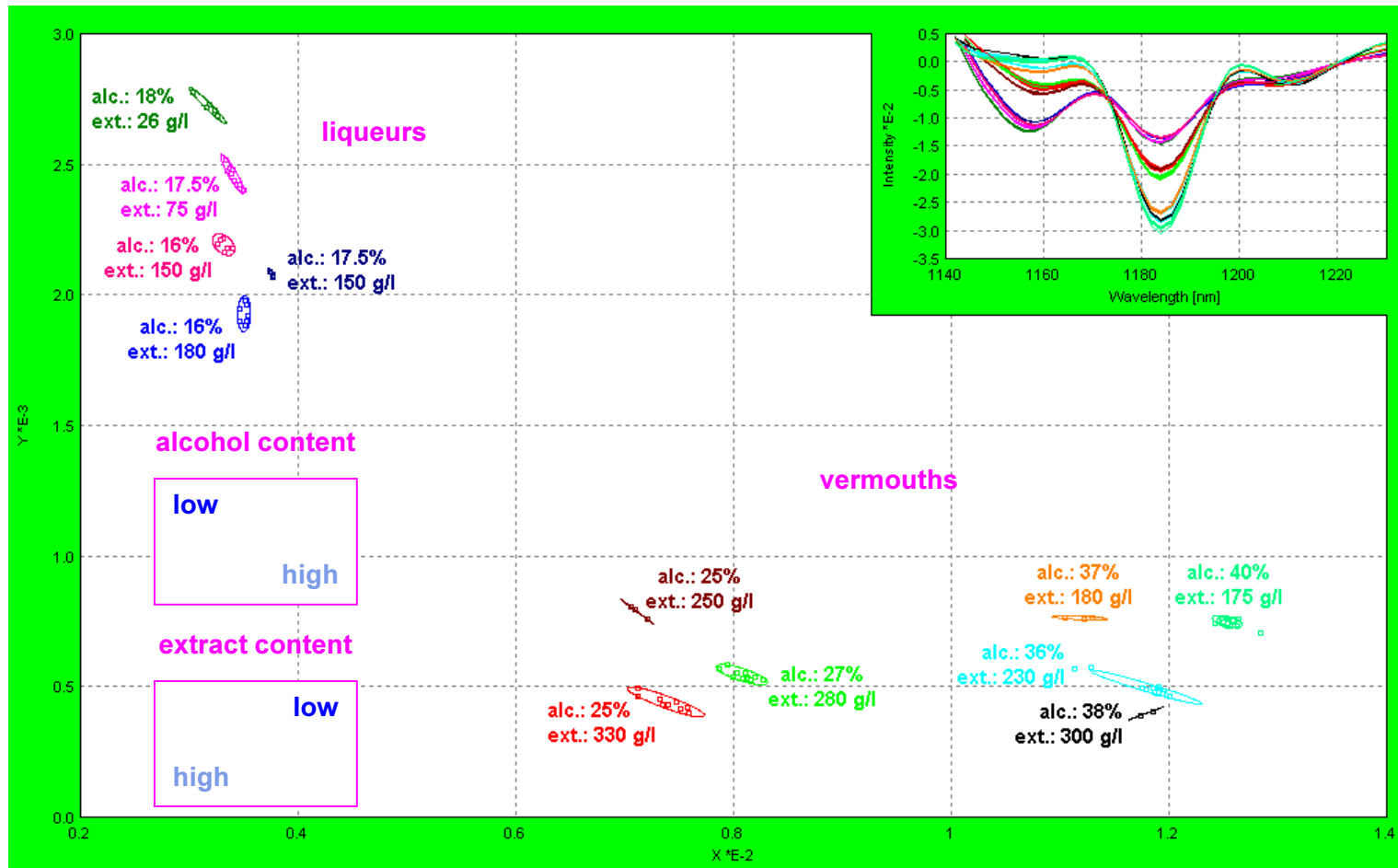


factor 6
 R 0.9989
 SEC 1.0579
 MSECVC 0.348

(refilling 3x)

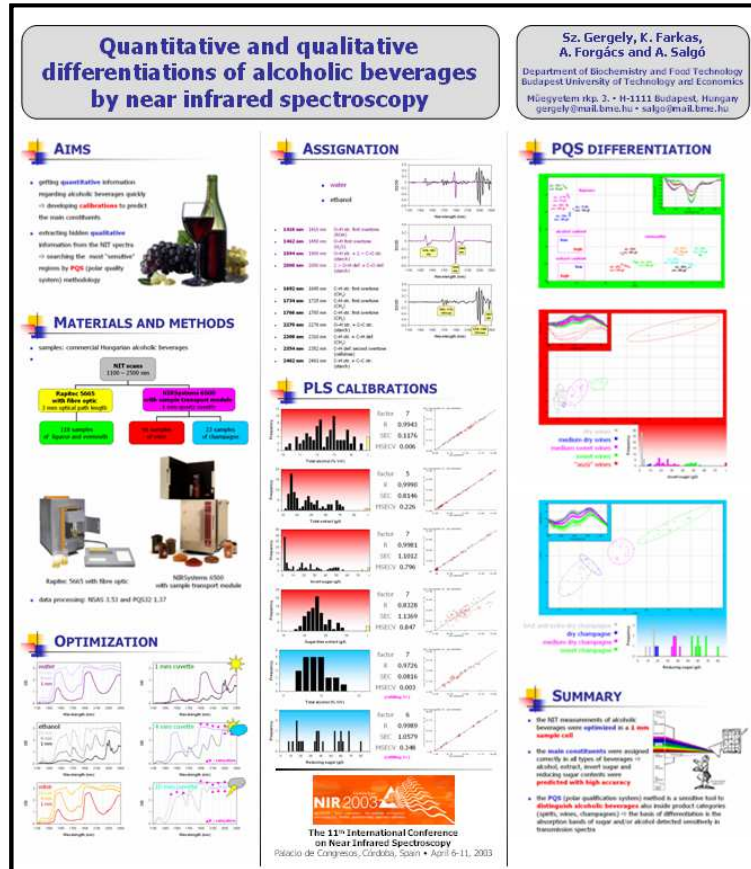


Töményebb szeszek – PQS



Borban az igazság... ... ez nem a reklám helye

OBI
(hatóság),
Törley
(ipar),
...



konferencia poszter
(NIR-2003 • 2003. ápr. 6-11.)



Törley-díj
(diplomaátadás • 2003. júl. 18.)

Borban az igazság... ... ez nem a reklám helye

...
Villány
(gazda bolt)
2006.06.30.



BOR-LA-BOR FUTÁRSZOLGÁLAT!

Bi-Bor 7773 Villány Baross G. u. 5.
Tel.: 72/493-091, 592-037
Gazdabolt Mobil: 30/520-2732, 30/226-7003

A világ legnagyobb élelmiszeripari műszergyártója a dán FOSS Analytical az elmúlt évben a borfeldolgozók régóta élő igényére válaszolva kifejlesztette a WineScan bor-beltartalom vizsgáló műszert, amely egidőre méri 30 másodperces analízisidővel a bor szinte összes paraméterét. A műszer működési elve Fourier Transzformációs Infravörös Spektroszkópia (FTIR). Mivel minden kémiai kötés egy bizonyos, csak arra a kötéstípusra jellemző frekvencián vibrál és a vibráció következtében az adott hullámhosszú fényt abszorbalja, egyenes arányú összefüggés van az elnyelt fény mennyisége és a mintában lévő adott típusú kémiai kötések száma között. Az FTIR technika lényege, hogy a fényt egy interferométer segítségével egymst követően 3000 hullámhosszon átbocsájtjuk a mintán, és mind a 3000 alkalommal egy szenzor segítségével megmérjük, hogy az adott hullámhosszon milyen mértékben nyelte el a minta a fényenergiát.

Ezt követően a számítógép pontosan meg tudja állapítani, hogy a különféle kémiai kötések közül mennyi található a mintában. Mivel vannak az egyes vegyületekre jellemző kötéstípusok (pl. Fehérjéknél az aminosavakat összekapcsoló peptidkötés), ebből pontosan meghatározható a minta kémiai összetétele.

Újdonság! Cégünk ezzel a labor eszközkel komplex, gyors borvizsgálati szolgáltatást működtet 2005 szeptemberétől a minta felvételétől az eredmény kiértesítéséig!

A borok bevizsgálásánál 3 fő tényezőről beszélhetünk
Pontoság: A WINESCAN FT 120 az infravörös hullámokon alapuló technológiája a legpontosabb eredményeket eredményezi a bor analízisa során. A teljes biztonság érdekében a méréseket kétszer végzi el egymás után, ezután egyeztetve a mért eredményeket.
Gyorsaság: A szüret idején erjedéskor, almasavbontáskor, a borok kezelésénél különösen fontos a bevizsgálás gyorsasága. Szolgáltatásunk a lehető leggyorsabbral 9-ig behozott mintáit 14 óráig, faxon, e-mailben vagy telefonon keresztül eljuttatjuk Önnek, hogy a lehetséges kezeléseket még aznap el tudja végezni. A 9 óra után behozott mintákat másnap reggel 9-ig tudjuk kiértesíteni. Sürgősségi borbevizsgálásunk 3 óra belüli eredményt produkál.
A mintaleadás menete: 1. Mintán behozza a bori (mustot, erjedésben lévő bort) hozzánk abból 1 dl mintát új, steril tárolóba öntünk, névvel, sorszámmal, megnevezéssel és círelhetőséggel látjuk el és az átvételről bizonylatot adunkra minták elkeverése ezáltal kizárt. A kért elérhetőségen értesítjük Önt az eredményekről, amiket hosszú távon megőrítünk ha esetleg az adatok elvesznének és bizalmasan kezelünk.

Az szolgáltatásunk a gyorsaságot és a komplexitást tekintve ár-érték arányban a legkedvezőbb (lásd a táblázatban).

FORRADALOM A BORVIZSGÁLATBAN!

BOR-LA-BOR FUTÁRSZOLGÁLAT!

Bi-Bor 7773 Villány Baross G. u. 5.
Tel.: 72/493-091, 592-037
Gazdabolt Mobil: 30/520-2732, 30/226-7003

A bevizsgálást 4 fő csoportra osztottuk:

MUST (M)	ERJEDŐ BOR (EB)	BOR I. (B1)	BOR II. (B2)
cukor gr./liter	alkohol	alkohol	alkohol
magyar mustfok	glükóz-fruktóz	szabad kén	szabad kén
összes sav	maradék cukor	összes kén	összes kén
borkósav	illósav	cukor	cukor
almasav	összes sav	illósav	illósav
pH	almasav	összes sav	összes sav
	pH	pH	pH
			almasav
			borkósav
			citromsav
			tejsav
			polifenol
			glicerín
1480 Ft + Áfa/minta	1950 Ft + Áfa/minta	1950 Ft + Áfa/minta	2900 Ft + Áfa/minta
10 minta felett -10%	10 minta felett -10%	10 minta felett -10%	10 minta felett -10%
Sürgősségi felár 500 Ft/alkalom a minták számától függetlenül!!!	Sürgősségi felár 500 Ft/alkalom a minták számától függetlenül!!!	Sürgősségi felár 500 Ft/alkalom a minták számától függetlenül!!!	Sürgősségi felár 500 Ft/alkalom a minták számától függetlenül!!!
Szükséges minta: 1 dl!	Szükséges minta: 1 dl!	Szükséges minta: 1 dl!	Szükséges minta: 1 dl!

Értékesítés: készpénzben a minta leadásakor vagy átutalással az adott hónap végén kiszámlázva (több minta esetén).

PRÓBÁLJUK!
BOR-LA-BOR FUTÁRSZOLGÁLATUNK HÉTFŐTŐL SZOMBATIG ÁLL
ÖN ÉS BORVIZSGÁLATÁBAN!

A borvizsgálaton kívül cégünk borok próbaderítését végzi, igény szerint teljes kezelőanyag-ellátással. A minta felvétele megegyezik a borvizsgálatival (1,5-2 liter borminta szükséges, eredmény 3-5 munkanapon belül). Az eredményekről ugyancsak kiértesítjük faxon, emailen vagy telefonon. Ára: 3500 Ft + Áfa/ minta mely tartalmazza a derített bor stabilitási vizsgálatát is.

Ha igény van rá, ingyenes mintátvevőt biztosítunk felelőnkérvél!

A minták az alábbi hely(ek)en adhatók le:
VILLÁNY Bi-Bor Gazdabolt, Baross G. u. 5. /Ált. Iskola mellett/

FORRADALOM A BORVIZSGÁLATBAN!

Borban az igazság... ... de hogy jön ez ide?

gyógyszer
=
bor
?



Abstract PAT in different industries: challenges and opportunities for near infrared spectroscopy

Jose Cardoso Menezes

IST, Technical University Lisbon, Institute for Biotechnology and Bioengineering, Av Rovisco Pais, 1049-001 Lisbon, Portugal
Corresponding author: bse@ist.utl.pt

Introduction

PAT is process-based while QbD (Quality by Design) is product oriented. PATs are tools that make QbD possible. Across processing industries, one can use a systems engineering approach and decompose any process into raw materials (RM), processing steps and end-product. Processing can be done in multiple consecutive unit operation steps. At all three components there are properties (chemical, physical or biological) influenced by process parameters. We demonstrate how NIR has intrinsic capability as a PAT tool to link process to product and be a QbD enabler across multiple processing industries.

Materials and Methods

Monitoring within PAT should be done on whole samples as they represent the raw material/process/end-product. Process spectroscopy is an effective way to obtain multiple parameters from a single spectrum. A less commonly used approach is NIR spectroscopy as a process fingerprinting technique; advantage is taken of its intrinsic ability to capture chemical and physical information, avoiding the need for calibration development and making the most of the availability of on-line in-situ measurements for batch supervision. These fingerprinting capabilities are so powerful that the process trajectories drawn from those fingerprints resemble very closely those produced by other measurements. Examples of both applications of NIR will be described for three situations namely biofuels, petrochemical refining, and biopharmaceuticals manufacturing.

Results and Discussion

PAT involves considering all monitored variables. As in-process monitoring techniques are normally multiparametric, their use should be advocated in process development and manufacturing. Multiparametric process spectroscopy techniques enable several parameters to be measured simultaneously, highlighting the correlation of different parameters on a whole sample. That increases the capabilities for process fault detection and diagnosis, real-time and capturing scale effects, and will help to pinpoint and solve scale-up problems. Chemometrics, multivariate analysis techniques and systems engineering (altogether called PAT), will play a decisive role in bio-pharmaceutical manufacturing in years to come at sample, batch and process levels. An overall picture emerges of the entire multistage process based on an accurate picture of its unit operations. By using the PAT tools deployed in sample and batch levels, correlations between different points in the manufacturing process can be established. Use of PAT in this feed-forward mode is important in anticipating and resolving problems that will have a negative impact on the process downstream. This strategy has been applied throughout processing industries for: i) accessing and controlling the variability of complex RMs, developing RM supervisory systems and formulating RM blends for targeted specifications; ii) handling variability during process by monitoring quality attributes through in-process, at-line or on-line process supervision and controlling critical issues to quality parameters; iii) end-product multiparametric QC using good modelling practices for calibration development.

Conclusion

The potential of PAT in manufacturing areas is far from properly exploited due to the insufficient use of intrinsically multiparametric monitoring tools (e.g. NIR), little use of available process information, and not taking a process/plant wide perspective for the proposed PAT strategy. PAT tools based on spectroscopy are so versatile and their advantages so diverse, it makes little sense to invest in chemical laboratories to analyse feed-stocks and the end-products of manufacturing plants. With current ASTM standards addressing NIRS use for quantitative and qualitative analysis, the road is opened to the use of these monitoring techniques as PAT tools across processing industries.

Reference paper as:
J.C. Menezes (2012), PAT in different industries: challenges and opportunities for near infrared spectroscopy (abstract), in: Proceedings of the 15th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, Edited by M. Manley, C.M. McIvor, D.J. Thomas and G. Downey, Cape Town, South Africa, p. 186.

Near infrared monitoring of wine fermentation

Daniel Cozzolino*, Wies Cynkar and Nevil Shah

The Australian Wine Research Institute, Waite Road, Urrbrae, PO Box 197, Adelaide, SA 5064, Australia
*Corresponding author: daniel.cozzolino@awri.com.au

Introduction

The term process analytical technology (PAT) describes the field of process analysis and measurement technologies that has expanded to include several physical, chemical, mathematical and other analytical tools used to characterise chemical and biological process.^{1,2} This approach has become a key process for monitoring parameters in the pharmaceutical industry. It has led to an emphasis on measurement methods to characterise products with properties beyond the information that is provided by traditional laboratory based analytical techniques.^{3,4} Similarly, the modern wine industry needs tools for process control and quality assessment in order to better manage fermentation. During wine fermentation, it is important to measure both substrate and product concentrations; however, the analysis of these compounds by traditional methods is time consuming.⁵ The use of NIR spectroscopy and chemometrics potentially provides an ideal solution to accurately and rapidly monitor changes in wine during fermentation without the need for traditional chemical analysis.

Materials and Methods

Samples

Samples were sourced from fermentation trials conducted during four successive harvests. Samples from several pilot scale fermentors, grape varieties and treatments (i.e. different temperatures and yeasts) were collected at different fermentation points. Grapes were machine harvested into bins holding approximately 400 kg each and transported to the Roseworthy Hickenbotham Wine Science Laboratory at the Waite Campus of the University of Adelaide. The grapes were then de-stemmed, crushed, and pumped into small-scale temperature controlled fermentation tanks (two randomly-selected bins per tank). The 2001 fermentations were conducted in two different types of fermenters, namely rotary (Vincomatic, 900 L) and stationary (Potter, 1100 L). The fermenters were then inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* (EC1118, Lalvin, Canada). For each type of fermenter, the alcoholic fermentation was carried out at two different temperatures (18 and 25°C). The 2002 fermentations were also conducted in both rotary and stationary fermenters as described for the 2001 trial.^{6,7} The six stationary fermenters were inoculated with *Saccharomyces bayanus* (AWR1375) from the Australian Wine Research Institute culture collection. Alcoholic fermentation was carried out at two different temperatures (20 and 28°C). In the case of the six rotary fermenters, two different strains of yeast were used namely *Saccharomyces cerevisiae* (AWR538) and *Saccharomyces bayanus* (AWR1375) but the fermentations were carried out at one temperature (20°C). The 2003 fermentations were conducted using the stationary fermenters described above inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* and alcoholic fermentation was conducted at one temperature (20°C). A total of 652 samples (ferments) were obtained (Cabernet Sauvignon 2001 = 182, Cabernet Sauvignon 2002 = 186, Shiraz 2001 = 144, Shiraz 2003 = 140) and used for both spectroscopic and chemometric analyses.^{8,9}

Visible and near infrared spectroscopy

Ferments were scanned on the day of sampling in transmission mode (400–2500 nm) using a scanning monochromator FOSS NIRSystems6500 (FOSS NIRSystems, Silver Springs, MD, USA). Spectral data collection was made using Vision version 1.0 (FOSS NIRSystems, Silver Springs, MD, USA). Samples were centrifuged, and then temperature equilibrated at 33°C for two minutes in a rectangular cuvette with a 1 cm pathlength before being scanned.¹⁰

Data analysis and interpretation

Spectra were exported from Vision version 1.0 in NSAS format to The Unscrambler version 9.1 (CAMO ASA, Oslo, Norway) for chemometric analysis. Principal component analysis (PCA) was used to reduce the dimensionality of the data to a small number of components, to examine any possible grouping of samples according to the time course of the fermentation, and to identify any outliers.¹¹ Full internal cross-validation (leave-one-out) was used to validate the PCA models. The number of principal components (PCs) used in the PCA models was selected by the PRESS function (predicted residual error sum of squares) and no attempts were made to increase the number of PCs in order to avoid overfitting of the models.

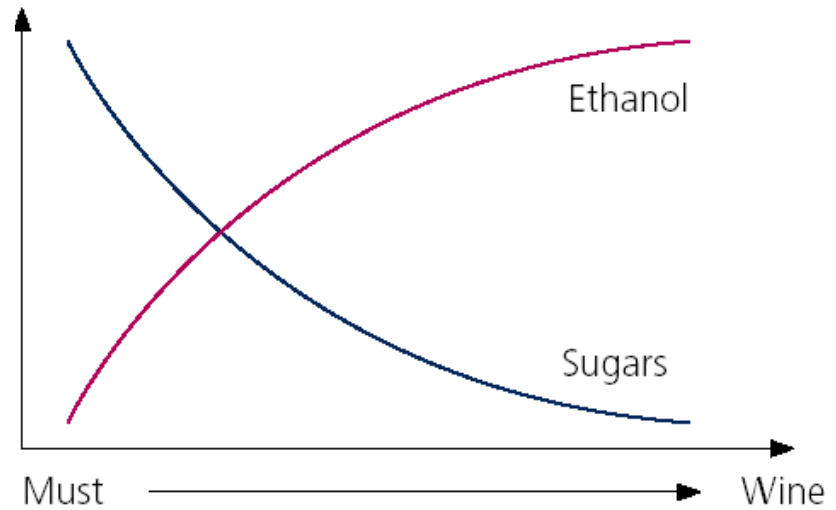
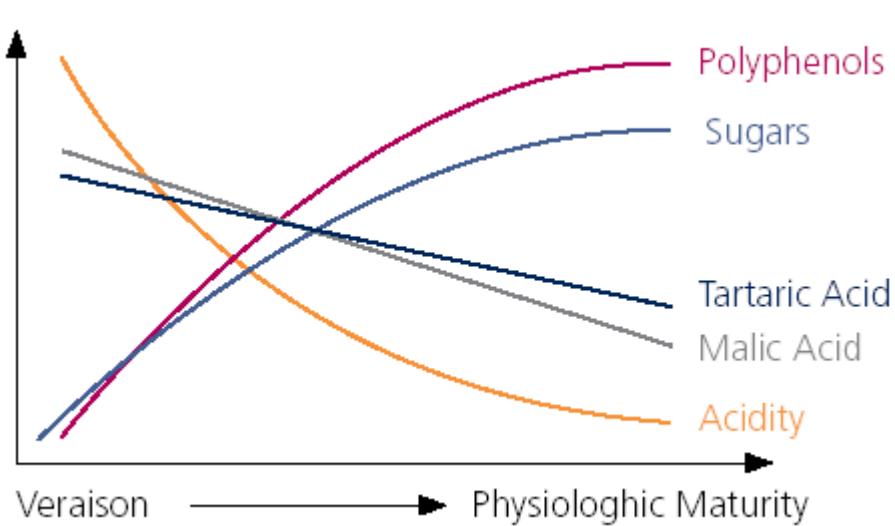
D. Cozzolino, W. Cynkar and N. Shah (2012) Near infrared monitoring of wine fermentation, in: Proceedings of the 15th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, Edited by M. Manley, C.M. McIvor, D.J. Thomas and G. Downey, Cape Town, South Africa, pp. 187-189.

Borban az igazság... ... fiziológiai és fermentációs folyamatok



Szőlőszem, mint bioreaktor? (PhD)

A hordóról már inkább elhisszük...



Borban az igazság... ... léptéknövelés

... a rozsdamentes
tartályokról
nem is
beszélve.

bor
=
gyógyszer



Borban az igazság... ... technológia, mintavétel, analitika



||: :||
bor
=
gyógyszer



PAT (Process Analytical Technology) = a folyamat közben tartása



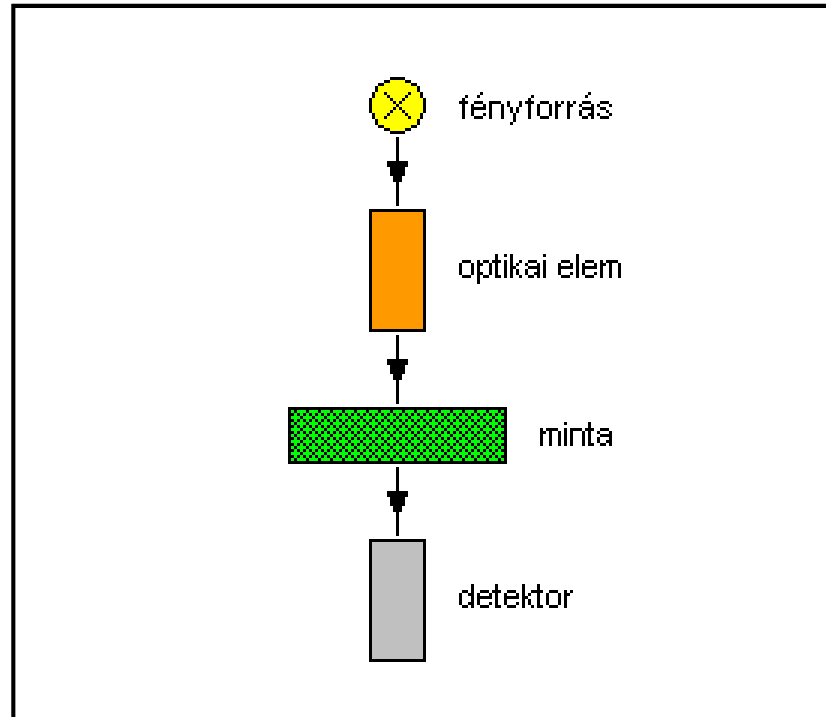
A PAT eszközei:

- hagyományos in-line érzékelők
(pH, pO₂, pCO₂, T szondák)
- a folyamat monitorozó eszközeinek kibővítése egyéb real-time technikákkal
(**in-/on-line NIR/Raman/IR**, in-/on-line HPLC, stb.)
- Korszerű és gyors at-line mérések
- Korszerű adatgyűjtő rendszer (SCADA)
- Kemometriai (**MVA**) szoftverek (PCA, PLS stb.)

Hogyan mérjük? – NIT és NIR

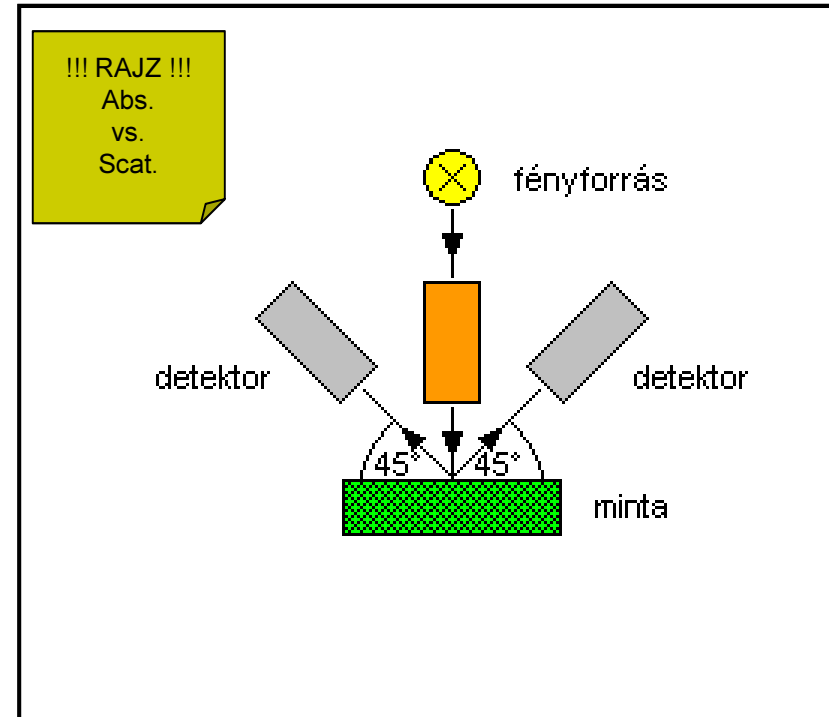


NIT



~ 800-1100 nm
kisebb hullámhossz
nagyobb energia

NIR *

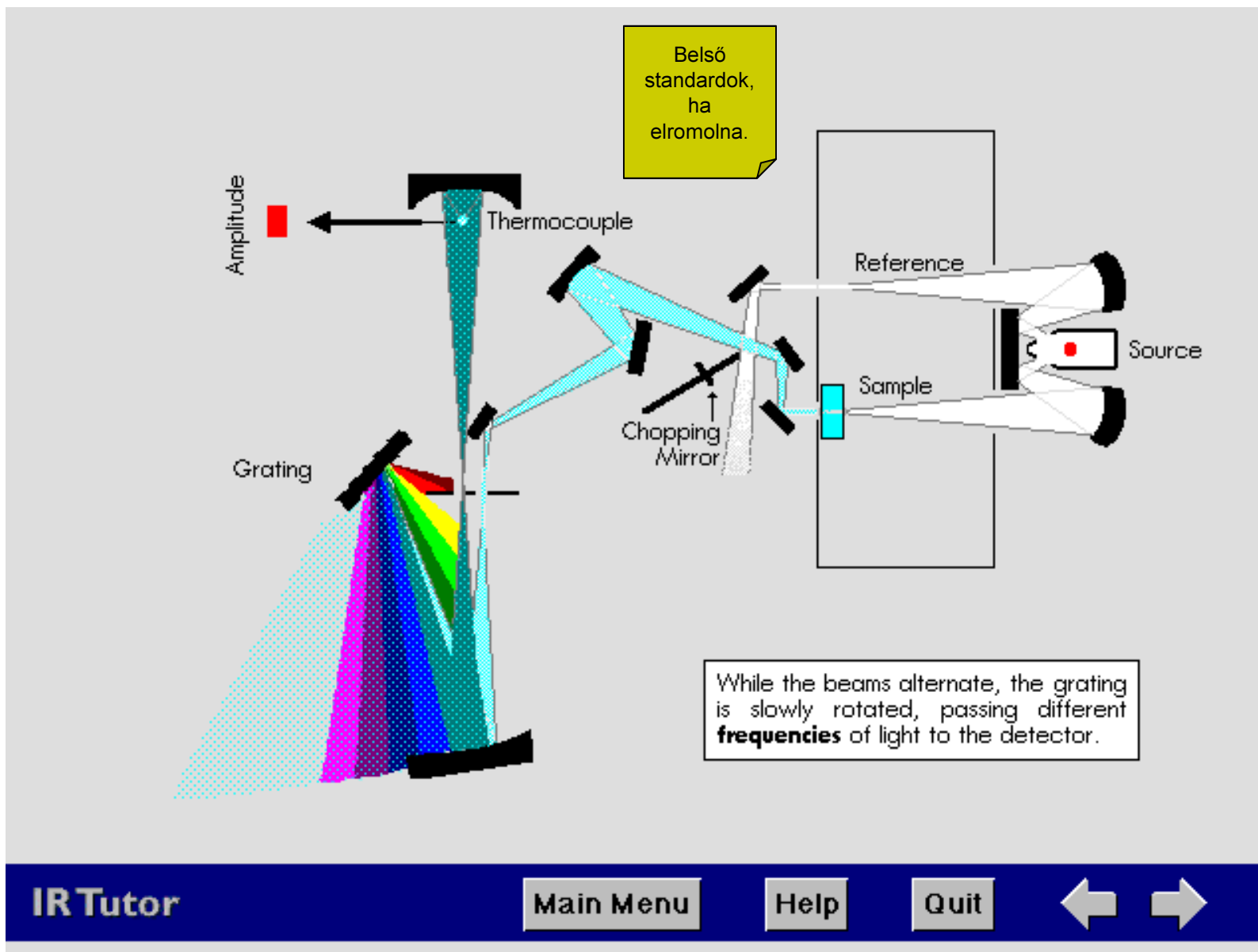


~ 1100-2500 nm
nagyobb hullámhossz
kisebb energia

(* ≠ ... UV, VIS, NIR, (M)IR, FIR, ...)



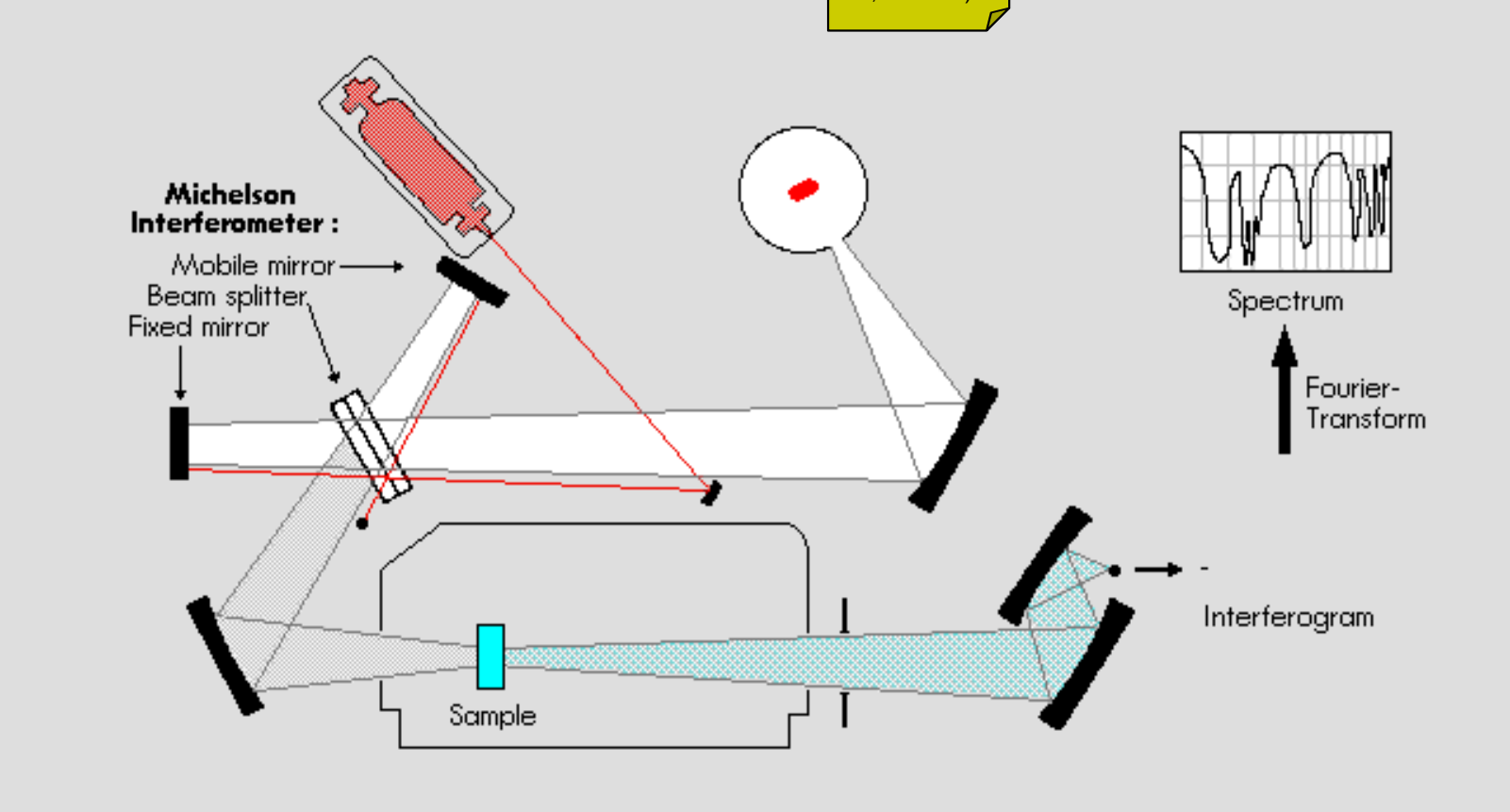
Hogyan mérjük? – diszperzió





Hogyan mérjük? – FT

ATR: pl. gyémánt (vizes old.-ok; sav/lúg; 5,7 t/mm²).



All of the frequencies reach the detector at once, rather than one at a time. The spectrum is obtained by a mathematical calculation (the **Fourier Transformation**) from the data.

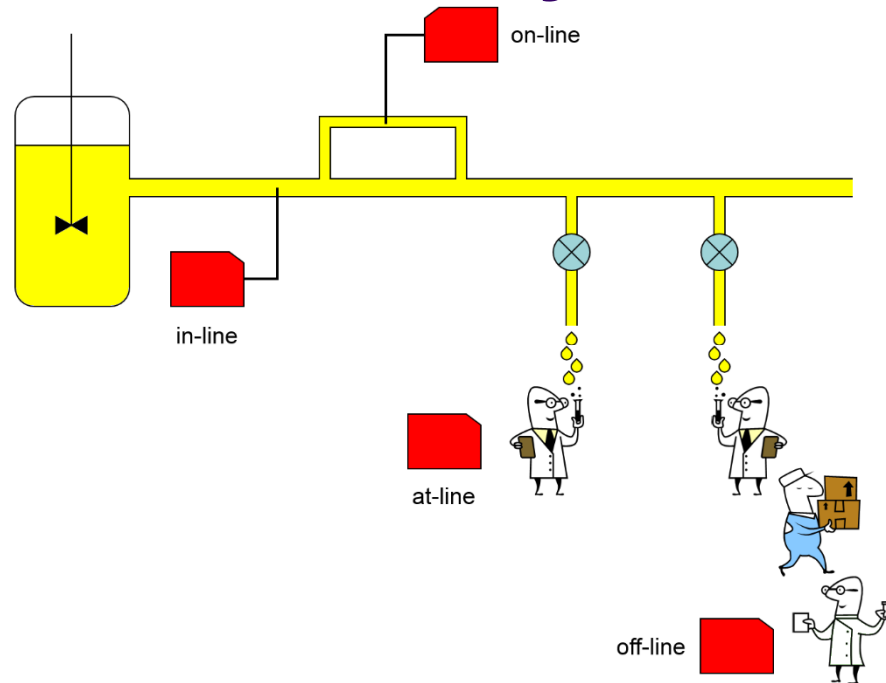
PAT (Process Analytical Technology) = a folyamat közben tartása



A PAT eszközei:

- hagyományos in-line érzékelők
(pH, pO₂, pCO₂, T szondák)
- a folyamat monitorozó eszközeinek kibővítése egyéb real-time technikákkal
(in-/on-line NIR/Raman/IR, in-/on-line HPLC, stb.)
- Korszerű és gyors at-line mérések
- Korszerű adatgyűjtő rendszer (SCADA)
- Kemometriai (MVA) szoftverek (PCA, PLS stb.)

...-line, ...-line, de melyik? I.



Guidance for Industry PAT — A Framework for Innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing, and Quality Assurance

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Veterinary Medicine (CVM)
Office of Regulatory Affairs (ORA)
Pharmaceutical CGMPs
September 2004

„[...] These measurements can be:

at-line:

Measurement where the sample is removed, isolated from, and analyzed in close proximity to the process stream.

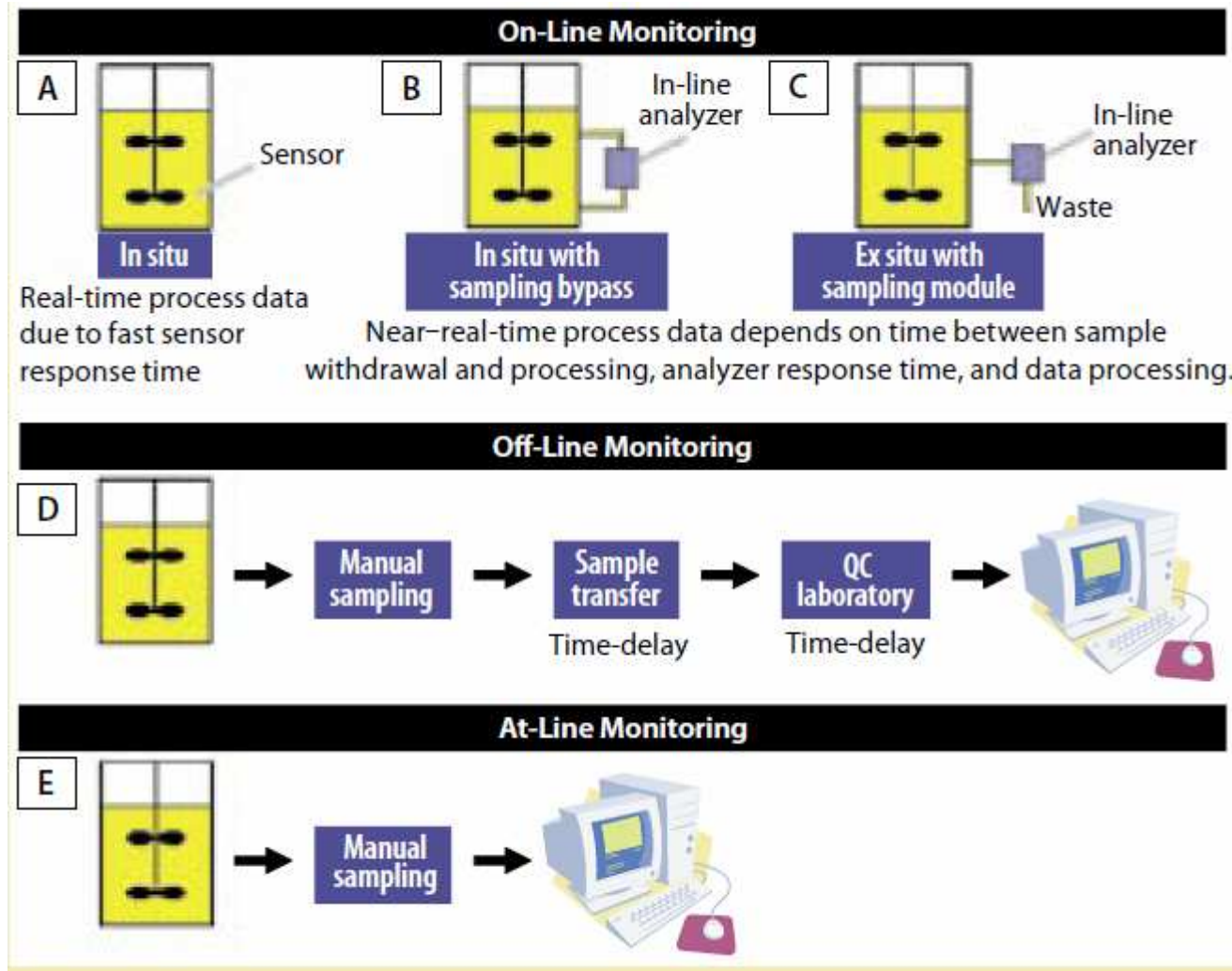
on-line:

Measurement where the sample is diverted from the manufacturing process, and may be returned to the process stream.

in-line:

Measurement where the sample is not removed from the process stream, and can be invasive or noninvasive [...]

...-line, ...-line, de melyik? II.



Az in-/on-line eszköze – a száloptika I.



Igen,
törhetnek.
:(



Az in-/on-line eszköze – a száloptika II.



Az in-/on-line eszköze – a száloptika III.



Technológiába illeszthető (egyéb) eszközök I.

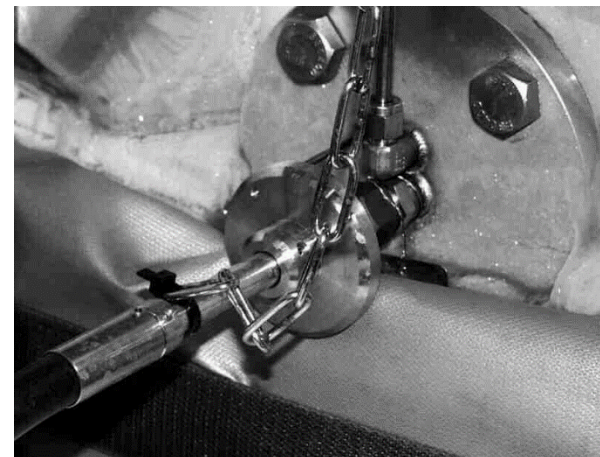
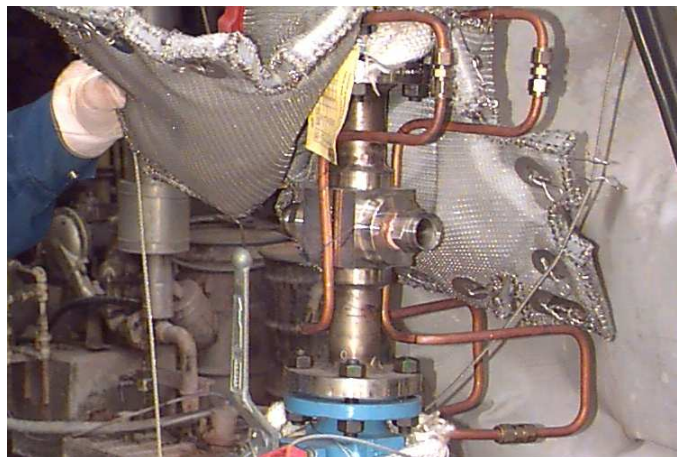


Valós idejű:
keverő
dobon (fix t
helyett adott
minőség).



Több-
csatornás
elrendezés.

Technológiába illeszthető (egyéb) eszközök II.



Mobil, hordozható (handheld) eszközök

Pl. Los Angeles-i rendőrség, futószőnyeg szeméttelép.



NIR



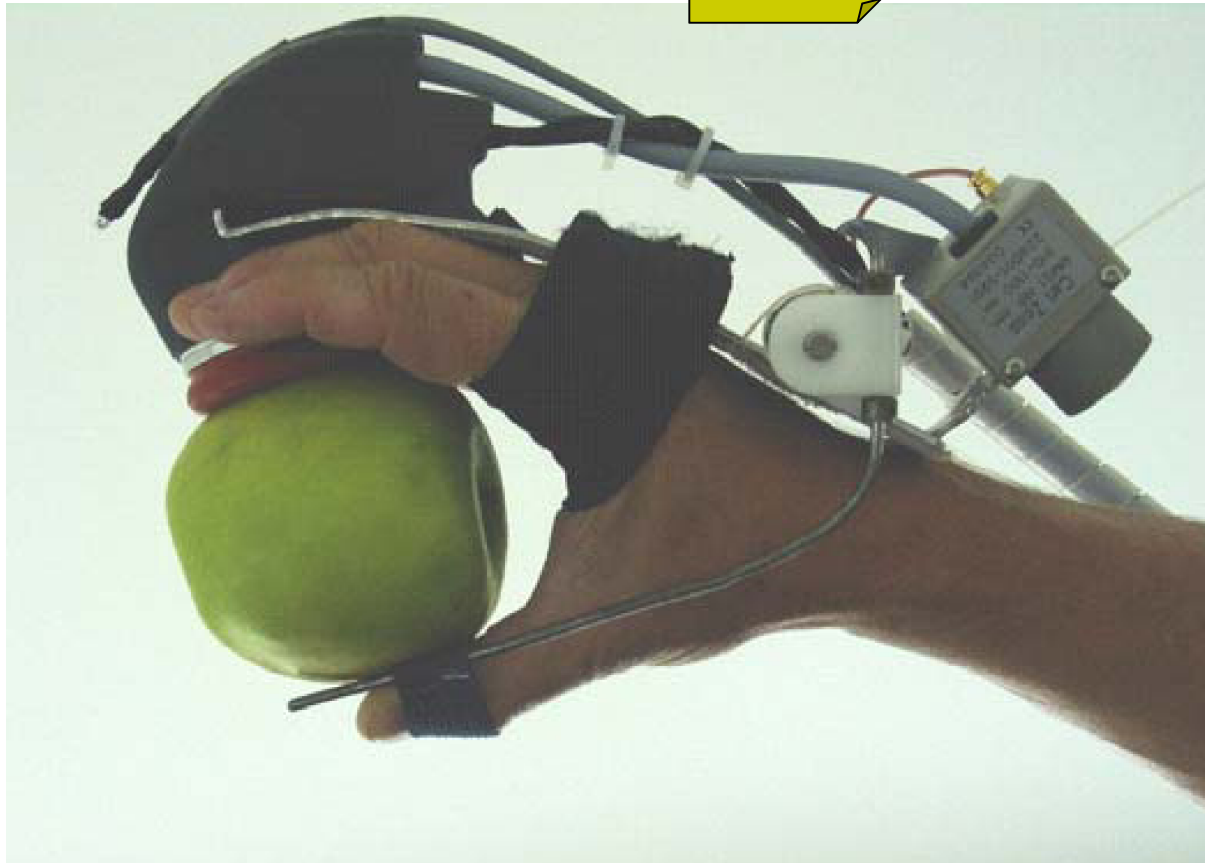
FT-IR



Raman

Ha egyedül nem megy

Áram drót nélkül...





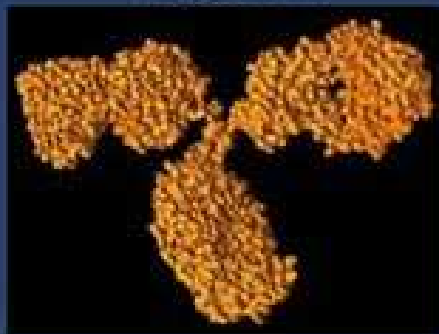



**A „NIR kesztyű” összetevői:
NIR – oldható cukrok • hangimpulzus – keménység,
Vis – érettség (klorofil) • potenciométer – méret**

Lee K.A.:
Review of applications of near infrared spectroscopy to food analysis.
The NIR Spectrum 2(2), 11–16 (2004)



Klasszikus API vs. biomolekulák

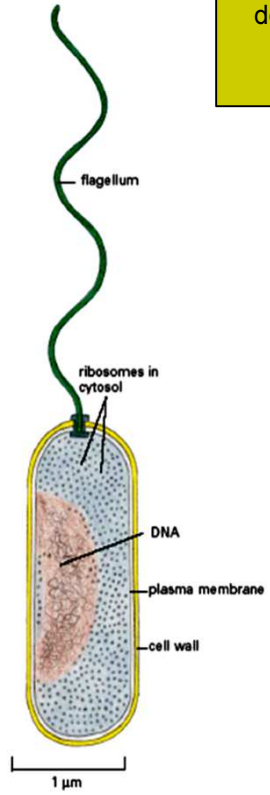


Size & Complexity – Small Molecule Drugs & Proteins			
	Small Molecule Drug	Large Molecule Drug	Large Biologic
Size	<p>Aspirin 21 atoms</p> 	<p>hGH ~ 3000 atoms</p> 	<p>IgG Antibody ~ 25,000 atoms</p> 
Complexity	<p>Bike ~ 20 lbs</p> 	<p>Car ~ 3000 lbs</p> 	<p>Business Jet ~ 30,000 lbs (without fuel)</p> 

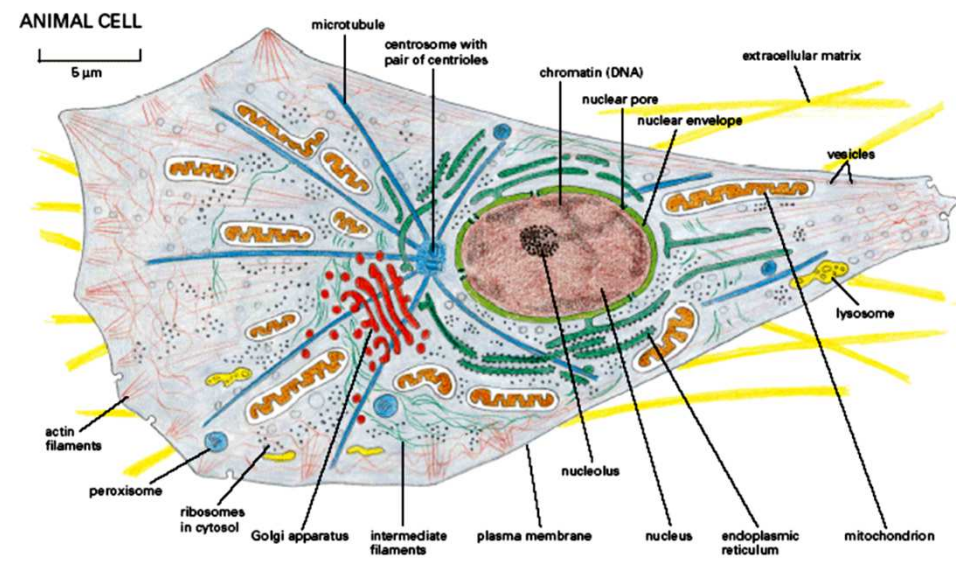
Kikkel termeltetünk?



Tabletta 1-2
paraméter,
de *E. coli*,
CHO ?

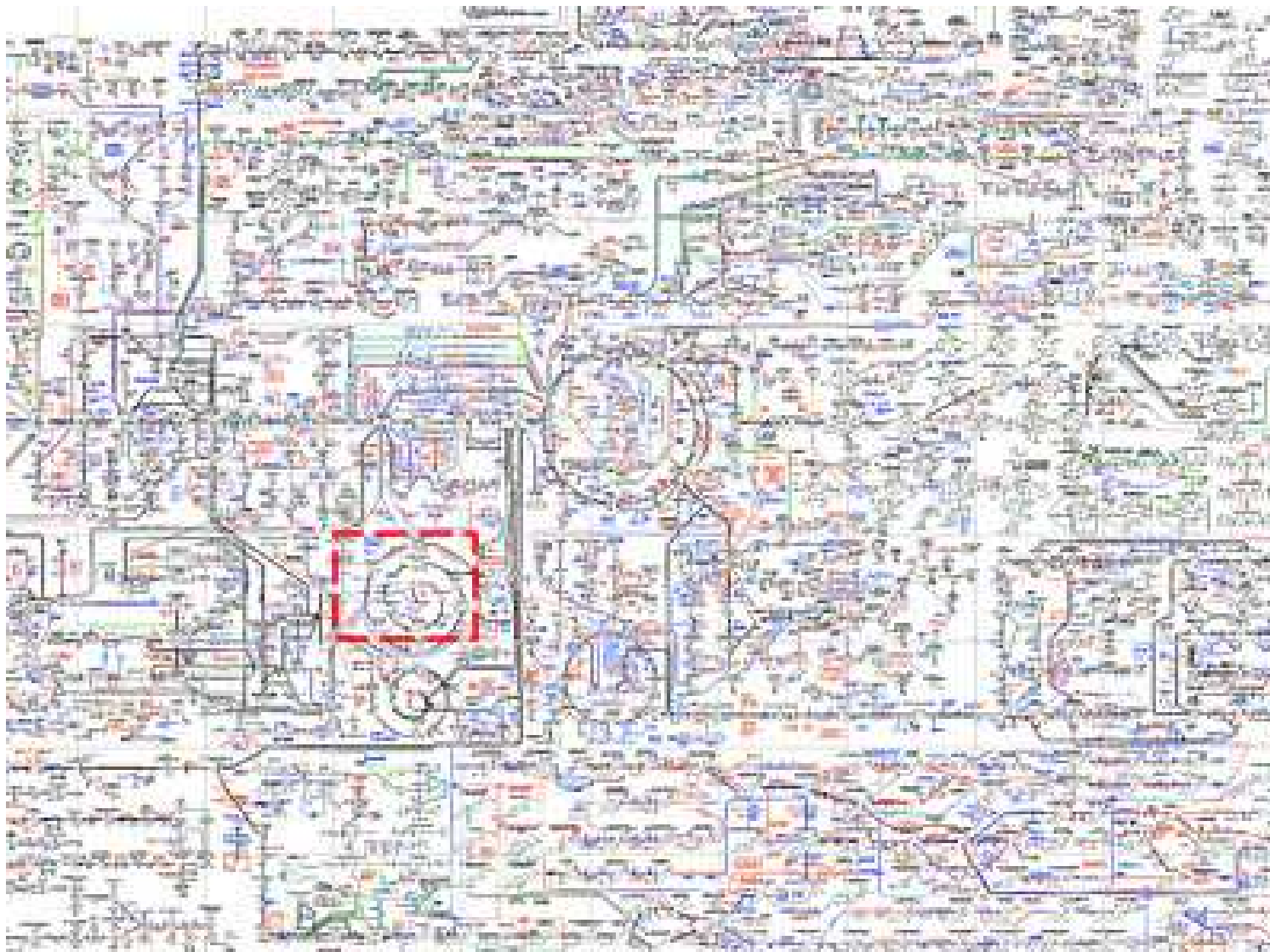


E. coli

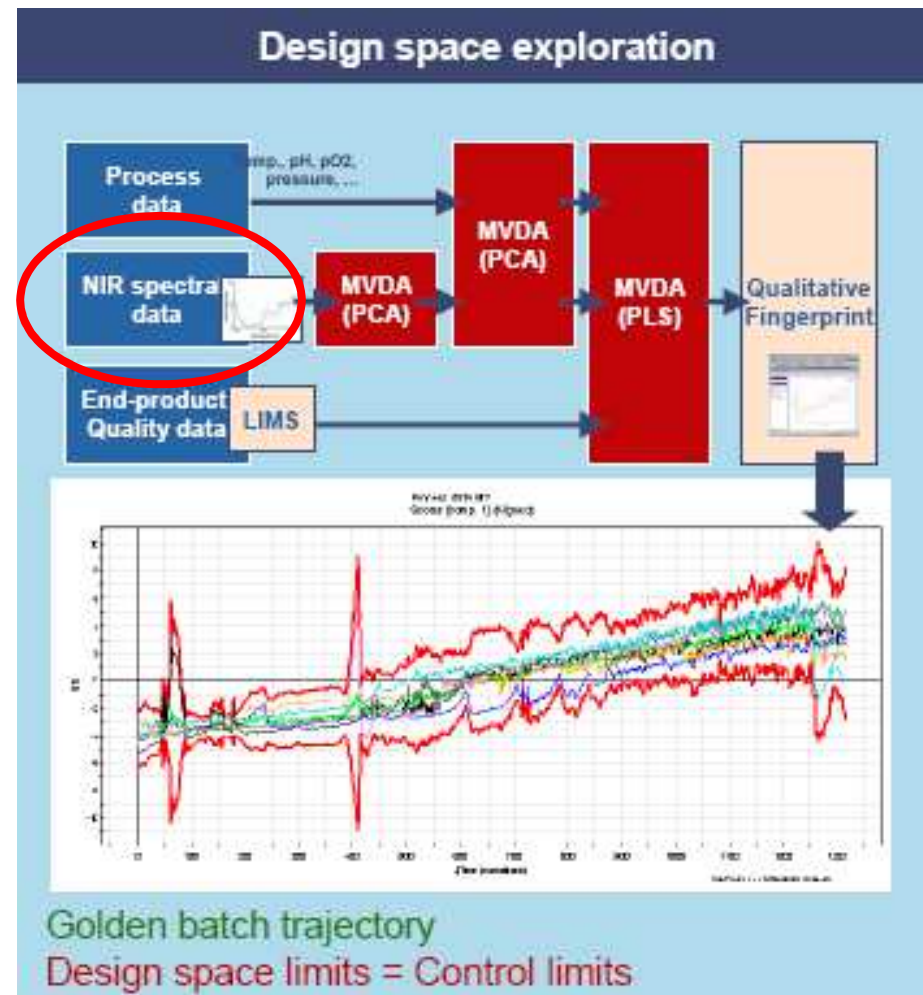


emlőssejtek

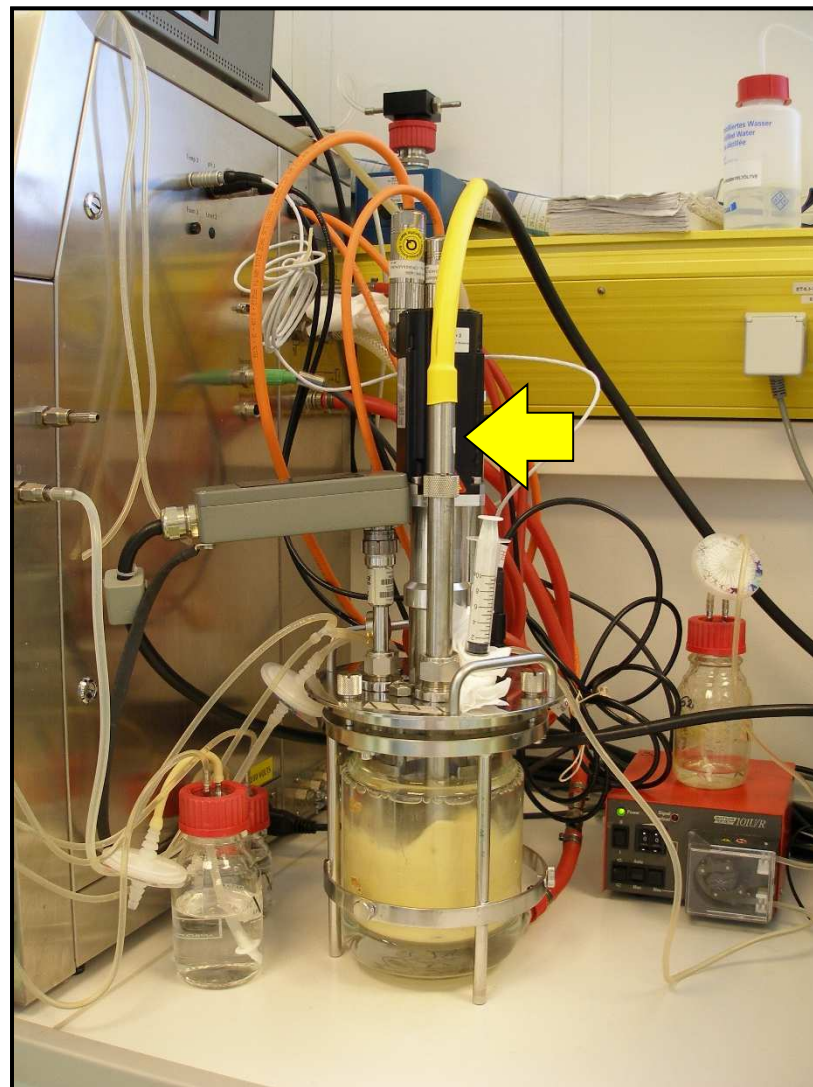
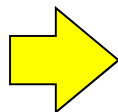
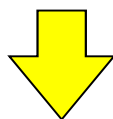
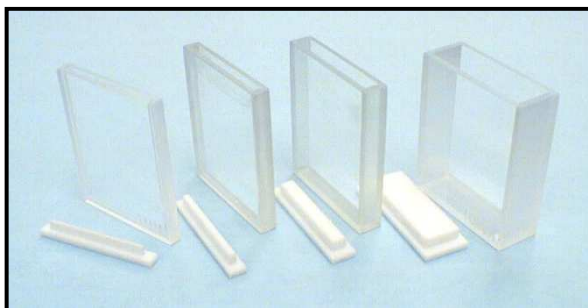
Na akkor, modellezzünk...



A végső cél



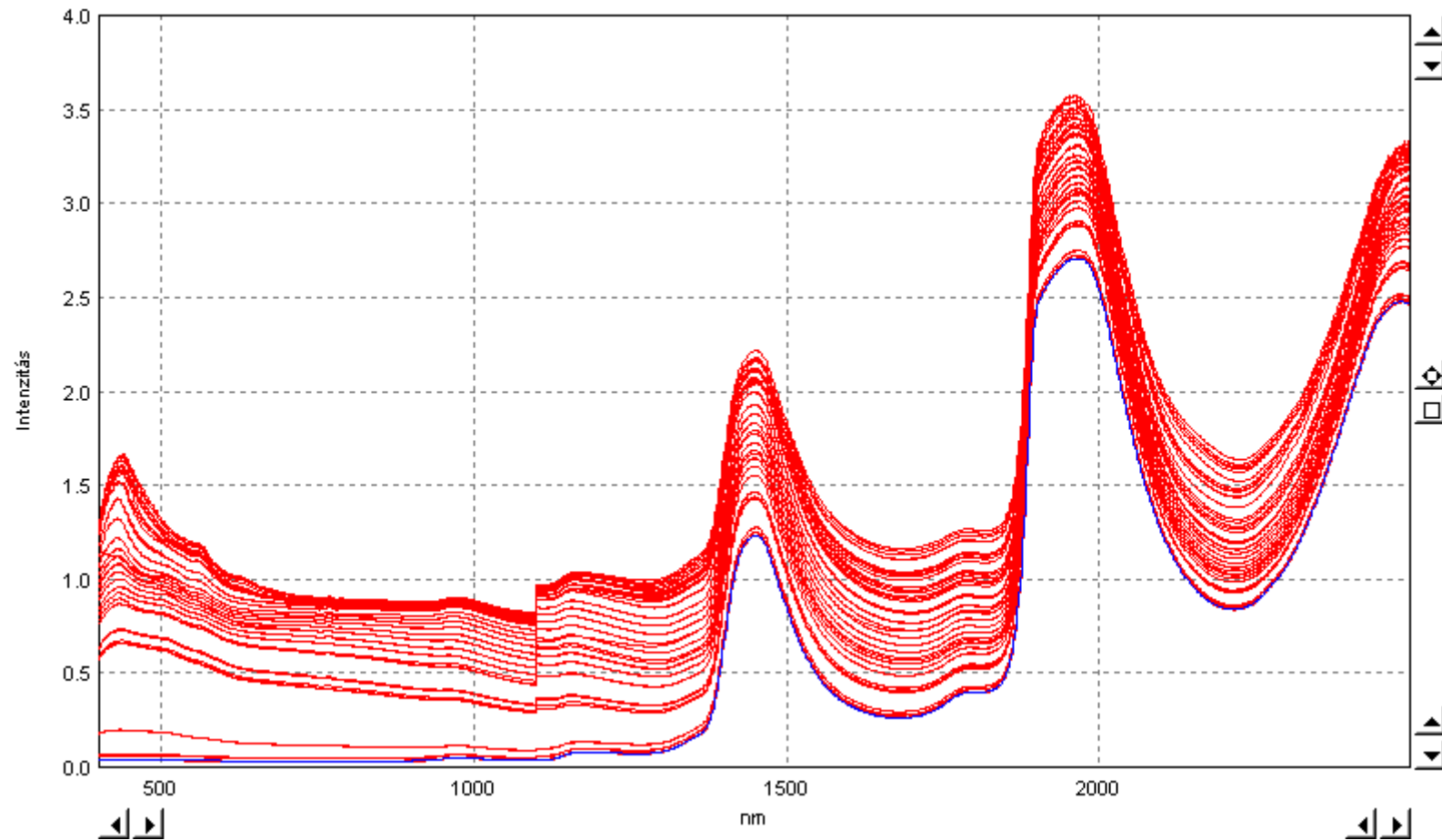
Off-line-tól a real-time-ig



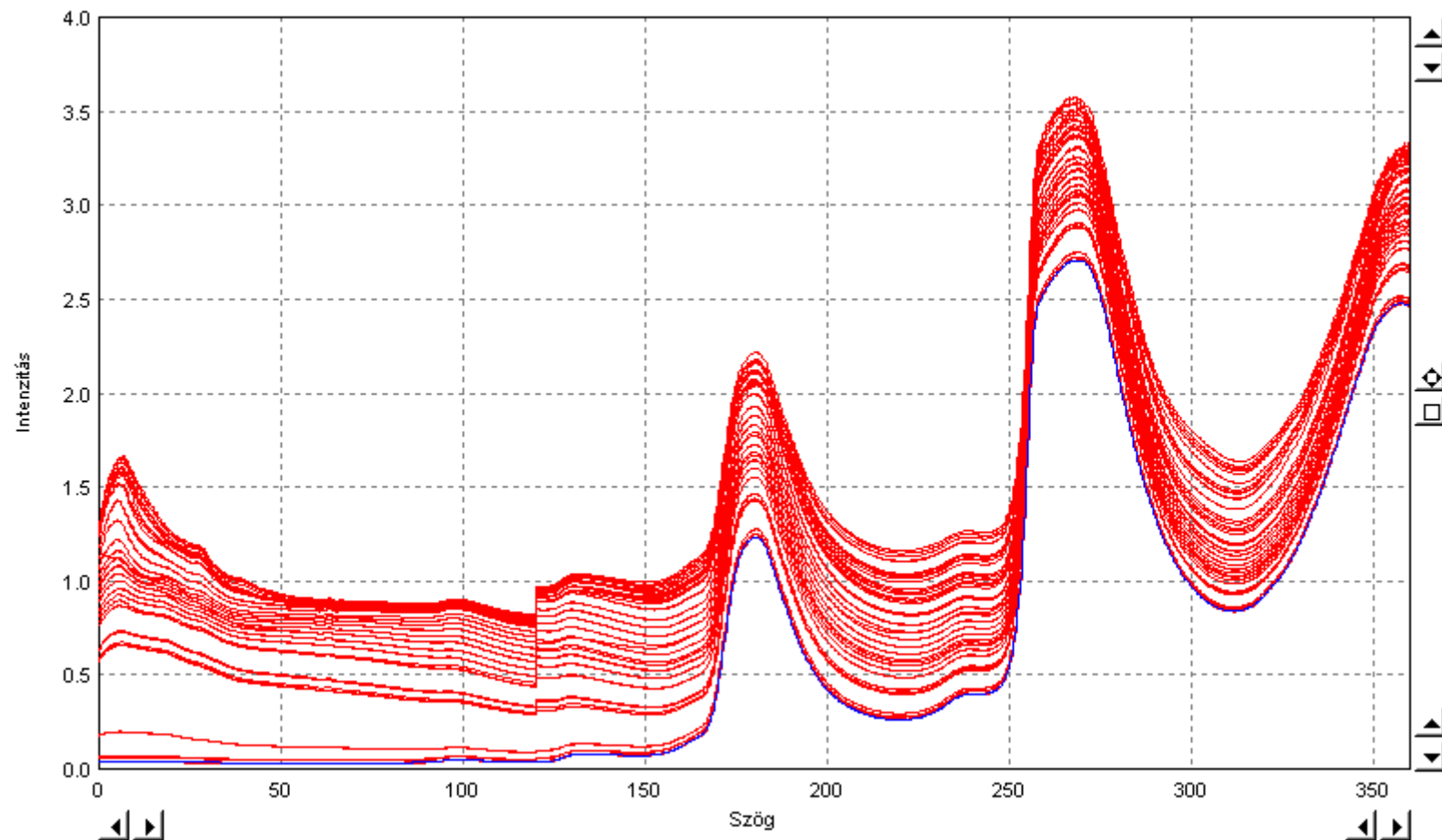
Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



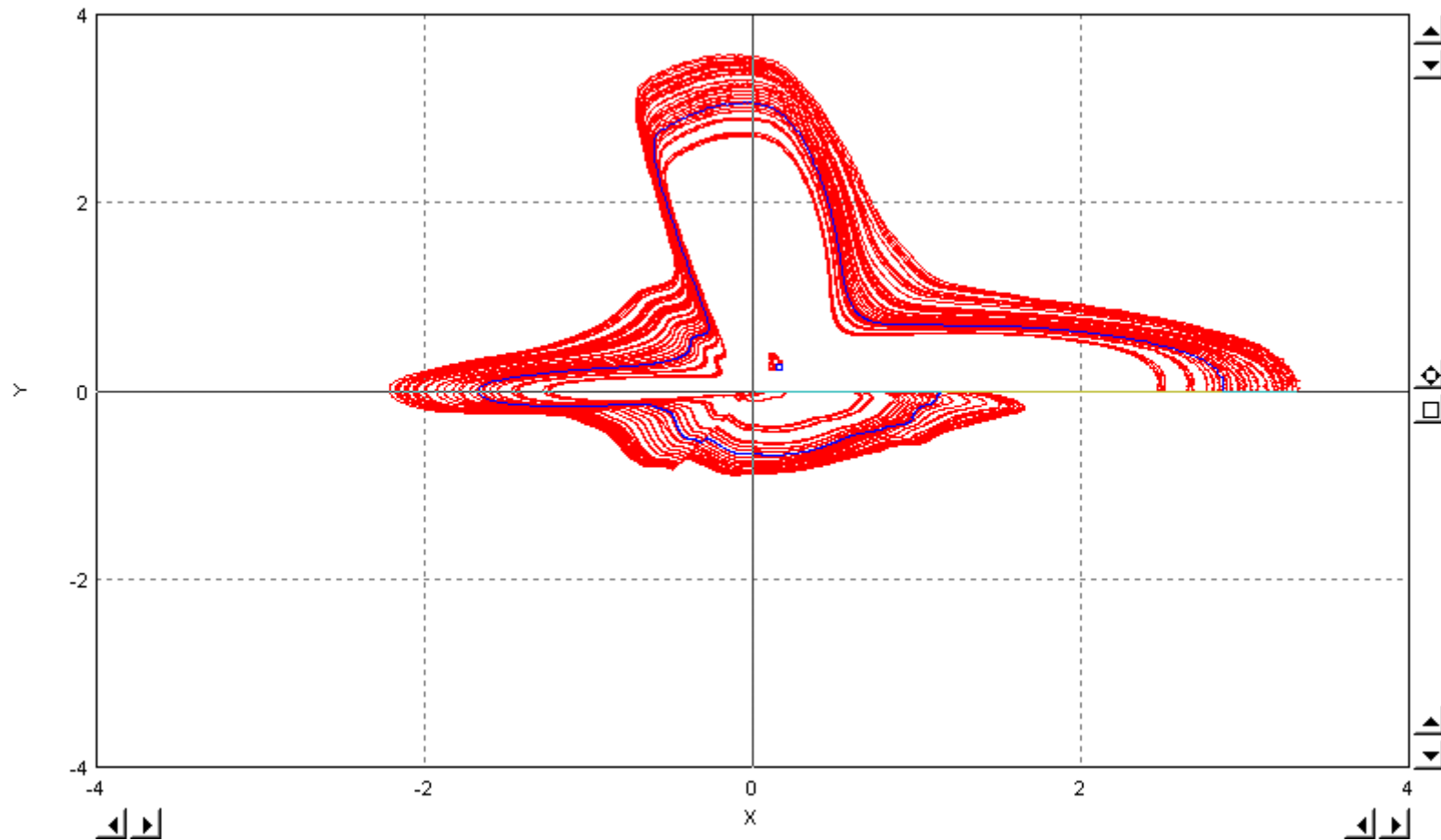
Ha megvan még a puttonyszám ...



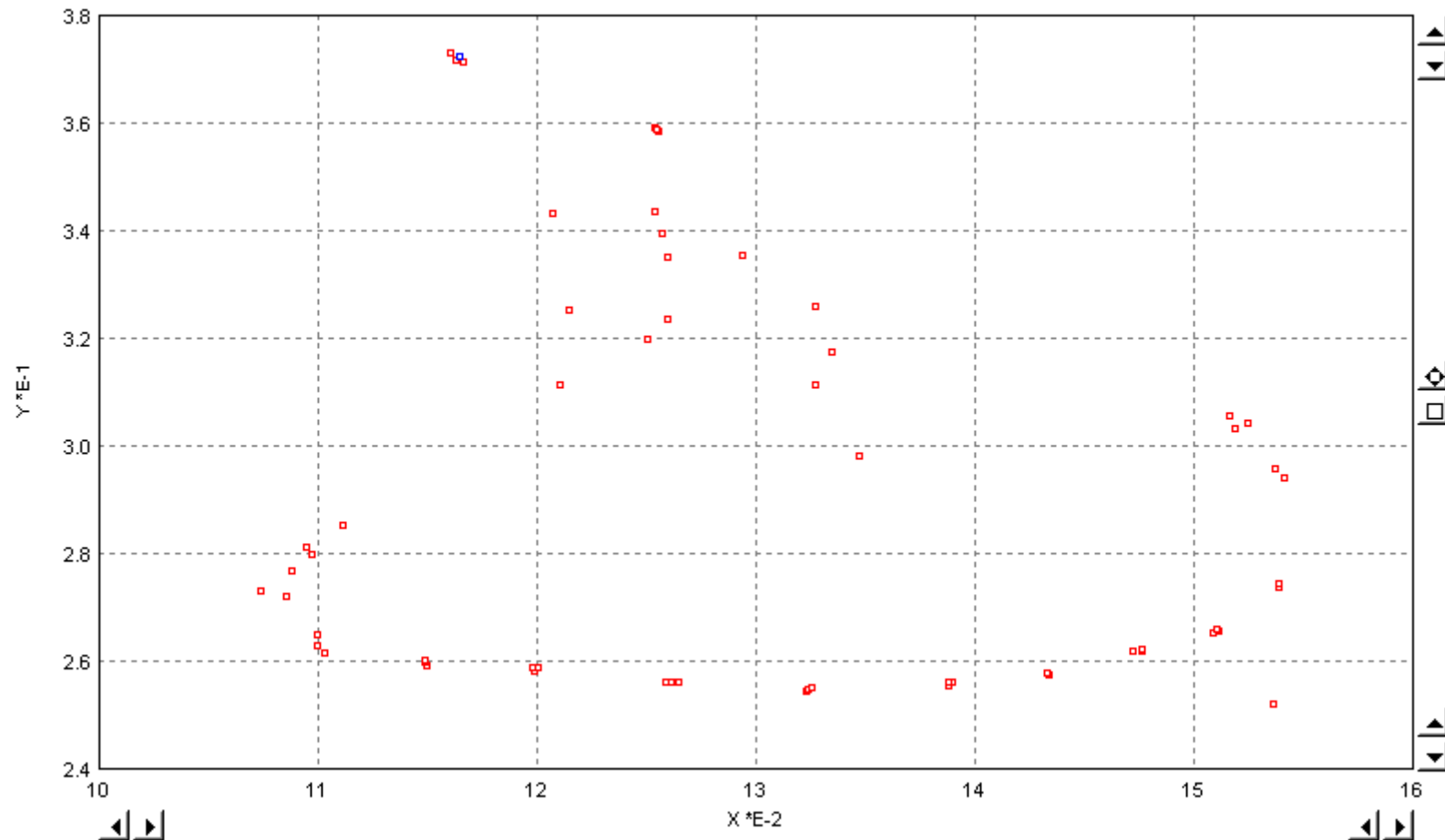
Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



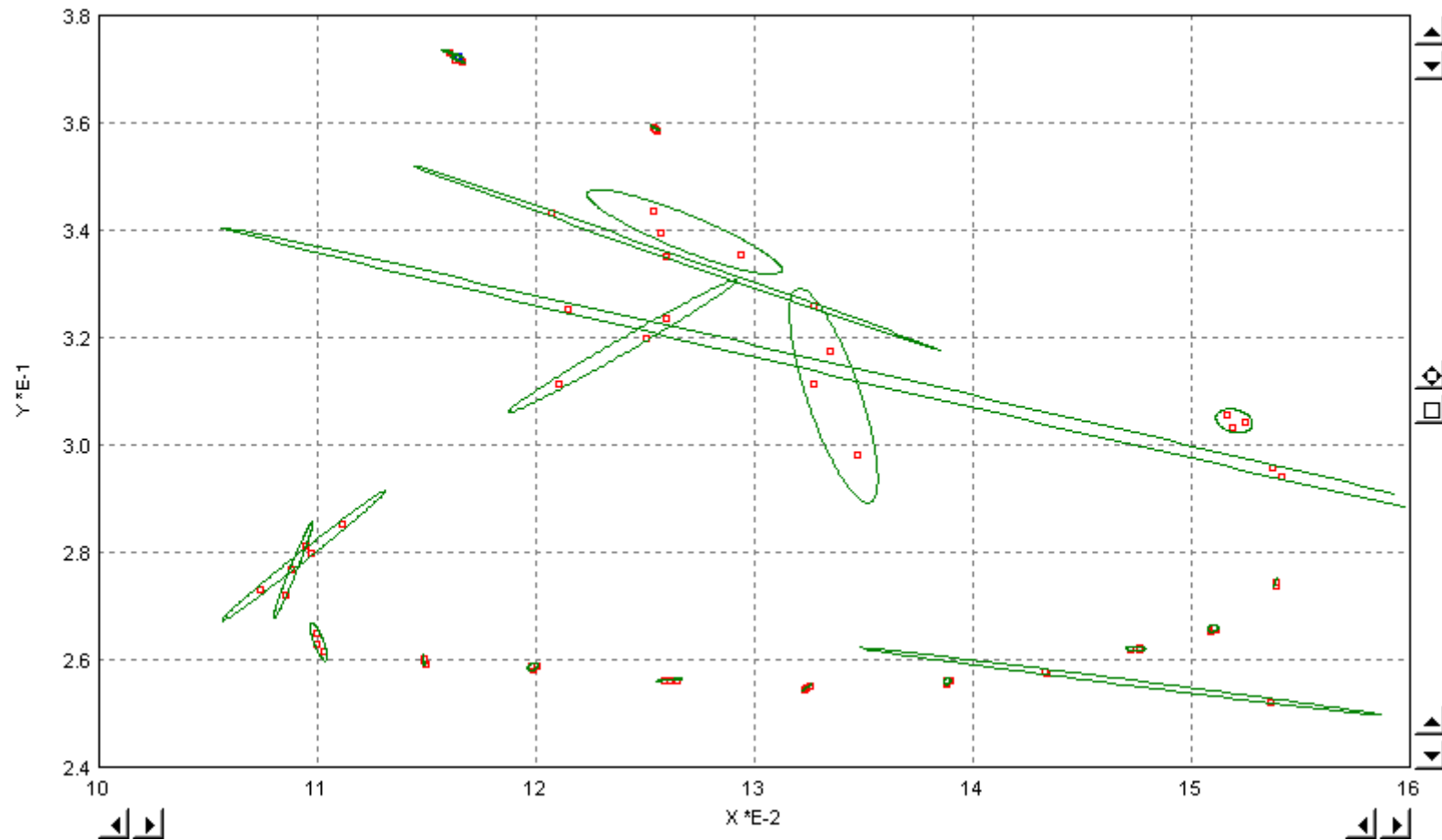
Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



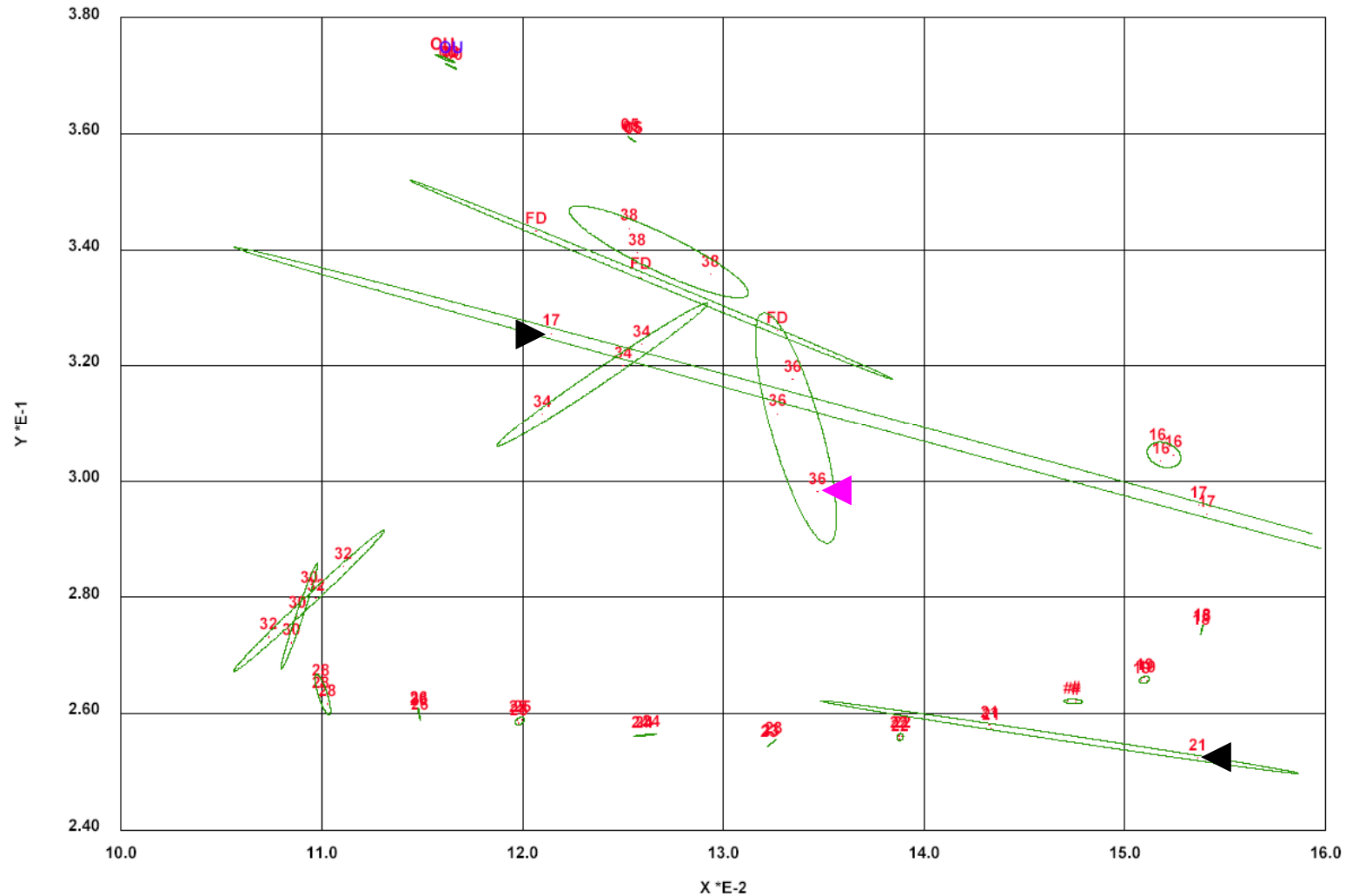
Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



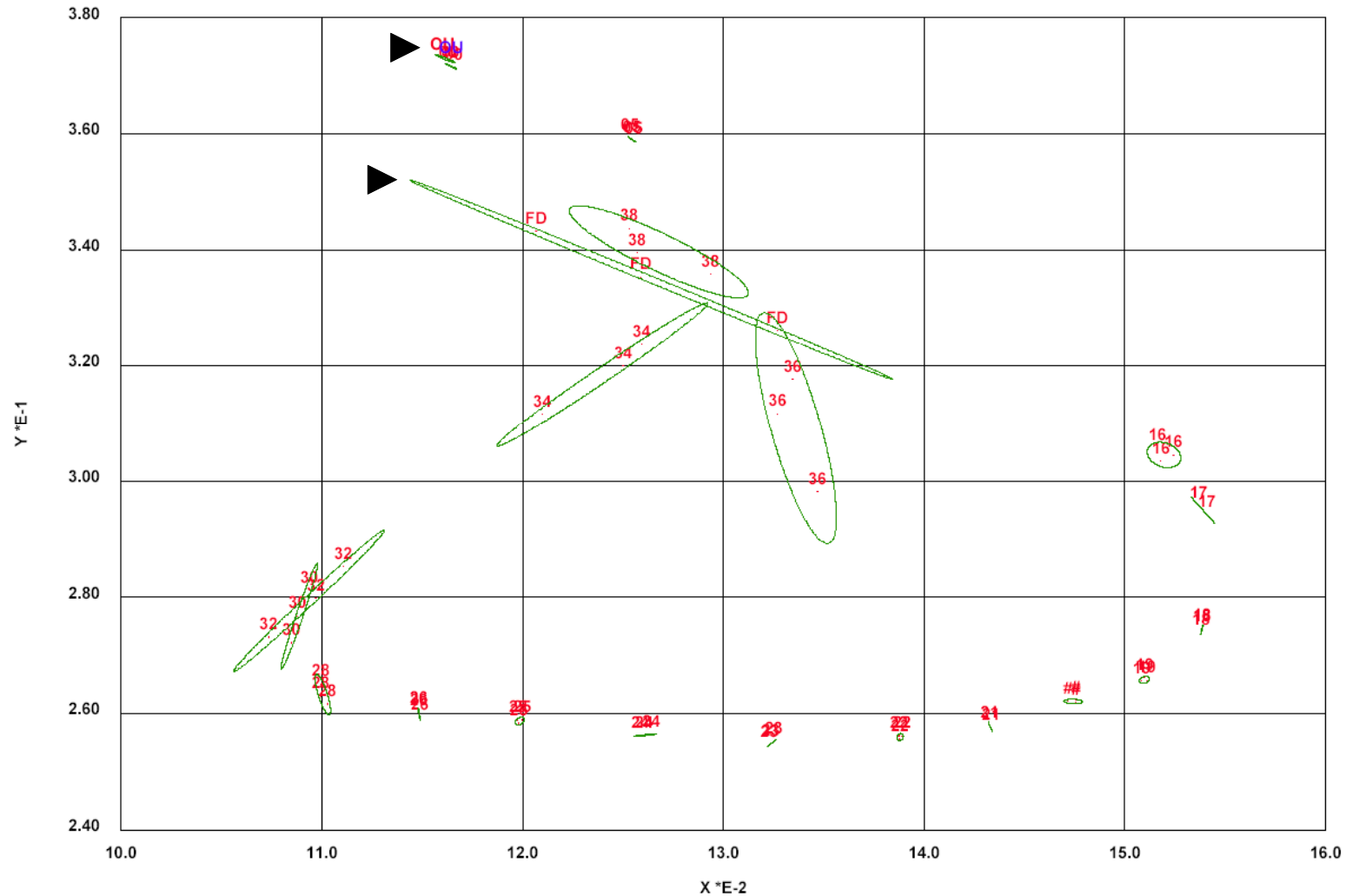
PQS32 Kiértékelő Program, Verzió: 1.37 (Prof. SALGO, BME) - [01_OU_a.txt] Spektrumok (01_OU_a.txt)



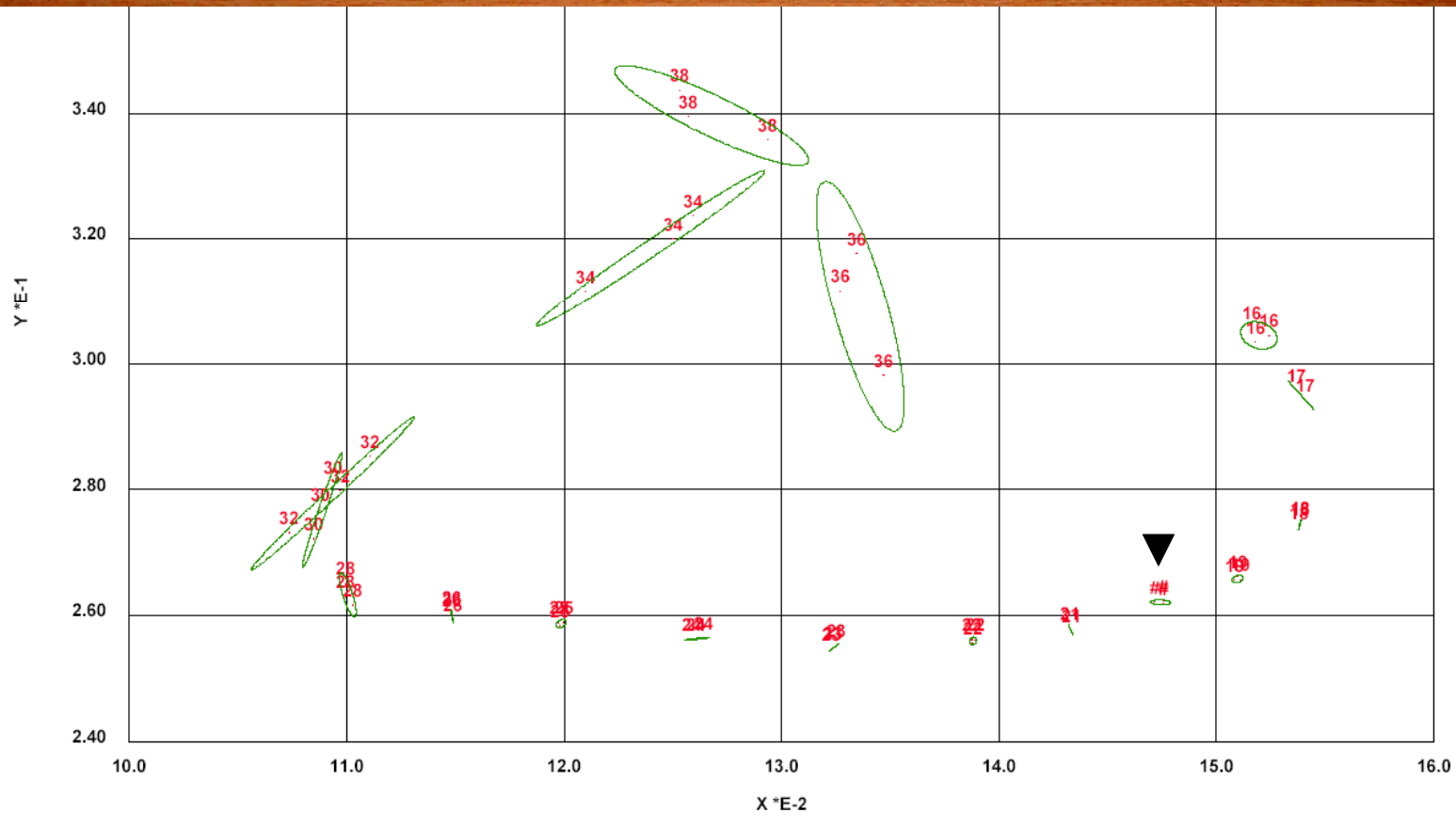
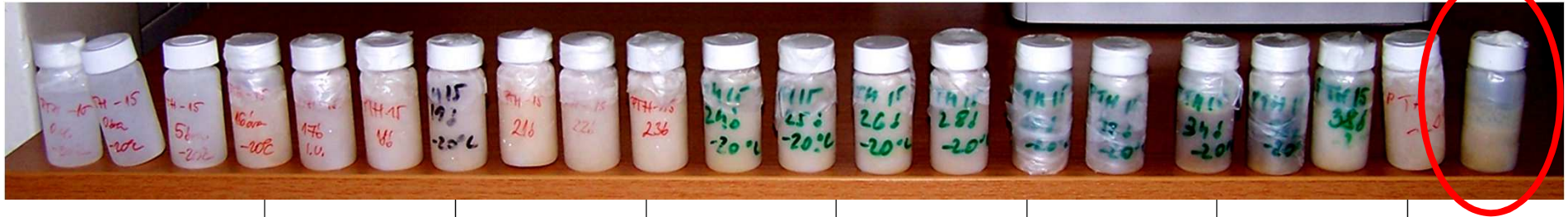
Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



PQS32 Kiértékelő Program, Verzió: 1.37 (Prof. SALGO, BME) - [01_OU_a.txt] Spektrumok (01_OU_a.txt)



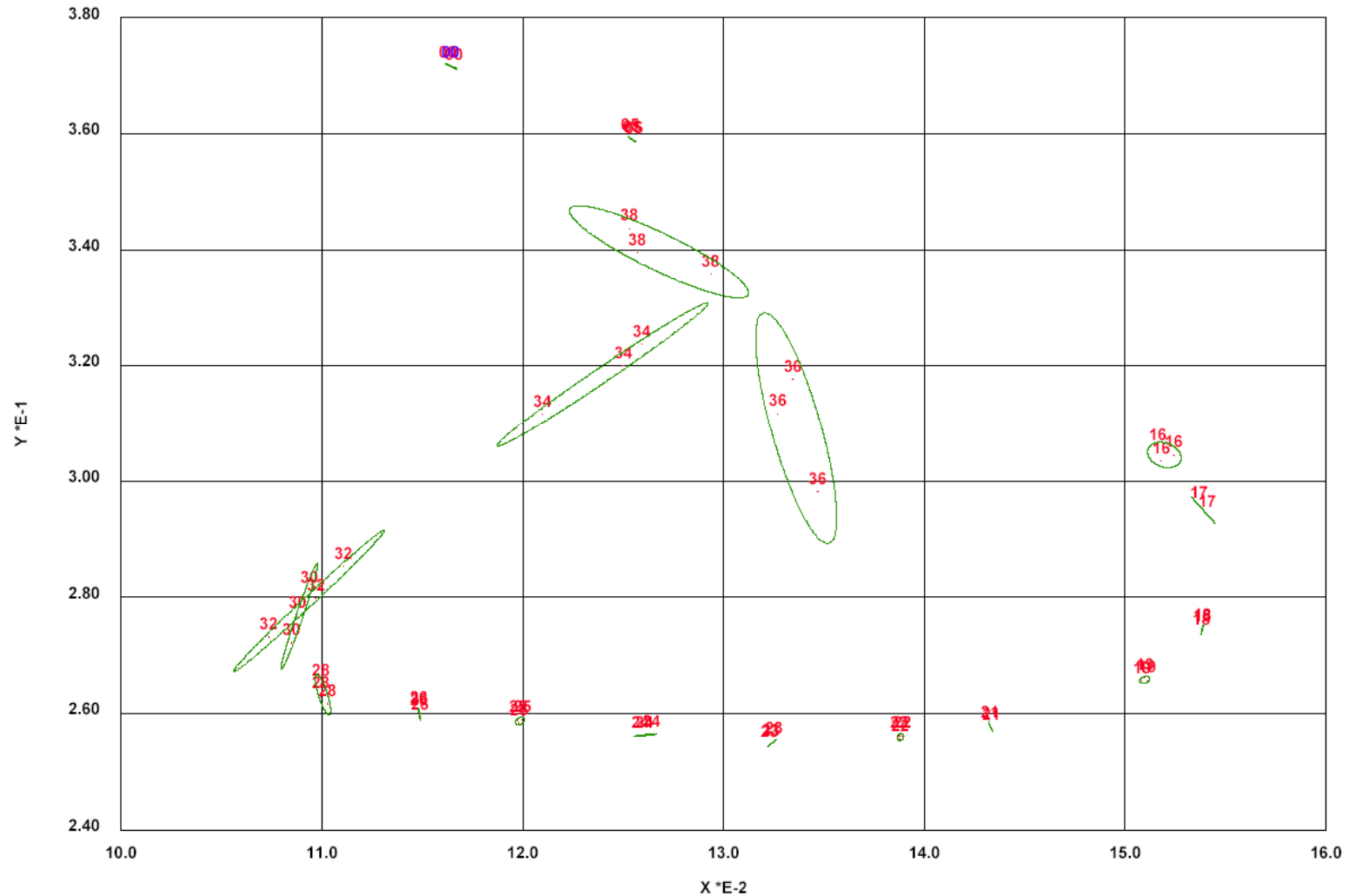
Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



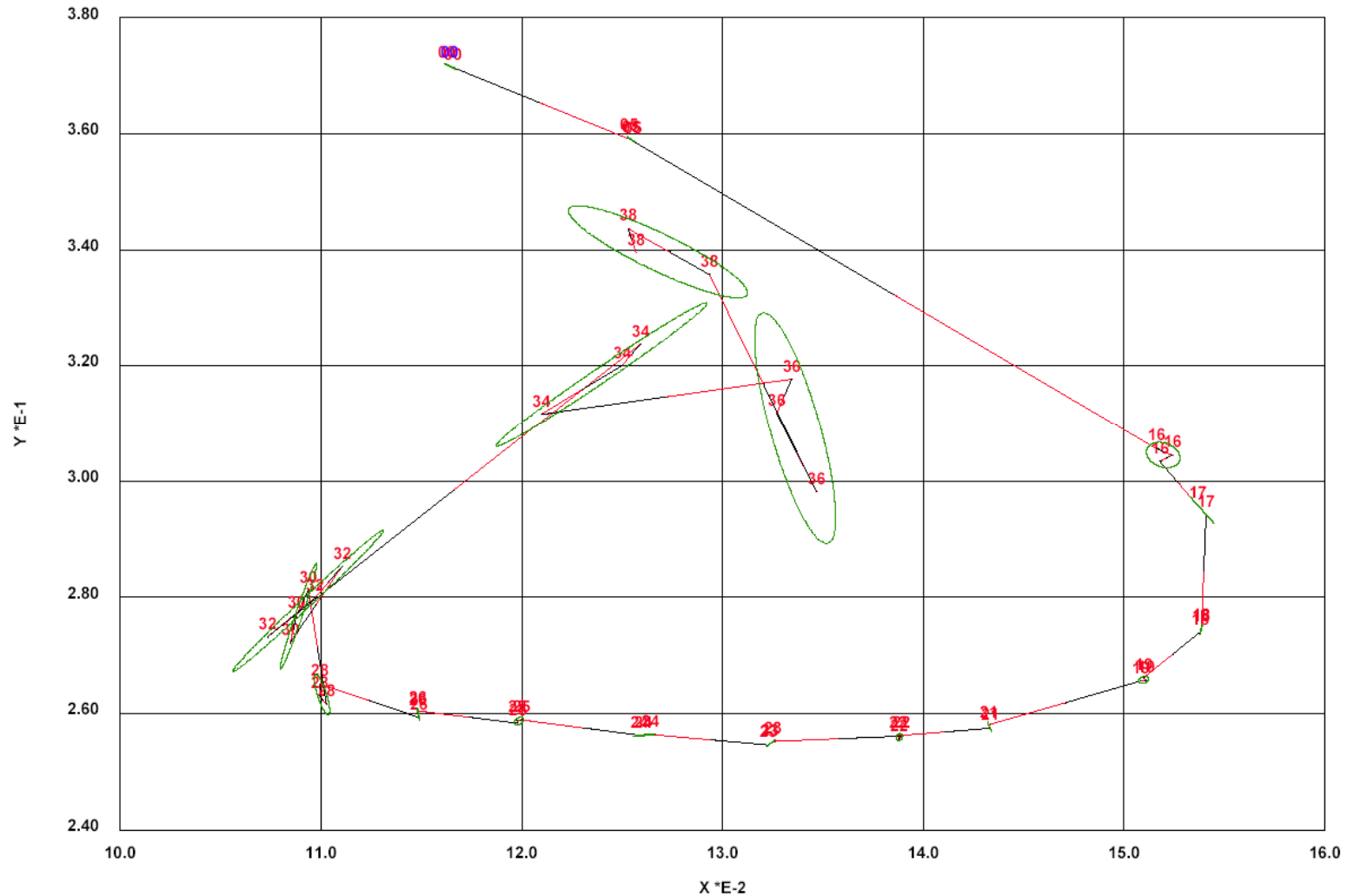
PQS32 Kiértékelő Program, Verzió: 1.37 (Prof. SALGO, BME) - [02_00_a.txt] Spektrumok (02_00_a.txt)



Fermentáció (*E. coli*) off-line nyomon követése: PQS módszer



PQS32 Kiértékelő Program, Verzió: 1.37 (Prof. SALGO, BME) - [02_00_a.txt] Spektrumok (02_00_a.txt)



A változékonyság leírása: PCA

- Méret (PC1)



nagy (kapu)



átlagos (ajtó)



kicsi (asztal)

- Kulcs feje (PC2)



kerek



ovális



téglalap



sokszögű

- Szín (PC3)



oxidált



fém



kék

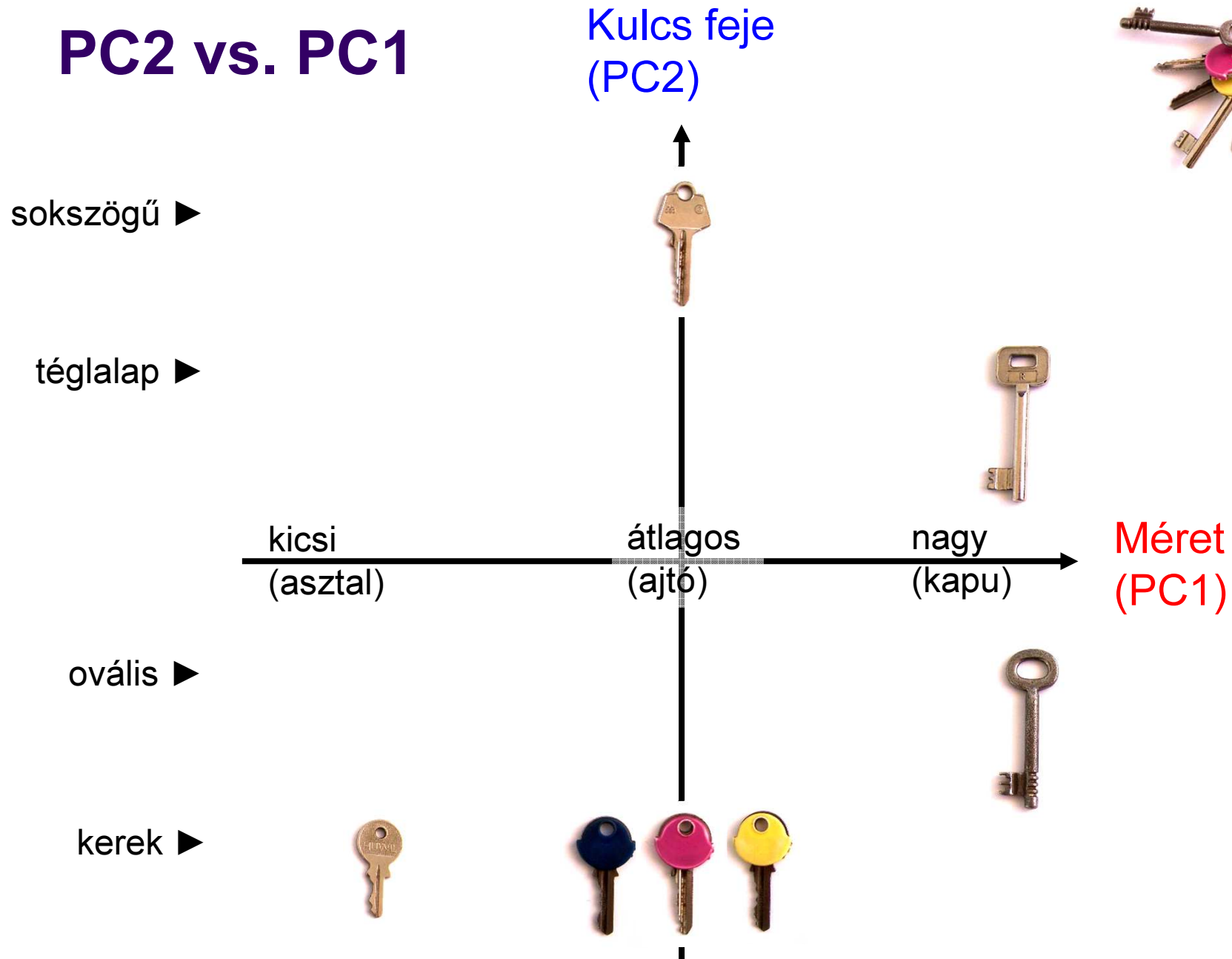


ciklámen



sárga

PC2 vs. PC1



PC2 vs. PC3

Kulcs feje
(PC2)



sokszögű ▶



téglalap ▶



oxidált

fém

kék

ciklámen

sárga

Szín
(PC3)

ovális ▶



kerek ▶

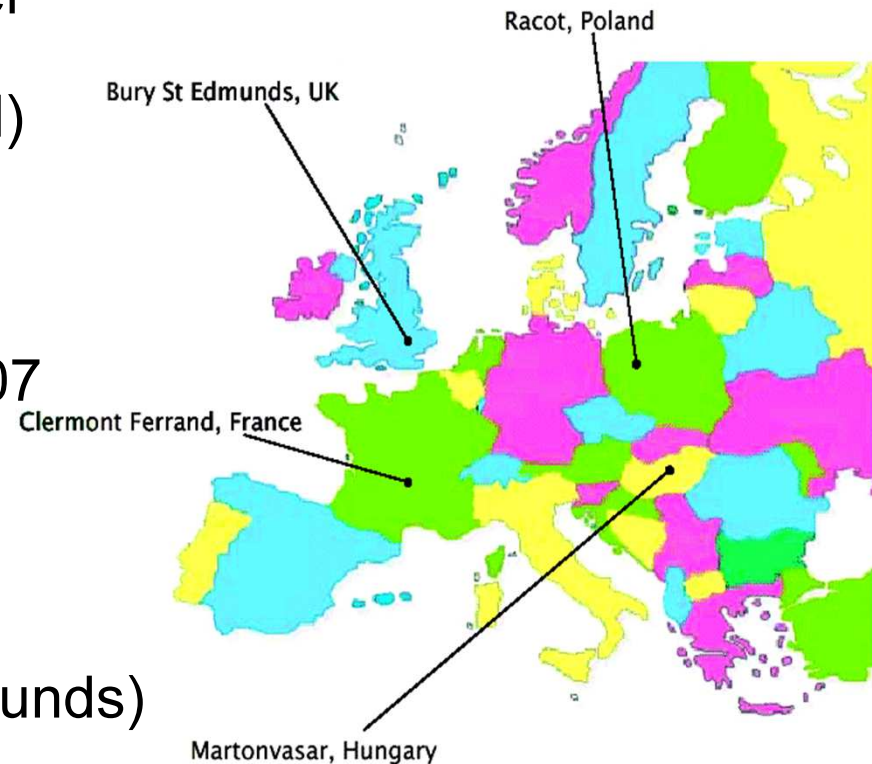


G×E hatás vs. PCA I.

Mert:
bio.



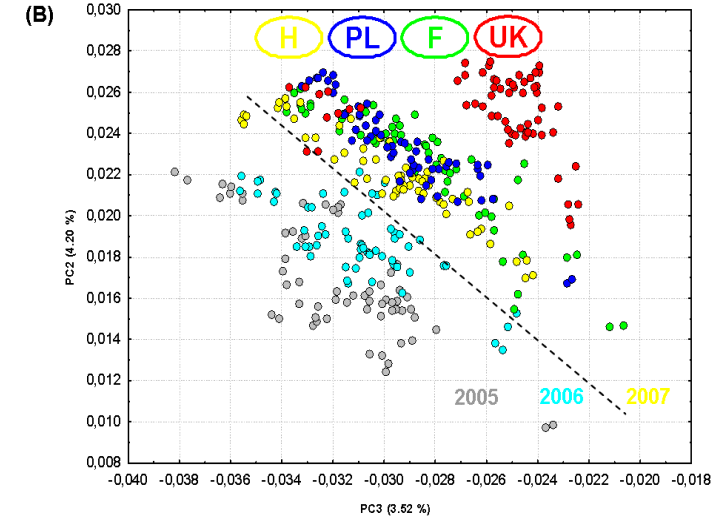
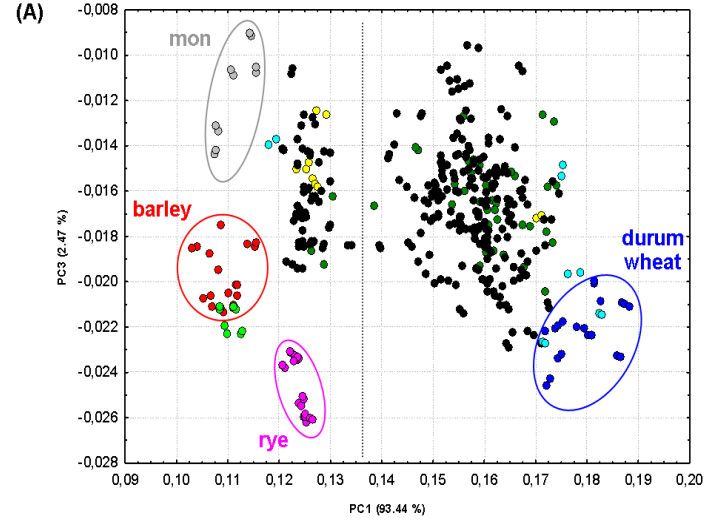
- Gabona minták termesztési helyei
- Franciaország (Clermont-Ferrand)
betakarítás éve: 2007
- Magyarország (Martonvásár)
betakarítás éve: 2005, 2006, 2007
- Lengyelország (Dankow/Choryn)
betakarítás éve: 2007
- Egyesült Királyság(Bury St. Edmunds)
betakarítás éve: 2007



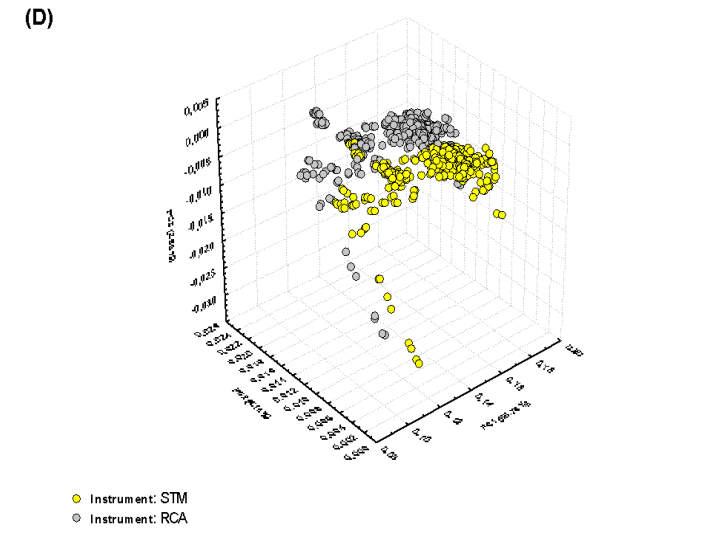
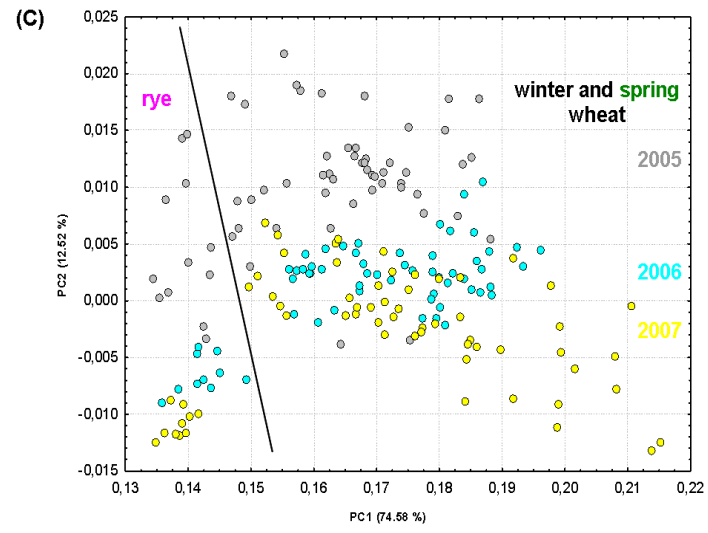
G×E hatás vs. PCA II.



fajta



évjárat



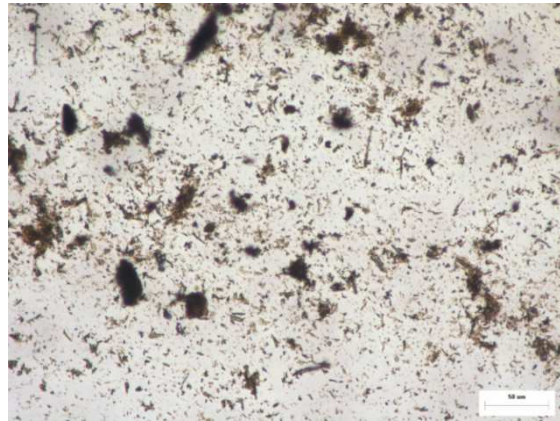
G×E

készülék

Polimorf transzformációs vizsgálat: fénymikroszkópos felvételek



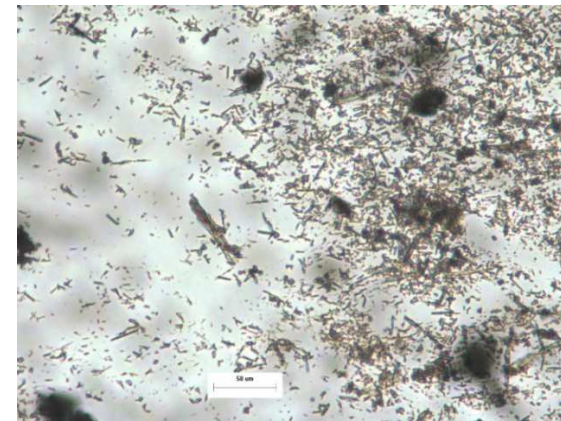
Forma 1



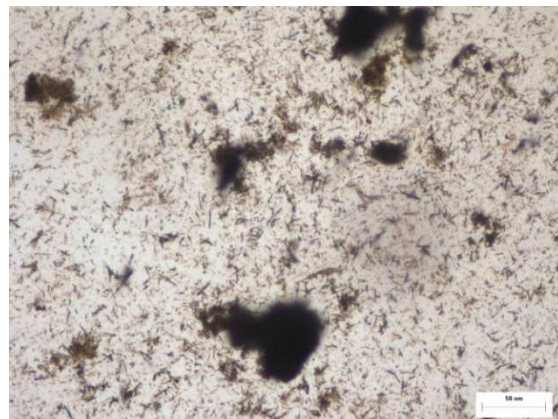
Forma 2



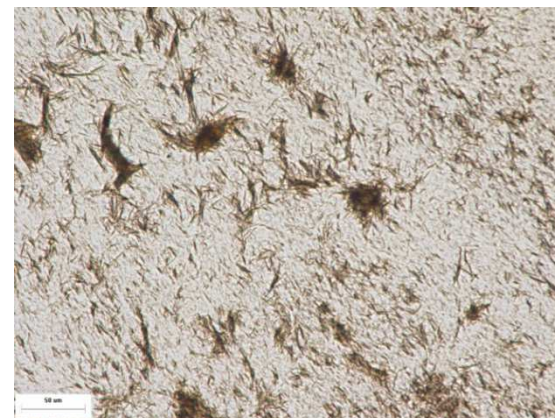
Forma 3



Forma 4



Forma 5



Forma 2

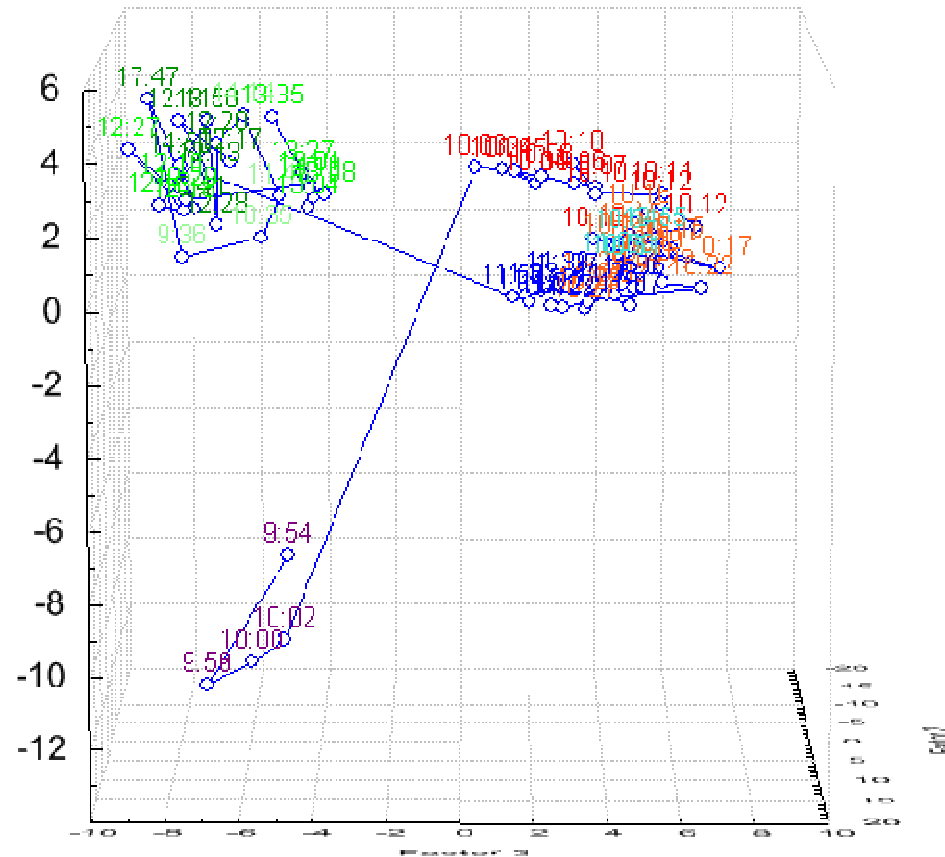
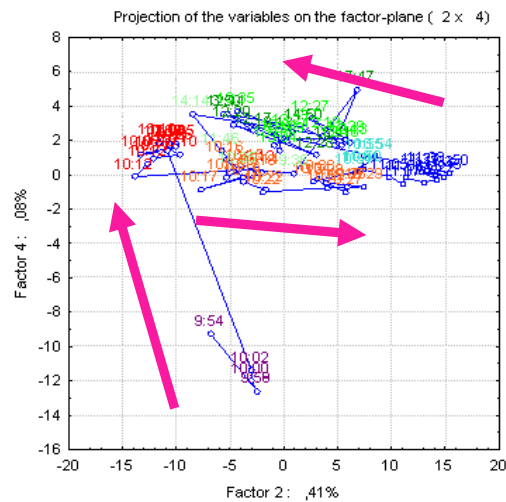
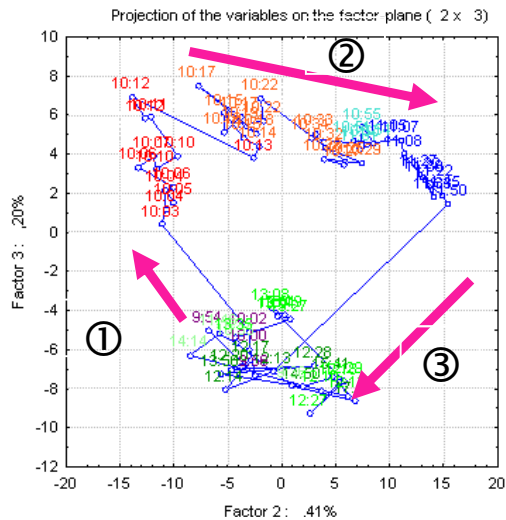


Forma 1

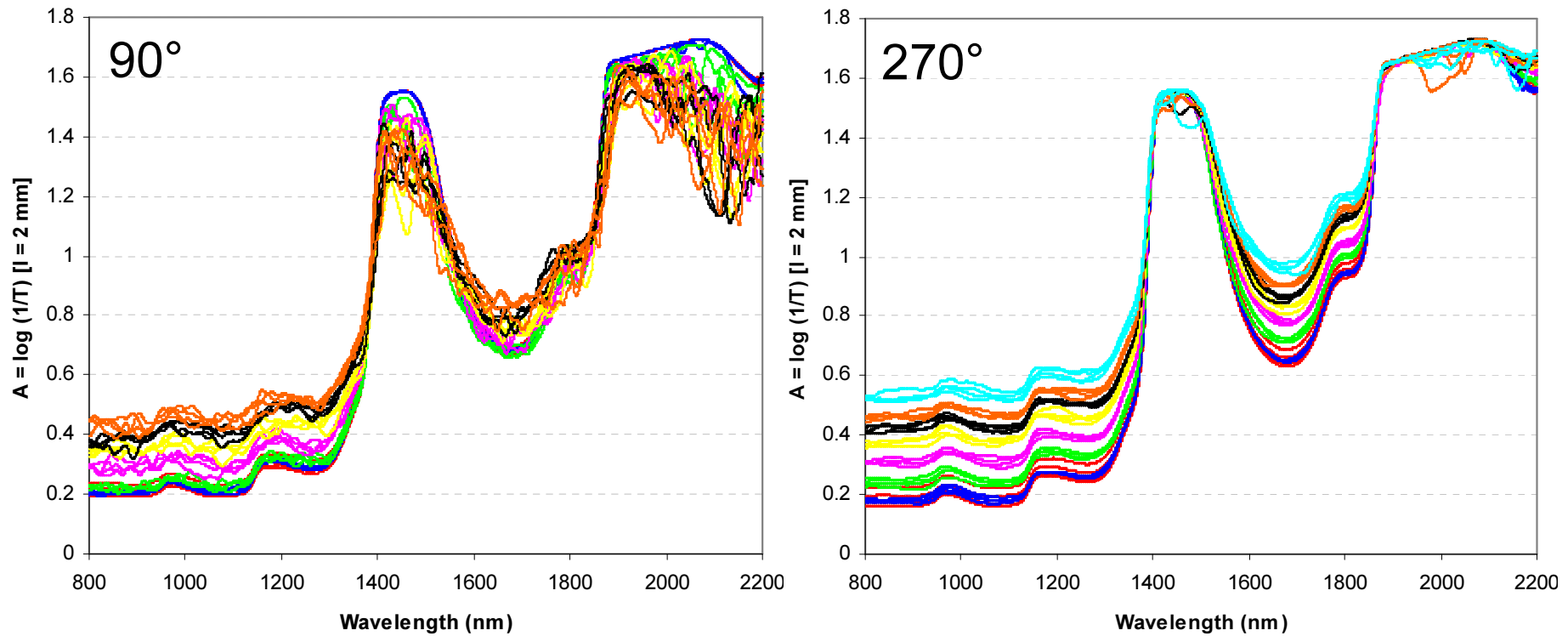


Forma 5

Polimorf transzformációs vizsgálat: in-line Raman-száloptika (PCA)

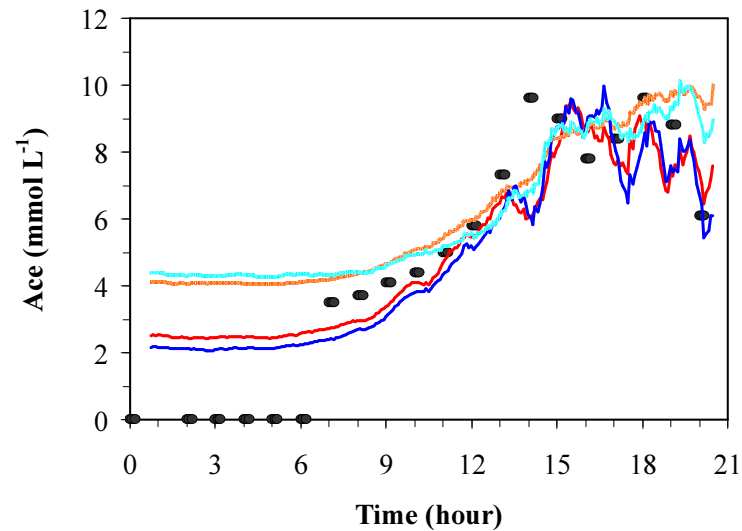
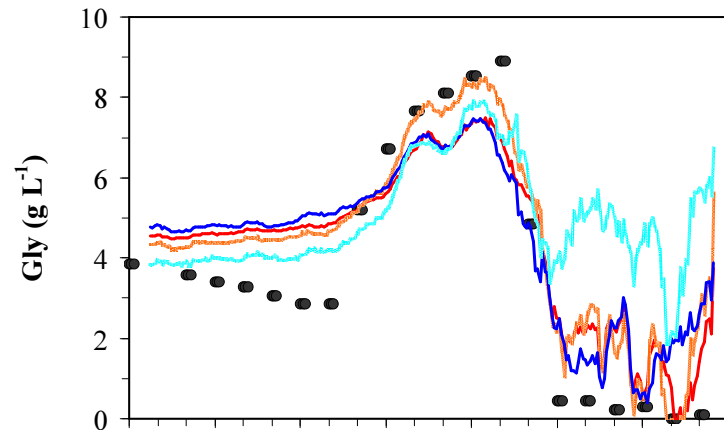
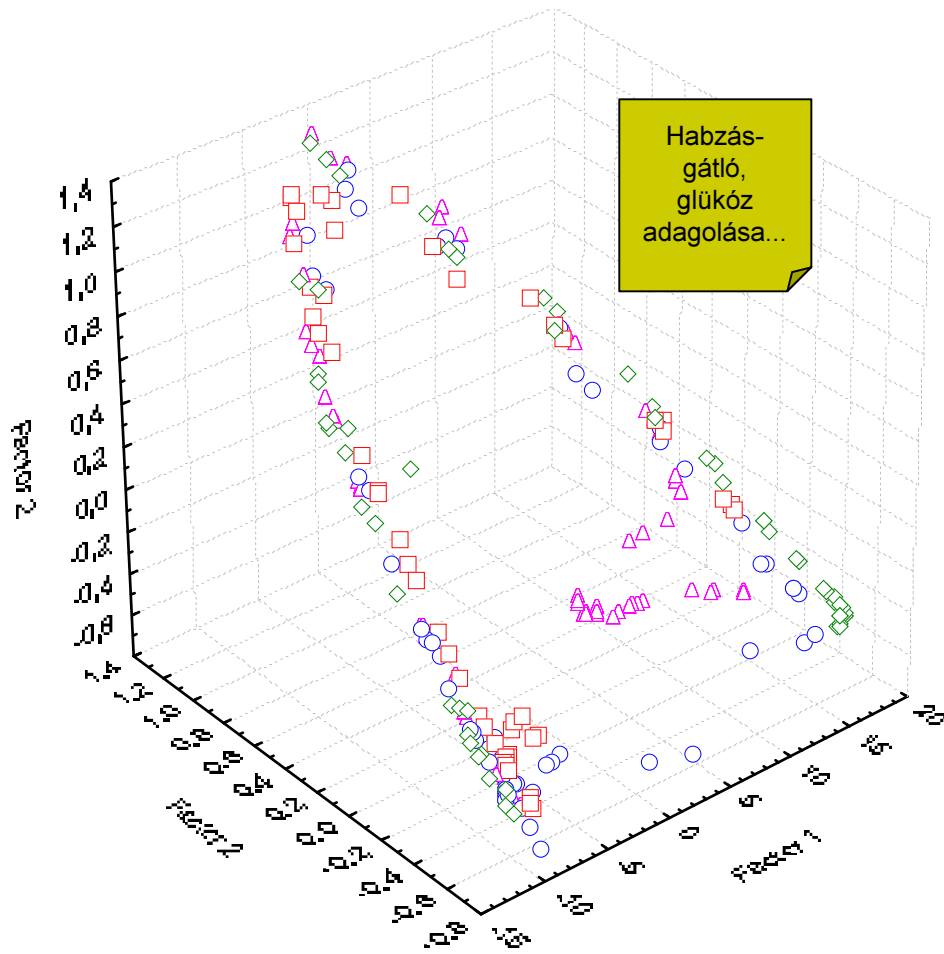


Fermentáció (*E. coli*) in-line nyomon követése: kevertetés, fizikai helyzet



400 | 600 | 800 | 1000 | 1200 | 1400 | 1600 | 2000 rpm

Fermentáció (*E. coli*) in-line nyomon követése: diszp. NIR-rel PCA, PLS

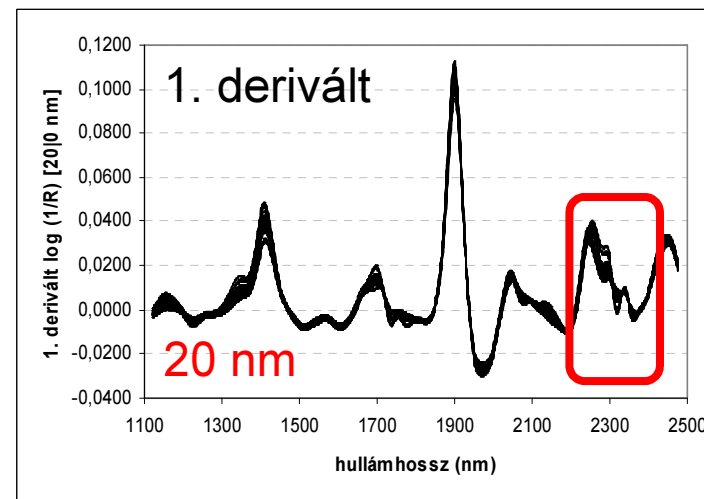
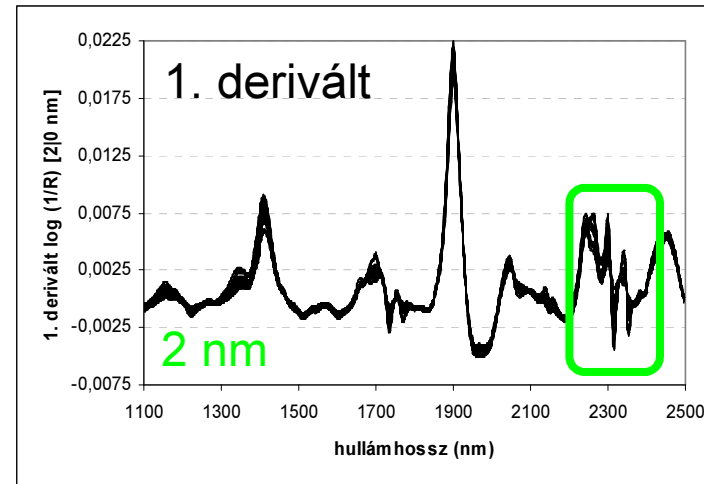


API meghatározása – simítás hatása a derivált képzésére



- Az első és második deriváltak képzése a kezeletlen spektrumokból más-más beállításokkal történik:
 - **Diszperziós NIR** esetén:
2, 4, 8, 12, 16, 20 nm-es (1, 3, 5, 7, 9, 11 pontos) kapu
[„gap-segment” derivált]
 - **FT-NIR** esetén:
5, 9, 13, 19, 25, 37, 49, 149 pontos kapu
[Savitzky-Golay derivált]

NIR

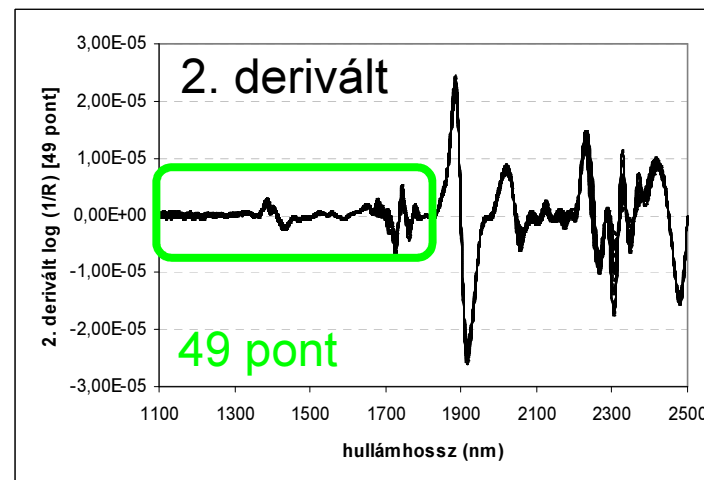
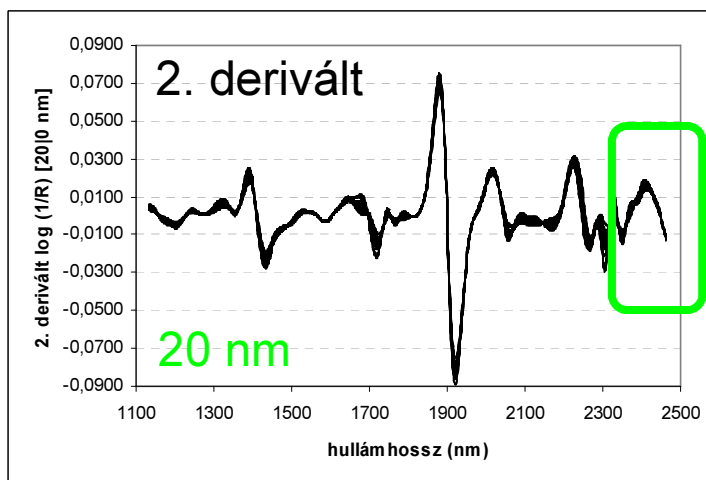
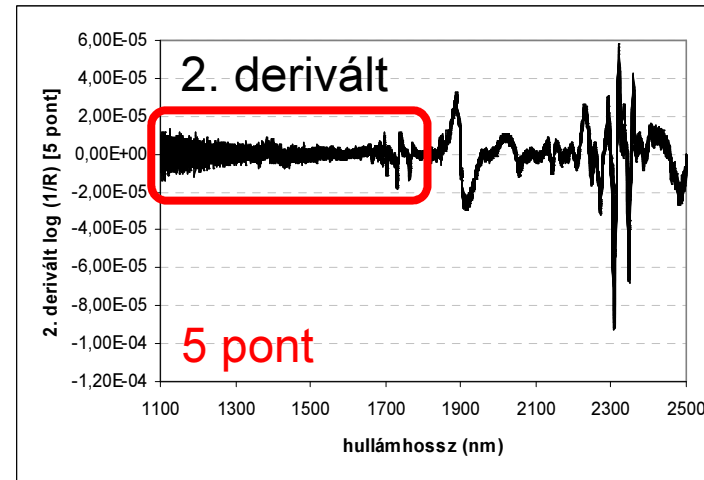
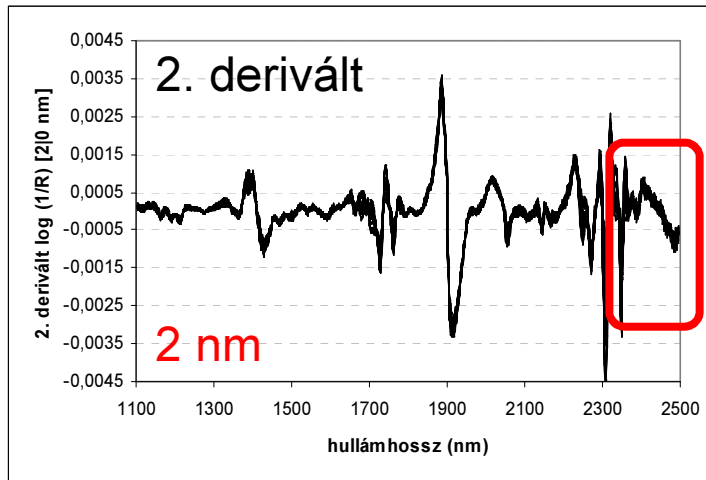


API meghatározása – diszperziós vs. FT (pl. detektorok)

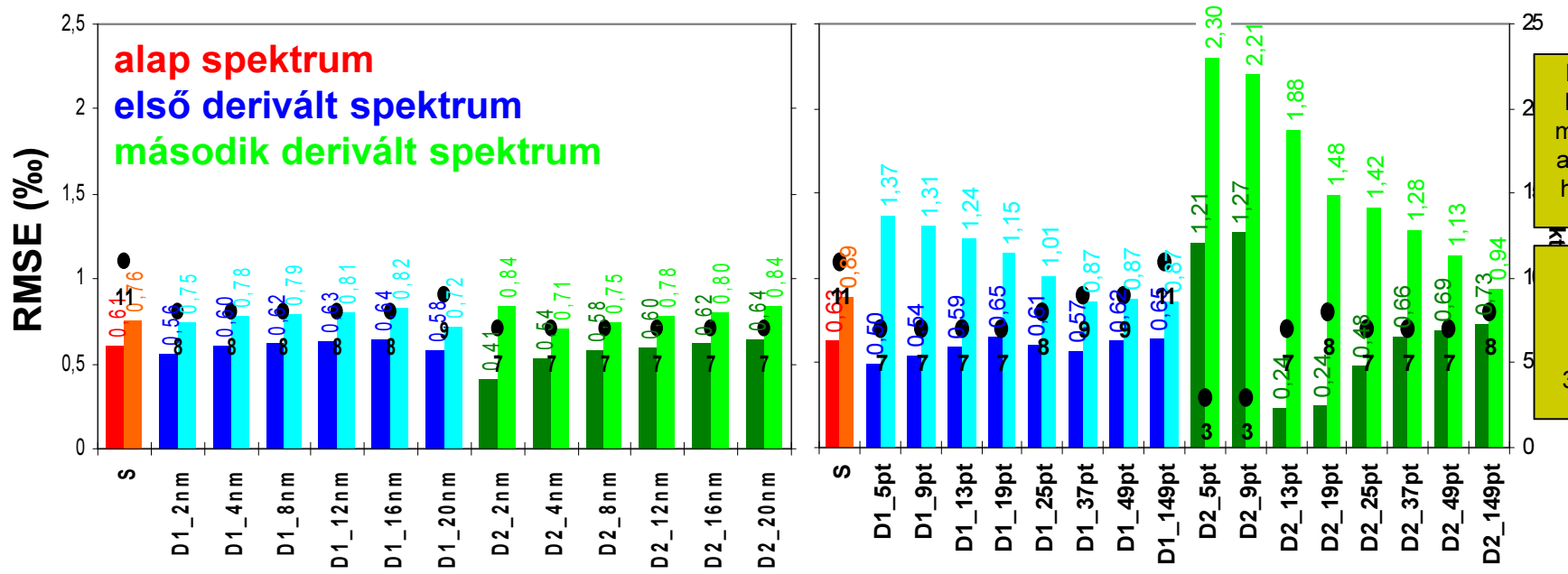
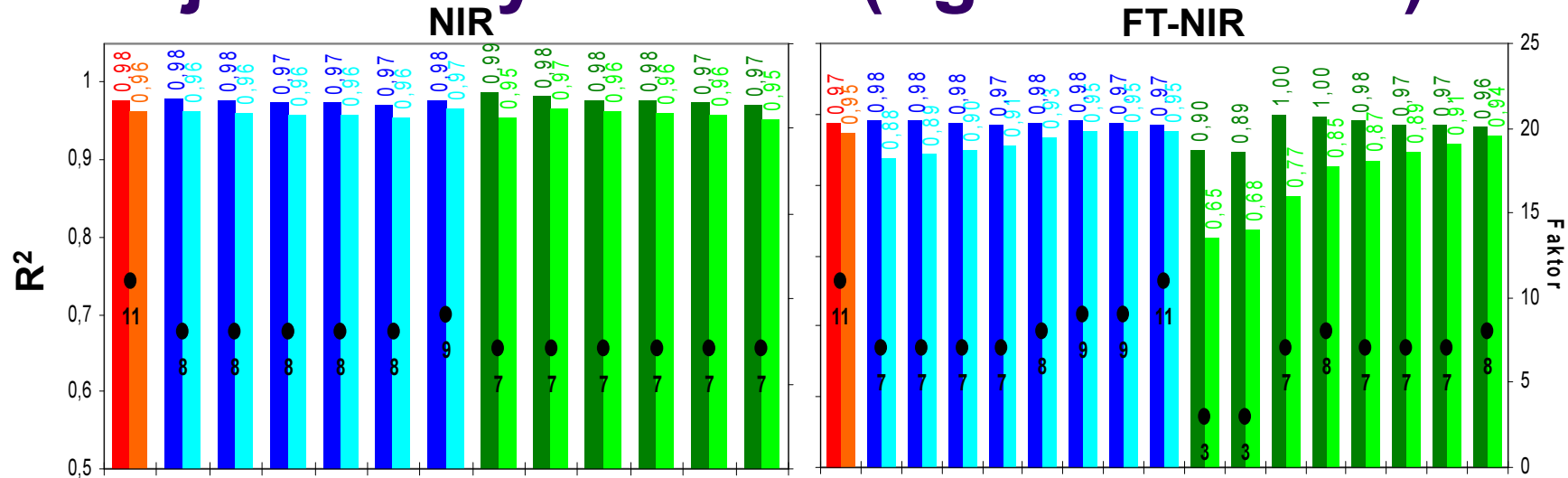


NIR

FT-NIR



API meghatározása – teljesítménymutatók (figure of merit)



Élelmiszer botrányok: mert jobb az analitika + a hiráramlás.

Kritikus - kontrollált példa: Down-kor 35 év alatt.

A feltárás lépései – $(IQ)Q = IQ^2$



- **I**dentification – azonosítás
 - Ki vagy te?
 - éles spektrális különbségek keresése
 - korreláció, euklédieszi távolság stb.

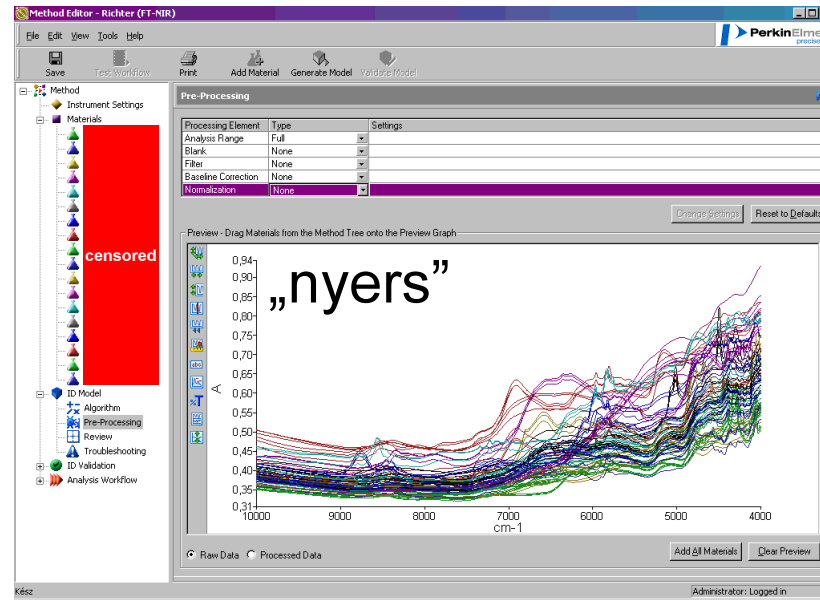


- **Q**ualification – minősítés
 - Hová tartozol?
 - szubpopulációk definiálása finomabb eltérések alapján
 - főkomponens analízis (PCA), Mahalanobis-távolság stb.

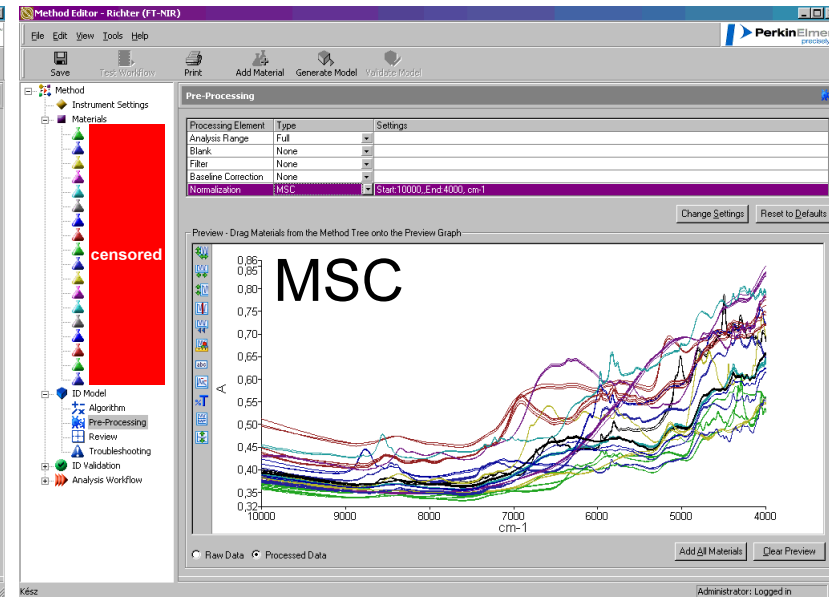
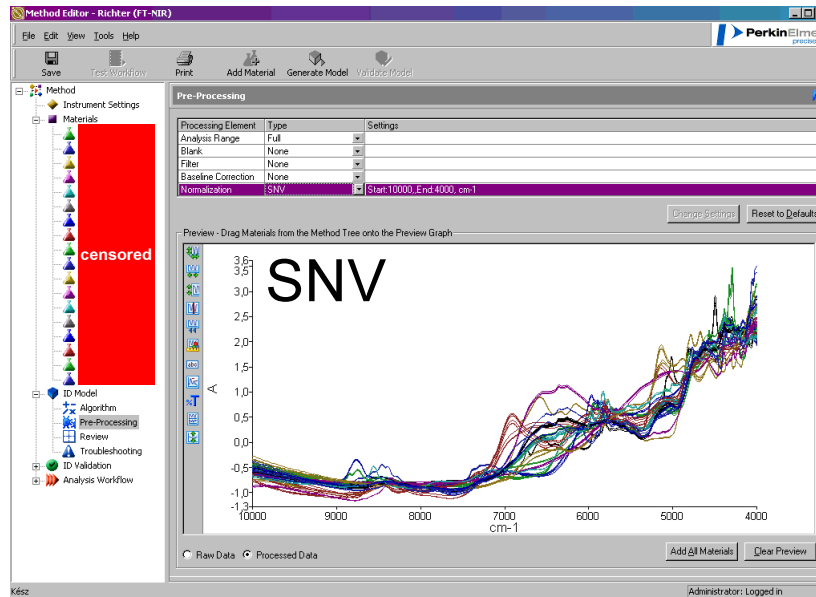


- **Q**uantification – mennyiségi meghatározás
 - Mennyi az anyyi?
 - referencia paraméterekkel kalibrációk
 - részleges legkisebb négyzetek (PLS) módszere stb.

Spektrumkönyvtár – anyagazonosítás (NIR)



18 termék, 27 tétel



Spektrumkönyvtár – anyagazonosítás (analitikai IR)



Method Editor - spektrumkönyvtár #1

File Edit View Tools Help

Save Test Workflow Print Add Material Generate Model Validate Model

Method

- Instrument Settings
- Materials
- ID Model
 - Algorithm
 - Pre-Processing
 - Review
 - Troubleshooting
- ID Validation
- Analysis Workflow

Pre-Processing

Processing Element	Type	Settings
Analysis Range	Range	Start:4000,End:600, cm-1
Blank	None	
Filter	None	
Baseline Correction	None	
Normalization	None	

Change Settings Reset to Defaults

Preview - Drag Materials from the Method Tree onto the Preview Graph

65 anyag, 390 tétel

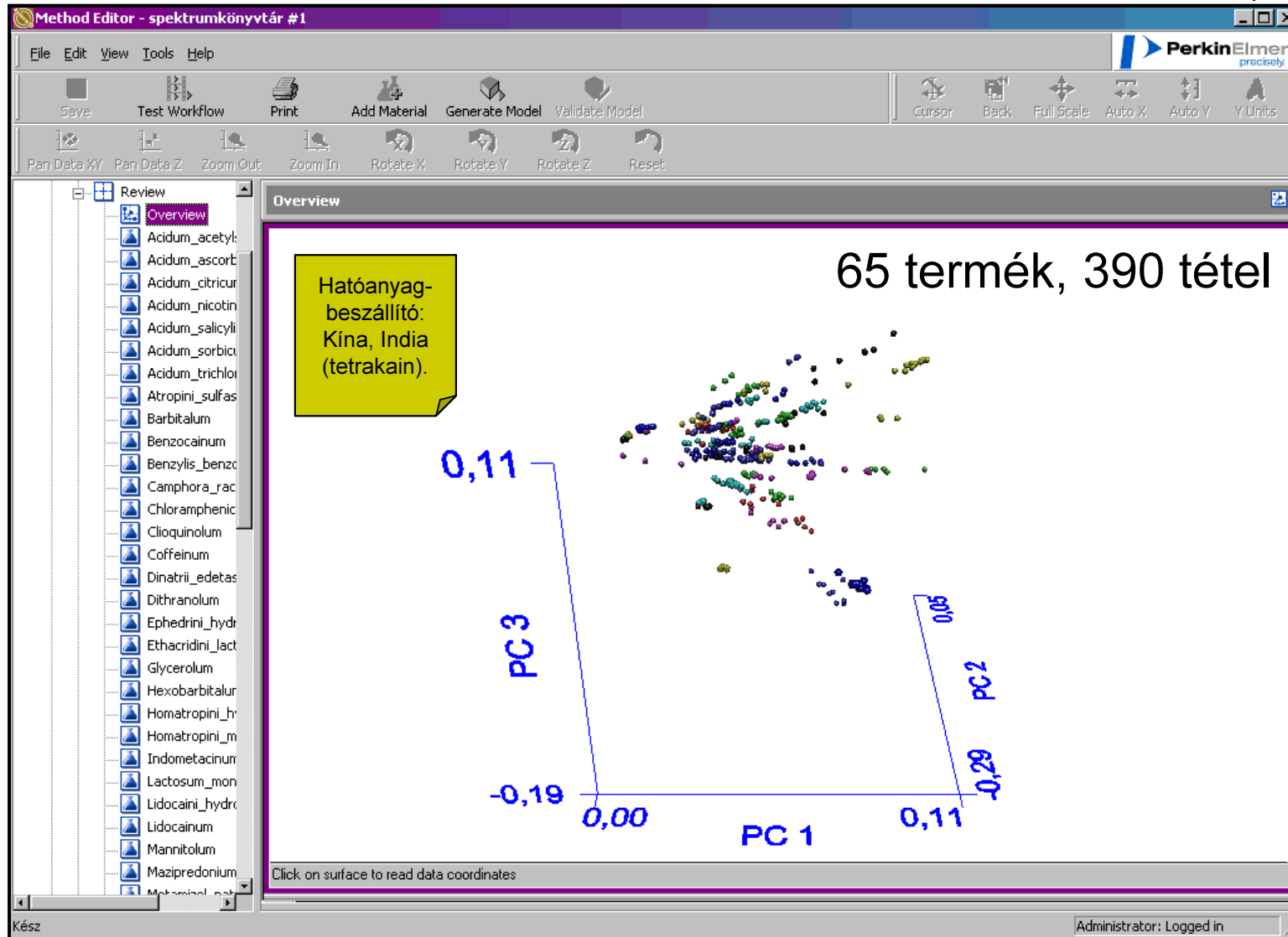
Raw Data Processed Data

Add All Materials Clear Preview

Kész Administrator: Logged in

10 / 10
vs.
100 / 10
+ géprom-
bolás.

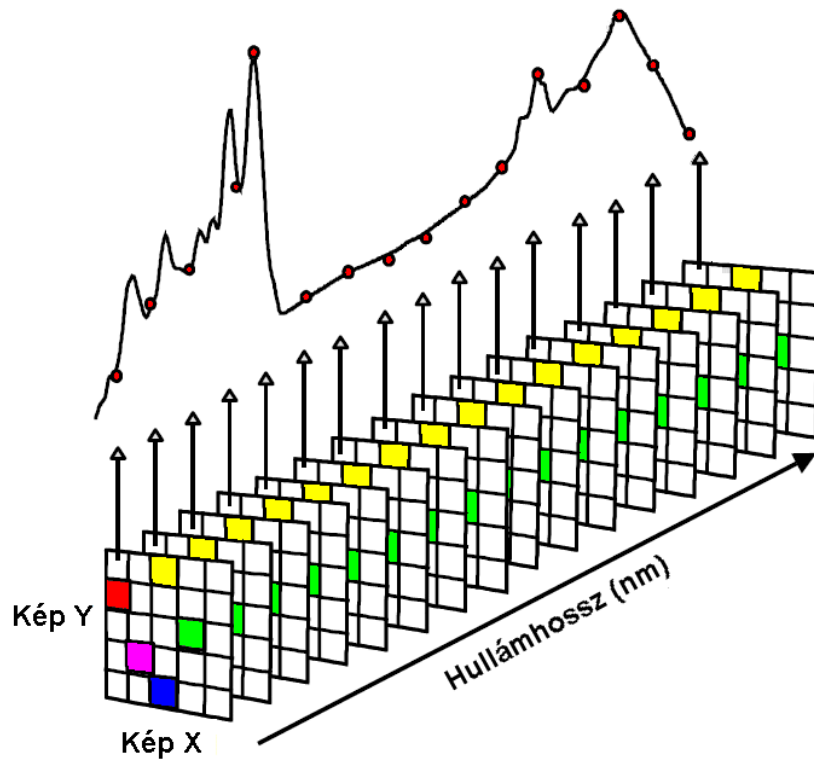
Spektrumkönyvtár – anyagazonosítás (analitikai IR)



Spektrális hiperkocka vs. tudomány



- Spektrális hiperkocka



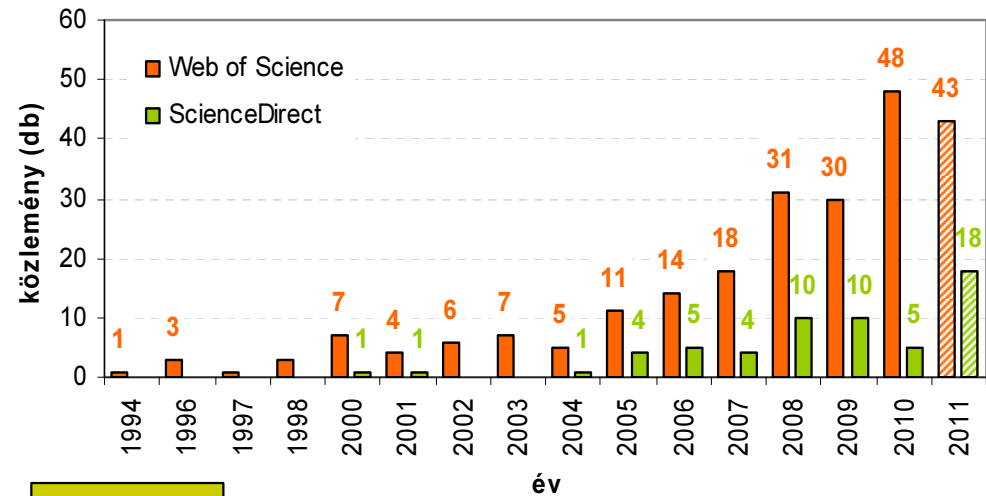
- „near-infrared AND imaging AND pharma” kulcsszóra történő keresés (2011.10.20.)

• Web of Science



• ScienceDirect

- Progresszív fejlődés



De mi volt 1994 előtt?

Az eszközök fejlődése – (hideg) háborúkon keresztül (II. világháború)

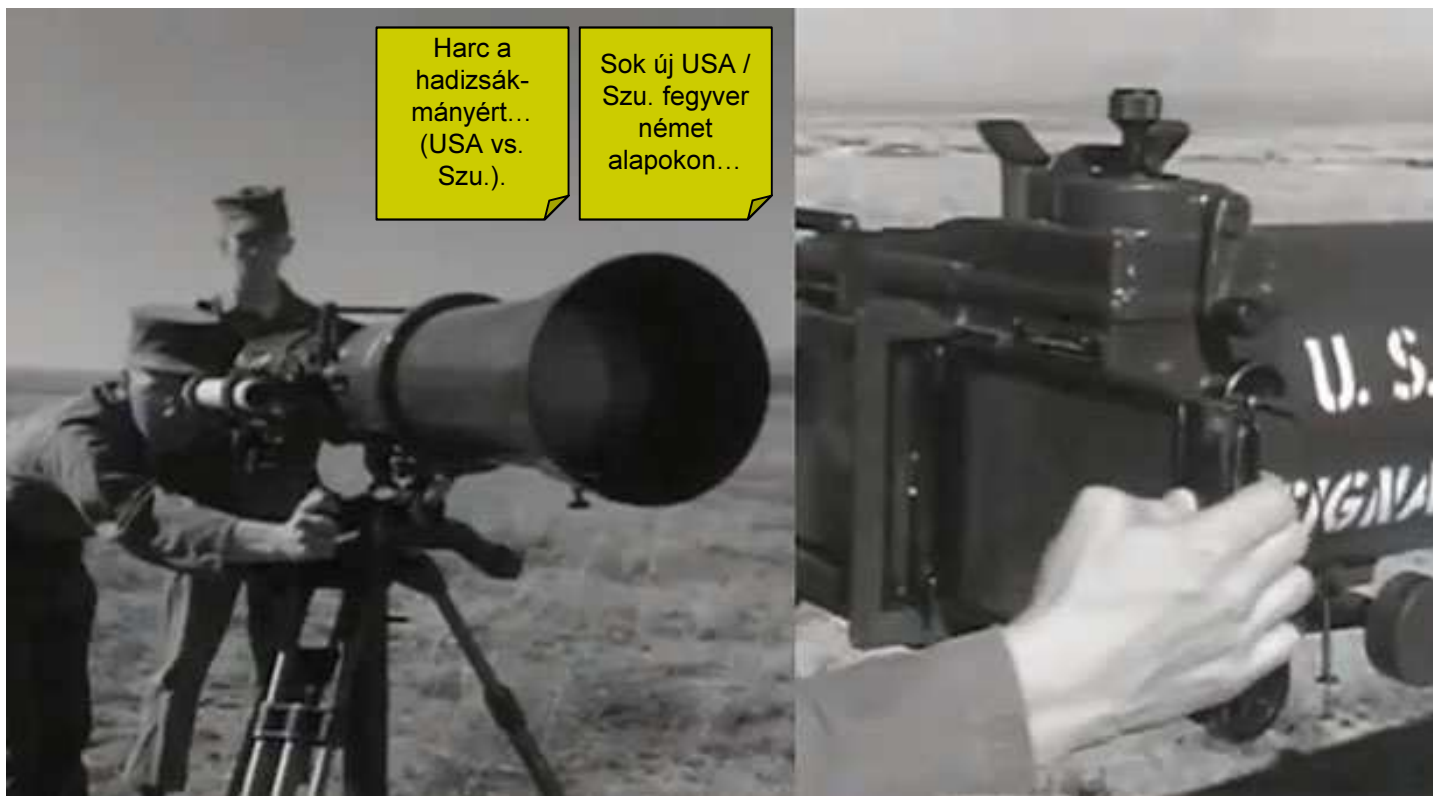


Éjjellátók kezdete: „vampir egység” (németek).



WunderWaffe 1 - vampire vision: could be used by the snipers at night because of its infrared vision.
http://obviousmag.org/en/archives/2010/07/extraordinary_weapons_of_the_nazi_germany_-_techno.html#ixzz2ahKgFiQw

Az eszközök fejlődése – (hideg) háborúkon keresztül (hideg háború)



Az eszközök fejlődése – (hideg) háborúkon keresztül (Korea, Vietnam)



Még ma is megvásárolható az interneten.



http://www.icollector.com/KOREAN-WAR-ERA-M1-CARBINE-INFRARED-SNIPER-SCOPE_i5326808

Az eszközök fejlődése – (hideg) háborúkon keresztül (pl. Irak)

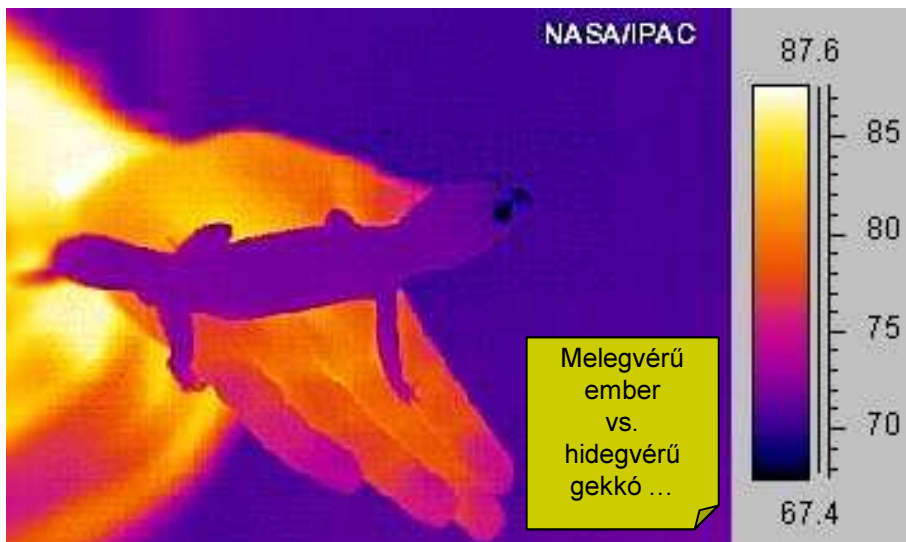


Civil alkalmazások – hideg/meleg I.

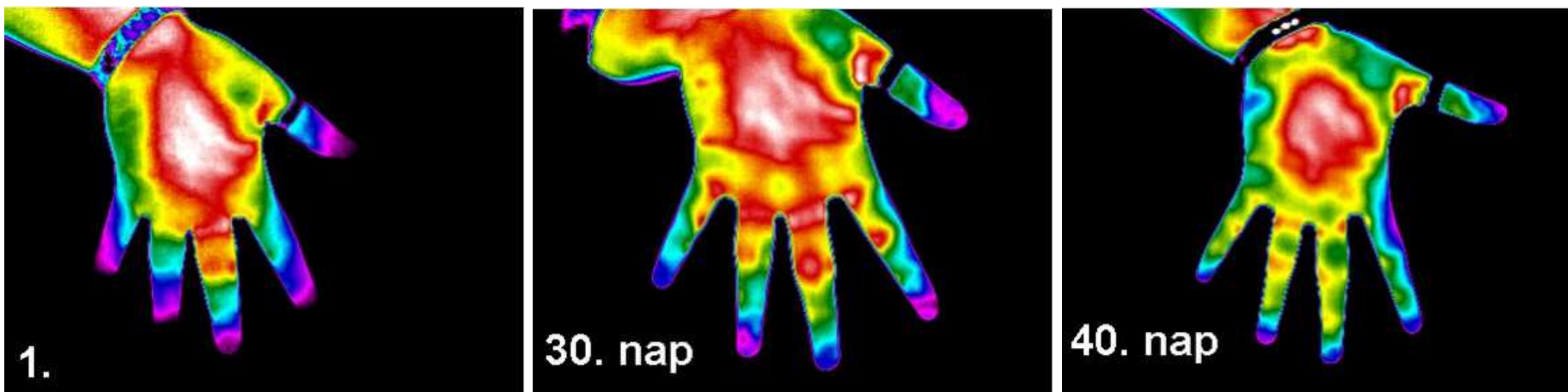


Energia-
osztályba
sorolás:
hol szökik a
hő...

Civil alkalmazások – hideg/meleg II.

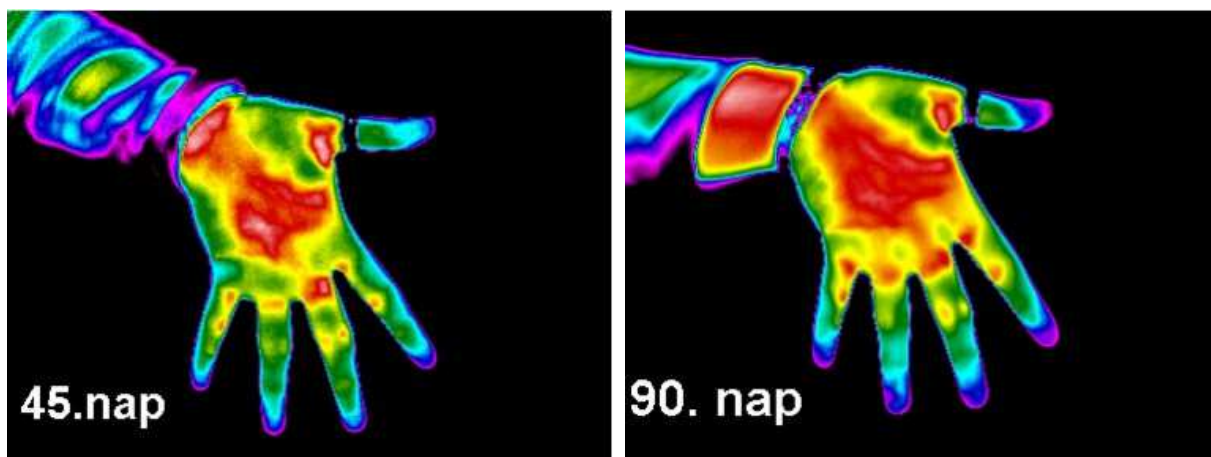


Civil alkalmazások – hideg/meleg III.



Törött
középső ujj
gyógyulása

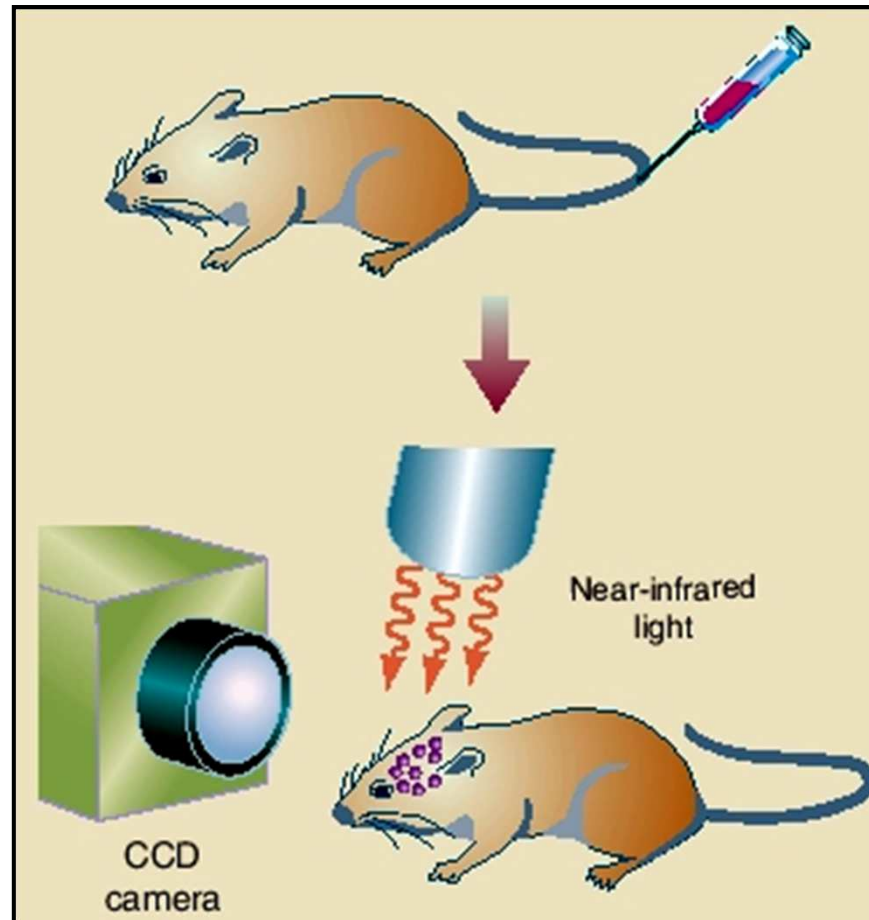
Szomato infra:
+ : gyulladás
vagy több ér
(daganat)
- : lipóma



Egér a Marsról I.



Itt már aktív:
IR besugárzás, DE
roncsolásmentes

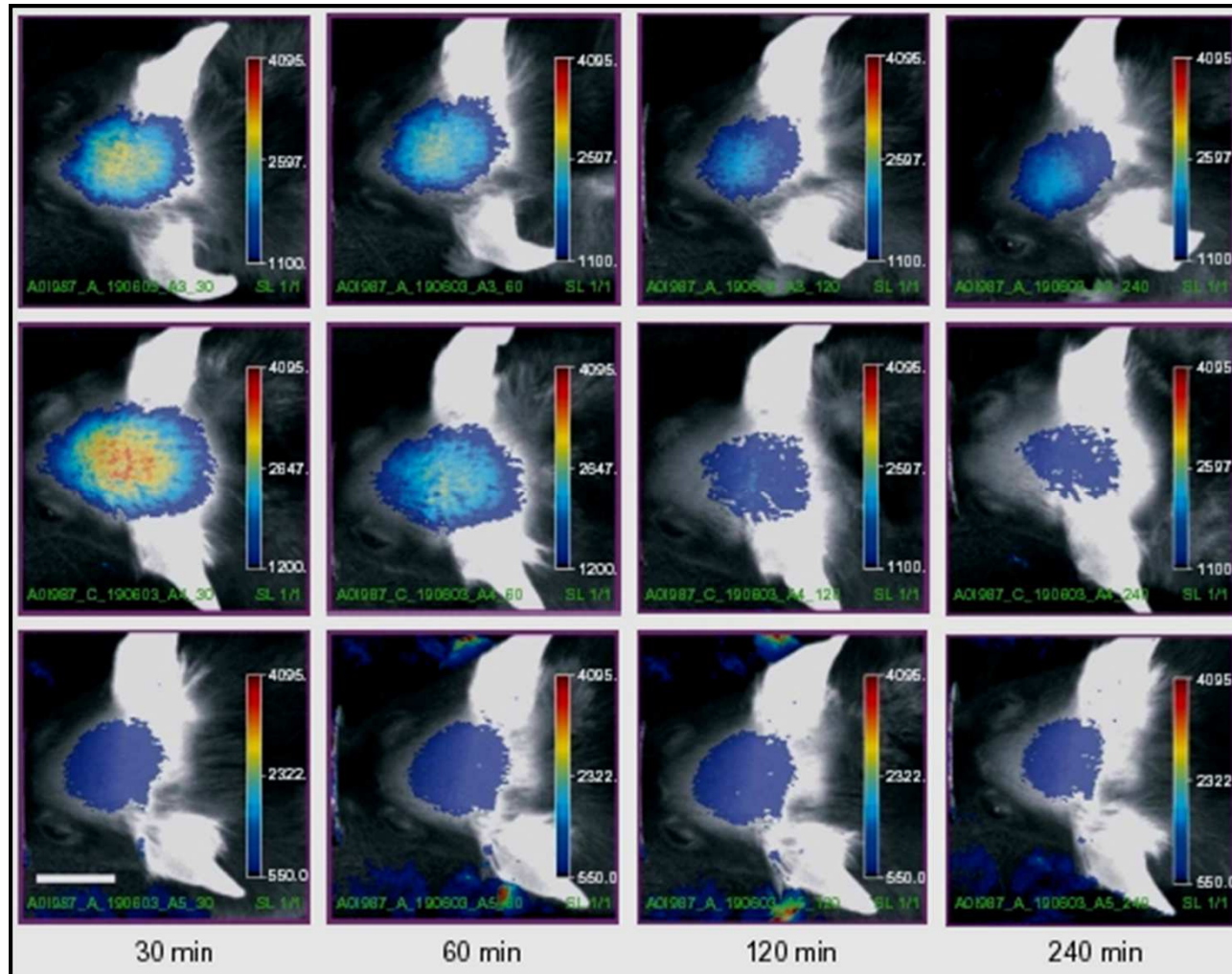


Sokszor csak
a bonc-
asztalon látjuk
az Alzheimer-
kór állapotát.

Korai észlelés
és terápia:
jobb esélyek.
NIR kamera
segít.

Golde T.E., Bacskai B.J.:
Amyloid deposits can be rapidly detected in the brains of living mice using a novel ligand and near-infrared fluorescence imaging.
Nat. Biotechnol. 23(5), 552–554 (2005)

Egér a Marsról II.

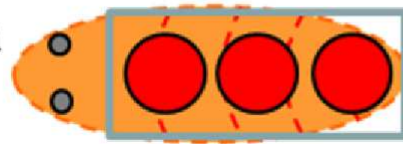


Hintersteiner M. *et al.*:
In vivo detection of amyloid- β deposits by near-infrared imaging using an oxazine-derivative probe.
Nat. Biotechnol. 23(5), 577–583 (2005)

Szexálás I.

TOP VIEW

Silkworm Pupa



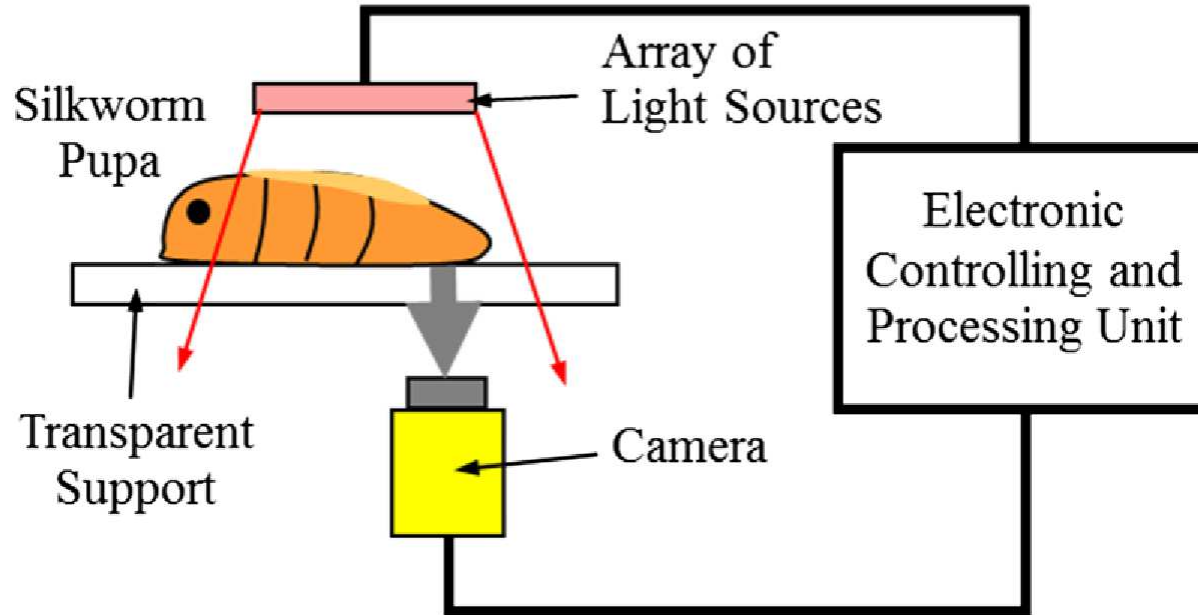
Array of Light Sources

Tenyésztés szempontjából fontos, hogy mi van a bábban.

Bábot megbontani nem lehet, mert akkor elpusztul...



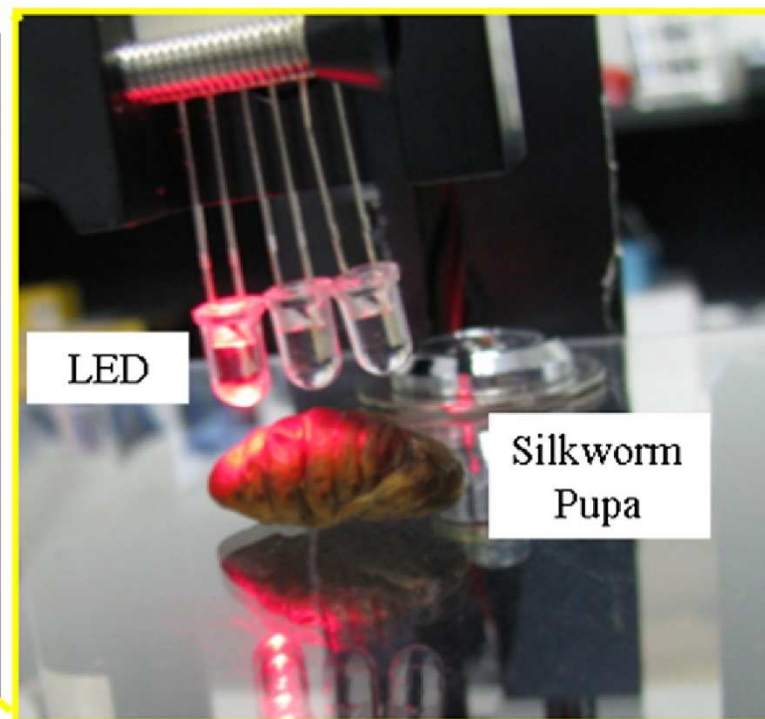
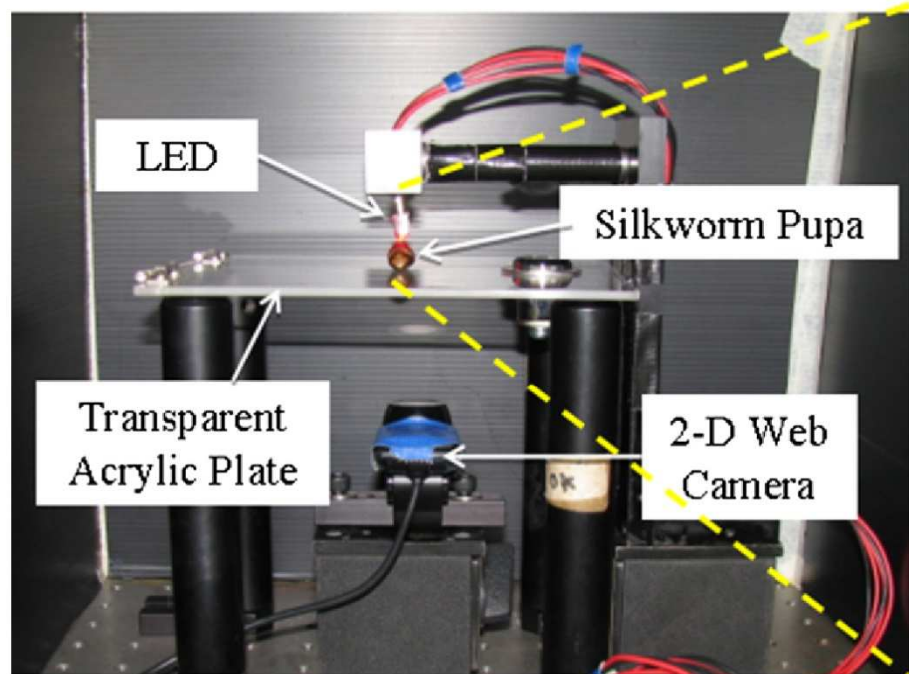
SIDE VIEW



Szexálás II.



Nézzünk bele a NIR segítségével a selyemhernyó bájbjába!

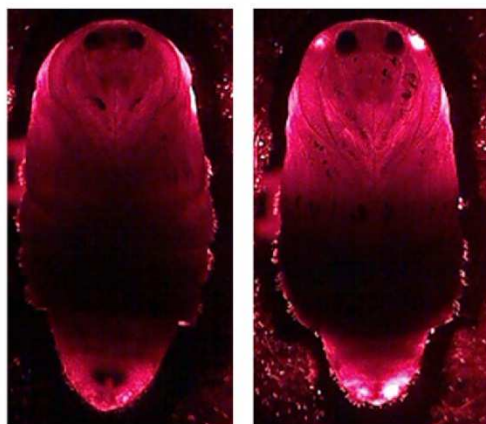


Close Up View

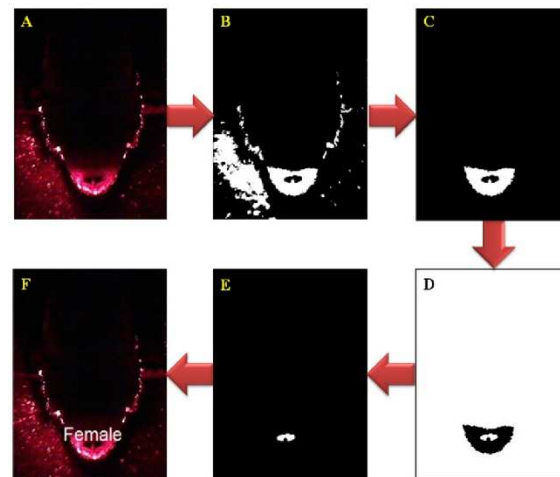
Szexálás III.



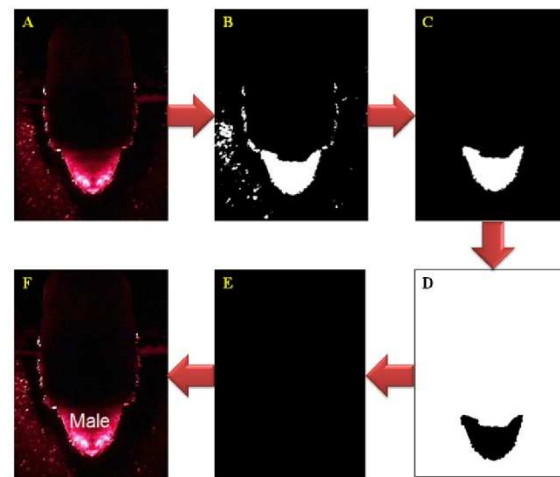
(a)



(b)



(a)



(b)

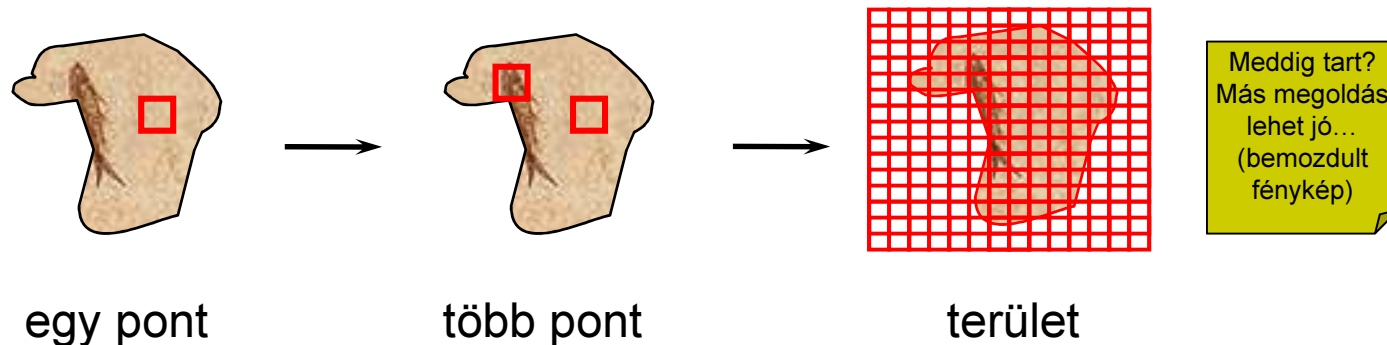
Lányoknál
semmi
extra ...

... de a fiúknak
világít
a „farkuk”.

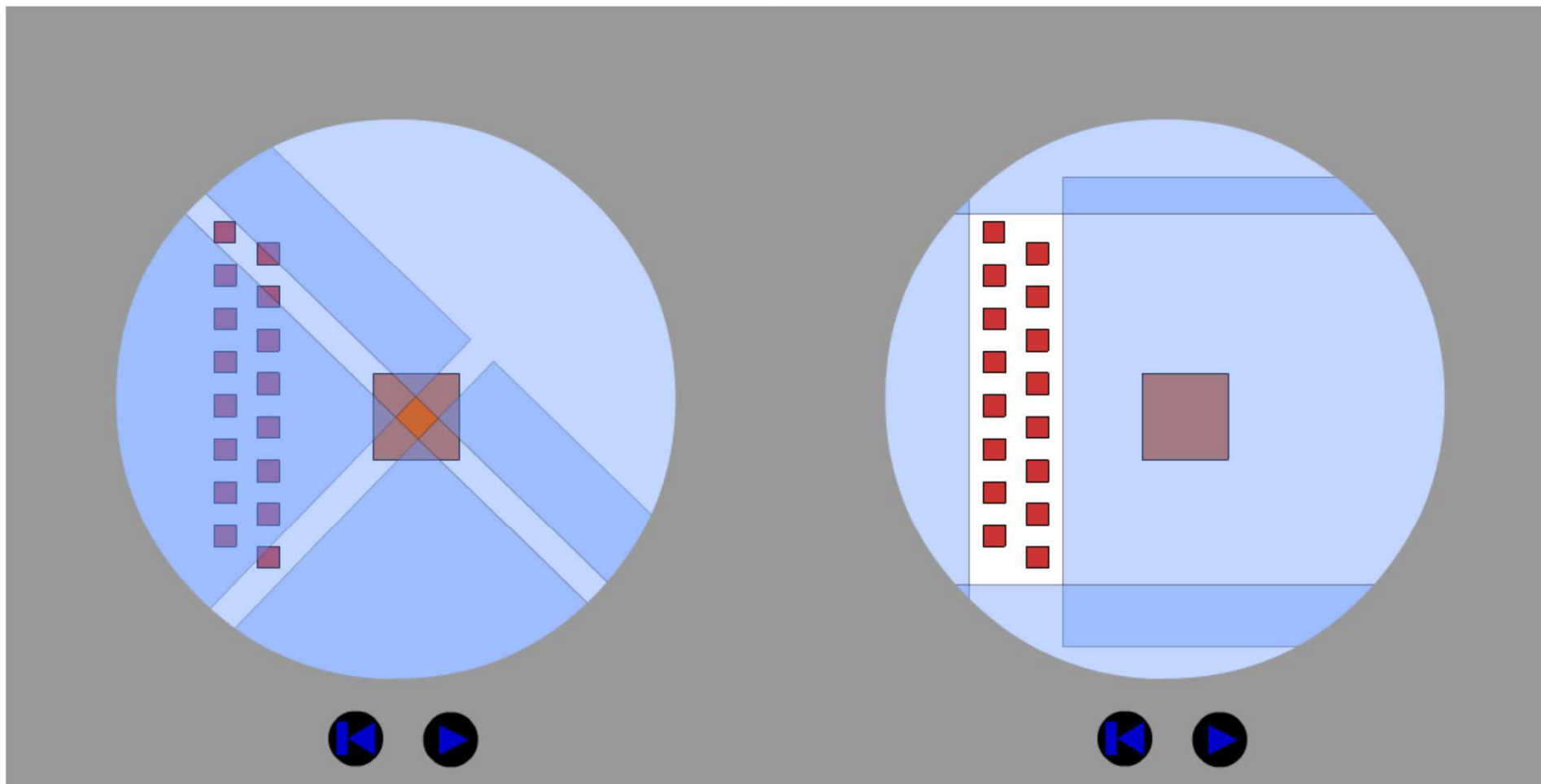
Mikro/makroszkópos képalkotás I.



- Pár/tíz mikrométeres nagyságrendek(től)
- Látható kép: vizsgálandó terület megkeresése, majd (N)IR mérés
- Nem, vagy csak kis mintaelőkészítést igényel: kevesebb hiba
- Különböző mérési módok: heterogén minták könnyebb vizsgálata



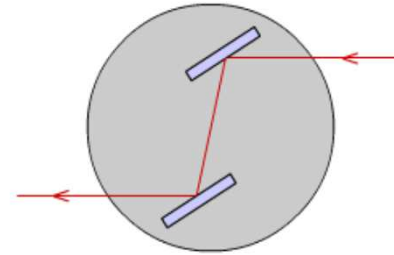
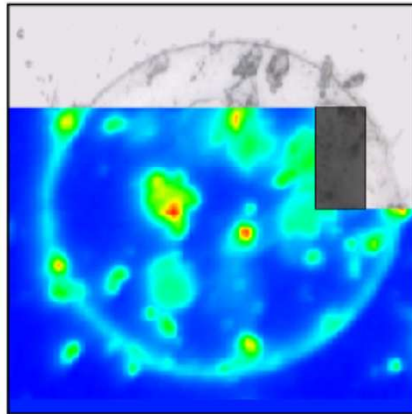
Mikro/makroszkópos képalkotás II.



pont

kép

Mikro/makroszkópos képalkotás II.

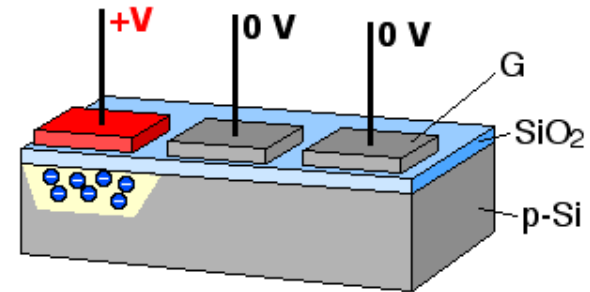


- A 16 elemből álló detektorsor a mintát $100\ \mu\text{m} \times 6,25\ \mu\text{m}$ vagy $400\ \mu\text{m} \times 25\ \mu\text{m}$ blokkokban látja (NIR esetén, IR: $1,56\ \mu\text{m}$...)
- 10 lépés másodpercenként, avagy 170 spektrum egy másodperc alatt ($16\ \text{cm}^{-1}$ mellet)

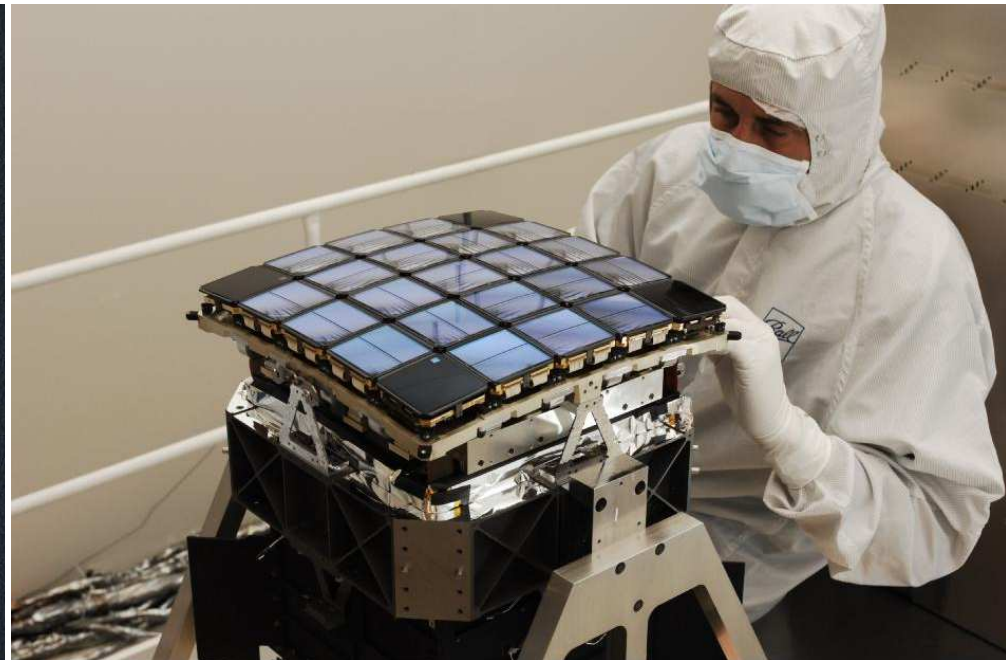
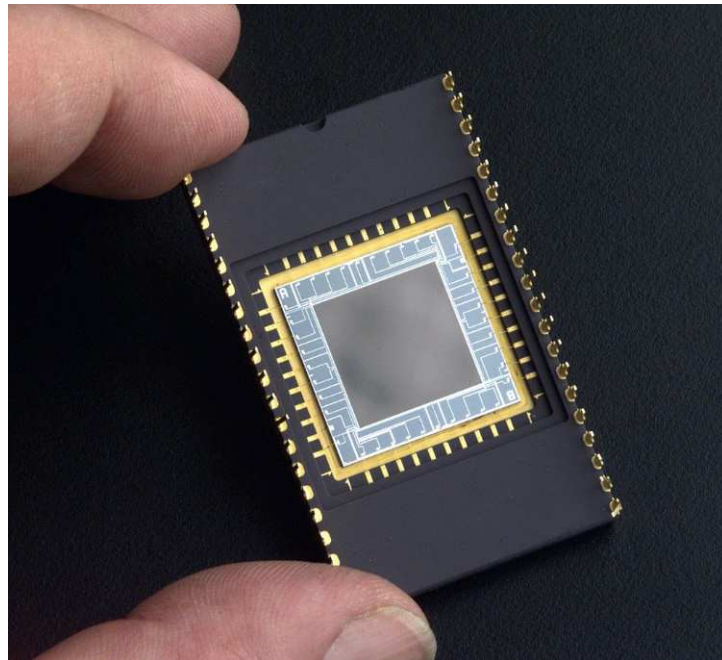
Mikro/makroszkópos képalkotás IV.



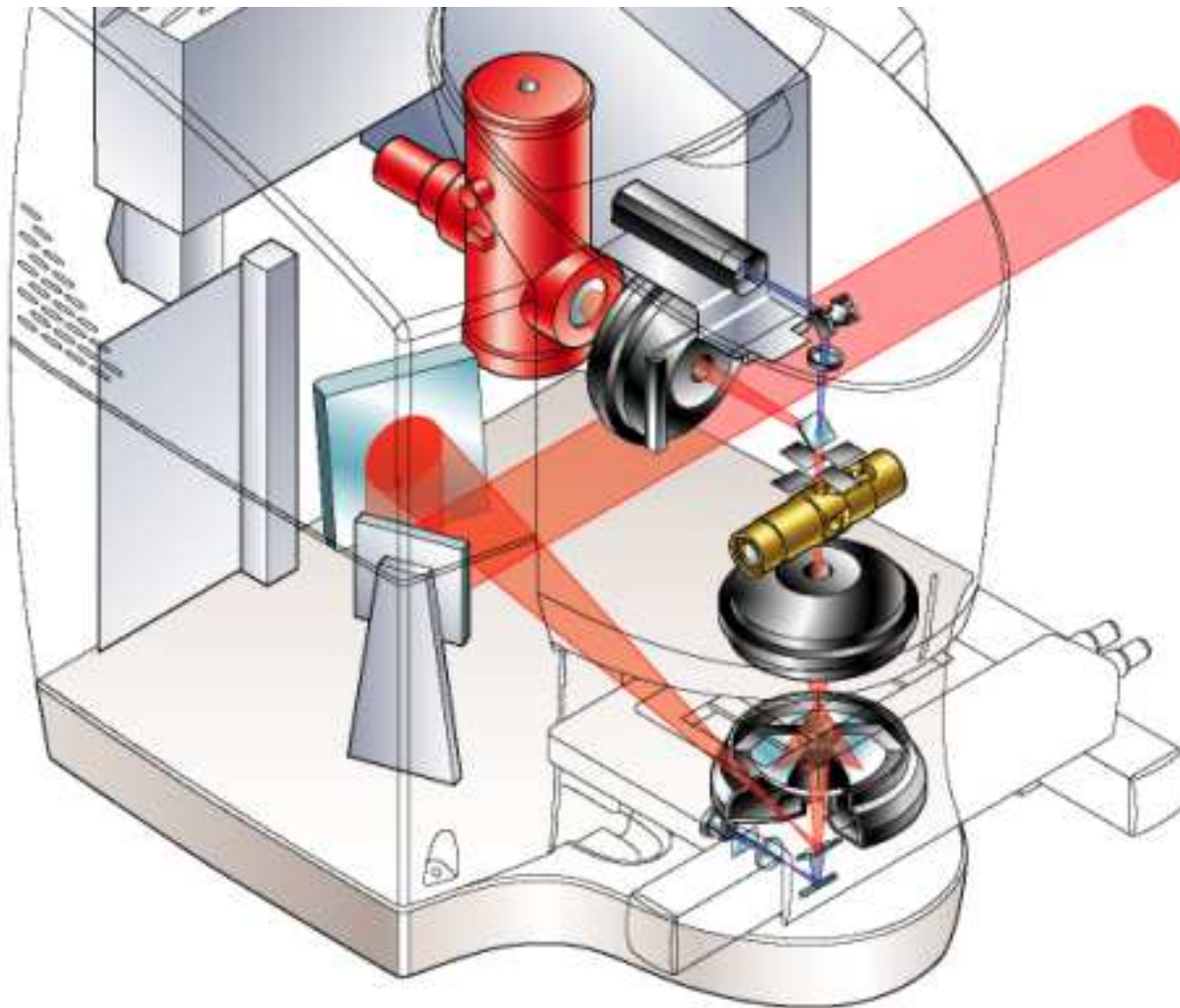
- FPA (Focal Plane Array)



videotelefon fejlesztése (AT&T): 1969!



Mikro/makroszkópos képalkotás V.



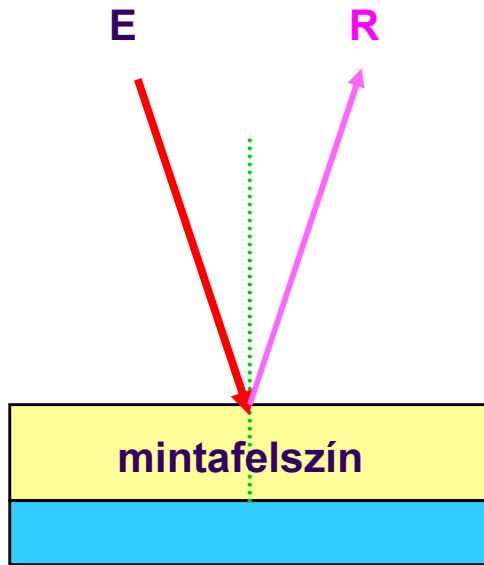
T
(transz-
misszió)

Mikro/makroszkópos képalkotás VI.

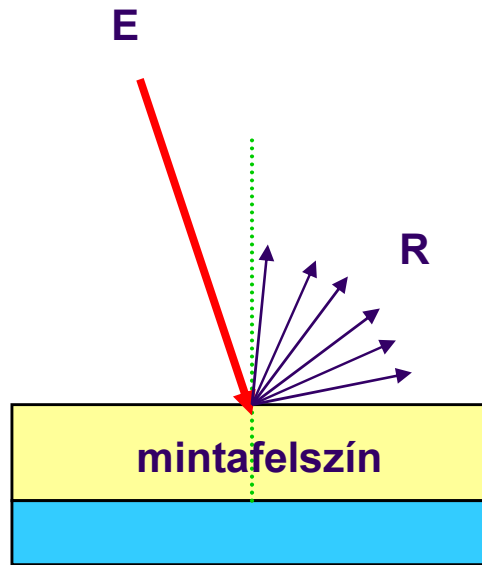


R
(reflexió)

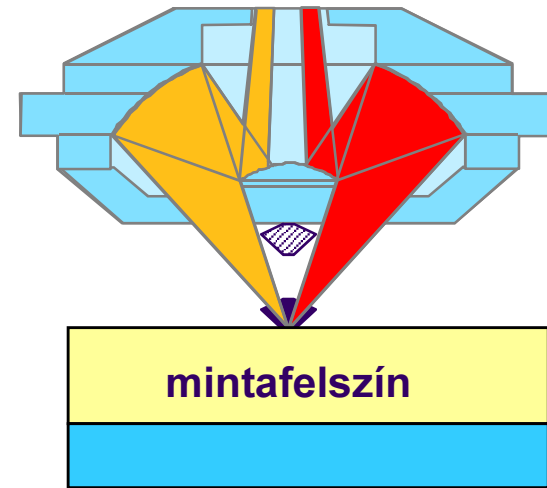
spekuláris
reflexió



diffúz
reflexió



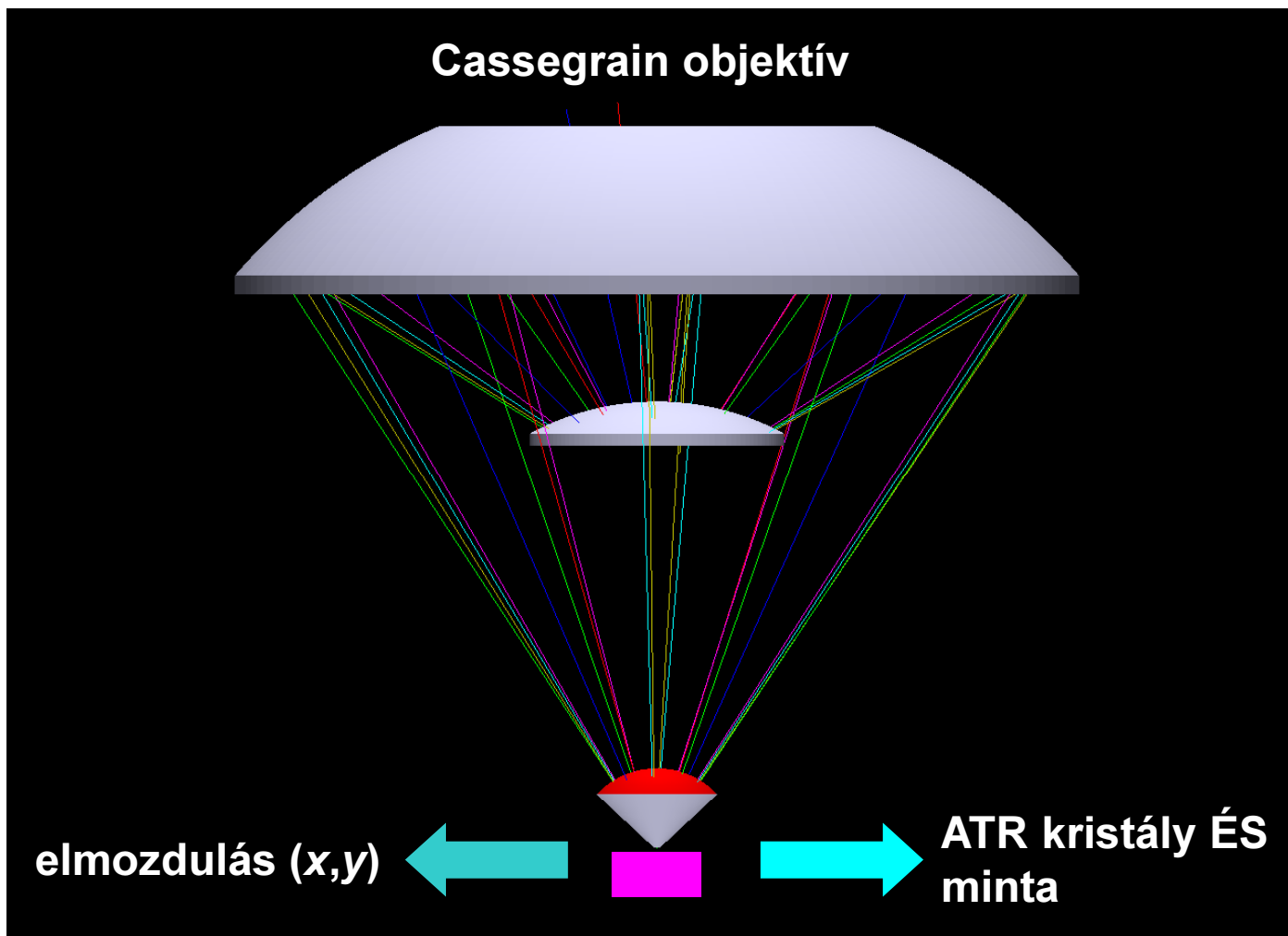
gyengített
teljes reflexió
(ATR)



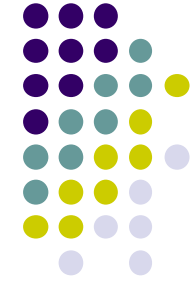
Mikro/makroszkópos képalkotás VII.



Mikro/makroszkópos képalkotás VIII.

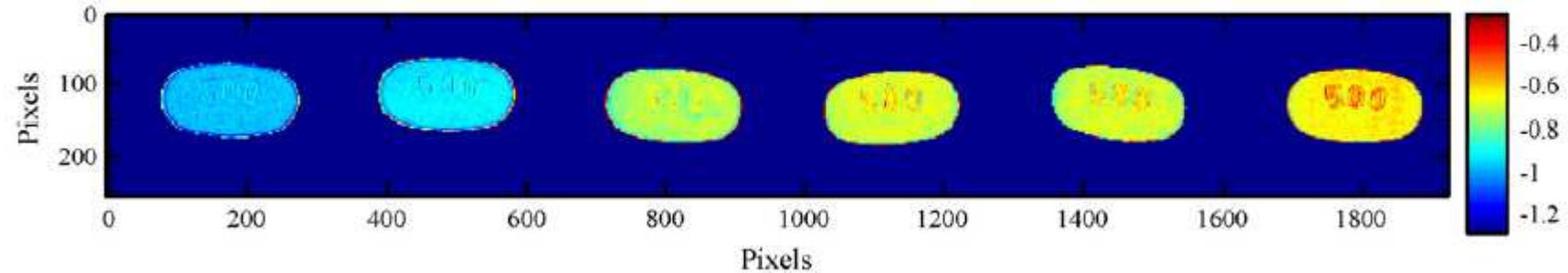


Képkötés – tablettavizsgálatok

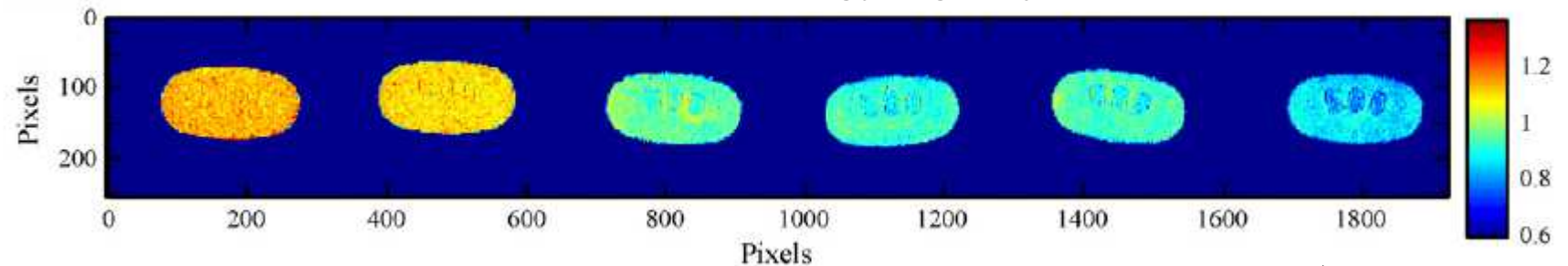


- Technológia nyomon követése I.
 - bevonás

1390nm **bevonat** (Opadry Pink): idő előrehaladtával erősödő jel 1390 nm-en



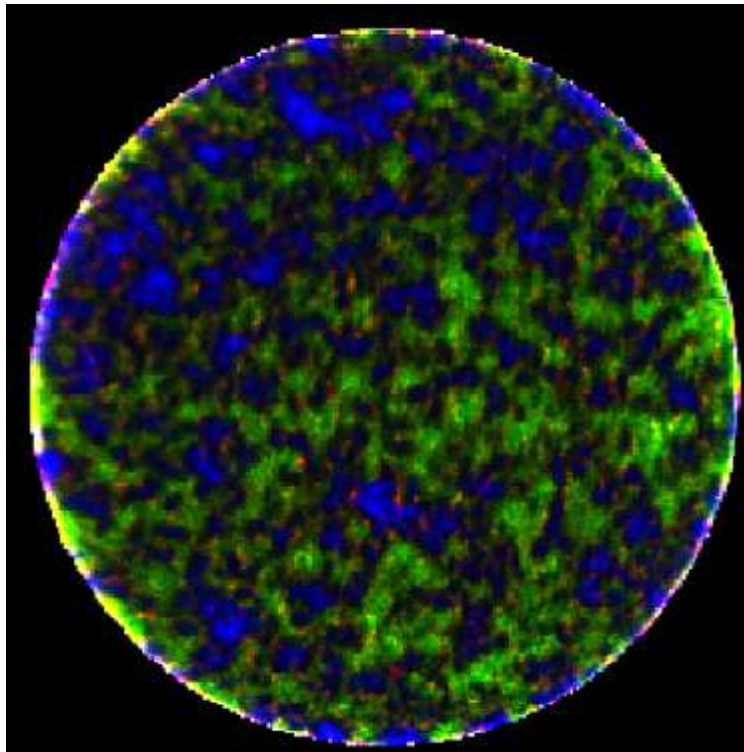
2120nm **korpusz**: idő előrehaladtával gyengülő jel 2120 nm-en



Képkötés – tablettavizsgálatok



- Technológia nyomon követése II.
 - keverés

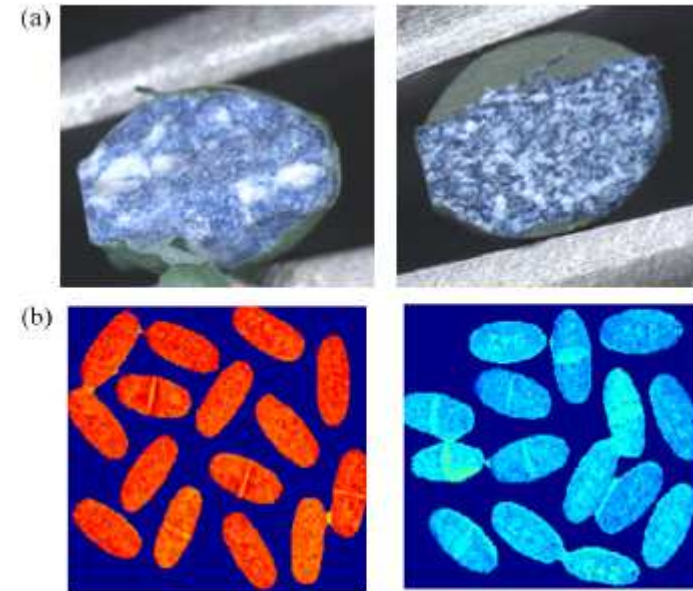


Gendrin C. *et al.*:
Content uniformity of pharmaceutical solid dosage forms by near infrared hyperspectral imaging: A feasibility study. *Talanta* 73(4), 733–741 (2007)

- Eredetiségvizsgálat

Hamis

Eredeti



Counterfeits

Original

VIS

NIR

PI. hamis Viagrában a kék színt patkánymég adta.

Nem kell eltörni, a „NIR” beelát. (Megmarad a bizonyíték.)

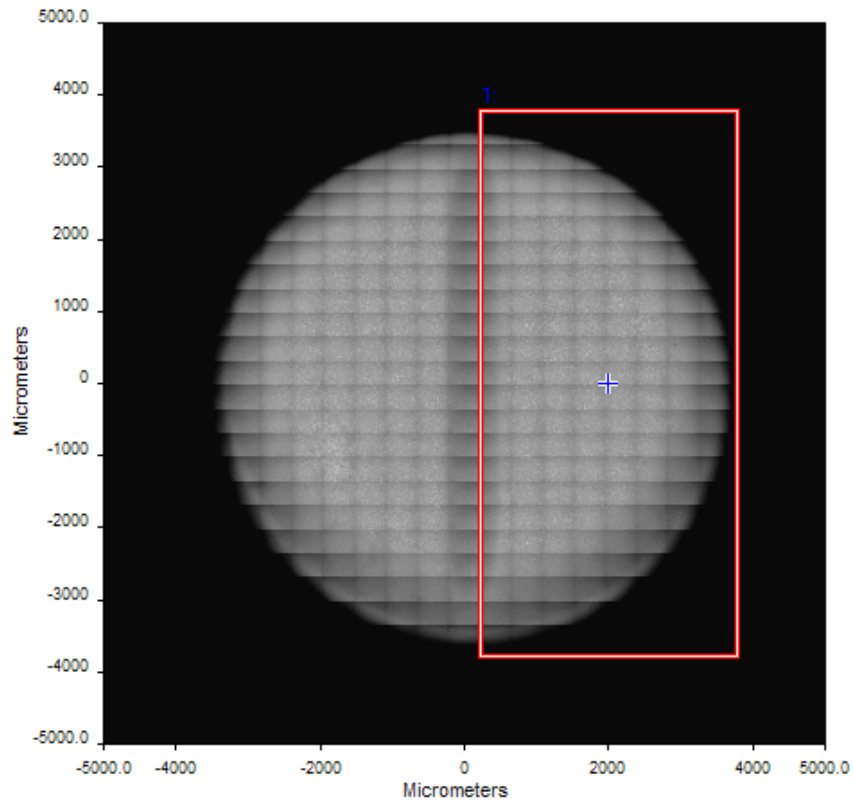
Gendrin C. *et al.*:
Pharmaceutical applications of vibrational chemical imaging and chemometrics: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 48(3), 533–553 (2008)

Eredetiségvizsgálat vs. imaging: makro (VIS)

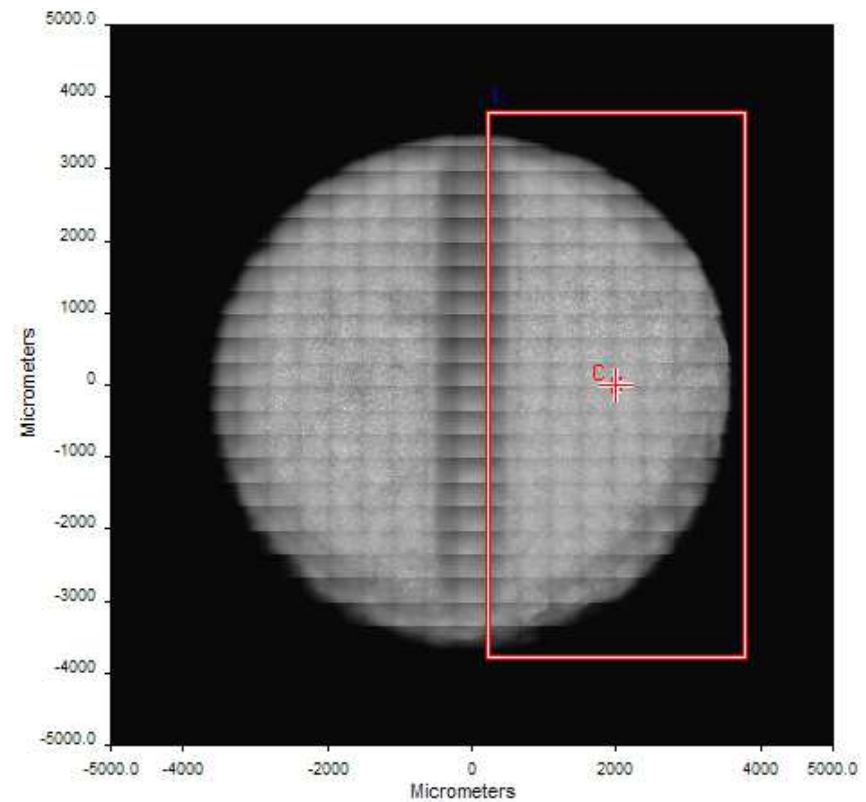
Edzőteremben
izomnövelő
helyett
„barkács
cucc”.



- Eredeti



- Hamis



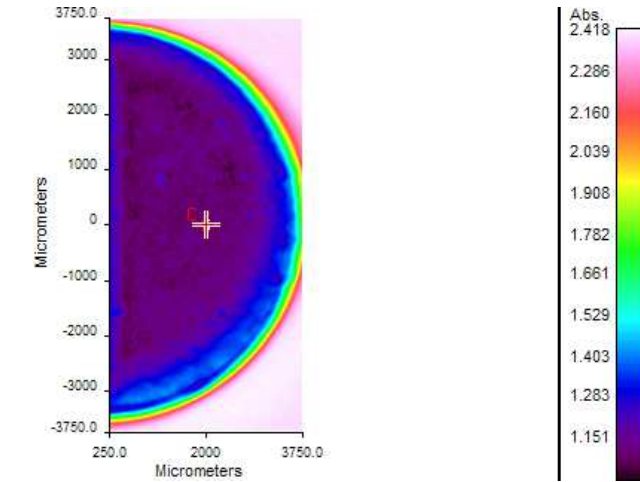
Eredetiségvizsgálat vs. imaging: makro (NIR)

Mátrixhatás.

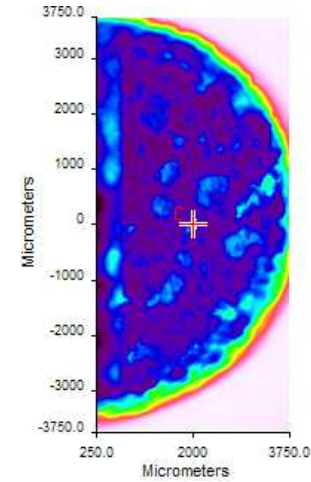


- Eredeti

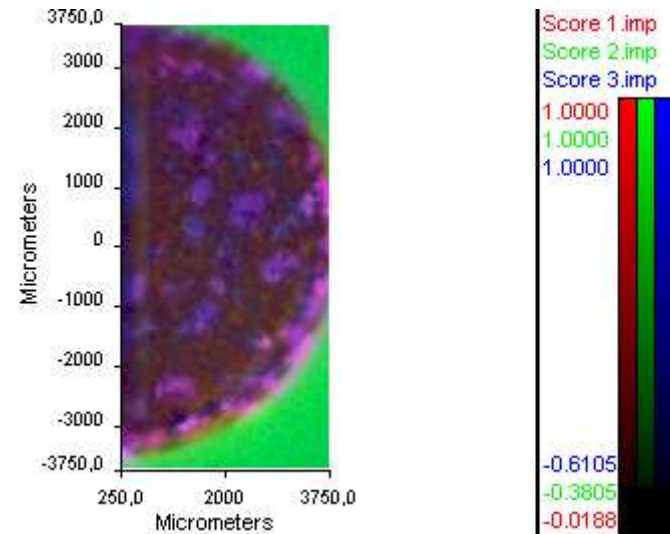
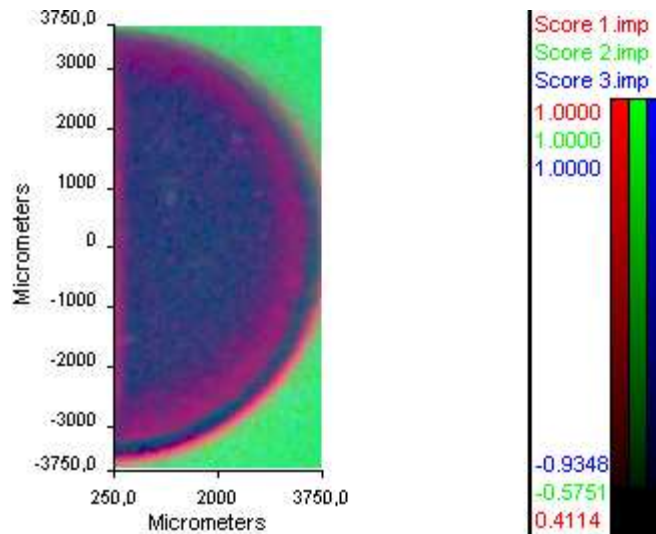
Abs.



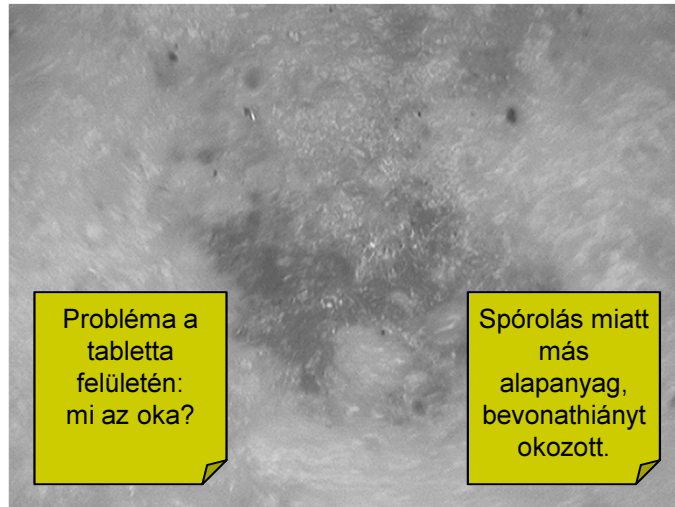
- Hamis



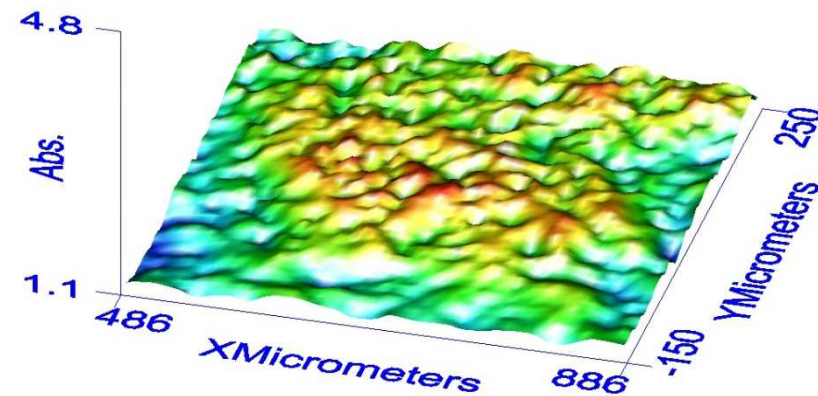
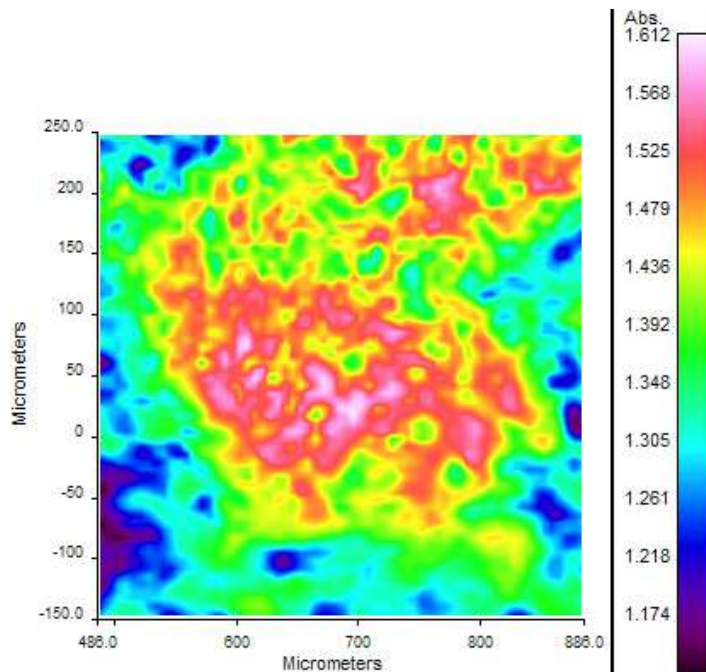
PCA



Technológiai probléma vs. imaging



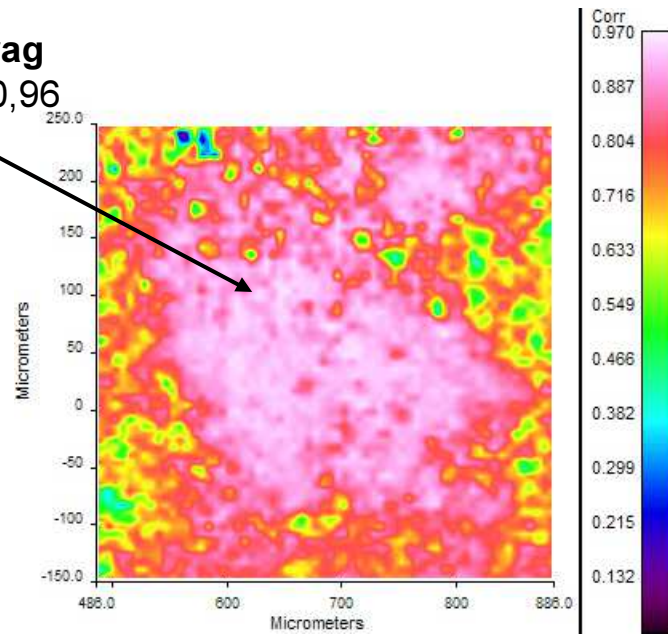
- Képkötés NIR tartományban: nincs roncsolás
- $400 \times 400 \mu\text{m}$ méretű mérési tartomány, $6,25 \times 6,25 \mu\text{m}$ méretű képpontokkal
- 64×64 pont, azaz összesen 4096 pont, pontonként 128 spektrum átlagolásával
- Átlagos abszorbancia értékek alapján színezett ábrák



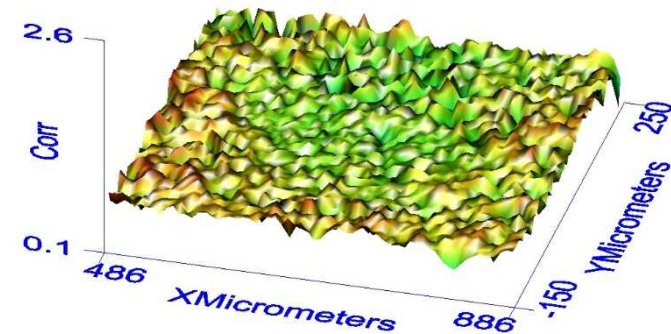
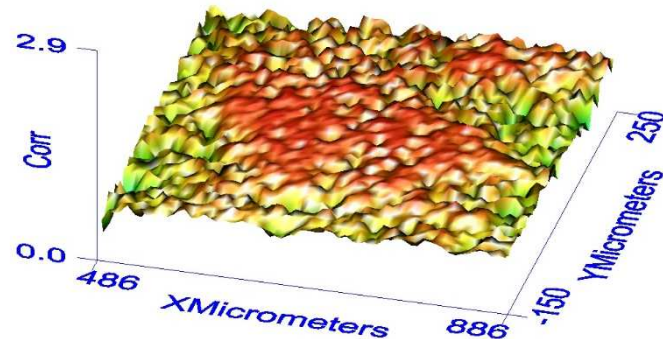
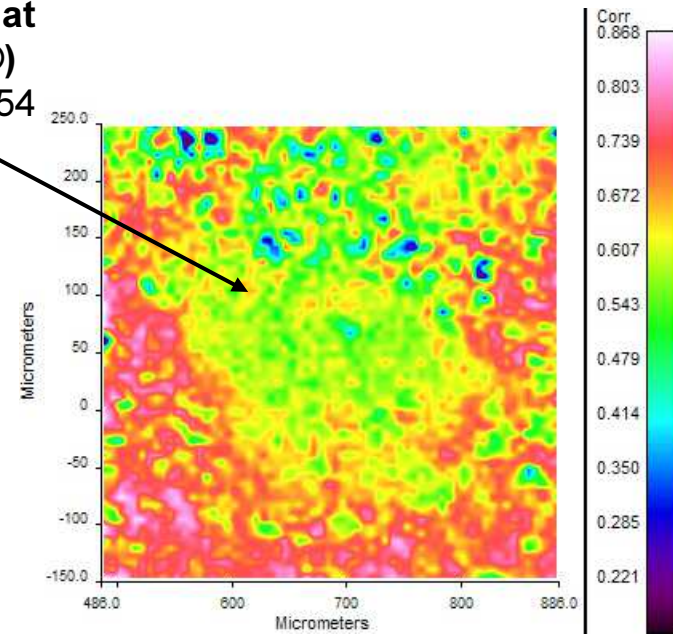
Technológiai probléma vs. imaging: korrelációs térképek (2D és 3D)



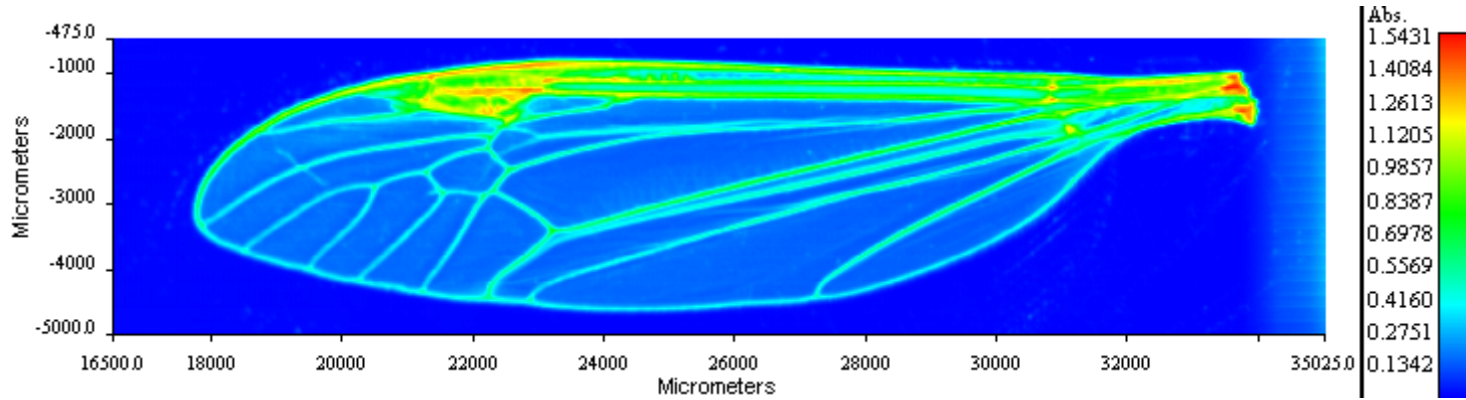
Hatóanyag
 $R^2=0,88-0,96$



Filmbevonat
(Opadry®)
 $R^2=0,41-0,54$

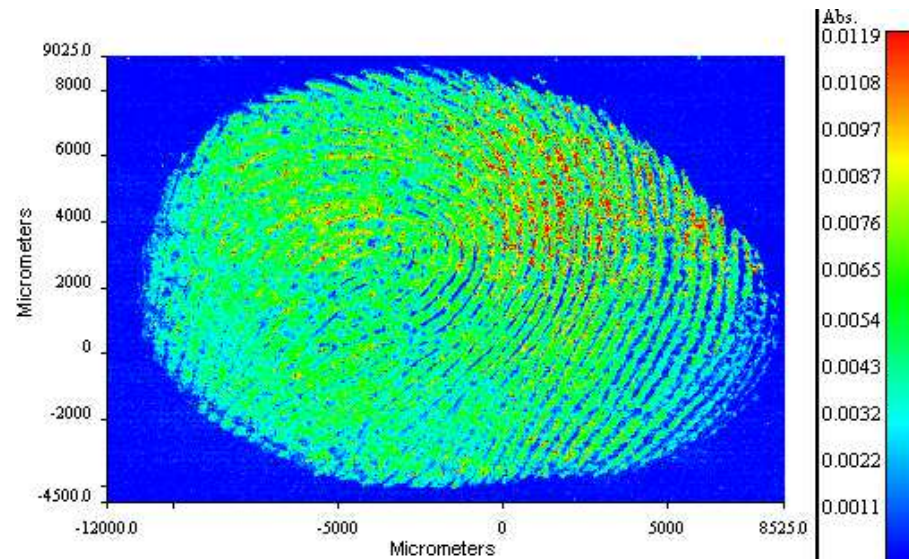


Képes képtelenségek



Szerkezet, összetétel megállapítása roncsolás nélkül.

lószyonyog szárnya: 18,5 mm × 4,5 mm = 132 000 spektrum



Anyagok azonosítása (vegyszer, lőpor) az ujjlenyomaton.

ujjlenyomat: 20 mm × 13,5 mm = 450 000 spektrum

A (N)IR módszerek, technológiák előnyei



- Roncsolásmentes (fermentáció, anyagazonosítás, homogenitás, bevonat, hamisítás, visszáru, csomagolóanyag stb.)
- Gyors (jelsorozatok (másod)perces nagyságrendben képezhetők)
- Rengeteg rejtett információ megfejthető (adatbányászat, oknyomozások)
- Gyors visszacsatolás a technológiába, minőségellenőrzésbe, minőségbiztosításba
- FDA „alternatív” módszere
- Költséghatékony, nagy áteresztőképességű
- Tudásintenzív módszerek

A nemtudás
tudása
a tudás
kezdeté...

Köszönetnyilvánítás



Párta László¹, Ballagi András¹

Kiss Violetta², Finta Zoltán²

Horgos József^{3,4}, Zelkó Romána⁴

Jekő József⁵, Csorvássy István⁵

Lakatos László⁶, Axel Rau⁷

Izsó Eszter⁸, Tieger Eszter⁸, Lőrincz Áron⁸, Kontsek Endre⁸

¹ Richter Gedeon Nyrt.

² sanofi-aventis Zrt.

³ Hungaropharma Zrt.

⁴ SE Egyetemi Gyógyszertár, Gyógyszerügyi Szervezési Intézet

⁵ Nyíregyházi Főiskola, Kémia Intézeti Tanszék / Alkaloida Vegyészeti Gyár Zrt.

⁶ PER-FORM Hungária Kft., Analitikai Divízió

⁷ PerkinElmer, Rodgau

⁸ BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

