



NIR-laitteiston kalibrointi

Juho Mikkonen

OPINNÄYTETYÖ
Toukokuu 2023

Laboratoriotekniikan tutkinto-ohjelma

TIIVISTELMÄ

Tampereen ammattikorkeakoulu
Laboratoriotekniikan tutkinto-ohjelma

MIKKONEN, JUHO
NIR-laitteiston kalibrointi

Opinnäytetyö 27 sivua, joista liitteitä 2 sivua
Toukokuu 2023

Opinnäytetyön tavoitteena oli uudelleen kalibroida NIR-laitteiston nitraushappo analyysimenetelmässä käytettävä kalibrointi ja kehittää nitraushapoille uusi analyysimenetelmä. Lyhenne NIR tulee sanoista "Near infrared" (lähi-infrapuna). Nitraushappoja käytetään Nammo Vihtavuori Oy:n ruutitehtaalla ruudin raaka-aineen nitroselluloosan valmistukseen. Nitraushappo sisältää rikkihappoa, typpihappoa ja vettä. Analyysimenetelmä on kvantitatiivinen eli määrällinen, jonka avulla on tarkoitus selvittää nitraushapoissa olevien typpihapon, rikkihapon ja veden pitoisuudet. Tarkoituksena on luopua perinteisestä analysointiin käytettävästä työläästä happo-emäs titrauksesta ja siirtyä kokonaan käyttämään NIR-laitteistoa sen helppouden, nopeuden ja tarkkuuden vuoksi.

Opinnäytetyön tarkoitus oli tehdä NIR-laitteistolla käytettävästä analyysimenetelmästä luotettavampi uudelleen kalibroinnin avulla, koska analyysimenetelmä ei toimi tällä hetkellä halutulla tavalla. Analyysimenetelmä on luotettava tällä hetkellä vain, joka toisen nitraushappo analyysin osalta. Tuloksia joudutaan korjaamaan laskennallisesti korjauskertoimella. Käytössä oleva korjauskerroin on tarkoitus tehdä tarpeettomaksi uuden kalibroinnin myötä. Toimiva analyysimenetelmä mahdollistaisi korjauskertoimesta luopumisen.

Rinnakkaismittauksien keskiarvoja vertaamalla huomattiin, että vesi on 75%, rikkihappo 32% ja typpihappo 50% lähempänä titraustuloksia uudella kalibroinnilla verrattuna vanhaan kalibrointiin. Haluttuun tavoitteeseen ei päästy, koska tulokset eroavat liikaa titraustuloksista, joita pidetään luotettavina. Myöskään korjauskertoimesta ei voi luopua. Tulevaisuudessa tulisi suorittaa uusia kalibrointeja, jotta mahdolliset happojen väliset erot kuten, näytteiden sakkaisuus, voitaisiin huomioida kalibroinnissa. Salassapitovelvollisuuden vuoksi, analysoitavien happojen laatuja, käyttökohteita, pitoisuuksia, virherajoja ja osaa tuloksista ei ilmoiteta tässä opinnäytetyössä.

ABSTRACT

Tampereen Ammattikorkeakoulu
Tampere University of Applied Sciences
Degree programme in Laboratory Engineering

MIKKONEN, JUHO
Calibration of Near-Infrared Spectroscopy

Bachelor's thesis pages 27, appendices 2 pages
May 2023

The purpose of this thesis was to recalibrate the calibration used in the nitration acid analysis method of Near-infrared (NIR) equipment and to develop a new analysis method for it. The abbreviation NIR comes from the words "Near Infrared". Nitration acid is used to manufacture nitrocellulose which works as raw material for gunpowder at Nammo Vihtavuori Oy gunpowder factory. Nitration acid includes nitric acid, sulfuric acid and water. The analysis method is quantitative, and aims to determine the concentrations of nitric acid, sulfuric acid and water in nitration acid. The goal of the company is to abandon the time-consuming traditional acid-base titration and move completely to use NIR as main method of analysis, because it is easier, faster and more precise.

The aim of the thesis was to make the analysis method used with NIR equipment more reliable by recalibrating it, since it currently does not work as desired. Currently every other nitration acid sample can be analyzed with NIR. NIR results must be mathematically corrected with correlation correction. The aim was to remove the need for a correction through a new analysis method.

A comparison of parallel measurements shows that, with the new calibration water is 75%, sulfuric acid is 32% and nitric acid is 50% more closer to titration results than with the old calibration. Aim of this thesis was not reached because the results are still different from titration results by a large margin. Also abandoning correlation correction is not possible because of this. To continue this work, new calibrations should be made, so all differences between acids, like sediments within the acids for example, are included to calibration. Because of secrecy agreement some results, acids quality, error limits and acids usage will not be presented in this thesis.

Key words: NIR, nitration, infrared, spectroscopy

SISÄLLYS

1	JOHDANTO.....	6
2	TEORIA.....	8
2.1	Infrapunasäteily	8
2.2	NIR Spektroskopia.....	8
2.3	Kalibrointimenetelmät	9
2.4	Nitraushappo ja nitraus.....	10
3	ANALYYSIT, LAITTEISTO JA KALIBROINTIMENETELMÄT	12
3.1	Analyysimenetelmät	12
3.2	Käytetty laitteisto	12
3.3	Kalibrointi pääkomponenttianalyysillä	13
3.4	Menetelmän luominen	13
3.5	Menetelmän luotettavuus	14
3.6	Laitteiston käyttökunto	14
4	TYÖN SUORITUS.....	15
4.1	Kalibrointi.....	15
4.2	Kalibroinnin laskeminen ja luotettavuus.....	16
4.3	Menetelmän luonti	17
5	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU.....	18
5.1	Kalibrointi.....	18
5.2	Rinkkaismittaukset.....	18
5.3	Korjauskerroin	20
6	JOHTOPÄÄTÖKSET JA YHTEENVETO	21
	LÄHTEET	23
	LIITTEET	26

LYHENTEET JA TERMIT

NIR	Near-Infrared, lähi-infrapuna
SEC	Standard error of calibration, kalibriontinvirhe
SEP	Standard error of prediction, validointinvirhe
Q-VALUE	Quantification Value, määrittämisarvo
V-SET	Validation set, validointiryhmä
C-SET	Calibration set, kalibrointiryhmä

1 JOHDANTO

Tämä opinnäytetyö on tehty asiakkaan Nammo Vihtavuori Oy:n pyynnöstä parantaa NIR-laitteistoon (Near Infrared-laitteisto) liittyviä analyysejä. Nammo Vihtavuori Oy on osa Nammo konsernia ja heidän päätoimialansa on räjähdysaineiden valmistus. Vihtavuoren ruutitehdas on toiminut samalla paikalla Laukaan Vihtavuorella vuodesta 1922 lähtien (Nammo 2022).

NIR-laitteistolla käytettävällä nitraushappojen analyysimenetelmällä voidaan laboratoriossa luotettavasti analysoida vain joka toinen nitraushaponäyte ja joka toinen nitraushaponäyte analysoidaan happo-emäs titrauksella. Happo-emäs titraus on huomattavasti työläämpi toimenpide ja vie NIR-analysointiin nähden nelinkertaisen ajan. Ennen titrausta, nitraushaposta on haihdutettava typpihappo, jotta saadaan analysoitua rikkihapon pitoisuus. Haihdutus vie ajallisesti 40 minuuttia. Kun typpihappo on haihdutettu, voidaan jäljelle jäävästä näytteestä analysoida titraamalla rikkihapon pitoisuus. Kokonaishappo voidaan analysoida titraamalla suoraan näytettä. Kokonaishapon pitoisuuden tuloksesta vähennetään rikkihapon pitoisuus ja saadaan selville typpihapon pitoisuus. NIR-laitteistoilla analysoidessa näyte ei vaadi esikäsittelyä, näytteen sekoittamista lukuun ottamatta.

Nitraushappo on typpihapon ja rikkihapon sekoitus. Se on tärkein osa ruudin raaka-aineen, nitroselluloosan, valmistusta. Nitraushapoilla tehdään nitraus, jossa selluloosaan sekoitetaan nitraushappoa ja tästä valmistuu nitroselluloosaa. Nitraushappo sisältää myös hieman vettä, minkä avulla voidaan säätää nitroselluloosan typpipitoisuutta (Urbanski, 1965, s 321).

Opinnäytetyön tavoitteena oli tehdä NIR-laitteistolla käytettävästä analyysimenetelmästä luotettavampi. Analyysimenetelmä ei toimi tällä hetkellä halutulla tavalla ja tarkoituksena on myös päästä eroon käytössä olevasta korjauskertoimesta eli korrelaation korjaukseen käytettävästä kertoimesta. Korrelaatio on tulosten välinen lineaarinen riippuvuus (Kestilä-Kekkonen, 2022). NIR tuloksiin on käytössä korjauskerroin, joka muuttaa analysoidut pitoisuudet lähemmäksi todellisia pitoisuuksia. Korjauskerrointa käytetään, koska NIR-laitteistolla analysoidut tulokset poikkeavat titraamalla saaduista tuloksista, joita

pidetään tarkempina ja luotettavampina toimeksiantajan toimesta.

Korjauskerrointa joudutaan uudelleen laskemaan, riippuen kuinka paljon titraustulokset ja korjauskertoimella korjatut tulokset poikkeavat toisistaan. Jos NIR-laitteistoilla analysoidut tulokset, joita ei ole kerrottu korjauskertoimella ja titraamalla analysoidut tulokset poikkeavat toisistaan virherajoja enemmän, pitää korjauskerroin laskea uudestaan. Uusi kerroin tulee laskea, jos useat peräkkäin analysoidut tulokset poikkeavat. Virherajat on määritetty toimeksiantajan toimesta. Yksittäisen korjauskertoimen löytämiseksi, mikä toimisi kaikille nitraushappo näytteille, tarvitsee paljon dataa, joten sitä ei suoriteta tämän kehittämistyön yhteydessä, vaan se jää jatkokehityskohteeksi.

Tämän työn tarkoitus on uudelleen kalibroida NIR-laitteiston nitraushappo analyysimenetelmässä. Analyysimenetelmä on kvantitatiivinen eli määrällinen, minkä avulla on tarkoitus selvittää nitraushapossa olevien typpihapon, rikkihapon ja veden pitoisuudet.

Nitroselluloosan tuotannon kasvaessa, on tärkeää, että nitroselluloosan valmistuksen käytettävät nitraushapot voidaan analysoida nopeasti ja tarkasti, jotta tuotanto pääsee jatkamaan prosessia. Yksinkertainen ja nopea analyysintapa vähentää tekijästä johtuvien virheiden, kuten pipetointi ja punnitusvirheiden määrä ja tulosten luotettavuus parantuu. Salassapitovelvollisuuden vuoksi, analysoitavien happojen laatuja, käyttökohteita, pitoisuuksia, virherajoja ja osaa tuloksista ei ilmoiteta tässä opinnäytetyössä.

2 TEORIA

2.1 Infrapunasäteily

Infrapuna on näkyvää valoa isommalla aallonpituudella säteilevää sähkömagneettista säteilyä (Lucas 2022). Näkyvä valo säteilee yleensä aallonpituudella 700–480 nm (Nasa 2022), kun taas infrapuna säteilee aallonpituudella 1000 nm–700 nm. Tämän takia infrapuna säteilee myös lämpimämmin kuin näkyvä valo ja jos kappaleen lämpötila nousee tarpeeksi, voi kappale säteillä infrapunasäteilyä (Lucas 2022). Infrapunasäteilyä hyödynnetään monissa erilaisissa arkipäiväisissä käyttökohteissa, kuten lämpökameroissa, langattomassa viestinnässä ja infrapunasaunoissa. (Redsun 2022.)

2.2 NIR Spektroskopia

NIR-spektroskopia (Near Infrared-spektroskopia) on eräs spektroskopian menetelmä (Osibanjo, Curtis & Lai 2022). NIR käyttää infrapunasäteilyn lähialuetta aallonpituuksien 0,78–2,5 μm välillä, eli aaltolukuja väliltä 12500–4000 cm^{-1} (Beć & Huck 2019) Osa tästä säteilystä absorboituu tutkittavaan molekyyliin ja osa säteilystä ohittaa sen. Absorboitunut infrapunasäteily virittää molekyyliä korkeammalle energiatasolle, eli molekyylit sisältävät enemmän energiaa kuin normaaleissa olosuhteissa ja täten aiheuttaa molekyylien välisten dipoli-dipolisidosten värähtelyä, venymistä ja ylivärähtelyä (Bertrand, Johns & Guess, 2022). Kun molekyyli siirtyy korkeammalle energiatasolle, luo värähtely, venyminen ja ylivärähtely mitattavan signaalin (A.M.C. Davies, 2022.)

Laitteiston optinen lukupää säteilee infrapunasäteilyä, joka lähtee NIR-spektroskopian sisältä olevasta lampusta valokuitukaapelia pitkin näytteeseen asti. NIR-spektroskopian sisällä on diffraktiohila, jolla voidaan asettaa halutut aallonpituudet. Näytteeltä palaava säteily, josta osa on absorboitunut näytteeseen, ohjataan diodirividetektorille. Tämä detektori mittaa valon läpäisykykyä ja absorbanssia. Käyttäen hyödyksi Fourier-muunnosta voidaan muodostaa saadusta tiedosta heijastusspektri. Fourier-muunnos on jatkuva integraalin muunnos. Se muuntaa signaalin funktion aika-alueelta

aallonpituusalueelle (Rouse 2020). Detektorilta signaali piirtyy heijastusspektrinä tietokoneelle, josta sitä voidaan tarkistella. (Lawlor 2011; Measurlab 2023.)

2.3 Kalibrointimenetelmät

Kalibrointimenetelmänä käytetään joko pienemmän neliö summa (The Partial Least Squares=PLS) tai pääkomponentti analyysiä (Principal component analysis=PCA) menetelmiä. Pienimmän neliön summan menetelmää käytetään, kun mitattavat arvot, eli muuttujat poikkeavat toisistaan paljon. Menetelmässä valitaan parametrejä, joita estimoidaan, siten että mitatun arvon ja satunnaismuuttujan arvon summan neliö olisi mahdollisimman pieni. Satunnaismuuttuja esitetään estimoitujen arvojen avulla. (Minitab 2022.)

Pääkomponenttianalyysissä moniulotteisesta datasta erotellaan ne pääkomponentit, joiden avulla halutut mitattavat ominaisuudet voidaan esittää yksinkertaisesti, ilman että merkittävää dataa jää pois (Leung 2022). Menetelmän etuna voidaan pitää sen toimivuutta pienellä määrällä pääkomponentteja. Menetelmä toimii kolmella pääkomponentilla, mutta voi olla epätarkka, pienen otoksen takia. Toisaalta jos pääkomponentteja on liikaa, voi dataan tulla päällekkäisyyksiä, mikä aiheuttaa epätarkkuutta ennusteissa (Mehta 2022.)

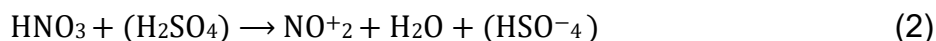
Pääkomponenttien datasta voidaan muodostaa spektri. Spektri sisältää tutkittavan näytteen ominaisuudet. Ominaisuuksia voivat olla esimerkiksi lämpötila, sidosten pituus, molekyylien paino. Spektristä tulee erotella ne pääkomponenttien ominaisuudet, mitkä sisältävät tutkittavan aineen pitoisuuden. Valittujen pääkomponenttien avulla voidaan uudelleenrakentaa spektri ja tämän spektrin data muuttaa suoraan absorbanssidataksi. Absorbanssilla ilmaistaan, kuinka paljon valoa tutkittava molekyyli imee itseensä (Helmenstine 2022). Absorbanssi on riippuvainen konsentraatiosta Lambert-Beer lain (kaava 1) mukaan.

$$A = \varepsilon b c \quad (1)$$

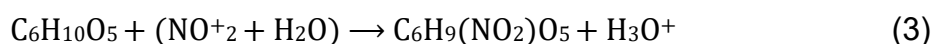
Lausekkeessa A on absorbanssi, ϵ on molaarinen absorbanssikerroin, b valon kulkema matka ja c mikä on näytteen konsentraatio eli pitoisuus. Molaarinen absorbanssikerroin saadaan laskettua muodostettujen kalibrointisuorien kulmakertoimesta (Edinburgh Instruments 2022).

2.4 Nitraushappo ja nitraus

Nitraus on prosessi, missä typpihappo hajotetaan nitroniuminoksi ja vedeksi, ja muodostunut nitroniumioni liitetään oikeissa olosuhteissa kohdemolekyyliin ja tapahtuu nitrautuminen (Ashenhurst 2022). Typpihappo (HNO_3) on vahvasti syövyttävä ja hieman kellertävä happo (PubChem 2022). Typpihappo ei yksin ole tarpeeksi vahva happo nitraukseen, koska se ei pysty muodostamaan tarpeeksi hapanta ympäristöä, missä muodostuisi nitroniumioni eli NO_2^+ -ryhmä. Lisäämällä väkevää rikkihappoa (H_2SO_4) prosessiin saadaan luotua tarpeeksi happamat olosuhteet. Tätä typpihapon ja rikkihapon seosta kutsutaan nitraushapoksi ja se on väriltään vihreää. Happamissa olosuhteissa pH on alle 0,3. Näissä olosuhteissa voidaan hajottaa typpihappo vedeksi ja nitroniumioniksi (kaava 2) (T. Urbanski 1965, s 327.)



Nitrauksen ensimmäisessä vaiheessa typpihappo on hajotettu vedeksi ja NO_2^+ -ryhmäksi. Nitrauksen toisessa vaiheessa NO_2^+ -ryhmä liitetään selluloosan ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$) polymeeriketjuihin korvaamalla ketjujen päissä olevat H-ryhmät. Kyseessä on elektrofiilinen substiutuutioreaktio (kaava 3) (Ashenhurst 2022; Manahan 2022.)



Nitrauksen lopputuote on nitroselluloosa ($\text{C}_6\text{H}_9(\text{NO}_2)\text{O}_5$), joka toimii ruudin raakaaineena.

Yleisesti nitraushappo sisältää rikkihappoa 60–63 %, typpihappoa 25-27 % ja vettä 10-15 %, jotta saadaan haluttu typpipitoisuus nitroselluloosaan ja

valmistunut tuote on stabiili (T. Urbanski 1965, s. 329) On tärkeää, että nitraushappojen pitoisuudet ovat kohdallaan kymmenesosan tarkkuudella. Jos nitraushapossa on liian vähän typpihappoa, jää nitroselluloosan typpipitoisuus liian alhaiseksi. Jos typpihappoa on liika, tulee nitroselluloosasta epästabiilia ja voi aiheuttaa räjähdysvaaran. Liian korkean typpipitoisuuden vuoksi, nitroselluloosassa alkaa luonnollinen hajoaminen, mistä vapautuu typen oksideja (NO_x) jotka voivat aiheuttaa räjähdysvaaran (Duro, López, Águila, Pardo & Debán, 2022.)

3 ANALYYSIT, LAITTEISTO JA KALIBROINTIMENETELMÄT

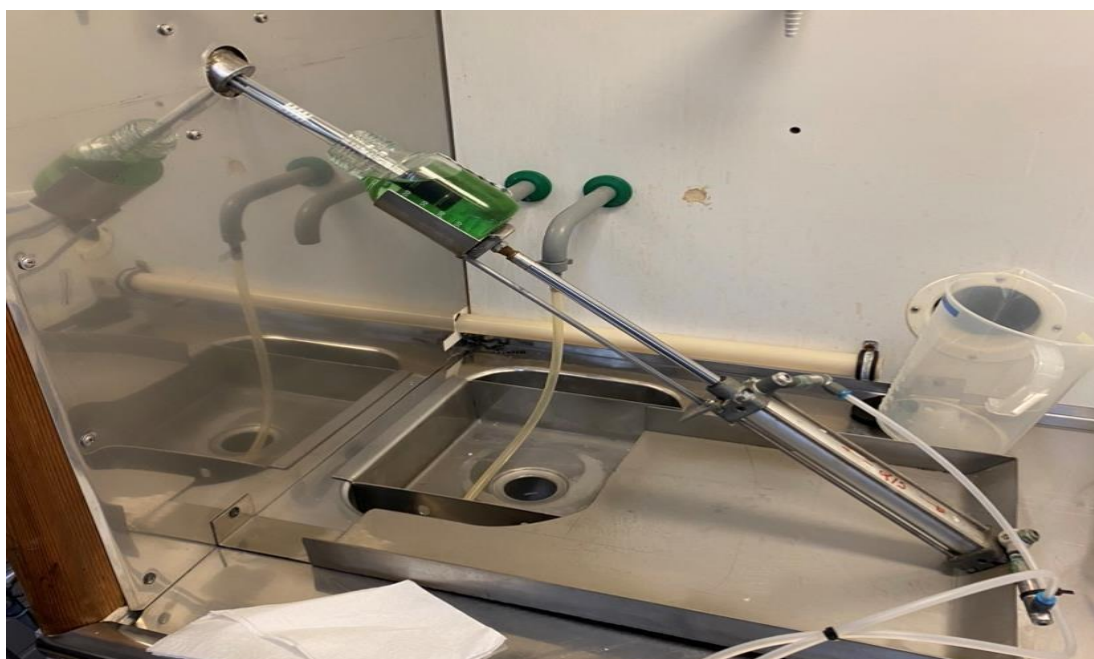
3.1 Analyysimenetelmät

Nitraushappoa voidaan analysoida titraamalla. Yleisin tapa analysoida nitraushappo on happo-emästitraus (LibreText 2022). Titraus on menetelmä, missä tutkittavaan näytteeseen lisätään titranttiliuosta, kunnes reaktiossa tapahtuu nopea muutos, joka havaitaan joko liuoksen värin muutoksena tai pH:n muutoksena, eli happamuuden muutoksena. (LibreText 2022.)

Toinen tapa analysoida nitraushappoa on spektroskopia. Spektroskopia perustuu analysoitavan näytteen säteilemään tai absorboimaan säteilyyn. Tämä säteily voidaan hajottaa eri aallonpituuksiin eli spektriä. Riippuen säteilyn tai absorbanssin voimasta, voidaan määrittellä mitä ainetta tai kuinka paljon tiettyä ainetta on näytteessä. (ATA Scientific 2020.)

3.2 Käytetty laitteisto

Kalibroinnissa käytetään laboratoriossa olevaa NIR-laitetta. Laitteiston pääkomponentit ovat tietokone, NIR-spektroskopia optinen valokuitukaapeli, optinen lukupää ja laitteistolle rakennettu paineilma hissi (KUVA 1).



KUVA 1. Näyte paineilma hississä. Optinen lukupää näytteen sisällä

3.3 Kalibrointi pääkomponenttianalyysillä

Kalibrointi menetelmäksi valittiin pääkomponentti analyysi. Kalibrointi suoritettiin NirCAL- ja NirWare-ohjelmilla. NirWare-ohjelmalla luodaan menetelmä ja käsitellään kalibrointinäytteitä. NirCal-ohjelmalla luodaan kalibroinnit näytteistä. Pääkomponenteiksi valittiin rikkihapon ja veden spektrien data, joista voidaan selvittää Lambert-Beerin lain avulla pitoisuudet. Kalibroinnissa verrataan tunnettujen näytteiden spektreistä muodostettua suoraa tuntemattomien näytteiden muodostamaan suoraan. Näiden suorien välisen korrelaation eli riippuvuuden avulla saadaan selville tuntemattomien näytteiden pitoisuudet. Typpihapon spektriä ei tarvitse kalibroida. Nitraushapon pitoisuudesta vähennetään mitatut rikkihapon ja veden pitoisuudet. Jäljelle jäävä osuus vastaa typpihapon pitoisuutta (kaava 4).

$$100\% - \text{H}_2\text{SO}_4\% - \text{H}_2\text{O}\% = \text{HNO}_3\% \quad (4)$$

Kalibrointinäytteinä käytetään tuotannossa käytössä olevia nitraushaponäyteitä, koska kalibrointi on hyvä suorittaa samanlaisilla näytteillä, kuin tutkittavat näytteet. Silloin mahdolliset epäpuhtaudet on huomioitu kalibroinnissa ja spektri vastaavat mahdollisimman hyvin tuntemattomia spektrejä (NIRWare). Näytteet sisältävät rikkihappoa, typpihappoa ja vettä. Jokaisen näytteen pitoisuudet on analysoitu happo-emäs titrauksella, jotta saadaan selville näytteiden rikkihappo, typpihappo ja vesi pitoisuudet. Kalibrointiin valittiin rinnakkaisten analyysien määrä ja kuinka monesti näytettä säteilytetään infrapunalla. Valittiin tätä menetelmää varten kolme rinnakkaista analyysia ja näytettä säteilytetään 16 kertaa (NIRWare.)

3.4 Menetelmän luominen

Nitraushappojen analysointiin käytettävän menetelmän luonti suoritetaan samoilla ohjelmilla kuin kalibrointi. Menetelmän luomisohjelmassa valitaan mittaussparametrit ja muokataan menetelmä analysointia varten sopivaksi. Mittausparametreihin kuuluu rinnakkaisten mittausten määrä ja säteilytyskertojen määrä.

Rinnakkaismittauksien määrä voidaan valita 1-15 väliltä. Säteilytyskertoja voidaan valita 6–64 kerran väliltä.

3.5 Menetelmän luotettavuus

Menetelmän luotettavuutta tarkasteltiin rinnakkaismittauksilla ja vertaamalla tuloksia titraustuloksiin. Rinnakkaismittaukset vanhan ja uuden menetelmä välillä suoritettiin analysoimalla näyte ensin vanhalla ja sitten uudella menetelmällä. Myös näytteiden lämpötilaa seurattiin, jotta ne ovat saman lämpöisiä kuin kalibroinnissa käytettyjen näytteiden lämpötila. Kalibroitinäytteiden lämpötila oli +20°C- +24 °C välillä. Lämpötilat on määritetty toimeksiantajan toimesta

Koska näytteisestä vain joka toinen titrataan ja joka toinen analysoidaan NIR:illä, otettiin rinnakkaismittauksiin vain ne näytteet mitkä analysoitiin myös titraamalla, jotta nähdään kuinka paljon eroavaisuutta menetelmien välillä oli.

3.6 Laitteiston käyttökunto

Laitteen käyttökunto tarkistetaan tietyin väliajoin asettamalla menetelmään tarkistusväli. Laitteelle määritetään suoritettavaksi System Suitability Test (SST) kahdentoista tunnin välein. SST:llä pyritään varmistamaan, että laitteen valokuitukaapeli, optinen lukupää ja muu välineistö ovat käyttökunnossa. Mittauksia varten menetelmään asetetaan sisäisen referenssin mittausta ennen jokaista näytteen mittausta ja ulkoisen referenssin mittausta tunnin välein. Näillä varmistetaan, että laitteisto on kunnossa kyseessä olevaa menetelmää varten (NIRWare.)

4 TYÖN SUORITUS

4.1 Kalibrointi

Jotta NIR-laitteistoilla voi analysoida tuntemattomia molekyyliä, on sinne syötettävä referenssispektrejä, joiden pitoisuudet tunnetaan. Nämä tunnetut spektrit piirretään pitoisuuden funktiosuorana. Menetelmä vertaa tuntemattomien molekyylien luomaa suoraa, tunnettujen molekyylien suoraan. Vertaamalla suoria selviää tuntemattomien molekyylien pitoisuudet näytteestä (NIRWare).

Kalibrointi aloitettiin mittaamalla referenssispektrejä. Spektreihin lisättiin aineiden tunnetut pitoisuudet. Pitoisuudet analysoitiin titraamalla. Kalibroinnissa käytettiin 33 näytettä tuotannosta. Jokaisesta näytteestä mitattiin kolme rinnakkaista spektriä.

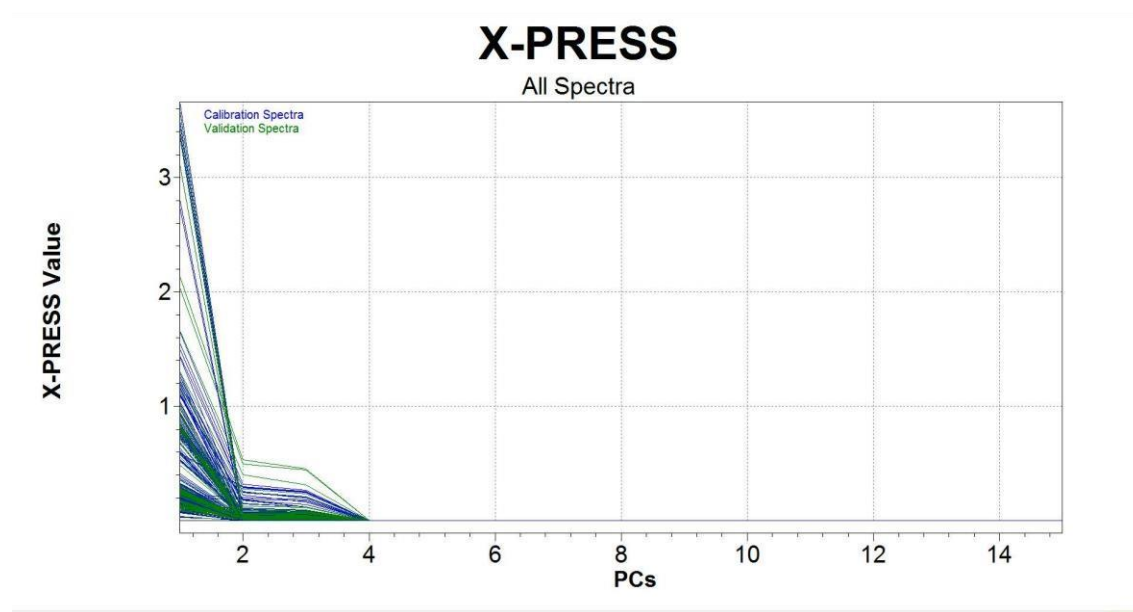
Näytteiden spektreistä valittiin 2/3 kalibrointiin ja 1/3 validointiin. Laite valitsi automaattisesti, kumpaan ryhmään näytteen spektri menee. Kaksi ensimmäistä näytettä sijoitettiin kalibrointiin ja kolmas sijoitettiin validointiin ja tätä toistettiin, kunnes kaikki näytteet on jaettu, joko kalibrointiin tai validointiin. Valinnassa tarkistettiin, että kaikki kolme rinnakkaista spektriä yhdestä näytteestä kuuluivat joko kalibrointiin tai validointiin. Suurimman ja pienimmän pitoisuuden omaavat spektrit sijoitettiin kalibrointiin. Kalibrointispektrejä käytettiin kalibroinnin tekemiseen ja validointispektrejä käytettiin sisäiseen validointiin, eli kalibroinnin todentamiseen.

Kalibrointi suoritettiin Q-value toiminnolla. Q-Value tarkoittaa määrittämisarvoa. Määrittämisarvo ilmaisee mitkä spektri vastaavat lisättyjä pitoisuuksia parhaiten. Qvalue toiminnolla käytiin läpi kaikki kalibrointispektrit ja ohjelma valitsi automaattisesti kymmenen spektriä, mitkä olivat lähimpänä referenssispektrejä. Ne kalibroinnit, joiden Q-Value arvo on 0 hylättiin automaattisesti, koska ne eivät toimi ja ne mitkä ovat lähimpänä arvoa 1, hyväksyttiin. Ohjelma valitsi parhaan kalibroinnin aktiiviseksi automaattisesti. Valinnat suoritettiin erikseen molemmille tutkittaville molekyylyille, eli rikkihapolle ja vedelle.

4.2 Kalibroinnin laskeminen ja luotettavuus

Kalibrointia muokattiin ja todennettiin calibration toolbox- työkalulla. Työkalun avulla voitiin muokata, millaisia aallonpituuksia mitataan ja millaisia pääkomponentteja kalibrointiin valittiin.

Muokattiin pääkomponenttien määrä, eli valittavien ominaisuuksien määrä. Näitä ominaisuuksia ovat esimerkiksi lämpötila, paino, sidosten venymisen pituus. Hylätään ne pääkomponentit, jotka eivät vaikuta merkittävästi kalibroinnin tarkkuuteen. Tämä suoritettiin X-PRESS toiminnon avulla. X-PRESS esittää ne pääkomponentit, jotka vaikuttavat spektrin uudelleenrakentamiseen (KUVIO 1).

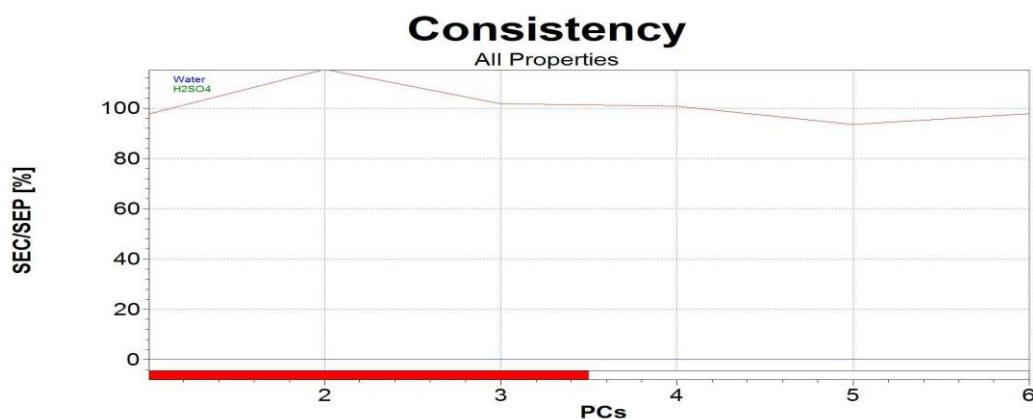


Kuvio 1. Kaikkien spektrien X-PRESS arvot (NirCal)

X-PRESS:sin avulla huomattiin, että neljä ensimmäistä pääkomponenttia sisältävät tärkeää tietoa analysoitavan näytteen pitoisuuden kannalta. Tästä seuraavat pääkomponentit sisälsivät vähän tietoa, eivätkä vaikuttaneet merkittävästi spektrin uudelleenrakentamiseen. Manuaalin suositusten mukaan, valittiin pienin tietoa sisältävä pääkomponentti, tässä tapauksessa valittiin neljä pääkomponenttia. Kalibrointi- ja validointispektrit esitetään neljän pääkomponentin avulla (NIRWare.)

Tarkisteltiin konsistenssia, jonka avulla pystyttiin poistamaan ne pääkomponentit, mitkä eivät käyttäydy samanlailla kuin muut. Konsistenssi tarkoittaa asioiden

tapauksista samantyyppisillä jokaisella kerralla (Collins 2022). Konsistenssi on kalibroinnin virheen (Standard Error in Calibration = SEC) ja ennusteen virheen (Standard Error in Prediction = SEP) suhde prosentteina. Pääkomponentit mitkä osuivat 80-110% välille voitiin hyväksyä kalibrointiin. Kalibroinnin luotettavuutta tutkittiin SEP/SEC suhteella. SEP/SEC suhde on esitetään kuviossa 2.



Kuvio 2. Pääkomponenttien (PCs) konsistenssi arvot (NirCal.)

Jos SEC tai SEP arvot eivät täytä niille määritettyjä vaatimuksia, uusittiin kalibrointi. Vaade SEP:ille ja SEC:ille on alle 0,3. Arvot saatiin kalibrointisuurasta. Kun pääkomponenttien määrä oli valittu, SEP ja SEC arvot ovat hyväksytyt, voitiin suorittaa kalibrointi. Nimettiin nämä kalibroinnit siten, että ne ovat tunnistettavissa menetelmä luomisvaiheessa. Tämä toimenpide suoritettiin molemmille tutkittaville molekyyleille.

4.3 Menetelmän luonti

Edellisessä työvaiheessa nimetyt kalibroinnit lisättiin menetelmään NIRWare-ohjelman avulla. Kvalitatiivisessa eli määrällisessä analyysissä, kun tutkitaan nestemäisiä näytteitä, käytettiin kolmea rinkaismittausta ja 16 säteilytyskertaa, jotta päästiin parhaaseen mahdolliseen menetelmään (NIRCal). Analysoidut pitoisuudet ilmoitettiin prosentteina. Rinkkaisille mittauksille määritettiin rajat, eli määritettiin kuinka paljon rinkaaiset tulokset saavat erota toisistaan. Jos rajat ylittyvät, on mittaus uusittava. Virherajoja ei esitetä tässä työssä salassapitovelvollisuuden vuoksi.

5 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

5.1 Kalibrointi

Menetelmää varten valittiin paras mahdollinen kalibrointi, eli se kalibrointi, missä spektrit vastasivat mahdollisimman hyvin tunnettuja pitoisuuksia. Tästä muodostetaan kalibrintisuora pitoisuuden funktiona. Suoran korrelaation tulee olla lähellä arvoa 0,999, jotta se voidaan hyväksyä. Korrelaatio ilmaisee kalibrintimittausten välistä hajontaa. Mitä suurempaa hajonta on, sitä huonompi lineaarinen suora on. (Jaarinen & Niiranen 2008, s 25). Kalibrintisuuraa ei esitetä tässä työssä salassapitosyistä. Kalibrointi onnistui neljällä pääkomponentilla. Rikkihapon ja veden Q-Value, korrelaatio ja SEP esitetään taulukossa 1.

TAULUKKO 1. Rikkihapon ja veden Q-Value, korrelaatio ja SEP tulokset

Molekyyli	Q-Value	Korrelaatio kalibrointi	Korrelaatio validointi	SEP
Rikkihappo	0,9809	0,9993	0,9992	0,165
Vesi	0,9809	0,9999	0,9999	0,165

Määrittämissarvot ovat lähellä arvoa 1, jolloin niiden luotettavuus on hyvä. SEP-arvot ovat alle vaaditun 0,3 ylärajan, jolloin tulos on hyväksytty. Korrelaatioiden arvot voidaan tulosten perusteella hyväksyä, koska ne ovat lähellä arvoa 1. Kalibroinnin jälkeen suoritettiin rinnakkaismittaukset vanhalla ja uudella menetelmällä, jotta voidaan varmistua uuden menetelmän toimivuudesta ja tarkkuudesta.

5.2 Rinnakkaismittaukset

Rinnakkaismittausten tulokset on esitetty taulukossa 2. Tulokset saatiin laskemalla jokaisen tutkittavan aineen pitoisuuden poikkeavuus titraustuloksista kaavan 5 mukaisesti. Tämä poikkeavuus voi olla joko negatiivinen tai positiivinen.

$$\text{Rikkihappo\% titraamalla} - \text{Rikkihapon \% NIR tulos} = \text{poikkeama \% (5)}$$

TAULUKKO 2. Vanhalla ja uudella menetelmällä mitattujen pitoisuuksien (%) tulokset verrattuna titraustuloksiin.

	Vanha menetelmä			Uusi menetelmä		
Näyte	H ₂ O	H ₂ SO ₄	HNO ₃	H ₂ O	H ₂ SO ₄	HNO ₃
1	0,05	0,90	-0,95	-0,08	0,79	-0,71
2	0,27	1,11	-1,38	0,10	0,82	-0,92
3	0,72	0,11	-0,83	0,26	0,27	-0,53
4	0,63	0,43	-1,06	0,12	0,45	-0,57
5	0,78	0,19	-0,97	0,15	0,06	-0,21
6	1,02	0,23	-1,25	0,40	0,27	-0,67
7	0,39	0,37	-0,76	-0,10	-0,02	0,12
8	0,79	0,46	-1,25	0,25	0,16	-0,41
9	0,78	0,08	-0,86	0,14	-0,11	-0,03
10	0,21	1,43	-1,64	0,18	0,89	-1,07
Keskiarvot	0,56	0,53	-1,11	0,14	0,36	-0,55

Keskiarvoista nähdään, että erotus on pienempi uuden menetelmän kohdalla. Typpihapon kohdalla erotus on negatiivinen, koska laite antaa typpihapolle pienempiä tuloksia kuin titraamalla. Vedelle ja rikkihapolle laite taas antaa isompia tuloksia kuin titraamalla. Joitakin poikkeamia on havaittavissa uudessa menetelmässä. Kaavalla 6 voidaan laskea kuinka monta prosenttia uuden menetelmän tulokset ovat vanhaa tulosta lähempänä titraustuloksia.

$$100\% - \left(\frac{\text{Vesi \% Uusi}}{\text{Vesi \% Vanha}} * 100\% \right) = \text{Erotus\%} \quad (6)$$

Sijoittamalla taulukon 2 keskiarvot kaavaan 6, voidaan laskea esimerkkilasku, jolla seuraavat tulokset on saatu.

$$100\% - \left(\frac{0,14}{0,56} * 100\% \right) = 75\%$$

Sijoittamalla keskiarvot kaavaan voitiin laskea, että vesi on 75%, rikkihappo 32% ja typpihappo 50% lähempänä titraustuloksia uudella menetelmällä verrattuna vanhaan menetelmään.

5.3 Korjauskerroin

Tulosten avulla ei saatu laskettua pysyvää korjauskerrointa. Näytteiden välillä on liian paljon eroavaisuutta, joten kaikille näytteille sopivaa kerrointa on mahdoton laskea. Korjauskerroin lasketaan noin kymmenen eri näytteen titraustulosten ja NIR tulosten keskiarvojen välisestä erotuksesta. Kun dataa on tarpeeksi, tasoittuvat eroavaisuudet ja kerroin voi olla mahdollista laskea. Eroavaisuudet voivat johtua nitraushappoon käytettävien rikki- ja typpihappo pitoisuuksissa.

6 JOHTOPÄÄTÖKSET JA YHTEENVETO

Tämän työn tavoitteena oli parantaa NIR-laitteistoin nitraushappoihin käytettävää analyysimenetelmää. Tarkoituksena oli uudelleen kalibroida laite, eli syöttää laitteelle uudet referenssispektrit ja luoda uusi menetelmä. Uusi kalibrointi onnistui, muttei toivotulla tarkkuudella. Työn tulosten perustella, voidaan todeta, ettei tarpeeksi tarkkaan analyysimenetelmään päästy, vaan tulokset eroavat silti huomattavasti titraustuloksista. Pienempi ero johtuu uudesta ja tarkemmasta kalibroinnista.

Sytä, ettei haluttuun lopputulokseen päästy, on todennäköisesti tuotannon happojen sakkaisuus ja epätasaisuus. Sakkaisuus johtuu siitä, että happoja kierrätetään tislaamalla takaisin tuotannon käyttöön ja täten ne voivat sisältää selluloosa jätettä edellisestä nitrauksesta. Tämän perusteella olisi syytä miettiä mahdollisesti happonäytteiden suodattamista ennen analysointia. Toisaalta suodatuksessa kestää aikaa, joten ajallinen etu pienenee verrattuna titraukseen. Myös uuden ja pysyvän korjauskertoimen laskeminen voisi ratkaista ongelman. Pysyvä korjauskerroin vaatisi paljon mittauksia, jotta siinä voitaisiin huomioida joidenkin näytteiden eroavaisuuden.

Työn tavoitteeseen voitaisiin päästä suorittamalla kalibrointi pitkällä aikavälillä, jotta kaikki mahdolliset satunnaismuuttujat, kuten sakkaisuus ja nitraushappoon käytettävien happojen pitoisuuspoikkeamat saataisiin huomioitua kalibroinneissa. Nitrochemie Wimmis tehtaalla suoritettussa testissä, on päästy oikeanlaisiin tuloksiin. NIR-laitteistolla saatiin parempi toistettavuus ja tarkkuus, kuin perinteisellä titrausmenetelmiä (Trenka, Vogelsanger & Müller 2014). Parempiin tuloksiin päästiin pidemmän aikavälin kalibroinnilla.

Jatkokehityksenä tulisi suorittaa lisää rinkaismittauksia. Toimeksiantajan mukaan voitaisiin vähitellen siirtyä käyttämään NIR-laitteistoa joka neljännen nitraushapponäytteen analysointiin. Nykyisin, vain joka toinen analysoidaan NIR:illä. Tämä toimenpide vähentäisi jo huomattavasti työkuormaa laboratoriossa.

Tutkimuksessa laitteen kunto ja mittausolosuhteet pysyivät vakioina. Laitteelle ei suoritettu huoltoja, eikä korjaustöitä kalibroinnin aikana. Mittausolosuhteet olivat samanlaiset koko työn aikana. Työ suoritettiin 30.4.2022-31.9.2022 välisenä aikana. Työn tuloksia voidaan pitää luotettavina. Toistettavuus oli hyvä ja tulokset olivat lähellä titraustuloksia, joita pidetään luotettavina. Korjauskerroin tarvittaisiin kuitenkin, jotta saadaan tulokset vastaamaan titraustuloksia.

Tämän työn aikana opin paljon nitraushapoista ja spektroskopiasta. Opin mahdollisuuksista hyödyntää NIR-laitteistoa muihin tutkimuksiin ja mittauksiin Vihtavuoren ruutitehtaalla. Tulevaisuudessa uusien nitraushappolaatujen analysointiin voidaan soveltaa olemassa olevaa menetelmää. Uusille analysoitaville näytteille on helppoa luoda kalibrointi ja menetelmä, tässä työssä opitun perusteella.

Lopuksi haluan kiittää Nammo Vihtavuori Oy:tä tästä mahdollisuudesta suorittaa tämä opinnäytetyö heidän toimipaikassaan ja mahdollisuudesta jatkaa työskentelyä yrityksessä.

LÄHTEET

A.M.C. Davies, 2022, An introduction to near infrared (NIR) spectroscopy, IMPublicationsOpen, Viitattu 10.10.2022

<https://www.impopen.com/introductionnear-infrared-nir-spectroscopy>

Anne Marie Helmenstine, Ph.D., 2022, Absorbance Definition in Chemistry, ThoughtCo, Viitattu 18.11.22 [https://www.thoughtco.com/definition-of-absorbance-](https://www.thoughtco.com/definition-of-absorbance-604351#:~:text=Absorbance%20is%20a%20measure%20of,spectroscopy%2C%20particularly%20for%20quantitative%20analysis.)

[604351#:~:text=Absorbance%20is%20a%20measure%20of,spectroscopy%2C%20particularly%20for%20quantitative%20analysis.](https://www.thoughtco.com/definition-of-absorbance-604351#:~:text=Absorbance%20is%20a%20measure%20of,spectroscopy%2C%20particularly%20for%20quantitative%20analysis.)

ATA Scientific, SPECTROMETRY AND SPECTROSCOPY: WHAT'S THE DIFFERENCE, 2020, ATA Scientific, Viitattu 14.1.2023

<https://www.atascientific.com.au/spectrometry/>

Bernand Lawlor, 2011, Near Infrared Spectroscopy In Off Line Biomass Monitoring Of Candida Utilis Cultures, Slideshare, Viitattu 8.1.2023

<https://www.slideshare.net/bengreenman/near-infrared-spectroscopy-in-off-linebiomass-monitoring-of-candida-utilis-cultures-9259332>

Collins, 2022, consistency, Viitattu 21.1.2023

<https://www.collinsdictionary.com/dictionary/english/consistency>

Edinburgh Instruments, 2022, Blog: The Beer-Lambert law, Viitattu 18.11.2022

<https://www.edinst.com/blog/the-beer-lambert-law/>

Elina Kestilä-Kekkonen, 2022, Kovarianssi ja korrelaatio, Tietoarkisto, Viitattu 29.12.2022

<https://www.fsd.tuni.fi/fi/palvelut/menetelmaopetus/kvanti/korrelaatio/korrelaatio/>

Eszter Trenka, Dr. Beat Vogelsanger, Marc Müller, 2014, Analysis of Nitrating Acid By Near Infrared Spectroscopy, Cranfield, Pdf-dokumentti, Viitattu 29.1.2023 [https://www.cranfield.ac.uk/-](https://www.cranfield.ac.uk/-/media/files/school_specific_documents/cds/05_eszter-trenka_analysis-of-nitrating-acids-by-near-infrare.ashx?la=en&hash=66F9339A2CCAE5807F8E630B8C9D1C276613FA33)

[/media/files/school_specific_documents/cds/05_eszter-trenka_analysis-of-nitrating-acids-by-near-infrare.ashx?la=en&hash=66F9339A2CCAE5807F8E630B8C9D1C276613FA33](https://www.cranfield.ac.uk/-/media/files/school_specific_documents/cds/05_eszter-trenka_analysis-of-nitrating-acids-by-near-infrare.ashx?la=en&hash=66F9339A2CCAE5807F8E630B8C9D1C276613FA33)

Gary L Bertrand, David Johns & Joel Guess, 2022, Dipole-Dipole Interactions, LibreTexts Chemistry, Viitattu 18.11.2022

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/Dipole-Dipole_Interactions](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Physical_Properties_of_Matter/Atomic_and_Molecular_Properties/Intermolecular_Forces/Specific_Interactions/Dipole-Dipole_Interactions)

Jaarinen, S., Niiranen, J. 2008. Laboratorion analyysitekniikka. 5.–6. painos. Helsinki: Edit Prima Oy.

James Ashenhurst, 2022, Electrophilic Aromatic Substitutions (2) – Nitration and Sulfonation, Master Organic Chemistry, Viitattu 5.11.2022
<https://www.masterorganicchemistry.com/2018/04/30/electrophilic-aromatic-substitutions-2-nitration-and-sulfonation/>

Jim Lucas, 2019, What is infrared, LiveScience, Viitattu 9.11.2022
<https://www.livescience.com/50260-infrared-radiation.html>

Kenneth Leung, 2022, Principal Component Regression — Clearly Explained and Implemented, TowardsDataScience, Viitattu 2.11.2022
<https://towardsdatascience.com/principal-component-regression-clearly-explained-and-implemented-608471530a2f>

Krzysztof B. Beć, Christian W. Huck, 2019, Breakthrough Potential in Near-Infrared Spectroscopy: Spectra Simulation. A Review of Recent Developments, Frontiers, Viitattu 20.9.2022
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2019.00048/full>

LibreTexts, Acid-Base Titrations, LibreTexts Chemistry, Viitattu 8.1.2023
https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Demos_Techniques_and_Experiments/General_Lab_Techniques/Titration/Acid-Base_Titrations

LibreTexts, Titration, LibreTexts Chemistry, Viitattu 8.1.2023
https://chem.libretexts.org/Ancillary_Materials/Demos_Techniques_and_Experiments/General_Lab_Techniques/Titration

Margaret Rouse, 2020, Fourier Transform, Techopedia, Viitattu 8.1.2023
<https://www.techopedia.com/definition/7292/fourier-transform>

Measurlab, 2023, NIR-Spektroskopia, Measurlab, Viitattu 29.1.2023
<https://measurlabs.com/fi/menetelmat/lahi-infrapunaspektroskopia-nir/>

Minitab, What is partial least squares regression?, 2022, Minitab, Support Minitab, Viitattu 18.11.2022 <https://support.minitab.com/en-us/minitab/21/help-and-howto/statistical-modeling/regression/supporting-topics/partial-least-squares-regression/what-is-partial-least-squares-regression/>

Nammo, 2022, Nammo AS, Viitattu 2.10.2022
<https://www.nammo.com/location/vihtavuori/>

NASA, 2016, Visible Light, National Aeronautics and Space Administration, Viitattu 9.11.2022 https://science.nasa.gov/ems/09_visiblelight

NIRFlex N-500, 2022, Büchi, Viitattu 20.9.2022
<https://www.buchi.com/en/products/instruments/nirflex-n-500>

NIRCal Quick Guide, Version A

NIRFlex, Operation Manual number 11593575 – 11593579

NIRWare, Quick Guide number 11593590 – 1159359

PubChem, Nitric acid, 2022, PubChem, National Library of Medicine, Viitattu 2.10.2022 https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nitric_acid

Richard Osibanjo, Rachael Curtis, Zijuan Lai, 2022, Infrared Spectroscopy, Libretext Chemistry, Viitattu 18.11.22
[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical and Theoretical Chemistry Textbook Maps/Supplemental Modules \(Physical and Theoretical Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational Spectroscopy/Infrared Spectroscopy/Infrared Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy)

Redsun, 2022, Infrared waves, Redsun, Viitattu 18.11.2022
<https://www.redsun.bg/en/infraredheating/infrared-heat-waves/>

Stanley E. Manahan, Cellulose, Libretext Chemistry, Viitattu 8.11.2022
[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Environmental Chemistry/Green Chemistry and the Ten Commandments of Sustainability \(Manahan\)/14%3A Feeding the Anthrosphere-Utilizing Renewable and Biological Materials/14.07%3A New Page](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Environmental_Chemistry/Green_Chemistry_and_the_Ten_Commandments_of_Sustainability_(Manahan)/14%3A_Feeding_the_Anthrosphere-Utilizing_Renewable_and_Biological_Materials/14.07%3A_New_Page)

Sourabh Mehta, 2022, A hands-on guide to principal component regression in Python, AIM, Viitattu 16.10.2022 <https://analyticsindiamag.com/a-hands-on-guide-to-principal-component-regression-in-python/>

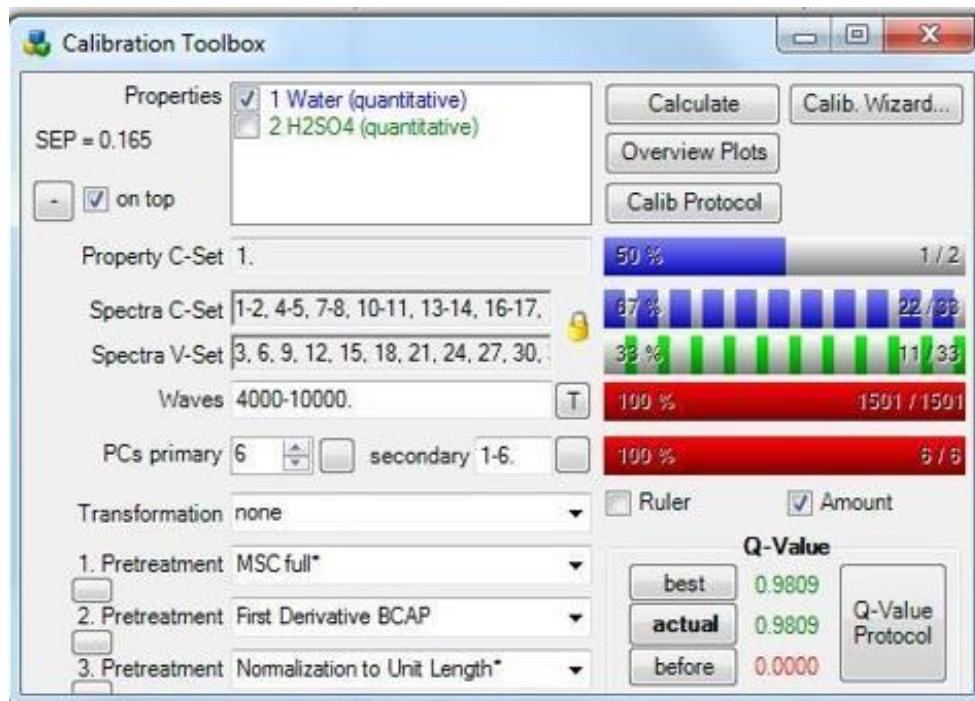
T. Urbanski, Chemistry and Technology of Explosives vol 2, 1965, sivut 371,375 Viitattu 16.10.2022

Víctor Duro, Raúl López, Yeud A. del Águila, Rafael Pardo, Luis M. Debán, 2022, Nitrocellulose Propellants Standard Stability Tests Enhancement Employing Semiconductor Sensors, Wiley Online Library, Viitattu 29.1.2022
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prep.202200086>

LIITTEET

LIITE 1

Veden SEP, Q-value, Pääkomponenttien määrä, kalibrointi ja validointi ryhmien valinnat



LIITE 2

Rikkihapon SEP, Q-value, Pääkomponenttien määrä, kalibrointi ja validointi ryhmien valinnat

