Dienst Landbouwkundig Onderzoek

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten

Niet-destructieve bepalingsmethode van het watergehalte in verse champignons m.b.v. NIR-spectrometrie

R. Frankhuizen en M.A.H. Tusveld

rikilt-dlo

Rapport 95.18

Project: 516.0005
Ontwikkeling van NIR-spectroscopische multimethoden voor het onderzoek van kwaliteits- en gezondheidsbeinvloedende componenten in voedings- en voedermiddelen
Projectleider: R. Frankhuizen

Rapport 95.18 maart 1995

NIET-DESTRUCTIEVE BEPALINGSMETHODE VAN HET WATERGEHALTE IN VERSE CHAMPIGNONS M.B.V. NIR-SPECTROMETRIE

R. Frankhuizen

Afdeling: Instrumentele Analyse

Medewerkers: M.A.H. Tusveld

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 08370-75400
Telefax 08370-17717

( )

( )

Copyright 1995 , DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten.
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:
directeur
auteurs (2x)
projectleider
programmaleiders
Public relations en Secretariaat (2x)
bibliotheek (3x)

EXTERN:
Produktschap voor Groenten en Fruit, drs. M. van 't Riet, ir. M.P.K. Stallen en ir. M.A. Mentjox
Leden van de werkgroep Champignons (8x)
Proefstation voor de champignoncultuur, Prof. dr. L.J.L.D. Van Griensven (2x)

( )

( )

ABSTRACT

Niet-destructieve bepalingsmethode van het watergehalte in verse champignons m.b.v. Nabij Infrarood (NIR) Spectrometrie

Nondestructive determination of moisture content of fresh mushrooms by Near Infrared (NIR) Spectrometry (in Dutch)

Report 95.18 Maart 1995

R. Frankhuizen en M.A.H. Tusveld

DLO-State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)
PO Box 230, 6700 AE Wageningen, The Netherlands.

11 figures, 1 table, 14 references, 1 annex

Moisture content is an important quality criterium of fresh mushrooms. Oven-drying and freeze-drying methods are present analytical methods, which are time consuming and require tedious procedures. In principle NIR offers a fast and easy to handle alternative.
Therefore the possibility of water determination with near infrared spectroscopy was studied.
This study shows that measurement of moisture content of fresh mushrooms is relatively simple if the product is grinded. When measuring intact mushrooms with diffuse reflectance, problems occur due to the inhomogeneous water distribution inside a mushroom. Another problem is caused by the water content between mushrooms from the same batch which can show differences up to 1 %.
In cooperation with the mushroom research station the moisture content of intact fresh mushrooms was studied using transmission spectroscopy in the wavelength region 800 - 1100 nm.
The advantage of measurements in transmission over reflection mode, is that not only information is collected from the surface but also from the inside of the mushroom.
The advantage of measurements in the wavelength region 800 - 1100 nm is the relative low absorbance coefficient of water. This makes mushrooms relatively transparent in this wavelength region. However, for quality control of mushrooms during auctions the commercially available NIR instruments are not suitable.
Our objective is to develop in cooperation with a equipment manufactory company a new type of instrument operating in transmissiom mode using interference filters and a high intensity light source. In that way a NIR instrument is obtained that enables measuring on the spot of fresh mushrooms in a simple and nondestructive way.

Keywords: Mushrooms, moisture content, Near Infrared Spectrometry, NIR, NIT

SAMENVATTING

Eerder uitgevoerd oriënterend onderzoek toont aan dat bij de meting van het watergehalte in verse champignons m.b.v. NIRS zich de nodige problemen voordoen. De belangrijkste oorzaken hiervan zijn de inhomogene waterverdeling in de champignon en de relatief kleine verschillen in watergehalten tussen "natte" en "droge" champignons. Indien de champignons doorgesneden of vermalen worden is de bepaling betrekkelijk eenvoudig. De meting is dan echter uit praktisch oogpunt niet interessant meer.

In samenwerking met het Proefstation voor de Champignon Cultuur is onderzoek gestart naar de bepaling van het watergehalte in verse champignons door middel van *transmissiemetingen* in het *zeer nabij infrarood golflengtegebied*.
Voordeel van het meten in transmissie t.o.v. reflectie is dat er niet alleen informatie verkregen wordt van de buitenkant van de champignon maar ook van het inwendige van de champignon. Voordeel van het meten in het zeer nabij infrarood golflengtegebied is dat de absorptie van NIR-licht door water in dit golflengtegebied aanzienlijk kleiner is hetgeen de mogelijkheid biedt aan meerdere champignons tegelijkertijd te meten.

Het tot nu toe uitgevoerde onderzoek toont aan dat het inderdaad mogelijk blijkt in transmissie aan hele champignons te meten. Voor metingen bij de teler of voor controledoeleinden op veilingen is de huidige commercieel verkrijgbare apparatuur echter niet zinvol (te duur, te moeilijk en te langzaam). In samenwerking met de R&D-afdeling van Sinar wordt derhalve onderzoek uitgevoerd ter realisatie van een nieuw type watermeter. Hierbij wordt het aangestraald monsteroppervlak en de intensiteit van de lichtbron aanzienlijk vergroot waardoor aan grotere monster hoeveelheden gemeten kan worden. Om de produktiekosten van een dergelijk systeem laag te houden worden de mogelijkheden nagegaan van het gebruik van enkele, voor water specifieke, interferentiefilters in het golflengtegebied van 800 - 1100 nm. Vastgesteld is dat in dit golflengtegebied de absorptie veroorzaakt door het verpakkingsmateriaal geen invloed heeft op de absorptie veroorzaakt door water hetgeen de mogelijkheid biedt niet-destructief aan hele bakjes champignon te meten. Bijkomend voordeel van het gebruik van interferentiefilters is dat hierdoor zeer robuuste apparatuur wordt verkregen.

Verwacht wordt dat er eind 1995 een prototype watermeter ontwikkeld zal zijn.

INHOUD

	blz
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	2
1 INLEIDING	5
2 MONSTERMATERIAAL	6
3 METHODEN VAN ONDERZOEK	6
3.1 Bepaling van het drogestofgehalte (klassiek)	6
3.2 NIRS	6
3.2.1 MLR	7
3.2.2 PLS	8
4 RESULTATEN	9
4.1 Drogestofgehalte (klassiek)	9
4.1 Reflectiemetingen	10
4.2 Transmissiemetingen	13
5 DISCUSSIE	16
6 CONCLUSIES	18
LITERATUUR	19
BIJLAGEN	
A GEBRUIKTE STATISTISCHE FORMULES	

1 INLEIDING

Het watergehalte van verse champignons is een belangrijk kwaliteitsaspect. Het is één van de kenmerken voor de versheid van het produkt, maar er kan bv. ook uit worden afgeleid of de champignons vlak voor de oogst nog een sproeibeurt hebben ondergaan.
Niet zelden worden in partijen watergehalten aangetroffen die de normaalwaarden overschrijden. De late constatering van de overschrijding heeft tot gevolg dat niet voorkomen kan worden dat partijen met een te hoog gehalte aan water in de handel terecht komen, hetgeen nadelig is voor de kwaliteit (sneller bederf) en voor een goede afzet (economisch aspect).
Daarnaast is het zo dat telers momenteel worden uitbetaald op basis van het versgewicht van de champignons. Het streven is echter naar een uitbetaling op basis van het drogestofgehalte.
De beschikbare controlemethoden (droogstoofmethode, vacuümmethode en vriesdroogmethode) zijn destructief en/of tijdrovend. Dit is, vooral gezien het betrekkelijk grote aantal monsters dat gemeten moet worden om een representatief beeld van het watergehalte van een partij champignons te krijgen, een groot nadeel. Daarom is er behoefte aan een niet-destructieve bepalingsmethode waarmee het watergehalte snel en eenvoudig bepaald kan worden.
Het meten van watergehalten in land- en tuinbouwprodukten met behulp van Nabij Infrarood Reflectie Spectroscopie (NIRS) is in het algemeen een betrekkelijk eenvoudige zaak.
De techniek is ca. 25 jaar geleden ontwikkeld voor snelle analyse van het vochtgehalte van granen (Norris 1988). Sindsdien is NIRS toegepast voor de analyse van diverse voedingsmiddelen zoals eiwit en vocht in tarwe (Downey and Byrne 1983; Williams e.a. 1983), verschillende bestanddelen in melk en melkprodukten (Frankhuizen en van der Veen 1985; Packard e.a. 1986) en vet, eiwit en vocht in vlees (Kruggel e.a. 1981). De bepaling van het vochtgehalte van diverse soorten fruit en groenten met behulp van NIRS is eveneens onderzocht (Gold 1964; Birth e.a. 1985).

In 1993 is in samenwerking met het Proefstation voor de Champignon Cultuur oriënterend onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheden van Nabij Infrarood Spectroscopie (NIRS/NITS) als snelle en niet-destructieve bepalingsmethode van het watergehalte c.q. drogestofgehalte in verse champignons.
In het voorjaar van 1994 is, met financiële steun van het Produktschap voor Groenten en Fruit, onderzoek gestart met als doel het ontwikkelen van een meetconfiguratie waarmee aan hele bakjes champignons gemeten kan worden. Dit onderzoek kan ruwweg in twee delen gesplits worden te weten:

- fundamenteel onderzoek naar de mogelijkheden van de bepaling van het watergehalte in hele bakjes verse champignons door middel van *transmissiemetingen* in het *zeer nabij infrarood golflengtegebied*,

- technische realisatie van een prototype watermeter voor hele bakjes champignons.

Het hierna beschreven onderzoek geeft de resultaten weer van zowel het oriënterend onderzoek als van het onderzoek naar de mogelijkheden van de bepaling van het waterghalte in hele bakjes champignons door middel van transmissiemetingen in het zeer nabij infrarood golflengtegebied.

2 MONSTERMATERIAAL

Voor het oriënterend onderzoek is gebruik gemaakt van monstermateriaal afkomstig van het Proefstation voor de Champignon Cultuur. De monsters, allemaal van het ras Sylvan F100 en afkomstig van een 2e vlucht geoogst in de maand juni 1993, konden onderverdeeld worden in 6 groepen: de watergift tot de oogst was bij ongeveer de helft van de monsters 26 l/m^2 en bij de andere helft 54 l/m^2, terwijl in beide groepen monsters aanwezig waren van 3 verschillende ontwikkelingsstadia, nl. gesloten, gevliesd en open.

Voor het onderzoek in het zeer nabij infrarood golflengtegebied is gebruik gemaakt van consumenten verpakkingen (400 gram champignons verpakt in polystereen bakjes).

3 METHODEN VAN ONDERZOEK

3.1 Bepaling van het drogestofgehalte (klassiek)

Van de monsters waarvan een nabij infrarood spectrum is opgenomen is ook het drogestofgehalte bepaald. Hiervoor is de halve champignon (of delen champignon) in kleine stukjes gesneden en ingewogen in een aluminium (wegwerp)bakje. Deze bakjes zijn gedurende 4 uur voorgedroogd bij 70° C en vervolgens gedurende 20 uur verder gedroogd bij 105° C ± 2° C.
Het drogestofgehalte wordt berekend uit het quotient van het versgewicht en het drooggewicht.

3.2 NIRS

Het NIRS-onderzoek is uitgevoerd met behulp van een NIRSystem-6500. Het betreft hier een modulair opgebouwde spectrofotometer, waarmee zowel in reflectie als in transmissie gemeten kan worden over een breed golflengtegebied (400-2500 nm). Aan de hand van een aantal champignons is bekeken welke meetconfiguratie (NIRS en/of NITS) het meest geschikt is en welk deel van de champignon (hoed en/of steel) het meest representatief is voor de meting.

Voor het oriënterend onderzoek is gekozen voor reflectiemetingen over het golflengtegebied van 400-2500 nm.
Hiervoor zijn de champignons in de lengte middendoor gesneden en is aan één helft gemeten waarbij het snijvlak naar de lichtbundel gekeerd werd. Op deze manier werd een spectrum verkregen van een groot gedeelte van de hoed én van de steel. Om de invloed van daglicht op de meting te voorkomen zijn de monsters met een keramische bol afgeschermd van de omgeving.
Daarnaast is per groep één champignon in 5 of 6 partjes (in de breedte) gesneden en zijn reflectiespectra opgenomen om inzicht te verkrijgen in de mate van inhomogeniteit.
Transmissiemetingen (NITS) met behulp van glasvezelprobes zijn vanwege deze inhomogiteit én het geringe meetoppervlak van de probes niet uitgevoerd, omdat het onduidelijk is op welke positie op de champignon gemeten moet worden.
Van ieder monster is in enkelvoud een NIR-spectrum opgenomen over het golflengtegebied van 400-2500 nm, waarbij om de 2 nm de reflectie is gemeten in de log 1/R (R=reflectie) vorm. Als referentie (100% reflectie) is een keramische bol gebruikt.
Systeemcontrole vond plaats conform de procedure beschreven in de NSAS software (release 3.25).
Van de monsters zijn de met de referentiemethode bepaalde drogestofgehalten gekoppeld aan de bijbehorende NIR-spectra. Met behulp van meervoudige lineaire regressie-analyse (MLR) en Partial Least Squares (PLS) zijn voorspelmodellen (ijklijnen) opgesteld voor de bepaling van het drogestofgehalte (zie bijlage A voor de gebruikte statistische formules). Als belangrijkste maat voor de nauwkeurigheid van de ijklijnen is gekozen voor de standaardafwijking van de verschillen tussen de met NIRS voorspelde en de met de klassieke methode bepaalde drogestofgehalten van de toetsmonsters (Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP)). Indien de RMSEP van de zelfde orde van grootte is als de RMSEC en indien de intercept en slope van de regressielijn van de toetsset niet significant afwijken van die van de ijklijn, wordt de ijklijn betrouwbaar geacht.

3.2.1 MLR

Meervoudige lineaire regressie-analyse (MLR) is een standaardmethode voor het aanpassen van lineaire verbanden (Montgomery & Peck 1982, Draper & Smith 1981). De methode is echter niet toepasbaar als het aantal voorspellende variabelen groot is (niet groter dan 1/3 van het aantal eenheden in de dataset). Bovendien leiden hoge correlaties tussen de predictoren tot instabiele modellen (collineariteitsprobleem). Om deze redenen is MLR niet geschikt voor spectrale data.
Wel kan men MLR toepassen in combinatie met een methode voor golflengteselectie. De voorspellingen worden dan niet gebaseerd op het gehele spectrum, maar slechts op een beperkt aantal golflengten. Het zoeken naar de meest significante golflengten en de beste combinaties is een tijdrovende bezigheid die veelal gebaseerd is op een combinatie van statistische grootheden en de

trial and error methode. In dit onderzoek zijn met behulp van MLR correlaties berekend tussen de "klassiek" bepaalde oliegehalten en de bij de verschillende golflengten verkregen NIR-reflectiewaarden. Hierbij zijn golflengten geselecteerd en calibratiefactoren berekend die in combinatie de hoogste meervoudige correlatiecoëfficiënt (R) en de kleinste standaardafwijking van de verschillen (RMSEC= Root Mean Square Error of Calibration) gaven tussen de bepaalde oliegehalten en de met NIRS berekende gehaltes. Er zijn zowel correlatieberekeningen uitgevoerd aan de ruwe spectra als aan de 1e en 2e afgeleide spectra (bij afgeleide spectra wordt er gecorrigeerd voor eventuele verschillen in reflectie veroorzaakt door verschillen in structuur zoals o.a. deeltjesgrootte). Tevens is er bij de afgeleide spectra gerekend met verschillende segment- en gapgrootten ter verkrijging van een optimale signaal/ruisverhouding.

3.2.2 PLS

Partial Least Squares (PLS) regressie is een nog niet zo oude, maar tegenwoordig populaire calibratiemethode voor hoogdimensionele datasets (Martens & Naes 1989). Implementaties van PLS zijn o.a. beschikbaar in het pakket NSAS (NSAS 1991), in het pakket Unscrambler (Unscrambler 1992) en in de algemene statistische programmeertaal Genstat (Genstat 1987).
Met PLS wordt een lineair model geconstrueerd tussen een te voorspellen variabele y en de voorspellers x_j (j = 1 ...p). Om de collineariteitsproblemen die bij MLR optreden te vermijden, worden een aantal latente variabelen t_k (k = 1 ...a) geconstrueerd die men zou kunnen zien als een beschrijving van die variatie in de spectra die relevant is voor het voorspellen van y. Hierbij is het aantal latente variabelen (a) meestal veel kleiner dan het aantal predictoren p. Bovendien zijn de latente variabelen t_k onderling niet gecorreleerd. Het voorspellen van y uit t_1 ....t_a gebeurt dan ook met gewone lineaire regressie.
Kenmerkend voor PLS is de wijze waarop de latente variabelen t_k tot stand komen. De latente variabelen worden één voor één geconstrueerd volgens een eenvoudig principe.
Elke latente variabele t_k is evenredig met een gewogen gemiddelde van alle variabelen x_1 ...x_p, waarbij de weegfactoren de covarianties tussen y en x_j (j = 1...p) zijn, voor zover deze informatie nog niet in eerdere latente variabelen is benut. Een variabele x_j die een relatief hoge correlatie heeft met y, zal dus sterk meewegen in de eerste latente variabele.

In sommige PLS uitvoeringen worden alle variabelen x_j van te voren nog geschaald tot een gelijke variantie, zodat alle golflengten a priori hetzelfde belang krijgen. In het hier beschreven onderzoek is hiervan geen gebruik gemaakt. Bij het gebruik van PLS dient de dimensionaliteit (a) van het model gekozen te worden . Dit is gebeurd door voor alle waarden tussen a = 1 en (meestal) a = 15 de voorspelfout te schatten, en a zodanig te kiezen dat deze voorspelfout minimaal wordt. De

voorspelfout is berekend als de Root Mean Squared Error of Prediction (RMSEP) via de cross-validatie methode.

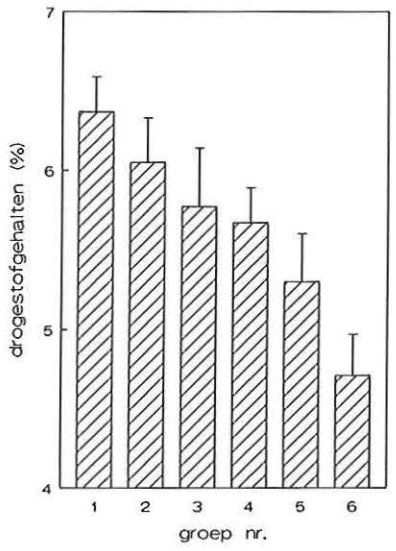
4 RESULTATEN EN DISCUSSIE

4.1 Drogestofgehalte (klassiek)

Van ruim 100 champignons of delen champignon zijn drogestofgehalten bepaald.
Uit iedere groep zijn 11-14 halve champignons onderzocht. Hieruit is een gemiddeld drogestofgehalte berekend met de bijbehorende standaardafwijking. De resultaten hiervan staan in tabel 1 en in figuur 1 zijn deze nog eens grafisch weergegeven.

Tabel 1. Drogestofgehalten (gemiddelde en standaarddeviatie) van enkele groepen champignons van het ras Sylvan F100 (2e vlucht) met verschillende behandelingen en ontwikkelingsstadia.

groep nr.	watergift (l/m^2)	ontwikkelings-stadium	drogestofgehalte x (%)	s.d. (%)	n
1	26	gesloten	6.37	0.22	14
2	26	gevliesd	6.05	0.28	13
3	26	open	5.77	0.37	13
4	54	gesloten	5.67	0.22	13
5	54	gevliesd	5.30	0.30	11
6	54	open	4.71	0.26	13
totaal			5.66	0.28	76

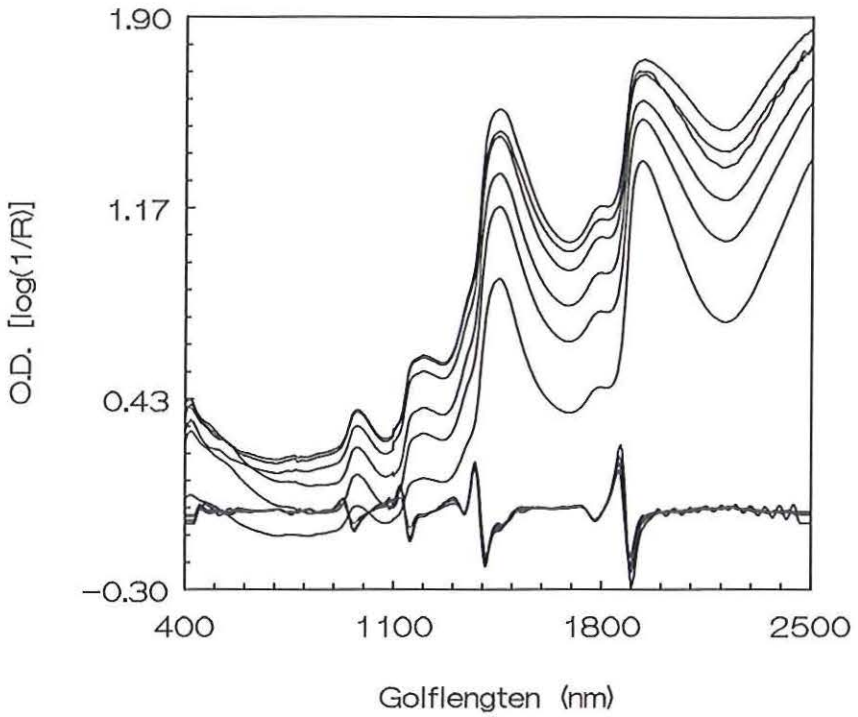


Figuur 1. Staafdiagram van de gemiddelde drogestofgehalten met de bijbehorende standaardafwijkingen voor de verschillende groepen champignons (zie tabel 1 voor de betekenis van de groepnummers).

Zoals verwacht hangt het drogestofgehalte direct samen met de watergift tijdens de groei en met het ontwikkelingsstadium waarin de champignon zich bevindt.
Naast bovengenoemde drogestofbepalingen is van groep 2 t/m 6 per groep één champignon in 5 of 6 partjes (horizontaal) gesneden en is van elk partje afzonderlijk het drogestofgehalte bepaald. De spreiding van de drogestofgehalten binnen een champignon is, onafhankelijk van het ontwikkelingsstadium, erg groot (standaardafwijking 0.6% = 2x zo groot als de standdaardafwijking tussen champignons (0.28%)). De hoed heeft gemiddeld een hoger drogestofgehalte dan de steel.

4.2 Reflectiemetingen

Van in totaal 76 in de lengterichting gehalveerde champignons zijn NIR-reflectiemetingen verricht, waarbij spectra zijn verkregen van een groot gedeelte van de hoed én de steel. Daarnaast zijn van de champignons die in 5 of 6 partjes waren onderverdeeld ook spectra opgenomen van de afzonderlijke delen. In figuur 2 zijn zowel de ruw opgenomen reflectiespectra als de 2e afgeleide spectra van een dergelijke meting weergegeven. De horizontale shift tussen de ruw opgenomen reflectiespectra van de verschillende delen champignon worden voornamelijk veroorzaakt door verschillen in structuur (o.a. deeltjesgrootte en deeltjesdichtheid) en verschil in grootte van de afzonderlijke submonsters waardoor verschillen ontstaan in de diffuse verstrooiing van het licht. Deze verschillen worden door omzetting van de spectra in 2^e afgeleide spectra grotendeels gecorrigeerd. De resterende verschillen die voornamelijk te vinden zijn bij 1940 nm, 1450 en 970 nm zijn afkomstig van absorptie verschillen van water (combinatieband, 1^e boventoon resp. 2^e boventoon van water). Hieruit blijkt dat het water binnen een champignon niet homogeen verdeeld is (figuur 2).



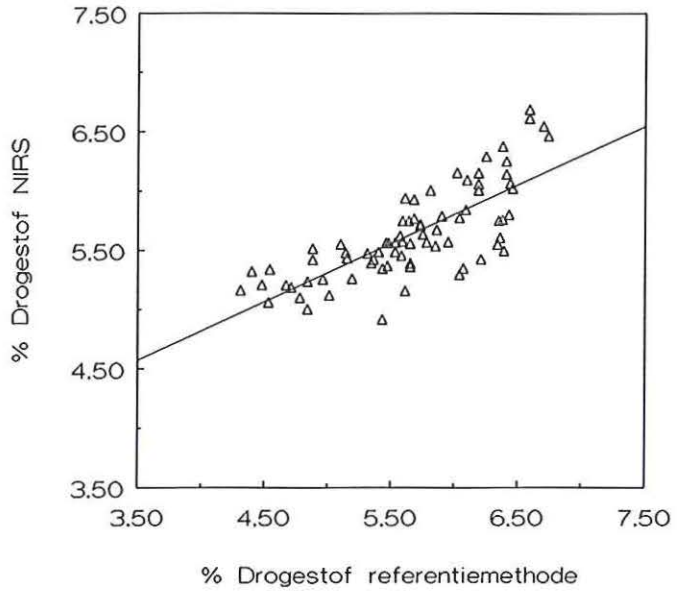
Figuur 2. NIR-refelctiespectra van de ruwe data van verschillende delen van één champignon (afgeschermd met een keramische bol) met onderaan de 2e afgeleide spectra.

Met de NIR-reflectiespectra van 76 monsters champignon en de bijbehorende drogestofgehalten zijn correlatieberekeningen uitgevoerd om na te gaan of er golflengten c.q. golflengtegebieden zijn die hoog correleren met het drogestof/watergehalte. Indien dit het geval is kan een model worden opgesteld waarmee van onbekende monsters zeer snel een uitspraak gedaan kan worden over het drogestof/watergehalte.

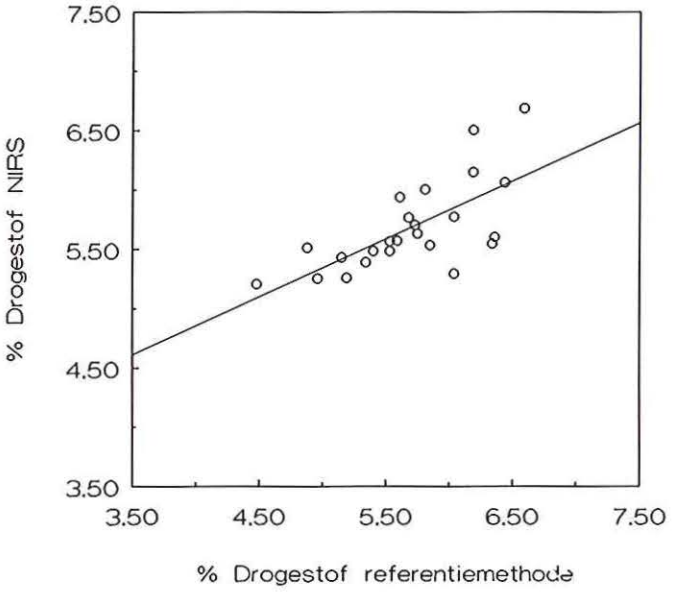
Met behulp van Multipele Lineaire Regressie (MLR) en Partial Least Squares Regressie (PLSR) zijn zowel aan de ruwe data, als aan de 1e en 2e afgeleide data correlatieberekeningen voor het drogestofgehalte uitgevoerd. Het 'beste' resultaat werd gevonden met behulp van MLR aan de 1e afgeleide (segment/gap = 10/29 nm). Er werd een correlatiecoëfficiënt (R) van 0.74 berekend met daarbij een Root Mean Square Error of Calibration (RMSEC) van 0.42%. De drogestofgehalten in de calibratieset varieerden van 4.3 - 6.7% met een gemiddelde van 5.7% en een gemiddelde s.d. van 0.28% (zie figuur 3)..

De metingen uitgevoerd met Partial Least Square regressie (PLS) leverde ten opzichte van de MLR-berekeningen geen winst op.

Voor een validatieset bestaande uit 24 "at random" gekozen monsters werd een Root Mean Square Error of Prediction (RMSEP) berekend van 0.41% (zie figuur 4).



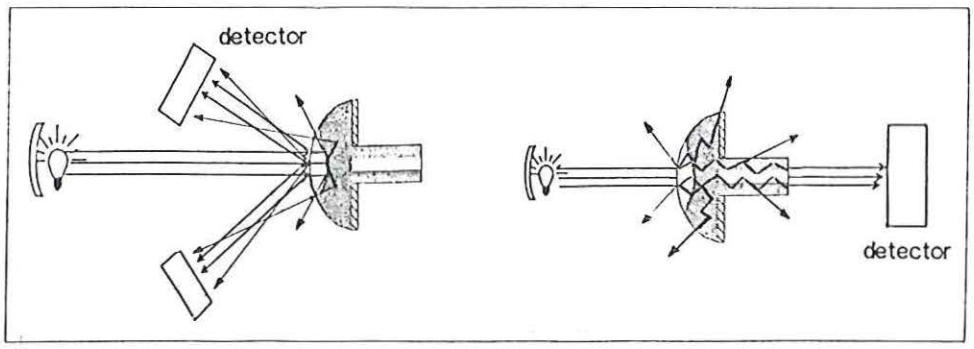
Figuur 3. Drogestofgehalten van 76 calibratiemonsters champignon bepaald net NIRS versus referentiemethode (R = 0.74, RMSEC = 0.42%).



Figuur 4. Drogestofgehalten van 24 validatiemonsters champignon bepaald net NIRS versus referentiemethode (R = 0.65, RMSEP = 0.41%).

4.2. Transmissiemetingen

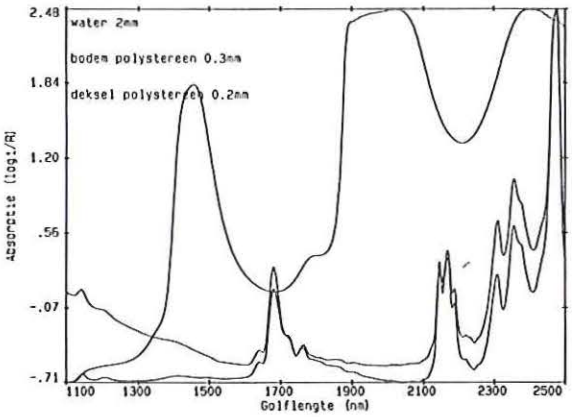
Integenstelling tot reflectiemetingen wordt bij transmissiemetingen ook informatie verkregen van het inwendige van het monster (zie figuur 5).



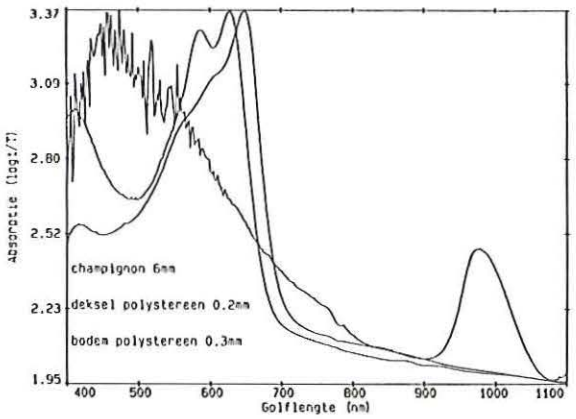
Figuur 5. Schematische voorstelling van het reflectieprincipe (links) en het transmissieprincipe (rechts).

Dit zou bij metingen aan hele champignons een groot voordeel zijn gelet op de inhomogene verdeling van water in champignons. Voorwaarde voor transmissiemeting is wel dat het monsters in meer of mindere mate translucent is. Hoewel licht met golflengten van 700 - 1100 nm minder indringingsvermogen heeft dan licht met golflengten van 1100 - 2500 nm is het eerstgenoemde golflengtegebied meer geschikt voor transmissiemetingen aan champignons dan de tweede. Dit wordt veroorzaakt doordat water in het golflengtegebied van 700 - 1100 nm veel minder sterk absorbeert. Het een en ander heeft te maken met de moleculaire extinctiecoëfficiënt van water. Deze is van de combinatieband (1940 nm) ca. 100, bij de eerste boventoon (1450 nm) ca. 10 en bij de tweede boventoon (970 nm) ca. 1. Dit betekent dat volgens de wet van Lambert en Beer de weglengte (de grootte van het monster) omgekeerd evenredig vergroot kan worden voor het verkrijgen van het zelfde absorptieniveau. Hoewel genoemde wet nadrukkelijk geldt voor heldere vloeistoffen blijkt hij ook bij transmissiemetingen aan champignons in redelijke mate op te gaan. Opgemerkt dient hierbij dat van echte transmissie geen sprake is gelet op het diffuse karakter van de meting veroorzaakt door vaste deeltjes. Voor verschillen in diffuse verstrooiing veroorzaakt door verschillen in structuur (deeltjesgrootte, vorm, dichtheid etc.) dient een correctie uitgevoerd te worden. Met behulp van een NIRsytem-6500 spectrofotometer uitgerust met een transmissiecuvet en transmissiedetector (silicon) zijn metingen verricht aan een monster water, plakjes champignon, stukjes polystereen afkomstig van een deksel resp. bodem van een 400 gram consumentenverpakking en van combinaties van deze monsters. Doel van deze metingen was na te gaan of het meten in transmissie aan (delen) champignons tot de mogelijkheden behoort, of er

een relatie te vinden is tussen absorptie en concentratie van het water- c.q. drogestofgehalte van (delen) champignons en of verpakkingsmateriaal de meting verstoord. In figuur 6 is te zien dat reflectiespectra van polystereen specifieke informatie geeft in het golflengtegebied van 1100 - 2500 nm. Hoewel de absorptiebanden zich niet op dezelfde plaats bevinden als die van water beinvloeden ze de relatie tussen de absorptie en concentratie van water. Dit komt doordat de absorptiebanden van polystereen zich op dezelfde plaats bevinden als de referentiegolflengten voor de bepaling van het watergehalte.



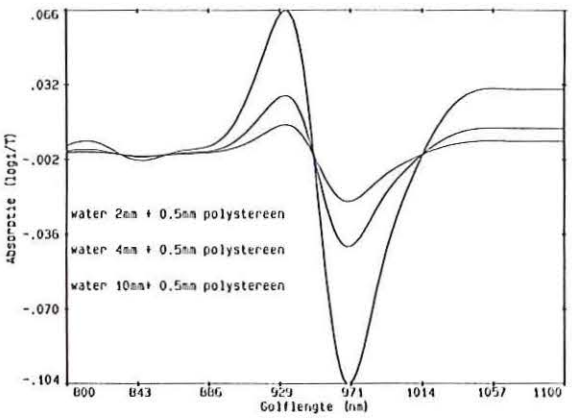
Figuur 6. NIR-reflectiespectra van water en polystereen afkomstig van een dekselje resp. bodem van een consumentenverpakking.



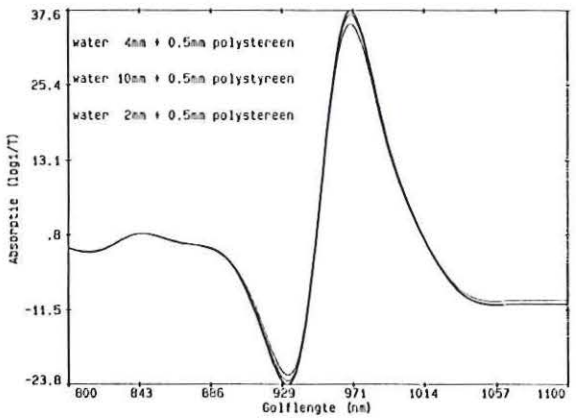
Figuur 7. NIR-transmissiespectra van een (plakje)champignon en polystereen afkomstig van een dekselje resp. bodem van een consumentenverpakking.

In figuur 7 zijn transmissiespectra te zien van polystereen en water in het golflengtegebied van 400 1100 nm. De waterabsorptieband bij 970 nm wordt in dit golflengtegebied niet beinvloed door absorptiebanden afkomstig van polystereen. De hoge absorpties beneden de 700 nm worden veroorzaakt door de kleur van de monsters en worden in tegenstelling tot de absorptie bij 968 nm niet veroorzaakt door vibraties van boventonen en combinatietonen afkomstig van fundamentele vibraties uit het infraroodgolflengtegebied. In figuur 8 zijn 2^e afgeleide transmissiespectra weergegeven van drie cuvetten (2, 4 en 10 mm) gevuld met water en voorzien van een plaatje polystereen afkomstig van zowel de deksel als de bodem van een consumentenverpakking. Bij 968 nm is een lineaire relatie te zien met de weglengte van de cuvet die omgekeerd evenredig is met de concentratie water. Omdat de absorptie bij deze golflengte zowel informatie over de weglengte als over de waterconcentratie bevat is het noodzakelijk de absorptie bij deze golflengte te corrigeren voor de invloed van de weglengte (grootte van het monster). Onderzoek heeft uitgewezen dat dit mogelijk is door een "denominator" te selecteren en hiermee de 2^e afgeleide spectra te normaliseren.

Als denominatorgolflengte is 846 nm geselecteerd. Vervolgens zijn de 2e afgeleide spectra gedeeld door de 2e afgeleide waarden bij 844 nm. De hierdoor verkregen genormaliseerde 2e spectra vertonen nu geen relatie meer met de weglengte (grootte van het monster) zoals in figuur 9 te zien is. Hierdoor moet het mogelijk zijn het watergehalte in monsters champignon te bepalen onafhankelijk van de monstergrootte door eenvoudig de absorptie te meten bij 968 nm in een genormaliseerd 2e afgeleide spectrum.

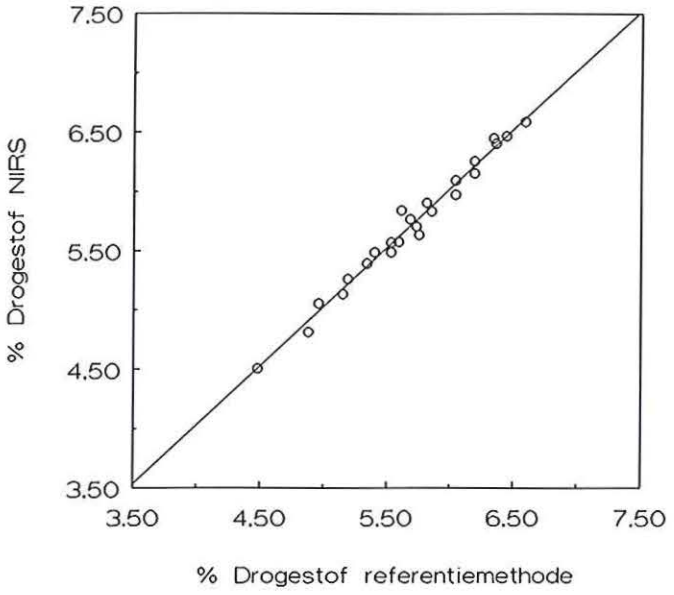


Figuur 9. 2e afgeleide NIR-transmissiespectra van water (2mm, 4mm en 10mm cuvet voorzien van 0.5mm polystereen).



Figuur 9. Genormaliseerde 2e afgeleide NIR-transmissiespectra van water (2mm, 4mm en 10mm cuvet voorzien van 0.5mm polystereen).

Om na te gaan of deze werkwijze ook voor champignons opgaat zijn van de 24 validatiemonsters voor reflectiemetingen eveneens transmissiespectra opgenomen. Tussen de NIR-transmissiedata, afkomstig van de genormaliseerde 2e afgeleide spectra, en de met de referentiemethode bepaalde drogestofgehalten werd een RMSEC berekend van 0.11% met daarbij een correlatiecoëfficiënt (R) van 0.99 (figuur 10).



Figuur 11. Drogestofgehalten van 24 calibratiemonsters champignon bepaald net NIRS versus referentiemethode (R = 0.99, RMSEC = 0.11%).

5. DISCUSSIE

Het opgestelde NIR-reflectie voorspelmodel voor de bepaling van het drogestofgehalte met behulp van 76 in de lengterichting doorgesneden champignons is onvoldoende nauwkeurig voor kwantitatief gebruik. De belangrijkste oorzaak hiervan is de homogeniteit van de waterverdeling in de champignon en de relatief kleine verschillen in vocht- c.q. drogestofgehalten tussen 'natte' en 'droge' champignons. Hierdoor en doordat het monsteroppervlak waaraan gemeten wordt betrekkelijk klein is, evenals de indringdiepte van licht met golflengten tussen de 1100 - 2500 nm, kan voor reflectiemetingen geen robuust en betrouwbaar voorspelmodel worden opgesteld.

Het een en ander kan opgelost worden door een representatief aantal champignons te homogeniseren en het te meten monsteroppervlak aanzienlijk te vergroten. Voor toepassing op de veiling of door de teler zijn metingen aan voorbehandeld monstermateriaal echter weinig interessant (voorbereiding is arbeidsintensief en de meetapparatuur is duur (ca. Hfl.120.000) en niet geschikt voor plaatsing buiten het laboratorium).

Transmissiemetingen aan doorgesneden champignons tonen aan dat hierbij meer nauwkeurige informatie wordt verkregen dan wanneer alleen aan de buitenkant van de champignon wordt gemeten. Hierdoor wordt het probleem van binnenmonstervariatie opgelost. Door in het golflengtegebied van 700 - 1100 nm te meten wordt tevens tegemoet gekomen aan de geringe

indringdiepte van licht met golflengten tussen de 1100 - 2500 nm. Door gebruik te maken van de informatie van de 2e boventoon van water kan, onafhankelijk van de invloed van verpakkingsmateriaal (polystereen) de absorptie veroorzaakt door water gemeten worden. Om het percentage water te meten dient het verkregen transmissiespectrum echter gecorrigeerd te worden voor weglengte verschillen. De op deze wijze verkregen spectra vertonen een goede correlatie met het percentage water in de champignon. De voor een monsterset (n = 24) berekende standaardfout van de verschillen tussen de met NIR berekende drogestofgehalten en de met de refrentiemethode bepaalde gehalten van 0.11% biedt voldoende perspectief voor een kwantitatief gebruik.

Hoewel met behulp van transmissie metingen van delen champignon met succes het drogestofgehalte bepaald kan worden kan de meting, met de huidige commercieel verkrijgbare apparatuur, niet aan bakjes (consumentenverpakking) of bakken (veiling bakken) uitgevoerd worden. Hiervoor is enerzijds de intensiteit van de lichtbron onvoldoende terwijl anderzijds het monstercompartiment en de wijze van detecteren ongeschikt zijn voor dergelijke metingen.

Er is derhalve een meetprincipe uitgewerkt waarbij het aangestraald monsteroppervlak en de intensiteit van de lichtbron aanzienlijk vergroot wordt. Hierdoor kan aan grotere monsterhoeveelheden gemeten worden. Om de produktiekosten van een dergelijk systeem laag te houden worden de mogelijkheden onderzocht van het gebruik van enkele voor water specifieke interferentiefilters in golflengtegebied van 800 - 1000 nm.

In samenwerking met de R&D afdeling van Sinar (een Perstorp Analytical company) wordt onderzoek uitgevoerd naar de financiele en technische haalbaarheid van een dergelijk type watermeter.

Verwacht wordt dat eind 1995 een prototype gereed zal zijn waarmee niet-destructief het watergehalte c.q. drogestofgehalte van bakjes champignon bepaald kan worden.

6. CONCLUSIES

De Nabij Infrarood Reflectie (NIR)techniek is ongeschikt voor het kwantitatief bepalen van het watergehalte in (delen) champignons. De belangrijkste oorzaak hiervan is de binnenmonstervariatie en de relatief kleine verschillen in watergehalten tussen 'natte' en 'droge' champignons.

Met behulp van Nabij Infrarood Transmissie (NIT)metingen aan (delen) champignon in het golflengtegebied van 700 - 1100 nm kan, na normalisatie van de 2^{e} afgeleide spectra, onafhankelijk van de invloed van verpakkingsmateriaal het watergehalte kwantitatief bepaald worden.

Voor toepassing van de NIT-techniek op veilingen en bij de teler, waarbij de wens is aan hele bakjes champignon te meten, is de huidige apparatuur echter niet geschikt.
Met een aangepast meetprincipe waarbij het aangestraald monsteroppervlak en de intensiteit van de lichtbron aanzienlijk vergroot wordt kan theoretisch in transmissie in het golflengtegebied van 800 - 1100 nm niet-destructief van hele bakjes champignons het watergehalte bepaald worden.
In samenwerking met de R&D afdeling van Sinar wordt onderzoek uitgevoerd naar de financiele en technische haalbaarheid van een dergelijk type watermeter. De verwachting is dat eind 1995 een prototype beschikbaar zal zijn.

LITERATUUR

Birth G.S., Dull G.G., Renfroe W.T., Kays S.J.
Non-destructive spectrophotometric determination of dry matter in onions.
J. Am. Soc. Hort. Sci., 110, 297-303 (1985)

Downey, G. & Byrne, S.
Determination of protein and moisture in ground wheat by near infrared reflectance spectroscopy.
Israel J. Food Sci. Technol., 7, 135-146 (1983)

Draper, N.R. & Smith, H.
Applied regression Analysis
Wiley, New York, USA (1981)

Frankhuizen R. & Veen N.G. van der.
Determination of major and minor constituents in milk powders and cheese by near infra-red reflectance spectroscopy.
Neth. Milk Dairy J., 39(4) 191-207 (1985)

Genstat
Genstat 5 reference manual version 2.2
Clarendon Press, Oxford, UK (1987)

Gold H.J.
General application of near infrared moisture analysis to fruits and vegetables materials.
Food Technol. 18 (april) 184(586)-185(587) 1964

Kruggel W.G., Field R.A., Riley M.L., Radloff H.D., Horton K.M.
Near-infrard refelectance determination of fat, protein of moisture in fresh meat.
JAOAC., 64, 692-696 (1981)

Martens, H. & Naes, T.
Multivariate calibration
Wiley, Chichester, UK (1989)

Montgomery, D.C. & Peck, E.A.
Introduction to linear regression analysis
Wiley, New York, USA (1982)

Norris, K.H.
History, present status, and future prospects for NIRS.
Analytical Applcations of Spectroscopy, ed C.S. Creaser & A.M.C. Davies.
Royal Society of Chemistry, Londen Uk, pp 3-8 (1988)

NSAS
Manual for Near infrared Spectral Analysis Software (NSAS),version 3.25
NIRSystems Inc., SilverSpring, USA (1989)

Packard V, Ginn R.E.,Gulden D., Arnold E.
An evaluation of reference and infra-red analyses of various components of raw milk.
Dairy Food Sanit 6(10) 430-435 (1986)

Unscrambler
Unscrambler II User's guide, extended memory version 4.10
CAMO A/S, Trondheim, Norway (1993)

Williams P.C., Norris K.H., Gehrke C.W. Bernstein K.
Comparison of near infrared methods for measuring protein and moisture in wheat.
Cereal Foods World.,28(2) 149-152 (1983)

Bijlage A

GEBRUIKTE STATISTISCHE FORMULES

RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration) = standaarddeviatie van de verschillen tussen de met NIRS voorspelde en met de klassieke methode gevonden gehaltes van de calibratieset.

$$RMSEC = \frac{\sqrt{\sum (x-y)^2}}{(n-1)}$$

RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) = standaarddeviatie van de verschillen tussen de met NIRS voorspelde en met de klassieke methode gevonden gehaltes van de toetsset.

$$RMSEP = \frac{\sqrt{\sum (x-y)^2}}{(n-1)}$$

r = correlatiecoëfficiënt van de regressielijn Y=aX+b

$$r = \frac{\sum (x_i y_j - n\overline{xy})}{\sqrt{(\sum x_i^2 - n\overline{x}^2)(\sum y_j^2 - n\overline{y}^2)}}$$

Slope = hellingshoek van de regressielijn t.o.v. de 45° lijn.

$$Slope = \frac{n\sum (yx) - \sum y \sum x}{n\sum y^2 - (\sum y)^2}$$

Bias = gemiddeld verschil tussen de met nirs voorspelde gehaltes en de klassiek gevonden gehaltes.

$$Bias = \frac{\sum (y-x)}{n}$$

waarin x = klassiek gevonden gehaltes
y = NIRS voorspelde gehaltes
n = aantal monsters