



Design av on-line transflektanscell för mätning av turbida material

*Design of a measurement cell for on-line measurement of turbid
materials*

Josefina Nyström, Torgny Mossing, och Paul Geladi

Rapport 19 2014

Sveriges lantbruksuniversitet

Institutionen för skogens biomaterial och teknologi

S-901 83 UMEÅ

www.slu.se/sbt

Tfn: 090-786 81 00

Rapport från Institutionen för Skogens Biomaterial och Teknologi



EUROPEISKA UNIONEN
Europeiska socialfonden

Design av on-line transflektanscell för mätning av turbida material

*Design of a measurement cell for on-line measurement of turbid
materials*

Josefina Nyström, Torgny Mossing, och Paul Geladi

Rapport 19 2014

Sveriges lantbruksuniversitet

Institutionen för skogens biomaterial och teknologi

Utgivningsort: Umeå

Utgivningsår: 2014

Rapport från Institutionen för Skogens Biomaterial och Teknologi

Innehållsförteckning

Populärvetenskaplig sammanfattning	3
English summary	3
Introduktion	5
Utförande.....	6
<i>Konstruktion av transflektanprob</i>	6
<i>Mjölkpulver design</i>	7
Resultat.....	9
<i>Mjölkdir design</i>	9
<i>Jämförelse av FOSS 6500 och Tec5</i>	11
Slutsatser	11
Bilaga 1: Beskrivning av material använda i mjölkpulverdesignen.....	13
Bilaga 2: Spektrometrarna.....	14

Populärvetenskaplig sammanfattning

Industrin är i behov av online-mätningar för att följa och styra batch- och kontinuerliga processer. En snabb och tillförlitlig teknik för att följa ändringar in en procesström är spektroskopi, i synnerhet nära infraröd (NIR). Online NIR-spektroskopi utförs med transmission (på homogena klara vätskor) eller med reflektion (på heterogena fasta material). För turbida vätskor behövs en prob som kan mäta integrerande över stora ytor och med olika inträngningsdjup i vätskan. Vi konstruerade en sådan prob och testade dess egenskaper med hjälp av statistisk försöksplanering och multivariat data analys. En jämförelse gjordes även med en kommersiell prob. Mejeriavfall som går till anaerob rötning är en typisk turbid vätska utan reproducerbara egenskaper. För att simulera mejeriavfallens turbiditet användes lösningar av reproducerbara mängder mjölkpulver. Som testfaktorer användes 1) olika mängder turbiditet (mjölkpulver koncentration), 2) temperatur och 3) mängden analyt.

Jämförelsen av proberna visar att den konstruerade proben har nästan samma egenskaper som den kommersiella och att den går att använda för olika slags at-line och on-line process mätningar. Skillnaden är att den kommersiella proben är ämnad för immersion i vätskan medan den nya proben är till för mätning genom ett fönster i en vätska som blir pumpad. Försöksplaneringen ger en bra insyn i vilka faktorer som är viktiga för en stabil och reproducerbar mätning.

English summary

The process industry needs fast online measurement for monitoring batch and continuous processes. Near infrared (NIR) spectroscopy is a fast and reliable technique often used for this purpose. One can apply NIR spectroscopy in transmission mode (for homogeneous liquids) or in reflectance mode (for inhomogeneous solids). For turbid liquids, there is a need for a probe that can measure over larger areas and with flexible penetration depths. Such a probe was constructed and tested using experimental design and multivariate data analysis. This was done in comparison with a commercial probe. Dairy waste used for anaerobic fermentation is a typical turbid liquid, but not very homogeneous. To simulate the turbidity of dairy products, solutions of well-known amounts of milk powder were used. The factors used in the experimental design were turbidity (amount milk powder) / temperature / amount of analyte present.

The comparison of the probes shows that the constructed probe has comparable properties to the commercial one and that it can be used for different at-line and on-line measurements. The difference is that the commercial probe is meant for immersion in the liquid while the new construction is a non-contact cell through which the liquids are pumped. The results of the experimental design give a good insight in which factors are important for a stable and reproducible measurement.

Introduktion

Spektroskopiska tekniker kan användas online för att följa processer i realtid (1, 2). Mätningen görs med transmission på homogena och klara vätskor och med reflektion på fasta material. Fasta material är ofta inte homogena och därför måste man integrera över en större yta. Med klara vätskor har man en fast kyvettbredd. Med fasta material är inträngningsdjupet varierande och okänd.

En del material utgör ett mellanting mellan fast och flytande och till denna klass hör turbida vätskor. Ibland har man svårt att bestämma hur turbida material skall mätas men om vätskan inte absorberar för mycket ljus är transflektans en bra metod. Transflektans innebär att strålning transmittas/absorberas av ett delvis transparent material varvid det träffar en högre reflektiv yta vilket får strålningen att gå ungefär samma väg tillbaka. Således innebär den transreflektiva mätningen att provets djup/bredd effektivt fördubblas.

Ett flertal studier har utförts på mjölk och mjölkpulver (3, 4, 5). I dessa studier har man tagit upp problematiken med ljusspridning som beror av partikelstorlek och koncentration samt vikten av att ha en stor mätyta för att minimera den.

Projektet förfogar över två olika Nir instrument (Foss 6500 och Tec5 Handy Spec). Till Foss instrumentet fanns en glasfiberbaserad immersionsprob för transflektansmätning men till Tec5 fanns det endast rena transmissions- eller reflektions prober. Då ingen av dessa kunde användas för on-line mätning, bestämde vi oss för att konstruera en egen transflektansprob som möjliggör on-line mätning.

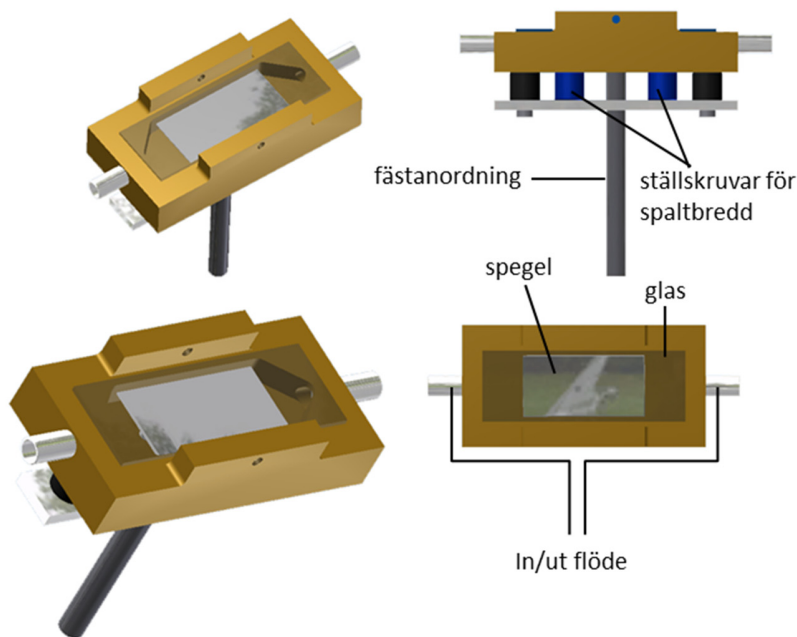
Kravet på proben var:

- kan användas som genomströmningsprob för turbida vätskor
- tillåter integrerad mätning över en relativ stor yta
- möjlighet att justera inträngningsdjup

Utförande

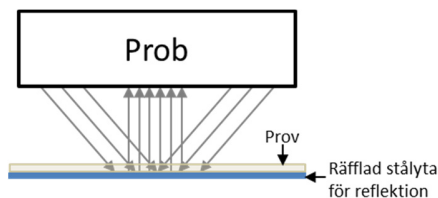
Konstruktion av transflektanprob

En genomströmningstransflektanscell konstruerades av Unimeg, Umeå Universitet, *se fig. 1*. Tillsammans med instrumentets reflektansprob blir detta en funktionell transflektansprob. Transflektans mäts genom att mediet belyses med reflektansproben, det ljus som tränger genom provet träffar en blank räfflad yta av stål varvid ljuset åter reflekteras till proben.



Figur 1: Byggskisser på den ställbara transflektanscellen.

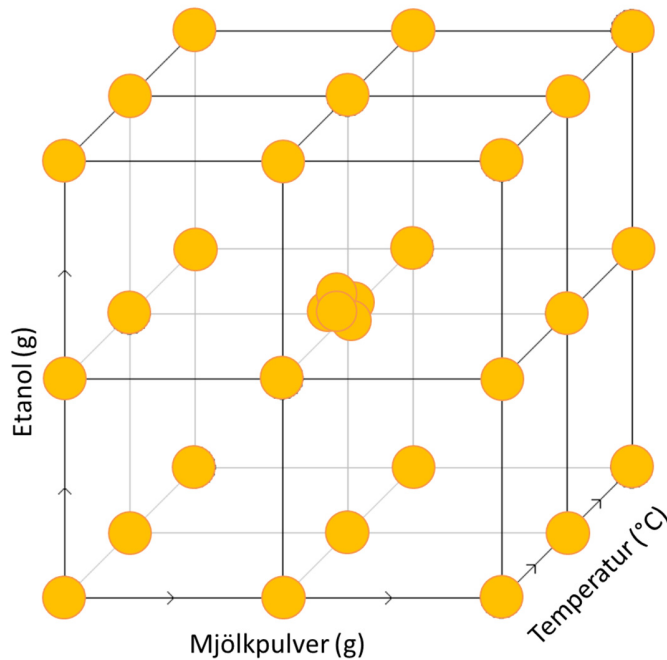
Efter som reflektansproben belyser provet snett så krävdes att den blanka ytan räfflades för att ljuset skulle kunna reflekteras i rätt riktning, *se fig. 2*. Spaltbredden kan ändras genom att förflytta reflektansytan i höjddled genom att skruva på ställskruvarna (*se fig. 1*). Genom att koppla på slangar på in- och utkanal och pumpa vätska genom cellen fås ett system som är lämpligt för on-line applikationer i laboratorieskala. För att minska risken för turbulens när provet pumpas genom cellen så konstruerades den med triangulär öppning för in och utloppet.



Figur 2: Visar hur ljuset belyser provet innan det reflekteras tillbaka till proben.

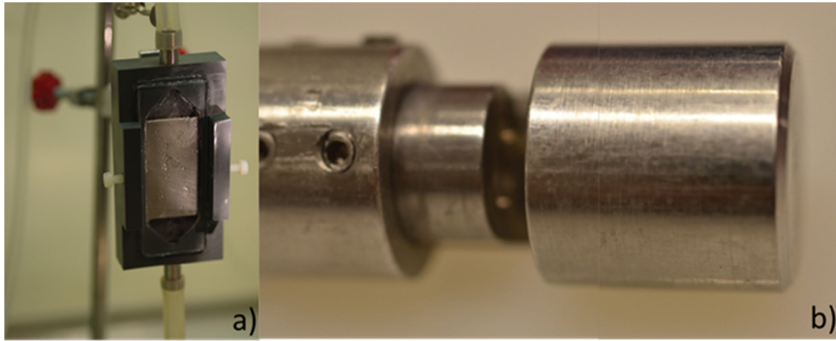
Mjölkpulver design

För att utvärdera den nya mätcellen designades ett försök på ett artificiellt avloppsvatten från ett mejeri där mjölkpulver (Nestle NIDO) blandades med vatten och etanol (Solveco 95%) tillsattes som analyt, se bilaga 1. De tre faktorer: mjölkpulver (g) / etanol (g) / temperatur (°C) varierades på 3 nivåer i en 3^3 design och 5 replikat mättes i centrumunkten, se fig. 3. Designen konstruerades i MODDE (6) och analyserades i Evince (7)



Figur 3: 3^3 design med 5 replikat i centrumunkten.

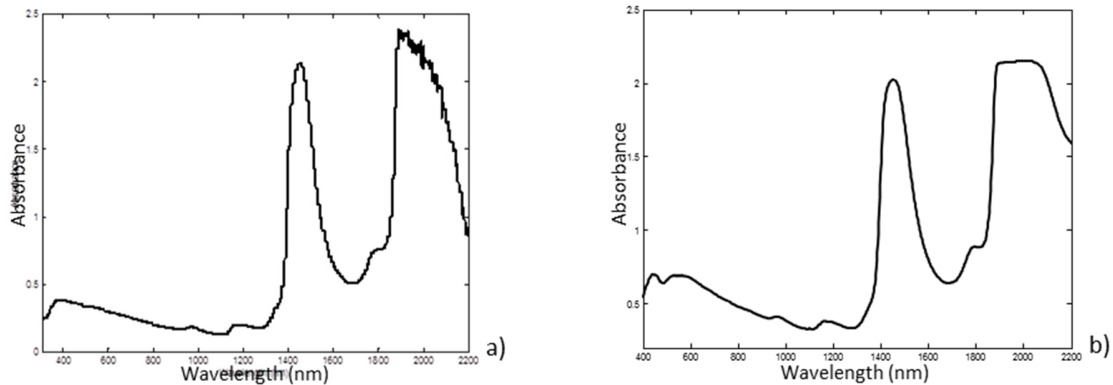
För att undersöka hur spaltbredden påverkar mätresultaten varierades även denna på 3 nivåer, det var dock inte tekniskt möjligt att variera spaltbredden under försökets gång utom hela designen mättes innan spaltbredden ändrades. Designen mättes med två olika NIR instrument (se bilaga 2 för detaljer om apparaturen) och triplikat togs på proven: 1) **Tec5** med spektralt område mellan 305 och 2200 nm med en resolution på 10 nm. Mätningarna på mjölkproverna utfördes som en online applikation där reflektansproben sattes mot transflektanscellens glas och provet pumpades genom cellen mha. en slangpump (Hanna vwr fastload), se fig. 4a. 2) **Foss 6500** med spektralt område mellan 400 och 2500 nm med resolution på 2 nm. Transflektansmätningarna togs med en standard fiber-optisk immersionprob med ställbar spaltbredd (fig. 4b). Mätningarna gjordes at-line mätning, dvs. proven stoppades ner i provlösningen som rördes om med en magnetloppa. Mätningen initierades med en manuell knapptryckning i instrumentdatorns mjukvara



Figur 4: a) Transflectanscell med en ställbar spegel innanför ett glasfönster. Cellen används tillsammans med Tec5's reflektansprob. b) Foss 6500 fiberoptisk immersionsprob för transflectans mätningar.

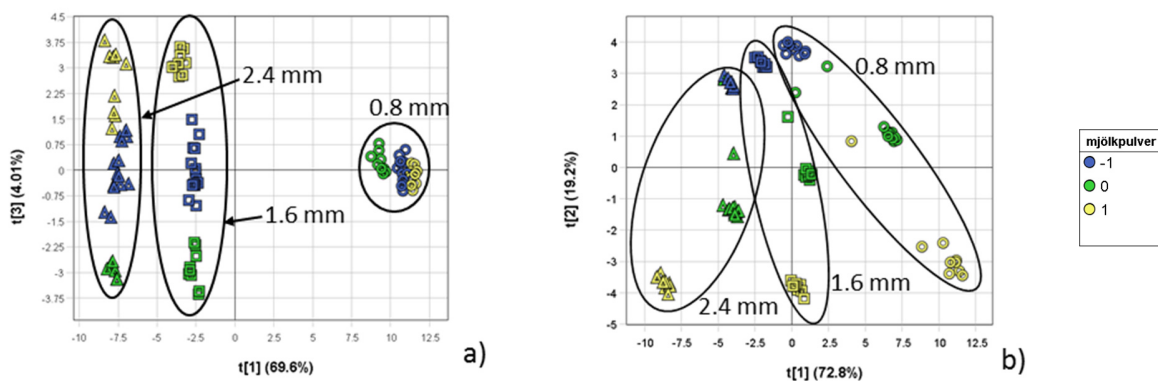
Resultat

Mjölkdesign



Figur 5: NIR spectra för en centrumpunktsmätning (0, 0, 0) vid 0.8 mm spaltbredd a) Tec5 b) Foss 6500

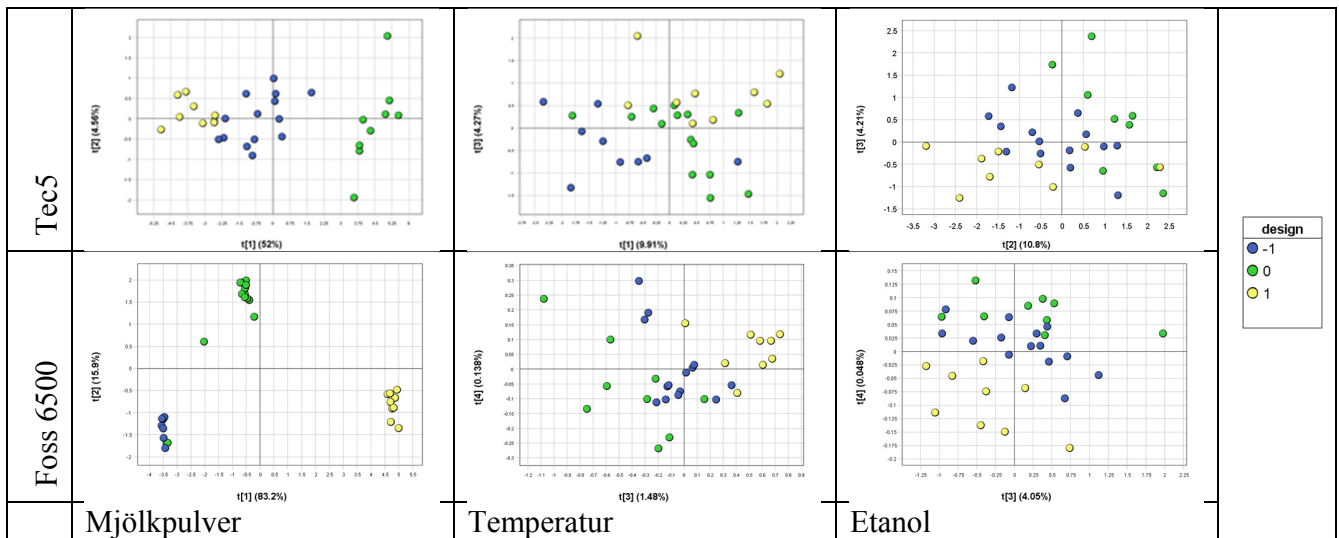
Proverna innehåller mycket vatten och det kan förväntas att vattentopparna inte ger någon information eller blir brusiga. De brusiga områdena av spektrumen från Foss instrumentet (1400-1520 och 1870-2500 nm) (fig. 5a) och för TEC5 (1880-2200 nm) (fig. 5b) uteslöts. Mätningarna utvärderades med multivariat statistik, där grunderna finns beskrivna i in Beebe et al. och i Næs et al. (8, 9). Mätningarna från de båda instrumenten sattes samman till varsin matris (Foss (95x1249), Tec5 (96x2068)) och PCA beräknades med korsvalidering. Spaltbredden hade en stor betydelse därför var det endast möjligt att förutom spaltbredden se påverkan av mängden mjölkpulver, se fig. 6.



Figur 6: PCA scoreplottar visar grupperingar m.a.p. spaltbredd (ellipser i figurerna) och mjölkpulver (se figurens teckenförklaring) för de båda instrumenten a) Tec5 b) Foss6500

För att kunna utvärdera de övriga designparametrarna gjordes därför lokala modeller för de tre olika spaltbredderna. För Foss instrumentet visade sig tre av mätningarna utförda med 0.8 mm spaltbredd vara outliers i t1/t2. Det kan bero att mätningarna delvis utförts på luftbubblor då den smala spaltbredden gör det svårt för provet att penetrera in. För Tec5 sågs inga outliers.

De lokala matriserna analyserades med PLS leave-one-class-out full korsvalidering där varje klass (där en klass utgörs av en position i designen) uteslöts en gång. De lokala modellerna analyserades med och utan SNV förbehandling. I de lokala PLS-score plottarna (fig.7) kunde separation ses för mängden mjölkpulver (så när som på ett objekt som troligen beror på att prover blivit förväxlade vid mätning på Foss 6500) och en tendens till separation för temperatur och etanol.



Figur 7: PLS singel y scoreplottar (mjölkpulver, temperatur och etanol) för Foss 6500 och Tec5 lokala modeller mätta med 2.4 mm spaltbredd och förbehandlade med SNV.

Den största spaltbredden predikterade mängden etanol bäst, det var då möjligt att med båda instrumenten och med och utan förbehandling prediktera mängden etanol, se tabell 1. Med SNV behandling var det även möjligt att med Foss instrumentet prediktera etanolhalten vid 1.6 mm spaltbredd. Detta kan bero på att större spaltbredder innebär att en större mängd prov mäts vilket kan vara fördelaktigt när låga koncentrationer ska mätas och SNV behandling minskar den spridningseffekt mjölkpulvrets har på ljuset.

Tabell 1: Tabell över PLS resultat för Foss och Tec5 med och utan SNV förbehandling

Spaltbredd (mm)	Faktor	Tec5				Foss					
		N	CTR		SNV		N	CTR		SNV	
			A	RMSECV	A	RMSECV		A	RMSECV	A	RMSECV
0.8	Mjölkpulver (g)	32	2	0.04	2	0.05	29	2	0.04	2	0.05
	Etanol (g)		-	-	-	-					
	Temperatur (°C)		-	-	-	-					
1.6	Mjölkpulver (g)	32	3	0.02	3	0.02	31	2	0.02	2	0.31
	Etanol (g)		-	-	-	-					
	Temperatur (°C)		3	1.6	3	1.7		3	2.1	3	2.2
2.4	Mjölkpulver (g)	32	4	0.03	3	0.05	32	2	0.06	2	0.06
	Etanol (g)		7	0.37	5	0.27		7	0.32	5	0.3
	Temperatur (°C)		4	1.7	4	1.9		6	1.8	5	1.7

Jämförelse av FOSS 6500 och Tec5

För att jämföra instrumentuppsättningarnas förmåga att mäta mjölkproverna så analyserades de mot varandra. Detta gjordes genom att beräkna PLS där ena instrumentets spektrum (X matris) användes för att prediktera det andra instrumentets spektrum (Y matris). Lokala modeller för de olika spaltbredderna med och utan förbehandling med SNV användes. Prediktionsförmågan var nästan lika bra för båda instrumenten, men med SNV förbehandling var Tec5 var något bättre på att prediktera Foss instrumentet än vice versa, *se tabell 2*.

Tabell 2: Prediktionsförmåga mellan de båda instrumenten.

Förbehandling	Modell	Spaltbredd (mm)	A	R2X_Cum	R2Y_Cum	Q2_Cum
CTR	Foss vs. Tec5	0.8	3	1.00	0.93	0.91
		1.6	3	1.00	0.99	0.99
		2.4	2	1.00	0.88	0.85
	Tec5 vs. Foss	0.8	3	1.00	0.90	0.86
		1.6	3	1.00	1.00	1.00
		2.4	2	0.98	0.91	0.88
SNV	Foss vs. Tec5	0.8	2	0.97	0.85	0.81
		1.6	3	1.00	0.97	0.96
		2.4	3	1.00	0.88	0.84
	Tec5 vs. Foss	0.8	2	0.94	0.89	0.86
		1.6	3	0.98	0.99	0.98
		2.4	3	0.98	0.89	0.85

Slutsatser

Resultaten från de båda instrumentuppställningarna var likvärdiga. Detta visar att transflektanscellen fungerar tillfredställande och den är således ett bra komplement som också möjliggör on-line applikationer i labbskala. Studien visar att för våra mätningar är en stor spaltbredd att föredra samt att spektrumen bör förbehandlas med SNV innan analys. Det visade sig att mängd mjölkpulver var den viktigaste faktorn följt av temperatur. Oftast ger en första försöksplan och dess analys information om hur nästa försöksplan borde konstrueras för att bättre resultat ska kunna erhållas. Materialet som används här behövde komplettering med nya experiment (ny försöksplan) och dessa blir publicerade i internationell vetenskaplig litteratur under 2014 eller 2015.

Tack

Vi vill tacka EU, Botnia-Atlantica, Region Västerbotten och Österbottens förbund för finansieringen av Mare Purum som möjliggjort denna studie.

Bilaga 1: Beskrivning av material använda i mjölkpulverdesignen

Mjölkpulver:

Nestle, NIDO fetmjölkspulver

Ämnen: Helmjölk, emulgeringsmaterial (Sojapektin)

Innehållsförteckning (per 100g):

Protein 25.7 g

Kolhydrater 36.5 g

Fett 28.2 g

Etanol:

Solveco 95%

Analytical grade

Cas-nr: 64-17-5

Bilaga 2: Spektrometrarna

Foss 6500

Foss 6500 är en VIS-NIR spektrometer. Strålningskällan är en kvartshalogenlampa som ger kontinuerlig strålning i hela det önskade området. Monokromatorn är en gittermodell som rör sig över olika vinklar för att skicka utvalda våglängder till detektor. Detektorn består av två kiselceller för området 400-1100 nm och fyra PbS celler för området 1100-2498 nm. Man får ett reflektansresultat varje 2 nm men monokromatorn upplösning ligger nära 5-6 nm. Normalt använder man reflektion från provhållare fyllda med fasta material, men det finns också möjlighet att använda transmissionkyvetter för vätskor. För industriella tillämpningar finns det en fiberoptiktillsats. Denna användes i denna rapport.

Kalibreringen sker genom att man mäter genom en tom och torr kyvett eller reflektans från en inbyggd Spectralon skiva.

I fiberoptiken finns fibrer som leder strålningen från lampan till provet men också returfibrer som leder strålningen ut från provet till detektorn. Som avslutning finns det en safirspiegel, se figur 4. Avståndet mellan spegel och fibrerna kan justeras. Kalibrering sker ofta genom att mäta reflektansen från spegeln utan vätska.

Spektrometern kopplas till en dator med RS232. Datorn använder Vision mjukvara från Foss för att styra apparaten och för att generera spektrala filer i olika format.

Tec5

Tec5 spektrometern använder en basmodul från Carl Zeiss. Belysningen består av två kvartshalogenlampor som belyser provet under 45 grader vinkel. Det finns också en transmissionsmodul med kyvetthållare för vätskor. Strålningen från provet går via fiberoptik till en fast monokromator och sedan till en diode array detektor med 256 dioder. Våglängder 305-2200 nm kan mätas. Spektral upplösningen är kring 10 nm. Det finns inga rörliga delar, någonting som anses vara perfekt för industriella tillämpningar.

Kalibreringen sker med en tom kyvett för transmission eller med en Spektralon skiva för reflektion.

Apparaten kopplas till en dator med USB. Agrospec mjukvaran styr mätningarna och ger datafiler med spektral information.

Litteratur

1. Burns, D.A; Ciurczak, E.W., eds.; *Handbook of Near-Infrared Analysis*, Marcel Dekker, Inc.: New York, 1992.
2. Frankhuizen R., NIR analysis of dairy products, in Burns D & Ciurczak E., eds, *Handbook of near infrared analysis* 2nd ed., Marcel Dekker, 2001,499-533
3. Bogomolov A., Melenteva A., Dahm D. J., Fat globule size effect on visible and shortwave near infrared spectra of milk. *J. Near Infrared Spectrosc.* 21, 435-440 (2013)
4. Holroyd, S.E, Prescott B., Mclean A., The use of near infrared spectroscopy on milk and milk products. *J. Near Infrared Spectrosc.* 21, 441-443 (2013)
5. Melfsen A., Hartung E., Haeussermann A., Accuracy of milk composition analysis with near infrared spectroscopy in diffuse reflection mode. *Biosystems Engineering.* 112, 210-217 (2012)
6. MKS Umetrics, Andover, MA, USA
7. UmBio, Umeå, Sweden
8. Beebe R, Pell R and Seasholtz M.B, *Chemometrics, A Practical Guide*, Wiley, NY, 1998.
9. Naes T, Isaksson T, Fearn T and Davies T, *A user-friendly guide to Multivariate Calibration and Classification*, NIR Publ, Chichester, 2002



Partners i Mare Purum:



VAASAN AMMATTIKORKEAKOULU
VASA YRKESHÖGSKOLA
VAASA POLYTECHNIC



Finansiärer:



EUROPEISKA UNIONEN
Europeiska socialfonden



REGION
VÄSTERBOTTEN



Österbottens förbund
Pohjanmaan liitto



Länsstyrelsen
Västerbotten