

INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE – ALTERNATIVNÍ INSTRUMENTÁLNÍ TECHNIKA PŘI KONTROLE VÝROBY BIOETHANOLU

INFRARED SPECTROSCOPY – ALTERNATIVE INSTRUMENTAL TOOL FOR CONTROL OF BIOETHANOL PRODUCTION

LADISLAV TENKL¹, KAREL ŠEC¹, FRANTIŠEK KESNER¹, LENKA JUŘENOVÁ²

¹Nicolet CZ s.r.o., Nad Trnkovem 1667/11, Praha 10, 106 00, e-mail: nicoletcz@nicoletcz.cz

²Cukrovary TTD a.s., l.jurenova@ttdcukrovary.cz

Tenkl, L. – Šec, K. – Kesner, F. – Juřenová, L.: Infračervená spektroskopie – alternativní instrumentální technika při kontrole výroby bioethanolu. Kvasny Prum. 55, 2009, č. 7–8, s. 188–191.

Byla zkoumána aplikace infračervené spektroskopie s Fourierovskou transformací (blízká i střední infračervená oblast) na analýzu hlavních parametrů záparů při výrobě ethanolu pro přípravu biopaliv. Zkoumané parametry záparů byly: obsah ethanolu, laktát vápníku, glukóza, fruktóza a obsah sušiny ve stupních Brix. Infračervená spektroskopie se ukázala jako rychlá a relativně přesná metoda pro kontrolu procesu výroby ethanolu.

Tenkl, L. – Šec, K. – Kesner, F. – Juřenová, L.: Infrared spectroscopy – alternative instrumental tool for control of bioethanol production. Kvasny Prum. 55, 2009, No. 7–8, p. 188–191.

We investigated the possibility of application of FT-IR (Fourier transformed infrared spectroscopy) and FT-NIR (Fourier transformed near infrared spectroscopy) for analysis of mash parameters. Main parameters of mash were ethyl-alcohol, calcium lactate, glucose, fructose and dry matter amount (Brix degrees). Infrared spectroscopy was determined like a quick and relatively accurate method for control of ethyl-alcohol manufacturing process.

Tenkl, L. – Šec, K. – Kesner, F. – Juřenová, L.: Infrarotspektroskopie – eine Alternativinstrumentaltechnik bei der Kontrolle der Bioethanolproduktion. Kvasny Prum. 55, 2009, Nr. 7–8, S. 188–191.

Eine Applikation der Infrarotspektroskopie mit Fouriertransformation (der nahe und mittlere Infrarotgebiet) wurde für die Analyse von Hauptparametern der Maische bei der Ethanolproduktion für die Biotreibstoffherstellung erforscht. Die erforschte Parameter der Maische wurden folgende: Äthylalkoholinhalt, Laktat des Kalks, Glukose, Fruktose, und Trockenmasseninhalt in ° Brix. Die Infrarotspektroskopie hat sich als eine schnelle und relativ genaue Methode zur Kontrolle des Prozesses der Bioethanolproduktion aufgewiesen.

Klíčová slova: biopaliva, ethanol, FT-IR, FT-NIR, zápara

Keywords: biofuels, ethyl-alcohol, FT-IR, FT-NIR, mash

1 ÚVOD

V posledních letech zažívá lihovarnictví velký rozvoj zejména díky rostoucí spotřebě lihu nutného pro přípravu biopaliv. Podle výchozích surovin pak biopaliva obvykle rozlišujeme na první nebo druhé generace. Biopaliva první generace jsou vyráběna z potravinářských surovin, kdežto biopaliva druhé generace z nepotravinářských surovin nebo ještě lépe z odpadů (celulózní suroviny).

Prvním krokem klasické výroby bioethanolu (biopalivo první generace) je kvašení cukernatých nebo škrobnatých plodin, jako jsou obilí, cukrová řepa, brambory nebo kukuřice v kvasných tancích za řízených podmínek. Výsledkem tohoto technologického kroku by měl být vznik co největšího podílu ethanolu v tzv. škrobovém zákvasu (zápaře). Dalším technologickým krokem je destilace tohoto zákvasu a v případě využití pro výrobu biopaliv ještě sušení produktu na co nejmenší obsah vody. To je možné uskutečnit několika různými způsoby např. přes molekulová síta, semipermeabilní membrány nebo pomocí azeotropické rektifikace.

Některé výše popsané kroky výroby lze rychle a přesně kontrolovat pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací ve střední (FT-IR) nebo blízké infračervené oblasti (FT-NIR) [1,2].

2 INFRAČERVENÁ SPEKTROSKOPIE VE STŘEDNÍ A BLÍZKÉ INFRAČERVENÉ OBLASTI

Výška nebo plocha pátů v infračervených spektrech, vyjádřená v absorbančních jednotkách, určuje **kvantitativní** zastoupení sloučenin ve směsích. Nejjednodušší spektrální kvantitativní analýza předpokládá platnost Lambertova-Beerova zákona, tj. lineární závislost mezi absorbancí a koncentrací měřených analytů (za jinak konstantních experimentálních podmínek).

To vyžaduje, aby vybrané vibrační pásy nebyly ovlivněny intermolekulární interakcí a aby se v infračerveném spektru nepřekrývaly. Pokud nejsou splněny tyto požadavky, využívá kvantitativní analýza matricového počtu a multivariační statistiky a vyhodnocují se celé spektrální oblasti. Tato metodika je obvyklou součástí programového

1 INTRODUCTION

The distillery industry is currently undergoing a great deal of expansion in the Czech Republic and throughout the European Union mainly because of the increased production of ethanol as a biofuel. Biofuels are commonly subclassified into either first or second generation based on the original raw materials. First generation biofuels are produced from food materials, second generation biofuels are produced from non-food materials, ideally from cellulose based waste.

The first step in standard first generation ethanol production is through controlled fermentation of sugar or starch-containing crop plants such as corn, sugar-beets, potatoes or maize in fermentation tanks under the controlled conditions.

The goal of this step is to maximize the formation of ethanol in this starter mash. A second step in this technology is a distillation of the mash and subsequent drying which removes as much water as possible. There are several methods for drying the ethanol product: molecular screens, semipermeable membranes or azeotropic rectification.

Sufficient control of the process described above can be effectively and accurately performed by the use of Fourier transform mid-infrared (FT-IR) or near infrared (FT-NIR) spectroscopy [1,2].

2 INFRARED SPECTROSCOPY (FT-IR AND FT-NIR)

The heights or areas of peaks in infrared spectra can be used to determine the quantitative amount of a given substance in a mixture. The simplest spectral quantitative analysis assumes applicability of Lambert-Beer law, i.e. linear dependence of absorption on concentration of substance.

A key condition for the proper application of the Lambert-Beer law is that the peaks used for the quantitative analysis are not overlapped by other peaks or that intermolecular interactions are not affecting the spectra. If such conditions are not met, it is necessary to use chemometric methods. Such methods use the entire spectral range, not just individual peaks within the spectra.

vybavení infračervených spektrometrů (např. zde využitý program chemometrický program TQ Analyst). V případě kvantitativní analýzy spektrometrů škrobového zákasu (zápary) byla použita metoda PLS (partial least squares) jak pro střední, tak i blízkou infračervenou oblast.

Tato metoda, vyvinuta v 70. letech Hermanem Woldem, se využívala v sociálních vědách. Poměrně záhy se začala využívat i v chemických či spektrálních aplikacích. Velmi často se však tato metoda objevuje ve spojitosti právě s infračervenou spektroskopií, neboť nám umožňuje komprimovat, často velmi obsáhlou, matici spektrálních dat. Velkou výhodou multivariacních metod je možnost stanovit více analytů z jednoho infračerveného spektra. Nevýhodou je poměrně složitý matematický aparát a rovněž potřeba značného množství standardů nutných k vytvoření spolehlivého kalibračního modelu.

Funkčnost kalibračních modelů v FT-IR (FT-NIR) spektroskopii je, mimo přesnosti vlastního měření, obecně závislá na dvou faktorech. Jedním z nich je fyzikální podstata vzniku spekter, tj. citlivost odezvy spektrometru na jednotkovou změnu koncentrace stanoveného analytu. Druhou je přesnost vstupních dat, získaných klasickými postupy. Kalibraci infračervených spekter nelze dosáhnout lepší přesnosti stanovení, než je přesnost metody, kterou byla vstupní data získána. Přesnost stanovení lze však zvýšit rozšířením kalibračních modelů o další standardy [3,4].

Samotné měření parametrů škrobového zákasu (zápary) bylo prováděno ve střední infračervené oblasti technikou ATR (Attenuated Total Reflection), pomocí jednoobrazového Smart nástavce s křemíkovým krystalem. V případě měření infračervených spekter v blízké infračervené oblasti byla použita transmittanční technika a křemenné květy. Tyto v dnešní době standardní měřicí techniky umožňují velice jednoduché a rychlé získávání infračervených spekter. Stanovení všech níže uvedených parametrů (střední a blízká infračervená oblast odděleně) lze realizovat v jednom kroku, z jednoho naměřeného spektra. Samotná analýza pak trvá průměrně pět minut.

3 SLEDOVANÉ PARAMETRY V ZÁKVASU (ZÁPAŘE)

Ve střední infračervené oblasti (FT-IR) byla sledována možnost stanovení ethanolu, laktátu vápenatého, zbytkové glukosy a fruktosy a v blízké infračervené oblasti (FT-NIR) pak ethanol, sušina, zbytková glukosa a fruktosa. Kalibrační standardy byly získány odebráním jednotlivých frakcí při reálném kvasném procesu v závislosti na čase z různých kvasných tanků. Ihned po odebrání z tanku byla změřena

In the present case, the chemometric methods selected were part of the TQ Analyst software included with the spectrophotometers used in the study. For quantitation, Partial Least Squares (PLS) was the method used.

This statistical method, developed by Herman Wold in the 1970's, was initially used in social sciences. Soon, the chemical, or even spectral applications of PLS were published. PLS is very often used in connection with infrared spectroscopy, as this method is able to compress and describe very extensive matrices of data. The biggest advantage of this method is the ability to determine several parameters from only one infrared spectrum. The disadvantage of PLS calibrations is that several calibration samples are needed and the statistics behind the chemometrics may not be easily understood by the user.

The usability of calibration models in FT-IR or FT-NIR spectroscopy depends on measurement accuracy, infrared spectrometer sensitivity and accuracy of the data from primary analytical methods. The accuracy of calibrations based on infrared spectra cannot be better than the accuracy of the primary method originally used to determine sample concentrations. Usually, though, we can improve the accuracy of a model by incorporating additional standards [3,4].

Measurements of infrared spectra of the ethanol starter mash were carried out in the mid- infrared area (FT-IR) using single bounce attenuated total reflectance (ATR) on a silicon crystal. By contrast, transmission with quartz cuvettes was used for measurements in the near infrared region (FT-NIR). Both these standard techniques provide quick and accurate collection of infrared and near infrared spectra.

Determination of the parameters in the starter mash is possible simultaneously, by automated interpretation of a single collected spectrum. Analysis of all parameters takes approximately 5 minutes.

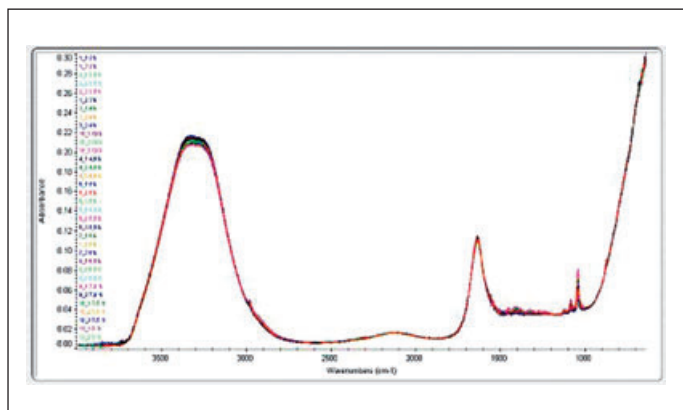
3 ANALYZED MASH PARAMETERS

The analyzed parameters used in the mid FT-IR region were: ethanol, calcium lactate, glucose and fructose. NIR spectroscopy was used to determine the amount of ethanol, glucose, fructose and dry matter (Tab. 1). A calcium lactate model was not built in using FT-NIR due to entire lack of samples.

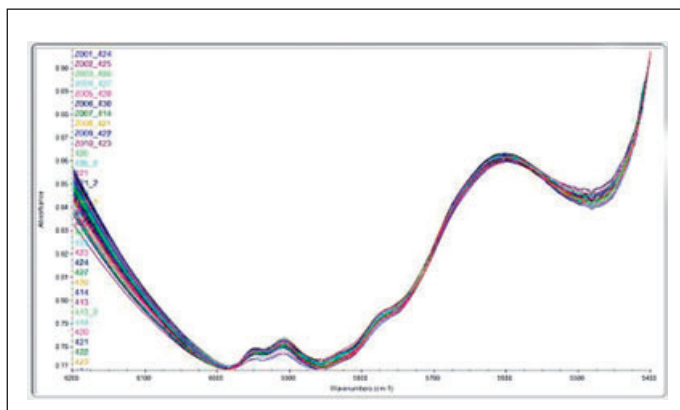
Calibration standards were acquired by sampling a real fermentation process at different times of fermentation and from different fermentation tanks. Immediately after sampling, infrared spectra were measured and samples were analyzed by the primary methods. Fig. 1

Tab. 1 Použité primární metody / Analyzed parameters of mash

Parametr / Parameter	Primární metoda / Primary method
Ethanol (%)	Ebulimetrie / Ebulliometry
Laktát Ca^{2+} / Calcium lactate (g/l)	Enzymatická reakce + spektrofotometrie / Enzymatic reaction + spectrophotometry
Glukosa / Glucose (g/l)	Enzymatická reakce + spektrofotometrie / Enzymatic reaction + spectrophotometry
Fruktosa / Fructose (g/l)	Enzymatická reakce + spektrofotometrie / Enzymatic reaction + spectrophotometry
Sušina / Dry matter (Brix degrees)	Refraktometrie / Refractometry



Obr. 1 Infračervená spektra kalibrační řady zákasů (zápary) naměřená na jednoobrazovém ATR nástavci s Si krystalem / Fig. 1 Infrared spectra of calibration samples of mashes, using a single bounce ATR with a silicon crystal – mid-infrared region



Obr. 2 Výřez infračervených spekter kalibrační řady zákasů (zápary) naměřených v křemenné květě v blízké infračervené oblasti. / Fig. 2 Part of infrared spectra of calibration samples of mashes, transmission measurement in quartz cuvette – near-infrared region

Tab. 2 Základní parametry výsledných kalibračních modelů ve střední infračervené oblasti, kde R je korelační koeficient, RMSEC je průměrná chyba kalibrace, Cross-validation je korelační koeficient křížové validace a RMSECV je průměrná chyba křížové validace / *Parameters of the chemometric models obtained in middle infrared area (R – correlation coefficient, RMSEC – root mean square error of calibration, CV – correlation coefficient of cross validation and RMSECV – root mean square error of cross validation)*

Parametr / Parameter	R	RMSEC	Křížová validace / Cross-validation	RMSECV	Kalibrační interval / Calibration interval	Počet faktorů / Factors
Ethanol 1 (%)	0.9902	0.19	0.9892	0.19	2.59–9.68	2
Laktát Ca ²⁺ / Ca ²⁺ lactate (g/l)	0.9908	0.004	0.8614	0.013	0.001–0.123	6
Glukosa / Glucose (g/l)	0.8489	2.50	0.8145	2.69	0.01–17.60	2
Fruktosa / Fructose (g/l)	0.8020	7.66	0.7234	8.88	0.01–56.40	3
Ethanol 2 / Ethanol 2 (%)	0.9995	0.007	0.9991	0.09	3.0–10.0	2

Tab. 3 Základní parametry výsledných kalibračních modelů v blízké infračervené oblasti, kde R je korelační koeficient, RMSEC je průměrná chyba kalibrace, Cross-validation je korelační koeficient křížové validace a RMSECV je průměrná chyba křížové validace / *Parameters of models obtained in near infrared region (R – correlation coefficient, RMSEC – root mean square error of calibration, CV – correlation coefficient of cross validation and RMSECV – root mean square error of cross validation)*

Parametr / Parameter	R	RMSEC	Křížová validace / Cross-validation	RMSECV	Kalibrační interval / Calibration interval	Počet faktorů / Factors
Ethanol (%)	0.9936	0.13	0.9818	0.21	6.55–10.80	8
Sušina (g sacharosy / 100 g roztoku) (dle Brixu) / Dry matter (Brix Degrees)	0.9956	0.12	0.9816	0.24	5.0–9.5	9
Glukosa / Glucose (g/l)	0.9481	0.72	0.9052	0.97	0.00–7.16	5
Fruktosa / Fructose (g/l)	0.9597	2.33	0.9193	3.28	0.00–23.10	6

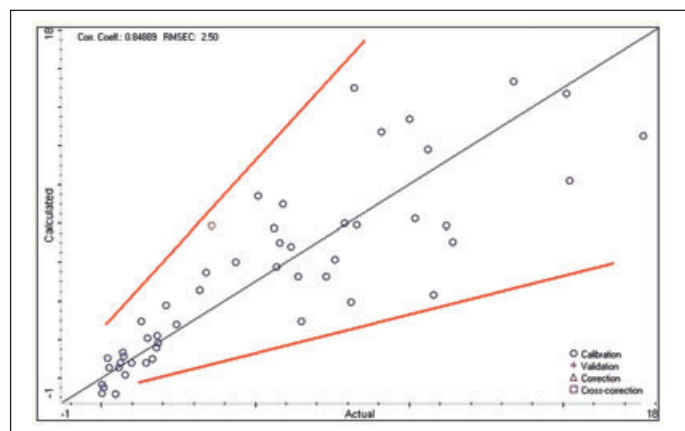
infračervená spektra všech vzorků, které byly poté neprodleně analyzovány klasickými metodami. Tab. 1 stručně popisuje klasické použité metody.

Průběh infračervených spekter ve střední infračervené oblasti je zobrazen na obr. 1 a v blízké infračervené oblasti na obr. 2.

V tab. 2 jsou uvedeny základní parametry získaných kalibračních modelů z infračervených spekter naměřených ve střední infračervené oblasti.

Pro zjištění kvality získaného modelu byla v případě stanovení ethanolu provedena ještě jedna modelová kalibrační sada, která byla připravena pomocí ředění vodou nebo přidáváním ethanolu dvou reálných vzorků zákvasů (zápary), které byly zpětně analyzovány. Výsledky této kalibrace jsou v tab. 1 (parametr ethanol 2). Ověření tohoto modelu bylo provedeno pomocí externí validace na několika vzorcích. Určená chyba se pohybovala v intervalu od 0,02 do 0,24 %.

V tab. 3 jsou uvedeny základní parametry získaných kalibračních modelů z infračervených spekter naměřených v blízké infračervené oblasti.



Obr. 3 Kalibrační graf závislosti zbytkové glukosy v zákvasu (zápaře) se zhoršující přesností analýzy pro vyšší koncentrace / *Fig. 3 Calibration curve for glucose amount in mash. Accuracy of model is slightly worse at higher amounts of glucose*

and Fig. 2 show spectra of samples in middle infrared area and in near infrared regions, respectively.

We also prepared another calibration for ethanol (parameter ethanol 2 in Tab 2). In this case, we simply prepared a set of calibration samples by diluting real samples in water, or adding ethanol to real samples of mash. These artificial samples were analyzed by the primary methods. The utility of this ethanol model was tested by external validation. The error rate of this model was between 0.02–0.24 %.

Tab. 3 shows the basic parameters of the obtained calibration models. These models were built based on the near infrared spectra collected using transmission measurements in quartz cuvettes.

4 CONCLUSION

The results show the utility of using infrared spectroscopy to monitor ethanol production (mash parameters) either with an ATR crystal in the mid-infrared region or with a cuvette in transmission mode in the near-infrared region.

Comparison of the chemometric model built up using both real and artificially prepared samples, with a help of external validation, shows that the determined error rate is approximately 0.2 %. The calcium lactate error is shown to be better than 0.02 % with the given standards. It is possible to successfully increase the accuracy of the calcium lactate model in the mid-infrared region by incorporating more calibration standards. Models for glucose and fructose in the samples show an increase in error rate for higher concentrations of sugars (see Fig.3). This is likely caused by lower accuracy of the primary method in determining these sugar concentrations. Higher accuracy of glucose and fructose models can be probably obtained by using more calibration standards and more accurate primary methods.

The accuracy of the NIR model appears to be slightly better than for models in the mid-infrared region (see Tab 2 and Tab 3). Unfortunately, calibration PLS model for calcium lactate in NIR spectra was not built. There was entire lack of standards. Determination of dry matter (Brix Degrees) with NIR spectroscopy shows excellent accuracy results, which is fully acceptable for ethanol process manufacturing control (see Tab. 3).

4 DISKUSE

Z prezentovaných výsledků je zřejmé, že analýzu hlavních parametrů v zákasu (zápaře) je možné provádět pomocí infračervené spektroskopie ve střední resp. blízké infračervené oblasti.

Srovnáním obou kalibračních modelů a výsledků externí validace pro stanovení ethanolu ve střední infračervené oblasti lze konstatovat, že reálná chyba stanovení se pohybuje okolo 0,2 %. Přesnost stanovení laktátu Ca^{2+} ve střední infračervené oblasti by bylo pravděpodobně ještě možno zvýšit rozšířením kalibračního modelu o další kalibrační standardy. V případě stanovení zbytkových cukrů (glukosa a fruktosa) lze poukázat na skutečnost, že u kalibračních i validačních grafů získaných modelů se projevuje tendence většího rozptylu výsledků pro vyšší obsahy těchto cukrů (obr.3). Pokud je to způsobeno menší přesností klasického (primárního) stanovení při vyšších koncentracích cukrů, bylo by možno dosáhnout větší přesnosti stanovení doplněním kalibračních modelů o přesnější vstupní data.

V případě přesnosti kalibračních modelů v blízké infračervené oblasti lze konstatovat, že přesnost stanovení je trochu lepší než výše popsané kalibrační závislosti ve střední infračervené oblasti. Bohužel kalibrační model obsahu laktátu Ca^{2+} pro infračervená spektra v blízké infračervené oblasti nebylo možné vybudovat z důvodu malého počtu vzorků. Přesnost stanovení sušiny v blízké infračervené oblasti je, jak je patrné z tab. 2, při kontrole výroby bioethanolu plně akceptovatelná.

Literatura / References

1. Mužíková, Z.: Bioethanol a palivo E85. Sborník přednášek mezinárodní konference Tribotechnika v provozu a údržbě strojů a zařízení, Harrachov, listopad 2008, 53, ISBN 987-80-248-1856-6.
2. Kizlink, J.: Biopaliva v palivech pro motorová vozidla. Technický týdeník 56, 2008 (25), 20.
3. Alfassi, Z. B., Boger, Z., Ronen, Y.: Statistical treatment of analytical data. Blackwell Publishing Company, 2005.
4. Hebák, P. et al.: Vícerozměrné statistické metody 1–3, Informatorium, Praha, 2004–2005.

Recenzovaný článek
Do redakce došlo 16. 2. 2009

VÚPS, a. s.



nabízí **senzorické posouzení** vašich výrobků
senzorickou komisí VÚPS.

Komise je pravidelně kontrolována mezinárodní společností FLAVOR ACTIVE, která má zákazníky ve 170 zemích a poskytuje služby více než 5000 profesionálním degustátorům ve 450 pivovarech.

Hodnocení FlavorActive s výsledkem opakovaně vyšším než **85%** potvrzuje vysokou úroveň degustačního panelu VÚPS.



Tel.: + 420 257 084 111
Fax: +420 235 518 701
E-mail: prodej@centec.cz
<http://www.centec.cz>

OXYTRANS M

Kompaktní mobilní měřicí jednotka pro vysoce přesné a rychlé zjišťování obsahu kyslíku v kapalinách a plynech.

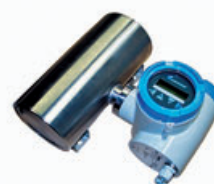
Novinka



- Optický princip měření bez membrány a bez elektrolytu
- Jednoduchý, formou menu řízený software
- Funkce datového záznamníku s datem a časem; manuální nebo automatické ukládání dat
- Jednoduchý přenos dat pomocí USB rozhraní
- Grafický display s osvětlením
- Dlouhodobě stabilní výsledky měření
- Hygienický design

RHOTEC senzor/převodník

Vysoce přesné a kontinuální měření hustoty a teploty kapalin.



- Stanovení koncentrace v % hmotnosti, % objemu, °Brix, % extraktu a v ostatních veličinách vypočtených z hustoty
- Profibus PA
- Krátký čas odezvy a vysoká reprodukovatelnost
- On-line měření přímo v potrubí pomocí speciálního připojení
- Hygienické provedení a konstrukce pro CIP sanitaci

DRINKTEC 2009

**Dovolujeme si Vás pozvat
na veletrh DRINKTEC v Mnichově
od 14. do 19. září 2009,
hala 13 – stánek 301**

Těšíme se na Vás!

Centec dále dodává:

- Kompletní systémy pro: odvzdušnění vody, míchání, sycení oxidem uhličitým, odstranění oxidu uhličitého, redukci kyslíku, sycení dusíkem, dávkování kvasnic, provzdušnění sladiny, pasteraci ...
- Sensory pro: koncentraci, hustotu, rychlost zvuku, obsah $\text{CO}_2/\text{O}_2/\text{N}_2$, barvu, zákal, hodnotu pH, vodivost, teplotu, tlak, průtok

Centrum pro analytickou a měřicí techniku