

Hjælp til selvhjælp

Specialkurser i NIR-kalibreringsudvikling og kemometri er til stor gavn for danske virksomheder. Her gives en generel introduktion til NIR-teknikken og kalibreringsteknikker

Af Lone Søvad Bak, Bioteknologisk Institut, lsb@bioteknologisk.dk

Nye måleteknikker i laboratoriet eller i produktionen stiller nye krav til uddannelse af personale samt overvejelser om udnyttelsen af resultaterne. En af de teknikker, der i de seneste år er blevet meget udbredt, er Nær InfraRød (NIR) spektroskopi.

On-line teknik med behov for kalibrering

NIR-teknologien udmærker sig ved at give hurtige, næsten øjeblikkelige resultater og dermed mulighed for en effektiv on-line styring af fremstillingsprocesser. Det er ikke kun muligt at få resultatet fra analysen hurtigt, men også selve målingen er hurtig. Det giver mulighed for hyppige målinger og dermed en bedre overvågning. Analysetiden er fra få sekunder og op til et minut. Analysen er ikke destruktiv, hvilket betyder, at de målte prøver kan føres videre i processen.

Målingen er nem at gennemføre, og der kræves derfor ingen speciel uddannelse af det personale, der skal betjene NIR-

instrumentet. Instrumentet kræver dog omfattende kalibreringsarbejde, og kalibreringerne skal til stadighed vedligeholdes.

NIR-teknikken

NIR-analyse er baseret på måling i det nærinfrarøde område. Det nærinfrarøde område ligger imellem det synlige lys (400–700 nm) og det infrarøde område (2500–25.000 nm), dvs. fra 700 til 2.500 nm, og har traditionelt været betragtet som et støjfyldt område, der ikke kunne bruges i analytisk spektroskopi. Det spektrum, der fremkommer, er dog i høj grad anvendeligt til kvantitativ og kvalitativ analyse, især når multivariate databehandlingsmetoder anvendes ved analysen.

Udnyttelse af NIR er baseret på, at molekyler vibrerer. Disse vibrationer har forskellig frekvens og dermed forskelligt energindhold, afhængig af de forskellige atomer og deres bindinger i molekylerne. Absorbans ved specifikke bølgelængder er et

u



Spectroscopy *that makes a difference!*

Optimer gennemløbstiden i laboratoriet eller se ind i hjertet af produktionen med FT-IR og FT-NIR spektroskopi fra **Q-interline**.

Enkel kemisk analyse af pulvermaterialer med **NYHEDEN** Spinning Vial

Interesseret? Kontakt **Q-interline**.
Skandinaviens førende ingeniørhus inden for anvendt spektroskopi

Københavnsvej 261
DK • 4000 Roskilde
Tlf.: +45 46 75 70 46
Fax: +45 46 75 70 96
www.q-interline.com



Individuel diskussion af resultater og metoder giver den enkelte kursist ny viden, der passer til kursistens faglige niveau.

udtryk for tilstedeværelsen af specifikke bindinger, og størrelsen på absorptionsen er et udtryk for mængden af disse bindinger.

En klassisk tolkning af disse bløde spektre er vanskelig, men kalibreringer udviklet under anvendelse af de avancerede multivariate databehandlingsmetoder gør imidlertid den rutinemæssige brug robust og let at håndtere.

Kalibreringer er matematiske modeller, som giver en sammenhæng mellem prøvens spektrum og referencedata (kemiske analysedata eller procesdata).

Udnyttelse af NIR

Anvendelsesmulighederne med NIR er store, men dog begrænsede af teknikkenes følsomhed. NIR-teknikken har generelt ikke let ved at detektere små stofkoncentrationer, og som retningslinie må det siges, at indholdsstoffer i mængder under 1% er svære at måle.

I fødevarer- og foderstofindustrien har NIR traditionelt været anvendt til kvantitative bestemmelser af indholdskomponenter, hvor NIR i den farmaceutiske industri ofte anvendes til kvalitative bestemmelser. Et eksempel på dette kan være identifikation af den rette råvare eller som færdigvarekontrol. Almindelige anvendelsesområder i fødevarer- og foderstofindustri er f.eks. bestemmelse af vand og salt i smør; vand og fedt i flødeost; vand og sukkerarter i lakrids; fedt, vand og protein i fiskemel; fedt, vand og protein i minkfoder samt vand, fedt og protein i mælke- og ostepulver. Udnyttelse af NIR til disse bestemmelser åbner mulighed for at optimere produktet i henhold til recepten og specifikationen for færdigvaren.

Kalibreringsteknikker

For at kunne oversætte fra et NIR-spektrum til kemiske analyseresultater udvikles kalibreringer. En kalibrering i traditionel univariat forstand er sammenhængen mellem et apparatrespons og indholdet af en komponent. Kalibreringer i forbindelse med NIR er det samme, blot er der tale om multivariate matematiske modeller, der ved hjælp af flere apparatrespons (resultater fra flere bølgelængder eller filtre) udreder sammenhængen af indholdet af en komponent i en prøve.

Valg af metode afhænger af, om der er tale om kvantitativ eller kvalitativ kalibrering og hvor mange variable (antal NIR-bølgelængder), der ligger til grund for kalibreringerne.

Til filterbaserede NIR-instrumenter med et begrænset antal bølgelængder anvendes oftest *Multipel Lineær Regression (MLR)*. MLR anvendes dels til valg af de rigtige filtre (bølgelængdeområder) til modellen og dels til udvikling af den fulde model. MLR kan ikke anvendes, hvis antallet af variable overstiger antallet af prøver i kalibrerings sættet, og det vil ofte være tilfældet ved skannende instrumenter. MLR kan heller ikke anvendes, hvis der er for stor interkorrelation i data. To på hinanden følgende bølgelængder i et spektrum er ikke uafhængige og korrelerer derfor. MLR kan bruges til filterinstrumenter, da resultaterne ikke på samme måde er sammenhørende og korrelerede.

Der tages andre multivariate metoder i brug til skannende NIR-instrumenter. *Principal Component Regression (PCR)* og *Partial Least Squares Regression (PLSR)* er regressionsmetoder, der anvendes til kalibreringsudvikling til disse instrumenter.

PCR udleder sammenhængen mellem to datamatricer ved hjælp af PCA (*Principal Component Analysis*). Ved PCA udtrækkes informationen fra NIR-spektre med f.eks. 1000 variable til 4-6 variable, der indeholder al relevant information fra de oprindelige spektre. PCA reducerer således en datamatrix med mange variable til en ny egenskabsmatrix med meget færre variable. I PCR anvendes den reducerede NIR-datamatrix i en MLR-regression sammen med referencedata.

Forskellen på PCR og PLSR ligger i den måde reference- og NIR-datamatricen reduceres. Ved brug af PLSR reduceres NIR-datamatricen under hensyntagen til referencedata; PLSR uddrager den information fra NIR-spektrene, der er mest relevant for referencedatasættet, hvor PCR ikke tager hensyn til referencedatasættet.

Hvis der er ikke-lineære sammenhænge mellem NIR-spektre og referencedata, og hvis rigtig mange prøver (flere hundrede) er til rådighed for modelopbygning, er det muligt at udnytte *Neural Netværk (NN)* til udvikling af kalibreringer. NN afviger væsentligt fra MLR, PCR og PLSR på to punkter:

- NN bygger på ikke-lineære funktioner, som gør NN i stand til at modellere data, der indeholder ulineariteter.
- NN arbejder på basis af en »indlæringsprocedure«, således at NN »lærer sig selv«, hvordan regressionen skal opbygges mellem NIR-målinger og referencedata ved hjælp af mange sammenhængende datasæt (træningssæt).

Kalibrering ved hjælp af NN øger risikoen for at overfortolke data, og dermed modellere støj. For med sikkerhed at kunne udnytte NN kræves derfor, sammenlignet med de lineære modeller, et langt højere antal prøver med referencedata.

Implementeringsproces

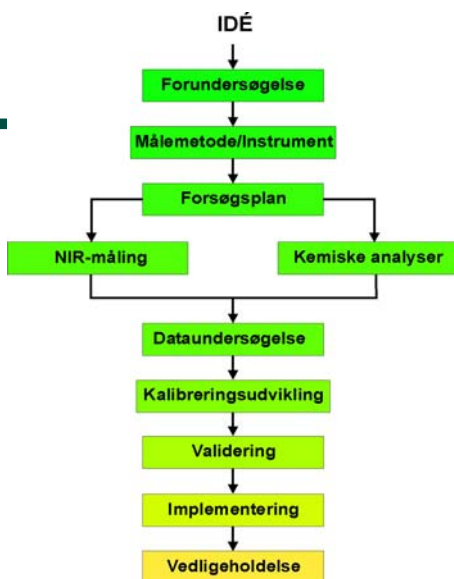
Implementering af NIR i virksomheden er en proces med flere faser. Vigtige delelementer er vist i figur 1. Disse emner gennemgås på kurset, da f.eks. prøver til kalibreringsgrundlag og opsætning af vedligeholdelsessystemer er vigtige for, at de udviklede kalibreringer fungerer optimalt, og at der er tiltro til resultaterne.

Kurstilbud

Biotechnologisk Institut tilbyder et tre-dages kursus i NIR-kalibrering to gange årligt. Formålet med kurset er at give deltagerne et grundigt kendskab til NIR-teorien og at sætte kursisterne i stand til at vedligeholde egne NIR-kalibreringer.

Der gives en grundig gennemgang af NIR-teknikken, den tilhørende teori samt muligheder og begrænsninger ved selve analysemetoden. Der lægges vægt på fremskaffelse af det korrekte datamateriale, som skal danne basis for kalibreringerne. Der undervises i kalibreringsudvikling ved forskellige statistiske metoder som Multipel Lineær Regression (MLR), Principal Component Analysis (PCA), Principal Component Regression (PCR) og Partial Least Squares Regression (PLSR). Endvidere er vedligeholdelse af kalibreringer efterfølgende et vigtigt emne.

Figur 1. Implementering af NIR i en virksomhed er en proces med flere faser. Ved grundig bearbejdelse af disse faser er man godt på vej til en succesfuld implementering af NIR.



Undervisningen er en kombination af teori og praktiske kalibreringsøvelser. Øvelserne sætter kursisterne i stand til, vha. de softwarepakker de kender, at udvikle og vedligeholde kalibreringer ved hjælp af MLR, PCA, PCR, PLSR og filterudvælgelsesmetoder. Netop det, at de praktiske kalibreringsøvelser gennemføres vha. kursisternes egne softwarepakker, betyder, at den nye viden direkte kan omsættes til virksomhedens egne kalibreringer.

Kurset kan afsluttes med en ekstra valgfri dag, hvor der er mulighed for at arbejde med egne data under vejledning af kursets undervisere.

Åbne muligheder

Med on-line NIR er det nu muligt at styre produktionen på basis af informationer, der tidligere var timer eller dage om at blive genereret. Kontrol af rå- og færdigvarer kan i visse tilfælde foregå direkte gennem emballagen, og dermed undgås risiko for kontamination på grund af kontrolmålingen.

På Biotechnologisk Institut arbejdes der konstant på at forbedre de eksisterende teknikker og at implementere den seneste nye viden inden for NIR-teknologi i industrien. Institutet er eksternt supportcenter for en række danske og udenlandske virksomheder. Det er virksomheder, der udnytter den langt hurtigere teknologi, men ikke ønsker selv at sætte ressourcer af til ekspertviden omkring kalibreringsudvikling. På den måde kan det lade sig gøre, at produktionspersonalet måler prøver og justerer processen ud fra de hurtige målinger, og den produktionsansvarlige kan få resultaterne præsenteret i et kontrolkort; et effektivt redskab til den overordnede produktionsstyring, uden at have kendskab til multivariante kalibreringsteknikker.

Mere viden om kemometri

De multivariate databehandlingsteknikker, der anvendes til udvikling og vedligeholdelse af NIR-kalibreringer, er en del af disciplinen: *Kemometri*.

Kemometri anvendes til mange andre formål end kalibrering af NIR-instrumenter og er i mange sammenhænge et stærkt redskab til at udtrække vigtig information fra komplekse datasæt. Derfor er der oprettet et nyt kursuskoncept: *Teknisk/industriel kemometri* i samarbejde med Aalborg Universitet Esbjerg ved professor Kim H. Esbensen.

Litteratur

- Bro, R. (1996): Håndbog i Multivariabel kalibrering, Landbrugsforlaget, København, 197 pp.
- Burns, D. A. & Ciurczak, E. W. (1992): Handbook of Near-Infrared Analysis. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Esbensen, K. H. (2000): Multivariate Data Analysis – in practise. An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Design, CAMO.
- Wehling, R. L. (1994): Infrared spectroscopy. In Introduction to Chemical Analysis of Foods. ED.: S. S. Nielsen, pp. 341-351.
- NIR-kalibreringsudvikling (2000), kursusmateriale, Biotechnologisk Institut.



ThermoForma



NY Steri-Cycle™ CO₂-inkubator

HEPA-filter

Sterilisering-funktion 140°

Kontakt os for mere information

LYTZENLAB

Lytzenlab A/S • Dynamovej 9 • 2730 Herlev • tlf. 44 91 10 07 • info@lytzenlab.dk