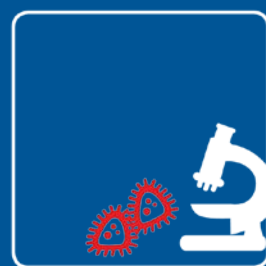


SLUTRAPPORT

NR. 2012-115

# PAT i mejeriindustrien



# PAT i mejeriindustrien

- Afslutningsrapport til Mejeribrugets Forskningsfond

## **Projektleder:**

Søren B. Engelsen, Københavns Universitet, Det Biovidenskabelige Fakultet, Institut for Fødevarevidenskab, Kvalitet & Teknologi, Spektroskopi og Kemometri  
Rolighedsvej 30, DK-1958 Frederiksberg C, Denmark  
se@life.ku.dk, tlf.: +45 3533 3205

## **Projektperiode:**

1. juni 2007 – 31. maj 2011.

## **Deltagere:**

Frans van den Berg, fb@life.ku.dk, +45 3533 3545, LIFE/UCPH (lektor)  
Christian Lyndgaard Hansen, chha@life.ku.dk, LIFE/UCPH (ph.d. studerende)  
Christian Bomholt Zachariasen, LIFE/UCPH (post doc)

## **Financiering:**

50% Mejeribrugets Forskningsfond  
50% Højteknologifonden

## Sammendrag

PAT står for Proces Analytisk Teknologi og dækker over metoder til at måle, styre og optimere processer gennem hurtige analysemetoder og multivariat dataanalyse også kaldet kemometri. Formålet med projektet har været at udvikle nye anvendelser inden for procesanalytisk teknologi samt at uddanne forskere og skabe netværk indenfor området. Projektet har budt på adskillige studier hvor sensorteknologi og kemometri (multivariat dataanalyse) er blevet anvendt til at optimere mejeriprocesser: online mælkeanalyse på mælkevognen, in-line overvågning af mælkekoagulering, ikke-destruktiv bestemmelse af valleudskillelse, optimering af on-line mælkestandardisering samt karakterisering af UF permeat-variation mellem mejerier. Dette arbejde har resulteret i udarbejdelse af en ph.d. afhandling, publicering af en række videnskabelige publikationer samt oplæg ved nationale og internationale møder og konferencer. Som en del af projektet er der blevet uddannet en ph.d. Endvidere har to post doc's deltaget i projektet. Endelig er der blevet etableret et samarbejde mellem den New zealandske mejerivirksomhed Fonterra og KU-LIFE.

Tre af metoderne udviklet i dette projekt gennemgås kort nedenfor:

**”Live” overvågning af mælkekoagulering** Ved ostefremstillingen er omfanget af mælkens koagulering en kritisk produktionsfaktor, der påvirker både osteudbytte og kvalitet. Hvis koagelet skæres med for lav fasthed (skæring for tidligt) reduceres osteudbyttet på grund af tab af snus (gelstykker) til den udskilte valle. Hvis gelen skæres med for høj fasthed (skæring for sent) hæmmes den efterfølgende valleudskillelse, som resulterer i ost med et højt vandindhold og uønskede sensorisk og teksturegenskaber. Det er imidlertid en udfordring at vurdere den optimale gelfasthed, idet fysisk håndtering ødelægger gelen. I et feasibility studie viste vi at hver af disse koaguleringsprocesser kan måles in-line (inde i ostetanken) med en nærinfrarød sensor med en målefrekvens på 30 sekunder. Det viste sig endvidere muligt, at man ud fra nærinfrarødmålingerne kan uddrage hastighedsparametre om koagulerings underprocesser, samt hvornår disse starter. Disse resultater åbner op for muligheden for at kunne bestemme det optimale skæringstidspunkt automatisk samt give alarm ved koaguleringer, der enten går for hurtigt eller langsomt i forhold til et defineret normalområde.

**Ikke-destruktiv måling af valleudskillelse** Procesbetingelser som temperatur, pH og skæringstid er kritiske for, hvordan valleudskillelsen forløber og har således betydning for vandindholdet og teksturen af det endelige osteprodukt. Det er dog særdeles udfordrende at måle, hvordan valleudskillelsen forløber, idet fysisk håndtering af ostemassen i sig selv giver anledning til yderligere valleudskillelse. Vi viste i et studie, at teknikken tidsdomæne NMR (TD-NMR) kan anvendes til at følge valleudskillelsen, mens processen er i gang. TD-NMR er en metode, der kan måle på en prøvevolumen ikke-destruktivt dvs. uden at påvirke prøven. Det var således muligt løbende at kvantificere valleudskillelsen samt betydningen af pH, temperatur og skæring på en måde, som ikke før har været mulig med eksisterende teknikker.

**Screening af UF permeat fra mælk** Mejeriproduktion genererer enorme mængder biprodukter såsom oste-valle og permeat fra UF-koncentrering af mælk. Gennem de sidste årtier har man imidlertid fundet ud af at anvende disse ressourcer effektivt til blandt andet proteinoprensning og iblanding under standardisering af mælk. En stor del af denne anvendelse fordrer dog, at biprodukter bliver fragtet fra mange forskellige mejerier til ét modtagermejeri, hvor de bliver anvendt. I et studie udført ved Fonterra Co-operative Group i New Zealand stillede man sig selv det spørgsmål, hvor meget biprodukterne varierer mellem forskellige mejerier, og om infrarød spektroskopi som en standard hurtigmetode (< 30 sekunder) kan måle eventuelle forskelle i sammensætning af mælkepermeat. IR spektroskopi og efterfølgende kemometrisk dataanalyse kunne meget præcist klassificere hvilket mejeri permeatet kom fra og efterfølgende vise at det var meget små forskelle i proteinsammensætningen samt andelen af total tørstof der adskilte de enkelte mejeriers permeate. Resultatet af dette studie viser, at det er muligt for en hurtig analysemetode som IR (< 30 sekunder) at screene indkomne biprodukter for dets oprindelse og eventuelle afvigende sammensætning.

## Summary

PAT stands for Process Analytical Technology and covers methods to measure, manage and optimize processes through rapid analytical methods and multivariate data analysis, also known as chemometrics. The project objectives have been to develop new applications in process analytical technology and to train researchers and create networks within the field. The project has resulted in investigations applying sensor technology and chemometrics for: on-line analysis of milk in the milk wagon, in-line monitoring of mælkekoagulering, non-destructive determination of whey separation, optimization of on-line milk standardization and characterization of UF permeate variation between dairies. This work has resulted in the preparation of a doctoral thesis, seven scientific publications and presentations at national and international meetings and conferences. Finally, there was established a collaboration between the New Zealand dairy company Fonterra and KU-LIFE.

Three of the methods developed in this project are reviewed briefly below:

**"Live" monitoring of milk coagulation** in cheese production, the extent and progress of milk coagulation is critical for both the cheese yield and quality. If the coagulum is cut with low firmness (cutting too early) cheese yield is reduced due to loss of fines (gel pieces) to the separated whey. If the gel cut with a high firmness (cutting too late) the subsequent whey separation is inhibited, resulting in cheese with a high water content and undesirable sensory properties and texture. However, it is challenging to assess the optimal gel firmness because physical handling affects the gel. Previous research has shown that the dispersion and absorption of near infrared light is very sensitive to the structural changes occurring during the milk coagulation process i.e. k-casein degradation, micelle clumping or gel network formation. In a feasibility study, we showed also that coagulation can be measured in-line (inside the cheese container) with a near infrared sensor with a measuring frequency of 30 seconds. It was also possible from the near infrared measurements to extract rate parameters for coagulation sub-processes, when they start and where they are going. These results open up the opportunity to determine the optimal cutting time automatically and give alarm when coagulation is either going too fast or slow relative to a defined normal range.

**Non-destructive measurement of whey separation** Process conditions such as temperature, pH and gel cutting time are critical as to how the whey separation proceed and thus affects the moisture content and texture of the final cheese product. However, it is extremely challenging to measure how the whey separation proceeds as the physical handling of the curd itself give rise to additional whey separation. We showed in a study that the technique time-domain NMR (TD-NMR) can be used to follow the whey separation, while the process is underway. TD-NMR is a method that can measure on a sample volume non-destructively. It made it possible to quantify whey separation and the importance of pH, temperature and cut in a way not previously.

**Screening of UF permeate from milk** During the last decades it has been common practice to use ultrafiltration permeate as a resource rather than a waste product. One common use is to mix UF permeate back in during the standardization of milk. A large part of this application requires, however, that products are shipped from multiple dairies to one recipient dairy where they are used. In a study conducted at Fonterra Co-operative Group in New Zealand, it was questioned how much the UF permeate vary between dairies. Infrared spectroscopy as a standard quick method (<30 seconds) was used to measure the difference in the composition of permeates. IR spectroscopy and subsequent chemometric data analysis could accurately classify which dairy permeate came from and then show that it was very small differences in protein composition and total solids that separated the individual dairies permeate. The results of this study show that it is possible for a rapid analysis method as IR (<30 seconds) to screen incoming bi-products of its origin and any aberrant composition.

## Projektets baggrund og formål

Dette forskningsprojekt har omhandlet udvikling af Process Analytical Chemistry og Technology (PACT) for mejeriindustrien samt at uddanne forskere og skabe netværk indenfor området. Mejeriprocesser er komplekse fordi der både er en stor variation i råmaterialer og fordi et utal af kontrollerbare og ukontrollerbare procesfaktorer indvirker på slutproduktet.

Den arbejdsmæssige og metodiske tilgang til projektet "Procesanalytisk teknologi (PAT) i mejeriindustrien" har været delvist at forstå de fundamentale biologiske mekanismer under mejeriprocesser, men hovedfokus har været at kunne *identificere, måle* og dernæst *kontrollere* de egenskaber under processen, der er afgørende for det endelige produkts kvalitet. Mejeriindustrien er nødsaget til at kontrollere og sikre sig at kvaliteten og sikkerheden af mellem- og slutprodukter møder veldefinerede specifikationer. En strategi for at opnå dette er at grundigt kontrollere kvaliteten af hver batch af det endelige produkt. Problemet med denne fremgangsmåde er, at hvis slutproduktet er uden for specifikationen kan dette ikke let blive korrigeret. En mere attraktiv strategi er derfor at analysere ikke blot processens input og output, men også at evaluere selve processen, mens den foregår. Fordelen ved en sådan tilgang er at relevante procesparametre kan styres løbende, mens processen foregår, hvilket opnår op for en hurtig påvisning og korrektion af processer der har bevæget sig uden for den ønskede optimale produktspecifikation. Dette gør det muligt at minimere specifikationsgrænserne med øget produktivitet og profit som følge.

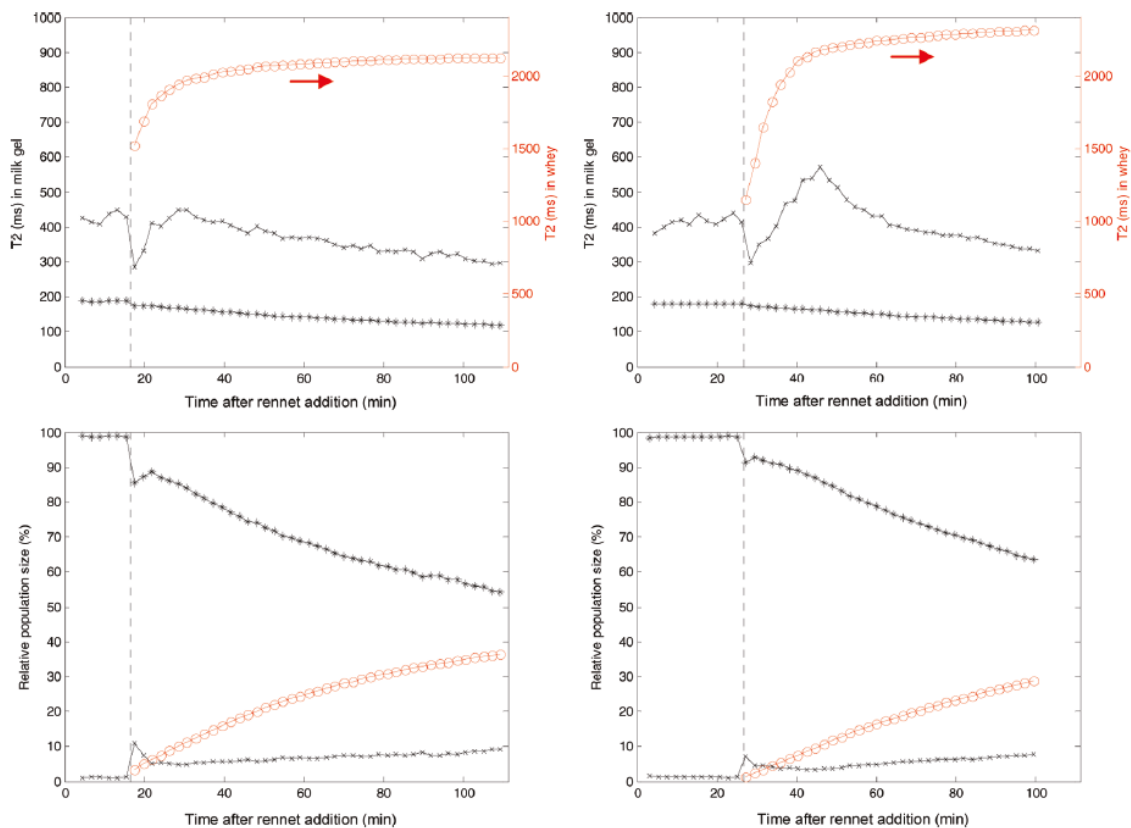
## Projektets undersøgelse og resultater

Projektets har som helhed søgt at undersøge hvordan hurtige spektroskopiske kan bruges som et redskab til at optimere fremstilling af mejeriprodukter eksemplificeret ved

- hurtig og ikke-destruktiv bestemmelse af valleudskillelse
- Karakterisering af UF permeat-variation mellem mejerier
- in-line overvågning af mælkekoagulering
- online mælkeanalyse på mælkevognen
- optimering af online mælkestandardisering

## Hurtig og ikke-destruktiv bestemmelse af valleudskillelse

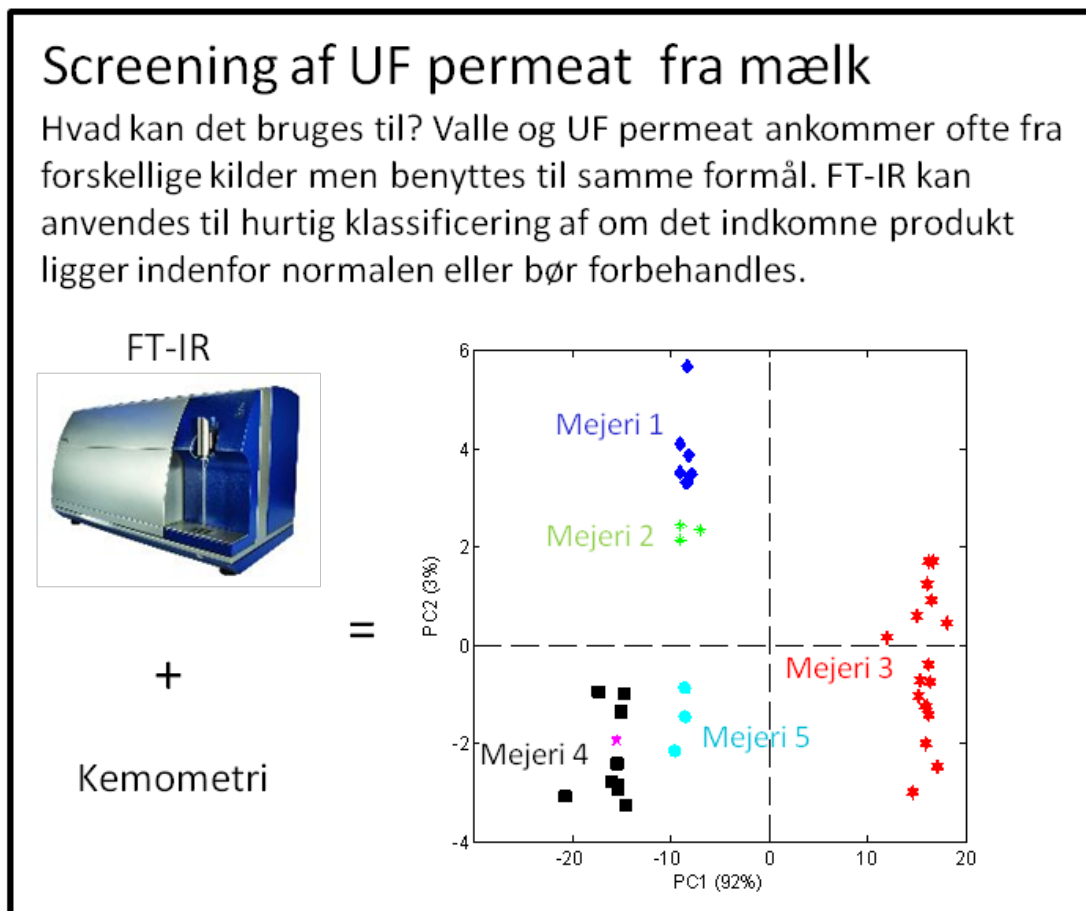
Styring af synrese, dvs valle udskillelsen fra koaguleret mælk, osteproducentens primære måde at kontrollere vandindholdet af ostemassen, hvilket igen påvirker ordningsprocessen og vandindhold den færdige ost. Derfor er dette procestrin er yderst vigtigt for den endelige udbytte og kvaliteten af osten. Det er imidlertid gennem mange års forskning og udvikling vist sig særdeles vanskeligt at måle synresen, fordi den fysiske håndtering af ostemasse i sig selv inducerer yderligere synerese. I artiklerne af **Hansen et al. (2010a,b)** demonstreres en metode udviklet i dette projekt til hvorved teknikken Time Domain Nuclear Magnetic resonans (TD-NMR) kan anvendes til at løbende at kvantificering af synresen (**Figur 1**). Med denne fremgangsmåde bliver der induceret synerese ved at skære koagelet inde i NMR-spektrometret, hvorefter vandet inde i osten og i vollen kunne kvantificeres samtidigt. Denne fremgangsmåde blev testet i en faktor-design for undersøge indflydelsen af mælken pH, temperatur, og koagel fasthed ved skæring på synerese udviklingen.



**Figur 1.** Development in transverse relaxation time constants  $T_{2,1}$ ,  $T_{2,2}$ , and  $T_{2,3}$  (upper row) and the corresponding relative population sizes  $f_1$ ,  $f_2$ , and  $f_3$  (lower row) during gel formation and syneresis of two experiments with different experimental settings. The left-column graphs show the development in an experiment with conditions pH 6.3, 34.9 °C, and low firmness at cutting. The right-column graphs show the development in an experiment with conditions pH 6.5, 34.9 °C, and low firmness at cutting. The vertical broken line indicates the time when the milk gel was cut.

## Karakterisering af UF permeat-variation mellem mejerier

Formålet med studiet beskrevet i artiklen fra **Hansen et al. (2010)** var at undersøge UF permeatets kompositionelle variation mellem seks mejerier, idet permeat fra netop de undersøgte mejerier blev anvendt til iblanding under mælkestandardisering på et syvende mejeri. Det var således vigtigt at vide hvor forskellig permeatet var afhængig af hvor det kom fra. Permeatets sammensætning blev analyseret med infrarød spektroskopi. De multivariate teknikker PCA og ECVA (blev brugt til at undersøge mellem-mejeri-variationen i permeat og data analyse teknikken ekstern faktor orthogonalisation blev anvendt til at fjerne information i sammensætningen IR-spektrene matematisk. I et større perspektiv kan den udviklede hurtigmetode anvendes til en generel hurtig klassificering af om indkomne produkter/råmaterialer ligger indenfor normalen eller først bør forbehandles.



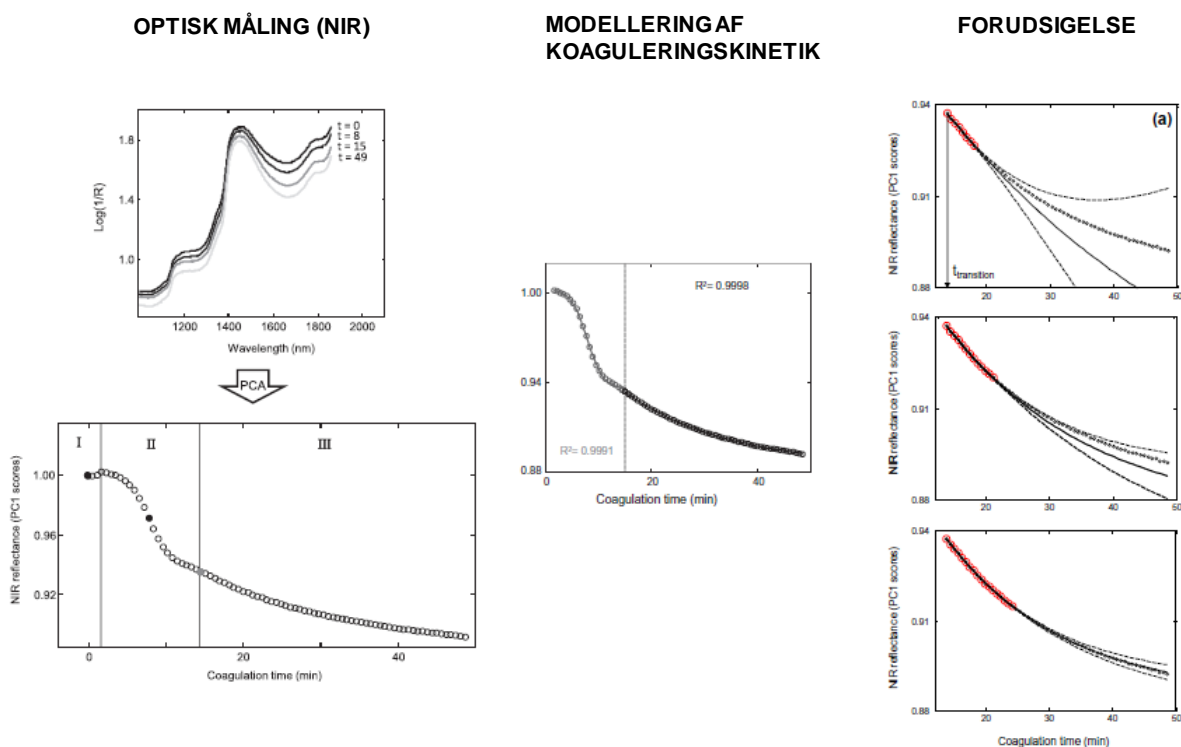
**Figur 2.** PCA score plot der viser hvordan man ud fra infrarød spektroskopi kan "fingerprinte" hvilket mejeri UF permeat kommer fra.

## in-line overvågning af mælkekoagulering

Mælkekoaguleringsstrinnet i osteproduktion ender med opskæring af koagelet i terninger. Skæring er den primære metode til separering af vand fra koagulum, idet opskæring øger overfladearealet og at selve skæretrykket inducerer synerese. Timing af skæringen af koagelet er imidlertid særdeles vigtig for processens videre forløb. Hvis koagelet er for svagt ved skæring vil det sprede en masse i små partikler (snus) ud i vallen, som vil blive tabt under den senere dræning. Modsat, hvis koagelet er for fast bliver valle udskillelsen inhiberet, hvilket resulterer i ost med for højt vandindhold. På nuværende tidspunkt det dominerende værktøj til rådighed for ostemejerist den såkaldte "knivtest", hvor koagel skærbarhed vurderes på basis af udseendet af lille test snit. Formålet med

Formålet med studiet beskrevet artiklerne fra **Lyndgaard et al. (2012)** og **Dahm et al. (2010)** var at undersøge om mælkekoaguleringen under osteproduktion med fordel kunne overvåges med near-infrarød spektroskopi for at opnå mere ens artede oste og kunne skride til handling ved fejl batche (hurtige eller langsomme koaguleringer).

Studiet viste at koaguleringsprocesser kan måles in-line (inde i ostetanken) med en nærinfrarød sensor med en målefrekvens på 30 sekunder (**Figur 3**). Det viste sig endvidere muligt, at man ud fra nærinfrarødmålingerne kan uddrage hastighedsparametre om koaguleringens underprocesser samt hvornår disse starter. Disse resultater åbner for muligheden for at kunne bestemme det optimal skæringstidspunkt automatisk samt give alarm ved koaguleringsprocesser, der enten går for hurtigt eller langsomt i forhold et defineret normalområde.

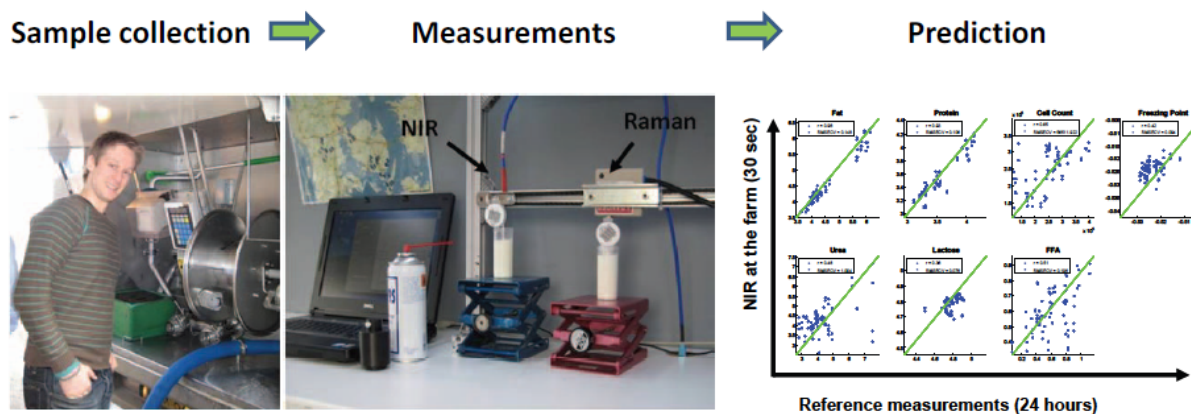


**Figur 3.** Overvågning af mælkekoagulering i osteproduktion med in-line near infrarød spektroskopi bestående af tre faser: 1) måling med optiske near infrarød probe 2) Modellering af tidsudviklingen under koagulering og 3) forudsigelse af koaguleringsforløbet med usikkerhedsangivelser.



## On-line mælkeanalyse på mælkevognen

Som et mindre projekt blev der testet hvorvidt det er muligt at bestemme mælkenes sammensætning ude på gården i stedet for at vente et døgn på et få svar fra referencelaboratorium. En near-infrarød måling på 30 sekunder viste at kunne give sammenlignelige prædiktionsperformance med referencen på fedt og protein, men ikke de andre sammensætningsparametre, som også bliver målt på referencelaboratoriet.



**Figur 4.** Måling af mælkenes sammensætning ude på gården. Prøver blev opsamlet fra mælkevognen, NIR og Raman måling blev udført ved gårdene, hvorefter syv forskellige parametre i mælken blev prædikeret.

## Konklusion

Formålet med projektets "PAT i mejeriindustrien" har været at undersøge potentialet i at anvende hurtige spektroskopiske metoder til at analysere og optimere mejeriprocesser. Derudover var projektets formål at kommunikere resultater ved conferenceoplæg, i videnskabelige- og populær videnskabelige artikler samt at uddanne forskere indenfor feltet.

Dette formål er til fulde lykkedes gennem mundtlig oplæg ved tre konferencer, publikation af seks videnskabelige publikationer, tre populærvidenskabelige publikationer samt en ph.d. afhandling. Det videnskabelige arbejde har forgået både i laboratoriet, men i høj grad også ved feltarbejde på mejerier gennem arbejde med on-line mælke standardisering og ultrafilteringsprojekt ved Fonterra i New Zealand samt mælkevognsprojektet ved Arla i Danmark.

## Publikationer og offentliggørelse i forbindelse med projektet:

### Artikler i internationale tidsskrifter

- Hansen CL, Åsmund R, Engelsen SB, Janhøj T, Anderson, U. van den Berg F, Effect of Gel Firmness at cutting, pH and Temperature on Rennet coagulation and Syneresis – An in situ <sup>1</sup>H NMR relaxation study, *J Agric. Food Chem.*, 2010, 58, 513-519.
- Hansen CL, van den Berg F, Rasmussen MA, Engelsen SB, Holroyd S, Detecting variation in ultrafiltrated milk permeates - Infrared spectroscopy signatures and external factor orthogonalization *Chemom and Intell. Lab. Syst.*, 2010, 104, 243-248.
- Dahm, D, Hansen CL, Hopkins, D., Norris, K., NIR discussion forum: analysis of coagulating milk, 2010, *NIR News 21(5)16-17*
- Hansen CL, Thybo AK, Bertram HC, Viereck N, van den berg F, and Engelsen SB, Determination of dry matter content in potato tubers by low-field NMR, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, 58, 10300–10304
- Hansen, C.L., van den Berg, F. and Engelsen, S.B. Using PARAFAC core-consistency to estimate the number of components in LF-NMR data - application to in-situ studies of mechanically induced gel syneresis in cheese production. In *Magnetic Resonance in Food Science*, Renou, J.P.; Webb, G. A.; Belton, P. S.; Rutledge, D. N., Eds.; The Royal Society of Chemistry: 2010
- Lyndgaard, CB, Engelsen SB, van den Berg F, Real-time modeling of milk coagulation using in-line near infrared spectroscopy, *J Food Eng.*, 2010, 108, 345–352

### Artikler i populærvidenskabelige eller fagtidsskrifter

- Hansen CL, Engelsen SB, van den Berg F, Proces Analytisk teknologi i mejeriindustrien, *Mælkeritidende*, 2008, 6, 128-130
- Lyndgaard, CB. Mejeriproduktion kan optimeres med sensorteknologi og kemometri, *Plus Proces*, 2011, 12, 24-26
- Lyndgaard, CB. PAT i mejeriindustrien – optimering af mejeriproduktion gennem sensorteknologi og kemometri. *Mælkeritidende*, 2011, 19, 6-7.

### Konference bidrag:

- Hansen CL afholdt en præsentation titlen “Multivariate Data Analysis of Time-Domain NMR data of Dynamic Food Systems” ved konferencen: Conferentia Chemometrica 2009, Siófok, Ungarn.
- Hansen CL afholdte et præsentation med titlen “Spectroscopic Process Monitoring in Cheese Manufacturing” ved konferencen: International Forum for Process Analytical Chemistry (IFPAC) 2010, Baltimore, USA.
- Hansen CL gav en præsentation med titlen “Data analyse af dynamiske systemer i mejeriprocesser” ved konferencen: Dansk selskab for kemometri, 2008, Nyborg, Danmark.
- Hansen CL deltog med poster præsentation med titlen ”A Process Analytical Approach to cheese production” ved konferencen: EUPAT2, 2008, København, Danmark.

### Studenteropgaver

- Lau Gerlach: Bachelor project – Prædiktion af melamin indhold I mælk, 2009

### **Forskeruddannelse:**

Phd studerende: Christian Bøge Lyndgaard (tidligere Christian Lyndgaard Hansen ) blev phd den 9. December 2010.

### **Nationale og internationale samarbejdsrelationer**

#### **Der er etableret følgende nye kontakter i perioden:**

- PAT-gruppen, Fonterra Co-operative Group Limited, Palmerston North, New Zealand
- ThermoFisher gennem udlånt NIR proces instrument