



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Franka Sunjka i Jakov Borovec

**Klasifikacija hrvatskih i slovenskih pjenušavih
vina prema geografskom podrijetlu primjenom
spektroskopije DOSY NMR i dubokog
pojačanog učenja**

Zagreb, 2025.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za analitičku kemiju i Zavodu za fizikalnu kemiju Kemijskog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Predraga Novaka i prof. dr. sc. Tomice Hrenara te je predan na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2024./2025.

POPIS KRATICA

Kratika	Značenje (engl.)	Značenje (hrv.)
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>	nuklearna magnetska rezonancija
OIV	<i>International Organisation of Vine and Wine</i>	Međunarodna organizacija za lozu i vino
GC-MS	<i>gas chromatography-mass spectrometry</i>	vezani sustav plinske kromatografije i spektrometrije masa
GC-O	<i>gas chromatography-olfactometry</i>	olfaktometrijska analiza uz plinsku kromatografiju
PDO	<i>protected designation of origin</i>	zaštićena oznaka izvornosti
PGI	<i>protected geographical indication</i>	zaštićena oznaka geografskog podrijetla
SPE	<i>solid-phase extraction</i>	ekstrakcija na čvrstoj fazi
SPME	<i>solid-phase microextraction</i>	mikroekstrakcija na čvrstoj fazi
HS-SPME	<i>headspace solid-phase microextraction</i>	mikroekstrakcija na čvrstoj fazi uz uzorkovanje para iznad uzorka
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>	tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti
UV-Vis	<i>ultraviolet-visible spectroscopy</i>	spektroskopija u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra
FT-IR	<i>Fourier-transform infrared spectroscopy</i>	infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom
ICP-MS	<i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i>	spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu
SNIF-NMR	<i>Site-specific Natural Isotope Fractionation</i>	
NOESY	<i>nuclear Overhauser effect spectroscopy</i>	spektroskopija nuklearnog Overhauserovog efekta
NOE	<i>nuclear Overhauser effect</i>	nuklearni Overhauserov efekt
TOCSY	<i>total correlation spectroscopy</i>	totalna korelacijska spektroskopija
DOSY NMR	<i>diffusion ordered NMR spectroscopy</i>	spektroskopija NMR s poredanom difuzijom
FFT	<i>fast Fourier transform</i>	brza Fourierova transformacija

ILT	<i>inverse Laplace transform</i>	inverzna Laplaceova transformacija
PFG	<i>pulsed field gradients</i>	gradijentni pulsevi
MRI	<i>magnetic resonance imaging</i>	oslikavanje magnetskom rezonancijom
PGSE	<i>pulsed gradient spin echo</i>	spinska jeka gradijentnih pulseva
STE	<i>stimulated echo</i>	stimulirana jeka
LED	<i>longitudinal eddy-current delay</i>	longitudinalna odgoda vrtložne struje
BPLED	<i>bipolar LED</i>	bipolarni LED
DSTE	<i>double STE</i>	dvostruka spinska jeka gradijentnih pulseva
TLU	<i>threshold logic unit</i>	logička jedinica praga
RMSE	<i>root mean square error</i>	korijen srednje kvadratne pogreške
CV	<i>cross validation</i>	unakrsna validacija
LOO-CV	<i>leave-one-out cross validation</i>	unakrsna validacija uz izostavljanje po jednog člana
PCA	<i>principal component analysis</i>	analiza glavnih komponenata
SVD	<i>singular value decomposition</i>	dekompozicija na singularne vrijednosti
HOSVD	<i>higher-order singular value decomposition</i>	dekompozicija na singularne vrijednosti višeg reda
TUCKALS	<i>Tucker alternating least squares</i>	Tuckerova dekompozicija metodom alternirajućih najmanjih kvadrata
HOOI	<i>higher-order orthogonal iteration</i>	algoritam ortogonalnih iteracija višeg reda
TSP-d4	<i>3-(trimethyl-silyl)-propanoic acid-d₄ sodium salt</i>	3-(trimetil-silil)-propionska kiselina-d ₄ natrijeva sol
MWA	<i>multi-way analysis</i>	višesmjerna analiza

SADRŽAJ

§ 1. UVOD.....	1
1.1. Pjenušava vina.....	1
1.2. Suvremena analiza vina.....	2
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Kemijska pozadina.....	3
2.2. Sorte grožđa, geografsko podrijetlo i tehnike proizvodnje	5
2.3. Pregled analitičkih tehnika u analizi vina.....	6
2.4. Spektroskopija NMR.....	7
2.4.1. ^1H NMR.....	7
2.4.2. DOSY NMR.....	10
2.5. Umjetne neuronske mreže.....	14
2.5.1. Umjetni neuron, sloj neurona te arhitektura neuronskih mreža	15
2.6. Nadzirano učenje neuronskih mreža.....	21
2.6.1. Strukturiranje podataka i evaluacije modela.....	21
2.6.2. Algoritam propagacije pogreške unatrag	23
2.6.3. Metode dubokog pojačanog učenja	26
2.7. Tucker3 dekompozicija tenzora.....	27
2.7.1. Definicije i osnovni pojmovi.....	27
2.7.2. Operacije s tenzorima	29
2.7.3. Tuckerova dekompozicija.....	31
§ 3. CILJ	36
§ 4. EKSPERIMENTALNI DIO	37
4.1. Uzorci pjenušavih vina	37
4.2. Priprema uzoraka	38
4.3. Uvjeti snimanja	38
4.4. Obrada spektara DOSY NMR.....	40
4.5. Klasifikacija uzoraka s obzirom na geografsko podrijetlo metodom dubokog pojačanog učenja	40
§ 5. REZULTATI I RASPRAVA	42
5.1. Jednodimenzijski spektri ^1H NMR.....	42
5.2. Spektri DOSY NMR	51
5.3. Klasifikacija uzoraka pjenušavih vina dubokim pojačanim učenjem	54
§ 6. ZAKLJUČAK	57

§ 7. LITERATURNI IZVORI.....	58
SAŽETAK.....	LXII
ABSTRACT	LXIII
ZAHVALE	LXIV

§ 1. UVOD

1.1. Pjenušava vina

Pjenušava vina spadaju u grupu posebnih vina te se proizvode tehnikama koje je odobrila Međunarodna organizacija za lozu i vino (engl. *International Organisation of Vine and Wine*, OIV). Karakterizira ih perlanje (engl. *effervescence*) prilikom odčepljivanja boce uslijed oslobađanja ugljikova dioksida, a shematski je prikazano na slici 1.1 Pjenušava vina moraju pri temperaturi od 20 °C imati tlak ugljikova dioksida barem 3,5 bara u boci, odnosno 3 bara za boce koje su volumena manjeg od 0,25 L. Visoki tlak plina i ostalih prisutnih komponenti odgovoran je za nastanak pjene prilikom lijevanja u čašu. Ako je ugljikov dioksid u vinu egzogenog porijekla i ne potječe od fermentacije, odnosno kontinuirano je dodavan u ohlađeno vino, takvo se gazirano vino smatra lošije kvalitete (engl. *fizzy wine*).



Slika 1.1. Karakterističan izgled pjenušavog vina. Slika preuzeta i prilagođena iz reference.¹

U posljednje vrijeme zabilježen je porast u konzumaciji pjenušavih vina. Daleko su najpoznatija pjenušava vina koja se proizvode tradicionalnom (klasičnom) tj. *champenoise* metodom u francuskoj pokrajini Champagne. Još je u kasnom 17. stoljeću zabilježen prvi trag o proizvodnji pjenušavih vina u toj pokrajini. Kad je riječ o pjenušavim vinima proizvedenima tradicionalnom metodom, ali u regijama koje nisu Champagne, koristi se naziv *Crémant*. S vremenom se proizvodnja pjenušavih vina proširila iz Francuske i na regije u Njemačkoj (rizling), Portugalu, Španjolskoj (Cava), Italiji (spumanti), Ujedinjenom Kraljevstvu, Južnoj Africi, Australiji i Sjevernoj Americi. Postoje razni stilovi pjenušavih vina, ponajprije ovisno o klimi, vrsti tla, sorti grožđa i tehnologiji proizvodnje koja se primjenjuje u nekoj regiji te sadrže različite udjele alkohola, šećera i ugljikova dioksida.

Za proizvodnju pjenušavog vina potrebno je bazno vino koje mora ispunjavati određene zahtjeve, primjerice mora imati niski udio sumporova dioksida i nisku hlapljivu kiselost. Proizvod koji ide u sekundarnu fermentaciju sadrži bazno vino i/ili mošt i/ili njihovu smjesu te se dodaju kvasci kako bi se potaknula sekundarna fermentacija. Sekundarna, odnosno naknadna fermentacija prilikom koje nastaje ugljikov dioksid, karakteristična je za pjenušava vina i može se odvijati u boci (klasična metoda) ili u zatvorenom izobaričnom spremniku (Charmat metoda).¹⁻⁵

1.2. Suvremena analiza vina

Prema nekim podacima, čak je 10% cjelokupnog asortimana hrane koji se prodaje krivotvoreno, posebice kad je riječ o mlijeku, maslinovom ulju, alkoholu, medu, začinima, mesu i ribi. Stoga, velika važnost analize vina počiva u problemu autentičnosti jer je vino česta meta krivotvorina poput lažnog predstavljanja geografskog podrijetla i sorte grožđa, a koje s vremenom postaju sve sofisticiranije. Europska Unija procjenjuje da uz probleme s povjerenjem kupaca i zdravlja navedeno dovodi do ekonomskih gubitaka u iznosu gotovo milijardu eura godišnje. Upravo su zato razvoj i optimizacija metoda analize za detekciju krivotvorina i autentifikaciju vina od iznimnog interesa. Tako je tvrtka Bruker razvila metodu analize za automatiziranu kontrolu kvalitete u profiliranju vina koja je akreditirana normom ISO17025-18, a počiva na upotrebi spektroskopije NMR (engl. *nuclear magnetic resonance*) za kvantificiranje preko 50 komponenti u vinu. Spektroskopske tehnike prednjače u odnosu na ostale analitičke metode zahvaljujući brzini i točnosti njihovih rezultata. Upotrebom spektroskopije nuklearne magnetske rezonancije (NMR) uz kemometričke metode mogu se stvoriti robusne baze podataka vina koja se razlikuju primjerice prema specifičnim geografskim regijama ili pak sortama grožđa. Time bi se znatno olakšali naponi u autentifikaciji vina i detekciji sofisticiranih krivotvorina.⁵⁻¹¹ Za potrebe pouzdane klasifikacije uzoraka na temelju složenih spektara NMR u kategorije^{12,13} kao što su geografsko podrijetlo, često se pribjegava uporabi strojnog učenja u slučaju kada standardne kemometričke metode poput klasterne analize nisu uspješne.¹⁴

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Kemijska pozadina

Vina, pa tako i pjenušava vina, konzumiraju se zahvaljujući svojim jedinstvenim senzornim karakteristikama. Razne skupine organskih spojeva sačinjavaju vino, ali kao i kod ostalih fermentiranih pića, glavne komponente nakon vode koja čini gotovo 80% vina su alkoholi, organske kiseline i ostatci šećera. Među njima su najzastupljeniji alkoholi: etanol (12–13 %), glicerol i metanol; kiseline: jabučna, mliječna, limunska, octena, vinska i jantarna te šećeri: fruktoza, glukoza i sukroza.^{1,15,16}

No, vino je složena matrica koja se sastoji od mnogobrojnih hlapljivih i nehlapljivih kemijskih spojeva prisutnih u koncentracijama od reda veličine g/L sve do ng/L. Neki od ostalih značajnijih kemijskih spojeva prisutnih u pjenušavim vinima su razne aminokiseline, polisaharidi (arabinoza, galaktoza itd.) te fenoli. Kad je riječ o fenolnim spojevima prisutnima u pjenušavim vinima, oni se dijele na flavonoide i neflavonoide. Među neflavonoide spadaju: tirozol, triptofol, derivati hidroksibenzenske kiseline (galna, *p*-hidroksibenzenska, siringična i dr.), hidroksicimetne kiseline (*trans*-kafeinska, *trans-p*-kumarinska i *cis-p*-kumarinska, ferulična), esterificirani hidroksicinamati te stilbeni (npr. *cis*-resveratrol i *trans*-resveratrol). Predstavnici flavonoida u pjenušavim vinima su podvrste: flavonoli, antocijanini (zaslužni za boju crnih vina), katehini (flavan-3-oli; značajni su (+)-katehin i (-)-epikatehin) i procijanidini.^{1,4,17,18}

Razni čimbenici utječu na konačni kemijski sastav pjenušavog vina. Primjerice, vinska kiselina glavna je organska kiselina u pjenušavim vinima, dok je udio jabučne kiseline ovisan o klimatskim čimbenicima i implementaciji malolaktične fermentacije. Kad je riječ o udjelu polifenolnih spojeva u pjenušavim vinima, na njihov sadržaj utječu sorta grožđa, berba (engl. *vintage*), vrsta tla, zrelost prilikom ubiranja grožđa, metoda proizvodnje i dr. Ugljikov dioksid u pjenušavim je vinima prisutan u koncentracijama 2–12 g/L, a njegov pak sadržaj ovisi ponajprije o metodi proizvodnje. Naposljetku, na kemijski sastav vina mogu utjecati i različite tehnike korištene prilikom proizvodnje, pa tako materijal bačve u kojoj vino dozrijeva može obogatiti senzorne karakteristike vina.^{4,19}

Glavna svojstva koja određuju kvalitetu pjenušavih vina su: perlanje, boja i aroma. Od navedena tri svojstva, svakako je najkarakterističnije perlanje i kvaliteta pjene, na koje

direktno utječe kemijski sastav pjenušavog vina. Naime, pjenušava vina i njihova konzumacija u mnogim je kulturama simbol proslave i veselja, stoga je njihov vizualni identitet vrlo bitan parametar za određivanje kvalitete. Primjerice, antocijanini i aminokiseline pozitivno doprinose razvoju pjene, odnosno njenoj stabilnosti i visini, dok je doprinos proantocijanidina negativan. Iako velik broj međusobnih interakcija otežava jednoznačno tumačenje i korelaciju pjenjenja sa kemijskim sastavom, neki spojevi od interesa koji utječu na svojstva pjene su: etanol, proteini, aminokiseline, polisaharidi te polifenoli. Perlanje pak nastaje uslijed izdizanja lanaca mjehurića kroz tekućinu odnosno pjenušavo vino. Hladnija pjenušava vina sadrže više otopljenog ugljikovog dioksida (niži tlak) te je otpuštanje ugljikova dioksida prilikom otvaranja sporije, a perlanje i pjena traju duže. Osim toga, odabir čaše također utječe na trajanje perlanja i pjene te se upravo zato preferiraju tzv. flaute koje minimiziraju gubitak plina i isparavanje etanola.^{1,4,18}

Na boju pjenušavih vina ponajviše utječu sorte grožđa koje se koriste u njihovoj proizvodnji. Zlatno-žuta vina proizvode se iz bijelih sorti (franc. *blanc de blanc*), a mogu se proizvoditi i iz crnog grožđa (franc. *blanc de noir*) uz dodatne postupke. Rosé pjenušava vina proizvode se iz crnog grožđa te sadrže prirodne pigmente poput karotenoida i fenolnih spojeva. Boja pjenušavih vina uglavnom ovisi o fenolnim spojevima i oksidacijskim reakcijama u kojima oni sudjeluju. Tako su oksidirani fenolni spojevi zaslužni za žutu boju bijelih vina, iako prekomjerna oksidacija može proizvesti smeđu boju koja je neprihvatljiva za određena vina.¹

Naposljetku, najvažnijim parametrom za određivanje prihvatljivosti pjenušavog vina smatra se aroma koja je ponajviše određena sortom grožđa i načinom provedbe sekundarne fermentacije. Aroma potječe iz hlapljivih kemijskih spojeva, a razlike u hlapljivom profilu vina registriraju se mirisanjem. No, za aromu nije zaslužan isključivo jedan kemijski spoj, već je ona posljedica interakcija različitih hlapljivih spojeva, (raznih alkohola, estera, aldehida, fenola i dr.). Senzorni profil pjenušavih vina mnogo je složeniji u odnosu na bazno vino jer tijekom sekundarne fermentacije i dozrijevanja, dolazi do smanjenja koncentracije nekih spojeva poput acetata i etilnih estera, dok se može povećati koncentracija drugih spojeva poput furana i norizoprenoida te 2-feniletanola. Naposljetku, aroma se može proučavati preko kemijskog sastava hlapljivih spojeva (ponajviše sa vezanim sustavom plinske kromatografije i spektrometrije masa, GC-MS), senzornom analizom sa kvalificiranim sudcima i olfaktometrijskom analizom uz plinsku kromatografiju (GC-O). Upotrebom tehnike GC-O

identificirano je mnogo hlapljivih spojeva povezanih s određenom aromom poput: etil-laktata (nalik siru), heksil-acetata (nalik zreloom voću), izobutanola (alkohol) i fenilacetaldehida (cvjetna aroma).^{1,20,21}

2.2. Sorte grožđa, geografsko podrijetlo i tehnike proizvodnje

Klimatski utjecaj na sastav grožđa relativno je teško jednoznačno odrediti s obzirom da u tu kategoriju spadaju razni parametri: temperatura, vlažnost i količina padalina, količina sunčanih sati itd. Primjerice, kad je riječ o Sunčevom zračenju, određeni spojevi kao što su norizoprenoidi i monoterpeni akumuliraju se u grožđu pri povećanoj izloženosti svjetlosti, dok se pak koncentracija metoksipirazina smanjuje. Klimatski uvjeti u europskim zemljama značajno variraju, od hladnije klime u regiji Champagne do sunčanog Mediterana, pa tako u kombinaciji s vrstom tla specifičnog vinograda značajno utječu na kvalitetu pjenušavih vina. No, isto tako i količina padalina i prosječne temperature variraju iz godine u godinu, stoga je jasno kako berba ima značajan utjecaj na sastav vina. Tako su provedena brojna istraživanja za klasifikaciju vina prema uzastopnim berbama, primjerice 2005, 2006 i 2007, ili pak kad se radi o razlici od nekoliko godina, poput 2009 i 2014. Vrsta tla je pak značajna u varijacijama šećera i antocijanina, a manje bitna za ukupnu kiselost i pH. Za razliku od dobro proučenog utjecaja uzgoja grožđa na kvalitetu stolnih vina, kod pjenušavih vina to je područje još nedovoljno istraženo. Nadalje, iako su sorte grožđa koje se koriste u proizvodnji pjenušavih vina od presudne važnosti i utjecaja na njihov aromatski profil, teško je predvidjeti senzorne karakteristike konačnog proizvoda.^{1,3,22,23}

Iz navedenih karakteristika proizlazi važnost geografskog podrijetla u svezi s određenom reputacijom vinske regije te u konačnici utjecaja na percepciju vina. Europska Unija strogo regulira geografske karakteristike te postoje različite legislative o geografskom podrijetlu pa tako vina mogu imati zaštićenu oznaku izvornosti (engl. *protected designation of origin*, PDO) i zaštićenu oznaku geografskog podrijetla (engl. *protected geographical indication*, PGI). Tako se za razlikovanje geografskog podrijetla vina uspješno koristi elementni profil vina temeljem kojeg se mogu stvoriti markeri za karakteristike određenih vinskih regija. Istraživanja se tako najčešće odnose na rubidij, stroncij, mangan, barij, magnezij i kobalt i spregnuta su s multivarijatnom analizom kako bi se proučio doprinos različitih parametara na elementni sastav vina.^{6,24,25}

Kad je riječ o tehnikama proizvodnje pjenušavih vina, velik broj parametara utječe na kvalitetu pjenušavih vina. Primjerice, odabir soja kvasca za fermentaciju, s obzirom da

Swiegers i sur.²⁶ navode 16 vrsta kvasaca povezanih s proizvodnjom vina. Primarna fermentacija preporučeno se provodi u spremnicima od nehrđajućeg čelika uz korištenje mikroorganizama *Saccharomyces cerevisiae* i održavanja temperature ispod 20 °C kako ne bi došlo do gubitka hlapljivih spojeva bitnih za aromatski profil vina. Tijekom alkoholne fermentacije kvasci *Saccharomyces cerevisiae* modificiraju arome, okus, boju i kemiju samog mošta odnosno vina. Ovisno o primijenjenoj tehnici proizvodnje pjenušavih vina, ponajprije tradicionalnoj ili Charmat, opaža se razlika u aromatskom profilu vina. Uzrok tome je spora autoliza kvasaca koja uključuje interakcije između spojeva otpuštenih iz mrtvih stanica kvasaca i vina. Osim soja kvasaca, važno je i vrijeme dozrijevanja, razvoj novih aroma u procesu malolaktične fermentacije, čak i odabir metode ubiranja (ručno ili mehanički). Prilikom priprave mošta mogu se primjenjivati različite preše i tlakovi; sedimentacija ili filtracija; dodatak tvari poput vinske i/ili limunske kiseline te sumporova dioksida.^{1,3,26,27}

2.3. Pregled analitičkih tehnika u analizi vina

Iako mjerenje pH ili specifične gravitacije za udio šećera spadaju u rutinske tehnike, za jednostavnije, brže, točnije i preciznije mjerenje nekih značajnih svojstava vina i pjenušavih vina ključna je primjena spektroskopskih i spektrometrijskih tehnika.¹⁵

Ponekad je prije same analize vina, posebice kad je riječ o ciljanoj analizi specifičnih metabolita, potrebno provesti postupke prekoncentracije ili ekstrakcije. Tako se učestalo provode ekstrakcije na čvrstoj fazi (engl. *solid-phase extraction*, SPE) i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (engl. *solid-phase microextraction*, SPME) odnosno u slučaju vina njena *headspace* varijanta, HS-SPME gdje *headspace* označava uzorkovanje para iznad uzorka vina.²⁸

Tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti (engl. *high performance liquid chromatography*, HPLC) vrlo je točna analitička metoda, međutim zahtijeva razvoj strogog protokola za svaki novi eksperiment, složenu pripremu uzorka i učestalu kalibraciju. Također, GC-MS vrlo je precizna metoda, ali isto tako skupa, spora i destruktivna tehnika čime je onemogućena ponovna upotreba uzorka za druge analize.¹⁵

Nadalje, zabilježena je i upotreba spektroskopskih tehnika kao što su: spektroskopija u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra (engl. *ultraviolet-visible spectroscopy*, UV-Vis), infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*, FT-IR) i Ramanova spektroskopija. Osim toga, spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS)

omogućuje analizu elemenata u tragovima koji mogu upućivati na karakteristično tlo koje pripada određenoj geografskoj regiji.⁶

No, veliki potencijal leži u primjeni spektroskopije NMR za analizu vina. Primjerice, SNIF-NMR (engl. *Site-specific Natural Isotope Fractionation*) kvantitativna je metoda spektroskopije NMR koja omogućava karakterizaciju kemijskog podrijetla metabolita vina, odnosno autentifikaciju geografskog podrijetla određenog vina. U dokazivanju autentičnosti vina, Republika Hrvatska prihvatila je službene metode Europske Unije, pa se tako izotopni omjer specifično vezanog deuterija u etanolu određuje tehnikom ^2H -SNIF-NMR, čime se dobivaju indikacije o krivotvorenju vina dodatkom šećera i vode. Europska komisija propisala je kvantitativni ^1H NMR kao službenu metodu za kvantifikaciju glukoze, jabučne kiseline, octene kiseline, fumarne kiseline, šikiminske kiseline i sorbinske kiseline u vinu.^{23,29,30,31}

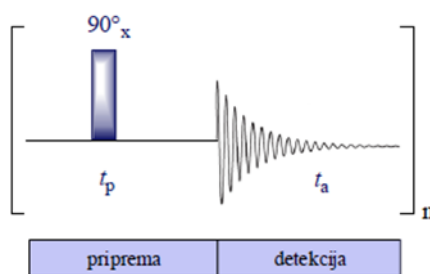
Također, veliki potencijal u primjeni je kombinacija spektroskopije NMR sa spektrometrijom masa, bilo u vezanom sustavu ili kao komplementarnih metoda. Naime, asignacija primarnih i sekundarnih metabolita te njihova varijabilnost u vinu uz implementaciju kemometričkih alata može otkriti brojne senzorne karakteristike, kao i stabilnost samog proizvoda te mikrobiološku aktivnost.³²

2.4. Spektroskopija NMR

2.4.1. ^1H NMR

Spektroskopija NMR temelji se na principu da se određene jezgre atoma selektivno pobuđuju primjenom elektromagnetskog zračenja (radiofrekvencijskih pulseva) pri čemu je njihova pobuda praćena relaksacijom koja se može detektirati. Moguće je detektirati samo aktivne jezgre čiji je kvantni broj nuklearnog spina I različit od 0, a to su one sa neparnim brojem protona i/ili neutrona, poput ^1H , ^{13}C i ^{31}P . Parametri koji su važni u većini eksperimenata NMR su: longitudinalno i transverzalno vrijeme relaksacije (T_1 i T_2), kemijski pomak (δ) u odnosu na referentni signal, konstanta skalarne sprege (J), površina signala i dipolna sprema. Samo mjerenje izvodi se u spektrometru NMR. Otopina ili čvrsta tvar koja se istražuje nalazi se u sondi sa cjevčicom koja se smješta u jaki magnet kojeg okružuje supravodljiva zavojnica te se cjelokupni instrument hladi tekućim helijem.^{33,34}

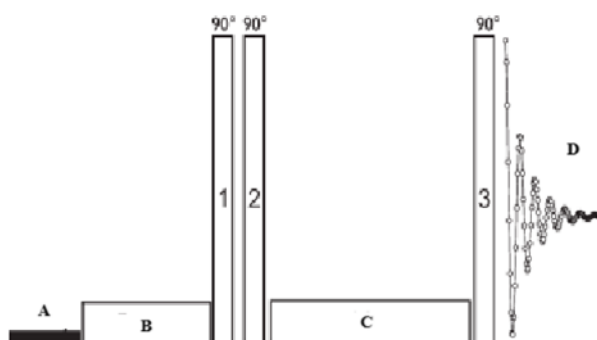
Dakako je najraširenija upravo tehnika ^1H NMR kojom se bilježi ovisnost intenziteta signala kemijski neekvivalentnih protona prisutnih u uzorku o kemijskom pomaku. Koristi se puls od 90° po osi x, a pulsni slijed koji se sastoji od perioda pripreme i perioda detekcije ponavlja se n puta radi boljeg odnosa signala prema šumu (slika 2.1).³⁴

Slika 2.1. Pulsni slijed tehnike ^1H NMR.³⁴

Spektroskopija NMR ima mnogobrojne prednosti od kojih se ističu: nedestruktivnost prilikom identifikacije i kvantifikacije spojeva u jednom relativno brzom eksperimentu, visoka ponovljivost i točnost u velikom dinamičkom rasponu te mogućnost ciljane i neciljane analize. Velika je prednost i identifikacija spojeva bez upotrebe skupocjenih referentnih spojeva, kao i nezahtjevna priprava uzorka. Naime, tehnika ^1H NMR u slučaju vina kao složenih uzoraka za analizu zahtijeva jedino dodatak pufera koji pak sadrži deuterirano otapalo i referentni spoj za kalibriranje kemijskog pomaka. Nadalje, iz jednog spektra može se dobiti mnoštvo informacija o glavnim komponentama složene smjese. Kad je riječ o kvantitativnoj analizi, intenzitet signala u spektru NMR izravno je proporcionalan broju jezgri. U novije doba, razvojem supravodljivih magneta i kriosondi te različitih metoda supresije otapala, značajno je poboljšana osjetljivost spektroskopije NMR.^{5,35,36}

Kad je riječ o analizi hrane koja neminovno sadrži veliki udio vode, bitno je na određeni način suprimirati otapalo tj. vodu kako njen signal u spektrima NMR ne bi zaklanjao ostale signale spojeva od interesa. Osim vode, u slučaju vina prisutna je i relativno velika količina etanola, no njegovi signali ne dominiraju spektrom onoliko drastično koliko je to u slučaju signala vode. Voda se može ukloniti liofilizacijom, ali njeni nedostaci su povećanje vremena eksperimenta i izmjena početnog sastava uzorka, kao i činjenica da dio vode zaostaje u uzorku. Stoga se koriste razne tehnike supresije signala otapala kako bi se omogućila detekcija molekula mnogo manje zastupljenih u uzorku od samog otapala i čiji su signali posljedično znatno slabiji. U tehnike supresije signala otapala spadaju: WATERGATE, prezasićenje i jednodimenzijski (1D) NOESY (engl. *nuclear Overhauser effect spectroscopy*) čija je prednost u odnosu na druge tehnike supresije otapala minimalna distorzija bazne linije. Nuklearni Overhauserov efekt (NOE) bitan je za niz tehnika spektroskopije NMR, tako i za tehniku NOESY s obzirom da skraćuje vrijeme snimanja heteronuklearnih spektara uslijed povećanja intenziteta linija ukoliko postoji mehanizam križne relaksacije. Za metabolomička

istraživanja prehrambenih proizvoda, tehnika 1D- ^1H -NOESY (slika 2.2) vrlo je pogodna s obzirom da je supresija vode jednostavna i učinkovita. Vrijeme odgode vidljivo na početku odnosi se na vrijeme potrebno za uspostavu ravnoteže. 1D- ^1H -NOESY tehnika započinje dugim pulsom niske jakosti koji omogućuje selektivnost za rezonanciju otapala nakon čega slijede tvrdi pulsevi od 90° . Tijekom vremena miješanja ponovno se primjenjuje dugi puls niske jakosti kojeg slijedi još jedan puls od 90° prije akvizicije.^{34,36,37,38}



Slika 2.2. Pulsni slijed 1D- ^1H -NOESY tehnike. A – vrijeme odgode (uspostava ravnoteže), B – dugi puls niske jakosti (selektivnost za rezonanciju otapala), C – vrijeme miješanja, D – vrijeme akvizicije; 1, 2, 3 – tvrdi pulsevi od 90° . Preuzeto i prilagođeno prema referenci.³⁸

Ukupni spektar NMR uzoraka vina predstavlja molekulski otisak prsta za usporedbu različitih vina, a služi i kao metabolom vina kojeg modificiraju specifični parametri poput: geografskog podrijetla, tehnike uzgoja, sorte grožđa, tehnike fermentacije i dodatka enzima ili tvari za bistrenje. Takvo profiliranje vina može poslužiti za kontrolu kvalitete u industrijskim postrojenjima i autentifikaciju samog proizvoda. Primjerice, iz jednog ^1H NMR spektra vina moguće identificirati i kvantificirati istovremeno do 100 spojeva čiji su spektri dostupni u bazama podataka otvorenog pristupa. Tako su etanol, metanol i jantarna kiselina najbitniji markeri alkoholne fermentacije; kaftarna, šikiminska i vinska kiselina karakteristične su za grožđe, a 2-feniletanol indicira intenzitet fermentacije. Iz navedenog je očigledna rutinska primjena tehnike ^1H NMR za detekciju i kvantifikaciju oko 50 metabolita učestalo prisutnih u vinu.^{33,39}

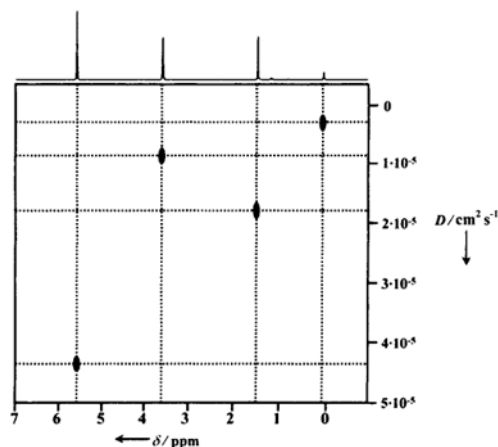
Vrijedi istaknuti kako u posljednjih nekoliko godina gotovo petina objavljenih radova iz područja NMR i metabolomike u istraživanju hrane potječe iz enologije i srodnih područja. Kvantitativni ^1H NMR posebno je koristan u sprezi sa multivarijatnim tehnikama te je

korišten za utvrđivanje autentičnosti vina, berbe, utjecaja tehnike uzgoja i dr. Tako su H. M. Charnock i sur. primijenili metabolomiku ^1H NMR za praćenje dozrijevanja pjenušavih vina. Iako su metabolomska proučavanja uz ^1H NMR sve popularnija u proučavanju vina, mnogo manje istraživanja provedeno je na pjenušavim vinima.⁴⁰

Međutim, kad je riječ o kvalitativnoj analizi, uslijed povećanih spektralnih preklapanja jednodimenzijski spektri ^1H NMR najčešće nisu dovoljni kako bi se jednoznačno odredili svi prisutni spojevi u nekoj složenoj matrici. Iz tog razloga implementiraju se i dvodimenzijske (2D) tehnike NMR. Primjerice, TOCSY (engl. *total correlation spectroscopy*) je homonuklearna tehnika koja daje informacije o korelacijama ^1H jezgri preko spin-spin J-sprege kako bi se identificirali ukupni spinski sustavi protona u molekuli. Iako traju duže, uslijed postojanja druge frekvencijske dimenzije 2D eksperimenti omogućuju veću razlučivost od 1D NMR.^{23,34,36}

2.4.2. DOSY NMR

DOSY NMR (engl. *diffusion ordered NMR*) jest pseudo-dvodimenzijska tehnika čiji spektri u jednoj dimenziji sadrže kemijske pomake za ^1H jezgre, a u drugoj translacijske difuzijske koeficijente. Prikaz tipičnog spektra DOSY NMR dan je na slici 2.3. Informacije o kemijskom pomaku proizlaze iz brze Fourierove transformacije (engl. *fast Fourier transform*, FFT) vremenske domene, a informacije o difuziji nakon provođenja inverzne Laplaceove transformacije (ILT). Dakle, komponente neke složene smjese odvajaju se spektroskopski, bez fizičke separacije, na temelju translacijske difuzije pri čemu veće molekule difundiraju sporije i imaju manje difuzijske koeficijente. Upravo se zbog sličnosti s kromatografskim odvajanjem tvari tehnika DOSY naziva i „kromatografijom NMR“. Na temelju mjerenja DOSY NMR osim translacijskih difuzijskih koeficijenata (D) mogu se izračunati i hidrodinamički radijusi čime se dobiva uvid i u veličinu molekula. Osim same veličine molekule, na brzinu difuzije utječu i interakcije prisutnih agregata ukoliko oni nastaju u promatranom sustavu te se gibaju sporije od njihovih monomera, stoga DOSY NMR pruža informacije i o formiranju raznih struktura, molekulskih konformacija i specifičnih interakcija od nanoskale do makroskopske razine.^{14,41,42,43}



Slika 2.3. Primjer spektra DOSY NMR na kojem su vidljivi signali četiri različite specije kojima pripadaju i četiri različita translacijska difuzijska koeficijenta.⁴³

U tehnici DOSY NMR koriste se gradijentni pulsevi (engl. *pulsed field gradients*, PFG) koji uključuju primjenu dodatnog magnetnog polja (B_g) uz jakost linearnog gradijenta G . Pritom se takvo magnetno polje linearno mijenja uzduž z-osi te se nakon primjene istog gradijenta suprotnog smjera na defokusirane spinove (nema signala u spektru) magnetizacija refokusira (dobivaju se signali u spektru). Navedeno je pogodno za odabiranje pojedine koherencije odnosno signala koji se žele detektirati. Gradijentni pulsevi stoga nalaze primjenu u smanjenju šuma prilikom snimanja spektara NMR, supresiji signala otapala i u oslikavanju magnetskom rezonancijom (engl. *magnetic resonance imaging*, MRI).^{34,42,43,44}

Kao što je već navedeno, tehnika DOSY NMR pogodna je za određivanje translacijskog difuzijskog koeficijenta te posljedični izračun hidrodinamičkog radijusa. Difuzijski koeficijent opisuje ukupan učinak nasumičnog termalnog gibanja čestica u otopini u izostanku gradijenta kemijskog potencijala te je određen uvjetima poput vrste otapala i temperature, a ovisi o veličini, obliku i masi molekule. U nehomogenim medijima kao što su porozni materijali i biološki sustavi, osim slobodne difuzije mogući su još neki načini difuzije poput ograničene (engl. *restricted*) i anizotropne (engl. *anisotropic*) difuzije.^{43,44,45}

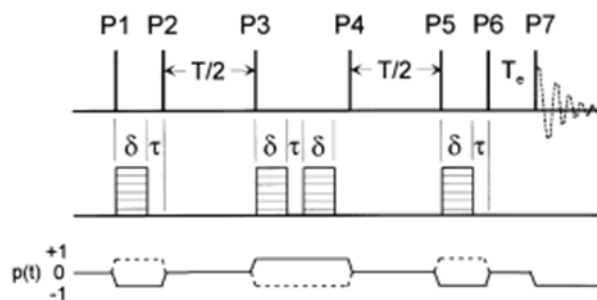
Stokes-Einsteinova jednačba opisuje povezanost translacijskog difuzijskog koeficijenta s hidrodinamičkim radijusom za sfernu česticu koloidnih dimenzija koja se giba stalnom brzinom u fluidu. Međutim, navedenu jednačbu potrebno je modificirati kad se proučavaju čestice čije dimenzije nisu znatno veće u odnosu na otapalo tj. sličnih su dimenzija ili pak nesferičnog oblika:

$$D = (k_B T) / (f_S c \pi \eta r_H)$$

Pritom je k_B Boltzmannova konstanta, T termodinamička temperatura, r_H hidrodinamički radijus, a η viskoznost fluida; faktor f_s korigira oblik, a faktor c korigira veličinu čestica.⁴⁴

Postoji nekoliko tehnika spektroskopije NMR koje su pogodne za mjerenje translacijske difuzije te su još 1965. godine Stejskal i Tanner osmislili pulsni slijed za mjerenje difuzijskih koeficijenata. Primjerice, za protone u otopini značajan je doprinos spinskoj relaksaciji preko dipol-dipol interakcija kroz translacijsku difuziju te se stoga mjerenjem relaksacijskog vremena T_1 mogu dobiti određene informacije o difuziji. Jedan od najkorištenijih pulsni slijedova u tehnici DOSY NMR svakako je PGSE (engl. *pulsed gradient spin echo*) koji je u suštini modifikacija Hahnove spinske jeke. Upotreba slijeda PGSE uključuje snimanje n jednodimenzijskih spektara dok se varira jakost PFG uzduž z-osi. Nadalje, koristi se i pulsni slijed STE (engl. *stimulated echo*) koji sadrži tri pulsa od 90° . U usporedbi s PGSE, STE je pogodan za dobivanje difuzijskih spektara za sustave s malim T_2 vremenima. Osim PGSE i STE, u tehnici DOSY NMR učestalo se primjenjuje longitudinalna odgoda vrtložne struje (engl. *longitudinal eddy-current delay*, LED) i bipolarni LED slijedovi (BPLED). Naime, gradijentni pulsevi, posebno kad se jaki pulsevi koriste s malim odgodama, induciraju vrtložne struje u sondi i magnetu koje pak mogu uzrokovati distorzije u spektru. Stoga je potrebno onemogućiti stvaranje vrtložnih struja te su u tu svrhu razvijeni slijedovi poput LED koji je modifikacija STE uz dodatak dvaju pulseva od 90° i odgode na kraju slijeda STE. Upotrebom četvrtog pulsa od 90° magnetizacija je orijentirana u longitudinalnom smjeru dok opadaju vrtložne struje i nakon određenog vremena peti puls od 90° vraća magnetizaciju te započinje akvizicija. U slijedu BPLED svaki je gradijentni puls u slijedu LED zamijenjen s dva pulsa različite polarnosti između kojih je puls od 180° .^{42,43,45,46}

Također, u tehnici DOSY NMR mogu biti prisutne konvekcijske struje uslijed temperaturnih gradijenata, posebice ako je riječ o neviskoznim uzorcima. U nekim slučajevima devijacija prouzročena konvekcijskim strujama može se pogrešno protumačiti kao povećanje translacijskog difuzijskog koeficijenta. Kako bi se njihov utjecaj minimizirao, potreban je dobar dizajn sustava za kontrolu temperature i upotrebu cjevčica NMR manjeg promjera. U slučajevima upotrebe otapala niske viskoznosti preporučljiva je upotreba posebnih pulsni slijedova koji nisu osjetljivi na konstantne brzine, poput DSTE (engl. *double STE*) koji je prikazan na slici 2.4.⁴²



Slika 2.4. Slijed DSTE (dvostruki STE) gradijentnih pulseva koji je neosjetljiv na brzinu.

Preuzeto i prilagođeno prema referenci.⁴²

Naposljetku, intenzitet signala u spektru DOSY NMR dan je sljedećom jednačbom:

$$I = I_0 \exp(-D\gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta_t/3))$$

pri čemu I označava intenzitet signala, a I_0 početni intenzitet signala; D je translacijski difuzijski koeficijent, γ žiromagnetska konstanta, G primijenjeni gradijent, Δ difuzijsko vrijeme te δ_t trajanje gradijenta. Upotrebom PFG uz varirajuće G (jakost linearnog gradijenta), a konstantne δ_t (trajanje gradijenta) i Δ (odgoda između dva gradijentna pulsa), akvizicijom serije eksperimenata NMR može se odrediti translacijski difuzijski koeficijent D prema odgovarajućim jednačbama poznatima za određeni pulsni slijed.^{43,44,45,47}

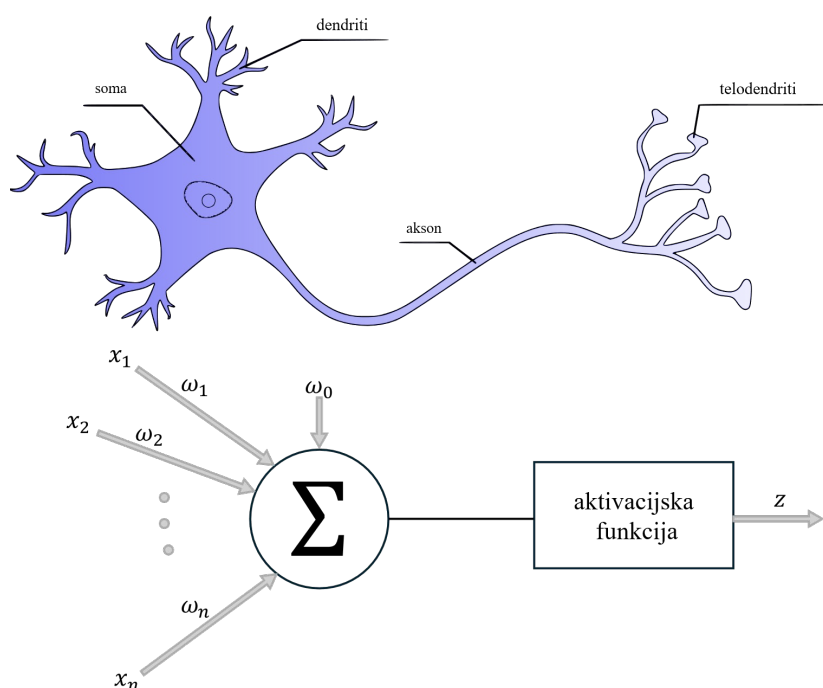
2.5. Umjetne neuronske mreže

Umjetne neuronske mreže (engl. *Artificial Neural Networks*, ANNs), računalne strukture prvotno inspirirane biološkim neuronima, mogu se koristiti za rješavanje različitih problema te za brojne primjene, a koje uključuju računalni vid, procesiranje prirodnog jezika (engl. *natural language processing*), pretprocesiranje podataka, klasifikaciju podataka, provođenje nelinearne regresije, generiranje podataka i sl.⁴⁸ Primjenjivost neuronskih mreža na navedeno proizlazi iz njihovog načina rada koji se na razini obrade podataka inherentno razlikuje od konvencionalne von Neumannove arhitekture računala: umjesto nužnog poznavanja unaprijed definiranog algoritma koji se koristi za rješavanje odgovarajućeg problema, neuronska mreža uči na temelju dostupnih podataka samostalno ili „s učiteljem“ (engl. *supervised learning*) pri čemu podatci ne moraju nužno biti precizni ili potpuni.^{49,50}

Modeli preteče suvremenih neuronskih mreža razvijeni tijekom 60-ih godina prošlog stoljeća, bili su jednostavni linearni modeli inspirirani strukturom živčanih sustava⁵¹ razvijeni upravo u svrhu modeliranja bioloških neurona, zbog čega zapravo pripadaju području računarske neuroznanosti.⁴⁸ Idući iskorak u razvoju područja neuronskih mreža dogodio se tijekom 80-ih godina primjenom ideje konekcionizma, odnosno mogućnosti postizanja značajne složenosti sustava povezivanjem jednostavnih računalnih podjedinica u jedinstvenu mrežu⁴⁹ što se i zadržalo kao jedna od karakteristika suvremenih neuronskih mreža. Dodatno, u istom periodu razvijen je i tzv. algoritam propagacije unatrag (engl. *backpropagation algorithm*),⁵² temelj brojnih pristupa učenja neuronskih mreža koji omogućava brz i jednostavan izračun gradijenata funkcije pogreške s obzirom na parametre neuronske mreže. Premda su temelji strojnog učenja već dugo poznati, sveobuhvatnija primjena neuronskih mreža podudara se sa značajnijim razvojem računalnih resursa, ali i količinom podataka dostupnih za treniranje neuronskih mreža koji su bili neophodni za njihovu adekvatnu primjenu.⁴⁸

2.5.1. Umjetni neuron, sloj neurona te arhitektura neuronskih mreža

Prvi matematički model umjetnog neurona, TLU-perceptron (engl. *Threshold Logic Unit*, TLU),⁵³ motiviran je biološkim neuronima na način da je fizički podražaj neurona zamijenjen numeričkim ulazom koji može rezultirati daljnjom propagacijom signala prema drugim umjetnim neuronima u mreži ako je podražaj na dani neuron dovoljno izražen. Jačina sinapsi među neuronima opisuje se pripisivanjem uteznih koeficijenata ω_i (engl. *weights*) svim vezama između neurona, a reguliranje propuštanja primljenih impulsa vrši se putem aktivacijske funkcije; u slučaju TLU-perceptrona, funkcijom praga.⁴⁹ Na slici 2.5 prikazana je usporedba biološkog neurona s TLU-perceptronom.



Slika 2.5. Shematski prikaz biološkog neurona te TLU-perceptrona, prilagođeno prema izvorima.^{49,54}

U općenitom slučaju, za proizvoljan broj ulaznih vrijednosti, izlazna vrijednost neurona odnosno čvora (engl. *node*) dobiva se prema izrazu

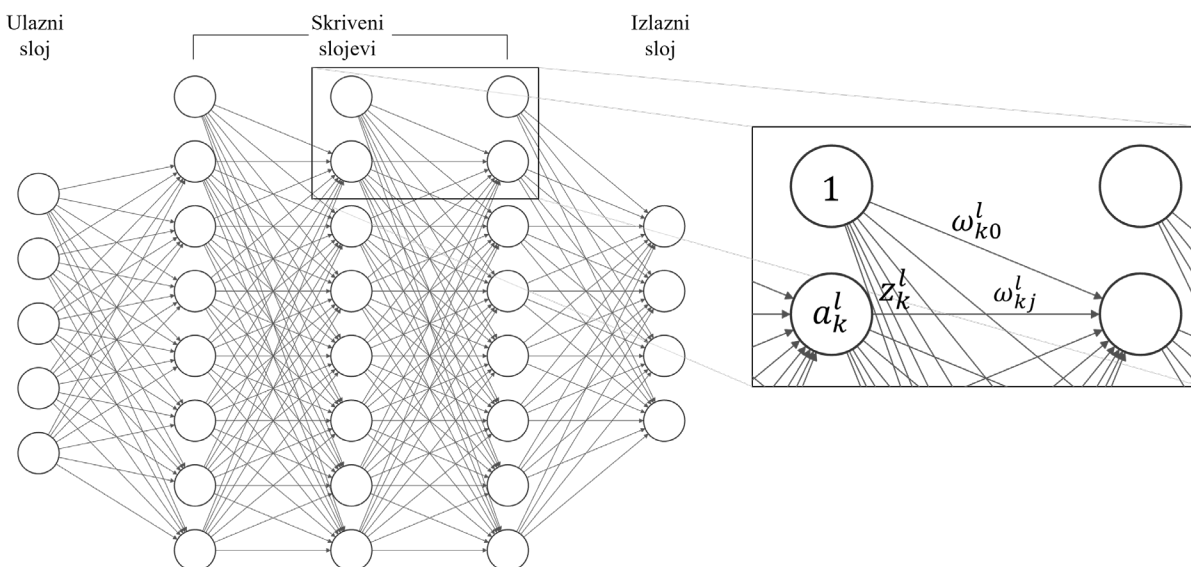
$$z = f(a) = f\left(\sum_{i=1}^n \omega_i x_i + \omega_0\right) = f\left(\sum_{i=0}^n \omega_i x_i\right) = f(\boldsymbol{\omega} \cdot \mathbf{x}) \quad (2.1)$$

gdje ω_0 označava pristranost (engl. *bias*), ω_i odgovarajući utezni koeficijent, x_i odgovarajuću ulaznu vrijednost, a f neku aktivacijsku funkciju; neke često korištene aktivacijske funkcije i njihova uloga bit će detaljnije opisani u potpoglavlju 2.5.2. Dodatno uvedena pristranost ω_0

općenito se tretira kao utezni koeficijent s fiksnom ulaznom vrijednošću 1.^{49,55} Moguće su razne modifikacije računanja izlazne vrijednosti neurona, npr. uvođenje miješanih članova oblika $\omega_{ij}x_i x_j$, ali se takve arhitekture rijetko koriste u praksi.⁵⁵

Nedostatak korištenja jednog perceptrona s aktivacijskim funkcijama kao što su funkcija praga ili funkcija predznaka je taj što je npr. u kontekstu klasifikacije moguća primjena samo na podatke koji su linearno odvojivi.^{49,50} Upravo zato rade se proširenja na uporabu nelinearnih aktivacijskih funkcija, grupaciju nekoliko međusobno neovisnih neurona odnosno čvorova koji zajedno čine jedan sloj mreže te uporabu nekoliko zasebnih slojeva dajući višeslojnu neuronsku mrežu. Dobivena izlazna vrijednost za pojedini sloj, ovisno o položaju u mreži, može biti izlazna vrijednost cjelokupne neuronske mreže ili može biti ulazna vrijednost za idući neuron, odnosno sloj neurona mreže. Prvi odnosno ulazni sloj sadrži ulazne vrijednosti (najčešće strukturirane kao vektor), zadnji odnosno izlazni sloj sadrži izlaznu vrijednost u obliku skalara ili vektora, dok se svi slojevi između njih nazivaju skrivenim slojevima neuronske mreže. Čvorovi ulaznog sloja nemaju pripadne ulazne vrijednosti, odnosno nemaju punu funkcionalnost neurona.^{49,55}

Do sada nije bilo govora o samom načinu povezivanja neurona te će u nastavku naglasak biti na višeslojnim acikličkim potpuno povezanim neuronskim mrežama (engl. *multilayer feedforward neural networks*) čiji je jedan primjer dan sa slici 2.6.



Slika 2.6. Shematski prikaz primjera arhitekture višeslojne acikličke potpuno povezane neuronske mreže, prilagođeno prema izvorima.^{55,56}

Na slici 2.6 prikazan je i jedan od načina indeksiranja uteznih koeficijenata te pristranosti koji definiraju neuronsku mrežu. U ovoj notaciji, ulazni se sloj označava kao nulti sloj, a izlazni kao L -ti sloj. Za svaki neuron, izlazna vrijednost može se zapisati na način

$$z_k^l = f \left(\sum_{j=1}^{N_{l-1}} \omega_{kj}^l z_j^{l-1} + \omega_{k0}^l \right) = f(a_k^l) \quad (2.2)$$

U izrazu (2.2), z_k^l označava izlaznu vrijednost k -tog neurona u sloju l , ω_{kj}^l utezni koeficijent koji povezuje j -ti neuron iz sloja $l-1$ s k -tim neuronom iz sloja l , z_j^{l-1} izlaznu vrijednost j -og neurona u sloju $l-1$, a ω_{k0}^l pristranost pridruženu k -tom neuronu u sloju l . Isto se može skraćeno zapisati u matičnoj notaciji pomoću matrice uteznih koeficijenata $\widetilde{W}^l$ te vektora izlaznih vrijednosti $(l-1)$ -og sloja $\tilde{z}^{l-1}$

$$\widetilde{W}^l = \begin{pmatrix} \omega_{10}^l & \omega_{11}^l & \cdots & \omega_{1N_{l-1}}^l \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \omega_{N_l0}^l & \omega_{N_l1}^l & \cdots & \omega_{N_lN_{l-1}}^l \end{pmatrix} \quad (2.3)$$

$$(\tilde{z}^{l-1})^T = (1 \quad z_1^{l-1} \quad \cdots \quad z_{N_{l-1}}^{l-1}) \quad (2.4)$$

koji su prošireni s obzirom na prisutnost pristranosti za sloj l (naznačeno tildom).⁵⁵ Značaj arhitekture višeslojnih acikličkih potpuno povezanih neuronskih mreža leži u teoremu o univerzalnoj aproksimaciji prema kojemu se takve arhitekture, ukoliko sadrže dovoljno skrivenih slojeva i adekvatne aktivacijske funkcije, mogu koristiti za aproksimaciju svih Borel-mjerljivih funkcija koje vrše preslikavanje između dva konačno-dimenzionalna vektorska prostora uz mogućnost aproksimacije s proizvoljnom točnošću.⁵⁷

Osim navedene arhitekture, moguće su razne varijacije koje se koriste za specifične primjene, a gruba klasifikacija neuronskih mreža s obzirom na njihovu topologiju dana je u tablici 2.1.

Tablica 2.1. Klasifikacija neuronskih mreža, prilagođeno prema izvoru.⁵⁸

Klasifikacija	Kategorija	Opis
vrsta veza	aciklička	ne postoje povratne veze između čvorova jednog sloja i čvorova prethodnog sloja
	ciklička	postoje povratne veze između čvorova jednog sloja i čvorova prethodnog sloja
broj slojeva	jednoslojna	neuronska mreža sastoji se samo od ulaznog i izlaznog sloja
	višeslojna	neuronska mreža uz ulazni i izlazni sloj sadrži skrivene slojeve
povezanost	djelomično povezana	pojedini čvorovi određenog sloja neuronske mreže nisu povezani su sa svim čvorovima prethodnog ili sljedećeg sloja
	potpuno povezana	svi čvorovi jednog sloja neuronske mreže povezani su sa svim čvorovima prethodnog i sljedećeg sloja

2.5.2. Aktivacijske funkcije

Značaj i veliki dio mogućnosti modeliranja složenih problema metodama strojnog učenja proizlazi upravo iz uzastopne uporabe nelinearnih aktivacijskih funkcija, a pomnim odabirom aktivacijskih funkcija može se znatno smanjiti prostor parametara potreban za zadovoljavajuću reprezentaciju i učenje.⁵⁰ Pritom se za primjenu stavlja naglasak na nužnost korištenja aktivacijskih funkcija. Ukoliko bi promatrali općenitu neuronsku mrežu s $L - 1$ skrivenih slojeva uz korištenje samo funkcije identiteta, izlazna vrijednost svakog skrivenog sloja može se zapisati rekursivno na način

$$\tilde{\mathbf{z}}^1 = f(\tilde{\mathbf{W}}^1 \bar{\mathbf{x}}) = \tilde{\mathbf{W}}^1 \bar{\mathbf{x}}$$

$$\tilde{\mathbf{z}}^l = f(\tilde{\mathbf{W}}^l \tilde{\mathbf{z}}^{l-1}) = \tilde{\mathbf{W}}^l \tilde{\mathbf{z}}^{l-1}, \forall l \in \{2, \dots, L - 1\}$$

odnosno vrijednosti koje poprima izlazni sloj mogu se skraćeno zapisati kao

$$\tilde{\mathbf{z}}^L = \tilde{\mathbf{W}}^L \tilde{\mathbf{W}}^{L-1} \dots \tilde{\mathbf{W}}^1 \bar{\mathbf{x}} = \tilde{\mathbf{W}}^{x_0} \bar{\mathbf{x}}$$

U tom slučaju zapravo dolazi do provođenja linearne regresije uz učenje suvišnog broja parametara dajući isti rezultat neovisno o tome koristi li se višeslojna ili jednoslojna mreža.⁵⁰

Neke od često korištenih aktivacijskih funkcija uključuju: logističku funkciju, tangens hiperbolni, funkciju predznaka, rektificiranu linearnu funkciju (engl. *Rectified Linear Unit activation function*, ReLU)... S obzirom na najčešći pristup učenju neuronskih mreža, detaljnije opisan u potpoglavlju 2.6.2, bitno svojstvo aktivacijskih funkcija je lakoća izračuna njihovih prvih derivacija koje su za spomenute funkcije također dane u nastavku^{50,55}:

- logistička funkcija

$$f(a) = \frac{1}{1 + e^{-ca}}, \quad c > 0, c = \text{konst.}$$

$$f'(a) = \frac{df}{da} = cf(1 - f(a))$$

- tangens hiperbolni

$$f(a) = \tanh(ca) = \frac{e^{ca} - e^{-ca}}{e^{ca} + e^{-ca}}, \quad c > 0, c = \text{konst.}$$

$$f'(a) = \frac{df}{da} = c(1 - f^2(a))$$

- funkcija predznaka

$$f(a) = \begin{cases} -1, & a < 0 \\ 1, & a \geq 0 \end{cases}$$

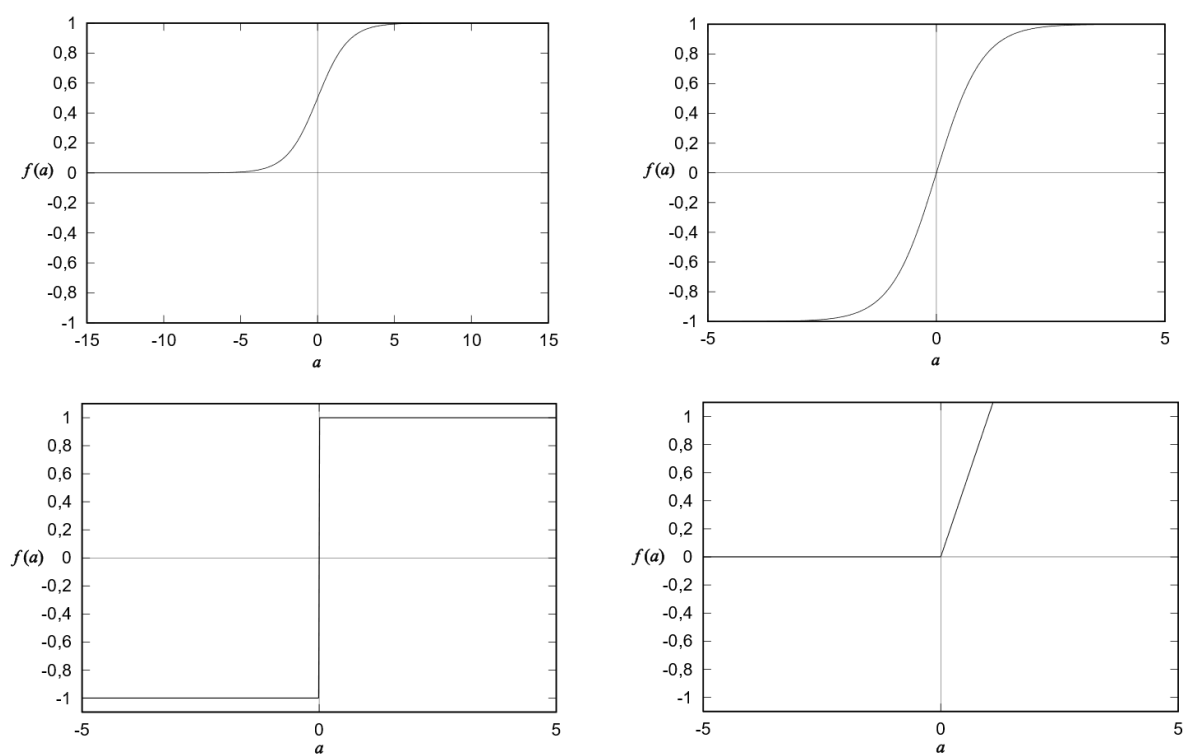
$$f'(a) = 0, a \in \mathbb{R} \setminus \{0\}$$

- ReLU funkcija

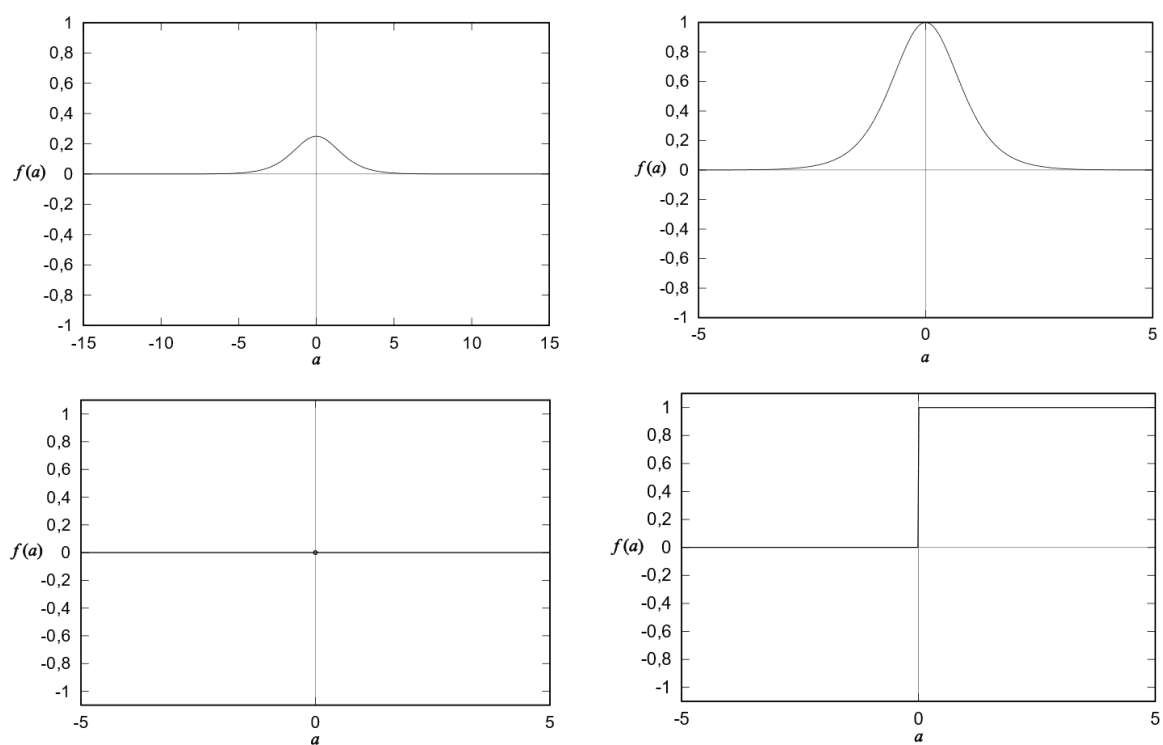
$$f(a) = \max(0, a)$$

$$f'(a) = \begin{cases} 0, & a < 0 \\ 1, & a \geq 0 \end{cases}$$

Često su za aktivacijske funkcije s formalno nedefiniranim derivacijama u određenim točkama domene dogovorno njihove vrijednosti dodefinirane radi jednostavnosti primjene i implementacije. Na slici 2.7 prikazani su grafovi prethodno navedenih aktivacijskih funkcija te na slici 2.8 i njihove prve derivacije.



Slika 2.7. Grafovi često korištenih aktivacijskih funkcija. Prilagođeno prema izvoru.⁵⁰



Slika 2.8. Grafovi prvih derivacija često korištenih aktivacijskih funkcija. Prilagođeno prema izvoru.⁵⁰

Osim aktivacijskih funkcija korištenih prilikom povezivanja ulaznog sloja s prvim skrivenim slojem te skrivenih slojeva međusobno, odabir aktivacijske funkcije prema izlaznom sloju također je bitan ovisno o primjeni neuronske mreže, a ona ne mora biti nužno ista kao druge aktivacijske funkcije korištene u ostatku mreže. Ovisno o tome može li izlazna vrijednost, ili pak komponente vektora kao izlazne vrijednosti modela, biti cijeli broj, realan broj, realan broj na ograničenom intervalu i sl., moraju se koristiti adekvatne aktivacijske funkcije. Npr., ukoliko je cilj primijeniti neuronsku mrežu za klasifikaciju podataka u k -klasa, izlazni sloj sastojat će se od k neurona koji mogu poprimati vrijednosti između 0 i 1 pri čemu se vrijednost 1 odnosi na veću vjerojatnost klasifikacije podataka u tu pripadnu kategoriju. U tom slučaju kao aktivacijska funkcija može se koristiti tzv. *softmax* funkcija definirana s

$$z_i^L = \frac{e^{a_i^L}}{\sum_{j=1}^k e^{a_j^L}}, \forall i \in \{1, \dots, k\} \quad (2.5)$$

čime se osigurava normiranost izlaznog vektora odnosno smislenost interpretacije vjerojatnosti točne klasifikacije podataka.⁵⁰

2.6. Nadzirano učenje neuronskih mreža

2.6.1. Strukturiranje podataka i evaluacije modela

Algoritmi nadziranog učenja, odnosno učenja s učiteljem, podrazumijevaju dostupnost obilježenog skupa podataka $\{(\mathbf{x}_p, \mathbf{t}_p)\}$, ulazne vrijednosti i njima pripadne ciljne izlazne vrijednosti. Naziv *supervised learning* dolazi upravo od postojanja definiranih izlaznih vrijednosti na temelju kojih neuronska mreža „učí“.⁴⁸

Tijekom faze učenja, valjanost modela procjenjuje se koristeći funkcije pogreške pomoću kojih je zatim moguća prilagodba parametara mreže sa svrhom poboljšanja modela i minimizacije ukupne pogreške (opisano u potpoglavlju 2.6.2). Često korištena funkcija pogreške je suma kvadrata odstupanja (engl. *Error Sum of Squares*) koja je, pod pretpostavkom da je procjena pogreške aditivna, oblika

$$E = \sum_{p=1}^P \sum_{i=1}^{N_L} (z_i^L(\mathbf{x}_p) - t_i(\mathbf{x}_p))^2 \quad (2.6)$$

pri čemu indeks p označava sumaciju po svim parovima podataka na temelju kojih je neuronska mreža trenirana. Uobičajeno je kao funkciju pogreške koristiti i korijen srednje kvadratne pogreške (engl. *Root Mean Square Error*, RMSE).⁵⁵

Međutim, poznato je da treniranje i testiranje mreže na istom setu podataka dovodi do značajnog precjenjivanja uspješnosti modela, a u konačnici je cilj postizanje generalizacije na podatke koji nisu bili dostupni mreži tijekom faze učenja. Zbog toga se tipično radi podjela dostupnog skupa podataka na tri dijela. Skup podataka koji se koristi u izgradnji modela odnosno podešavanje parametara mreže (pristranosti i uteznih koeficijenata) naziva se skup za uvježbavanje (engl. *training set*), skup koji se koristi za podešavanje hiperparametara ili odabir modela naziva se skup za validaciju (engl. *validation set*) te se skup koji se koristi za procjenu valjanosti modela nakon treniranja naziva skup za testiranje (engl. *test set*). Pritom valja naglasiti da se radi o disjunktним skupovima te da se skup za testiranje koristi isključivo za procjenu predviđanja modela neovisno o treniranju neuronske mreže.⁵⁰ U kontekstu nadziranog učenja, podjela podataka na skup za uvježbavanje, validaciju i testiranje često nije dovoljna za adekvatnu procjenu predviđanja i međusobnu usporedbu različitih modela. To je tipično slučaj kada nije moguće koristiti dovoljno veliki skup podataka za testiranje modela, ali može biti i posljedica odabira skupa za testiranje ukoliko je u njemu sadržan veći udio podataka s određenom karakteristikom koja nije zastupljena u skupu za treniranje.^{48,50} Tipičan način kako pristupiti tom problemu, ukoliko se mreža ne trenira na prevelikom skupu podataka, je internim validacijskim postupkom unakrsne validacije (engl. *Cross Validation*, CV) na načina da se skup označenih podataka podijeli na q podskupova. Tada se jedan od podskupova koristi za testiranje mreže, dok se preostalih $q - 1$ koristi za njezino treniranje, a procjena predviđanja modela dobiva se uprosječivanjem točnosti s obzirom na svih q podskupova. Specifičan slučaj predstavlja unakrsna validacija uz izostavljanje po jednog člana iz skupa podataka (engl. *Leave-One-Out Cross Validation*, LOO-CV) kada broj skupova q odgovara broju podataka u skupu za treniranje.⁵⁰

Osim evaluacije modela s obzirom na dostupan skup podataka koji se koristi za učenje, često je nužno odrediti adekvatnu arhitekturu neuronske mreže, npr. broj skrivenih slojeva i neurona koji ih sačinjavaju, jer ona može imati ulogu u konačnoj sposobnosti predviđanja samog modela. Dva općenita pristupa modifikaciji arhitekture neuronskih mreža su, izuzimajući sustavno pretraživanje, povećavanje (engl. *growing*) i obrezivanje (engl. *pruning*) neuronskih mreža. U prvome slučaju modifikacija neuronske mreže vrši se postupnim dodavanjem neurona na osnovnu arhitekturu, koja se može sastojati samo od ulaznog i izlaznog sloja, nakon kojeg slijedi treniranje mreže do postizanja odgovarajućih kriterija konvergencije. U drugome slučaju, početna arhitektura mreže, koja sadrži veliki broj neurona

i skrivenih slojeva, postupno se smanjuje s ciljem smanjenja broja parametara potrebnih za postizanje prihvatljive sposobnosti predviđanja modela. Taj postupak može se vršiti uklanjanjem manje izraženih veza između neurona ili uklanjanjem čitavih neurona iz mreže na temelju vrijednosti uteznih koeficijenata (čije vrijednosti mogu ili ne moraju biti modificirane L1 ili L2 regularizacijom).⁵⁵

2.6.2. Algoritam propagacije pogreške unatrag

Algoritam propagacije pogreške unatrag (engl. *backpropagation algorithm*) predstavlja temelj učenja odnosno treniranja acikličkih višeslojnih neuronskih mreža s obzirom na to da funkcija pogreške pridružena izlaznom sloju nije funkcija samo uteznih koeficijenata zadnjeg skrivenog sloja neurona nego funkcija svih uteznih koeficijenata i pristranosti mreže. Ovakav pristup omogućava relativno jednostavno računanje gradijenta funkcije pogreške oslanjajući se na produkte „lokalnih“ gradijenata po dijelovima dane arhitekture.⁵⁰

Za svaki sloj višeslojne potpuno povezane neuronske mreže, osim izlaznog i ulaznog sloja, definira se gradijent funkcije pogreške s obzirom na izlazne vrijednosti neurona danog sloja

$$\nabla_{z^l} E \equiv \left(\frac{\partial E}{\partial z_1^l} \quad \cdots \quad \frac{\partial E}{\partial z_{N_l}^l} \right), \quad l \in \{1, \dots, L-1\} \quad (2.7)$$

Pretpostavlja se da je gradijent pogreške s obzirom na izlazni sloj $\nabla_{z^L} E$ poznat, a tipično se procjenjuje prema odabranoj funkciji pogreške, izlaznim vrijednostima te ciljnim vrijednostima pomoću kojih se neuronska mreža uči. Pošto funkcija pogreške E ovisi o svim uteznim koeficijentima, od interesa je raspisati općeniti izraz za $\frac{\partial E}{\partial \omega_{kj}^l}$

$$\frac{\partial E}{\partial \omega_{kj}^l} = \sum_{i=1}^{N_l} \frac{\partial E}{\partial z_i^l} \frac{\partial z_i^l}{\partial \omega_{kj}^l} = \frac{\partial E}{\partial z_k^l} \frac{\partial z_k^l}{\partial \omega_{kj}^l} \quad (2.8)$$

pri čemu se privremeno ne razmatraju pristranosti ω_{k0}^l . Pošto su utezni koeficijenti međusobno neovisni, pa samim time i vrijednosti z_i^l ne ovise o koeficijentima ω_{kj}^l za $j \neq i$, u izrazu (2.8) preostaje samo jedan član sume. Dva člana koji doprinose izrazu (2.8) raspisujemo zasebno koristeći definiciju (2.2). Za član $\frac{\partial z_k^l}{\partial \omega_{kj}^l}$ slijedi

$$\frac{\partial z_k^l}{\partial \omega_{kj}^l} = \frac{\partial}{\partial \omega_{kj}^l} \left(f \left(\sum_{j=1}^{N_{l-1}} \omega_{kj}^l z_j^{l-1} + \omega_{k0}^l \right) \right) =$$

$$\begin{aligned}
&= f' \left(\sum_{j=1}^{N_{l-1}} \omega_{kj}^l z_j^{l-1} + \omega_{k0}^l \right) \cdot \frac{\partial}{\partial \omega_{kj}^l} \left(\sum_{j=1}^{N_{l-1}} \omega_{kj}^l z_j^{l-1} + \omega_{k0}^l \right) \\
&\quad \frac{\partial z_k^l}{\partial \omega_{kj}^l} = f'(a_k^l) \cdot z_j^{l-1}, j \neq 0
\end{aligned} \tag{2.9}$$

odnosno u slučaju pristranosti

$$\frac{\partial z_k^l}{\partial \omega_{k0}^l} = f'(a_k^l) \tag{2.10}$$

Doprinos člana $\frac{\partial E}{\partial z_k^l}$ čini osnovu algoritma propagacije unatrag pošto se doprinos z_k^l propagira na sve sljedeće slojeve mreže prema izlaznom sloju L .

$$\begin{aligned}
\frac{\partial E}{\partial z_k^l} &= \sum_{i=1}^{N_{l+1}} \frac{\partial E}{\partial z_i^{l+1}} \frac{\partial z_i^{l+1}}{\partial z_k^l} = \\
&= \sum_{i=1}^{N_{l+1}} \frac{\partial E}{\partial z_i^{l+1}} \frac{\partial}{\partial z_k^l} \left(f \left(\sum_{q=1}^{N_l} \omega_{iq}^{l+1} z_q^l + \omega_{i0}^{l+1} \right) \right) = \\
&= \sum_{i=1}^{N_{l+1}} \frac{\partial E}{\partial z_i^{l+1}} f' \left(\sum_{q=1}^{N_l} \omega_{iq}^{l+1} z_q^l + \omega_{i0}^{l+1} \right) \frac{\partial}{\partial z_k^l} \left(\sum_{q=1}^{N_l} \omega_{iq}^{l+1} z_q^l + \omega_{i0}^{l+1} \right) \\
&= \sum_{i=1}^{N_{l+1}} \frac{\partial E}{\partial z_i^{l+1}} f'(a_i^{l+1}) \omega_{ik}^{l+1}
\end{aligned} \tag{2.11}$$

Izraz (2.8) sada poprima oblik

$$\frac{\partial E}{\partial \omega_{kj}^l} = \left(\sum_{i=1}^{N_{l+1}} \frac{\partial E}{\partial z_i^{l+1}} f'(a_i^{l+1}) \omega_{ik}^{l+1} \right) f'(a_k^l) \cdot z_j^{l-1}, l \in \{1, \dots, L-1\}, j \neq 0 \tag{2.12}$$

odnosno

$$\frac{\partial E}{\partial \omega_{k0}^l} = \left(\sum_{i=1}^{N_{l+1}} \frac{\partial E}{\partial z_i^{l+1}} f'(a_i^{l+1}) \omega_{ik}^{l+1} \right) f'(a_k^l), \quad l \in \{1, \dots, L-1\} \tag{2.13}$$

Valja primijetiti da su formule (2.12) i (2.13) iterativnog oblika te da se sve parcijalne derivacije funkcije pogreške mogu izračunati propagacijom od izlaznog sloja prema ulaznom sloju uz pretpostavku da poznat gradijent $\nabla_{z^L} E$. Isto se može zapisati u matričnom obliku

pomoću vektora $\tilde{\mathbf{z}}^l$ (2.4), matrice koeficijenata $\tilde{\mathbf{W}}^l$ (2.3) te matrice parcijalnih derivacija funkcije pogreške po koeficijentima za svaki sloj

$$(\widetilde{\nabla E})_l = \begin{pmatrix} \frac{\partial E}{\partial \omega_{10}^l} & \frac{\partial E}{\partial \omega_{11}^l} & \cdots & \frac{\partial E}{\partial \omega_{1N_{l-1}}^l} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial E}{\partial \omega_{N_l 0}^l} & \frac{\partial E}{\partial \omega_{N_l 1}^l} & \cdots & \frac{\partial E}{\partial \omega_{N_l N_{l-1}}^l} \end{pmatrix} \quad (2.14)$$

Uvođenjem notacije Hadamardovog produkta

$$\mathbf{C} = \mathbf{A} \odot \mathbf{B} = \begin{pmatrix} a_{11}b_{11} & \cdots & a_{1n}b_{kn} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{k1}b_{k1} & \cdots & a_{kn}b_{kn} \end{pmatrix}; \mathbf{A}, \mathbf{B} \in \mathbb{R}^{k \times n}$$

dolazi se do rekurzivnog oblika izraza (2.7) i raspisa izraza (2.14)⁵⁵

$$\nabla_{\mathbf{z}^l} E = (\tilde{\mathbf{W}}^{l+1})^T (\nabla_{\mathbf{z}^{l+1}} E \odot f'(\mathbf{a}^{l+1})), l \in \{1, \dots, L-1\} \quad (2.15)$$

$$(\widetilde{\nabla E})_l = (\nabla_{\mathbf{z}^l} E \odot f'(\mathbf{a}^l)) (\tilde{\mathbf{z}}^{l-1})^T, l \in \{1, \dots, L\} \quad (2.16)$$

Uz izvedene izraze, može se konstruirati cjeloviti algoritam propagacije pogreške unatrag:

1. Inicijalizacija svih početnih vrijednosti $\{\omega_{kj}^l\}$ (npr. na male slučajno odabrane vrijednosti).
2. Za sve parove podataka iz skupa za treniranje $(\mathbf{x}_p, \mathbf{t}_p)$ do postizanja uvjeta zaustavljanja odnosno uvjeta konvergencije vrši se:
 - a. Prosljeđivanje ulaznih vrijednosti unaprijed kroz mrežu radi izračuna svih izlaznih vrijednosti neurona $(\mathbf{a}^l)$ i njihovih derivacija $f'(\mathbf{a}^l)$. Tipično se koriste aktivacijske funkcije koje omogućavaju izražavanje prve derivacije iste pomoću same aktivacijske funkcije (npr. logistička funkcija).
 - b. Izračun $\nabla_{\mathbf{z}^L} E$ koristeći $(\mathbf{z}^L, \mathbf{t}_p)$ (varira ovisno o odabiru funkcije pogreške).
 - c. Izračun gradijenata pogreške po slojevima:
 - i. Izračun $(\widetilde{\nabla E})_L$ izravno iz (2.14) pomoću poznatog gradijenta $\nabla_{\mathbf{z}^L} E$ (ovisan o odabiru funkcije pogreške).
 - ii. Rekurzivan izračun $\nabla_{\mathbf{z}^l} E$ i $(\widetilde{\nabla E})_l$ prema (2.15) i (2.16) od $(L-1)$ -og sloja prema 1. sloju za $l \in \{1, \dots, L-1\}$.

- d. Ugođavanje težinskih koeficijenta prema: $\widetilde{W} \leftarrow \widetilde{W} - \mu \nabla E$, $\mu > 0$, $\mu = \text{konst.}$, pri čemu su $\widetilde{W}$ i ∇E općenito tenzori, ali mogu ekvivalentno biti rastavljeni na L matrica; μ je podesivi hiperparametar, tzv. stopa učenja.
- e. Provjera konvergencijskih kriterija.

Dani algoritam predstavlja osnovu strojnog učenja, a nad osnovnim algoritmom propagacije unatrag moguće su brojne modifikacije kao što su uvođenje analoga količine gibanja (engl. *momentum*), prilagodljiva propagacija unatrag (engl. *adaptive backpropagation*), kombinacija prethodnih algoritama (engl. *Super Self-Adapting Backpropagation*, SuperSAB),⁵⁵ AdaGrad, RMSProp, AdaDelta i mnoge druge.⁵⁰

2.6.3. Metode dubokog pojačanog učenja

Duboko pojačano učenje odnosno uvježbavanje (engl. *deep reinforcement learning*) predstavlja nadogradnju metoda strojnog učenja dubokih neuronskih mreža uvođenjem agenta s ciljem optimizacije donošenja ispravnih odluka motiviranog sustavom nagrađivanja.⁵⁹ Npr., u slučaju igre križić-kružić, nakon završetka igre agent je nagrađen ovisno o ishodu igre (neriješeno, mreža je pobijedila, mreža je izgubila).⁵⁰ Time se lako dotiče važno pitanje implementacije dubokog pojačanog učenja, tzv. *credit-assignment* problem odnosno pitanje kako izolirano nagraditi pravilne odluke naspram cjelokupnog ishoda. Dodatno je neophodno da mreža ima sposobnost generalizacije na slučajeve ne sadržanim u prethodnim podacima za uvježbavanje.⁵⁰

Ovisno o danom problemu tj. primjeni, postoje brojne implementacije dubokog pojačanog učenja, koje se mogu i međusobno kombinirati,⁵⁰ ali se mogu ugrubo podijeliti u dvije kategorije: metode s i bez modela učenja.⁵⁹ Metode pojačanog učenja bez modela temelje se na velikom broju uzoraka (*trial-and-error* pristup) pomoću kojih se optimizira donošenje poželjnih odluka. Nasuprot tome, metode s modelom učenja koje se temelje na učenju zasebnih odluka; na primjenu igre križić-kružić, razlika bi bila učenje na temelju ishoda cijeli igri naspram učenja poteza u različitim mogućim situacijama tijekom igre.⁵⁰

2.7. Tucker3 dekompozicija tenzora

2.7.1. Definicije i osnovni pojmovi

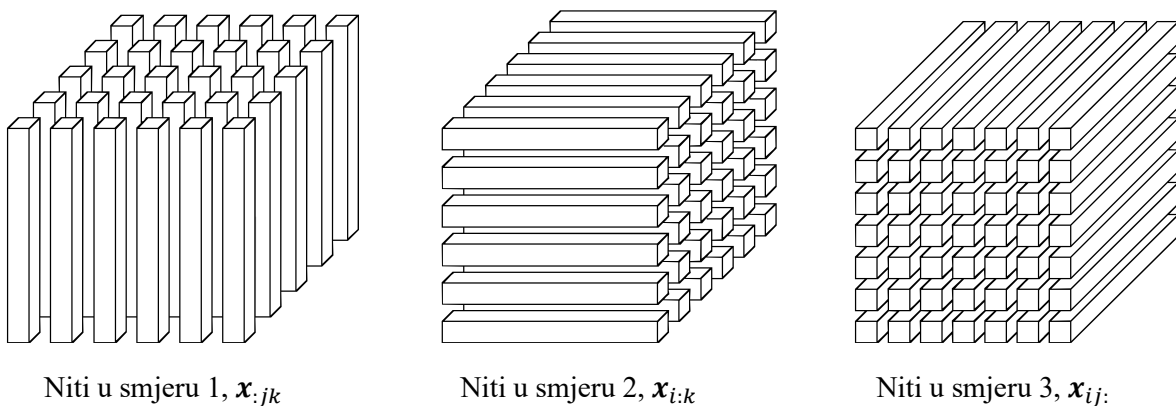
Formalno, tenzor reda N je element tenzorskog produkta N vektorskih prostora, od kojih svaki može imati različitu dimenzionalnost, dok se kolokvijalno može opisati kao višedimenzionalno poopćenje matrica. Red tenzora odgovara tzv. broju smjerova tenzora (engl. *modes*), a za općeniti tenzor reda N , $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$, indeksi $1, 2, \dots, N$ označavaju smjerove tenzora pri čemu su $I_1, I_2, I_N, \dots, N$ veličine pripadnih smjerova. Analog stupaca odnosno redaka matrica, u slučaju tenzora naziva se nit u smjeru k definirana fiksiranjem svih indeksa elemenata tenzora osim indeksa odgovarajućeg smjera. Nit $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^{I_k}$ u smjeru k tenzora $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$ je prema tome definirana s

$$x(i) = x_{i_1 \dots i_{k-1} i i_{k+1} \dots i_N}, \quad i = 1, 2, \dots, I_k \quad (2.17)$$

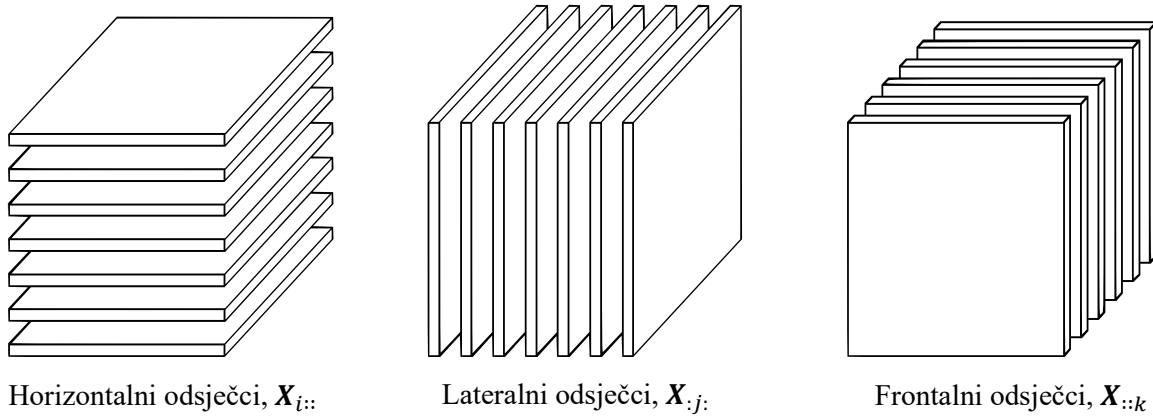
odnosno u skraćenoj notaciji koristeći dvotočje na mjestu smjera k , $\mathbf{x}_{i_1 \dots i_{k-1} : i_{k+1} \dots i_N}$ pri čemu je svaki indeks i_l određen s $i_l \in \{1, 2, \dots, I_l\}$, $l \in \{1, 2, \dots, N\} \setminus \{k\}$. Drugi bitan koncept su dvodimenzionalni presjeci tenzora, tzv. odsječci (engl. *slices*), definirani analogno po uzoru na niti s

$$x(i, j) = x_{i_1 \dots i_{k-1} i i_{k+1} \dots i_{r-1} j i_{r+1} \dots i_N}, \quad i = 1, 2, \dots, I_k; j = 1, 2, \dots, I_r \quad (2.18)$$

odnosno⁶⁰ s $\mathbf{X}_{i_1 \dots i_{k-1} : i_{k+1} \dots i_{r-1} : i_{r+1} \dots i_N}$. Posebno su u slučaju trodimenzionalnih tenzora nitima i odsječcima pridodani nazivi. Na slici 2.9 ilustrativno su prikazane sve niti, a na slici 2.10 svi odsječci tenzora reda 3.



Slika 2.9. Ilustrativan prikaz niti po svim smjerovima tenzora trećeg reda. Prilagođeno prema izvoru.⁶¹



Slika 2.10. Ilustrativan prikaz svih odsječka tenzora trećeg reda. Prilagođeno prema izvoru.⁶¹

Često se tenzori ne koriste u svojem standardnom obliku, nego se, upravo zbog računalnih primjena i implementacija algoritama, pribjegava matricizaciji (engl. *matricization*, *unfolding*, *flattening*) na način da se elementi tenzora reda N preslikavaju u matrični oblik. Matricizacija po smjeru n za tenzor $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$ označava se s $\mathbf{X}_{(n)}$ i formalno odgovara preslikavanju elementa tenzora s pripadnim indeksima $(i_1, i_2, \dots, i_N)$ u matrični element (i_n, j) pri čemu vrijedi⁶¹

$$j = 1 + \sum_{\substack{k=1 \\ k \neq n}}^N (i_k - 1)J_k, \quad J_k = \sum_{\substack{m=1 \\ m \neq n}}^{k-1} I_m,$$

Takvo preslikavanje lakše se može predočiti na primjeru tenzora $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{3 \times 4 \times 2}$ prikazanog na slici 2.11.

			13	16	19	22
			14	17	20	23
			15	18	21	24
1	4	7	10			
2	5	8	11			
3	6	9	12			

Slika 2.11. Primjer tenzora 3. reda $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{3 \times 4 \times 2}$. Prilagođeno prema izvoru.⁶⁰

Za dani tenzor, matricizacije po svim smjerovima određene su s

$$\mathbf{X}_{(1)} = \begin{pmatrix} 1 & 4 & 7 & 10 & 13 & 16 & 19 & 22 \\ 2 & 5 & 8 & 11 & 14 & 17 & 20 & 23 \\ 3 & 6 & 9 & 12 & 15 & 18 & 21 & 24 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{X}_{(2)} = \begin{pmatrix} 1 & 2 & 3 & 13 & 14 & 15 \\ 4 & 5 & 6 & 16 & 17 & 18 \\ 7 & 8 & 9 & 19 & 20 & 21 \\ 10 & 11 & 12 & 22 & 23 & 24 \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{X}_{(3)} = \begin{pmatrix} 1 & 2 & 3 & \dots & 10 & 11 & 12 \\ 13 & 14 & 15 & \dots & 22 & 23 & 24 \end{pmatrix}$$

Također se često koristi i vektorizacija tenzora odnosno zapis tenzora po elementima u vektorskom obliku, koji za isti primjer ima oblik

$$\text{vec}(\mathbf{X}) = \begin{pmatrix} 1 \\ 2 \\ \vdots \\ 24 \end{pmatrix}$$

Općenito vektorizacija i matricizacija mogu varirati s obzirom na poredak elemenata tenzora, bilo elemenata vektora bilo stupaca ili redaka matrica $\mathbf{X}_{(n)}$, dok god je odabir poretka konzistentan.⁶⁰

2.7.2. Operacije s tenzorima

Kao poopćenje Forbeniusovog skalarnog produkta dviju matrica, skalarni produkt dvaju tenzora $\mathbf{X}, \mathbf{Y} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$ definiran je s

$$\langle \mathbf{X}, \mathbf{Y} \rangle = \sum_{i_1=1}^{I_1} \sum_{i_2=1}^{I_2} \dots \sum_{i_N=1}^{I_N} x_{i_1 i_2 \dots i_N} y_{i_1 i_2 \dots i_N} \quad (2.19)$$

iz čega izravno slijedi da je norma tenzora $\mathbf{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$ određena s

$$\|\mathbf{X}\| = \sqrt{\langle \mathbf{X}, \mathbf{X} \rangle} = \sqrt{\sum_{i_1=1}^{I_1} \sum_{i_2=1}^{I_2} \dots \sum_{i_N=1}^{I_N} x_{i_1 i_2 \dots i_N}^2} \quad (2.20)$$

Također važan produkt za svojstva tenzora, je vanjski produkt N vektora. Za tenzor reda N $\mathbf{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$, kažemo da je ranga jedan ukoliko se može zapisati kao vanjski produkt N vektora

$$\mathbf{X} = \mathbf{a}^{(1)} \circ \mathbf{a}^{(2)} \circ \dots \circ \mathbf{a}^{(N)}, \mathbf{a}^{(n)} \in \mathbb{R}^{I_n}, n \in \{1, 2, \dots, N\} \quad (2.21)$$

pri čemu je svaki element tenzora dan kao produkt elemenata pojedinih vektora na način

$$x_{i_1 i_2 \dots i_N} = a_{i_1}^{(1)} a_{i_2}^{(2)} \dots a_{i_N}^{(N)}, \quad 1 \leq i_n \leq I_n \quad (2.22)$$

Osim međusobno, tenzore možemo množiti matricama uz zadovoljavanje ulančanosti dimenzija tenzora i matrice koji se množe. Produkt u smjeru n tenzora $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$ i matrice $\mathbf{U} \in \mathbb{R}^{J \times I_n}$ je tenzor $\mathcal{X} \times_n \mathbf{U} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_{n-1} \times J \times I_{n+1} \times \dots \times I_N}$ koji je po elementima definiran s

$$(\mathcal{X} \times_n \mathbf{U})_{i_1 \dots i_{n-1} j i_{n+1} \dots i_N} = \sum_{i_n=1}^{I_n} x_{i_1 i_2 \dots i_N} u_{j i_n} \quad (2.23)$$

Isto se može zapisati koristeći matricizaciju

$$\mathbf{y} \times_n \mathbf{U} \Leftrightarrow \mathbf{Y}_{(n)} = \mathbf{U} \mathbf{X}_{(n)} \quad (2.24)$$

Ukoliko se računa umnožak tenzora s više matrica u različitim smjerovima, redoslijed množenja je proizvoljan

$$\mathcal{X} \times_m \mathbf{A} \times_n \mathbf{B} = \mathcal{X} \times_n \mathbf{B} \times_m \mathbf{A}; \quad m \neq n, \mathbf{A} \in \mathbb{R}^{J \times I_m}, \mathbf{B} \in \mathbb{R}^{K \times I_n}$$

dok je u slučaju množenja u istom smjeru redoslijed jedinstven i vrijedi

$$\mathcal{X} \times_n \mathbf{A} \times_n \mathbf{B} = \mathcal{X} \times_n (\mathbf{B} \mathbf{A}), \quad \mathbf{A}, \mathbf{B} \in \mathbb{R}^{J \times I_n}$$

U kontekstu računanja s tenzorima i raspisa Tuckerove dekompozicije, od velike je važnosti Kroneckerov produkt dvije matrice. Kroneckerov produkt matrica $\mathbf{A} \in \mathbb{R}^{I \times J}$ i $\mathbf{B} \in \mathbb{R}^{K \times L}$, oznake $\mathbf{A} \otimes \mathbf{B}$, matrica je dimenzija $(IK) \times (JL)$ definirana s

$$\mathbf{A} \otimes \mathbf{B} = \begin{pmatrix} a_{11} \mathbf{B} & a_{12} \mathbf{B} & \dots & a_{1J} \mathbf{B} \\ a_{21} \mathbf{B} & a_{22} \mathbf{B} & \dots & a_{2J} \mathbf{B} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{I1} \mathbf{B} & a_{I2} \mathbf{B} & \dots & a_{IJ} \mathbf{B} \end{pmatrix} \quad (2.25)$$

Kroneckerov produkt pokazat će se izrazito važnim za alternativni raspis višestrukog množenja tenzora matricama. Naime, za proizvoljan tenzor $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$ i proizvoljne matrice $\mathbf{A}^{(n)} \in \mathbb{R}^{J_n \times I_n}$, $n \in \{1, \dots, N\}$, vrijedi⁶⁰

$$\mathbf{y} = \mathbf{X} \times_1 \mathbf{A}^{(1)} \times_2 \mathbf{A}^{(2)} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)} \Leftrightarrow$$

$$\mathbf{Y}_{(n)} = \mathbf{A}^{(n)} \mathbf{X}_{(n)} (\mathbf{A}^{(N)} \otimes \dots \otimes \mathbf{A}^{(n-1)} \otimes \mathbf{A}^{(n)} \dots \mathbf{A}^{(1)})^T \quad (2.26)$$

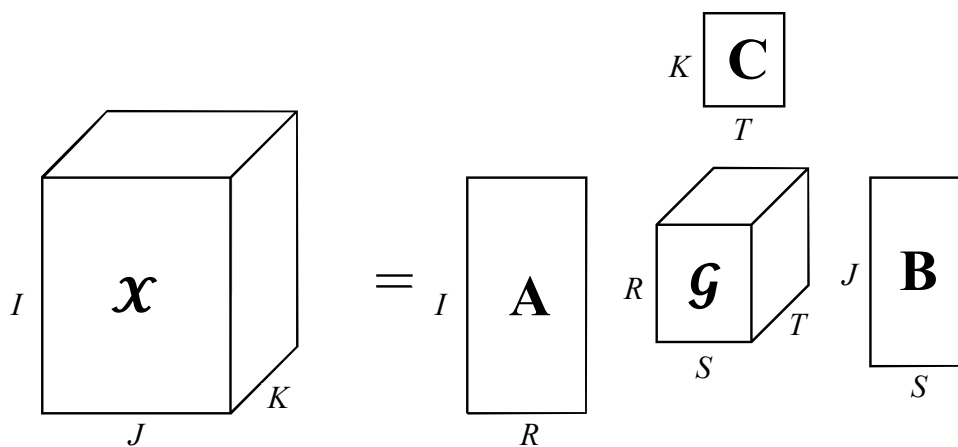
2.7.3. Tuckerova dekompozicija

Premda se danas Tuckerova dekompozicija koristi za brojne primjene kao što su pretprocesiranje podataka, prepoznavanje lica, obrada signala, obrada kemometričkih podataka i sl., sama ideja originalno dolazi iz područja psihometrike.^{62,63,64} Originalna Tucker3 dekompozicija može se smatrati poopćenjem analize glavnih komponentata (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) s matrica na tenzore 3. reda.⁶⁰

Za tenzor 3. reda $\mathbf{X} \in \mathbb{R}^{I \times J \times K}$, a vrijedi općenito za realne tenzore proizvoljnog reda uz odgovarajuće uvjete,⁶⁵ može se napraviti dekompozicija oblika

$$\mathbf{X} = \mathbf{G} \times_1 \mathbf{A} \times_2 \mathbf{B} \times_3 \mathbf{C} \quad (2.27)$$

pri čemu se $\mathbf{G} \in \mathbb{R}^{P \times Q \times R}$ naziva jezgri tenzor (engl. *core tensor*), a $\mathbf{A} \in \mathbb{R}^{I \times P}$, $\mathbf{B} \in \mathbb{R}^{J \times Q}$ i $\mathbf{C} \in \mathbb{R}^{K \times R}$ faktorske matrice. Ukoliko su P, Q i R jednaki dimenzijama pripadnih smjerova tenzora $\mathbf{X}$, te tenzor $\mathbf{X}$ zadovoljava određene uvjete, radi se o egzaktnoj dekompoziciji, ali je tipična svrha Tuckerove dekompozicije redukcija dimenzionalnosti ($P < I$, $Q < J$, $R < K$), odnosno slučaj kada je dekompozicija aproksimativna i kada se jezgri tenzor $\mathbf{G}$ može smatrati komprimiranim oblikom originalnog tenzora.⁶⁰ Na slici 2.12 shematski je prikazana Tucker3 dekompozicija.



Slika 2.12. Shematski prikaz Tucker3 dekompozicije. Prilagođeno prema izvoru.⁶¹

Osim pomoću matričnog množenja tenzora po smjerovima (2.27), Tuckerova dekompozicija može se prikazati u matriciziranom obliku,

$$\mathbf{X}_{(1)} \approx \mathbf{A} \mathbf{G}_{(1)} (\mathbf{C} \otimes \mathbf{B})^T$$

$$\mathbf{X}_{(2)} \approx \mathbf{B} \mathbf{G}_{(2)} (\mathbf{C} \otimes \mathbf{A})^T$$

$$\mathbf{X}_{(3)} \approx \mathbf{C} \mathbf{G}_{(3)} (\mathbf{B} \otimes \mathbf{A})^T$$

pomoću vanjskog produkta stupaca faktorskih matrica

$$\mathbf{X} \approx \sum_{p=1}^P \sum_{q=1}^Q \sum_{r=1}^R g_{pqr} \mathbf{a}_p \circ \mathbf{b}_q \circ \mathbf{c}_r$$

ili po elementima⁶⁰

$$x_{ijk} \approx \sum_{p=1}^P \sum_{q=1}^Q \sum_{r=1}^R g_{pqr} a_{ip} b_{jq} c_{kr}, \quad i = 1, \dots, N; j = 1, \dots, J; k = 1, \dots, K$$

Zbog mogućnosti višestruke reprezentacije Tuckerove dekompozicije, uvedena je jedinstvena notacija za istu^{60,61}

$$\mathbf{X} = \llbracket \mathbf{G}; \mathbf{A}, \mathbf{B}, \mathbf{C} \rrbracket \quad (2.28)$$

Važno je naglasiti da Tuckerova dekompozicija općenito nije jedinstvena. Na temelju svojstava množenja tenzora matricama po smjerovima, možemo proizvoljno uzeti invertibilne matrice $\mathbf{U} \in \mathbb{R}^{P \times P}$, $\mathbf{V} \in \mathbb{R}^{Q \times Q}$ i $\mathbf{W} \in \mathbb{R}^{R \times R}$ te općenito vrijedi

$$\llbracket \mathbf{G}; \mathbf{A}, \mathbf{B}, \mathbf{C} \rrbracket = \llbracket \mathbf{G} \times_1 \mathbf{U} \times_2 \mathbf{V} \times_3 \mathbf{W}; \mathbf{A} \mathbf{U}^{-1}, \mathbf{B} \mathbf{V}^{-1}, \mathbf{C} \mathbf{W}^{-1} \rrbracket \quad (2.29)$$

čime se dobiva transformirani jezgri tenzor. To svojstvo može se iskoristiti za reprezentaciju jezgrenog tenzora u obliku povoljnom za određeni problem; npr. postavljajući što je više elemenata moguće na 0 (ili na što je manje moguće vrijednosti) ili pak transformirati jezgri tenzor u ortogonalnu formu.⁶⁰

Premda je Tuckerova dekompozicija prvotno uvedena u kontekstu tenzora 3. reda, ona se prirodno poopćuje na tenzore reda N

$$\mathcal{X} \approx \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket = \mathcal{G} \times_1 \mathbf{A}^{(1)} \times_2 \mathbf{A}^{(2)} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)} \quad (2.30)$$

Za provođenje Tuckerove dekompozicije tenzora $\mathcal{X} \in \mathbb{R}^{I_1 \times I_2 \times \dots \times I_N}$, uz redukciju dimenzionalnosti originalnog tenzora, od interesa je optimizacijski problem oblika

$$\min_{\mathcal{G}, \mathbf{A}^{(1)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)}} \|\mathcal{X} - \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket\| \quad (2.31)$$

pri čemu vrijedi $\mathcal{G} \in \mathbb{R}^{J_1 \times J_2 \times \dots \times J_N}$, $\mathbf{A}^{(n)} \in \mathbb{R}^{I_n \times J_n}$, $n = 1, \dots, N$ i faktorske matrice $\mathbf{A}^{(n)}$ uzimaju se kao ortonormalne. Podrazumijeva se da jezgri tenzor manje dimenzije u barem jednom smjeru od originalnog, $J_n < I_n$, pošto bi se inače radilo o trivijalnoj i egzaktnoj dekompoziciji. Ako izraz $\|\mathcal{X} - \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket\|$ zapišemo u vektoriziranom obliku

$$\|\mathcal{X} - \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket\| = \|\text{vec}(\mathcal{X}) - (\mathbf{A}^{(N)} \otimes \dots \otimes \mathbf{A}^{(1)}) \text{vec}(\mathcal{G})\|$$

za fiksirane faktorske matrice $\mathbf{A}^{(n)}$, dobiva se tipičan problem najmanjih kvadrata za koji je rješenje oblika⁶¹

$$\text{vec}(\mathcal{G}) = (\mathbf{A}^{(N)} \otimes \dots \otimes \mathbf{A}^{(1)})^T \text{vec}(\mathcal{X}) = (\mathbf{A}^{(N)T} \otimes \dots \otimes \mathbf{A}^{(1)T}) \text{vec}(\mathcal{X})$$

$$\Leftrightarrow \mathcal{G} = \mathcal{X} \times_1 \mathbf{A}^{(1)T} \times_2 \mathbf{A}^{(2)T} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)T} = \llbracket \mathcal{X}; \mathbf{A}^{(1)T}, \mathbf{A}^{(2)T}, \dots, \mathbf{A}^{(N)T} \rrbracket \quad (2.32)$$

Dalje raspisujemo normu iz (2.31)

$$\begin{aligned} & \|\mathcal{X} - \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket\| \\ &= \|\mathcal{X}\|^2 - 2\langle \mathcal{X}, \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket \rangle + \|\llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket\|^2 \end{aligned} \quad (2.33)$$

Koristeći svojstva tenzorskog produkta i Tuckerove dekompozicije, drugi član izraza (2.33) raspisujemo na način

$$\begin{aligned} \langle \mathcal{X}, \llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket \rangle &= \langle \mathcal{X}, \mathcal{G} \times_1 \mathbf{A}^{(1)} \times_2 \mathbf{A}^{(2)} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)} \rangle \\ &= \langle \mathcal{X} \times_1 \mathbf{A}^{(1)T} \times_2 \mathbf{A}^{(2)T} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)T}, \mathcal{G} \rangle = \langle \llbracket \mathcal{X}; \mathbf{A}^{(1)T}, \mathbf{A}^{(2)T}, \dots, \mathbf{A}^{(N)T} \rrbracket, \mathcal{G} \rangle \end{aligned}$$

$$= \langle \mathcal{G}, \mathcal{G} \rangle = \|\mathcal{G}\|^2$$

te treći član pojednostavljenjem daje

$$\begin{aligned} \|\llbracket \mathcal{G}; \mathbf{A}^{(1)}, \mathbf{A}^{(2)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)} \rrbracket\|^2 &= \langle \mathcal{G} \times_1 \mathbf{A}^{(1)} \times_2 \mathbf{A}^{(2)} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)}, \mathcal{G} \times_1 \mathbf{A}^{(1)} \times_2 \mathbf{A}^{(2)} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)} \rangle \\ &= \langle \mathcal{G} \times_1 \mathbf{A}^{(1)} \times_1 \mathbf{A}^{(1)\top} \times_2 \mathbf{A}^{(2)} \times_2 \mathbf{A}^{(2)\top} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)} \times_N \mathbf{A}^{(N)\top}, \mathcal{G} \rangle \\ &= \langle \mathcal{G}, \mathcal{G} \rangle = \|\mathcal{G}\|^2 \end{aligned}$$

U konačni se optimizacijski problem (2.31) svodi na oblik

$$\min_{\mathcal{G}, \mathbf{A}^{(1)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)}} (\|\mathcal{X}\|^2 - \|\mathcal{G}\|^2) \quad (2.34)$$

koji je ekvivalentan maksimizaciji norme jezgrenog tenzora budući da je norma tenzora $\mathcal{X}$ konstantna⁶¹

$$\max_{\mathbf{A}^{(1)}, \dots, \mathbf{A}^{(N)}} \|\llbracket \mathcal{X}; \mathbf{A}^{(1)\top}, \mathbf{A}^{(2)\top}, \dots, \mathbf{A}^{(N)\top} \rrbracket\|, \mathbf{A}^{(n)} \in \mathbb{R}^{I_n \times J_n}, n = 1, \dots, N \quad (2.35)$$

Pomoću izraza (2.35) mogu se formulirati dva algoritma koji predstavljaju osnovu provođenja Tuckerove dekompozicije. Ukoliko razmatramo svaku faktorsku matricu $\mathbf{A}^{(n)}$ zasebno, ostale faktorske matrice možemo postaviti na jedinične matrice čime se problem svodi na oblik

$$\begin{aligned} \max_{\mathbf{A}^{(n)}} \|\llbracket \mathcal{X}; \mathbf{I}, \dots, \mathbf{I}, \mathbf{A}^{(n)\top}, \mathbf{I}, \dots, \mathbf{I} \rrbracket\| &= \max_{\mathbf{A}^{(n)}} \|\mathcal{X} \times_n \mathbf{A}^{(n)\top}\| \\ &= \max_{\mathbf{A}^{(n)}} \|\mathbf{A}^{(n)\top} \mathbf{X}_{(n)}\|_F, \mathbf{A}^{(n)} \in \mathbb{R}^{I_n \times J_n} \end{aligned} \quad (2.36)$$

Zatim se primjenom matričnog oblika dekompozicije na singularne vrijednosti (engl. *Singular Value Decomposition*, SVD) matrica $\mathbf{A}^{(n)}$ konstruira iz J_n vodećih lijevih singularnih vektora matrice $\mathbf{X}_{(n)}$. Ponavljanjem istog postupka za sve matrice $\mathbf{A}^{(n)}$, $n = 1, \dots, N$, jezgreni tenzor $\mathcal{G}$ dobiva se pomoću relacije (2.32). Ovakav postupak odgovara metodi dekompozicije na singularne vrijednosti višeg reda (engl. *Higher-Order Singular Value Decomposition*, HOSVD)⁶¹ odnosno *truncated* HOSVD ukoliko se radi o redukciji dimenzionalnosti:

1. Odabir dimenzija jezgrenog tenzora $J_1, J_2, \dots, J_n$.
2. Za svaki $n = 1, \dots, N$:
 - a. Primjena SVD-a na $\mathbf{X}_{(n)}$.
 - b. $\mathbf{A}^{(n)T} \leftarrow J_n$ vodećih lijevih singularnih vektora matrice $\mathbf{X}_{(n)}$.
3. $\mathcal{G} \leftarrow \mathbf{X} \times_1 \mathbf{A}^{(1)T} \times_2 \mathbf{A}^{(2)T} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)T}$

U slučaju da su preostale faktorske matrice poznate i fiksirane, možemo definirati tenzor $\mathcal{Z}$

$$\mathcal{Z} = \llbracket \mathbf{X}; \mathbf{A}^{(1)T}, \dots, \mathbf{A}^{(n-1)T}, \mathbf{I}, \mathbf{A}^{(n+1)T}, \dots, \mathbf{A}^{(N)T} \rrbracket \quad (2.37)$$

i matricu $\mathbf{B} \equiv \mathbf{A}^{(n)}$ te optimizacijski problem (2.35) redefinirati na način da se ponovno omogućava primjena matričnog SVD-a

$$\max \|\mathcal{Z} \times_n \mathbf{B}^T\| = \|\mathbf{B}^T \mathbf{Z}_{(n)}\|_F, \mathbf{B} \in \mathbb{R}^{I_n \times J_n} \quad (2.38)$$

što prirodno dovodi do TUCKALS algoritma (engl. *TUCKer Alternating Least Squares*) odnosno HOOI algoritma (engl. *Higher-Order Orthogonal Iteration*)⁶¹:

1. Odabir $J_1, J_2, \dots, J_n$ i inicijalizacija $\mathbf{A}^{(n)} \in \mathbb{R}^{I_n \times J_n}$, $n = 1, \dots, N$, primjenom HOSVD-a na tenzor $\mathcal{X}$.
2. Do postizanja uvjeta konvergencije:
 - a. Za svaki $n = 1, \dots, N$:
 - i. $\mathcal{Z} \leftarrow \mathbf{X} \times_1 \mathbf{A}^{(1)T} \dots \times_{n-1} \mathbf{A}^{(n-1)T} \times_{n+1} \mathbf{A}^{(n+1)T} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)T}$
 - ii. $\mathbf{A}^{(n)T} \leftarrow J_n$ vodećih lijevih singularnih vektora matrice $\mathbf{Z}_{(n)}$.
 - b. Provjera konvergenijskih kriterija.
3. $\mathcal{G} \leftarrow \mathbf{X} \times_1 \mathbf{A}^{(1)T} \times_2 \mathbf{A}^{(2)T} \dots \times_N \mathbf{A}^{(N)T}$

§ 3. CILJ

Cilj ovoga istraživanja bio je razvoj modela za brzu i pouzdanu klasifikaciju hrvatskih i slovenskih pjenušavih vina na temelju spektroskopije NMR i dubokog pojačanog učenja. Sveukupno je obuhvaćeno 70 uzoraka hrvatskih i slovenskih pjenušavih vina različitih sorti, berbi i geografskog podrijetla. Snimljeni su i analizirani jednodimenzijski spektri ^1H NMR i pseudo-dvodimenzijski spektri DOSY NMR svih uzoraka, a kombinacija eksperimentalnih podataka i njihove statističke evaluacije te strojnog učenja iskorišteni su za izradu protokola sa svrhom klasifikacije hrvatskih i slovenskih pjenušaca s obzirom na geografsko podrijetlo s potencijalom za praktičnu primjenu u dokazivanju autentičnosti pjenušavih vina.

§ 4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Uzorci pjenušavih vina

Uzorci pjenušavih vina različitih berbi, sorti grožđa i geografskog podrijetla pohranjeni su u frižideru na temperaturi 4 °C . Ukupno je analizirano 70 uzoraka hrvatskih i slovenskih pjenušavih vina. Hrvatski pjenušci potjecali su iz regija: Zagorje-Međimurje, Slavonija i Podunavlje, Hrvatska Istra i Kvarner te Dalmacije, a slovenski iz: Podravja (Štajerska Slovenija), Posavja (Bizeljsko, Dolenjska, Bela krajina) te Primorske (Goriška brda, Kras, Vipavska). Uzorci su proizvedeni klasičnom (tradicionalnom) metodom ili Charmat metodom, a prema izgledu su klasificirani kao bijela, rosé ili crna pjenušava vina. Potječu iz berbi: 2004, 2014, 2015, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021 i 2022. Nadalje, prema udjelu šećera klasificirani su kao: *brut*, *brut nature*, *extra brut*, *dry*, *extra dry*, *demi-sec* ili *doux*. Udio alkohola (v/v) kretao se između 11 % i 14,02 %. Detaljnija raspodjela uzoraka prikazana je u tablici 4.1.

Tablica 4.1. Regionalna raspodjela uzoraka pjenušavih vina za koje su snimljeni spektri ¹H NMR, 1D NOESY i DOSY.

Regija	Broj uzoraka
Zagorje-Međimurje	6
Slavonija i Podunavlje	8
Hrvatska Istra i Kvarner	9
Dalmacija	2
Podravje, Štajerska Slo.	19
Posavje, Bizeljsko, Slo.	2
Posavje, Dolenjska, Slo.	10
Posavje, Bela krajina, Slo.	2
Primorska, Goriška brda, Slo.	7
Primorska, Kras, Slo.	3
Primorska, Vipavska, Slo.	2
	Ukupno: 70

4.2. Priprema uzoraka

Priređen je pufer koji sadrži D₂O (99,90 % D, Eurisotop, Saclay, Francuska), 1 M KH₂PO₄ (Kemika, Zagreb, Hrvatska), 0,1 % 3-(trimetil-silil)-propionska kiselina-d₄ natrijeva sol (TSP-d₄; 98 % D, Eurisotop, Saclay, Francuska) i 3 mM NaN₃ (vrlo čist, Sigma Aldrich, St. Louis, MO, SAD). Pripremljenoj otopini izmjeren je pH na Mettler Toledo SevenCompact S210 pH-metru i podešen na 3,10 s 1 M H₃PO₄ (Riedel-de Haën, Seelze, Njemačka) i 1 M NaOH (T.T.T., Sveta Nedjelja, Hrvatska) kako bi se održao prosječan pH analiziranih vina.^{14,66}

Uzorke vina nije bilo potrebno prethodno obrađivati, već se otpipetiralo 450 µL vina i prebacilo u 5mm NMR cjevčicu te je dodano 50 µL prethodno pripravljenog pufera. Pufer je korišten kako bi se minimizirao raspon varijacije pH svih uzoraka vina (inače između pH 2,9 i pH 3,7)³³ bez da se izmijeni njihov molekularni otisak prsta. Time su očuvane individualne razlike među uzorcima pjenušaca s obzirom na to da se dodaje identična otopina. Velike varijacije u pH uzorka mogu uzrokovati pomicanje (engl. *drift*) kemijskog pomaka što pak može dovesti do preklapanja signala u spektru NMR ili izmjene u relaksacijskim vremenima.⁶⁷ Opisani pristup vrlo je brz i učinkovit što ga čini pogodnim za slučajeve kad je riječ o velikom broju uzoraka. Drugi pristup bio bi dodatak pufera, mjerenje pH pojedinog uzorka vina i potom dodatak kiseline i lužine dok pH ne bi postigao ciljanu vrijednost od 3,10.^{33,36,66}

4.3. Uvjeti snimanja

Svi su spektri snimljeni na *Bruker Avance Neo 600* spektrometru NMR, prikazanom na slici 4.1, pri 298 K uz 5 mm *Prodigy* kriosondu i z-gradijentima pri magnetskom polju od 14,1 T. Korišten je TSP-d₄ kao unutarnji standard te su svi kemijski pomaci prikazani relativno prema njemu. Kao otapalo korištena je smjesa vode i deuterirane vode (omjer 9:1).



Slika 4.1. Bruker Avance Neo 600 spektrometar NMR (14,1 T za jezgre ^1H).⁶⁸

Jednodimenzijski spektri ^1H NMR snimljeni su s 32 snimka za svaki uzorak (4 *dummy* snimka), 11,9 kHz spektralne širine i vremenom akvizicije 2,75 s. Spektri bez supresije signala otapala snimljeni su pulsnim slijedom *zg30*.

Korištena je metoda supresije signala vode i etanola prezasićenjem tijekom relaksacijske odgode u *noesygprr1d* pulsnom slijedu (engl. *NOESY gradient pulse, presaturation, one dimensional*). Spektri su snimljeni sa 32 snimka za svaki uzorak (4 *dummy* snimke), spektralna širina iznosila je 9,6 kHz, a vrijeme akvizicije 1,7 s. Koriste se *spoil* gradijenti duljine 1 ms, a duljina supresijskih pulseva 1 s, dok je vrijeme miješanja iznosilo 5 ms. Omjer gradijenata iznosio je 40: -39,5.

Pseudo-dvodimenzijski spektri ^1H DOSY NMR snimljeni su sa 16 snimaka za svaki uzorak (4 *dummy* snimke), 7,1 kHz spektralne širine, 600 μs *spoil* gradijenata, 200 μs iskorištenje gradijenata (engl. *gradient recovery*) i 5 ms odgode vrtložnih struja. Omjer gradijenata iznosio je 100: -13,17: -17,13: -15,37. Supresija otapala i kompenzacija konvekcije provodila se upotrebom *dstebpgp3spr* pulsnog slijeda (engl. *DSTE bipolar gradients, gradients with :gp syntax, 3 spoil gradients, presaturation*). Navedeni slijed koristi DSTE za kompenzaciju konvekcije i LED te se koriste bipolarni gradijentni pulsevi i 3 *spoil* gradijenta. Snaga gradijenta varirala je dok su mala i velika delta održavane konstantnima.

Spektri ^1H NMR obrađeni su u programu *Bruker TopSpin*, a difuzijski koeficijenti izračunati su u programu *Dynamics Center*.

4.4. Obrada spektara DOSY NMR

Višesmjerna analiza (engl. *multi-way analysis*, MWA) je proces dekompozicije višedimenzionalnih skupova podataka zapisanih kao tenzori trećeg ili višeg reda. Može se smatrati proširenjem analize glavnih komponenti na višedimenzionalne skupove podataka. Tensor podataka sastoji se od nizova brojeva koji ovise o različitim fizičkim dimenzijama ili načinima. U našem slučaju, tenzor trećeg reda sastoji se od dvodimenzionalnih spektara DOSY NMR za različite uzorke vina.

U svrhu generiranja klasifikacijskog modela uzoraka vina s obzirom na geografsko podrijetlo, korišteni su spektari DOSY NMR svih 70 uzoraka vina. Svaki snimljeni spektar eksportiran je kao matrica s 512×2048 podataka, a svi spektri zajedno zapisani su u tenzor trećeg reda sačinjen od $70 \times 512 \times 2048$ podataka. Podaci u ovom tenzoru trećeg reda ovise o tri neovisne varijable: kemijskom pomaku, amplitudi impulsa magnetskog gradijenta i raznolikosti uzoraka. Nad dobivenim tenzorom trećeg reda provedena je TUCKER3 dekompozicija⁶⁴ sa svrhom redukcije dimenzionalnosti i uklanjanja linearne zavisnosti u podatcima.¹⁴ TUCKER3 dekompozicija provedena je korištenjem programa *moonee*⁶⁹ te su zadržane 3 komponente. Nakon tenzorske dekompozicije, svaki dvodimenzionalni spektar DOSY NMR konačno je predstavljen kao jedna točka u trodimenzijskom reduciranom prostoru.

MWA na skupu spektara DOSY NMR smještenih u tenzor trećeg reda provedena je korištenjem modela trosmjerne dekompozicije

$$\mathcal{X} = \mathcal{G} \times_1 \mathbf{A} \times_2 \mathbf{B} \times_3 \mathbf{C} + \mathcal{E}$$

4.5. Klasifikacija uzoraka s obzirom na geografsko podrijetlo metodom dubokog pojačanog učenja

Izrada klasifikacijskog modela provedena je korištenjem duboke neuronske mreže. Arhitektura duboke neuronske mreže iskorištene za klasifikaciju sastojala se od potpuno povezane mreže s ulaznim slojem koji se sastojao od 3 čvora (predstavljaju pojedine spektre DOSY NMR ispitivanih vina), 10 skrivenih slojeva (svaki sa 100 čvorova) te izlaznog sloja sa samo jednim čvorom koji je predstavljao deskriptor klasifikacije s obzirom na geografsko

podrijetlo. Aktivacijska funkcija za neurone bila je logistička funkcija. Za treniranje duboke neuronske mreže kao univerzalnog klasifikatora primijenjen je protokol dubokoga pojačanog učenja implementiran u program *moonee*.⁶⁹

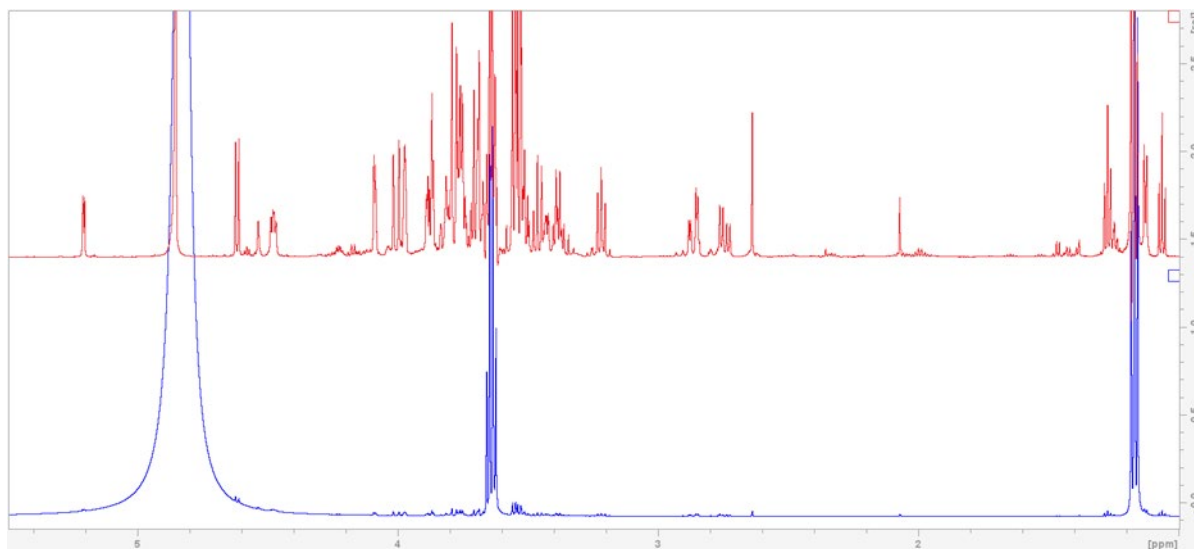
Početna procjena duboke neuronske mreže provedena je na netreniranoj mreži. Zatim je mreža trenirana počevši s 1 ulaznim uzorkom u skupu za treniranje te testirana na validacijskom skupu (1 uzorak iz skupa podataka različitog od onih u skupu za obuku) i dodatno na potpunom skupu uzoraka (svih 70 uzoraka). Budući da performanse klasifikacije očito ovise o uzorcima odabranim za skup za obuku, da bi agent naučio najbolju politiku, dopustili smo potpuno kombinatorno razapinjanje svih istraživanih uzoraka. To je omogućilo da se funkcija nagrade (točnost klasifikacije na cijelom skupu) u potpunosti maksimizira jer je u svakoj iteraciji pojačanog učenja agent odabirao najbolje nove uzorke koji su uključeni u skup za treniranje. U svakom koraku iteracije, skupovi za učenje i validaciju postupno su se povećavali za 1 dodatni uzorak (za skup za validaciju uvijek su odabrani uzorci koji nisu u skupu za učenje). Algoritam povratne propagacije korišten je za treniranje mreže i točnost klasifikacije, a u svakom ciklusu učenja pojačanjem praćena je i progresivna matrica konfuzije.

§ 5. REZULTATI I RASPRAVA

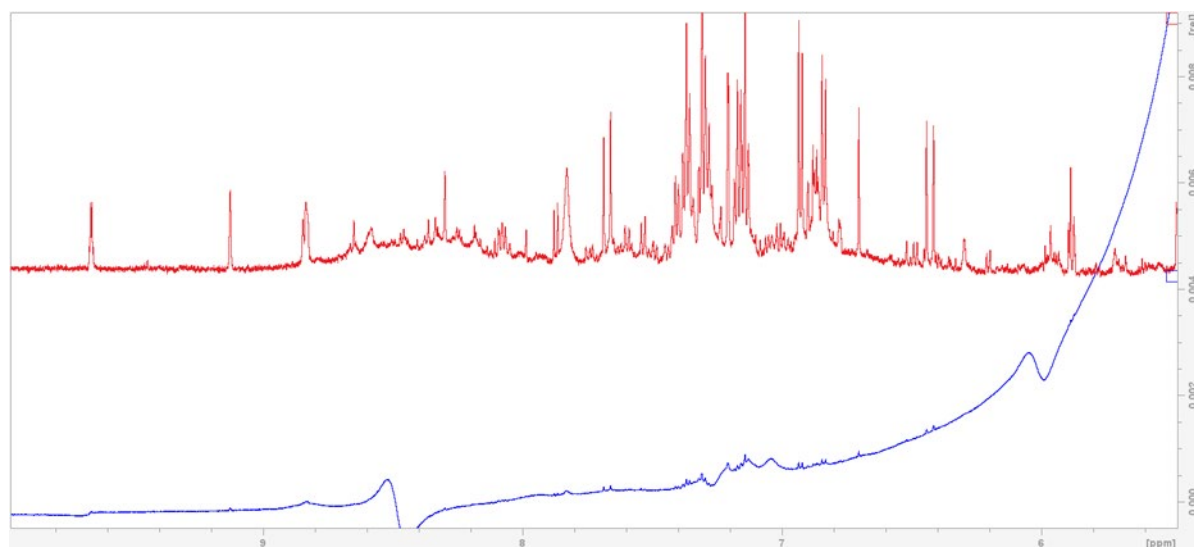
5.1. Jednodimenzijski spektri ^1H NMR

Prvo su snimljeni spektri ^1H NMR svih uzoraka, međutim, zbog visokog udjela prvenstveno vode, potom i etanola, bilo je potrebno snimiti i spektre 1D NOESY uz supresiju signala vode i etanola. Za svaki od 70 uzoraka pjenušavih vina snimljen je uobičajeni jednodimenzijski spektar ^1H NMR kako bi se odabrali signali otapala za supresiju. Nakon supresije signala vode (široki singlet $-\text{OH}$ skupine oko 4,8 ppm) i etanola (triplet oko 1,2 ppm koji odgovara $-\text{CH}_3$ skupini te kvartet oko 3,6 ppm koji odgovara $-\text{CH}_2$ skupini)^{10,15} snimljeni su jednodimenzijski spektri NOESY. Naposljetku su snimljeni i pseudo-dvodimenzijski spektri DOSY kako bi se smanjilo preklapanje signala više različitih spojeva.

Na slikama 5.1 i 5.2 prikazane su usporedbe spektara jednog uzorka pjenušca bez supresije signala vode i etanola te uz NOESY supresiju signala vode i etanola. Naime, vidljivo je da signal vode koji je u spektru ^1H NOESY singlet oko 4,85 ppm, u običnom jednodimenzijskom spektru ^1H NMR široki singlet. Takav izraženi signal vode prekriva signale značajnog broja spojeva prisutnih u malim koncentracijama koji se zbog dinamičkog raspona ne vide u spektru, a u konačnici određuju svojstva pojedinog pjenušca. Slično vrijedi i za signale etanola pri oko 1,17 ppm (triplet) i 3,64 ppm (kvartet), iako oni u nešto manjoj mjeri prekrivaju signale ostalih spojeva jer je udio etanola u vinu višestruko manji u odnosu na udio vode.



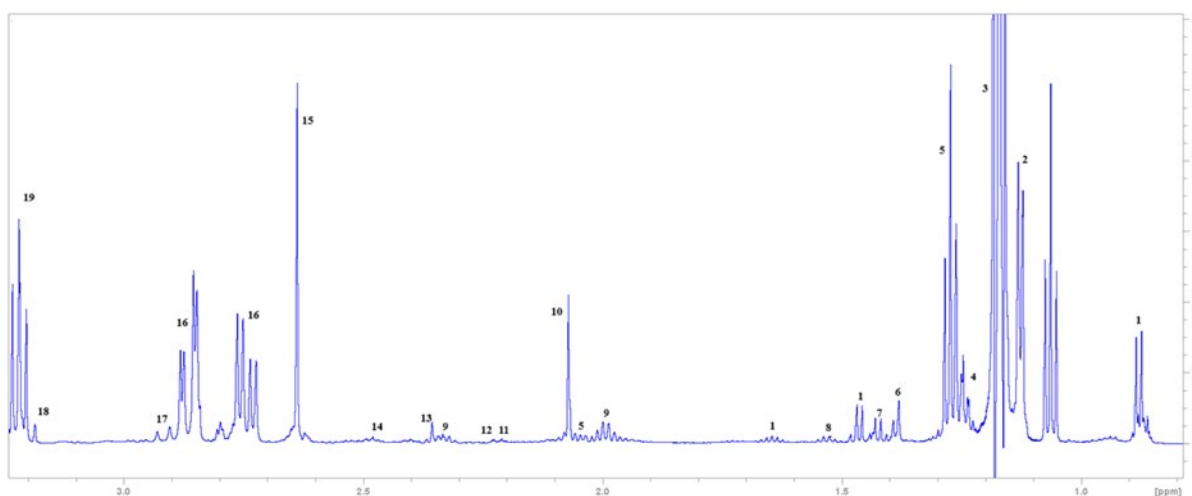
Slika 5.1. Spektar ^1H NMR uzorka pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje za uvećano područje 1 – 5,5 ppm. Plavi spektar - bez supresije signala vode i etanola, crveni spektar - uz supresiju signala vode i etanola tehnikom NOESY.



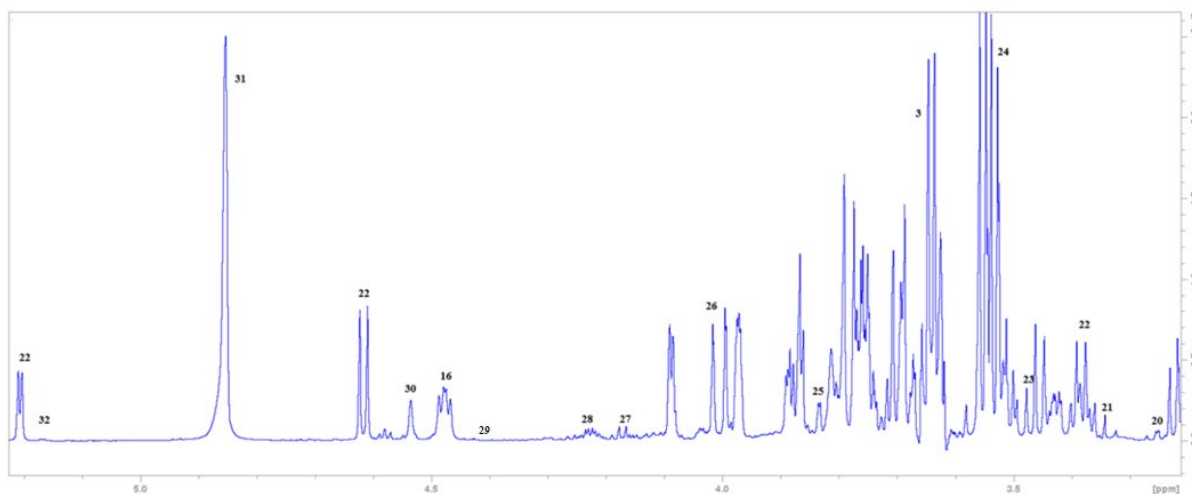
Slika 5.2. Spektar ^1H NMR uzorka pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje za uvećano područje 5,5 – 10 ppm. Plavi spektar - bez supresije signala vode i etanola, crveni spektar - uz supresiju signala vode i etanola tehnikom NOESY.

5.1.1. Asignacija odabranog spektra ^1H NMR uz supresiju NOESY

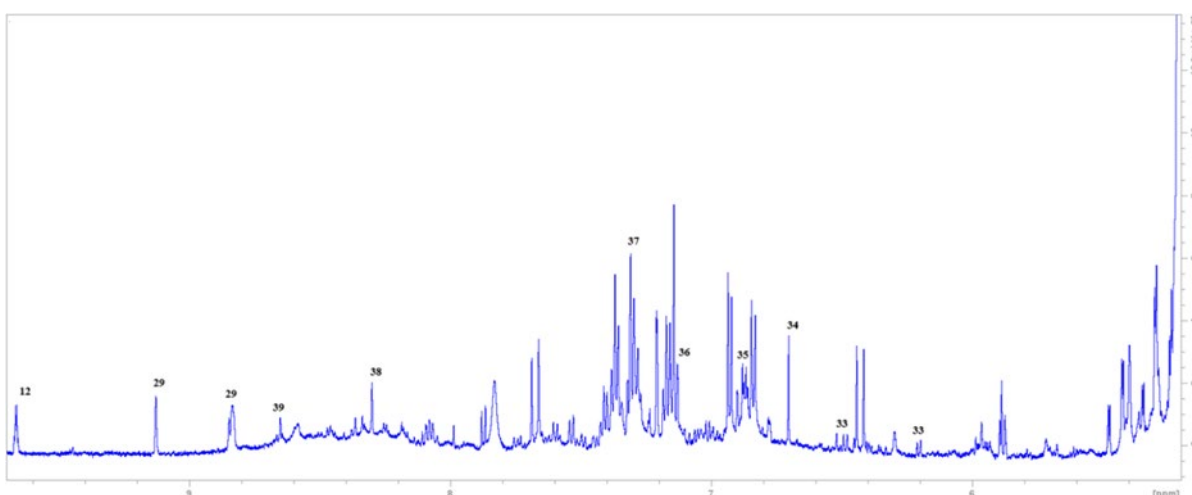
Iako su spektri NMR pjenušavih vina bogati signalima, jasno su uočljive regije tipične za uobičajene komponente vina kao što su: organske kiseline, alkoholi, aminokiseline i polifenoli. Na reprezentativnom spektru pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje (slike 5.3, 5.4 i 5.5) provedena je asignacija određenih metabolita koji se učestalo pojavljuju u uzorcima vina te je uspoređena s literaturnim podacima.^{5,9,39,70,71,72} Asignirani su karakteristični spojevi koji se pojavljuju u spektrima većine pjenušavih vina, a ne svi spojevi jer se dio njih ne može jednoznačno odrediti samo na temelju jednodimenzijskog spektra uslijed preklapanja signala.



Slika 5.3. Reprezentativni spektar ^1H NMR uzorka pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje uz NOESY supresiju signala vode i etanola za uvećani dio oko 1 – 3 ppm.



Slika 5.4. Reprezentativni spektar ^1H NMR uzorka pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje uz NOESY supresiju signala vode i etanola za uvećani dio oko 3 – 5 ppm.



Slika 5.5. Reprezentativni spektar ^1H NMR uzorka pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje uz NOESY supresiju signala vode i etanola za uvećani dio oko 5 – 10 ppm.

Detaljna asignacija signala uz navedene karakteristične spojeve prisutne u većini uzoraka pjenušavih vina navedena je u tablici 5.1, a provedena je na temelju usporedbe s literaturnim podacima.^{5,9,39,70,71,72} Osim navedenih spojeva, prisutni su još i mnogobrojni drugi spojevi, no njih se ne može asignirati jednoznačno samo na temelju jednodimenzijskih spektara ^1H NMR. Kao što je vidljivo iz tablice 5.1, u vinu su prisutni voda i etanol, zatim ostali alkoholi, šećeri, aminokiseline, organske kiseline te aromatski spojevi. Daleko su najvećeg intenziteta signali u

području 1–5 ppm, dok se područje iznad 5 ppm odlikuje mnogobrojnim signalima vrlo slabog intenziteta.

Iako su voda i etanol najzastupljeniji spojevi u vinu i stoga dominiraju u standardnim spektrima ^1H NMR, uobičajena je podjela spektara ^1H NMR na regije koje odgovaraju ostalim skupinama organskih spojeva prisutnih u vinu.⁷⁰ Tako područje 0,8 – 4,0 ppm sadrži signale alkohola poput izopentanol, butan-2,3-diola, propan-1-ola, metanola i glicerola; aminokiselina (izoleucin, prolin, γ -aminomaslačna kiselina, arginin) te organskih kiselina (mliječna, octena, pirogroždana, jantarna, jabučna, limunska i siringična). Regija 4,0 – 6,0 ppm ponajviše sadrži signale protona iz ugljikohidrata te se uslijed bogatstva signala različitih ugljikohidrata kao što su glukoza, fruktoza i ksiloza, njihovi signali znatno preklapaju što u konačnici i otežava asignaciju.⁷² Ugljikohidrati imaju velike spinske sustave, sa sedam spregnutih protona u izomerima glukoze i pet fruktoze te se njihovi signali pojavljuju uz izražene efekte sprežanja višeg reda.¹⁵ U nekim slučajevima teško je jednoznačno odrediti pripada li signal glukozi, fruktozi ili pak arabinozi. Naposljetku, područje 6 – 10 ppm sadrži aromatske spojeve, a njihovi signali najviše dolaze do izražaja uz supresiju signala vode, kao što je i prethodno spomenuto.^{70,71} Između ostalog, asignirani su resveratrol, tirozin, galna kiselina, 2-feniletanol, histidin i trigonelin. Osim navedenih skupina spojeva, u spektru ^1H NMR opaženi su i signali aldehida (etanal), ketona (acetoin), estera (etil-acetat i etil-laktat te neidentificirani laktat), galakturonske kiseline, mio-inozitola, kolina te vinske kiseline koja je karakterističan singlet za vina oko 4,54 ppm. U konačnici, vrijedi istaknuti da su određeni široki signali posljedica vodikovih veza i drugih međumolekulskih interakcija u polarnom mediju, s obzirom da je vino, a tako i pjenušac vodena matrica.

Tablica 5.1. Asignacija karakterističnih kemijskih pomaka u spektru ^1H NMR pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje prikazanog na slikama 5.3, 5.4 i 5.5. Oznake za multipletnost signala predstavljaju: s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubleta), t (triplet), q (kvartet) i m (multiplet). * označava neidentificirani laktat.

oznaka signala	$\delta(^1\text{H})$ / ppm	asignacija
1	0,88 (d), 1,46 (q), 1,65 (septet)	isopentanol
2	1,13 (d)	butan-2,3-diol

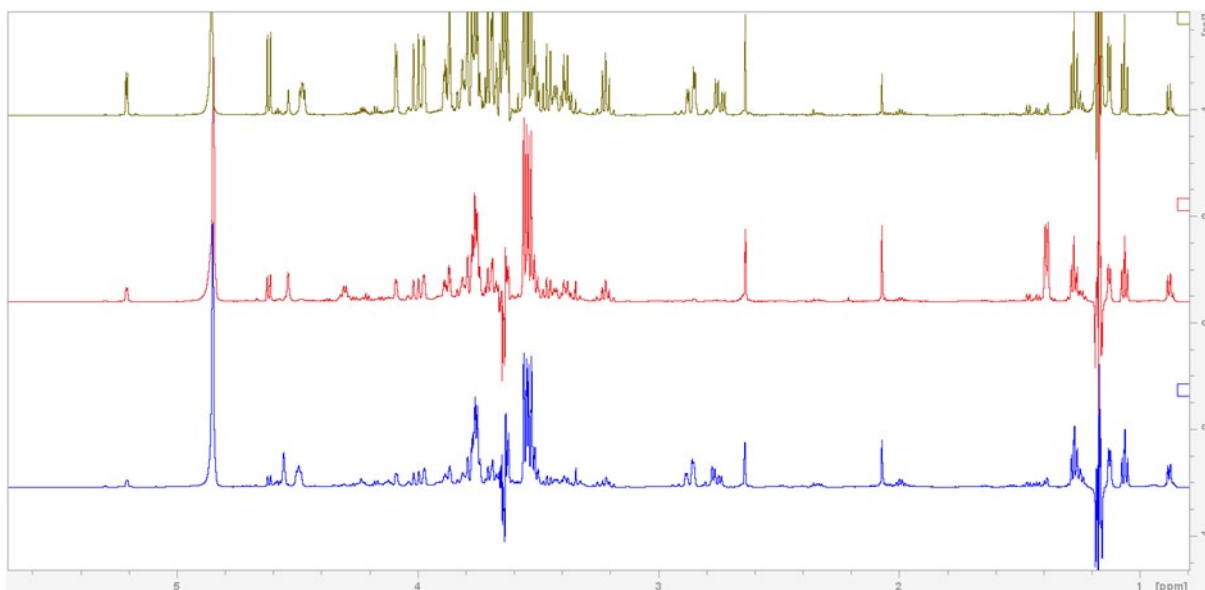
3	1,17 (t), 3,64 (q)	etanol
4	1,22 – 1,25 (m)	isoleucin
5	1,27 (t), 2,06 (s)	etil-acetat
6	1,39 (d)	mliječna kiselina
7	1,43 (d)	etil-laktat
8	1,53 (sektet)	propan-1-ol
9	1,99 (sektet), 2,32 – 2,35 (m)	prolin
10	2,07 (s)	octena kiselina
11	2,21 (s)	acetoin
12	2,23 (d), 9,66 (q)	etanal
13	2,36 (s)	pirogroždana kiselina
14	2,48 (t)	γ -aminomaslačna kiselina
15	2,64 (s)	jantarna kiselina
16	2,74 (dd), 2,87 (dd), 4,48 (dd)	jabučna kiselina
17	2,92 (d)	limunska kiselina
18	3,19 (s)	kolin
19	3,22 (t)	arginin
20	3,25 (t)	mio-inozitol
21	3,34 (s)	metanol
22	3,37 – 3,41 (m), 4,62 (d), 5,21 (d)	glukoza
23	3,48 (s)	acetoacetat
24	3,54 (dd)	glicerol
25	3,83 (s)	siringična kiselina
26	4,01 (dd)	fruktoza
27	4,17 (q)	laktat*
28	4,23 (dd)	galakturonska kiselina
29	4,40 (s), 8,82 – 8,85 (m), 9,13 (s)	trigonelin
30	4,54 (s)	vinska kiselina

31	4,86 (s)	voda
32	5,17 (d)	ksiloza
33	6,21 (d), 6,51 (d)	resveratrol
34	6,70 (s)	fumarna kiselina
35	6,86 – 6,89 (m)	tirozin
36	7,13 (s)	galna kiselina
37	7,27 – 7,33 (m)	2-feniletanol
38	8,30 (s)	formijat
39	8,65 (s)	histidin

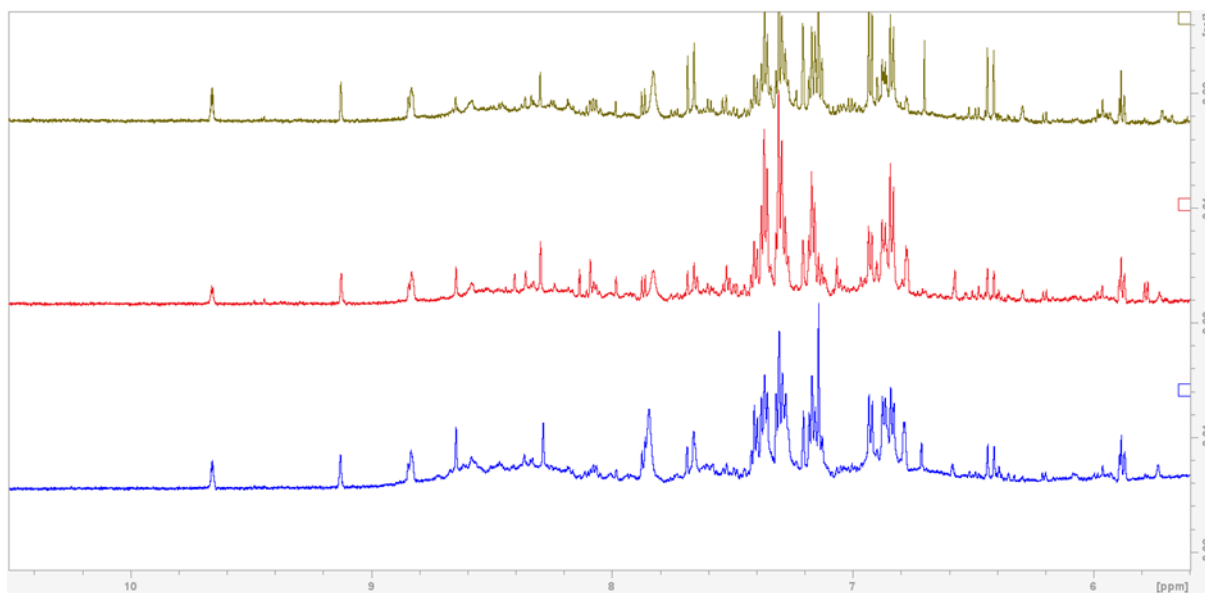
5.1.2. Usporedba jednodimenzijskih spektara ^1H NMR uz supresiju NOESY

Iako većina uzoraka pjenušavih vina sadrži slične signale pripadajućih spojeva, mogu se uočiti finije razlike među njima (kemijski pomaci i intenziteti signala) već na temelju kvalitativne usporedbe. Međutim, uslijed iznimne količine podataka koju sadrži jedan spektar NMR, implementacijom naprednih statističkih metoda te razlike dolaze još više do izražaja. U konačnici, sve razlike između spektara ^1H NMR pojedinih uzoraka mogu poslužiti kao markeri za klasifikaciju prema određenom svojstvu pjenušavog vina. U nastavku slijede usporedbe i opažanja za potencijalnu klasifikaciju prema geografskom podrijetlu i berbi.

Na slikama 5.6 i 5.7 prikazana su uvećana područja 0,8 – 5,7 ppm te 5,7 ppm – 10,5 ppm za 3 uzorka pjenušavih bijelih vina proizvedenih klasičnom metodom koja pripadaju istoj regiji (Zagorje-Međimurje) i imaju isti udio alkohola (v/v) 12,5 %, ali se razlikuju po berbi (2015, 2019, 2020). Značajne razlike opažaju se u područjima: 2,7 – 3,0 ppm (jabučna i limunska kiselina), 3,1 – 3,5 ppm (ugljikohidrati i alkoholi), 3,9 – 4,3 ppm (ugljikohidrati, mio-inozitol i dr.), 4,5 – 4,7 ppm (organske kiseline i ugljikohidrati) te aromatskoj regiji (7,5 – 8,5 ppm).

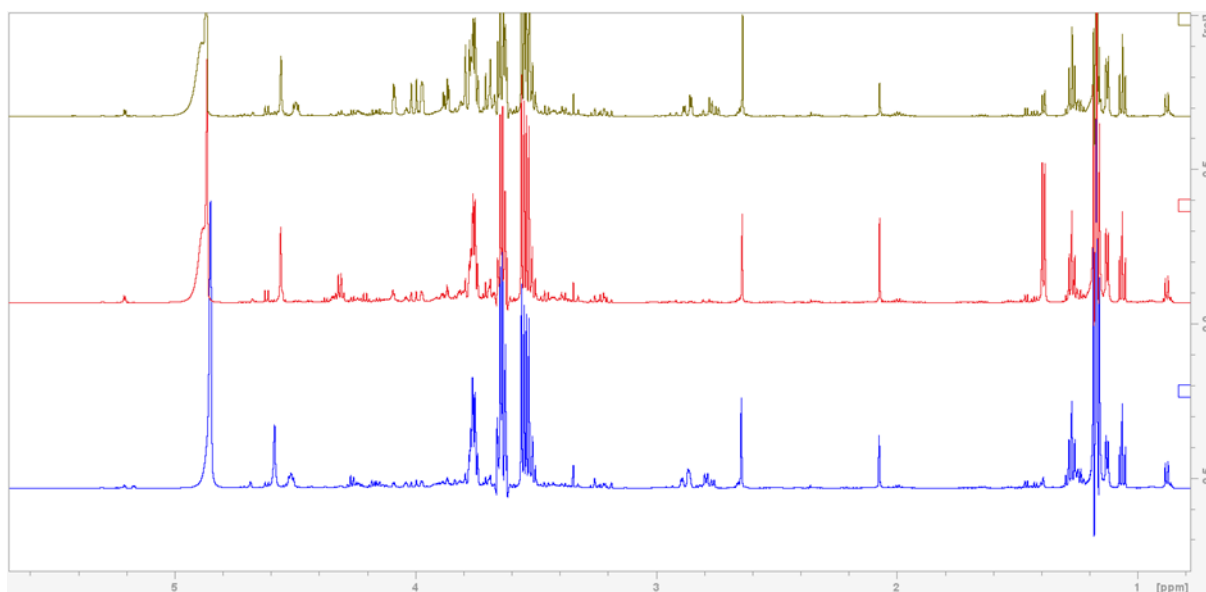


Slika 5.6. Uvećani prikaz regije 0,8 – 5,7 ppm za tri spektra ^1H NMR uz supresiju NOESY signala vode i etanola pjenušavih bijelih vina iz iste regije (Zagorje-Medimurje) koji se razlikuju po berbi. Plavi spektar pripada uzorku berbe 2019, crveni uzorku berbe 2015, a zeleni uzorku berbe 2020.

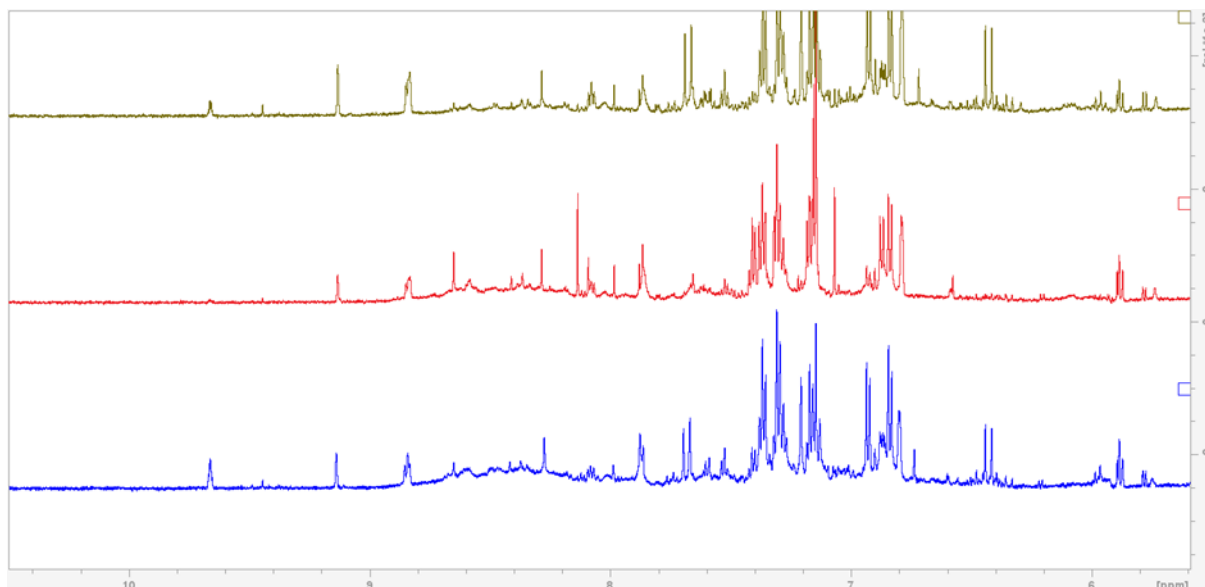


Slika 5.7. Uvećani prikaz regije 5,7 – 10,5 ppm za tri spektra ^1H NMR uz supresiju NOESY signala vode i etanola pjenušavih bijelih vina iz iste regije (Zagorje-Medimurje) koji se razlikuju po berbi. Plavi spektar pripada uzorku berbe 2019, crveni uzorku berbe 2015, a zeleni uzorku berbe 2020.

Nadalje, na slikama 5.8 i 5.9 prikazano je uvećano područje 0,8 – 5,7 ppm te 5,7 ppm – 10,5 ppm spektara ^1H NMR uz supresiju NOESY signala vode i etanola za 3 uzorka pjenušavih bijelih vina proizvedenih klasičnom metodom iste berbe (2018), ali koja pripadaju različitim regijama (Slavonija i Podunavlje; Posavje, Dolenjska; Hrvatska Istra i Kvarner). Vidljive su razlike u područjima: 2,7 – 3,0 ppm (jabučna i limunska kiselina), 3,7 – 3,9 ppm (ugljikohidrati i alkoholi), 3,9 – 4,4 ppm (ugljikohidrati, mio-inozitol i dr.), 4,5 – 4,8 ppm (ugljikohidrati i organske kiseline) te aromatskoj regiji (6,3 – 6,8 ppm i 7,5 – 8,2 ppm).



Slika 5.8. Uvećani prikaz regije 0,8 – 5,7 ppm za tri spektra ^1H NMR uz supresiju NOESY signala vode i etanola pjenušavih bijelih vina iste berbe, ali različitih regija. Plavi spektar pripada uzorku iz Slavonije i Podunavlja, crveni uzorku iz regije Posavje, Dolenjska, a zeleni uzorku Hrvatske Istre i Kvarnera.



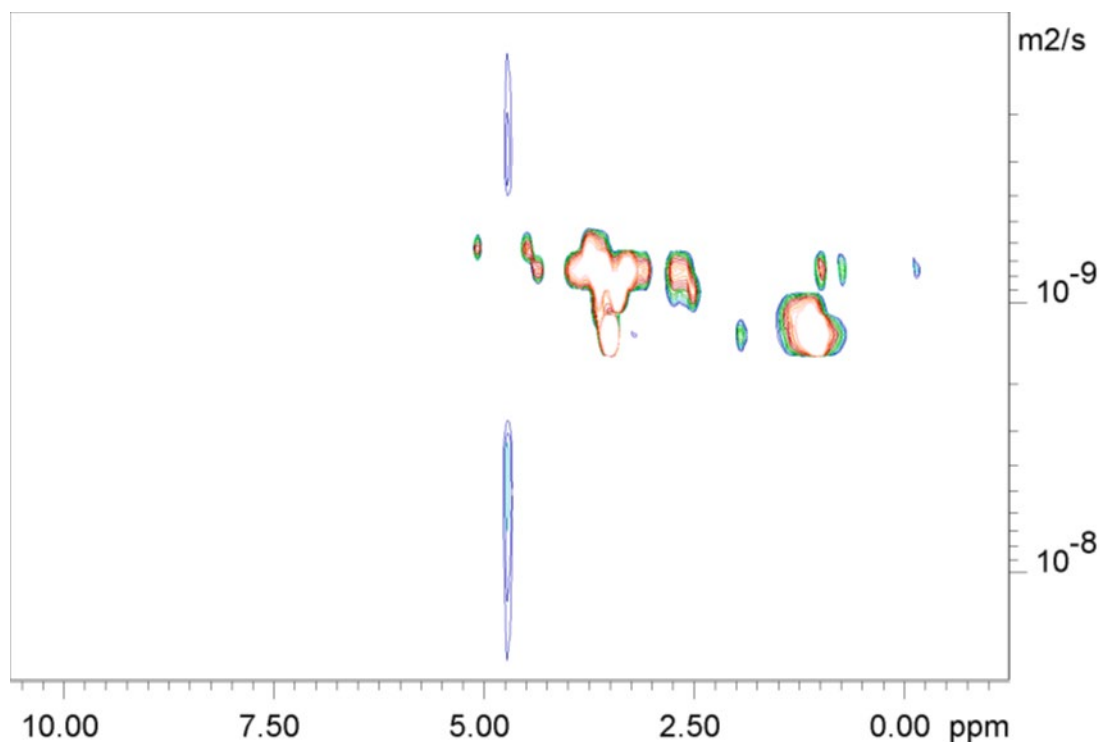
Slika 5.9. Uvećani prikaz regije 5,7 – 10,5 ppm za tri spektra ^1H NMR uz supresiju NOESY signala vode i etanola pjenušavih bijelih vina iste berbe, ali različitih regija (Slavonija i Podunavlje; Posavje, Dolenjska; Hrvatska Istra i Kvarner). Plavi spektar pripada uzorku iz Slavonije i Podunavlja, crveni uzorku iz regije Posavje, Dolenjska, a zeleni uzorku Hrvatske Istre i Kvarnera.

5.2. Spektri DOSY NMR

Kao što je već navedeno, na temelju spektara DOSY NMR smanjuje se preklapanje signala u jednodimenzijским spektrima ^1H NMR uvođenjem dodatne, difuzijske dimenzije. Time se omogućava razlikovanje molekula prema veličini bez fizičkog razdvajanja što je i glavna prednost tehnike DOSY NMR uz manji utrošak vremena u odnosu na uobičajene instrumentne tehnike poput kromatografije.

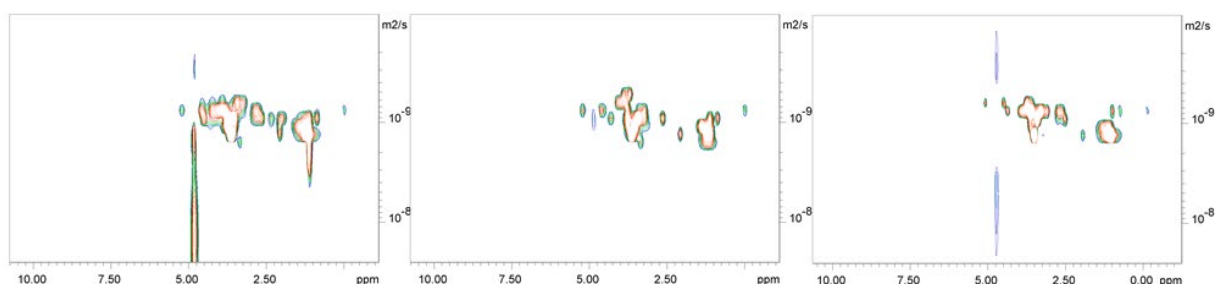
Raspon translacijskih difuzijskih koeficijenata za pjenušava vina je od 10^{-8} m^2/s do 10^{-10} m^2/s , što indicira postojanje molekula različitih veličina pri čemu se manje molekule gibaju brže pa imaju i veće difuzijske koeficijente.¹⁴ Reprezentativni spektar DOSY NMR istog uzorka kojem pripadaju i prethodni jednodimenzijски spektri ^1H NOESY NMR (uzorak pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje) prikazan je na slici 5.10. U nekim spektrima DOSY NMR intenzivniji su signali vode i etanola, pa tako ponegdje prekrivaju signale spojeva u blizini. Signali spojeva iznad 5 ppm ne opažaju se u spektru jer je riječ o izuzetno niskim koncentracijama, poglavito aromatskih spojeva koji su mnogo manje zastupljeni od primjerice alkohola, organskih

kiselina i ugljikohidrata. Nadalje, iz kontura u spektru DOSY NMR vidljivo je da se na određenom kemijskom pomaku u jednodimenzijskom spektru nalazi više spojeva jer dolazi do preklapanja signala, kao u slučaju signala oko 1 ppm.



Slika 5.10. Reprezentativni spektar DOSY NMR uzorka pjenušavog bijelog vina proizvedenog klasičnom metodom berbe 2020 iz regije Zagorje-Međimurje.

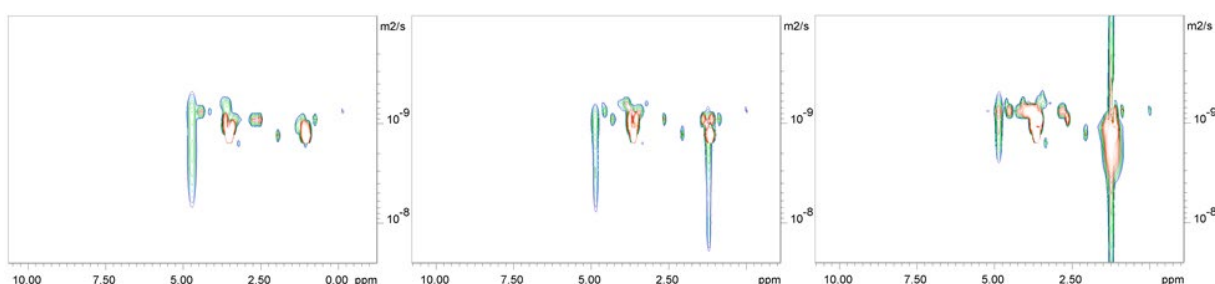
Na slici 5.11 prikazani su spektri DOSY NMR za tri uzorka pjenušavih bijelih vina proizvedenih klasičnom metodom koja pripadaju istoj regiji (Zagorje-Međimurje) i imaju isti udio alkohola (v/v) 12,5 %, ali se razlikuju po berbi (2015, 2019, 2020).



Slika 5.11. Spektri DOSY NMR spektri triju uzoraka pjenušavih bijelih vina proizvedenih klasičnom metodom koja pripadaju istoj regiji (Zagorje-Medimurje), ali se razlikuju po berbi.

Redom slijeva na desno uzroci koji pripadaju berbi 2019, 2015 i 2020.

Nadalje, na slici 5.12 prikazani su spektri DOSY NMR za tri uzorka pjenušavih bijelih vina proizvedenih klasičnom metodom iste berbe (2018), ali koja pripadaju različitim regijama (Slavonija i Podunavlje; Posavje, Dolenjska; Hrvatska Istra i Kvarner).

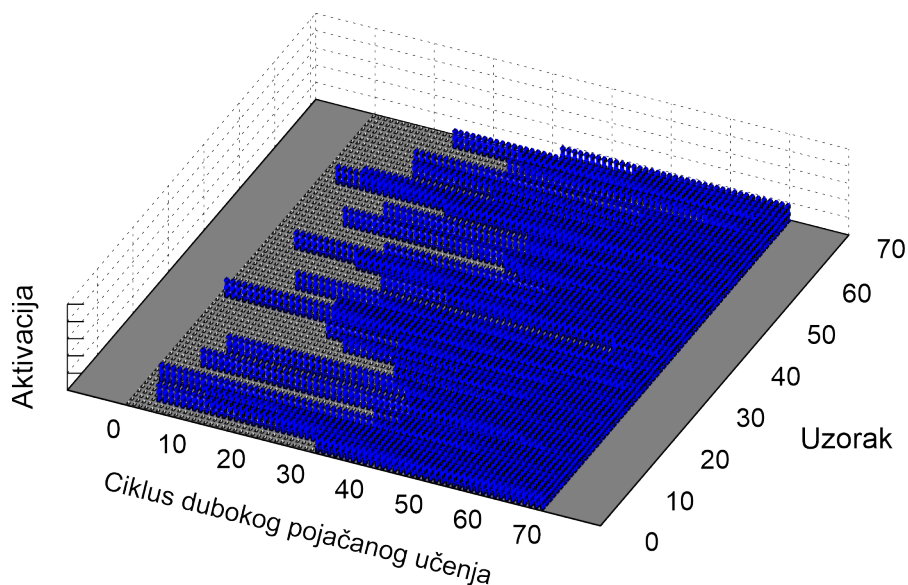


Slika 5.12. Spektri DOSY NMR triju uzoraka pjenušavih bijelih vina proizvedenih klasičnom metodom iste berbe (2018), ali koja pripadaju različitim regijama. Slijeva na desno redom uzorci iz regija: Slavonija i Podunavlje; Posavje, Dolenjska; Hrvatska Istra i Kvarner.

Premda se može prikupiti mnoštvo podataka o pjenušavim hrvatskim i slovenskim vinima iz eksperimentalnih mjerenja spektroskopijom ¹H NMR i DOSY NMR, zbog njihove složenosti nije direktno moguće odrediti kojoj geografiji pripadaju odnosno koja je bila berba. Unatoč činjenici da se na temelju spektara NMR mogu identificirati pojedini metaboliti prisutni u pjenušavim vinima, koji jesu karakteristični za berbu i područje uzgoja vinove loze, ne može se uspostaviti točan i pouzdan model. Stoga je bilo potrebno eksperimentalne podatke dodatno evaluirati pomoću suvremenih statističkih alata kao što je strojno učenje.¹⁴

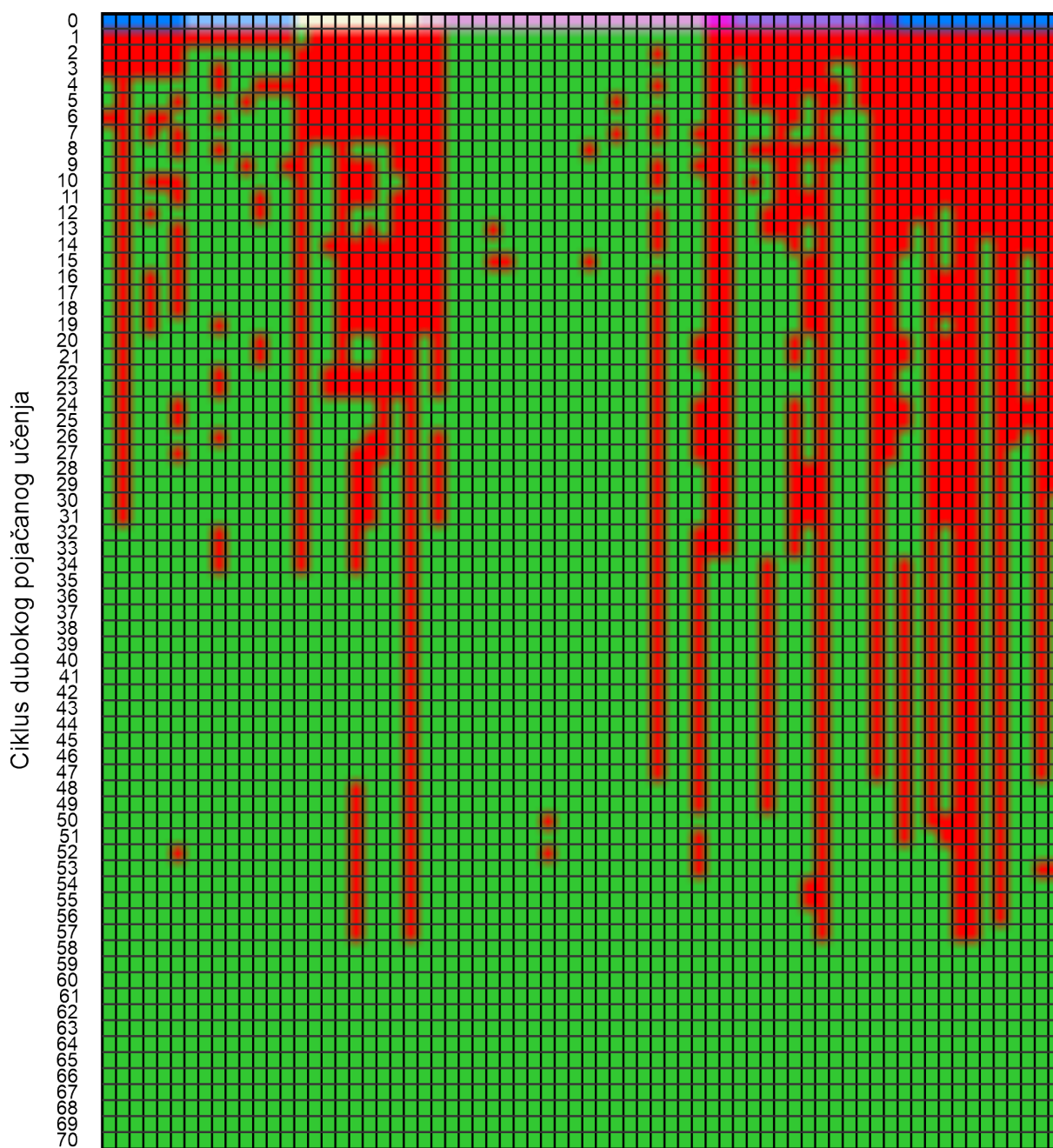
5.3. Klasifikacija uzoraka pjenušavih vina dubokim pojačanim učenjem

Prilikom provedbe strojnog učenja, točnije dubokog pojačanog učenja, skup za treniranje postupno se povećavao prilikom svakog ciklusa treniranja, u ovome slučaju dodatkom jednog uzorka po ciklusu. Na slici 5.13 prikazane su tzv. aktivacije uzoraka odnosno prisutnosti pojedinog uzorka u skupu za treniranje za svaki pojedini ciklus učenja.



Slika 5.13. Aktivacija uzoraka vina u skupu za treniranje neuronske mreže tijekom dubokog pojačanog učenja.

Kao jedan od načina praćenja napretka dubokog pojačanog učenja, korištena je progresivna matrica konfuzije, prikazana na slici 5.14. Iz progresivne matrice konfuzije, vidljivo je da se povećanjem skupa za treniranje, koji je predložen aktivacijama uzoraka na slici 5.13, postupno povećava ukupna točnost klasifikacije uzoraka u točnu kategoriju geografskog podrijetla.

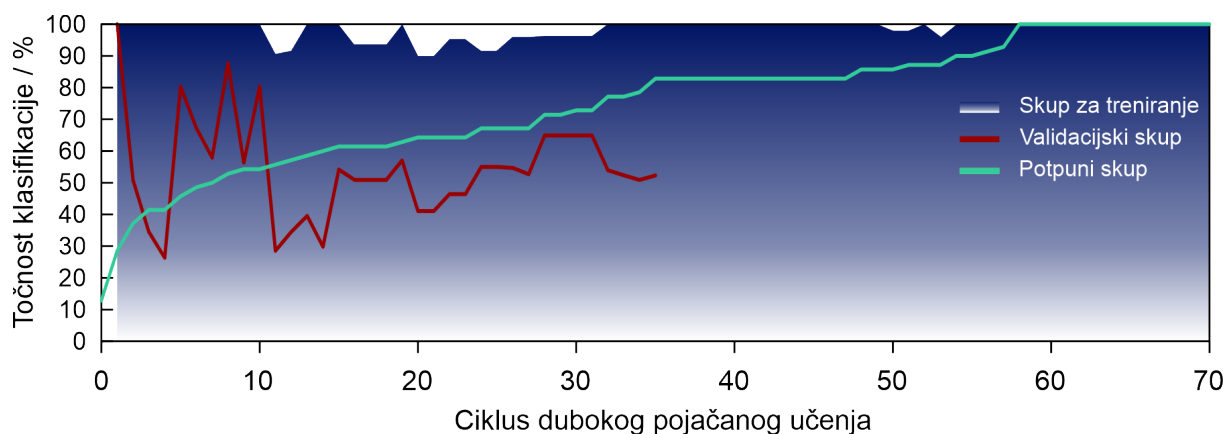


Točnost očekivane kategorije

Slika 5.14. Progresivna matrica konfuzije klasifikacije uzoraka vina za protokol dubokog pojačanog učenja na podacima reduciranih spektara DOSY NMR. Zeleno su označene točne, a crveno pogrešne klasifikacije prilikom procesa učenja. Oznaka 0 odgovara točnoj klasifikaciji uzoraka s obzirom na geografsko podrijetlo.

Točnost klasifikacije provedenog postupka klasifikacije uzoraka vina također je praćena tijekom svakog ciklusa učenja s obzirom na korišteni skup za testiranje, validaciju, odnosno treniranje (prikazano na slici 5.15). Treniranjem mreže na polovici uzoraka iz skupa za

treniranje postignuta je točnost klasifikacije od 83%, ukazujući da neuronska mreža relativno brzo postiže mogućnost generalizacije i pravilnog predviđanja geografskog podrijetla uzoraka.



Slika 5.15. Točnost klasifikacije uzoraka vina dubokim pojačanim učenjem na podacima reduciranih spektara DOSY NMR tijekom ciklusa učenja. Tikiznom linijom označena je točnost klasifikacije s obzirom na potpuni skup podataka, crvenom linijom točnost s obzirom na skup za validaciju, a plavo je označena točnosti s obzirom na skup za treniranje. Konačna točnost klasifikacije nad potpunim skupom podataka iznosi 100%.

§ 6. ZAKLJUČAK

Primjenom jednodimenzijske spektroskopije ^1H NMR uz NOESY supresiju signala vode i etanola te pseudo-dvodimenzijske tehnike DOSY NMR koja smanjuje spektralna preklapanja uspješno je analizirano 70 uzoraka hrvatskih i slovenskih pjenušavih vina različitog geografskog podrijetla, sorte i berbe. Ovisno o različitoj karakteristici vina, bilo to geografsko podrijetlo, sorta grožđa ili berba, već se kvalitativnom usporedbom spektara mogu uočiti finije razlike koje poglavito dolaze do izražaja implementacijom multivarijatne analize. Analizom snimljenih spektara moguće je identificirati glavne spojeve i metabolite prisutne u vinima koji su karakteristični za pojedine sorte. U ovome radu naglasak je bio na korištenju cjelokupnog spektra NMR kao molekulskog otiska prsta pojedinog pjenušca za utvrđivanje specifičnih karakteristika kao što je geografsko podrijetlo. Nadalje, primjenom dubokog pojačanog učenja, pokazano je da (reducirani) spektri DOSY NMR mogu poslužiti kao prihvatljivi deskriptori geografskog podrijetla pomoću kojih je moguća uspješna klasifikacija nepoznatih uzoraka pjenušavih vina ukoliko ona s obzirom na geografsko podrijetlo pripadaju područjima obuhvaćenim danim klasifikacijskim modelom.

Stoga je spektroskopija NMR vrlo učinkovita metoda za analizu vina, s obzirom da je riječ o brznoj i preciznoj metodi koja zahtijeva minimalnu pripravu uzorka. U sprezi s multivarijatnim metodama analize i dubokim pojačanim učenjem, moguće je postići klasifikaciju pjenušavih vina prema geografskom podrijetlu na temelju spektara DOSY NMR, ukazujući na mogućnost primjene za autentifikaciju i kontrolu kvalitete u industriji proizvodnje vina. Sličan pristup mogao bi se primijeniti i na ostale složene matrice osim vina, kao što je pivo i druga alkoholna pića pa ovaj pristup ima snažan potencijal za praktičnu primjenu.

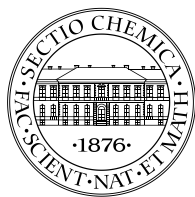
§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. S. Buxaderas, E. López-Tamames, u J. Henry (ur.) *Advances in Food and Nutrition Research*, Vol. 66, Academic Press, 2012, str. 1–45.
2. *International Code of Oenological Practices, International Organisation of Vine and Wine*, Pariz, 2022.
3. J. E. Jones, F. L. Kerslake, D. C. Close, R. G. Damberg, *Am. J. Enol. Vitic.* **65** (2014)
4. B. Kemp, B. Condé, S. Jégou, K. Howell, Y. Vasserot, R. Marchal, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **59** (2019) 2072–2094.
5. I. Le Mao, G. Da Costa, C. Bautista, G. de Revel, T. Richard, *Food Control* **145** (2023) 109423
6. J. V. Fonayet, G. Loupit, T. Richard, *Adv. Bot. Res.* **98** (2021) 297–357.
7. E.-I. Geană, C. T. Ciucure, C. Apetrei, V. Artem, *Molecules* **24** (2019) 4166, 1–15.
8. https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/TA-7-2014-0011_EN.html (datum pristupa: 14. prosinca. 2024.)
9. L. Gougeon, G. Da Costa, I. Le Mao, W. Ma, P. Teissedre, F. Guyon, T. Richard, *Food Anal. Methods* **11** (2018) 3425–3434.
10. P. P. Becchi, V. Lolli, L. Zhang, F. Pavanello, A. Caligiani, L. Lucini, *Food Chem. :X* **23** (2024) 101607
11. <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/mr/nmr-food-solutions/wine-profiling0.html> (datum pristupa: 16. prosinca. 2024.)
12. R. Godelmann, F. Fang, E. Humpfer, B. Schütz, M. Bansbach, H. Schäfer, M. Spraul, *J. Agric. Food Chem.* **61** (2013) 5610–5619.
13. P. A. Solovyev, C. Fahul-Hassek, J. Reidl, S. Esslinger, L. Bontempo, F. Camin, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **20** (2021) 2040–2062.
14. A. M. Jagatić Korenika, A. Jeromel, I. Tomaz, T. Jednačak, S. Rončević, I. Nemet, I. Primožič, T. Hrenar, P. Novak, *Food Chemistry: X* **21** (2024) 101162
15. Y. Matviychuk, S. Haycock, T. Rutan, D. J. Holland, *Anal. Chim. Acta* **1182** (2021) 338994.
16. A. R. Hategan, M. David, A. Pirnau, B. Cozar, S. Cinta-Pinzaru, F. Guyon, D. A. Magdas, *Food Chem.* **458** (2024) 140245
17. J. Culbert, D. Cozzolino, R. Ristic, K. Wilkinson, *Molecules* **20** (2015) 8341–8356.
18. L. Martínez-Lapuente, Z. Guadalupe, B. Ayestarán, S. Pérez-Magariño, *Food Chem.* **174** (2015) 330–338.

19. M. De Rosso, A. Panighel, A. Dalla Vedova, L. Stella, R. Flamini, *J. Agric. Food Chem.* **57** (2009) 1915–1920.
20. J. Torrens, M. Riu-Aumatell, S. Vichi, E. López-Tamames, S. Buxaderas, *J. Agric. Food Chem.* **58** (2010) 2455–2461.
21. M. Tufariello, A. Rizzuti, L. Palombi, R. Ragone, V. Capozzi, V. Gallo, P. Mastrorilli, F. Grieco, *Food Control* **126** (2021) 108099.
22. A. L. Robinson, P. K. Boss, P. S. Solomon, R. D. Trengove, H. Heymann, S. E. Ebeler, *Am. J. Enol. Vitic.* **65** (2014) 1–24.
23. M. Amargianitaki, A. Spyros, *Chem. Biol. Technol. Agric.* **4** (2017)
24. https://agriculture.ec.europa.eu/farming/geographical-indications-and-quality-schemes/geographical-indications-and-quality-schemes-explained_en (datum pristupa: 30. studenog. 2024.)
25. S. Blotevogel, E. Schreck, C. Laplanche, P. Besson, N. Saurin, S. Audry, J. Viers, P. Oliva, *Food Chem.* **298** (2019) 125033.
26. J. H. Swiegers, E. J. Bartowsky, P. A. Henschke, I. S. Pretorius, *Aust. J. Grape Wine Res.* **11** (2005) 139–173.
27. H. Alexandre, M. Guilloux-Benatier, *Aust. J. Grape Wine Res.* **12** (2006) 119–127.
28. S. Francioli, M. Guerra, E. López-Tamames, J. M. Guadayoi, J. Caixach, *Am. J. Enol. Vitic.* **50** (1999) 404–408.
29. D. Cenbauer, I. Prša, R. Leder, V. Kubanović, Zbornik sažetaka, 50. hrvatski i 10. međunarodni simpozij agronoma, Opatija, 2015, str. 250–251.
30. H. Wu, L. Tian, B. Chen, B. Jin, B. Tian, L. Xie, K. M. Rogers, G. Lin, *Food Chem.* **301** (2019) 125137.
31. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:52020PC0570> (datum pristupa: 6. prosinca. 2024.)
32. E. G. A. Filho, L. M. A. Silva, P. R. V. Ribeiro, E. S. de Brito, G. J. Zocolo, P. C. Souza-Leão, A. T. B. Marques, A. L. Quintela, F. H. Larsen, K. M. Canuto, *Food Chem.* **289** (2019) 558–567.
33. Á. D. N. Sárdy, M. Ladányi, Z. Varga, Á. P. Szövényi, R. Matolcsi, *Diversity* **14** (2022) 74, 1–16.
34. P. Novak, T. Jednačak, Strukturna analiza spojeva spektroskopskim metodama, TIVA Tiskara Varaždin, Varaždin, 2013, str. 1–21, 27, 28, 41.
35. W. Hiller, P. Sinha, M. Hehn, H. Pasch, *Prog. Polym. Sci.* **39** (2014) 979–1016.
36. F. T. Watson, M. Nilsson, M. Herderich, A. Torres, W. S. Price, G. A. Morris, *Food Res. Int.* **209** (2025) 116247.
37. E. Hatzakis, *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **18** (2019) 189–220.
38. R. T. McKay, *Concepts Magn. Reson. Part A* **38A** (2011) 197–220.

39. I. Le Mao, J. Martin-Pernier, C. Bautista, S. Lacampagne, T. Richard, G. Da Costa, *Molecules* **26** (2021) 6771
40. H. M. Charnock, G. J. Pickering, B. S. Kemp, *J. Food Compos. Anal.* **125** (2024) 105834
41. T. S. Awad, D. Asker, L. S. Romsted, *J. Colloid Interface Sci.* **514** (2018) 83–92.
42. C. S. Johnson Jr., *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **34** (1999) 203–256.
43. Y. Cohen, L. Avram, L. Frish, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **44** (2005) 520–554.
44. A. Macchioni, G. Ciancaleoni, C. Zuccaccia, D. Zuccaccia, *Diffusion Ordered NMR Spectroscopy (DOSY)*, Supramol. Chem.:Mol. Nanomater., John Wiley & Sons, Hoboken, 2012
45. P. Stilbs, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **19** (1987) 1–45.
46. A. Macchioni, G. Ciancaleoni, C. Zuccaccia, D. Zuccaccia, *Chem. Soc. Rev.* **37** (2008) 479–489.
47. Pulse Program Catalogue: I. 1D & 2D NMR experiments, NMRGuide – Topspin 3.0, T. Parella, Bruker Biospin, 2010.
48. I. Goodfellow, Y. Bengio, A. Courville, *Deep Learning*, MIT Press, Cambridge, 2016
49. B. Dabelo Bašić, M. Čupić, J. Šnajder, *Umjetne neuronske mreže*
50. C.C. Aggarwal, *Neural Networks and Deep Learning*, Springer International Publishing, Cham, 2018
51. W. S. McCulloch, *W. Pitts, Bull. Math. Biophys.* **5** (1943), 115–133.
52. D. E. Rumelhart, G. E. Hinton, R. J. Williams, *Nature* **323** (1986) 533–536.
53. F. Rossenblat, *Psychol. Rev.* **65** (1958) 386–408
54. medicalxpress.com/news/2018-07-neuron-axons-spindly-theyre-optimizing.html (datum pristupa: 19. kolovoza 2025.)
55. R. M. Hristev, *The ANN Book*, GNU Public Licence, 1998
56. <https://alexlenail.me/NN-SVG/index.html> (datum pristupa: 19. kolovoza 2025.)
57. K. Hornik, M. Stinchcombe, H. White, *Neural Netw.* **2** (1989) 359–366.
58. Z. Pišonić, *Modeliranje ploha potencijalne energije benzena i njegovih heterocikličkih analoga primjenom dubokog učenja*, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2024.
59. H. Wang et al., *Front. Inf. Technol. Electron. Eng.* **21** (2020) 1726–1744.
60. T.G. Kolda, B.W. Bader, *SIAM Rev.* **51** (2009) 455–500.
61. T. G. Kolda, *Multilinear Operators for Higher-Order Decompositions*, Tech. Report SAND2006-2081, Sandia National Laboratories, Albuquerque, 2006
62. L. R. Tucker, u C. W. Harris (ur.), *Problems in Measuring Change*, University of Wisconsin Press, Madison, 1963, str. 122–137.
63. L. R. Tucker, u H. Gulliksen i N. Frederiksen (ur.), *Contributions to Mathematical Psychology*, Holt, Rinehardt & Winston, New York, 1964, str. 110–127.

64. L. R. Tucker, *Psychometrika* **31** (1966) 279–311.
65. L. De Lathauwer, B. De Moor, J. Vandewalle, *SIAM J. Matrix Anal. Appl.* **21** (2000) 1253–1278.
66. D. A. Magdas, A. Pirnau, I. Feher, F. Guyon, B. I. Cozar, *LWT–Food Sci. Technol.* **109** (2019) 422–428.
67. S. K. Bharti, R. Roy, TrAC, *Trends Anal. Chem.* **35** (2012) 5–26.
68. <https://ciuk.hr/2021/12/23/galerija-izvrnosti-u-kemiji/> (datum pristupa: 22. svibnja. 2025.)
69. T. Hrenar, *moonee*, *Code for Manipulation and Analysis of Multi- and Univariate Big Data*, rev. 0.68268, 2025.
70. A. Mascellani, G. Hoca, M. Babisz, P. Krska, P. Kloucek, J. Havlik, *Food Chem.* **339** (2021) 127852
71. E. López-Rituerto, F. Savorani, A. Avenzoza, J. H. Busto, J. M. Peregrina, S. Balling Engelsen, *J. Agric. Food Chem.* **60** (2012) 3452–3461.
72. M. Nilsson, I. F. Duarte, C. Almeida, I. Delgadillo, B. J. Goodfellow, A. M. Gil, G. A. Morris, *J. Agric. Food Chem.* **52** (2004) 3736–3743.



Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Kemijski odsjek

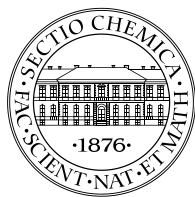
SAŽETAK

Klasifikacija hrvatskih i slovenskih pjenušavih vina prema geografskom podrijetlu primjenom spektroskopije DOSY NMR i dubokog pojačanog učenja

Franka Sunjka i Jakov Borovec

Spektri NMR mogu poslužiti kao otisci prsta pojedinog vina, pri čemu se koriste napredne statističke metode kako bi se utvrdile sličnosti i razlike na temelju velike količine dostupnih spektralnih podataka. Razni čimbenici utječu na svojstva vina, pa tako i pjenušavih vina, od geografskog podrijetla, sorte, berbe do tehnika proizvodnje. Geografsko podrijetlo povezano je s prestižem i kvalitetom pjenušavih vina, stoga je važno pouzdano ih autentificirati kako bi se izbjegle patvorine. Na temelju spektara ^1H NMR uz supresiju signala vode i etanola identificirani su karakteristični metaboliti za 70 uzoraka hrvatskih i slovenskih pjenušavih vina. Snimljeni su i pseudo-dvodimenzijски spektri DOSY (engl. *diffusion ordered spectroscopy*) NMR koji su, nakon primjene Tucker3 dekompozicije tenzora, iskorišteni za razvoj klasifikacijskog modela uzoraka s obzirom na geografsko podrijetlo primjenom dubokog pojačanog učenja. Predloženi model ima visok potencijal za praktičnu primjenu na tržištu.

Ključne riječi: DOSY, geografsko podrijetlo, ^1H NOESY NMR, duboko pojačano učenje, pjenušava vina



University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Chemistry

ABSTRACT

Classification of Croatian and Slovenian sparkling wines according to their geographical regions using DOSY NMR spectroscopy and deep reinforcement learning

Franka Sunjka i Jakov Borovec

NMR spectra represent wine fingerprints and coupled with advanced statistical methods can serve as a tool for determining similarities and differences based on the vast amount of obtained spectral data. Various parameters influence wine characteristics, such as geographical origin, variety, vintage, and production techniques. Geographical origin is connected to a sparkling wine's quality and prestige, and it is important to reliably authenticate them to avoid fraud. The characteristic metabolites for 70 samples of Croatian and Slovenian sparkling wines were identified based on ^1H NMR spectra with the suppression of water and ethanol signals. Furthermore, DOSY (*diffusion ordered spectroscopy*) NMR spectra were also recorded and analysed, and used with Tucker3 tensor decomposition in order to build a classification model for sparkling wines according to geographical origin utilizing deep reinforcement learning. This model shows great potential for practical applications.

Keywords: deep reinforcement learning, DOSY, geographical origin, ^1H NOESY NMR, sparkling wine

ZAHVALE

Veliko hvala mentorima ovog rada, prof. dr. sc. P. Novaku i prof. dr. sc. T. Hrenaru, na pruženoj prilici, ukazanom povjerenju, dijeljenju svog znanja i iskustva te neprocjenjivim savjetima. Zahvaljujući vama imali smo mogućnost još dublje zaroniti u znanost.