



DET TEKNISK-NATURVITENSKAPELIGE FAKULTET

## MASTEROPPGAVE

Studieprogram/spesialisering:  Biologisk kjemi - masterstudium i biologisk kjemi	Vårsemesteret, 2019  Konfidensiell
Forfatter: Marit Cecilie Værland	..... (signatur forfatter)
Fagkoordinator: Kåre Bredeli Jørgensen  Veiledere: Kåre Bredeli Jørgensen, Thomas Gitlesen	
Tittel på masteroppgaven: MikroCT anvendelse for å evaluere porestruktur, porevolum og poredistribusjon i laksefôr.  Engelsk tittel: MicroCT application for evaluating of pore structure, pore volum and pore distribution on salmon feed.	
Studiepoeng: 60	
Emneord:  Pellets fysiske kvalitet Bruker SkyScan MikroCT Applikasjon Porevolum Åpnede/lukkede porer Poredistribusjon	Sidetall: 60  + vedlegg/annet: 24  Stavanger, 13.06.2019 dato/år

MikroCT anvendelse for å evaluere porestruktur, porevolum og poredistribusjon i laksefôr.



Marit Cecilie Værland, 20376

## FORORD

---

Denne masteroppgaven er utført ved Universitetet i Stavanger, for Cargill Innovation Center (CiC), Dirdal, under veiledning av førsteamanuensis Kåre Bredeli Jørgensen ved UiS og Thomas Gitlesen ved Cargill Innovation Center. Jeg vil gjerne rette en stor takk til de begge for god veiledning og for at dere alltid har vært behjelpelige da jeg hadde spørsmål eller trengte hjelp. Jeg har lært veldig mye dette året takket være dere.

Jeg vil rette en stor takk til Cargill som har lagt til rette for meg muligheten til å kunne kombinere jobb og masteroppgave dette året.

Jeg vil også takke mine gode kollegaer Karl Østerhus, Peter Rugroden, Dag Torsvik, Kenth Ove Narten og Kristine Fjermestad for deres støtte og ekspertise.

Takk til min svoger Martin G. Skjæveland som har vært til stor nytte med sine dataferdigheter.

Sist men ikke minst vil jeg takke min ektemann Erlend og mine barn for deres tålmodighet og forståelse denne perioden.

# Innholdsfortegnelse

---

Forord.....	ii
Forkortelser .....	v
Sammendrag .....	vi
1 Innledning.....	1
2 Teori.....	2
2.1 Pelletens fysiske kvalitet .....	2
2.1.1 Produksjon av pellet .....	2
2.1.2 Optimal pellet.....	4
2.1.3 Porenes egenskaper .....	5
2.2 Microcomputed tomography (MicroCT) .....	6
2.2.1 Definisjon av porøsitet i CTAn .....	9
2.2.2 Rekonstruksjon i MikroCT .....	9
2.2.3 Optisk akse .....	10
2.2.4 Bakgrunn normalisering (Flat field korreksjon).....	10
2.3 Oversikt over skanningsparametere: .....	10
2.3.1 Tilstrekkelig oppløsning .....	11
2.3.2 Korrigerende filter .....	11
2.3.3 Rotasjonssteg .....	12
2.3.4 Gjennomsnittsmålinger (Frame averaging).....	12
2.3.5 180° eller 360° rotasjon.....	12
2.3.6 Artefakter .....	12
2.3.7 Beam hardening .....	13
2.3.8 Justering /alignment.....	14
2.4 analyser for å måle pelletens fysiske kvalitet.....	15
2.4.1 Holmen Durabilitets tester .....	15
2.4.2 Vannstabilitet .....	15
2.4.3 Stable Micro System .....	16
2.4.4 Rapid Visco Analyser .....	18
2.4.5 Low Field Nuclear Magnetic Resonance.....	18
2.5 Statistiske metoder for å bearbeide analyseresultatene .....	19
2.5.1 Prinsipal komponent analyse PCA og Partial Least Squares regression PLS-R.....	19
2.5.2 Statistiske begreper.....	20
3 Matreial og metoder .....	23
3.1 kjemiske analyser for referanse resultat.....	23

3.1.1	HOLMEN tester.....	23
3.1.2	Vannstabilitet 1, standard metode.....	23
3.1.3	Vannstabilitet 2, alternativ metode .....	24
3.1.4	Tekstur analyse: Stabile Micro System.....	24
3.1.5	Rapid Visco Analyzer .....	24
3.1.6	Low Field Nuclear Magnetic Resonance.....	24
3.1.7	Fett lekkasje.....	25
3.1.8	Bestemmelse av volumvekt.....	25
3.2	MikroCT analyse .....	25
4	Resultat og diskusjon.....	26
4.1	Oppsett av røntgen mikro-tomografi (MikroCT) for skanning av pellet .....	26
4.1.1	Generell justering av instrumentet .....	26
4.1.2	Prøveholder utvikling .....	27
4.1.3	Skanningsparametere og prosedyre .....	29
4.1.4	Bilderekonstruksjon.....	32
4.1.5	Strukturanalyse av pellet.....	38
4.2	Pelletenes porestruktur.....	40
4.3	Korrelasjoner mellom MikroCT kalkuleringer og måldata .....	41
4.3.1	Repeterbarhet og prøveoppbevaring.....	43
4.3.2	Oversikt over korrelasjon mellom resultatene.....	45
4.4	Modellerer med kun de mest signifikante kjemiske parameterne .....	46
4.4.1	Korrelasjon mellom signifikante kjemiske parameterne og alle CT parameterne .....	46
4.4.2	Korrelasjoner mellom signifikante CT parameterne og kjemiske parameterne .....	48
4.4.3	Vannstabilitet 2, alternativ metode .....	49
4.4.4	Multivariat analyse – Partial least square regression (PLS-R) .....	50
4.4.5	Diskusjon om modellenes korrelasjon mellom CT data og kjemiske måldata .....	51
4.5	Validering av modellene.....	53
4.5.1	Multivariable dataanalyser.....	53
4.5.2	Univariable dataanalyser.....	54
5	Konklusjon .....	56
6	Referanser .....	57
	Vedleggsliste.....	61

## FORKORTELSER

---

CTAn: CT-analyser

CTVol: CT-Volume

CV: Coefficient of variation

DHA: Docosahexaenoic acid

EPA: Eicosapentaenoic acid

FF: Flat field

FOI: Field of view

LF NMR: Low Field Nuclear Magnetic Resonance

MikroCT: Microcomputed tomography

MSE: Mean square error

NA: No answer

PC: Prinsipal komponent

PCA: Prinsipal komponent analyse

PLS-R: Partial least squares regression

PPQ: Pelletens fysiske kvalitet

RMSED: Root mean square error of deviation

RMSEP: Root mean square error of prediction

ROI: Region of interest

RVA: Rapid viscosity analyser

SMS: Stabile Micro System

VOI: Volume of interest

## SAMMENDRAG

---

Pelleterers fysiske kvalitet analyseres med typiske analysemetoder som vannstabilitet, fettlekkasje, hardhet, elastisitet, durabilitet, viskositet med mer, men disse analysene gir ikke tilstrekkelig informasjon om porestruktur og porefordeling. MikroCT går dypere inn i pelleten enn konvensjonelle bildeteknikker som lysmikroskop og elektron mikroskop, ettersom disse kun viser pelletenes overflatestruktur.

MikroCT er en tredimensjonal bildeteknikk som benytter en serie røntgenstråler gjennom et roterende objekt for å produsere et bilde basert på ulikheter i tetthet. Denne metoden gir inngående informasjon om pelletens struktur og porer. Ved å sette opp korrekte skanningsparametere kan mikroCT gi detaljert beskrivelse av porestørrelse, porefordeling, luftfylte og oljefylte porer samt skille mellom åpne og lukkede porer.

Med Bruker SkyScan 1275 MikroCT ble det skannet 50 pelletparti med laksefôr, med 4 replikasjoner fra hvert parti. Bildeanalyse av pelletene ble sammenlignet med referanseverdier fra andre kjemiske analyser for å finne sammenheng mellom porestruktur og fysiske parametere.

Det ble laget to modeller, en modell med alle 43 CT parameterne og en modell med kun de syv mest signifikante CT parameterne. Resultatet viser at lite informasjon går tapt ved ta bort CT parameterne som ikke inneholder relevant informasjon eller som er sterkt positiv korrelerte med hverandre og dermed gir samme informasjon.

Resultatene viser at porestruktur og volum påvirker pelleters fysiske kvalitet i stor grad, spesielt for fettinnhold, fettlekkasje, durabilitet og volumvekt, med en forklart varians over 0,8. Det er derfor mulig å lage en god, valid modell fra mikroCT data, med forklaringsverdi over 85% for fettinnhold, fettlekkasje, volumvekt og durabilitet.

Fettinnhold og fettlekkasje korrelerer best med pelletens porestruktur. Volumvekt og durabilitet predikeres best med kalkuleringer av porene i overflaten og porevegtykkelse. For hardhet og elastisitet gir pelleters porekonnektivitet best korrelasjon.

Modellene som ble laget kunne bare delvis forklare vannstabilitet, hardhet og elastisitet, med en forklart varians under 0,5. Ettersom vannstabilitet, elastisitet og hardhet er signifikante for pelleters fysiske kvalitet, kan ikke mikroCT data alene forklare alle aspekter ved pelleters fysiske kvalitet.

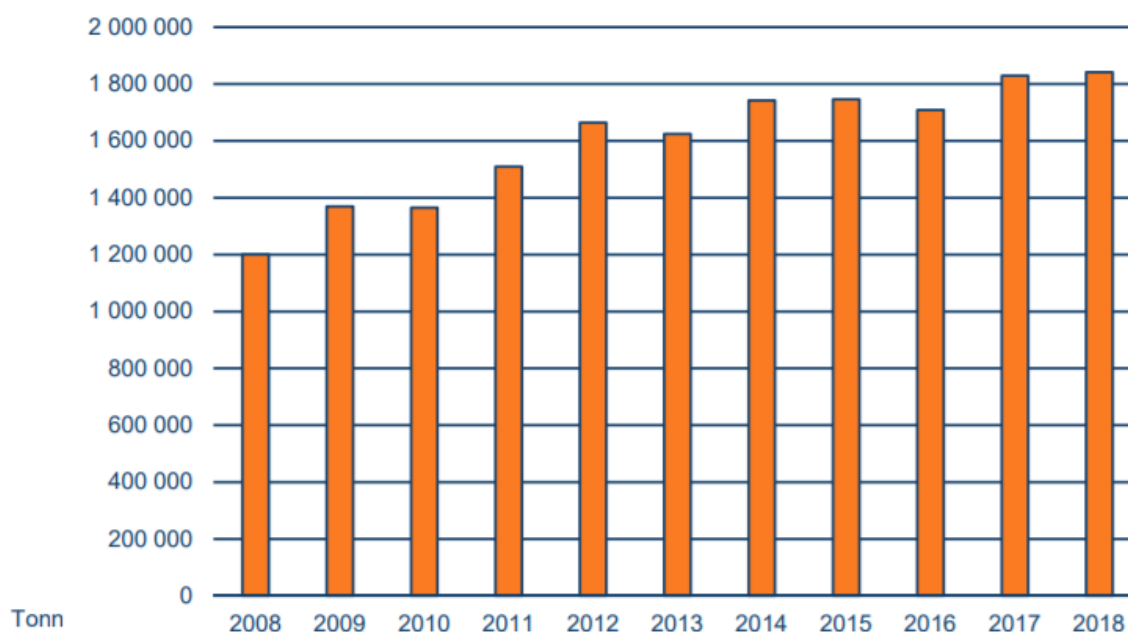
# 1 INNLEDNING

Fiskeri har i alle tider vært en viktig og bærekraftig næring i Norge. De første klekkeriene i Norge ble bygd i pioner fasen i 1850-årene for å styrke bestandene tilknyttet viktige ferskvannsfiskerier. Men først i gjennombrudds- og vekstfasen i 1970 årene oppstod norsk fiskeoppdrett. Norge har svært gode forutsetninger for havbasert oppdrett, gjennom en lang kyst med skjermede arealer som i tillegg til gode temperatur- og strømforhold åpnet et enormt ekspansjonsrom. I oppbyggingsfasen ble laksen viktigst. Den var lettere å markedsføre, ga bedre pris og gjorde dermed næringen mer robust økonomisk (Kolle, 2014).

Oppdretts næringen har utviklet seg de siste 20 årene til å bli et svært lønnsomt foretak og Norge er nå verdens største produsent og eksportør av oppdrettslaks (Hallenstvedt, 2015).

Sjømat (inkludert oppdrett) er Norges nest største eksportnæring, etter olje og gass. Spesielt oppdrettsnæringen har vokst raskt de siste årene, hvorav fersk oppdrettslaks er det største eksportproduktet innen sjømat. Eksportverdien av fisk steg med 3,5 prosent fra 2016 og endte på 92,3 milliarder kroner i 2017 (Statistisk sentralbyrå, 2018).

Salg av laks fra Norge kom på 1 281 872 tonn i 2018, samtidig som det ble omsatt 1 841 391 tonn fôr (figur 1-1). Dette oppgitte fôrforbruket inkluderer alle typer akvakulturproduksjon. Fôrforbruket har økt med 53% de siste 10 årene (Fiskeridirektoratet, 2019).



figur 1-1 Omsetning av fôr 2008-2018 (Fiskeridirektoratet, 2019)

Rundt 70% av verden er dekket av vann, noe som gjør fiskeoppdrett til en viktig kilde for å møte det fremtidige behovet for næringsrik mat til verdens befolkning. Verdensbanken har estimert at i 2030 vil 62% av all sjømat som blir konsumert stamme fra oppdrett (Verdensbanken, 2013). Her har norsk oppdrett en nøkkelrolle innen akvakultur produksjon. Den teknologiske utviklingen innen akvakultur er derfor et svært aktuelt tema både nasjonalt og globalt.



Globalt sett er produksjon av næringsrik mat en nødvendighet for å mette en stadig økende befolkning. Det er blitt estimert at i 2050 vil det sannsynligvis være 9 milliarder mennesker på jorda. Utfordringen for verden er å produsere nok mat og samtidig redusere matsvinn, i tillegg til å utnytte ressursene i naturen på en mest mulig hensiktsmessig måte. Derfor er oppdrettsnæringen interessert i å produsere mest mulig fisk med bruk av minst mulig fiskefôr for å oppnå et bærekraftig oppdrett (Verdensbanken, 2013). Det er i tillegg ønskelig å øke produksjon av fiskefôr uten å måtte øke produksjon av kritiske råvarer som blir benyttet i fiskefôr, samtidig klare å opprettholde de gunstige helsefordelene det skal være i fisk, slik som DHA, EPA og omega 3 fettsyrer. Dette medfører et nødvendig behov for forskning rundt laksepellets struktur for å oppnå tilfredsstillende fysisk kvalitet på pelleter.

Denne oppgaven ble skrevet for Cargill Innovation Center (CiC) i Dirdal gjennom Universitet i Stavanger (UiS) for å finne en effektiv målemetode for pellets porestruktur, og for å oppnå en dypere innsikt i målemetodene som allerede benyttes for analyse av pellets fysiske kvalitet.

## 2 TEORI

---

### 2.1 PELLETENS FYSISKE KVALITET

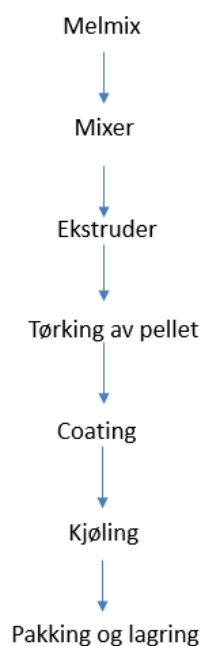
Det er flere parametere som sammen avgjør pelletens fysiske kvalitet (figur 2-3). Pelletens fysiske kvalitet (PPQ) er en svært viktig parameter i både fiskeoppdrettsnæringen og i fiskefôr industrien. Dårlig kvalitet på pellet kan medføre store økonomiske kostnader, vannkvaliteten kan påvirkes i negativ retning ved at pelleten smuldrer i vannet, eller at pelleten lekker olje og fører til at fisken ikke får nok næring. For å oppnå best mulig kvalitet på pellet er det derfor viktig å øke pelletens styrke, oppnå optimal synketid og samtidig redusere oljelekkasje (Salas-Bringas, Plassen, Lekang, & Schüller, 2007). Synketiden er viktig fordi pelleten ikke blir spist dersom den flyter på vannoverflaten, samtidig kan den ikke synke så raskt ned i vannet at den unngår å bli spist (V. Draganovic, 2013, s. 10).

Under transport påvirkes pelleten av dynamiske krefter og under lagring vil pelleten påvirkes av statiske krefter. Begge kreftene forårsaker fragmentering og slitasje på pelletene. Fragmentering av pelleten innebærer fraksjonering av pellet til små partikler. Slitasje forårsaker fraksjonering på overflaten og kantene, og gjør pelleten avslipt slik at det dannes partikkelstøv. Pelleten bør være slitesterk (ha høy durabilitet), forbli hel, med minimal fragmentering og slitasje for å hindre støvdannelse når pelleten skal i fôringsanleggene. Dette er spesielt viktig for laksefôr fordi fôringsystemet i oppdrettsanleggene for laks er basert på pneumatisk transport som medfører slitasje.

#### 2.1.1 Produksjon av pellet

Ekstrudert fôr er en porøs matriks av stivelse og protein, fylt med flytende olje.

Produksjonsbetingelsene er viktige for å oppnå god fysisk kvalitet. Som figur 2-3 viser, er pelletens fysiske kvalitet avhengig av korrekt formulering og ekstruderingsbetingelser.



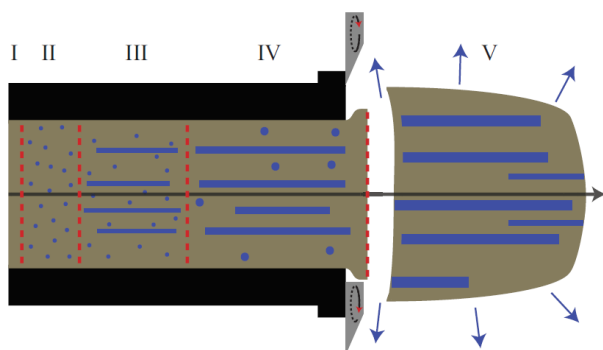
figur 2-1 Oversikt over de ulike stegene i produksjon av pellet, fra råvare og melmix til ferdig pellet.

Ulike råvarer reagerer ulikt med høye temperaturer og vanninnhold i ekstruderingsprosessen fordi ulike råvarer har ulike fysiske og kjemiske egenskaper avhengig av deres kultivar, opprinnelse og prosesshistorikk.

Melmix inneholder råvarer, protein, stivelse og gluten (figur 2-1). Denne blandingen males opp i en mølle for å få jevn partikkelstørrelse og deretter ført til en mixer for å blande massen med vann (figur 2-1).

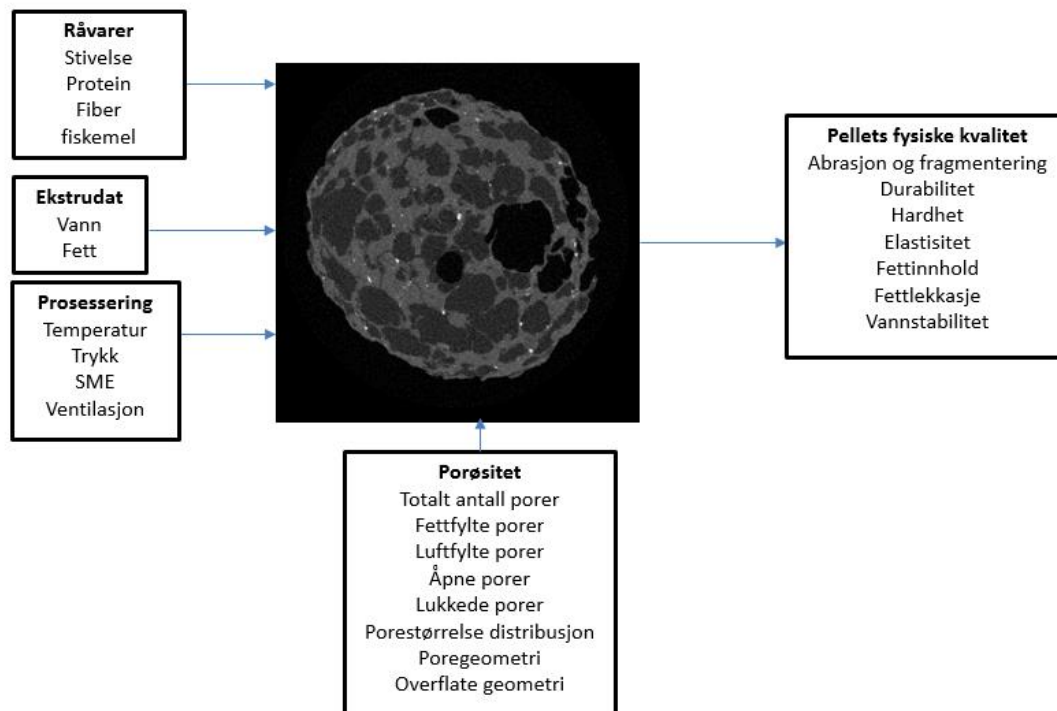
Ekstrudatet blir prosessert gjennom ekstruderen med enten en enkel eller dobbel skruer. I ekstruderingsprosessen tilføres varme, vann og mekanisk energi som får proteinene og stivelsen i melmixen til å smelte og struktur og egenskaper endres (figur 2-3).

Porene dannes av termisk ekspansjon i ekstruderingsprosessen ved at et overtrykk bygges opp inni ekstruderingsrøret. Selv om temperaturen stiger over 100°C vil det ikke oppstå damp inni røret. Først når ekstrudatet forlater dysen vil vannet fordampe og ekspandere, og det dannes porer i pelleten (Figur 2-2). Den porøse strukturen gjør det mulig for pelleten å absorbere fett/olje under coating (Dethlefsen, 2017, s. 14).



Figur 2-2 Transformasjonen av ekstrudat til pellet. Blått er vanddamp som oppstår i pelleten, ekspanderer og danner porer. Rød farge viser hvor knivene (grå farge) kutter ekstrudatet til pellet straks det forlater dysen (Dethlefsen, 2017, s. 14).

Når pelleten forlater ekstruderen er den myk med høy elastisitet, men etter hvert som den tørker, kjøles ned og hardner til, mister den sin elastisitet og fleksibilitet og må tåle en rekke fysiske krav i forbindelse med transport, lagring og håndtering av fôret i fabrikkene (Dethlefsen, 2017, s. 14).



figur 2-3 Oversikt over viktige parametere for å bestemme pelletens fysiske kvalitet.

### 2.1.2 Optimal pellet

Pellets evne til å motstå støt og slitasje avhenger av flere faktorer:

Råvaresammensetningen i pelleten.

Ulike råvarer gir ekstrudatet ulik viskositet, hvorav ekstrudat med høy viskositet må fortynnes med vann for å oppnå akseptabel viskositet under ekstruderingsprosessen (V. Draganovic, 2013 s. 10). I ekstruderingsprosessen migrerer makromolekyler fra råvarene på tvers av partiklene. Når råvarene berører hverandre dannes en bro-lignende struktur mellom deres overflater. Disse broene vil stivne under tørkeprosessen og blir til sterke permanente bindinger, derfor har råvaresammensetningen en stor betydning for pelleten (Pietsch, 1997).

Likeformede porestørrelser og distribusjon.

Pelletens resistans mot stress er større dersom porene er jevnt fordelt og like i konsistens, størrelse og tetthet (Pietsch, 1997).

Antallet og størrelsen på brister inni pelleten.

Brister inni pellet er det første som knekker sammen under stress. I fiskepellet kommer brister stort sett fra store råvarepartikler, store porer eller hulrom på overflaten av pelleten (Pietsch, 1997).

### 2.1.3 Porenes egenskaper

Porøsitet er et mål over hulrommene i pelletens material. Hulrommene kan enten være lukkede og ugjennomtrengelige (lukkede porer), eller åpne. Åpne porer kan være forbundet til andre porer og nå pelletens ytre flate (Lawrence & Jiang, 2017). Porer er enkle å definere, men vanskelige å kvantifisere på grunn av kompleks porestruktur og porestørrelse (Lawrence & Jiang, 2017). Poreegenskapene er en av hovedindikatorerne for pelletens fysiske kvalitet for å kunne vurdere kvalitet og råvareegenskaper i pellet.

Porenes egenskaper som porestørrelse, poreform, poredistribusjon, poretetthet, oljeinnhold i porene, tykkelse på cellevegg og pelletens overflate påvirker både den fysiske og mekaniske karakteristikkene av det ferdige fôret. Porenes forbindelse med hverandre er viktig for pelletens fysiske kvalitet ettersom lange kontinuerlige kanaler fører til økt fettopptak i pelleten og er derfor å foretrekke. Samtidig er porenes tetthet avgjørende for absorpsjon av olje og synketiden (V. Draganovic, van der Goot, Boom, & Jonkers, 2013).

#### Fettlekkasje

Fett i fiskepellet består av vegetabiliske oljer og fiskeolje. Det blir et stadig økende krav om økt fettinnhold i fiskepellet, og i fremtiden kommer det til å forventes at en fiskepellet har et oljeinnhold på 40% for å oppnå forventet kvalitet (Dethlefsen, 2017, s ix). I dag varierer fettinnholdet i kommersielt laksefôr fra 22% til over 39% i pelleter med høy energi. Det høye fettinnholdet i pelleter forårsaker problemer ved at fett og olje lekker ut fra pelleten og forårsaker både alvorlige kvalitetsproblemer i fiskefôret samt forurensing i vannet. Lekkasje er derfor et svært stort problem i oppdrettsnæringen og gjør det nødvendig å kunne forhindre fettlekkasje fra pellet.

Porenes viktigste oppgave er å gjøre det mulig å impregnere pelleten med fett. I en optimal porestruktur skal porene være store nok til å tillate at fett kan trenge inn i strukturen, men store og åpne porer har mer oljelekkasje enn små, derfor må porene være små nok til å hindre oljelekkasje under lagring og oppbevaring (V. Draganovic, 2013, s. 10). Fragmentering av pellet sammen med fett fra lekkasje danner en seig masse som blokkerer transporten i fôringsanlegget til oppdrettsanlegg og medfører reklamasjoner.

Flere av de varmesensitive ingrediensene som vitaminer, aminosyrer, enzymer og probiotika er tilsatt i fettene. (Sanguansri mfl., 2016). I tillegg er essensielle fettsyrer som blant annet DHA, EPA, omega 3 og omega 6 tilsatt i fettene. Den mengden fett som kreves i høyenergi fôr kan ikke tilsettes i ekstruderingsprosessen, da det ville gitt pelletmassen en grøtetes konsistens som det ikke ville vært mulig å lage pelleter av. I tillegg ville de varmesensitive næringsstoffene gått tapt under produksjonen av fiskepelleten, derfor blir fettene tilsatt i pelleten under coating (Dethlefsen, 2017, s. 19). Fettlekkasje medfører svinn av fett som fisken trenger samt næringsstoffer som multivitamin, proteiner og essensielle fettsyrer tilsatt fiskeoljen og er derfor svært problematisk for oppdrettsbransjen.

#### Pelletens volumvekt

Volumvekten til pellet blir veid og notert før pelleten blir tilsatt fett, etter ekstrudering og tørking. Volumvekten er et mål for totalt porevolum og avgjør mengden olje en pellet kan absorbere. Ved høy volumvekt er pelleten kompakt med få porer og lite fett kan trekke inn i pelleten. En pellet med lav volumvekt kan derimot trekke inn mye olje som følge av flere og større porer. Derfor spiller porene en viktig rolle for inntak av fett. Pelleter som har flere luftfylte porer har lav volumvekt og kan ha lavere tetthet enn vann. Pelleten risikerer å forbli flytende på vannoverflaten, og utgjør et stort

problem for oppdrettsanlegget. Hovedgrunnen til dette er at pelleten ikke blir spist dersom den flyter på vannoverflaten. Samtidig skal ikke pelleten ha så høy volumvekt at den blir så kompakt og lite porøs at den synker for raskt ned i vannet og unngår å bli spist av laksen (V. Draganovic, 2013). Volumvekten har derfor stor påvirkning på en pellets synketid. For høy eller lav synketid gir både økonomiske og miljø problemer. Pelletens form og fuktningsevne er også viktig for dens flyte og synketid. Pelletens flyteegenskaper avhenger i tillegg av andre faktorer som vannets overflatespenning og vannets salinitet (ytre faktorer).

## 2.2 MICROCOMPUTED TOMOGRAPHY (MICROCT)

Evaluering av mikrostrukturelle parametere i pellet er av stor betydning for både fiskefôr og fiskeoppdrettsindustri. Det er utviklet flere teknikker for å kunne måle mikrostrukturelle parametere i en pellet. For eksempel 2D teknikker som optisk lys mikroskopi (OM), sveipelektronmikroskopet (SEM), Feltemisjonsmikroskopi (FEM), Transmisjonselektronmikroskopet (TEM) og 3D teknikker som nukleær magnetisk resonans (NMR), atomkraftmikroskop (eng. atomic force microscope, AFM) og røntgen tomografi. Ulempen med å benytte disse metodene er prøveopparbeidelsesmetoden. For å kunne studere pelletenes indre porestruktur må pelleten kuttes, noe som påvirker både struktur og porer.

I denne oppgaven ser jeg på mikro-computertomografi (mikroCT) som et verktøy som kan gi informasjon om mikrostrukturelle parametere i pellet fra kjerne til overflate, uten å ødelegge pelleten (figur 2-4). Ettersom denne teknikken ikke ødelegger prøven har MicroCT en økende popularitet for avanserte studier av biologiske, farmasøytiske og geologiske materialer.

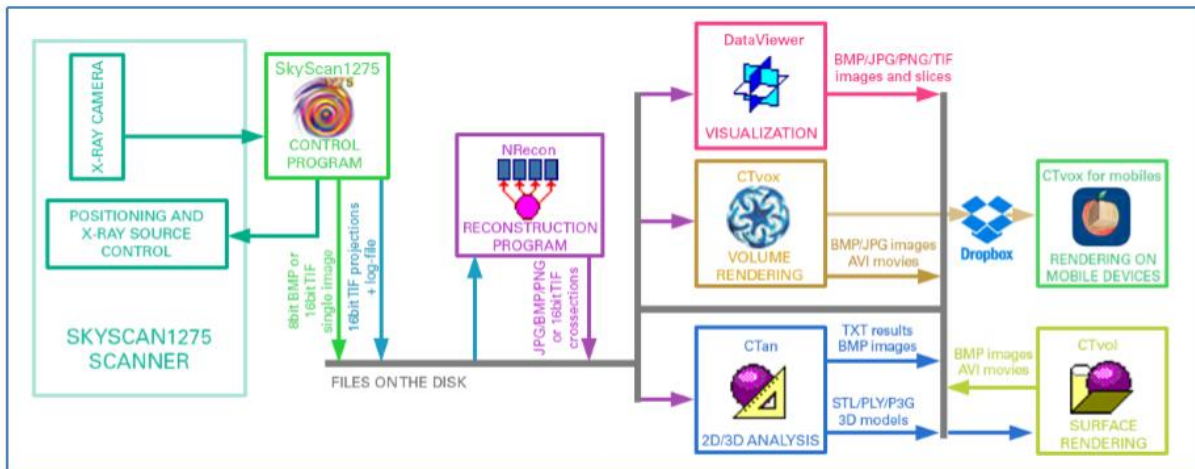
Materialers mikrostruktur påvirker teksturegenskapene, derfor skal det være mulig å gi en grundig utredning av teksturendringer og kvalitet i pellet ved bruk av MikroCT.



figur 2-5 Viser Bruker SkyScan 1275 MikroCT (Bruker, u.å.)

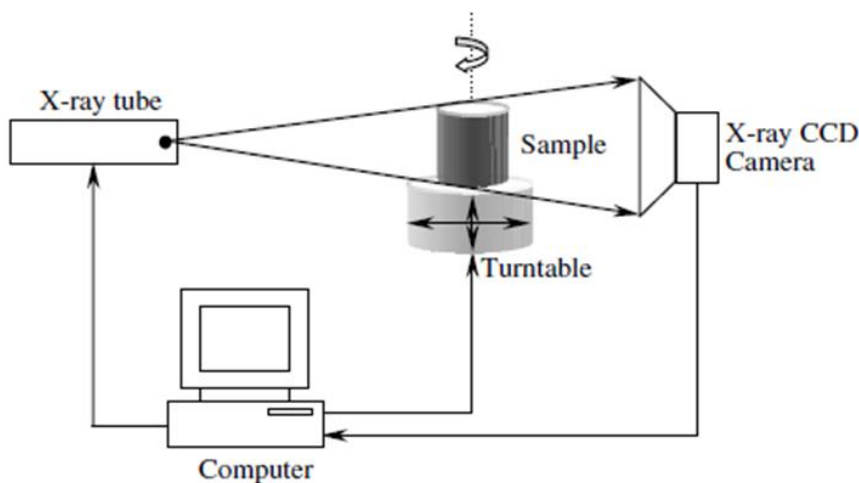
MicroCT viser interne og eksterne strukturer i pellet og bidrar med å gi informasjon om pelleters fysiske kvalitet som porøsitet, porevolum, porestørrelse og poredistribusjon. I tillegg kan mikroCT skille mellom matriks, fett, olje og luft basert på ulikhet i tetthet. Dataene benyttes for å karakterisere hvert komponent av materialet. I dette studiet ble det fokusert på å observere og karakterisere porestruktur, porevolum, porekonnektivitet og åpne og lukkede porer i pellet.

MikroCT systemet krever flere programvarer: Skyscan 1275 kontrollprogram for å skanne selve prøven, NRecon for 3D rekonstruksjon, DataViewer for visualisering av resultatene, CTvox for realistisk 3D visualisering ved volum gjengivelse, CTAn for 2D/3D bilde analyse og CTVol for blant annet visualisering av overflategjengivelse (figur 2-6).



figur 2-7 Dataflyten mellom programmene til SkyScan 1275. Bildet er hentet fra Bruker SkyScan User Manual V1.2, side 23 (Bruker microCT, 2017a).

MicroCT er en bildeteknikk som bruker en rekke røntgenstråler til å frembringe et 3D-bilde av en prøve. Dette gjøres ved å plassere en prøve på en roterende plattform hvorav røntgenstråling fra instrumentets strålekilde lyser på objektet. Mens prøven roterer tas en rekke 2D røntgenbilder. Detektoren samler opp de forstørrede projiserte bildene (Figur 2-8).



Figur 2-8 skjematisk diagram av X-ray microcomputed tomografi teknikk (Lim & Barigou, 2004)

En rekke algoritmer konstruerer et 3D-bilde av prøven ved å kombinere utvalget av 2D bilder til ett bilde (Bruker, 2019). Røntgenstrålenes absorpsjon blir kalkulert i programvaren Nrecon som attenueringskoeffisient fra formelen:

$$I_1 = I_0 * e^{(-\mu t)}$$

$I_0$  = røntgenstrålenes intensitet før de når objektet

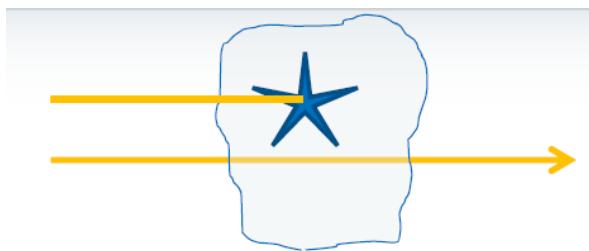
$I_1$  = røntgenstrålenes intensitet etter de har passert objektet

$e$  = eksponential koeffisient (2,71828)

$\mu$  = røntgenstrålenes attenueringskoeffisient

$t$  = det absorberte materialets tykkelse

MicroCT benytter seg av røntgenstrålenes evne til å penetrere objektet. Røntgenstrålene passerer gjennom prøven og blir attenuert. Røntgenstrålene krever delvis absorpsjon som innebærer at noen røntgenstråler blir absorbert i prøven og når detektoren, mens andre blir transmittert, som vist i figur 2-9. Dersom det ikke forekommer absorpsjon vil bildet heller ikke inneholde informasjon. Med total absorpsjon blir bildet svart. Strålene blir absorbert ulikt på objektet basert på ulik tetthet i prøvematerialet. Jo høyere tetthet, desto større del av røntgenstrålingen blir absorbert og desto lysere blir bildet. Ved å se på de ulike tetthetene kan porer, olje, og matriks identifiseres (Castlejohn, 2012, s. 17).



figur 2-9 Delvis absorpsjon, den øverste røntgenstrålen blir absorbert mens den andre røntgenstråler som blir transmittert. Bildet er hentet fra kursmateriale fra Bruker, (Bruker microCT, 2017b).

MicroCT er basert på samme metoder som CT skannere brukt på sykehus (CAT skannere) men i mindre skala og med høyere oppløsning (Bruker, u.å) Den romlige oppløsningen i konvensjonelle medisinske CT skannere ligger mellom 1-2,5 mm. Dette korresponderer med 1-10 mm<sup>3</sup> voxel (volum element) størrelse. MicroCT skannere (SkyScan 1275) har høyere romlig oppløsning som korresponderer til nærmere 1x10<sup>-5</sup> mm<sup>3</sup> voxel størrelse (Bruker microCT, 2017a).

En volumetrisk 3D piksel kalles en voxel og brukes i computertomografi for å beregne volum av et område. Voxel er en forkortelse av ordene «volum piksel» og hver voxel har en gråskal verdi mellom 0 og 255. Voxel er objektets 3 dimensjonale informasjon som stammer fra serien av bilder som blir dannet ved å bruke egnet kalkulering. I 3D-utskrift representerer en voxel en verdi i et tredimensjonalt rutenett, som en piksel med volum.

### 2.2.1 Definisjon av porøsitet i CTAn

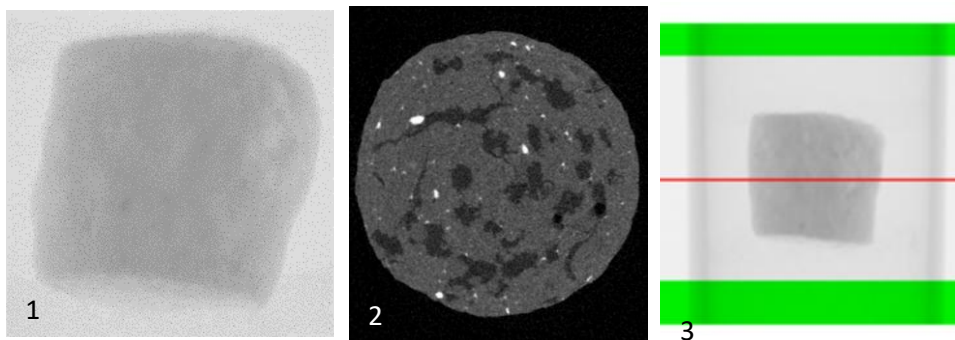
CT-analyser (CTAn) er Brukers applikasjon for overflate analyser, konstruering av visuelle modeller fra skannede datasett og for å beregne kvantitative parametere. Porøsiteten i CTAn analyseres ved å velge et relevant volum av interesse (VOI). Region av interesse (ROI) viser til et bestemt område på et enkelt tverrsnitt av den skannede prøven. Volum av interesse (VOI) refererer til samling av alle ROI fra alle bildene og definerer volumet av datasettet som brukes til konstruksjon og morfometriske kalkuleringer (Bruker microCT, 2014).

I CTAn representerer hvite piksler materiale med høy tetthet, som f.eks. bein og defineres som objekt. Sorte piksler representerer luft. Dersom hvite piksler omgir sorte piksler betraktes det som porer (Bruker microCT, 2014). I CTAn 3D analyse blir åpne porer definert som ethvert tomt område lokalisert i et fast objekt eller mellom faste objekter som har en 3D-forbindelse med området utenfor objektet eller objektene. Total porøsitet er volumet av alle åpne og lukkede porer som en prosent av det totale VOI volumet. Lukket porøsitet er «material porøsitet» og er kalkulert ulikt for åpen porøsitet og total porøsitet, hvorav felles nevneren er det totale VOI volum. Lukket pore i 3D skann er definert som et område med tomme voxler (sorte) som er fullstendig omgitt på alle sider av faste (hvite) voxler (Bruker microCT, 2014; Draganovic, 2013, s. 54). Ut fra disse definisjonene er det mulig å bruke MikroCT for porekarakterisering i pellet.

### 2.2.2 Rekonstruksjon i MikroCT

NRecon er Bruker MicroCT sitt rekonstruksjonsprogram. Rekonstruksjonsprogramvaren består av 2 programmer: NRecon og GPUReconServer. Disse kjøres på samme PC, hvorav kommunikasjon mellom disse to programmene bruker en felles port.

Under skanning av objektet dannes et projisert todimensjonalt bilde. Etter ferdig utført skanning blir hele settet av de projiserte bildene rekonstruert til tverrsnitts bilder av objektet i NRecon.



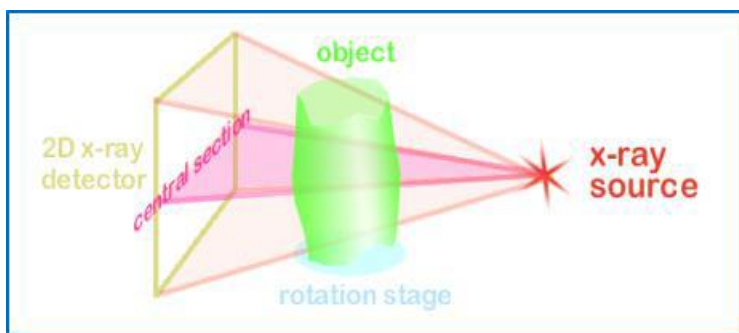
figur 2-10 Projisert bilde av fiskepellet (bilde 1), Tverrsnitt av det projiserte bildet (bilde 2), den røde streken i bilde 3 viser tverrsnittet som er rekonstruert i det projiserte bildet (optisk akse).

Som figur 2-10 viser, er det projiserte bildet (bilde 1) det primære bildet og derav rådata. Det rekonstruerte tverrsnittsbildet er sekundært bilde (figur 2-10, bilde 2). Hvert tverrsnitt korresponderer til en enkel horisontal rekke av voxler lokalisert ved den samme høyden i alle de projiserte bildene.



### 2.2.3 Optisk akse

Den optiske aksen representerer den horisontale linjen av kamerapiksler som er nærmest røntgenstrålenes emisjonspunkt. Dette er den eneste linjen hvor røntgenstrålene fra strålekilden treffer kameraet ved nøyaktig 90° graders vinkel. Over og under denne linjen vil røntgenstrålene skrå oppover og nedover. Den skrå vinkelen kalles «kjeglevinkel». For alle tverrsnitt med en kjeglevinkel benyttes Feldkamp rekonstruksjons algoritme, som vil interpolere over flere horisontale rekker med kamera piksler for å rekonstruere et enkelt parallelt tverrsnitt. Når kjeglevinkelen øker, vil også antall pikselrader som må interpoleres øke. Ved den optiske aksen er det ikke behov for interpolering derfor er det raskest å utføre rekonstruksjon i den optiske aksen, det er best bildekvalitet og minst sannsynlighet for artefakter. Rekonstruksjonen i NRecon bruker derfor kun optisk akse (Bruker microCT, 2017a). I figur 2-11 vises et objekt som roterer i en akse plassert mellom strålekildens emisjonspunkt og detektoren. Strålekilden produserer en kjegleformet stråle som penetrerer objektet.



figur 2-11 Korrekt oppsett av microCT instrument (Bruker microCT, 2017a).

### 2.2.4 Bakgrunn normalisering (Flat field korreksjon)

Dersom en parameter blir justert, for eksempel spenning, strømstyrke, eksponeringstid eller filter, må det utføres bakgrunn normalisering. Dette er en justering i kameraet som maksimerer kontraster ved å kun fokusere på den mest energirike delen av røntgenstrålingens spekter for å unngå undereksponering. Etter en flat field korrigering vil kameraet ha en metning på 90-95% og unngår samtidig overeksponering (Tarplee & Corps, 2008b). Bakgrunns normalisering bør utføres ved oppsett av nye skannings parametere eller dersom det er >90% metning i bakgrunnsbildet.

## 2.3 OVERSIKT OVER SKANNINGSPARAMETERE:

Før et skann settes opp er det følgende parametere som må vurderes:

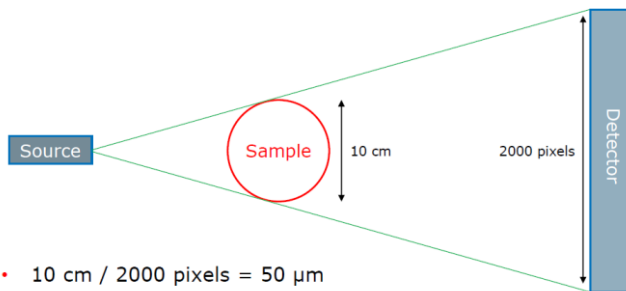
- Tilstrekkelig oppløsning
- Korrigerende filter
- Rotasjons steg
- Gjennomsnittsmålinger (frame averaging)
- 180 eller 360 graders skanning

### 2.3.1 Tilstrekkelig oppløsning

For å oppnå maksimal oppløsning må det tas hensyn til prøvens størrelse og antall piksler som vist i Figur 2-12 :

Prøvestørrelse / antall piksler = maksimal oppløsning

Dersom prøven flyttes lenger bort fra strålekilden blir det lavere forstørrelse og lavere oppløsning, som medfører at maksimal oppløsning må endres, fordi antall piksler minsker.



Figur 2-12 objektets plassering i forhold til strålekilden og detektor for å beregne oppløsning (Bruker microCT, 2017b).

### 2.3.2 Korrigerende filter

Dersom spenningen økes, vil også røntgen energien økes. Ved å anvende et filter (figur 2-13) filtreres noe av røntgenenergien bort, desto høyere røntgen energi, desto større filtertykkelse behøves. Minimums transmisjonen gjennom prøven bør være 20-40%. Dersom filteret er for svakt vil det oppstå for mye transmisjon og det projiserte bildet blir for mørkt. Et for sterkt filter vil gi for lite absorpsjon og det projiserte bildet blir for lyst.



figur 2-14 Viser 1 mm tykt aluminiumfilter plassert foran ccd kamera.

### 2.3.3 Rotasjonssteg

Rotasjonssteg avhenger av objektets størrelse og er viktig for bildekvaliteten. Med et mindre objekt vil det være tilstrekkelig med større rotasjonssteg fordi senteret av rotasjonen er nær, og det blir liten avstand for rotasjonsvinkelen. For større objekt er rotasjonens senter lenger borte, og det vil være stor avstand fra rotasjonsvinkelen. En tommelfingerregel er å ha små rotasjonssteg for høyere antall piksler. Et lavt antall piksler kan ha større rotasjonssteg.

### 2.3.4 Gjennomsnittsmålinger (Frame averaging)

Gjennomsnittsmålingene av et bestemt antall målinger under analysesyklusen kan enkelt justeres i mikroCT. Dersom gjennomsnittsmålingene økes, vil også lengden av skannet øke en gitt verdi som er kalkulert ved å multiplisere beregningstiden med antall steg valgt ut fra 180° eller 360° rotasjon. En økning i antall bilder reduserer støy i det projiserte gjennomsnittsbildet ved at signal til støy forholdet (S/N ratio) i det rekonstruerte bildet blir forbedret (Tarplee & Corps, 2008a).

De mest brukte verdiene for gjennomsnittsmålingene er mellom 3 og 5. Å endre gjennomsnittsmålingene fra 1 til 3 kan medføre store forskjeller i bildet, men å øke fra 5 til 7 vil gi svært lite endringer fordi høyere verdier av gjennomsnittsmålinger trenger større steg for å gi signifikante endringer i bildet, for eksempel fra 5 til 9.

Både rotasjonssteg og gjennomsnittsmålinger har en effekt på signal til støy forholdet og kan forbedre bildekvaliteten. I prøver med høy tetthet er signalet fra objektet svakt som følge av lav transmisjon, å øke gjennomsnittsmålingene vil ha best effekt. For prøver med mange detaljer og lav tetthet (for eksempel karbon fibre) bør små rotasjonssteg prioriteres.

### 2.3.5 180° eller 360° rotasjon

Under selve analysen kan man velge å rotere objektet 180° eller 360°. Ved hver posisjon vil det dannes et bilde av transmittert stråling. Programmet vil lagre de projiserte bildene i filer for den tomografiske rekonstruksjonen. Størrelsen på datasettet og analysesyklusen avhenger av valgt rotasjonssteg og den totale rotasjonen. Med en rotasjon på 360° blir hele prøven skannet og faren for artefakter blir redusert, men analysen krever tilnærmet dobbelt så lang skanningstid som 180° rotasjon. Derimot kan rotasjon på 180° være å foretrekke for enkle overflateanalyser og tomografisk rekonstruksjon. Rekonstruksjonen starter når analysen er ferdig (Bruker microCT, 2017a).

### 2.3.6 Artefakter

Artefakter er avbildningsfeil i det skannede bildet som ikke kan spores tilbake til objektet som ble skannet. Dette forekommer hyppig ved CT skanning og kan påvirke resultatet på ulike måter. Noen artefakter er små og ubetydelige for resultatet, mens andre artefakter er større og mer alvorlige, og medfører at objektet må skannes på nytt med andre parametere. Ofte kan det være tilstrekkelig å endre parametere i rekonstruksjonsprogramvaren «NRecon» i SkyScan1275. Enkelte artefakter er umulige å unngå, og kan kun reduseres.

Det finnes flere ulike typer CT artefakter, bl.a. strekartefakt, ringartefakt, metalartefakt, støy, bevegelsesartefakt, spredningsartefakt, heliksartefakt, linjeforskyvning og beam hardening (Boas & Fleischmann, 2012). MikroCT bilder av rekonstruert pellet gir hovedsakelig ringartefakter, alignment (linjeforskyvning) og beam hardening. Strekartefakt kan forekomme.

Strekartefakt

Strekartefakter fremstår som sorte eller hvite streker i bildet og kan indikere feil i detektor, og gir forstyrrelser i databehandlingen (Erik Dahlgren, 2013). Strekartefakt som kommer fra rette kanter og små høy-absorberende partikler kan bli forsterket av linjeforskyvning, beam hardening og skatter effekt. Strekartefaktene kan bli redusert ved å øke antall projeksjoner. Dersom det lar seg gjøre kan det hjelpe å unngå å ha rette kanter i ROI (region of interest) (Davis & Elliott, 2006).

Ringartefakt

Ringartefakter opptrer hyppig i rekonstruerte bilder fra microCT skannere og sees som en eller flere lyse eller mørke konsentriske sirkler sentrert rundt rekonstruksjonscenteret av rotasjonen (Boas & Fleischmann, 2012). Dette ringmønsteret kan bedres ved å recalibrere detektoren, ettersom ringartefakt ofte forekommer som følge av feilkalibrering av detektor eller ved defekt detektor (Sijbers & Postnov, 2004). Et annet mottiltak er å justere det rekonstruerte bildet manuelt med korreksjonsfaktor innebygd i NRecon. Ved å øke antall gjennomsnittsmålinger av bilder (frame averaging) kan man risikere å øke effekten av ringartefakt (Tarplee & Corps, 2008b).

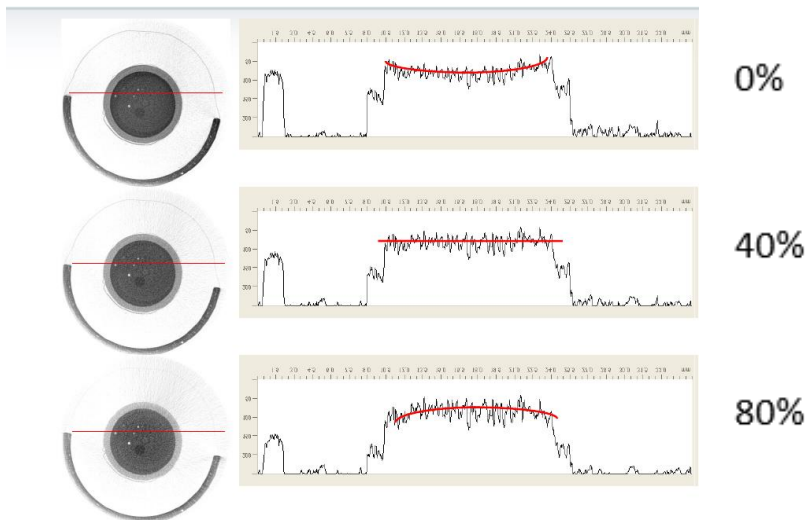
### 2.3.7 Beam hardening

Beam hardening er blant de vanligste artefaktene i tomografiske systemer. Beam hardening sees som mørke skygger mellom to ulike objekter i bildet og oppstår når det er stor forskjell i et materies sammensetning og tetthet, som i overgangen mellom bein og bløtt materie (Boas & Fleischmann, 2012).

Prinsippet bak dette fenomenet er at når en polykromatisk stråle transmitteres gjennom et objekt vil røntgen-fotoner med lavere energi bli attenuert lettere mens de resterende høy-energi fotonene ikke attenueres like lett. Energispekteret vil derfor bikke mot høyere energi og gjennomsnittsenergien økes (Boas & Fleischmann, 2012). MikroCT skannerens kamera gjenkjenner ikke forskjellen mellom høy og lav energi og ettersom attenueringen normalt sett er høyere gjennom prøvens senter enn ved periferien, vil det føre til at prøven fremstår som om den har mindre tetthet i senteret og dermed gi feil informasjon om en prøves tetthet. Beam hardening vil også gi falske resultater når materier skal separeres basert på tetthet.

Ved å benytte et filter av rent metall med høyt atomnummer og av spesifikk tykkelse blir de laveste energistrålene blokkert eller absorbert og den høyere energistrålingen blir attenuert og beam hardening reduseres (Tarplee & Corps, 2008a). For Skyscan 1275 er det to metallfiltre å velge mellom: 1 mm kobberfilter og 1 mm aluminiumsfilter. Beam hardening kan også reduseres under rekonstruksjon i NRecon.

Figur 2-15 viser cuppingeffekt som går nedover i midten av profil histogrammet for beam hardening korreksjon 0%, beam hardening er dermed underkorrigert. Når profil histogrammet er flatt, er cuppingeffekten korrekt korrigeret. Dersom cuppingeffekten går oppover i midten av spekteret er cuppingeffekten overkorrigert.

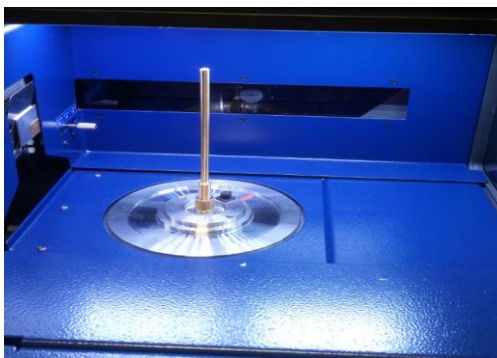


Figur 2-15 Beam hardening korreksjon. Øverst viser beam hardening korreksjon 0%, midterste bildet har beam hardening korreksjon 40%, nederste bildet har beam hardening korreksjon 80% (Bruker microCT, 2016).

### 2.3.8 Justering /alignment

For et optimalt CT bilde er det nødvendig å utføre justeringer. Justeringene gjøres i NRecon og kalles alignment. Prinsippet bak justeringen er at justeringsstaven roterer i en virtuell linje under skanningen (figur 2-16). Dersom denne virtuelle linjen kunne blitt projisert fra røntgenstrålene til kamera, ville det blitt dannet et vertikalt bilde. Et perfekt skannet bilde ville hatt denne projiserte linjen korresponderende nøyaktig til kameraets midtlinje. I dette tilfellet ville da justeringsverdien (misalignment value) vært null (Bruker microCT, 2017a). I realiteten krever hvert skannet bilde flere justeringer og i de fleste tilfeller kreves kompenseringer med etter-justering i NRecon. Justeringsverdien bør allikevel ikke overstige 100  $\mu\text{m}$ . Dersom justeringsverdien overstiger 100  $\mu\text{m}$  bør instrumentet rejusteres, da det indikerer at strålekilden, justeringsstaven eller kamera er feiljustert (Davis & Elliott, 2006).

Justeringsverdien kan være negativ eller positiv avhengig av hvorvidt den projiserte akselen er til venstre eller til høyre for kameraets midtlinje, utfra det gitte antall piksler. Artefakter oppstår dersom denne kompensasjonen ikke blir utført eller tilført feil verdi. For å holde justeringsverdien på lavest mulig nivå bør det utføres en justeringstest regelmessig avhengig av instrumentets arbeidsmengde. For å få best mulig finjustering, helst under 1 piksel, korrigeres justeringen med omtrentlig  $\frac{1}{2}$  justeringsverdien, dvs at dersom verdien er 1,0 bør det korrigeres med 0,5 for å unngå overkompenserings problemer (Tarplee & Corps, 2008a).



figur 2-17 viser justeringsstaven som benyttes under justering for å optimalisere instrumentet.

## 2.4 ANALYSER FOR Å MÅLE PELLETENS FYSISKE KVALITET

Det finnes mange metoder for å studere pelleters fysiske kvalitet. Nevnt nedenfor er analyser utført på forsøksfôrene til dette prosjektet. Disse metodene er blant de mest utbredte for fiskefôr.

### 2.4.1 Holmen Durabilitets tester

HOLMEN Tester simulerer mekaniske og pneumatiske belastninger som pelletter blir utsatt for under distribusjon og transport (figur 2-18). Dette gjøres ved å benytte et lukket rørsystem hvor luft blåser pelletene vertikalt oppover i et rør med høy hastighet og kaster pelletene sidelengs slik at pelletene kolliderer med både hverandre og rørets vegg. Det produseres derved friksjon i pelletene som fører til abrasjon og fragmentering (Salas-Bringas mfl., 2007). Pelletene blir siktet og kalkulert som pellet durabilitets indeks (PDI) som estimerer pelletens fysiske kvalitet (Salas-Bringas mfl., 2007). Pellet med lav PDI blir vurdert som pellet med lav fysisk kvalitet. Resultatene fra HOLMEN tester påvirkes av temperaturen på den tilførte luften, trykk og rengjøringen mellom analysene.



figur 2-19 HOLMEN tester NHP 300 som ble benyttet i dette prosjektet

### 2.4.2 Vannstabilitet

Vannstabilitet er en av de viktigste kvalitetsparametere for den fysiske kvaliteten til fiskefôr og er et mål på hvor raskt en pellet løses opp i vann (tabell 2-1). Vannstabilitet gir en indikasjon på pelletens stabilitet i vann før den blir fortært av fisken (Obaldo, Divakaran, & Tacon, 2002). Denne metodikken kan også benyttes til å simulere hvordan pelleten løser seg opp i fiskemagen.

Avgjørende faktorer for pelleters vannstabilitet er ingrediensenes bindingsegenskaper, ingrediensenes partikkelstørrelse, dysehullene og ekstruderingsbetingelser.

Vannstabilitet oppgir hvor mye fast materiale (%) som er igjen i en pellet etter omrøring i vann i et gitt tidsrom (Ighwela, Ahmad, & Abol-Munafi, 2013) og bør ligge mellom 50% og 90%.

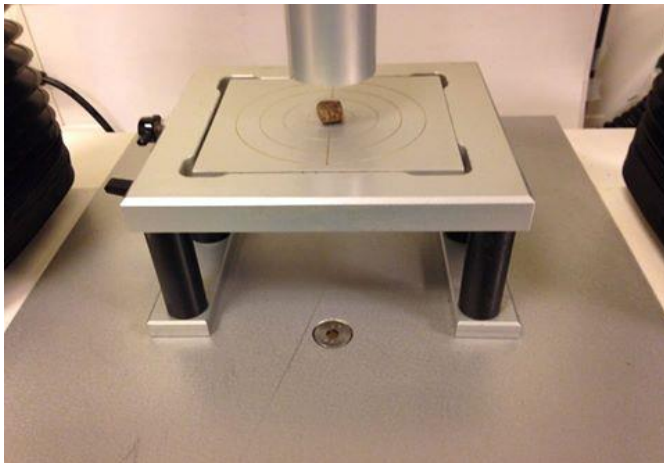
Høy vann stabilitet er definert som retensjon av pelletens fysiske integritet med minimal oppløsning og minimal næringslekkasje i vann.

tabell 2-1: Anbefalte vannstabilitetsverdier for fiskepellet etter 20min omrøringshastighet.

Pellet størrelse	Vannstabilitet
3 - 5 mm	min. 60%
7 - 12mm	min. 70%

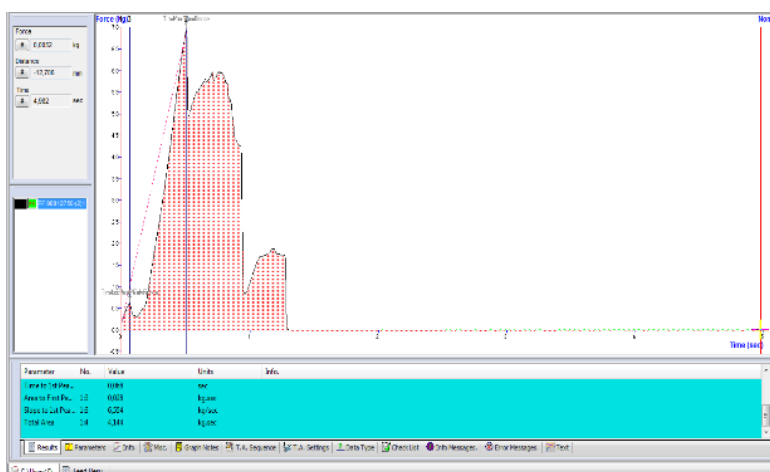
### 2.4.3 Stable Micro System

Stable Micro System (SMS) er en tekstur analyse som oppgir et mål for hardhet og elastisitet (figur 2-20). Metoden fungerer som en kvalitetskontroll for pelletens mekaniske egenskaper. Stabil Micro System (SMS) er utviklet for å kunne angi effekten av justeringer i formulerings- og prosess parametere som påvirker hardhet og elastisitet i pellet. Hardhet defineres som den maksimale kraften som blir tilført en serie pelletter og som fører til at pelletene knekker. Elastisiteten er stigningstallet til grafens topp og representerer pelletens evne til å motstå deformering og fragmentering under stress (figur 2-22). Resultat fra SMS kan gi indikasjoner på hvorvidt pelleten er svak, skjør eller av god kvalitet.

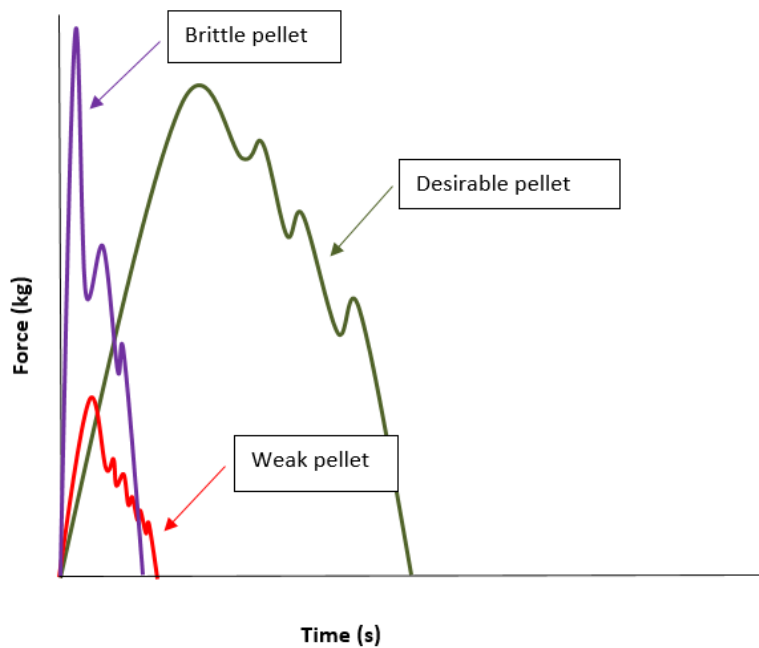


figur 2-21 viser bilde av Stable Micro System TA.HDplus Texture Analyser med P/35 probe i Cargill Innovation Center. Pelleten er posisjonert og skal bli tilført mekanisk kraft.

Pelletens teksturegenskaper blir målt ved å tilsette mekanisk kraft. Grunnlaget for resultatet er pelletens deformering som følge av kraften den blir utsatt for. Data om kraft, tid og avstand blir notert og presentert som en kurve i en graf som gir indikasjoner på prøvens tekstur (figur 2-16) (Stable Micro Systems Ltd, 2016).



figur 2-22 viser graf over pelletens tekstur. Den øverste toppen oppgir maksimum kraft (hardhet). Stigningstallet til den øverste toppen er elastisitet. X-aksen oppgir tid og y-aksen oppgir kraft. Resultatet av en pellet vises grafisk med Exponent software.



Figur 2-23 viser kraft/tid kurve i en graf for både skjøre, optimale og svake pelleter. Bildet er laget av Dzana Mrkaljevic og er godkjent for bruk til denne oppgaven.

En pellet som er sterk men som ikke kan tøyas/deformeres uten å knekke kalles skjør (lilla kurve i Figur 2-23). Denne type pellet vil allikevel ha høy elastisitetsmodul (>15 Kg/sek).

Målet er å oppnå en pellet som tåler mekanisk kraft over lenger tid, selv uten å oppnå like høy maksimumskraft som en skjør pellet (grønn kurve i Figur 2-23). Denne typen pellet kan deformeres under kompresjon, som en svamp, og er derfor mer motstandsdyktig mot mekanisk belastning. Det er å foretrekke at en pellet deformeres fremfor å knekke, men den bør ikke deformeres så mye at det medfører oljelekkasje. Derfor er elastisiteten til en pellet en god indikasjon på pelletens fysiske kvalitet. En svak pellet (rød kurve i Figur 2-23) vil ha svært lav elastisitetsmodul og vil knekke under liten kraft og har dårlig fysisk kvalitet (Mrkaljevic, 2016).

Kommersielle retningslinjer for ekstrudert fiskepellet anbefaler at verdiene av maksimal kraft ligger mellom 7,4-8,5 kg. Anbefalt tid for å oppnå maksimal kraft ligger mellom 0,6-1 sek for fiskefôr av god kvalitet (Draganovic, van der Goot, Boom, & Jonkers, 2011). Verdier for elastisitetsmodul bør ligge mellom 7,4 – 14,1 kg/sek (Mrkaljevic, 2016).



#### 2.4.4 Rapid Visco Analyser

Rapid Visco Analyser er et roterende instrument som måler viskositet i fiskepellet og råvarer (figur 2-24). Instrumentet blir kontrollert av en mikroprosessor som tilfører prøven varme-kjøle sykluser samtidig som den kontinuerlig overvåker endringer i prøvens viskositet. I løpet av en fastsatt tidsyklus utsettes prøven for varierende temperaturer og omrøringer i en testprofil. Hver testprofil er predefinert.



figur 2-25 viser RVA 4200 ved Cargill Innovation Center

#### 2.4.5 Low Field Nuclear Magnetic Resonance

Low Field Nuclear Magnetic Resonance (LF NMR) bestemmer fett og vann i råvarer, melblandinger og fiskefôr basert på de observerte proton (NMR signalene) som er proporsjonale med et estimat av antall hydrogenatomer i den aktuelle prøven (figur 2-26). Signalene som instrumentet oppfatter er basert på at hydrogenkjernene har et magnetisk moment som gjør at de oppfører seg som små kompassnåler, samtidig som de roterer rundt sin egen akse i et magnetisk spinn (V. Draganovic mfl., 2013). En kortvarig radiobølge sendes inn i prøven som fører til at hydrogenkjernene vippes ut av sin posisjon og opptar en viss mengde energi som er målbar. Dette signalet kan brukes til å beregne innholdet av fett og vann i en prøve.

De forskjellige hydrogenkjernene ( $^1\text{H}$ ) i prøven identifiseres ut fra at hvert proton vil oppleve magnetfeltet ( $B_0$ ) ulikt lokalt inne i molekylstrukturen, avhengig av kjemisk miljø og interaksjoner med andre kjerner. For bestemmelse av fett og vanninnhold benyttes en teknikk som kalles "spin-ekko", utarbeidet av forskningsinstituttet SINTEF.



figur 2-27 Low Field Nuclear Magnetic Resonance (NMR Analyzer Bruker minispec mq10) ved Cargill Innovation Center

## 2.5 STATISTISKE METODER FOR Å BEARBEIDE ANALYSERESULTATENE

### 2.5.1 Prinsipal komponent analyse PCA og Partial Least Squares regression PLS-R

Prinsipal komponent

Prinsipal komponent analyse PCA forenkler komplekse datasett. Store datasett inneholder som oftest store mengder informasjon som kan delvis bli gjemt bort ettersom datasettet er for komplekst.

Prinsipal komponent analyse (PCA) er en bilineær modelleringsteknikk som reduserer variabelmangfoldet og finner mønstre i data settet. Viktig informasjon fra datasettet blir ekstrahert til et nytt sett av ortogonale variabler. Metoden blir derfor også kalt for en projeksjonsmetode. PCA viser forholdet mellom variabler og gir innsikt i hvordan målte variabler kan samsvare med hverandre eller hvordan de avviker fra hverandre. Kvaliteten til PCA modellen blir evaluert ved å benytte kryssvalidering (Abdi & Williams, 2010; Camo Software AS, 2018). PCA reduserer dataene ved å geometrisk projisere dem til lavere dimensjoner kalt prinsipal komponenter (PC) for å best kunne oppsummere datasettet ved å bruke et begrenset antall prinsipal komponenter (Härdle & Simar, 2015).

PCA benytter følgende ligning:  $T = X Y^x + E$

X matrisen inneholder måldataene, Y matrisen representerer variablene og E er residualene (avviksresultatene i datasettet) som ikke bidrar til å gi en god modell og representerer uforklart varians og målestøy. PCA bruker datasettet X for å forklare variablene Y. Ved å redusere datasettet X kan antall variabler Y bli redusert og allikevel gi samme informasjon. Reduseringen og seleksjon av variabler gjør tolkning av datasettet lettere og gjør det mulig å finne ut hvilke variabler som er mer signifikante enn andre og hvilke variabler som forklarer de ulike metodene best. Noen få prøver blir oppfattet som residualer (E) og passer ikke inn i mønsteret. Disse vises igjen som avviksresultater (Lekva, 2018, s.14).

I unscrambler X benyttes to ulike algoritmer, NIPALS og singel value decomposition SVD. SVD er en ikke-iterativ metode som ikke håndterer manglende verdier, mens NIPALS kan håndtere manglende verdier.

NIPALS algoritmen

Der finnes flere algoritmer for å kalkulere score og loading i PCA. I dette forsøket er algoritmen NIPALS ("Nonlinear Iterative Partial Least Squares") benyttet for PCA modell kalibrering. Dette er en iterativ algoritme utviklet av Herman Wold (Wold, 1973).

Faktor  $\alpha$  er antall prinsipielle komponenter som skal bli ekstrahert. Konvergens blir testet opp mot ratio  $norm(t_\alpha) / norm(d_\alpha)$

$t_\alpha$  er det nåværende estimatet av score vektoren mens  $d_\alpha$  er ulikheten mellom nåværende estimert vektor og tidligere iterasjoner. Konvergens verdien skal ha en ratio under  $10^6$  (Camo Software AS, 2018).

## Partial Least Squares regression

Partial least square regresjon, også kalt PLS-R og «projisering til latente strukturer», er en teknikk der forklarende variabler (input) projiseres til de latente variablene. Ut fra dette kan PLS predikere hvorvidt det er mulig å påvise en korrelasjon mellom variabler og derav forklare komplekse forhold. Kovariansen mellom X og Y variablene maksimeres og finner de latente variablene i X (f.eks. CT data) som best predikerer variablene (f.eks. måldataene) i Y-aksen (Camo Software AS, 2018). Kernel PLS algoritme er benyttet i denne oppgaven. Dette er en ikke-iterativ algoritme som egner seg godt for datasett som inneholder stort antall prøver (Camo Software AS, 2018).

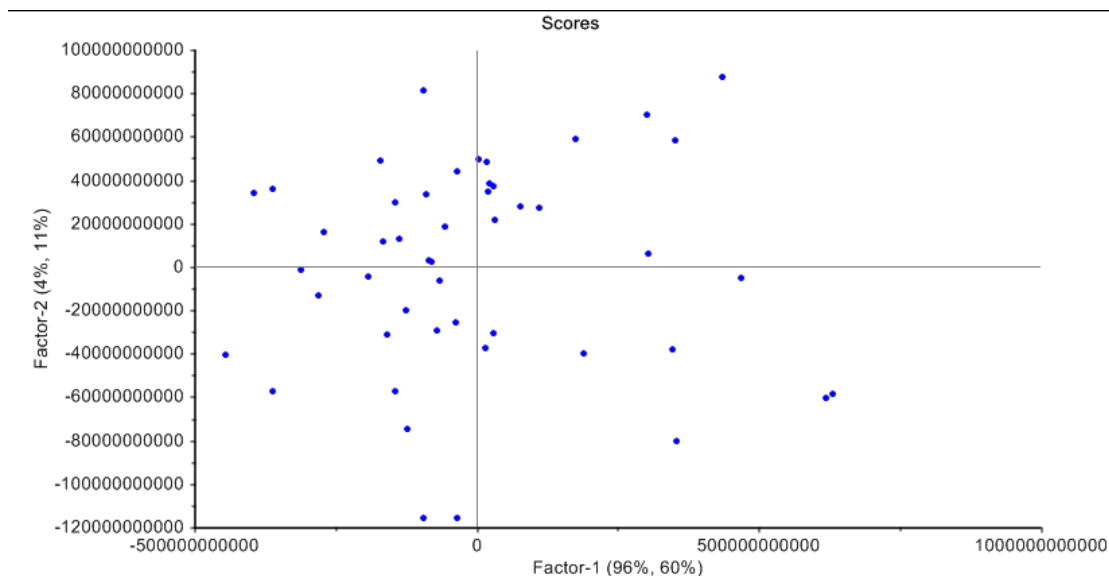
### 2.5.2 Statistiske begreper

#### Score

Score beskriver prøvenes egenskap og viser til likheter eller ulikheter mellom alle prøvene i PCA. Score vises vanligvis i The Unscrambler X som et kart over en prinsipal komponent (antall fenomen som er avgjørende) og er plottet mot andre prinsipal komponenter ortogonalt i forhold til hverandre. Hver prøve har ett score på hver Prinsipal komponent. Prinsipalkomponent 1 (PC1) har den retningen som beskriver den største variasjonen, PC2 den nest største også videre. Prøver med nærliggende score langs samme prinsipal komponent er tilnærmet like og har verdier nærliggende de korresponderende variablene (Camo Software AS, 2018).

PLS komponentene er like prinsipal komponentene, men refereres som faktorer i The Unscrambler X.

I figur 2-28 er origo gjennomsnittet av alle prøvene. Score plottet (figur 2-28) viser at desto lenger fra origo en observasjon er plassert, desto mer vil denne observasjonen påvirke modellen. Score plott kan også brukes til å identifisere residualer som kan påvirke retningen på prinsipalkomponenten og som derfor bør fjernes for å få en mest mulig representativ linje.



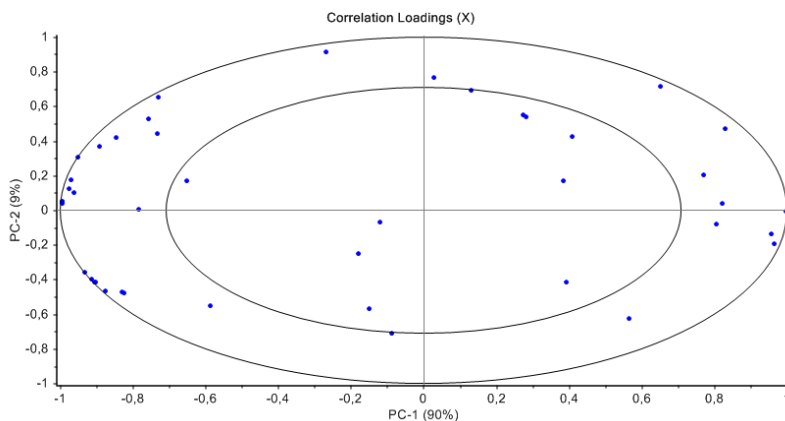
figur 2-28 viser et score plott fra The Unscrambler x.

## Loading

Loading viser sammenheng som forklarer relasjonene mellom variablene og graden av sammenheng det er mellom variablene X og Y, der X er prediktorer og Y er responser. Hver analysert variabel har en loading på hver prinsipal komponent og viser til hvor mye de individuelle variablene bidrar til hver enkelt prinsipal komponent. Desto mindre vinkel det er mellom den prinsipale komponenten og variabelvektoren, desto høyere signifikans er det mellom variabelen og prinsipal komponenten, og desto høyere loading. Loading har en normalisert skala mellom -1 og 1. For å finne variable korrelasjoner brukes variablenes lokasjon. Variabler som ligger nær hverandre har høy positiv korrelasjon og er kovariabler. Variabler som ligger motsatt diagonalt har negativ korrelasjon med hverandre. Dersom begge loadingene har samme fortegn er de positivt korrelert (når en variabel øker, øker den andre også), dersom de har motsatt fortegn korrelerer de negativt (når en variabel øker, minsker den andre) (Camo Software AS, 2018).

## Hotelling ellipse

PLS loadings blir brukt på samme måte som PCA loadings, og forklarer hvordan de ulike X komponentene forklarer hver Y variabel (figur 2-29). 2D plottet består av Hotelling ellipse som indikerer hvorvidt variablene i analysen er signifikante til hverandre. Den ytre ellipsen indikerer 100% forklaringsvarians, mens den indre ellipsen indikerer 50% forklaringsvarians. Variablene mellom den ytre og indre ellipsen vil derfor ha en forklaringsvarians mellom 50-100%. Hotelling ellipse visualiserer signifikansen til de individuelle variablene bedre enn i et standard loading plot.



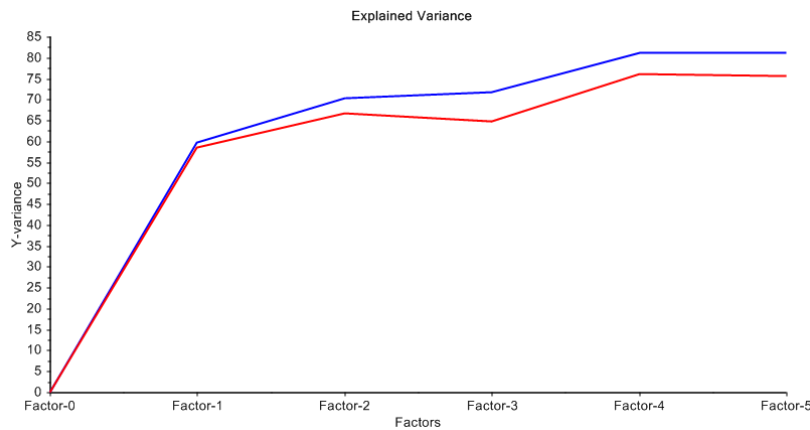
figur 2-29 Hotelling ellipse som viser korrelasjonen og forklaringsvariansen mellom de ulike dataene

## Forklart varians $R^2$

Forklart varians  $R^2$  måler effekten av å bruke regresjon og forklarer andelen i variasjon Y som blir forklart av X. I motsetning til lineær korrelasjons koeffisient  $r$  så måler  $r^2$  alle typer sammenhenger. Dersom  $r^2$  ligger nær 1 indikerer det at variasjonen kan forklares av regresjonen og observasjonene ligger nær regresjonslinjen (Moger, 2005).

R-square (forklart varians) i The Unscrambler X er kalibreringens  $R^2$  verdi hentet fra forklaringsvariansen, ut fra antall komponenter i modellen.

Predikert R-square bygger på den validerte (kryss-) modellen og gir et "riktigere" bilde av forklaringsgraden. Dersom den forklarte variansen (R-square) ligger tett opp mot 100% gir den en god lineær sammenheng mellom verdiene.



figur 2-30 Forklart varians visuelt fra *The Unscrambler X*

I figur 2-30 er det hovedsakelig de 4 første faktorene som best forklarer variansen i data. Fra Faktor-4 øker ikke forklaringsvariansen i valideringen. Den røde streken representerer predikert forklart varians og den blå streken forklarer referanse verdiene. Dette er en indikasjon på at faktor 1,2,3 og 4 er de faktorene som er viktigst. Forklaringsverdien går fra 60% (faktor 1) til 80% (faktor 4).

Den røde predikerte forklaringsvariansen bør benyttes dersom en modell skal valideres med et valideringssett med prøver som ikke er med i modellen for å unngå et for «optimistisk» resultat.

#### Kryssvalidering

Kryss validering er en teknikk som evaluerer modeller som har begrenset prøvemengde. Når et begrenset sett av data estimerer den ukjente parameteren er det en viss fare for overtilpasning. Det vil si at de estimerte parameterne vil stemme godt overens med de eksisterende dataene, men vil ikke stemme like godt overens dersom modellen skal predikere nye prøver. Kryssvalidering gjør det lettere å unngå overtilpasning og gir en mer realistisk indikasjon på hvordan modellen predikerer nye variabler.

I kryssvalidering blir dataen delt til flere segmenter. Det bygges modeller for hvert segment som er tatt ut for testing. Med 5% kryssvalidering blir modellen bygget 20 ganger, hver gang blir 5% av resultatene tatt ut i et tilfeldig utvalg for å bli testet og validert opp mot modellen (Lekva, 2018).

#### Spredningsplott

Et 2D Spredningsplott viser sammenhengen mellom dataene. Spredningsplottet i X-aksen representerer en variabel, Y-aksen representerer den andre variabelen. Plasseringen av et punkt langs aksene bestemmes av verdien til de to variablene som presenteres på en numerisk skala. En lineær regresjonslinje i spredningsplottet viser forholdet mellom de to seriene av verdier.

#### Lineær korrelasjons koeffisient R

Lineær korrelasjons koeffisient R viser til hvorvidt det er en lineær korrelasjon mellom variabel X og variabel Y og angir hvor sterk denne korrelasjonen er. Dersom  $r=1$  ligger alle datapunkter på en rett linje med positivt stigningstall og gir sterk positiv korrelasjon,  $r=-1$  viser til negativ korrelasjon,  $r=0$  viser til at det er ingen sammenheng mellom variablene.

RMSED

RMSED (Root Mean Square Error of Deviations) er et mål over de gjennomsnittlige ulikhetene mellom to datasett i et 2D skatter plott og viser til hvor god modellen er. RMSED viser ulikheten mellom predikerte verdier i en modell og faktiske verdier fra observasjonene. Dersom denne ulikheten er stor, er modellen lite nøyaktig.

RMSEP

RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction) gir et mål for påliteligheten til en modell og oppgir dens evne til å predikere verdier, dvs. forskjellen mellom faktiske og estimerte verdier. Desto lavere RMSEP, desto større nøyaktighet har modellen.

Offset

Offset er Y-aksens skjæringspunkt når X-aksen er satt til 0.

## 3 MATRERIAL OG METODER

---

Laksepelletene som ble benyttet i forsøket ble prosessert ved Cargill Innovasjon senter (CiC) i Dirdal, Norge. De ferdige pelletene ble oppbevart i fryserom ved -22 °C. Alle partiene med pellet ble laget med forskjellige ekstruderingsbetingelser og dyser, og har derfor stor variasjon i størrelse, form, porer og tetthet.

### 3.1 KJEMISKE ANALYSER FOR REFERANSE RESULTAT

Alle de kjemiske analyseresultatene som ble benyttet som referanseverdier, ble utført ved Cargill innovasjons senter (CiC) i Dirdal.

#### 3.1.1 HOLMEN tester

I dette forsøket ble Holmen NHP300 In-Line Process Control benyttet. Analyse for pelleters durabilitet ble utført ved å veie 100 g pellet som deretter ble plassert inni instrumentets kammer. Resultatet ble kalkulert til pellet durabilitets indeks (PDI).

#### 3.1.2 Vannstabilitet 1, standard metode

Vannstabilitet i dette forsøket ble utført ved at 10 g pellet i et begerglass ble tilført vann, vannmengden avhang av pellet størrelse (50 ml vann ved 3-5 mm pellet, 60 ml vann ved 7-12 mm pellet). Begerglasset med pellet og vann fikk tildelt en magnet (6 mm diameter x 25 mm lengde) og ble plassert på bord med magnetrører i 20 minutter ved 450 RPM og deretter siktet (Siktestørrelse velges ut fra pellet størrelsen). Pelletene ble skylt under kaldt vann i 5 sekunder og tørket i varmeskap ved 45 °C i 1 time. Pelleten ble veid og kvernet opp for deretter å kunne kalkulere tørrstoff i prøven. Vannstabiliteten ble oppgitt som et gjennomsnitt av to paralleller og ble beregnet etter følgende formel:

$$\text{Vannstabilitet (\%)} = 100 * \frac{(\text{vekt av pellet etter test} * \% \text{ tørrstoff etter test})}{(\text{vekt av pellet før test} * \% \text{ tørrstoff før test})}$$

Vannstabiliteten kan også bestemmes kvalitativt ved å se på vannkvaliteten og pelleten. Dersom vannet forblir rent uten pellet partikler eller oljelekkasje på overflaten kan vannstabiliteten til pelleten sies å være bra. Dersom pelleten har svellet eller gått i oppløsning, eller er våt i midten, er vannstabiliteten lav.

### 3.1.3 Vannstabilitet 2, alternativ metode

20 gram pellet ble veid i et begerglass, 100 ml vann ble tilsatt og plassert på et ristebord med horisontale bevegelser i 1 time. Pelletene ble deretter siktet og plassert i et varmeskap ved 45°C i 48 timer og veid igjen. Vannstabiliteten ble kalkulert ut fra formelen over.

### 3.1.4 Tekstur analyse: Stable Micro System

I dette forsøket ble det benyttet Stable Micro System TA.HDplus Texture Analyser, bestående av en 35 mm sylindrisk probe som under analysen komprimerte pelleten med en hastighet på 1 mm/sek. Pelleten ble satt i posisjon i instrumentet og tilført mekanisk kraft. Da pelleten knakk ble dataen om kraft, tid og avstand samlet i en graf i programvaren Exponent (Stable Micro systems Ltd, 2016).

For å oppnå en representativ verdi av elastisitet og hardhet, ble 20 pelleter fra hvert fôrnummer (pellet parti) analysert og gjennomsnittet av de 20 pelletene ble satt som resultat.

### 3.1.5 Rapid Visco Analyzer

Viskositetsanalysene ble utført med RVA 4500. 10 g prøve og 25 g vann ble plassert i en aluminiums beholder som ble montert med en omrøringsmotor. Instrumentet varmet opp og kjølte ned prøven med temperatur intervall 25°C - 95°C - 25°C. Viskositet og temperatur data ble målt over tid i en graf.

Resultatet oppgir sluttviskositeten i centipoises (cP) der 1 RVU = 12 cP.

### 3.1.6 Low Field Nuclear Magnetic Resonance

NMR Analyzer Bruker minispec mq10 ble benyttet for fettanalyse. Analysen ble utført ved å fylle prøverørerne med pelleter til 3,5 cm og plassert i instrumentet. 2 paralleller ble analysert for et tilfredsstillende resultat.

Fett- og vanninnholdet i prøven ble kalkulert ut fra kalibrering av instrumentresponsen fra et sett referanseprøver med kjent innhold.

### 3.1.7 Fettlekkasje

Fettlekkasje ble utført ved å veie 20 gram prøve i en tube med en sammenkrøllet papirball av typen Kimtech (KIMTECH SCIENCE KIMWIPES Delicate Task Wipers 4.4" x 8.4") i bunnen av hver tube. Pelletene ble sentrifugert ved 20° C og 100 G i 3 minutter. For å kalkulere fett tapet ble prøven veid. Det ble utført 3 paralleller fra hvert fôrnummer.

Denne metoden gir en rask indikasjon på fettlekkasje i pelleter. Resultatet ble oppgitt i prosent, relatert til fettlekkasje, beregnet for 3 paralleller:

$$\% \text{ Relativt fett tap} = 100 * ((A-B) * 100) / (A * C)$$

A = gjennomsnittets vekt på pelletene før test(g)

B = gjennomsnittets vekt på pelletene etter test (g)

C = gjennomsnittets verdi LF NMR fett innhold (%)

### 3.1.8 Bestemmelse av volumvekt

Volumvekten til pellet måles før coating med fett for å få en oversikt over hvor mye fett som kan trekke inn i pelleten. Dette ble gjort etter ekstrudering av pelletene ved å fylle en prøveholder med 1 liter pellet fra samme parti og deretter veie pelletene i prøveholderen (figur 3-1). Vekten av 1 liter pellet avgjør mengden fett som kan trekkes inn i pelleten.



figur 3-2 prøveholder for å veie 1 liter pellet for å avgjøre volumvekten

## 3.2 MIKROCT ANALYSE

50 pelletparti ble skannet, med 4 replikater fra hvert parti. Gjennomsnittsverdien til hver av de 4 replikatene ble representativ for sitt pelletparti. Alle pelletene ble skannet med SkyScan 1275 røntgen mikro-tomografi bilde system (SkyScan, Kontich, Belgia) med 1 mm aluminiums filter. Et flat-panel kamera med kamera piksel størrelse 75 µm samlet opp røntgenstrålenes data. Skanningen ble utført med en pikselstørrelse 13 µm for bildet, strålingskildens spenning var 80 kV og den elektriske strømmen var 125 uA for å oppnå best kontraster. Pelleten i instrumentet ble satt til å rotere 180° med rotasjonssteg 0,4 grader. Gjennomsnittsmålingene (frame averaging) ble satt til 3. Bilderekonstrueringen ble utført i programvaren NRecon med GPU akselerering og GPUReconServer (versjon 1.7.3.2). Denne programvaren bruker modifisert Feldkamp multi-slice volumetrisk rekonstruerings algoritme (Bruker microCT, 2017a). Strukturanalysen ble kalkulert med SkyScan CTan programvare (versjon 1.5.13) for 3D analyse.



## 4 RESULTAT OG DISKUSJON

---

### 4.1 OPPSETT AV RØNTGEN MIKRO-TOMOGRAFI (MIKROCT) FOR SKANNING AV PELLET

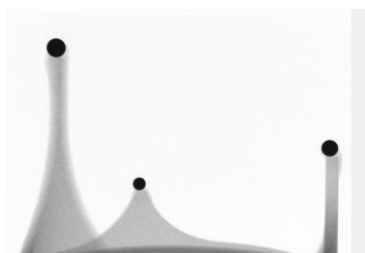
Et korrekt oppsett av instrumentet er viktig for å oppnå nøyaktig rekonstruksjon med presise geometriske egenskaper. Riktig justering av instrumentet avhenger av en kombinasjon av kalibrering i fabrikken og vedlikeholdsjusteringer av operatør.

For å sette opp en korrekt metode for skanning av pellet med mikroCT, er følgende prosedyrer avgjørende:

1. Prøveopparbeidelse og prøvemontering
2. Skannings parametere og prosedyre
3. bilderekonstruksjon
4. Struktur analyse

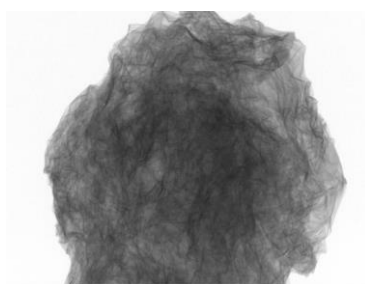
#### 4.1.1 Generell justering av instrumentet

For å oppnå nøyaktige tredimensjonale parametere benyttes fysiske tredimensjonale fantomer med ulike geometrier og tykkelser, helst mest mulig lik prøvene som skal skannes. Først ble metrologisk kalibrering utført på instrumentet for å oppnå korrekt geometri (figur 4-1)



figur 4-1 Projeksjonsbilde av 3 ball, metrologisk kalibrerings fantom kjørt i SkyScan 1275

Deretter ble det utført aluminium fantomkalibrering for å justere tykkelse. En sammenkrøllet ball av aluminiumsfolie med 13 mm diameter og 2,3 mm høyde ble skannet og kalkulert for å oppnå korrekt mål for tykkelse som vist i figur 4-2.



figur 4-2 Aluminium fantomkalibrering for tykkelse

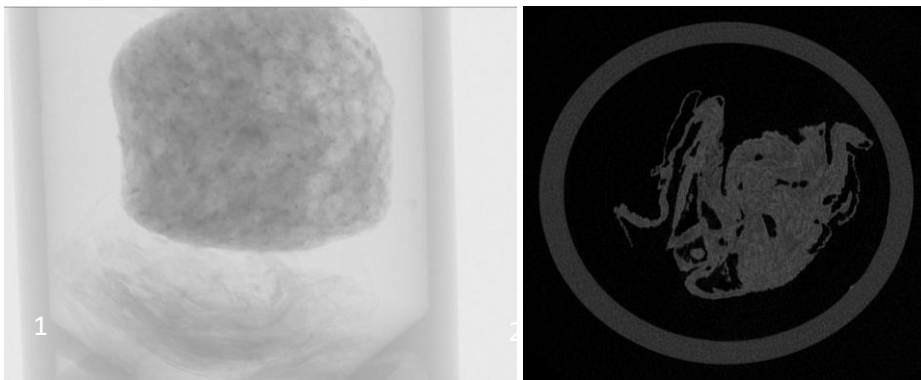
#### 4.1.2 Prøvebeholder utvikling

MikroCT skanning krever ingen prøveoppbeidelse av selve pelleten, da den kan skannes slik den er. Derimot er prøvemontering viktig for å holde prøven stabil under skanning og hindre at selve prøveholderen blir for dominant i det projiserte bildet. Bruker SkyScan har ikke utviklet ferdigproduserte prøvebeholdere for analyse av pellet i mikroCT skanner. Derfor ble det nødvendig å utvikle en prøveholder for korrekt skanning av pellet.

Pelleter med flere ulike prøveholdere ble skannet for å finne en beholder med riktig størrelse og som ga klarest mulig bilde av pelleten. Flere ulike forsøk med ulike holdere i både glass og plast ble utført. Best resultat ble oppnådd ved å bruke 5 ml transportrør i polypropylen fra VWR med høyde 58,6 og diameter topp/bunn på 15,9/15,2 mm (artikkelnummer 16465-262). Prøvebeholderen ble tapet fast til MikroCT prøveholder (figur 4-7).

Prøveoppbeidelse med papir

Det er viktig å unngå berøring mellom pellet og prøvebeholderens vegg. Derfor ble papir fra KIMTECH SCIENCE KIMWIPES Delicate Task Wipers 4.4" x 8.4" plassert under pelleten i tuben for korrekt posisjonering. Ulempen dette medførte var at pelletene inneholder olje som blir trukket inn i papiret og gjorde papiret synlig i det skannede bildet og ga feilaktig resultat. I tillegg blir resultatet av fettinnholdet i selve pelleten lavere, da deler av fettene trakk inn i papiret (figur 4-3).

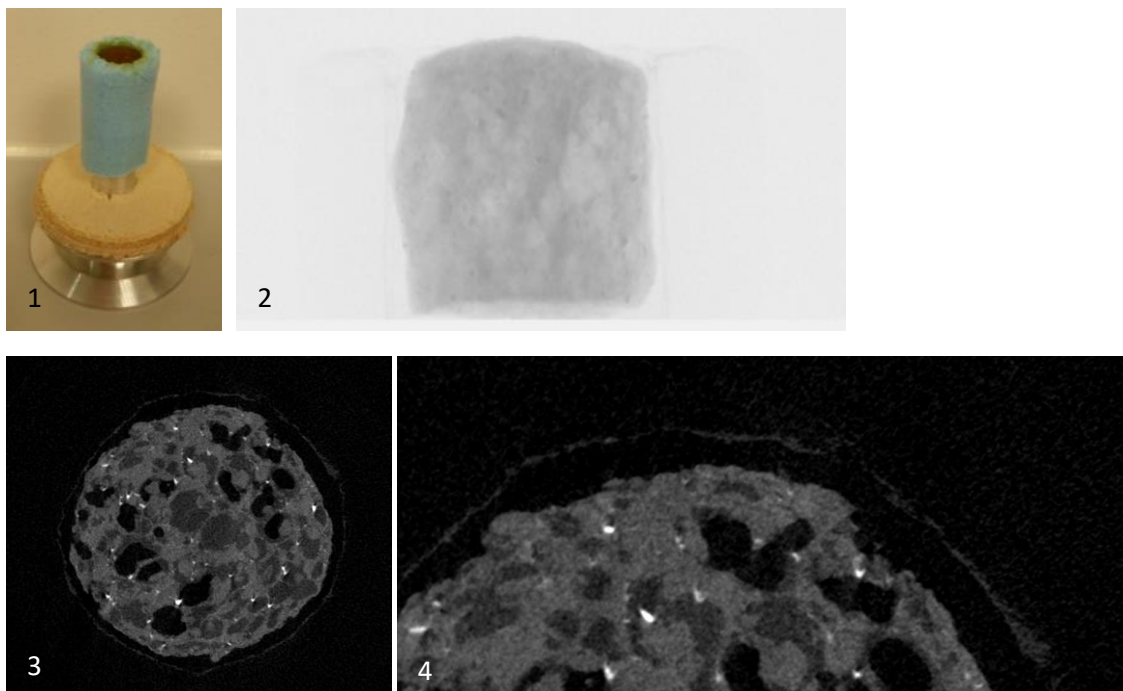


figur 4-3 Bilde 1 viser det skannede bildet av pellet i en prøvebeholder med papir i bunnen. Bilde 2 viser rekonstruert tverrsnittsbilde av papiret under pelleten.

Prøveoppbeidelse med isoporscum

Det ble deretter forsøkt å bruke prøvebeholder laget av isopor skum, ettersom isopor har svært lav atomisk tetthet og kan dermed elimineres i «custom processing» i CTan. Ulempen med denne metoden er at prøvebeholderen berører store deler av pelleten og gjør det vanskelig å lage korrekt ROI (region av interesse) og oppnå korrekt kalkulering (figur 4-4).

Det ble derfor ønskelig å finne en løsning der minst mulig isopor berørte pelleten i tillegg til at prøvebeholderen ikke berørte pelleten for å få mest mulig luft rundt pelleten under skanning.

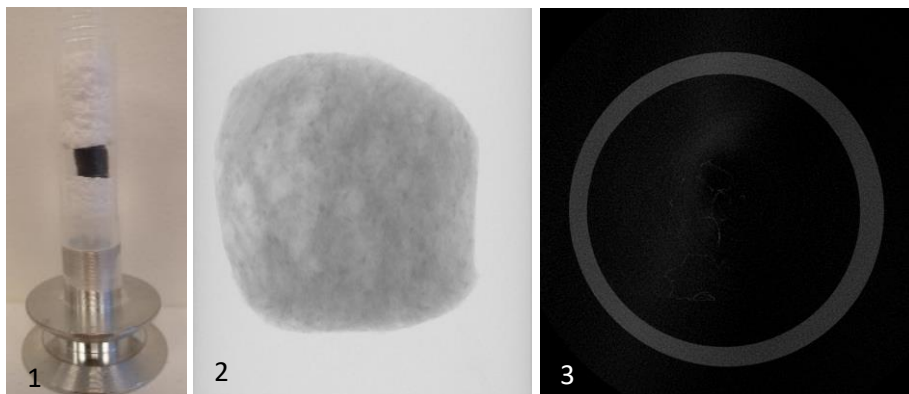


figur 4-4 Bilde 1 viser prøvebeholder laget av isoporskum, med pellet i midten. Bilde 2 viser det skannede bildet av pelleten. Bilde 3 og 4 viser rekonstruert tverrsnitt av pelleten inni isoporskum. Bilde 3 og 4 viser at kanten til isoporskummet vises igjen i det rekonstruerte bildet.

Prøveopparbeidelse med isopor plater

På grunn av isopors lave atomiske tetthet ble sirkulære isopor plater over og under pelleten inni prøvebeholderen benyttet, for å undersøke hvorvidt røntgenstrålene kunne passere rett gjennom isopor uten å bli absorbert.

Isoporplatene klarte å holde pelleten stabil under skanning og hindret pelleten i å berøre kanten av prøvebeholderen, samtidig ble prøven separert fra instrumentets metallbeholder (figur 4-5). For et mest mulig sammenlignbart resultat mellom skannene av pelletene, er det viktig å ha lik størrelse på den nedre isoporplaten ettersom den avgjør pelletens vertikale plassering i mikroCT instrumentet. Nedre isoporplate ble skåret ut med målene: 20 mm høyde og 15 mm diameter. For at hver nedre isoporplate skulle bli så lik som mulig i diameter og tykkelse, ble det slipt et stålrør som kunne skjære ut de sirkulære isoporplatene i nøyaktig samme størrelse (figur 4-6).



figur 4-7 Bilde 1 viser pelleten plassert i prøvebeholder, med isoporplater over og under for å holde den stabil. Bilde 2 er et skannet bilde av pelleten i prøvebeholderen med isopor plate over og under pelleten. Bilde 3 er rekonstruert tverrsnittsbilde av isoporplaten under pelleten.



figur 4-8 Bilde av stålrøret som skjærer ut isoporplatene i lik diameter.

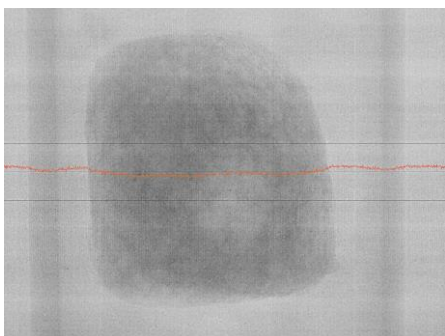
#### 4.1.3 Skanningsparametere og prosedyre

Det er viktig å sette opp en nøyaktig bakgrunns normalisering for å bedre bildekvaliteten, normalisere detektorrespons, redusere artefakter og ta høykvalitets projiserings bilder. Bakgrunns normaliseringen bør kontrolleres med jevne mellomrom fordi intensiteten avtar med tid, dermed må eksponeringstiden og/eller den elektriske strømmen og spenningen også økes for å oppnå samme intensitet.

Skanningsprosedyren ble utført i følgende rekkefølge:

1: Først ble prøven posisjonert korrekt i mikroCT skanneren, med tanke på høyde, forstørrelse og rotering, for å kontrollere hvorvidt hele prøven er i FOV (field of view) til enhver tid under skanning.

2: Etter at prøvens posisjonering i instrumentet ble fastsatt, ble flat field (FF) skrudd av for å justere strålingskilden. Responsen bør da være minimum 20% og maksimum 50%. Luft bør være maksimum 90% for å unngå støy i bildet. Figur 4-9 viser prøven i FOI med avslått flat field, med 38% respons gjennom prøven. Transmisjonen kontrolleres av den elektriske strømmen i strålingskilden (source current), spenningen i strålingskilden (source voltage) og av eksponeringstid.

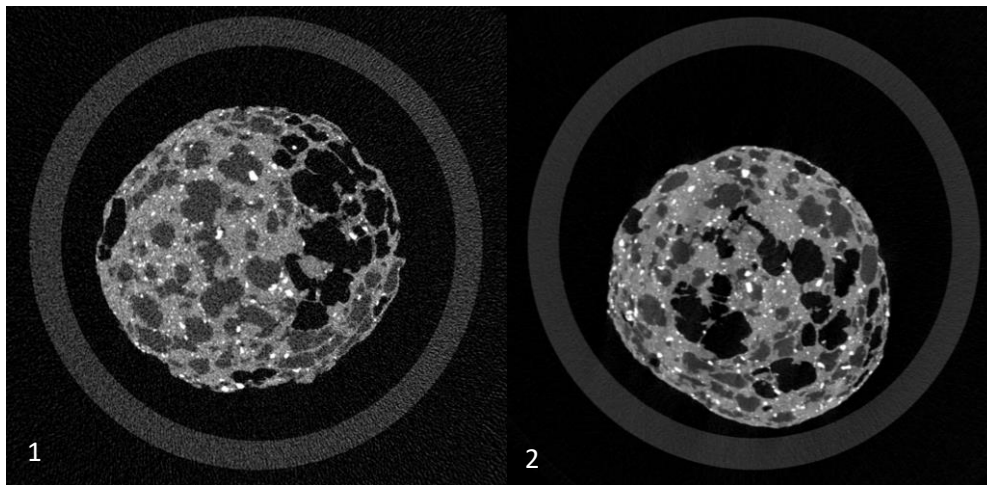


Figur 4-9 38% respons gjennom prøven med avslått flat field.

3: Prøven ble fjernet fra skjermen (FOI) for å justere kameraet. Den lineære rekkevidden til responsen i kameraet bør være mellom 60 – 70%. For å oppnå 70% respons måtte eksponeringstiden økes til 43 ms. Ved å øke eksponeringstiden økes også antall røntgenstrålingspartikler i FOI, responsen vil ha en lineær økning.

4: Deretter ble bakgrunnsnormaliseringen (flat field correction) oppdatert og evaluert. For å evaluere bakgrunnen etter flat field korrigering, må prøven være korrekt posisjonert i FOI med flatfield på. Transmisjon gjennom prøven skal da være rundt 30% - 40% og transmisjon gjennom luft skal være maksimalt 90%.

Etter å ha fastsatt innstillingene for prøvens posisjonering, eksponeringstid, valg av den elektriske strømmen og spenningen i strømstrålingskilden, ble rotasjonssteg og gjennomsnittsmålinger testet ut for å oppnå best mulig bilderesultat. Figur 4-10 viser ulikhetene som oppstår ved å bruke rotasjonssteg 0,8° og 0,4°.



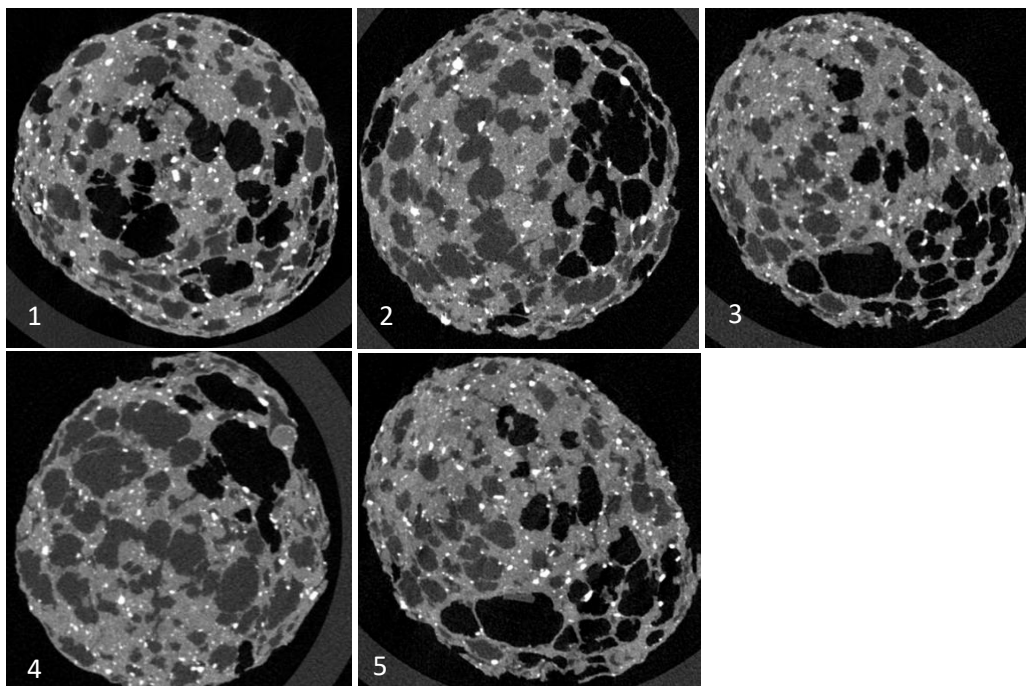
Figur 4-10 Pellet skannet med rotasjonssteg 0,8° (bilde 1) og rotasjonssteg 0,4° (bilde 2)

For å komme frem til best bildekvalitet ble pelletter skannet med 5 ulike innstillinger og deretter sammenlignet for å finne det beste resultatet (tabell 4-1). Bildets pikselstørrelse ble på forhånd fastsatt til 13 µm, med rotasjon på 180° og rotasjonssteg ble fastsatt til 0,4°. Alle skannene ble utført med flat field korreksjon.

tabell 4-1 viser oversikt over ulike innstillinger for å oppnå optimal bildekvalitet

	1	2	3	4	5
<b>Spenning (kV)</b>	40	40	80	80	80
<b>Elektrisk strøm (µA)</b>	250	250	125	125	125
<b>Eksponeringstid (ms)</b>	42	42	56	43	80
<b>Skanningsposisjon (mm)</b>	9,5	9,5	9,5	9,5	15
<b>Gjennomsnittsmåling</b>	3	5	3	3	3
<b>Filter (1 mm Al)</b>	No	No	Al	Al	Al





Figur 4-11 Skannede pelletter med de ulike MikroCT innstillingene. Bilde 1 viser mikroCT innstilling 1, bilde 2: innstilling 2, bilde 3: innstilling 3, bilde 4: innstilling 4, bilde 5: innstilling 5

Etter å ha sammenlignet de ulike innstillingene vist i tabell 4-1 ble det bestemt å bygge videre på innstilling 4 (tabell 4-3). Som Figur 4-11 viser, er det liten forskjell mellom de ulike innstillingene. Innstilling 1 ble valgt som den innstillingen som ga best kontraster mellom luft, matriks og olje. Ved å teste innstilling 1 med isoporplater over og under pelleten, ga den derimot ikke gode resultater. Isoporen ble ikke transparent nok uten filter. Det ble derfor nødvendig med 1 mm aluminiumfilter, for å få isoporen mest mulig transparent i det skannede bildet, som vist i figur 4-7. Innstilling 4 med aluminiumfilter ble derfor valgt for videre justering. Figur 4-11 viser bilde av pelletter skannet med gjennomsnittsmålinger på 3 og 5 (Figur 4-11, bilde 2 har gjennomsnittsmåling 5, de andre har 3). Det er ingen forskjell i bildekvaliteten med gjennomsnittsmålinger på 3 og 5, derfor ble gjennomsnittsmåling 3 valgt for å få lavere skanningstid uten å måtte inngå kompromiss med bildekvaliteten.

Bakgrunnskorrigering er viktig for å korrigere alle variasjonene av røntgenstrålenes intensitet gjennom detektoren. Røntgenstrålene vil være mest intense i detektorens midtre del og mindre intense i detektorens periferi.

Ulempen med å velge for høy spenning i strålingskilden er at det kan føre til dårlige kontraster i bildet. En tommelfinger regel for valg av spenning er at små biologiske prøver bør ha lav spenning (40–150 kV). Dersom tungmetaller eller store steiner skal skannes, kreves høyere spenning (160–240 kV). Derfor ble det valgt forholdsvis lav elektrisk spenning i strålingskilden (80 kV) for skanning av laksepelletter. For prøver med høyere tetthet vil det være nødvendig med mer energi og derav høyere volt.

For å oppnå korrekt transmisjon av røntgenstråler gjennom luft og prøve må spenningen og den elektriske strømmen justeres. Dersom røntgenstrålene penetrerer med for lave verdier bør eksponeringstiden økes eller øke den elektriske strømmen (source current) eller spenningen (source voltage). Dersom spenningen øker, bør den elektriske strømmen (current) reduseres som utført i tabell 4-1. Detektoren kan bli mettet som et resultat av for høy elektrisk strøm eller spenning, i så fall bør beam hardening korrigering bli tilført eller filter tilsatt for å redusere lav-energi røntgenstråler.

I tabell 4-1 vises de ulike skanningsparameterne som ble testet ut og validert under skanningsprosedyren. Som følge av at 1 mm aluminiumfilter ble montert, ble den elektriske strømmen i strålingskilden redusert fra 250 uA til 125 uA. Spenningen i strålingskilden økte fra 40 til 80 kV, som gir mer elektrisk strøm og derav mer stråling for å oppnå best mulig bilde og korrekt intensitet i røntgenstrålene. Høyere volt gir kortere bølgelengder på strålingen. Eksponeringstiden påvirker skanningstiden, dersom mange prøver skal skannes er det ønskelig å ha lavest mulig eksponeringstid, samtidig er det viktig å oppnå optimale bilder. Derfor ble eksponeringstiden satt til 43 ms som gir kort skanningstid samt klare bilder og korrekt intensitet av røntgenstråler. Under posisjonering av prøven ble bildets pikselstørrelse satt til 13  $\mu\text{m}$  og skanningsposisjon 9,5 mm (tabell 4-3).

#### 4.1.4 Bilderekonstruksjon

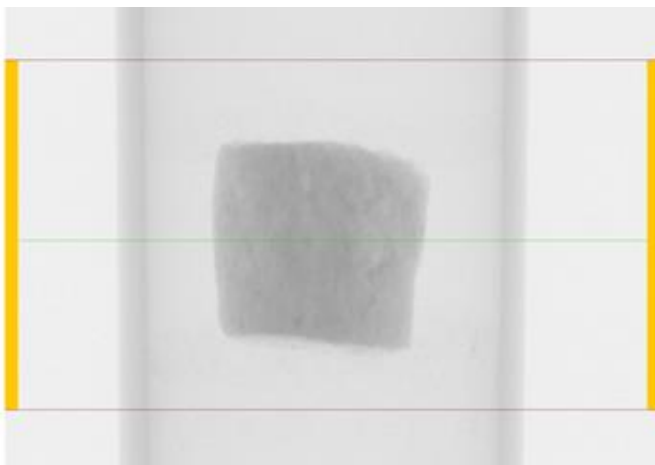
Bilderekonstruksjonen ble utført i programvaren NRecon med programmene GPU akselerering og GPUReconServer aktivert.

##### 4.1.4.1 Optisk akse

Først ble optisk akse, avstand mellom kilde og objekt og avstand fra kilde til detektor, bestemt. Dette ble utført i programvaren NRecon.

Avstanden mellom kilde til objekt og kilde til detektor og optisk akse vises i loggfilen for hvert skann. Den optiske aksene (linjen) ble justert i NRecon programmet til linjenummer 752. Avstand fra objekt til strålingskilde ble endret i NRecon fra 88 mm til 42 mm etter kalibrering. Deretter ble det utført finjustering for optimalt bilde, der avstanden mellom objekt til kilde ble endret til 46 mm. Avstanden mellom kamera og strålingskilde stod fast på 286 mm.

I figur 4-12 vises den optiske aksene i bildet som en grønn strek i linjenummer 752 og representerer den horisontale linjen av kamerapiksler som er nærmest røntgenstrålenes emisjonspunkt. Dette er den eneste linjen hvor røntgenstrålene fra strålingskilden treffer kameraet ved nøyaktig 90° graders vinkel. Over og under denne linjen vil røntgenstrålene skrå oppover til linje 1237 og nedover til linje 199, disse parameterne ble fastsatt under prøvens posisjonering i mikroCT instrumentet for å finne optisk akse.

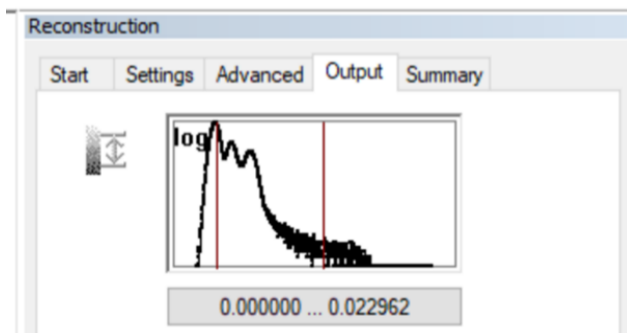


figur 4-12 grønn linje viser «optisk akse» i bildet, Øverste rød strek viser øvre rekkevidde (1237) og nedre rød strek viser nedre rekkevidde (199). innenfor dette området blir rekonstruksjonen utført. Utenfor de røde strekene vil ikke rekonstruksjonen inntreffe.

#### 4.1.4.2 Grenseverdi for kontrast (contrast limit)

Etter at det projiserte bildet er rekonstruert i NRecon vises histogram over attenuasjonskoeffisienten (tettheten) til alle pikslene i det rekonstruerte tverrsnittet. Tverrsnittsbildene rekonstrueres i 8 bit per piksel og har 256 ulike grånyanser, hvorav den laveste grånyansen er 0 og den høyeste nyansen av grått er på 255. Ut fra dette velges grenseverdiene for kontrastene. Når den røde horisontale linjen i log skalaen i displayet flyttes, kan kontrastverdiene endres for å oppnå best mulig kontrast og tetthet for å rekonstruere et klart og skarpt bilde (figur 4-13).

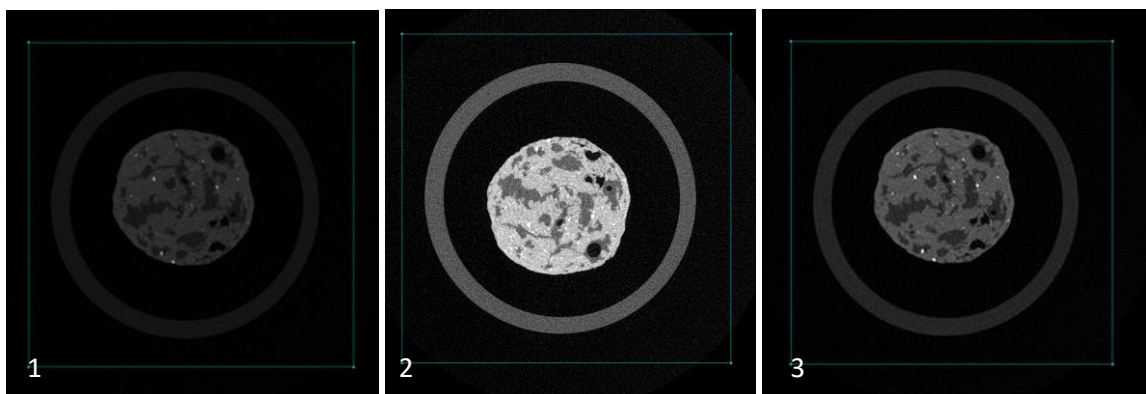
Luft har attenueringsverdi null. Når luft settes som null vil et likt antall voxler bli rekonstruert med både negativ og positiv attenuering sentrert rundt null. En tommelfinger regel for øvre kontrastgrense er å sette den 10% - 20% høyere enn maksimum attenuering av materie, i dette tilfellet pelleten. Derfor ble laveste grenseverdi for kontrast satt til 0.



figur 4-13 log skalaen i den vertikale y-aksen hvor grenseverdien for kontrast velges. Skalaen går fra 0 til 256 ved bruk av 8 bit per piksel.

Ved å velge for høy øvre grenseverdi blir det vanskelig å separere luft og olje, fordi luft blir svart og olje blir mørk grå (figur 4-14, bilde 1). Dersom den øvre grenseverdien settes for lavt er det vanskelig å skille mellom pelletmasse og beinfragmenter, som vises i bildet som lys grått og hvitt (figur 4-14, bilde 2).

Høyeste grenseverdi for kontrast ble satt til 0,023. De valgte verdiene viser tydelige kontraster mellom de ulike matriksene i tverrsnittet og gjør kvantifiseringsmålinger av tetthet mulig. Luft er svart, pelletmasse er lysgrå, olje er mørkgrå og faste fragmenter som beinrester er hvit (figur 4-14, bilde 3).



figur 4-14. Bilde 1 viser pellet med øvre grenseverdi for kontrast fra 0 til 0,04. Bilde 2 viser pellet med øvre grenseverdi 0,01. Bilde 3 viser tverrsnitt av pellet med grenseverdier for kontrast fra 0 til 0,023.



#### 4.1.4.3 Rekonstruksjonsparametere i NRecon

I NRecon er det 4 parametere som behøver å innstilles for optimalt rekonstruksjons bilde:

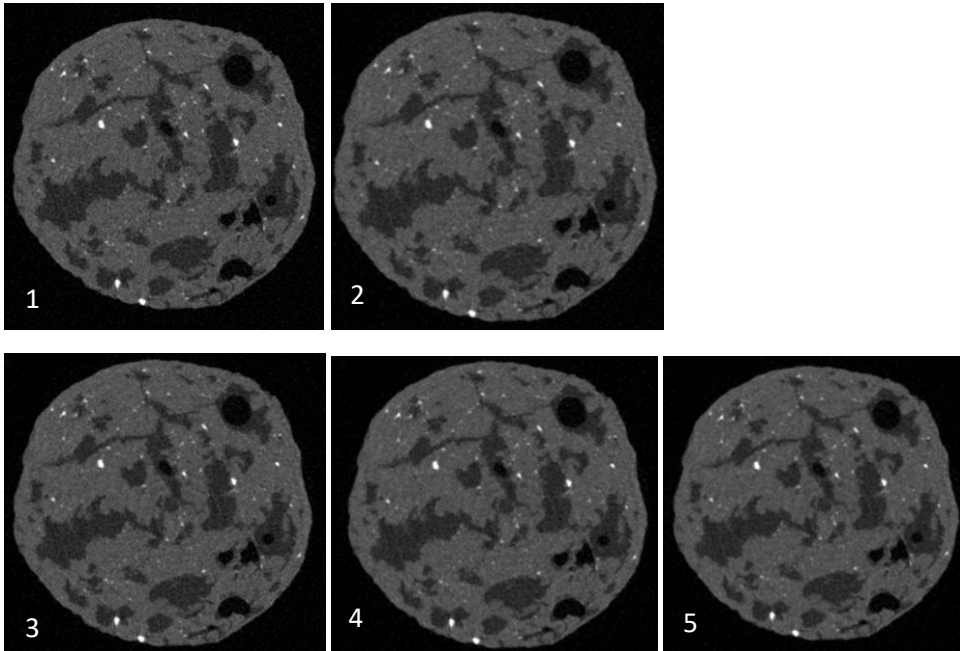
- Utjevning (smoothing)
- Post-justering (misalignment)
- Ring artefakt reduksjon
- Beam hardening kompensasjon

##### Utjevning

Utjevning kan være nødvendig for å redusere støy i det rekonstruerte tverrsnittet, men det kan også gjøre bildet tåket og uklart, slik at små detaljer i det rekonstruerte bildet går tapt.

Det ble utført 5 tester for utjevning, med utjevningsparametere fra 0 til 5, med stigning på 1, for å teste hvilken verdi som ga best bilde. Utjevningen ble utført med Gaussian funksjon.

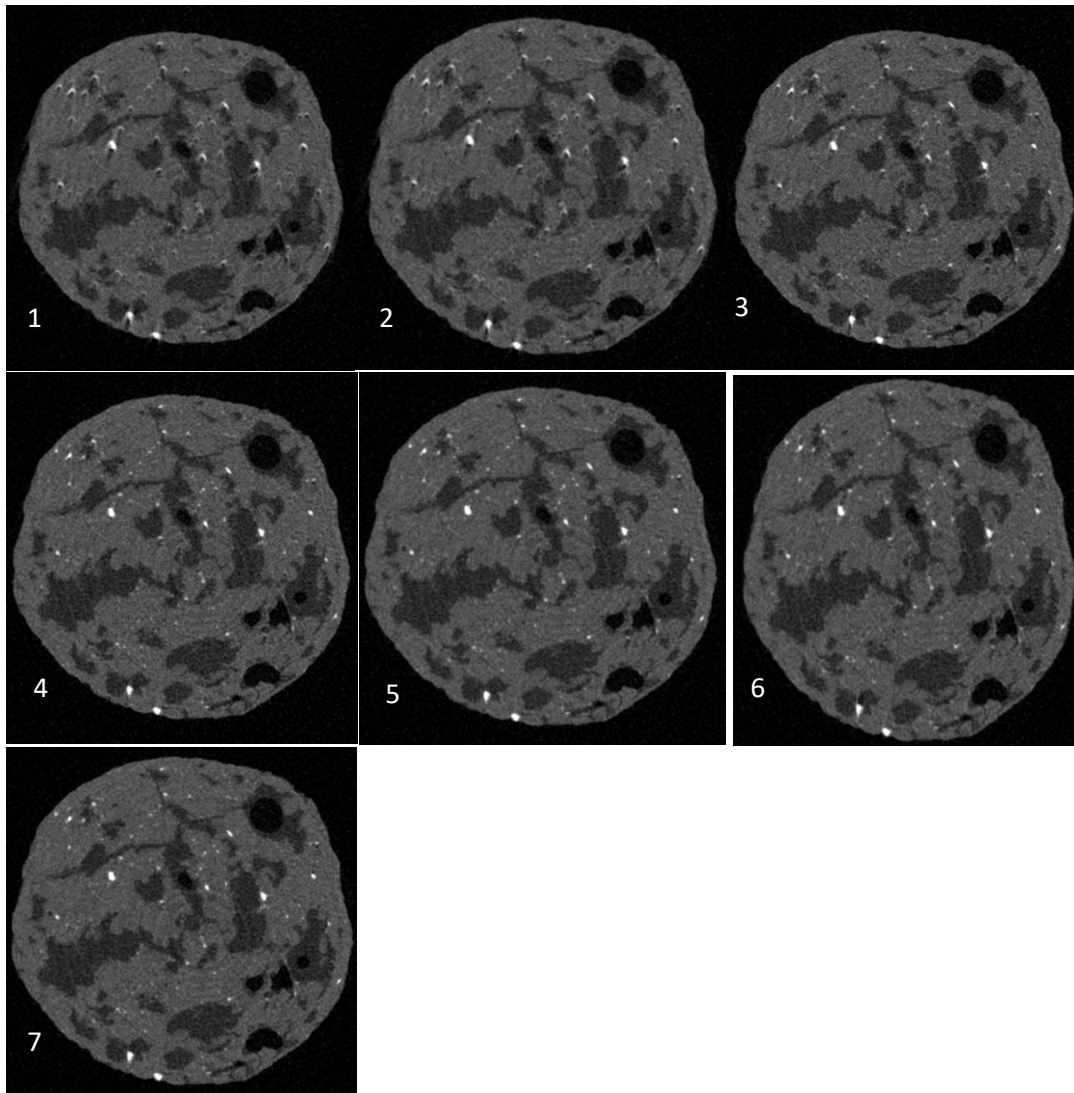
Ettersom det rekonstruerte bildet av pelleten ga svært lite støy, og små detaljer i det rekonstruerte bildet gir relevant informasjon, ble parameteren satt til 0 for utjevning. I figur 4-15 blir bildene gradvis blir mer utjevnet, men samtidig mer uklare og dekker over de minste beinfragmentene.



figur 4-15 Bilde 1 har utjevnings parameter 0, bilde 2 har utjevningsparameter 1, bilde 3 har utjevningsparameter 2, bilde 4 har utjevnings parameter 3, bilde 5 har utjevnings parameter 4.

### Misalignmennt

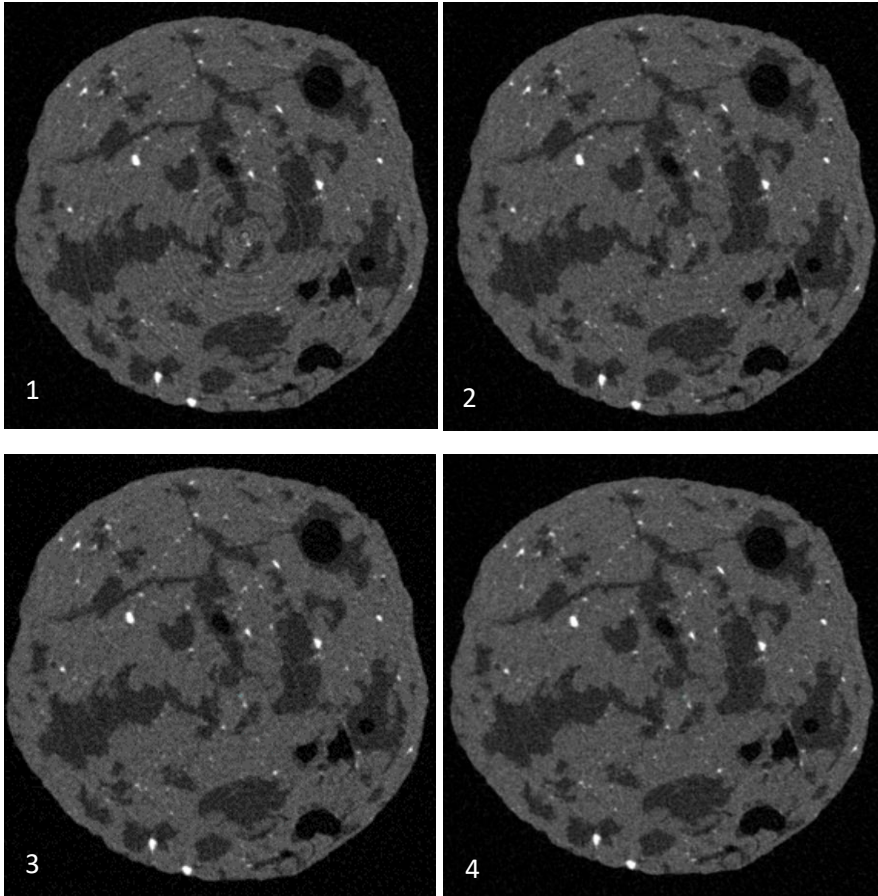
Misalignment (Post-justering) er nødvendig for å unngå artefakter som tåkete detaljer, doble detaljer eller «vinger» på detaljene i bildet. Misalignment verdien refererer til et gitt antall piksler. Det ble utført 5 tester med misalignment verdier fra -0,5, med en stigning på 1, for å «prøve og feile» frem til korrekt korreksjonsparameter. Parameter 1,5 for misalignment ble fastsatt, da dette ble vurdert til å gi best resultat (figur 4-16, bilde 4). Misalignment med korreksjonsfaktor -1,5 og -0,5 ga såkalte «Vinger» på bildet og korreksjonsfaktor 2,5, 3,5 og 4,5 gjorde bildene mer uklare.



figur 4-16 oversikt over de 5 post-justeringene som ble utført for å finne beste parameteren for misalignment. Bilde 1: - 1,5. Bilde 2: -0,5. Bilde 3: 0,5, Bilde 4: 1,5. Bilde 5: 2,5. Bilde 6: 3,5, Bilde 7: 4,5

### Ring artefakt korreksjon

Ringartefakter kan forkomme på bilder, selv med korrekt detektor, passende filter og flatt felt korreksjon. Ring artefakt er alltid verst i prøvens senter som følge av at det er lavest transmisjon ved kantene. NRecon kan redusere artefakter i varierende grad med «prøve og feile» justering. Det ble utført 4 tester hvorav den første startet på 0 og økte med en enhet. Ringartefakt korreksjon på 3 ga best resultat og denne korreksjonen ble implementert i NRecon.

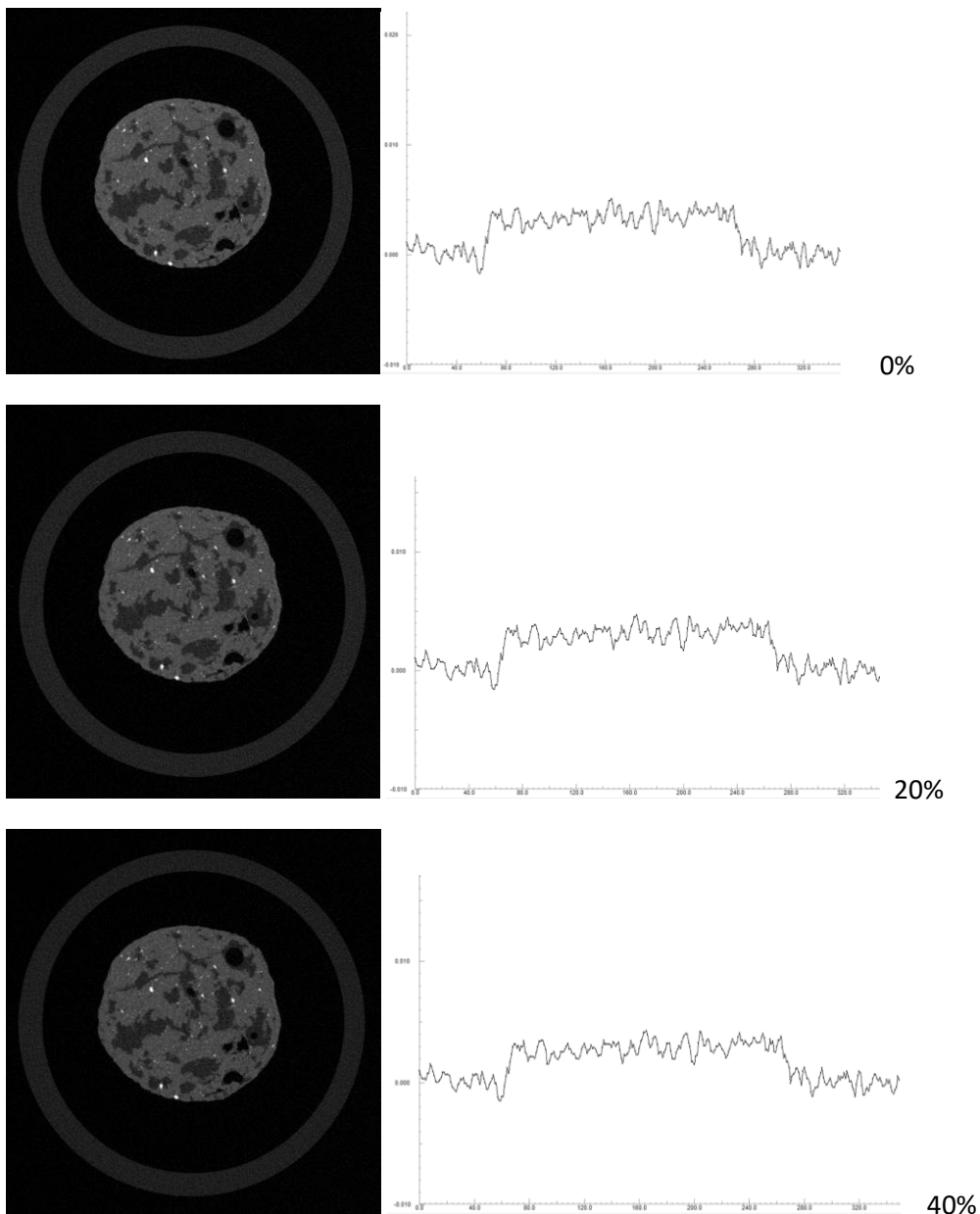


*figur 4-17 Ringartefakt justeringer 1 - 4.*

## Beam Hardening

Beam hardening kan reduseres i NRecon, men ettersom det ble fastsatt å benytte aluminiumfilter, ble problemet med beam hardening eliminert. Beam hardening korreksjon er oppgitt i prosentverdi, fra 0-100%, der høyere korreksjonsverdi gir sterkere korrigering, men for mye beam hardening korrigering fører til mer støy. For å velge best korrigering er det viktig å se på generell skarphet på kantene i bildet.

Under korrigering av beam hardening settes det opp et profil histogram som viser endringene i attenueringen (tettheten) over et valgt område i tverrsnittsbildet, denne streken dras manuelt over valgt område for beam hardening korreksjon. Som vist i figur 4-18 er det ingen effekt med beam hardening korreksjon. Bildene gir en nærmest flat profil uten «cupping effekt».



figur 4-18 Beam hardening korreksjon fra 0% til 40% med aluminiums filter

I tabell 4-2 vises oppsummering av de valgte parameterne for skanning av pellet.

tabell 4-3 Oversikt over valgte skannings og rekonstruksjonsparametere.

Spenning (kV)	80
Elektrisk strøm (uA)	125
Eksponeringstid (ms)	43
Skanningsposisjon (mm)	9,5
360 rotasjon	No
Tilfeldige bevegelser	Off
Flat field korreksjon	On
FF intervall	105
Gjennomsnittsmåling	3
Filter (1 mm Al)	Al
Pikselstørrelse bilde ( $\mu\text{m}$ )	13
Rotasjonssteg (deg)	0,4
Optisk akse (linje)	752
avstand objekt til kilde (mm)	45,945
Avstand kamera til kilde (mm)	286
Øvre rekkevidde	1237
Nedre rekkevidde	199
grenseverdi for kontrast	0-0,022962
Utjevning (smoothing)	0
Misalignment	1,5
ring artefakt korrigerings	3
Beam hardening	0

#### 4.1.5 Strukturanalyse av pellet

For å kunne gjøre kalkuleringer av pelletens volum og porer i «Batch manager» i CTAn er det nødvendig med korrekte innstillinger. Det viktigste er å registrere region av interesse (ROI) og å identifisere grenseverdiene for de ulike tetthetene. Dette gjøres ved å se på det binære bildet av pelleten i CTAn.

*For å gjøre en strukturanalyse av pellet er det viktig å identifisere gråskala indeksen for de ulike tetthetene for følgende: luft, olje, pelletmasse og beinfragmenter (*

tabell 4-4). Gråskala indeksen er mellom 0-255 gråtoner, som nevnt i avsnitt 2.2, der 0 er 0% gråhet og 255 er 100% gråhet. Kalkulering av strukturanalyser gjøres i programmet «custom processing» i CTAn. Figur 4-19 viser region av interesse (ROI) av pelleten, der prøvebeholderen er utelukket fra bildet ved «bitwise operation» og kun ROI er registrert.

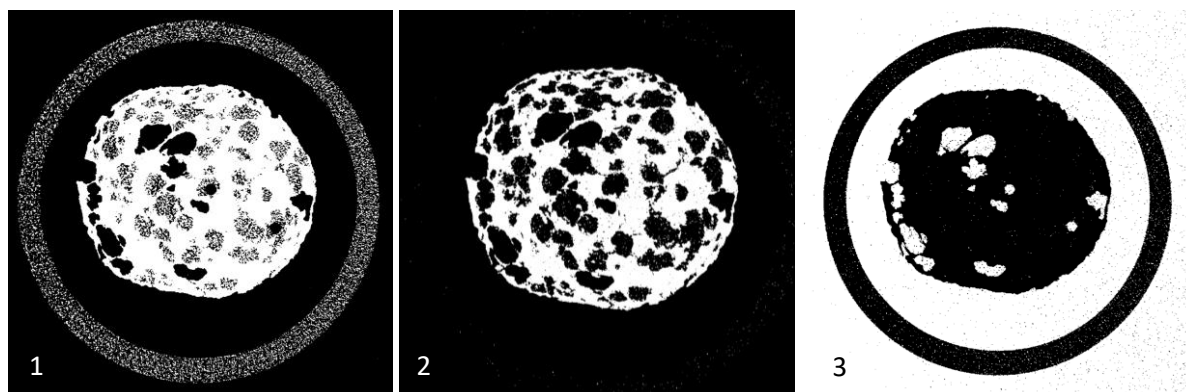


Figur 4-19 binært bilde av region av interesse (ROI) for å bestemme ROI området



tabell 4-4 oversikt over gråskala indeksene for de ulike komponentene i en pellet, basert på tetthet

Luft	20
Olje	44
Pelletmasse	85
Fiskebein fraksjoner	170



figur 4-20 Bilde 1 viser gråskala indeks 44-255 for registrering av region av interesse (ROI). Bilde 2 er poreanalyse med gråskala indeks 61-255. Bilde 3 viser poreanalyse av luftfylte porer, med gråskala indeks 0-22

#### Region av interesse (ROI)

I valg av region av interesse (ROI) må prøvebeholderen utelukkes for å unngå at den blir kalkulert sammen med pelleten og dermed gi feil resultat. Prøvebeholderen har lavere tetthet enn pelleten, men bare litt lavere tetthet enn oljen, derfor ble region av interesse (ROI) satt som grenseverdi med rekkevidde 44-255. Som figur 4-20, bilde 1, viser er fremdeles prøvebeholderen synlig, men den er ikke sammenhengende. Derfor ble «despeckle» valgt, med «sweep, remove all except the largest object». I figur 4-20, bilde 1 er pelleten det største objektet, slik at prøvebeholderen blir eliminert fra bildet. Pelleten i figur 4-20, bilde 1 skiller tydelig mellom luftfylte porer (sorte porer) og oljefylte porer (grå porer).

#### Porøsitetsanalyse av alle porer

For å registrere alle porer i pelleten ble grenseverdien satt til 61-255 for å få bedre kontrast mellom pelletmasse og porer. figur 4-20, bilde 2 skiller ikke mellom luftfylte porer og oljefylte porer, men skiller tydelig mellom pelletmasse og porer.

For indeks 61-255 er det nødvendig med «despeckle» for å sveipe over bildet og ta bort piksler som tilfører støy. I tillegg ble det benyttet «shrink-wrap» «stretch over holes with diameter equal or less than 100 pixels» for å oppnå hele og kontinuerlige porer.

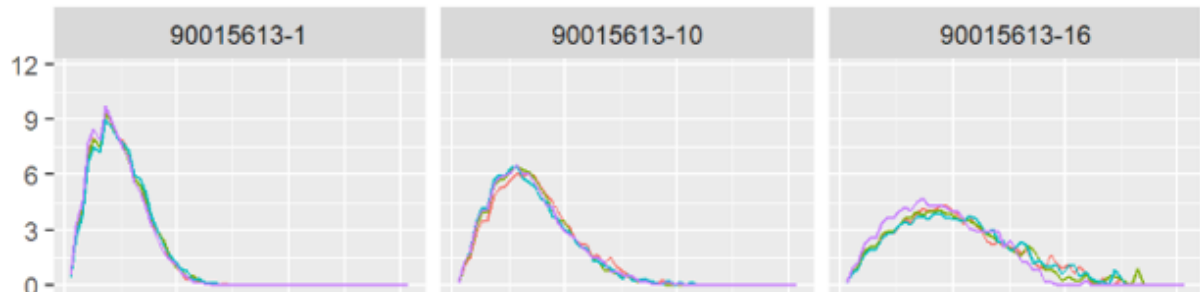
Under porøsitetsanalysen ble kalkuleringsene for alle porer utført. Under «structure separation» ble distribusjonen av alle porer analysert og under «structure thickness» ble distribusjonen av fast matriks analysert.

#### Analyse av luftfylte porer

For analyse av kun luftfylte porer ble gråskala indeksen satt til 0-22, ettersom luftfylte porer har en gråskala indeks på 22. I figur 4-20, bilde 3, viser kun luftfylte porer som har gråskala indeks 22 (luft). Ettersom olje har gråskala indeks 44 blir oljefylte porer utelukket fra bildet. De svarte prikkene i figur 4-20, bilde 3, ble fjernet fra bildet ved «despeckle» «remove black speckles less than 70 voxel» og analyse av luftfylte porer ble kalkulert i bildets ROI. Under «structure thickness» ble distribusjon av luftfylte porer analysert.

## 4.2 PELLETENES PORESTRUKTUR

Hvert parti med fiskepelletter ble skannet med 4 replikater i mikroCT. Dette for å teste repeterbarheten og for å kunne se likheter/ulikheter mellom pelletene innen hvert parti pellet. Vedlegg A viser porestruktur for alle skannede pelletter i prosjektet.

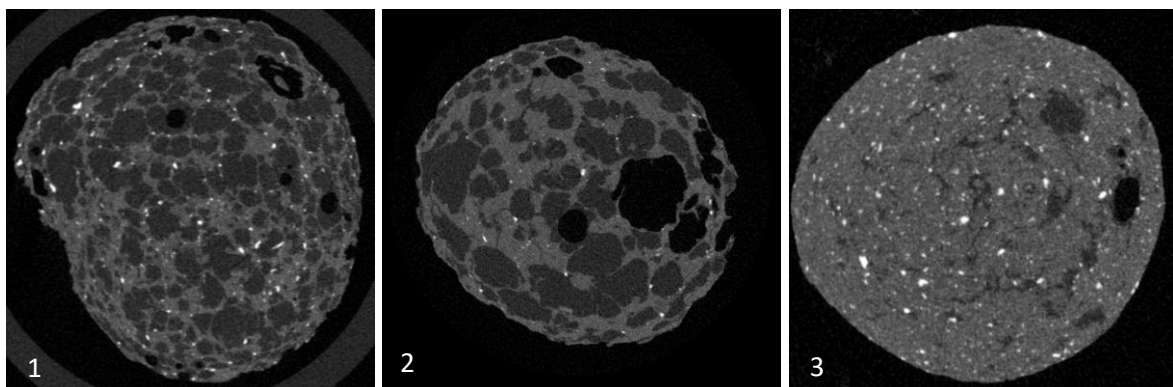


Figur 4-21 viser en oversikt over porestrukturen i hver pellet oppgitt i prosent. Det ble skannet 4 pelletter fra hvert parti. Figuren viser 3 ulike partier med pelletter der 4 replikater for hvert parti er lagt over hverandre.

Figur 4-21 og vedlegg A viser at det er liten forskjell i porestrukturen mellom pelletene i samme parti og at det er tydelig forskjell i porestrukturen mellom partiene. Dette tyder på at replikatene er representative og at CT skanneren kan skille de ulike partiene fra hverandre. Den store differansen mellom de ulike pelletene viser til at pelletene er blitt produsert under ulike betingelser, slik som ulik ekstrudering, ulike dyser, råvarer, temperatur, trykk og vanntilførsel.

Pelletenes oljefylte porer

Porene spiller en viktig rolle for fett i pelleten. Tre pelletter med ulik fettlekkasje ble sammenlignet for å se på ulikheter i porene i forhold til fettinnhold og lekkasje.



Figur 4-22 viser 3 pelletter med ulik fettlekkasje. Bilde 1: pellet nummer 56, bilde 2: pellet nummer 34, bilde 3: pellet nummer 24. Se tabell 4-5 for egenskaper.

tabell 4-5 Fettinnhold og fettlekkasje for tre pelletter med ulike porestørrelser

Pellet nr	Fettinnhold %	Fettlekkasje %
56	49	40
34	49	53
24	22	9

Figur 4-22 viser at porene har stor betydning for fettlekkasje. Pelleten til venstre og pelleten i midten har samme fettinnhold (49%), men pellet 34 har allikevel større fettlekkasje enn pellet 56 (tabell 4-5). Dette kan skyldes at pellet 34 har porer med svært ulike størrelser, fra svært store porer til små porer som alle er ujevnt fordelt, mens pelleten til venstre har jevnere fordelte porer med mindre størrelsesforskjell. Pellet 24 har svært lav fettlekkasje, og svært lavt fettinnhold (22%). Det lave fettinnholdet skyldes at porene er for små og kompakte til at oljen trenger inn i pelleten og fettlekkasjen er lav som følge av en kompakt pelletmasse. I Figur 4-22 ser man kun noen svært få oljefylte porer i pellet 24.

Å analysere porestruktur og distribusjon kan brukes som et verktøy for evaluering av fôr kvalitet. Fettlekkasje er som tidligere nevnt et stort problem for fôrindustrien. Ved å kunne bedømme porene kan også fôrets evne til fettlekkasje bedømmes.

### 4.3 KORRELASJONER MELLOM MIKROCT KALKULERINGER OG MÅLEDATA

50 pelletparti ble skannet i dette forsøket, fra pelletparti 1 til pelletparti 50. Fra hvert pelletparti ble det skannet 4 pelleter, hvorav gjennomsnittet av de fire replikatene ble representativt for pelletpartiet (vedlegg C). Vedlegg D viser alle resultatene fra mikroCT og kjemisk måledata.

2 avviksresultater, såkalte outlayers, ble fjernet fra målingene før statistisk analyse (vedlegg B). Dette var pelletparti 21 og 27, som begge hadde en diameter som var større enn standard maksimum diameter. Disse to pelletene ble tydelige avviksresultater ettersom de var for store for prøvebeholderen og berørte kanten på prøveholderen. Pelletene ga dermed feil verdier i kalkuleringene i CTan.

MicroCT dataene ble først analysert i prinsippal komponent analyse (PCA) i dataprogrammet «The Unscrambler X» versjon 10.5.1 (64-bit) fra Camo Software AS. Datasettet inkluderte MikroCT dataene og resultatene fra kjemiske analyser.

PCA ble kalkulert med NIPALS algoritmen, med tilfeldig kryssvalidering på 20 komponenter. Antall kalibreringsprøver ble satt til 48.

Ved å plote de ulike scorene i henhold til prinsippal komponentene, kan vi se etter tendenser og grupperinger i dataene som kan relateres til egenskaper ved de ulike parameterne.

Resultatene fra analysen ble visualisert gjennom correlation loading plot (X and Y), forklart varians, regresjonskoeffisienter og predikert vs referanse. Deretter ble de mest signifikante CT parameterne og kjemiske variablene valgt ut for å begrense datamengden.

Partial least square regression (PLS-R) – Unscrambler X ble brukt for å se på sammenhengen mellom MikroCT data (X) opp mot kjemiske variabler (Y) med Kernel algoritmen. Ettersom resultatene viser til stor forskjell i størrelsesorden mellom variablene, ble verdiene standardisert for å unngå nominell verdi og varians skal påvirke resultatet.

PLS modellene ble validert med full kryssvalidering. Antall kalibreringsprøver i modellen ble satt til 48.

Vannstabilitetsreferansene som ble benyttet i dette forsøket er resultater hentet fra metoden beskrevet i avsnitt 3.1.2 som er standard vannstabilitetsanalyse ved Cargil Innovation Center CiC.

For å få bedre oversikt over alle 43 parameterne som blir kalkulert i CTan, fikk hver parameter en tallkode som vist i tabell 4-6. Gjennomsnittet av alle målingene for alle CT-parameterne vises i tabell



4-6, det vil si gjennomsnittet av 50 x 4 pellet resultater. MSE (mean squared error) viser gjennomsnittet av alle standardavvikene for hver av de 4 replikatene.

tabell 4-6 Oversikt over alle CT-parameterne og tallkodene med standardavvik og gjennomsnittsverdi for hver parameter.

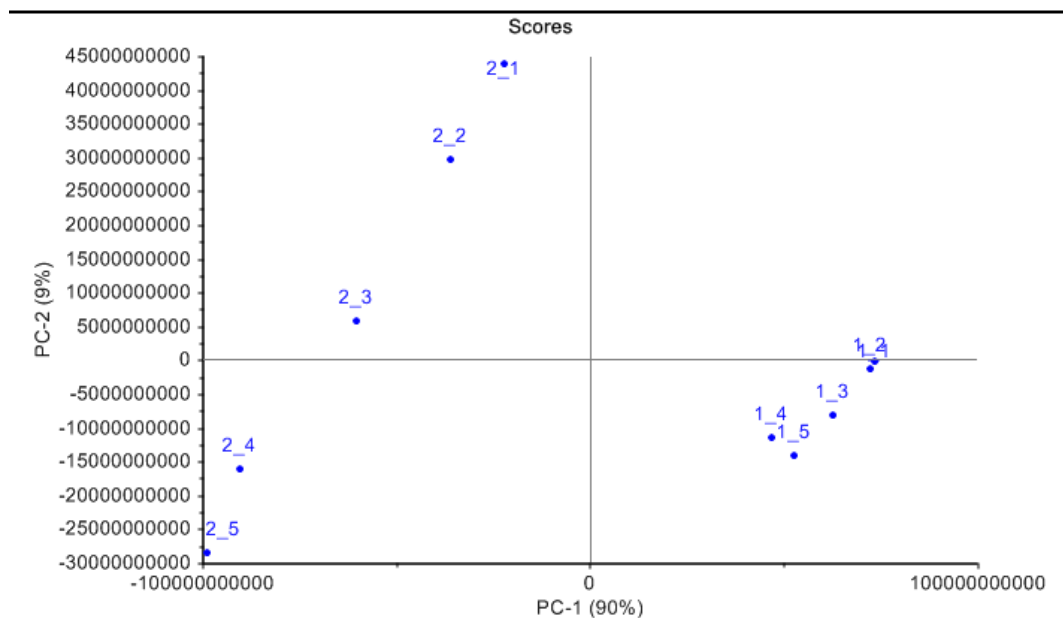
CT parameter	Enhet	Tallkode	Gjennomsnitt alle prøver	MSE
Totalt pellet volum	$\mu\text{m}^3$	CT_1	6,26E+11	5,77E+10
objekt volum	$\mu\text{m}^3$	CT_2	3,41E+11	2,30E+10
Totalt pellet volum (fast matriks)	%	CT_3	57,6	2,34
Total pellet overflate	$\mu\text{m}^2$	CT_4	4,52E+08	4,74E+07
Pellet overflate (fast matriks)	$\mu\text{m}^2$	CT_5	3,60E+09	2,88E+08
overflate tverrsnitt pellet	$\mu\text{m}^2$	CT_6	2,41E+08	2,20E+07
pellet overflate (fast matriks) /volum ratio	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_7	1,03E-02	5,69E-04
pellet overflate (fast matriks) tetthet	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_8	5,62E-03	2,81E-04
Centroid (x) all	$\mu\text{m}$	CT_9	9,47E+03	6,81E+02
Centroid (y) all	$\mu\text{m}$	CT_10	9,38E+03	6,96E+02
Centroid (z) all	$\mu\text{m}$	CT_11	9,29E+03	7,39E+02
struktur tykkelse	$\mu\text{m}$	CT_12	3,98E+02	19,7
struktur lineær tetthet	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_13	1,51E-03	8,94E-05
pore seperasjon	$\mu\text{m}$	CT_14	4,67E+02	38,1
Antall ansamlinger av fast masse rundt lukkede porer		CT_15	2,15E+02	44,2
antall lukkede porer		CT_16	8,88E+02	1,75E+02
Volum av lukkede porer	$\mu\text{m}^3$	CT_17	1,66E+09	3,19E+08
overfalten lukkede porer	$\mu\text{m}^2$	CT_18	7,30E+07	1,02E+07
Lukkede porer (prosent)	%	CT_19	4,90E-01	9,34E-02
Volum åpne porer	$\mu\text{m}^3$	CT_20	2,83E+11	3,67E+10
Åpen porøsitet (prosent)	%	CT_21	42	2,47
Totalt porevolum	$\mu\text{m}^3$	CT_22	2,85E+11	3,67E+10
Total porøsitet (prosent)	%	CT_23	42,4	2,45
Porekonnektivitet		CT_24	1,18E+04	1,30E+03
Porekonnektivitets tetthet	$1/\mu\text{m}^3$	CT_25	1,77E-08	1,80E-09
Totalt volum av alle luftfylte porer i VOI	$\mu\text{m}^3$	CT_26	2,85E+11	3,67E+10
Volum luftfylte porer	$\mu\text{m}^3$	CT_27	3,99E+10	1,38E+10
Luftfylte porer	%	CT_28	13,7	3,48
Luftfylte porer i overflaten	$\mu\text{m}^2$	CT_29	3,54E+09	3,05E+08
Tverrsnitt pelletoverflate	$\mu\text{m}^2$	CT_30	4,88E+08	1,05E+08
pellet overflate av luftfylte porer /volum ratio	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_31	4,08E+07	1,03E+07
Overflaten av luftfylte porer	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_32	1,47E-02	2,19E-03
objekt overflate tetthet (luft)	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_33	1,93E-03	3,18E-04
Centroid (x) air	$\mu\text{m}$	CT_34	9,60E+03	1,16E+03
Centroid (y) air	$\mu\text{m}$	CT_35	9,43E+03	1,16E+03
Centroid (z) air	$\mu\text{m}$	CT_36	9,40E+03	8,75E+02
Distribusjon av luftfylte porer	$\mu\text{m}$	CT_37	5,02E+02	72,9

porenes lineære tetthet	$\mu\text{m}^{-1}$	CT_38	2,96E-04	6,43E-05
Distribusjon av oljefylte porer	$\mu\text{m}$	CT_39	3,77E+02	30
Standardavvik pellet tykkelse		CT_40	2,01E+02	13,9
Standard avvik poredistribusjon		CT_41	3,06E+02	33,4
Standard avvik distribusjon av luftfylte porer		CT_42	2,95E+02	45,9
Standardavvik distribusjon av oljefylte porer		CT_43	2,48E+02	19,4

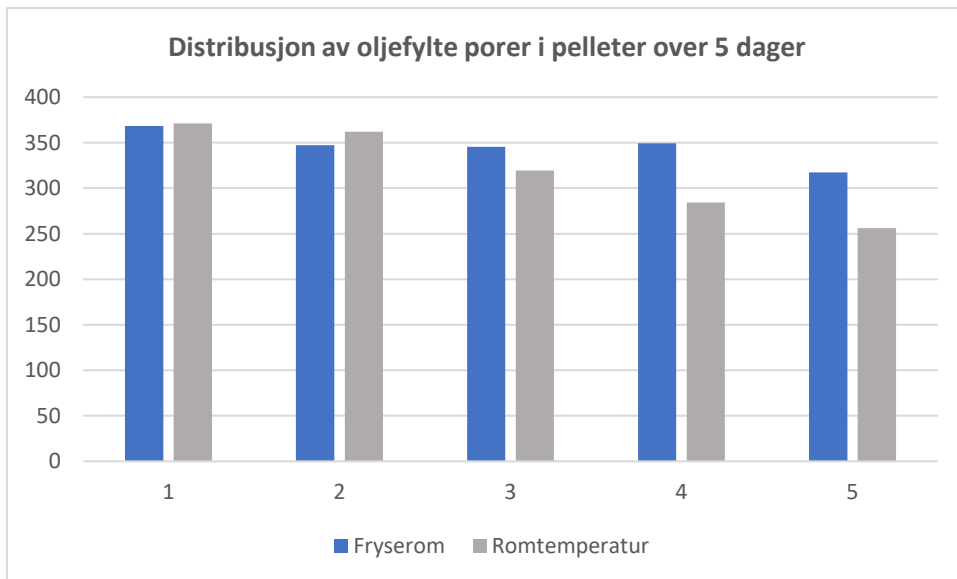
#### 4.3.1 Repeterbarhet og prøveoppbevaring

Det ble plukket ut 2 tilfeldige pelleter fra pelletparti 14, for å teste repeterbarheten til MikroCT analysen. Begge pelletene ble målt en gang per dag, fem dager på rad.

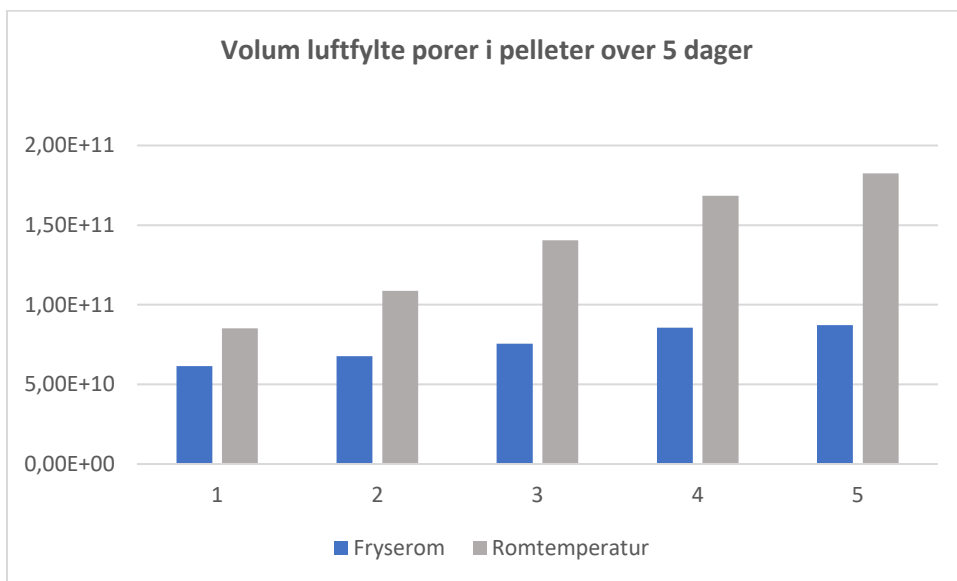
Pellet 1 ble oppbevart i en tett plastpose i fryserom ( $-22^{\circ}\text{C}$ ) mellom hvert skann. Pellet 2 ble oppbevart i romtemperatur mellom hvert skann.



Figur 4-23 Score plott over repeterbarheten til de to pelletene, skannet daglig i fem dager. Pellet 1 ble oppbevart i fryserom og pellet 2 ble oppbevart i romtemperatur mellom analysene. Pelletene er nummerert utfra dagene de ble skannet.



figur 4-24 Distribusjon av oljefylte porer i pelleter over 5 dager, for pelleter oppbevart i fryserom (blå) og pelleter oppbevart i romtemperatur (grå).



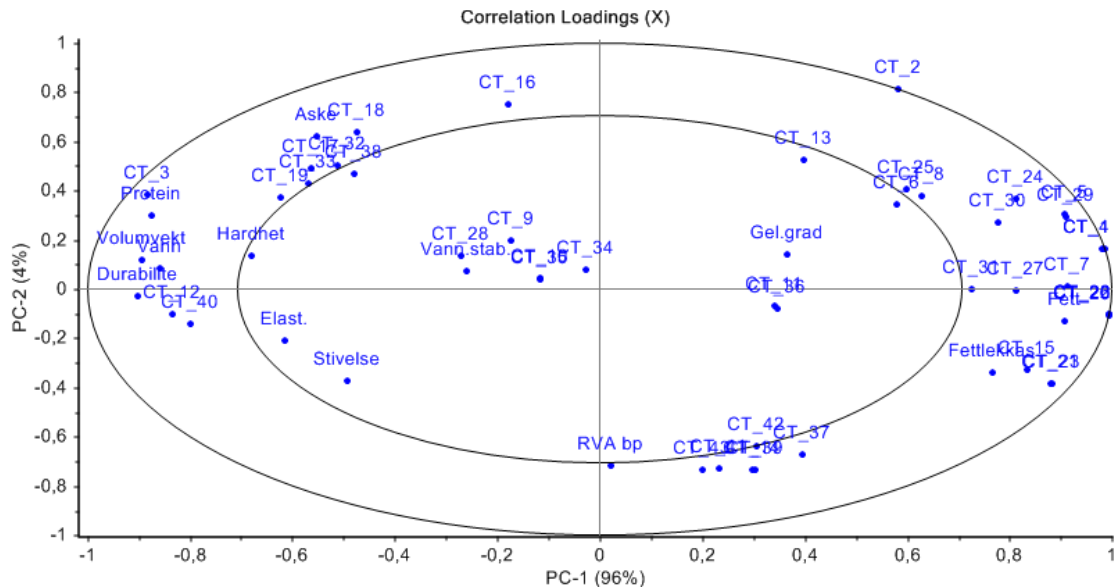
figur 4-25 Volum luftfylte porer øker for hver dag.

Figur 4-23 viser at oppbevaringen av pelleter påvirker resultatet. Særlig pelleter oppbevart i romtemperatur gir forskjell i resultat over tid. Oppbevaring av pelleter i fryserom ga mest stabile resultater. Ved å oppbevare pelleter i romtemperatur over flere dager, synker fordelingen av oljefylte porer som følge av at oljen lekker ut av pelleten. For pelleter oppbevart i fryserom er ikke nedgangen like markant før den femte tiningen av pelleten (figur 4-24). Volum oljefylte porer stiger etter hvert som oljen lekker ut av pelleten (figur 4-26).

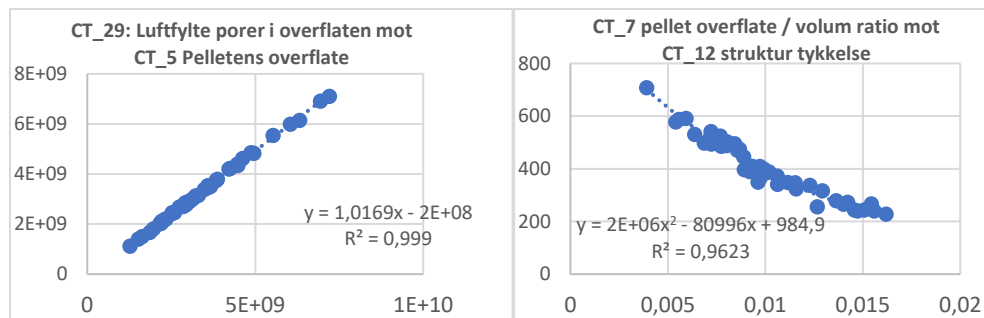
For et mest mulig stabilt resultat ble alle pelletene oppbevart i fryserom ved  $-22^{\circ}\text{C}$  og kun tinet like før skanning.

### 4.3.2 Oversikt over korrelasjon mellom resultatene

PCA ble kjørt for alle parametere, både resultat av kjemiske analyser og mikroCT data. PCA analysen ble utført for å få oversikt over korrelasjonen mellom dataene og for å se etter sammenhenger. Vedlegg E viser PCA analyse mellom mikroCT data og ulike ekstruderingsbetingelser.



figur 4-27 PCA over alle kjemiske resultater og CT data resultater. Forklaringsvariansen for prinsipal komponent 1 er 96% og forklaringsvariansen for prinsipal komponent 2 er 4% i Hotelling ellipse. Derfor er det mest informasjon å hente ved å lese i horisontal retning. Den vertikale retningen tilfører kun 3% mer informasjon.



figur 4-28 Spredningsplott som bekrefter at flere CT parametere overlapper med hverandre

Gelatinisering, RVA, vannstabilitet og stivelse korrelerer ikke med MikroCT resultatene, de har heller ingen korrelasjon med andre kjemiske variabler og har en svært lav forklaringsvariens (under 50%) (figur 4-27). Heller ikke CT parameterne CT\_9, CT\_10, CT\_11, CT\_34, CT\_35 og CT\_36 som representerer centroid X, Y, Z koordinatene (geometrisk sentrum) korrelerer med noen av variablene og har en svært lav forklaringsvariens som ligger godt under 5%. Luftfylte porer oppgitt i prosent (CT\_28) ga også dårlig resultat.

Fleire av CT parameterne overlapper hverandre (figur 4-27). Pelletens overflate (fast matriks) (CT\_5) og Luftfylte porer i overflaten (beregnet fra fast matriks) (CT\_29) har en sterk positiv korrelasjon med hverandre og gir samme informasjon. Det samme vises mellom pellet overflate / volum ratio (CT\_7) og struktur tykkelse (CT\_12), som er omvendt proporsjonale med hverandre (figur 4-28). Det kan derfor være mulig å redusere flere av CT parameterne uten at relevant informasjon går tapt.

#### 4.4 MODELLERER MED KUN DE MEST SIGNIFIKANTE KJEMISKE PARAMETERNE

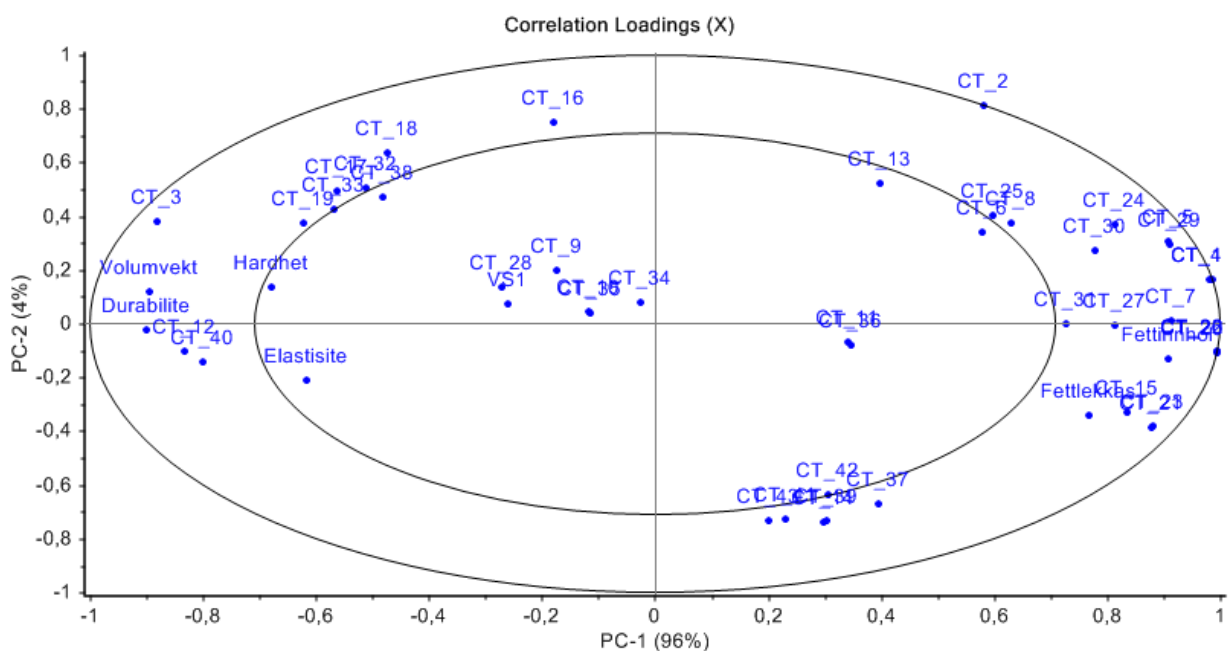
For å redusere informasjonsmengden og kun fokusere på de mest signifikante kjemiske parameterne ble kun 7 variabler valgt ut til ny modell: Fettinnhold, fettlekkasje, volumvekt, hardhet, elastisitet, vannstabilitet og durabilitet.

Det ble laget to modeller, en modell med 7 signifikante kjemiske parametere mot 43 CT data, og en modell med de 7 signifikante kjemiske dataene mot de 7 mest signifikante CT dataene.

##### 4.4.1 Korrelasjon mellom signifikante kjemiske parametere og alle CT-parametere

I figur 4-29 vises korrelasjonen mellom alle parameterne, både fra kjemiske analyser og mikroCT data. tabell 4-7 viser den faktiske korrelasjonen mellom hver CT-parameter og hver av de kjemiske variablene.

I tabell 4-7 ble Y variablene som kunne forklares med MikroCT data satt opp mot hver MikroCT parameter for å finne en sammenheng. Variablene bestod av pelletenes fysiske kvaliteter analysert med kjemiske analyser. Hver av disse variablene ble satt mot en CT-parameter i et spredningsplott for å finne størrelsen på en eventuell korrelasjon.



figur 4-29 Korrelasjon mellom 43 CT data og 7 variabler.

tabell 4-7 CT dataenes korrelasjon med kjemiske analyser. Kun forklart varians ( $R^2$ ) over 0,6 ble tatt med i tabell. Verdiene er hentet fra korrelasjonen fra sprednings plott mellom hver av CT parameterne og de kjemiske verdiene.

	Totalt Pellet volum	objekt volum	Pellet volum (kun fast matriks)	Pellet overflate	Pellet overflate (fast matriks)	Pellet overflate (fast matriks) / volum ratio	Pellet overflate (fast matriks) tetthet
	CT_1	CT_2	CT_3	CT_4	CT_5	CT_7	CT_8
Fettinnhold	0,87		-0,93	0,89	0,84	0,94	0,72
Fettlekkasje	0,70		-0,92	0,72		0,68	
Volumvekt	-0,86		0,93	-0,89	-0,84	-0,94	0,74
Hardhet	-0,65		0,68	-0,68		-0,68	
Elastisitet	-0,64			-0,67	-0,67	-0,69	-0,65
Durabilitet	-0,89		0,78	-0,90	-0,92	-0,97	-0,80
Vannstabilitet							

	Struktur tykkelse	Struktur lineær tetthet	Pore separasjon	Fast masse rundt porer	Volum lukkede porer	Overflatens lukkede porer	Lukkede porer (prosent)
	CT_12	CT_13	CT_14	CT_15	CT_17	CT_18	CT_19
Fettinnhold	-0,92			0,82			-0,63
Fettlekkasje	-0,64		0,65	0,82	-0,81	-0,77	-0,84
Volumvekt	0,92			-0,83			0,65
Hardhet	0,64			-0,60			
Elastisitet	0,66						
Durabilitet	0,92	-0,64		-0,76			
Vannstabilitet							

	Volu av åpne porer	Åpen porøsitet (prosent)	totalt volum av porer	Total porøsitet (prosent)	Porekonnektivitet	porekonnektivitet (tetthet)	Volum av alle luftfylte porer i VOI
	CT_20	CT_21	CT_22	CT_23	CT_24	CT_25	CT_26
Fettinnhold	0,92	0,93	0,92	0,93	0,75	0,65	0,92
Fettlekkasje	0,80	0,92	0,80	0,92			0,80
Volumvekt	-0,90	-0,92	-0,90	-0,93	-0,76	-0,68	-0,90
Hardhet	-0,69	-0,69	-0,69	-0,68			-0,69
Elastisitet					-0,69	-0,70	
Durabilitet	0,80	-0,78	-0,89	-0,78	-0,87	-0,77	-0,89
Vannstabilitet							

	Volum av luftfylte porer	Tomme porer i overflaten (fast matriks)	Tverrsnitt pelletoverflate	luftfylte porer i poverflaten tverrsnitt	luftfylte porer i overflaten	luftfylte porer i overflaten tetthet	Distribusjon av luftfylte porer
	CT_27	CT_29	CT_30	CT_31	CT_32	CT_33	CT_37
Fettinnhold	0,69	0,85	0,66	0,73	-0,77	-0,68	
Fettlekkasje	0,62					-0,78	0,72
Volumvekt	-0,67	-0,85	-0,65	-0,73		0,68	
Hardhet		-0,60					
Elastisitet		-0,68					
Durabilitet	-0,67	-0,92	-0,71	-0,80			
Vannstabilitet							

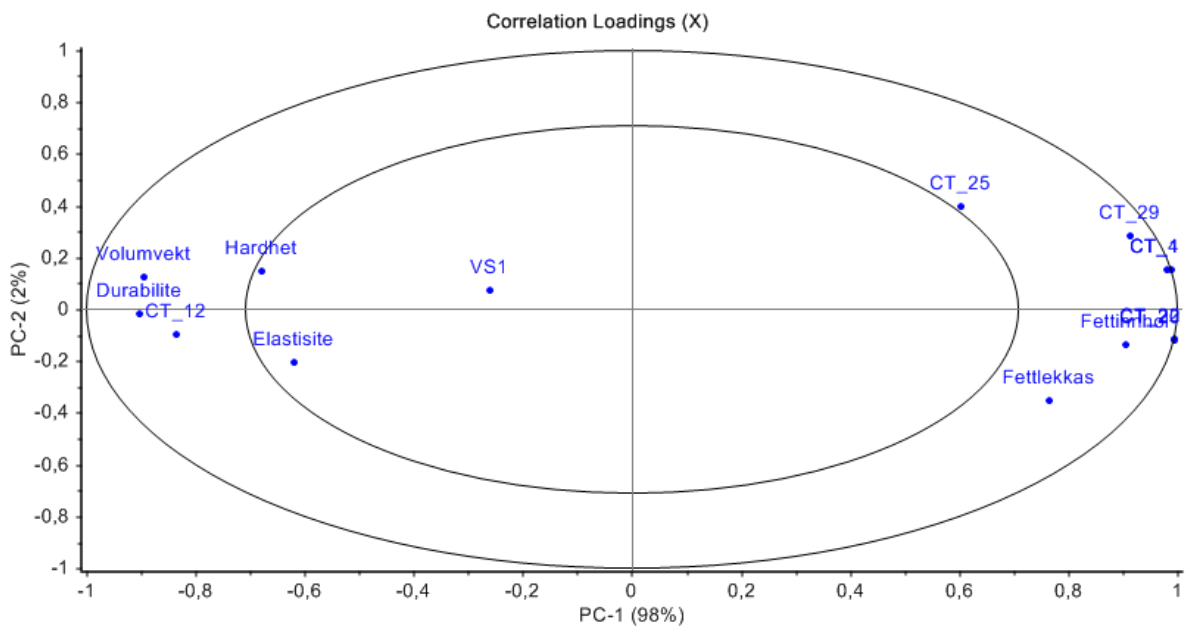
	Porenes lineære tetthet	Distribusjon av oljefylte porer	Std.avvik pellet tykkelse	Std.avvik poredistribusjon	std.avvik distribusjon luftfylte porer	std.avvik distribusjon oljefylte porer
	CT_38	CT_39	CT_40	CT_41	CT_42	CT_43
Fettinnhold	-0,60		-0,85			
Fettlekkasje	-0,72	0,66				
Volumvekt			0,85			
Hardhet						
Elastisitet						
Durabilitet			0,91			
Vannstabilitet						

#### 4.4.2 Korrelasjoner mellom signifikante CT parametere og kjemiske parametere

For å unngå for mye data og redundans ble kun de mest signifikante CT dataene, som best forklarer pelletens fysiske kvalitet, valgt til videre analyser i en ny modell. I tabell 4-8 vises de 7 utvalgte CT parameterne som blir benyttet i den nye modellen. Parameterne i tabell 4-8 ble valgt basert på deres relevans for pelleters fysiske kvalitet og deres korrelasjon med andre CT-parametere ut fra tabell 4-7, figur 4-27 og figur 4-29.

tabell 4-8: de mest signifikante CT parameterne

Parameter navn	enhet	Navnekode
totalt pellet volum	$\mu\text{m}^3$	CT_1
total pellet overflate	$\mu\text{m}^2$	CT_4
Pellet tykkelse	$\mu\text{m}$	CT_12
Volum av åpne porer	$\mu\text{m}^3$	CT_20
volum av alle porer	$\mu\text{m}^3$	CT_22
Porekonnektivitet	$1/\mu\text{m}^3$	CT_25
Luftfylte porer i overflaten	$\mu\text{m}^2$	CT_29



figur 4-30 Viser korrelasjonssammenheng mellom 7 utvalgte CT parametere og resultat fra kjemiske analyser.

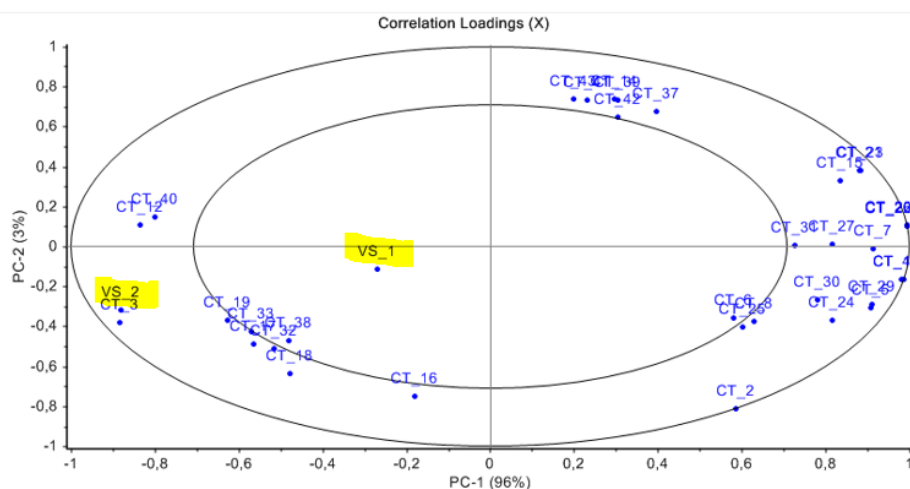
tabell 4-9 Oversikt over korrelasjon mellom kjemiske analyser og signifikante CT parametere. Kun forklart varians  $r^2$  over 0,6 ble tatt med i tabell. NA står for «No Answer» og har  $R^2$  under 0,6.

	Pellet volum $\mu\text{m}^3$	Pellet overflate $\mu\text{m}^2$	Pellet tykkelse $\mu\text{m}$	Volum åpne porer $\mu\text{m}^3$	totalt porevolum $\mu\text{m}^3$	Porekonnektivitet $1/\mu\text{m}^3$	Luftfylte overflateporer $\mu\text{m}^2$
	CT_1	CT_4	CT_12	CT_20	CT_22	CT_25	CT_29
Fettinnhold	0,87	0,89	-0,92	0,92	0,92	0,65	0,85
Fettlekkasje	0,7	0,72	-0,64	0,8	0,8	NA	NA
Volumvekt	-0,86	-0,89	0,92	-0,9	-0,9	-0,68	-0,85
Hardhet	-0,65	-0,68	0,64	-0,69	-0,69	NA	-0,6
Elastisitet	-0,64	-0,67	0,66	NA	NA	-0,7	-0,68
Durabilitet	-0,89	-0,9	0,92	0,8	-0,89	-0,77	-0,92
Vannstabilitet	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

#### 4.4.3 Vannstabilitet 2, alternativ metode

Vannstabilitet er en svært viktig faktor for pelleters fysiske kvalitet. Standardanalyse for vannstabilitet som ble beskrevet i avsnitt 3.1.2 innebærer tilførsel av mekanisk energi i form av roterende magnet direkte i prøvebeholderen med vann og pellet. Denne tilførselen av mekanisk energi er ikke representativ for den faktiske vannstabiliteten til et fôr, og metoden kan settes under tvil. 20 minutter med omrøring av pellet i vann og 1 time i varmeskap, kan være for liten tid til å oppnå et representativt resultat for vannstabilitet. Som følge av vannstabilitetens dårlige korrelasjon med mikroCT resultatene, ble en alternativ analyse av vannstabilitet testet ut mot CT data. Denne metoden er beskrevet i avsnitt 3.1.3 og innebærer energi til prøvebeholderen kun via et ristebord med horisontale bevegelser. Både tiden pelleten er i vann og tiden i varmeskap ble forlenget for et mer grundig resultat. Begge resultatene for vannstabilitet ble deretter sammenlignet opp mot mikroCT data (figur 4-31).

Standard analyse for vannstabilitet ble kalt vannstabilitet 1 (VS1), alternativ analyse for vannstabilitet ble kalt vannstabilitet 2 (VS2). PCA ble analysert med full kryssvalidering med 48 segmenter og Singular Value Decomposition (SVD) algoritme ettersom dette ga best resultat i Unscrambler X.



figur 4-32 Korrelasjon mellom CT data, vannstabilitet analyse 1 (VS1) og vannstabilitet analyse 2 (VS2). Irrelevante CT parametere som hadde forklaringsvariens under 50% ble tatt bort fra ellipsen.



#### 4.4.4 Multivariat analyse – Partial least square regression (PLS-R)

Det ble utført PLS\_R regresjons analyse i Unscrambler X for å finne grunnleggende sammenheng mellom faktorer som er med på å avgjøre pelletens fysiske kvalitet (Y variabler) opp mot signifikant CT data (X). De to multivariable modellene beskrevet i avsnitt 4.4.1 og 4.4.2 ble sammenlignet med hverandre for å se etter ulikheter mellom dem. Dette for å undersøke om modellen ble bedre ved å kun benytte de mest signifikante CT parameterne og dermed begrense datamengden etter analysen, og gjøre resultatene mer oversiktlig for de ulike mottakerne. Som vist i figur 4-27 er flere av CT parameterne kovariabler og gir tilnærmet samme informasjon, mens enkelte CT parametere tilfører lite relevant informasjon. Vannstabilitet 2 (VS2) har høy korrelasjon med flere CT parametere (figur 4-33) og blir derfor tatt med i modellene.

PLS-R resultatene i tabell 4-10 viser nummer av prinsippal komponenter opp til faktor 7. Teoretisk er det mulig med flere komponenter, men for PLS-R modellene i tabell 4-10 er det hovedsakelig de 7 første faktorene som har et signifikant bidrag til modellen.

Den predikerte Y-verdien fra tabell 4-10 er plottet mot referanse Y-verdi (resultat fra kjemiske analyser). tabell 4-10 fungerer som en kvalitetssjekk for PLS-R modellene. De plottene som oppnår et stigningstall over 0,8 (for predikert verdi) kan indikere at modellen gir en god indikasjon på Y-variabelen.

RMSEC viser til forventet predikert feil. Forklaringsverdien forklarer hvor godt treff som kan oppnås for fremtidige prediksjoner, og forklarer hvor god lineær sammenheng det er mellom de predikerte verdiene opp mot referanse verdiene.

tabell 4-10 Målenøyaktigheten til mikroCT resultater opp mot kjemiske analyser. Tabellen viser resultat av 2 PLS-R modeller, en PLS-R modell med alle 43 CT parameterne og en PLS-R modell med kun de 7 utvalgte CT parameterne.

Parameter	Nummer av prinsippal komponenter		RMSEC		Stigningstall		Forklaringsverdi (%)	
	Alle CT data	Utvalgte CT data	Alle CT data	Utvalgte CT data	Alle CT data	Utvalgte CT data	Alle CT data	Utvalgte CT data
Fettinnhold	1	3	1,89	1,70	0,90	0,94	92	94
Fettlekkasje	5-7	7	3,73	3,53	0,90	0,88	86	87
Volumvekt	3-5	3-7	21,75	24,55	0,95	0,93	94	93
Hardhet	1	5	1,73	1,42	0,46	0,66	42	61
Elastisitet	2	4-6	4,72	4,18	0,47	0,61	46	53
Durabilitet	4-5	1	4,24	5,84	0,96	0,90	94	89
Vannstabilitet 1	3	1	3,24	3,42	0,23	0,006	11	NA
Vannstabilitet 2	1	4	5,38	4,87	0,79	0,88	78	83

#### 4.4.5 Diskusjon om modellenes korrelasjon mellom CT data og kjemiske måledata

##### Porekonnektivitet i pellet

Porenes konnektivitet har en sterk positiv korrelasjon med de andre CT-parameterne som omfatter analyser av åpne porer i pellet, og viser til at pelleter med mange åpne porer har høyere andel av åpne poreforbindelser og har lavere pellet styrke (figur 4-29). Lukkede porer har ingen korrelasjon med porenes konnektivitet ettersom konnektiviteten forklarer poreforbindelser som henger sammen med pelletens overflate. Samtidig viser resultatene til at åpne porer og åpne poreforbindelser påvirker pelletens volum og overflate (figur 4-29 og figur 4-30).

##### Fettlekkasje og fettinnhold i pellet

Både fettinnhold og fettlekkasje har høy forklaringsverdi for begge modellene i tabell 4-10, og lar seg predikere med mikroCT.

Fettlekkasje og fettinnhold er positivt kovariable, og er samtidig negativt kovariable med volumvekt, hardhet, elastisitet og durabilitet (figur 4-29 og figur 4-30).

Det totale volumet i pelleten har positiv korrelasjon med fettlekkasje fordi store pelleter er kraftig ekspandert under ekstruderingsprosessen, dette medfører store luftfylte porer og tynnere pelletvegger. Dette fører igjen til økt fettlekkasje. Samtidig kan det tilføres mye fett i store pelleter som er kraftig ekspandert og de har derfor et høyt fettinnhold. Fettinnhold og fettlekkasje i pelleten har en negativ korrelasjon med pelletens strukturtykkelse ( $\mu\text{m}$ ) fordi pelletene med tykkest struktur er mer kompakt og har mindre porer og mindre volum, noe som vises igjen i CT dataene i figur 4-29 og tabell 4-7. Derfor vil det også være mindre fettinnhold og mindre porer i pelleter med høy strukturtykkelse.

Fettlekkasje har en sterk positiv korrelasjon med antall åpne porer i pelleten, som viser til at det er høy fettlekkasje fra åpne porer (figur 4-27 og tabell 4-7). Ved å se på volum av lukkede porer i pelleten og lukkede porer i pelletens overflate opp mot fettlekkasje, vises en negativ korrelasjon. Fettlekkasjen er mindre dersom porene er lukket, ettersom lukkede porer holder bedre på oljen fremfor åpne porer som lettere lekker ut olje.

Både porøsiteten (CT\_23) og totalt porevolum (CT\_22) i pelleten korrelerer positivt med fettinnhold og fettlekkasje. MikroCT data viser til at desto større porer det er i pelleten, desto høyere er fettinnholdet og fettlekkasjen. Små porer rommer mindre mengde fett og gjør det vanskeligere for fett å trekke ut av pelleten. Porenes viktigste oppgave er som tidligere nevnt å impregnere pelleten med fett. Dersom pelleten inneholder mange porer vil den derfor ha større fettinnhold og fettlekkasjen vil øke.

##### Volumvekt i pellet

MikroCT predikerer volumvekt med høy målenøyaktighet og har forklaringsverdi på 94% (tabell 4-10). Både modellen med 7 CT parametere og modellen med 43 parametere kan gi god prediksjon for pelleters volumvekt.

CT resultat for pelletens porøsitet (CT\_23) viser at færre porer gir økt pelletvekt. Resultatene viser at dersom det totale pelletvolumet økes ved ekspansjon, vil volumvekten gå ned fordi veggene i pelleten blir tynnere og mer luft kommer inn i pelleten. Dette stemmer med at store pelleter i vann risikerer å bli flytende på vannoverflaten uten å synke, ettersom volumvekten er for lav. Dersom pelletmassen og strukturtykkelsen (CT\_12) økes, øker også volumvekten, og pelleten vil synke lettere

i vann. Dette vises igjen i MikroCT resultatene. Volumvekt korrelerer med alle volum og tykkelses beregningene analysert med MikroCT (figur 4-29 og tabell 4-7).

Det er en negativ korrelasjon mellom volumvekt og antall separat pelletmasse som omslutter porer (CT\_25). Dette viser til at sammenhengende pelletmasse veier mer enn mange separate pelletmasser rundt porene. Analysene viser positiv korrelasjon mellom antall lukkede porer i pelleten og pelletens volumvekt. Samtidig viser CT resultatene at desto flere åpne porer i det er pelleten, desto mindre volumvekt.

Durabilitet, hardhet og elastisitet i pellet

Som figur 4-29 og tabell 4-7 bekrefter, er det negativ korrelasjon mellom pelletens totale volum målt med mikroCT, og pelletens durabilitet, hardhet og elastisitet. Det samme gjelder målingene av pelletens overflatevolum. Durabilitet er den variabelen som best kan forklares ut ifra modellen med alle 43 CT parameterne, og har 5% dårligere forklaringsverdi for modellen med 7 parametere (tabell 4-10). Årsaken til at modellen med 43 CT-data er best for durabilitet, er at denne modellen inneholder mer informasjon kan være relevant for durabilitet. Flere parametere for pelletens overflate, blant annet pellet masse i overflaten / volum ratio (CT\_7) korrelerer svært bra med durabilitet og er utelatt i modellen med kun 7 parametere.

Modellen med 7 utvalgte CT parametere er vesentlig bedre for hardhet og elastisitet. Dette kan være fordi modellen med alle CT-parametere tilfører mye støy, mens de 7 utvalgte CT dataene gir relevant informasjon uten å tilføre for mye støy.

For hardhet er det 40% som ikke kan forklares med mikroCT data, og for elastisitet er det 50% som ikke kan forklares med mikroCT alene (tabell 4-10). Faktorer som blant annet råvareegenskaper, tilført mekanisk energi (SME kW) under ekstrudering, trykk etter dyse, vanntilførsel og temperatur under produksjonen kan også være avgjørende for hardhet og elastisitet.

Struktur tykkelsen til pelleten (CT\_12) er positivt kovariabel med hardhet, elastisitet og durabilitet. Durabilitet har en forklaringsvarians rundt 90% for pellettykkelse, og forklarer at pellet med stor tykkelse har høy durabilitet (tabell 4-10).

Durabilitet, hardhet og elastisitet er omvendt proporsjonale med porestørrelse og porekonnektivitet. Desto større porer og mer porekonnektivitet det er i pelleten, desto skjørere vil pelleten være for mekanisk påvirkning. Dersom et stort antall av porene er forbundet med hverandre og med overflaten, vil strukturen i pelleten være tynn og pelletens styrke er lav.

En pellet med høy strukturtykkelse har få poreforbindelser. Dersom pelleten har svak struktur (lav pellettykkelse) vil den ha mange poreforbindelser (høy konnektivitet), som kan medføre at den lettere knekker i to separate biter og scorer dårlig på durabilitet, hardhet og elastisitet. Det er derfor viktig å finne en balanse mellom å ha mange porer og poreforbindelser som gir høyt fettinnhold og samtidig oppnå en robust pellet med tilfredsstillende strukturtykkelse.

Vannstabilitet i pellet

PLS-R modellene vist i tabell 4-10 bekrefter det samme som figur 4-27 og tabell 4-7, nemlig at standard vannstabilitetsanalyse ikke kan forklares ut fra MikroCT parameterne. Alternativ analyse av vannstabilitet (vannstabilitet 2) kan derimot forklares 83% med mikroCT og korrelerer med flere CT parametere (tabell 4-10 og figur 4-32). Det er høy positiv korrelasjon mellom vannstabilitet og totalt pelletvolum kalkulert utfra fast matriks (CT\_3) og viser til at desto mer fast pelletmasse i en pellet, desto mer stabil er pelleten i vann. Totalt overflatevolum i pellet (CT\_4) og luftfylte porer i overflaten (CT\_29) ligger motsatt proporsjonalt med vannstabilitet 2 (figur 4-32).

## 4.5 VALIDERING AV MODELLENE

Validering av modellene er basert på 20 valideringsprøver. Valideringsprøvene ble hentet fra 20 nye partier med pelleter. Hver valideringsprøve er gjennomsnittsverdien til 4 replikater fra samme pelletparti.

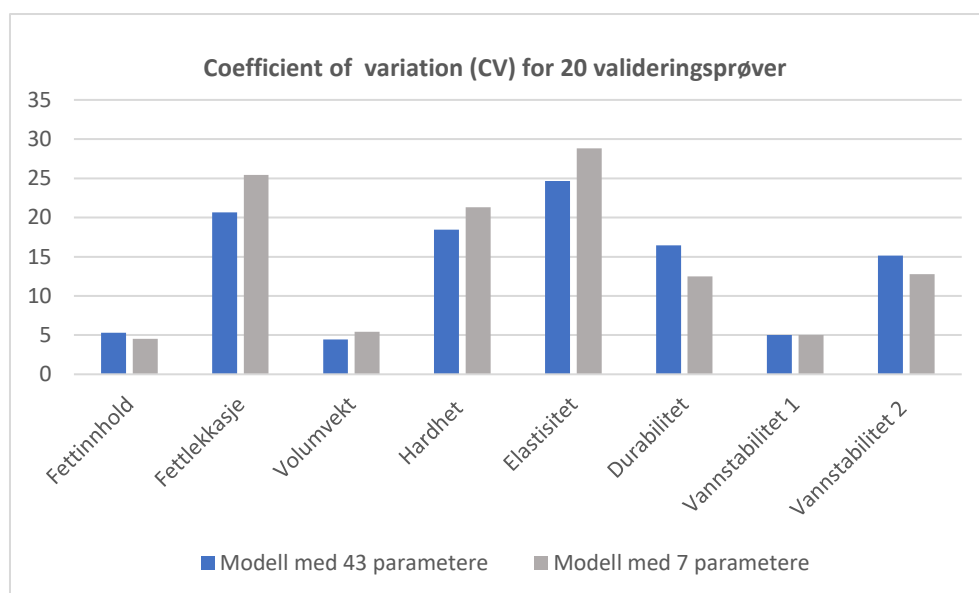
Det ble laget 3 ulike modelltyper. 2 modeller er multivariable dataanalyser som vist i kapittel 4.4.4, laget og predikert med Unscrambler X, og en modelltype består av univariabel dataanalyse utført i excel.

### 4.5.1 Multivariable dataanalyser

Resultatene fra tabell 4-11 ble kalkulert ved å predikere PLR-S modellene i avsnitt 4.4.4 for hver av variablene mot 20 valideringsprøver i Unscrambler X.

*tabell 4-11 Modellenes målenøyaktighet mot 20 nye valideringsprøver. Koeffisient av variasjoner (CV) ble beregnet ut fra RMSEP og gjennomsnittsverdien av resultatene fra hver analyse.*

Parameter	R <sup>2</sup>		RMSEP		CV (%)	
	43 CT parametere	7 CT parametere	43 CT parametere	7 CT parametere	43 CT parametere	7 CT parametere
Fettinnhold	0,89	0,9	2,14	1,82	5,31	4,51
Fettlekkasje	0,77	0,68	7,63	9,38	20,67	25,42
Volumvekt	0,94	0,91	18,79	22,79	4,46	5,41
Hardhet	0,26	0,29	1,86	2,15	18,44	21,31
Elastisitet	0,51	0,48	3,73	4,36	24,65	28,81
Durabilitet	0,80	0,79	12,04	9,15	16,45	12,50
Vannstabilitet 1	NA	NA	3,82	3,82	5,02	5,02
Vannstabilitet 2	0,40	0,46	10,28	8,68	15,15	12,79



*figur 4-34 viser oversikt over koeffisient av variasjoner (CV) mellom modell med 7 CT parametere og modell med 43 parametere.*

I tabell 4-11 er differansen i forklaringsvariansen  $R^2$  mellom de to modellene svært liten. Gjennomsnittsdifferansen for  $R^2$  mellom de to multivariable modellene er 0,009. Begge modellene gir derfor tilnærmet likt predikert resultat og det er av liten betydning å redusere antall CT parametere for å oppnå bedre resultat.

Mål for modellens pålitelighet (RMSEP) er noe ulik mellom de to modellene, med en gjennomsnittsdifferanse -0,23 for RMSEP mellom modell med 43 parametere og modell med 7 CT parametere. Modellen med 43 parametere er marginalt bedre for fettlekkasje, volumvekt, hardhet og elastisitet (figur 4-35). Årsaken til at modellen med 43 CT parametere kan gi noe bedre resultater for disse variablene er at denne modellen inneholder mer informasjon. Fettinnhold, durabilitet og vannstabilitet 2 er marginalt bedre for modellen med kun 7 CT parametere. Fettlekkasje og elastisitet gir høyest koeffisient av variasjoner (CV) (figur 4-36).

Det er lineær sammenheng mellom predikerte verdier og referanse verdier for fettinnhold, fettlekkasje, volumvekt og durabilitet (tabell 4-11) (vedlegg F). Volumvekt og fettinnhold oppgir  $R^2$  til 0,9 og har best forklaringsvariens. Også fettlekkasje og durabilitet gir gode predikerte resultater med god lineær sammenheng ( $R^2 = 0,8$ ) som indikerer at variasjonen kan forklares av regresjonen.

Vannstabilitet 2, hardhet og elastisitet har ikke lineær sammenheng mellom predikerte verdier og referanseverdier (vedlegg F og tabell 4-11). Observasjonene ligger ikke langs regresjonslinjen og ingen av modellene har god predikeringsevne. Modellene for vannstabilitet 2 viste seg å være lite robuste under validering, til tross for høy forklaringsverdi i de multivariate PLS-R modellene i tabell 4-10 (83% forklaringsverdi). Hardhet og elastisitet viste liten målenøyaktighet i både tabell 4-10 og tabell 4-11.

#### 4.5.2 Univariable dataanalyser

Det ble i tillegg laget univariable modeller basert på excel for å teste relevante CT parametere opp mot kjemiske analyser. Dette etter ønske fra Cargill for å kunne overføre data til et enklere og mer tilgjengelig format som excel. For å lage univariable modeller i excel ble hver av de 7 mest signifikante CT parameterne og hver av de 7 variablene satt mot hverandre i et spredningsplott. Modellene bygger på de 48 skannede pelletene, og er validert med 20 nye valideringsprøver, som forklart i kapittel 4.5.1. De predikerte verdiene til de skannede pelletene ble kalkulert ut fra spredningsplottets polynome 2.grads ligning for hver valgt parameter i excel (vedlegg G). Hver av de univariable modellene kan sees i vedlegg H og validering av modellene vises i vedlegg I.

tabell 4-12 Forklart varians  $R^2$  for univariable modeller og for multivariable modeller. Forklart varians  $R^2$  under 0,3 ble satt til NA (No answer)

	Fettinnhold	Fettlekkasje	Volumvekt	Hardhet	Elastisitet	Durabilitet	VS1	VS2
<b>Pellet volum <math>\mu\text{m}^3</math></b>	0,79	0,75	0,79	0,23	0,47	0,71	NA	NA
<b>Pellet overflate <math>\mu\text{m}^2</math></b>	0,65	NA	0,52	0,33	0,38	0,48	NA	NA
<b>Pellet tykkelse <math>\mu\text{m}</math></b>	0,78	0,60	0,79	0,39	0,52	0,75	NA	0,4
<b>Volum åpne porer <math>\mu\text{m}^3</math></b>	0,85	0,75	0,83	NA	NA	0,70	NA	NA
<b>totalt porevolum <math>\mu\text{m}^3</math></b>	0,92	0,75	0,83	NA	NA	0,69	NA	0,33
<b>Porekonnektivitet <math>1/\mu\text{m}^3</math></b>	0,68	NA	0,72	0,47	0,54	0,70	NA	0,34
<b>Luftfylte overflateporer <math>\mu\text{m}^2</math></b>	0,80	NA	0,81	0,33	0,54	0,82	NA	NA
<b>Modell 7 parametere</b>	0,90	0,68	0,91	0,29	0,48	0,79	NA	0,46
<b>Modell 43 parametere</b>	0,89	0,77	0,94	0,26	0,51	0,8	NA	0,4

De univariable modellene i tabell 4-12 ble hverken signifikant bedre eller verre enn de multivariable analysene, og viser til gode korrelasjoner mellom flere CT parametere og kjemiske analyser. Pelletens overflatestørrelse (CT<sub>2</sub>) er den CT-parameteren i tabell 4-12 som korrelerer dårligst med variablene og som er minst viktig. De predikerte resultatene i tabell 4-12 harmonerer med forklart varians i tabell 4-9.

For pelletens fettinnhold fremstår CT parameter for totalt porevolum som den best forklarende parameteren. Men også størrelsen på luftfylte overflate porer, volum åpne porer og pelletvolum kan forklare fettinnholdet i pelleten. Det er disse faktorene som også best forklarer fettlekkasje i pellet, selv om korrelasjonen ikke er like sterk som ved fettinnhold (tabell 4-12).

Volumvekt kan best predikeres av volum åpne porer, pellettykkelse, totalt porevolum og luftfylte porer i overflaten. Som tabell 4-12 viser, blir volumvekt best forklart med multivariabel modell som tilfører mer informasjon ved predikering. Også for pelletens durabilitet er luftfylte porer i overflaten den viktigste parameteren. Desto større totalt volum på luftfylte overflateporer, desto dårligere scorer pelleten på durabilitet og desto lettere volumvekt har pelleten. Pellettykkelse gir også en god prediksjon for durabilitet.

For hardhet og elastisitet er det pelletenes porekonnektivitet som gir best prediksjon og som gir best lineær sammenheng mellom referanse og predikert. Både hardhet og elastisitet gir en lineær sammenheng under 0,5. Porekonnektivitet i pellet har derfor en viss betydning for pelletens hardhet og elastisitet.

Vannstabilitet gir ikke gode prediksjoner uansett modell. Den multivariable modellen med 7 parametere oppnår høyest forklart varians for vannstabilitet, med en forklart varians på 0,46 (tabell 4-13 og tabell 4-14). Porestruktur og pelletvolum har liten eller ingen påvirkning på pelletens vannstabilitet.

Det er andre faktorer som ikke blir kalkulert med MikroCT som forklarer vannstabilitet hardhet og elastisitet, slik som materialparametere og prosessparametere.

Ved å ha modell for kun en CT-parameter kan mye informasjon gå tapt, men tabell 4-12 viser at enkelte univariable modeller kan gi gode prediksjoner og forklarer hvilke CT data som best korrelerer med variablene.

## 5 KONKLUSJON

---

MikroCT gir et tydelig skille mellom luft, porer, fett og pelletmasse, og gjør det derfor mulig å beregne volum, porøsitet, mengde åpne/lukkede porer og poredistribusjon i pelleter basert på dimensjonale bilder fra mikroCT.

Poredistribusjonen kan bli evaluert med mikroCT data ved å beregne struktureseparasjonen som lokal tykkelse av porenes nettverk.

Basert på mikroCT analyse av porestruktur og pelletvolum kan mikroCT forklare pelleters fettinnhold, fettlekkasje, durabilitet og volumvekt med forklaringsverdi over 85%. Volumvekt og fettinnhold oppgir forklart varians på 0,9 mellom predikert verdi og referanse verdi. Fettlekkasje og durabilitet gir predikerte resultater med forklart varians på 0,8. Det er god lineær sammenheng mellom predikerte verdier og referanseverdier for disse parameterne.

De statistiske resultatene bekrefter at det ikke er mulig å lage robust modell for vannstabilitet, hardhet og elastisitet ut fra MikroCT dataene alene. Modellene har forklaringsgrad under 0,5 mellom predikert data og referanse data for disse parameterne. Det er flere faktorer som er avgjørende for pelleters vannstabilitet, hardhet og elastisitet, slik som materialparametere og prosessparametere.

MikroCT dataene viser at det er en fin balanse mellom å ha tilstrekkelig fettinnhold uten fettlekkasje i pelleten, samtidig som at pelleten skal være robust nok til å score tilfredsstillende på durabilitet, hardhet og elastisitets tester. Derfor er det viktig å ha kunnskaper om pelletenes porestruktur, porekonnektivitet, pellettykkelse og volum for å oppnå god fysisk kvalitet på pelleten.

## 6 REFERANSER

---

- Abdi, H., & Williams, L. J. (2010). Principal component analysis. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 2(4), 433–459.
- Boas, F. E., & Fleischmann, D. (2012). CT artifacts: causes and reduction techniques. *Imaging in Medicine*, 4(2), 229–240.
- Bruker microCT. (2014). Introduction to porosity analysis. *Bruker microCT Method note. 1*. Hentet fra Bruker mikroCT sharing portal
- Bruker microCT. (2016, november). *06\_Reconstruction*. Presentert på powerpoint ved Bruker MicroCT kurs, Kontich, Belgia.
- Bruker microCT. (2017a). Bruker microCT Manual “SkyScan 1275 User Manual.” V1.2.
- Bruker microCT. (2017b). Sample mounting and basic scan parameters. Presentert på powerpoint ved Bruker MicroCT kurs, Kontich, Belgia.
- Bruker. (2019). MicroCT for sample scanning. Hentet 28. februar fra <https://www.bruker.com/products/microtomography/micro-ct-for-sample-scanning/x-ray-micro-ct-microtomography.html>
- Bruker. (u.å.) Hentet 31. mai 2019 fra <https://www.bruker.com/products/microtomography/micro-ct-for-sample-scanning/skyscan-1275/learn-more.html>
- Camo Software AS. (2018). Unscrambler X help, versjon 10.5.1. Camo Analytics.
- Castlejohn, C. A. (2012). *Analysis of changes in structure and moisture in starch extrudates during storage using micro-CT and MRI imaging techniques* (Doktoravhandling). University of Georgia, Georgia.
- Dahlgren, Erik. (2013, juli 13). Artefakter. Hentet 29. desember 2018, fra <http://edu.hioa.no/MABIO5000/Fag/hovedemne1/status/artefakter.htm>
- Davis, G. R., & Elliott, J. C. (2006). Artefacts in X-ray microtomography of materials. *Materials Science and Technology*, 22(9), 1011–1018.



- Dethlefsen, M. W. (2017). *Die Hard - improving the physical quality of extruded fish feed pellets* (Doktoravhandling). Kgs. Lyngby, National Food Institute, Technical University of Denmark.
- Draganovic, Vukasin. (2013). *Towards sustainable fish feed production using novel protein sources* (Doktoravhandling). Wageningen University, Wageningen
- Draganovic, V., van der Goot, A. J., Boom, R., & Jonkers, J. (2011). Assessment of the effects of fish meal, wheat gluten, soy protein concentrate and feed moisture on extruder system parameters and the technical quality of fish feed. *Animal Feed Science and Technology*, *165*(3), 238–250.
- Draganovic, V., van der Goot, A. J., Boom, R., & Jonkers, J. (2013). Wheat gluten in extruded fish feed: effects on morphology and on physical and functional properties. *Aquaculture Nutrition*, *19*(6), 845–859.
- Fiskeridirektoratet. (2019). *Statistikk for akvakultur 2018* (Akvakultur rapport s. 46). Hentet 02. juni fra <https://fiskeridirektoratet.no/Akvakultur/Nyheter/2019/0519/Hvor-stor-er-oppdrettsnaeringen-i-Norge>
- Hallenstvedt, Abraham. (2015). fiskeoppdrett. I E. Bolstad (Red.), *Store Norske Leksikon*. Hentet 21. november 2018 fra <http://snl.no/fiskeoppdrett>
- Härdle, W. K., & Simar, L. (2015). Principal component Analysis. I *Applied Multivariate Statistical Analysis* (4. utg., s. 319–346). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ighwela, K. A., Ahmad, A. B., & Abol-Munafi, A. B. (2013). Water Stability and Nutrient Leaching of Different Levels of Maltose Formulated Fish Pellets, *Global Veterinaria*, *10*(6.), 638–642.
- Kolle, N. (2014). *Norges fiskeri- og kysthistorie: Havbruksnæringen – et eventyr i Kyst-Norge* (1. utg., 5. bind) Universitetet i Bergen: Fagbokforlaget.
- Lawrence, M., & Jiang, Y. (2017). Porosity, Pore Size Distribution, Micro-structure. I S. Amziane & F. Collet (Red.), *Bio-aggregates Based Building Materials* (Bd. 23, s. 39–71).

- Lekva, T. T. (2018). *Investigating the Potential of Principal Component Analysis on Online Sales Records* (Mastergradsavhandling). Norwegian University of Science and Technology, Department of Engineering Cybernetics. Trondheim.
- Lim, K. S., & Barigou, M. (2004). X-ray micro-computed tomography of cellular food products. *Food Research International*, 37(10), 1001–1012.
- Moger, T. A. (2005, Mai). Korrelasjon og lineær regresjon, litt om resultatpresentasjon. Hentet fra <https://www.uio.no/studier/emner/medisin/helsefag/HELSEF4200/v05/helsef42004.5.pdf>
- Mrkaljevic, Dzana. (2016). CIC\_031\_B - Note\_Modulus of elasticity. *Cargill Interndokument*
- Obaldo, L. G., Divakaran, S., & Tacon, A. G. (2002). Method for determining the physical stability of shrimp feeds in water. *Aquaculture Research*, 33(5), 369–377.
- Pietsch, W. (1997). Size Enlargement by Agglomeration. I M. E. Fayed & L. Otten (Red.), *Handbook of Powder Science & Technology* (s. 202–377). Boston: Springer US.
- Salas-Bringas, C., Plassen, L., Lekang, O., & Schüller, R. B. (2007). Measuring physical quality of pelleted feed by texture profile analysis, a new pellet tester and comparisons to other common measurement devices. *Annual transactions of the Nordic Rheology Society, Vol 15*.
- Sanguansri, L., Udabage, P., Bhail, S., Ying, D. Y., Cheng, L. J., Shen, Z., & Augustin, M. A. (2016). Microencapsulated Fish Oil Powder Formulation with Improved Resistance to Oil Leakage During Powder Compression. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 93(5), 701–710.
- Sijbers, J., & Postnov, A. (2004). Reduction of ring artefacts in high resolution micro-CT reconstructions. *Physics in Medicine and Biology*, 49(14), 247–253.
- Stable Micro Systems Ltd. (2016). Stable Micro Systems: Texture Analysis, A Beginner's Guide. Hentet 29. november 2018, fra <https://www.stablemicrosystems.com/BeginnersGuideToTextureAnalysis.html>
- Statistisk sentralbyrå. (2018). *Rekordhøy Fastlandseksport i 2017*. Hentet 02. juni fra <https://www.ssb.no/utenriksokonomi/artikler-og-publikasjoner/rekordhoy-fastlandseksport-i-2017>

- Tarplee, M. F. V., & Corps, N. (2008a). Acquiring optimal quality X-ray  $\mu$ CT scans. *Application note*, 1, 93-99.
- Tarplee, M. F. V., & Corps, N. (2008b). Skyscan 1072 desktop X-ray microtomograph. *Journal for the Centre for Micromorphology, Department of Geography, Queen Mary, University of London*, 1, 1-30.
- Verdensbanken. (2013). *Fish to 2030: prospects for fisheries and aquaculture* (Nr. 83177, 21). Hentet 21. november fra <http://documents.worldbank.org/curated/en/458631468152376668/Fish-to-2030-prospects-for-fisheries-and-aquaculture>
- Wold, H. (1973). Nonlinear Iterative Partial Least Squares (NIPALS) Modelling: Some Current Developments. I P.R. Krishnaiah (Red.), *Multivariate Analysis-III Proceedings of the Third International Symposium on Multivariate Analysis Held at Wright State University, Dayton, Ohio, June 19-24, 1972* (s. 383–407). Ohio: Elsevier Inc.

## VEDLEGGSLISTE

---

Vedlegg A: Oversikt over pelletenes poredistribusjon

Vedlegg B: Avviksresultater

Vedlegg C: Kalkulert resultat av alle replikatene

Vedlegg D: Resultater fra alle pelletene, både CT data og måldata

Vedlegg E: PCA over mikroCT data og ekstruderingsbetingelser

Vedlegg F: Lineær sammenheng mellom predikerte verdier fra multivariable modeller og referanseverdier.

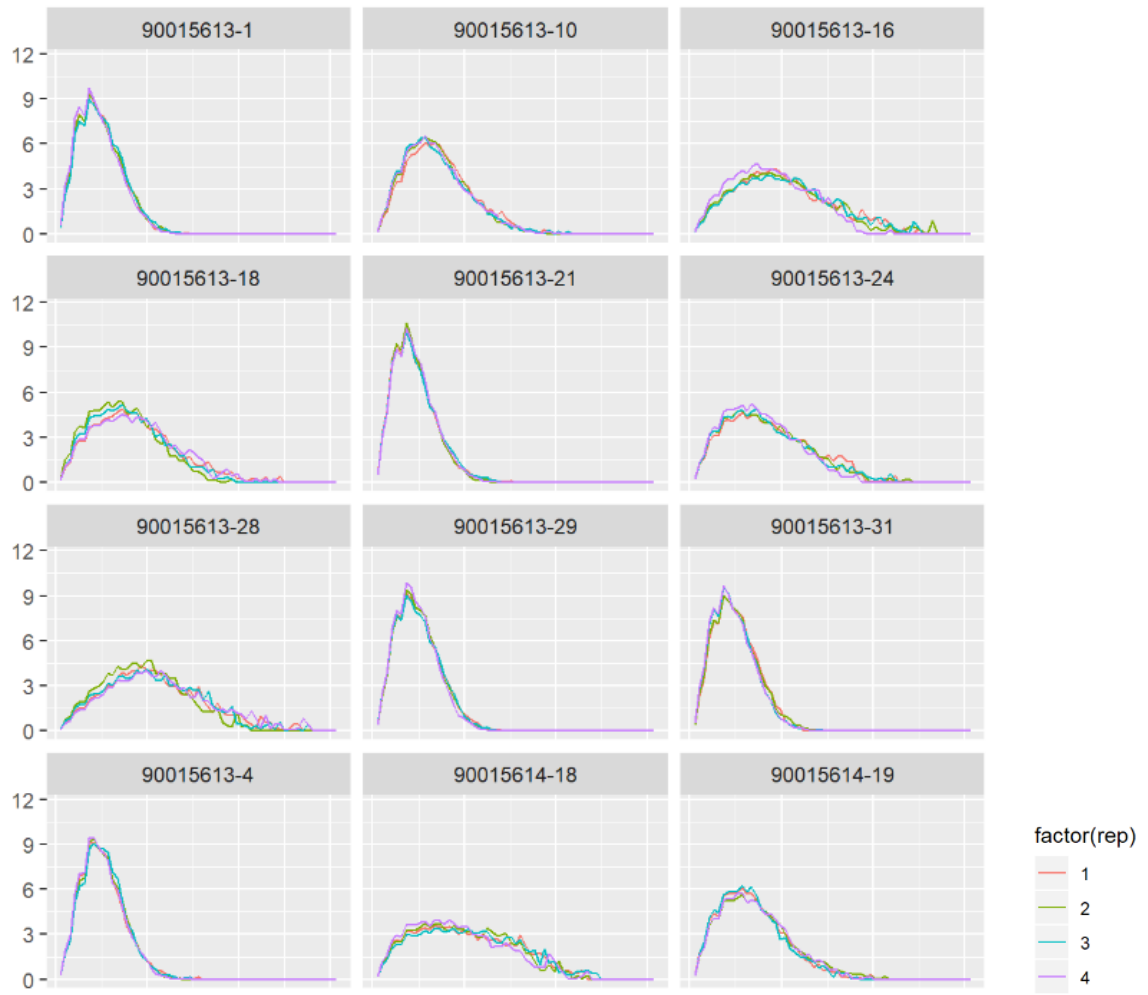
Vedlegg G: Sammenligning mellom predikerte verdier fra univariable modeller og referanseverdier

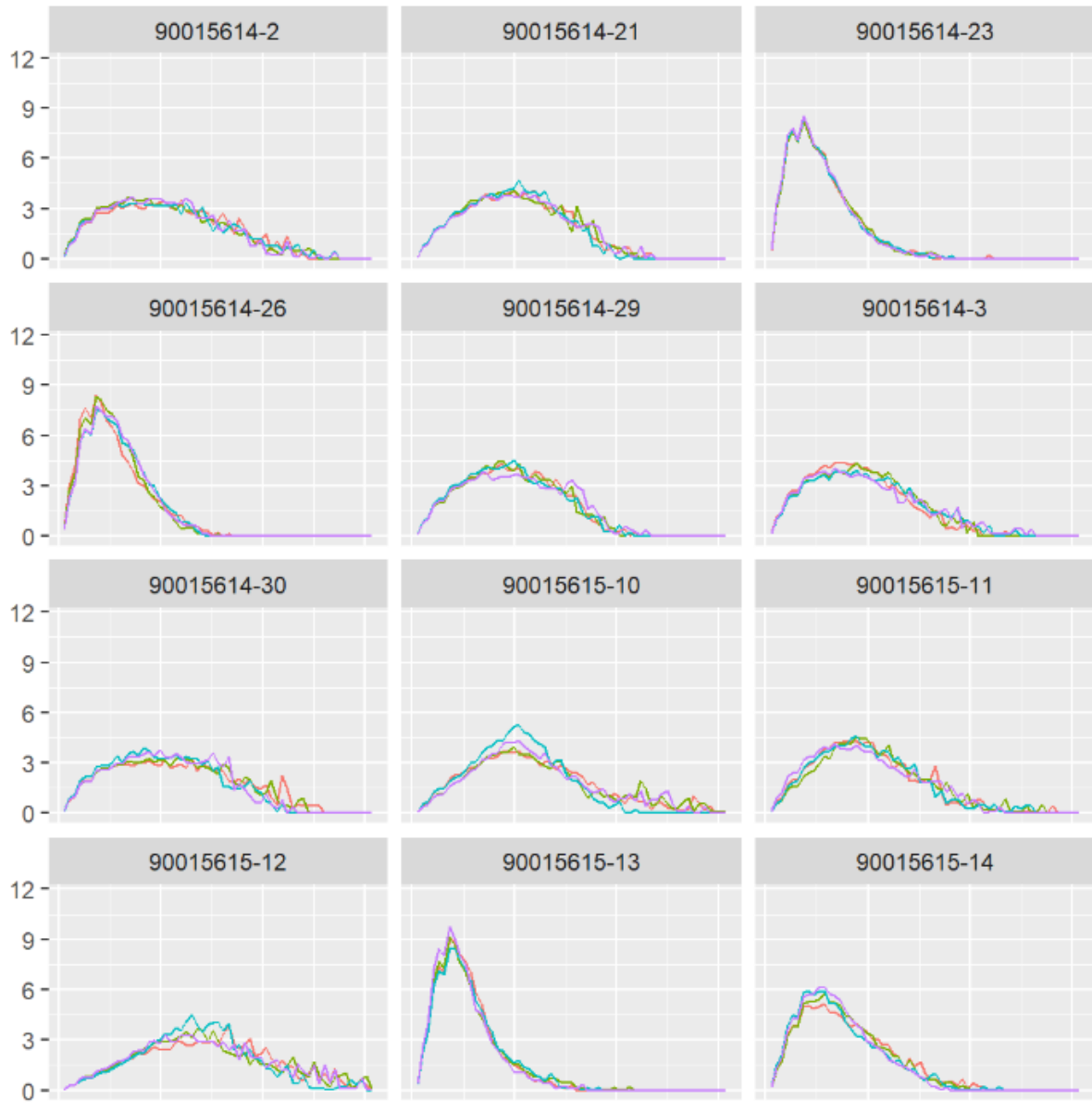
Vedlegg H: Linearitet mellom predikerte verdier fra univariable modeller og referanseverdier

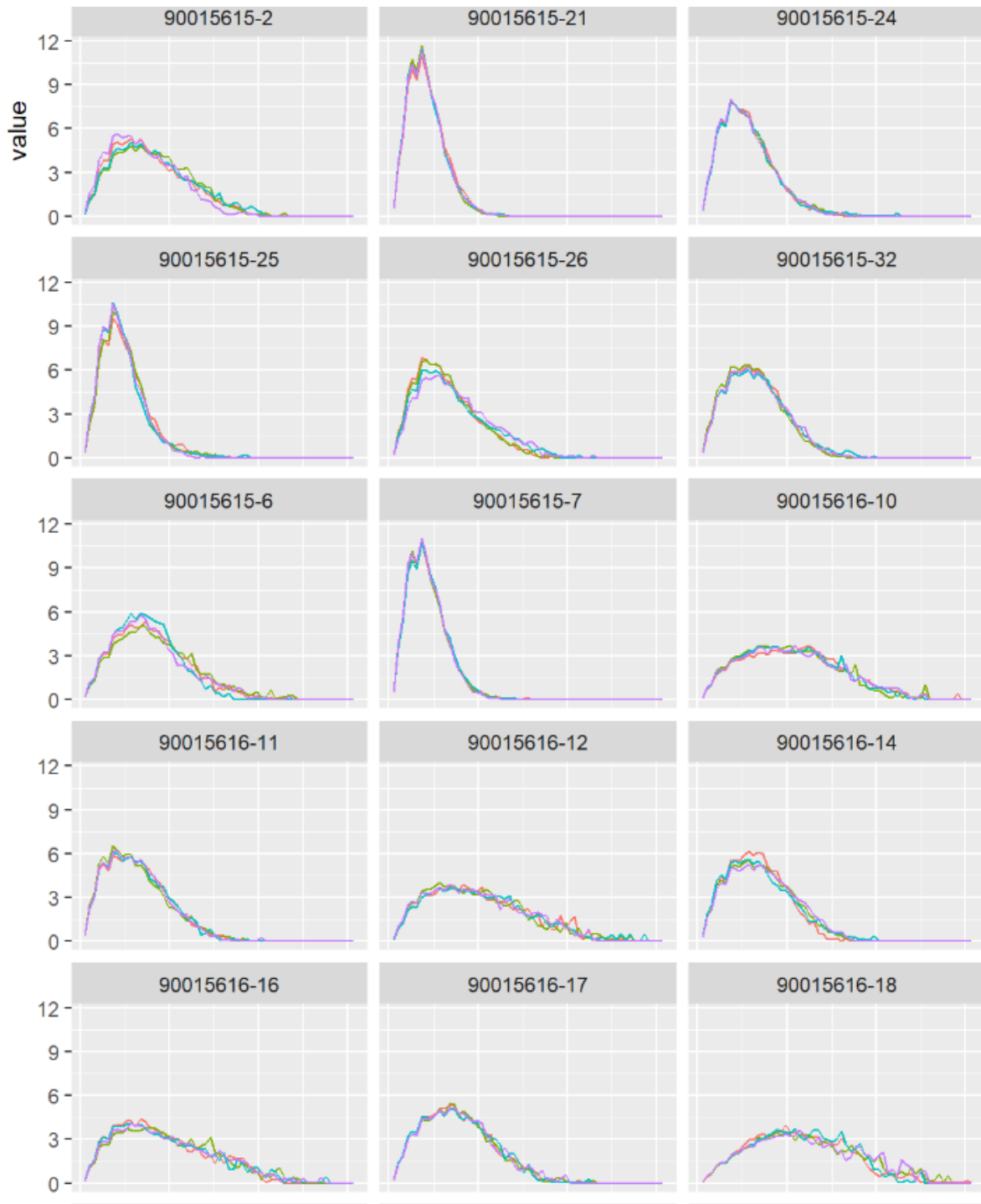
Vedlegg I: Validering av univariable modeller

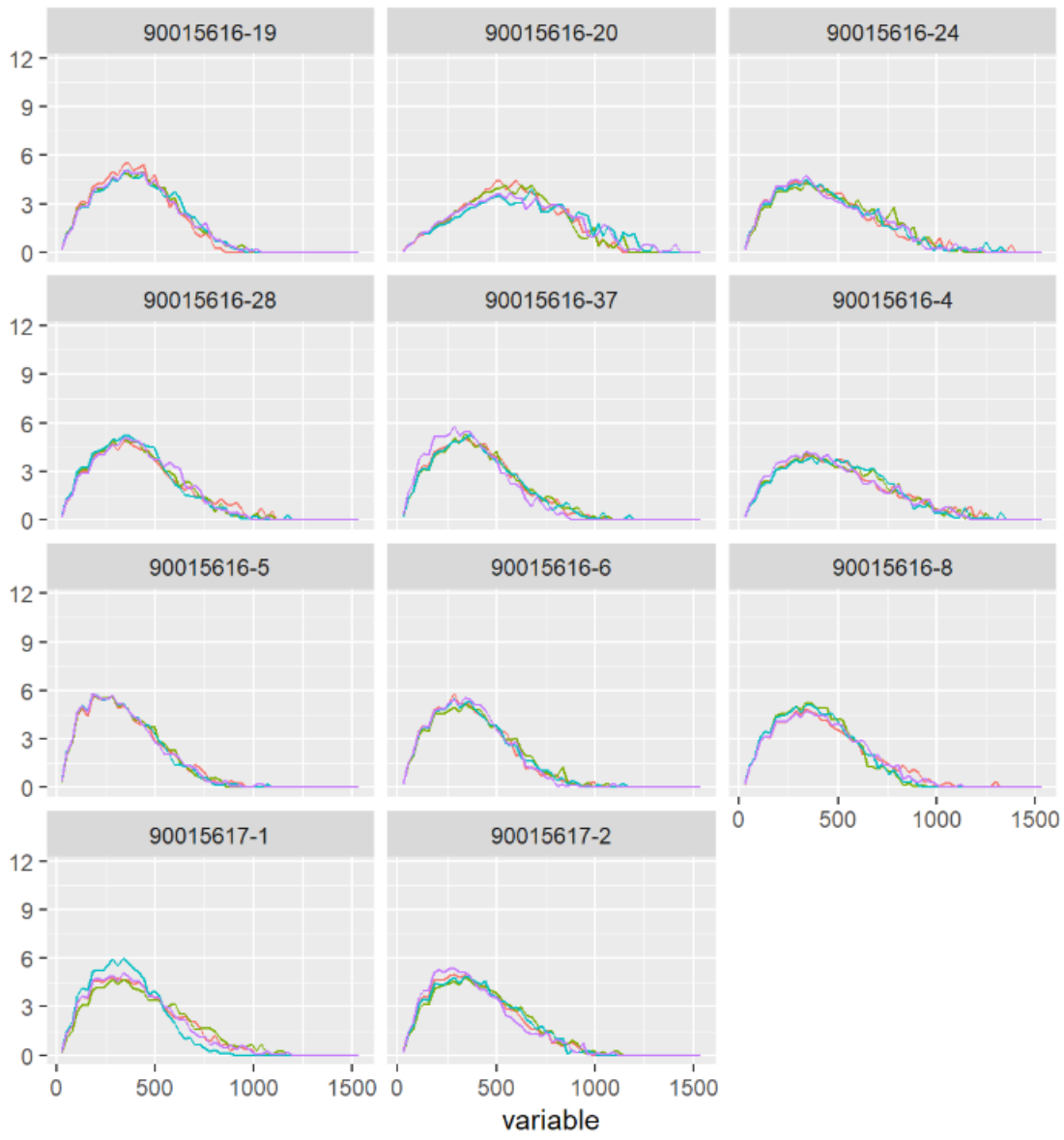
## Vedlegg A: Oversikt over pelletenes poredistribusjon

Oversikt over poresdistribusjon for hvert pelletparti oppgitt i prosent. Hvert parti ble skannet med 4 replikater.







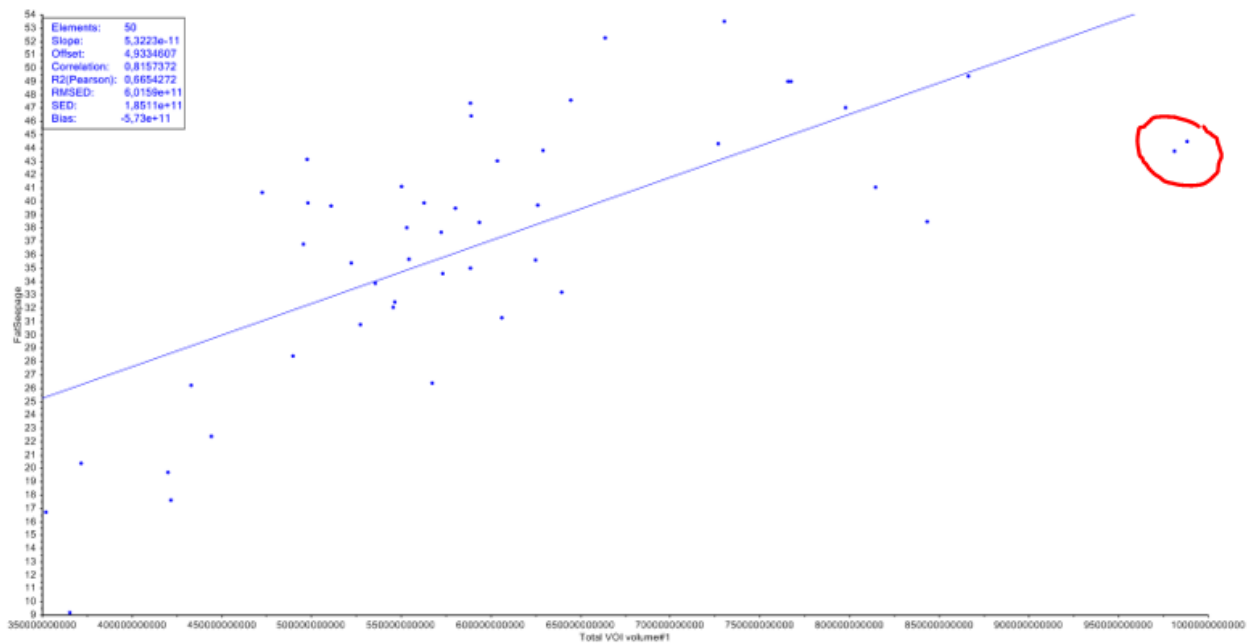




## Vedlegg B: Avviksresultater

Forklaring for de to slettede uteliggere

Først ble det satt opp et spredningsplott over alle resultatene for å se prøvenes lineære regresjon og finne avviksresultater. Det ble oppdaget to avviksresultater, disse pelletene har større diameter enn maksimal størrelse på standard pellet og var derfor for store for prøvebeholderen. Disse pelletene ble slettet fra modellen.



Figur B: Spredningsplott over alle mikro CT resultater inkludert avviksresultater markert med rød ring.

## Vedlegg C: Kalkulert resultat av alle replikatene

Vedlegg D viser resultatene til alle de skannede pelletene og viser ulikheten mellom replikatene.

Dette excel arket er for stort for A4 sider og finnes derfor kun i elektronisk form med filnavn «mikroCT resultater med replikater».

Dette kan anskaffes på epost ved å kontakte Marit Cecilie Værland; [marit\\_varland@cargill.com](mailto:marit_varland@cargill.com)

## Vedlegg D: Resultater fra alle pelletene, både CT data og måldata

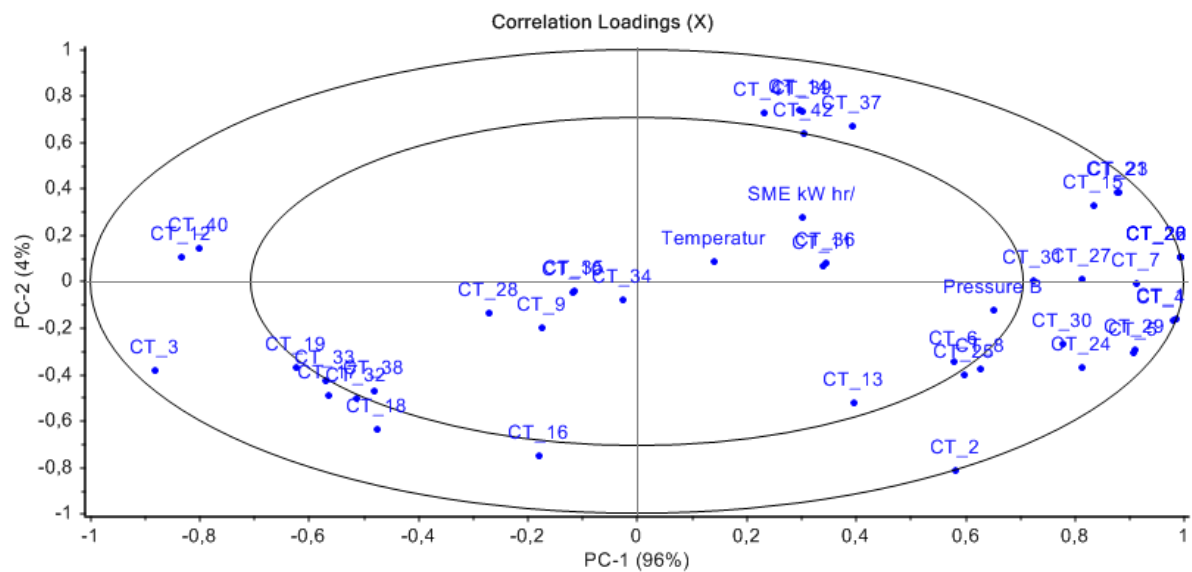
Vedlegg D viser resultatene til alle de skannede pelletene og viser ulikheten mellom replikatene.

Dette excel arket er for stort for A4 sider og finnes derfor kun i elektronisk form med filnavn «Resultater\_all data».

Dette kan anskaffes på epost ved å kontakte Marit Cecilie Værland; [marit\\_varland@cargill.com](mailto:marit_varland@cargill.com)

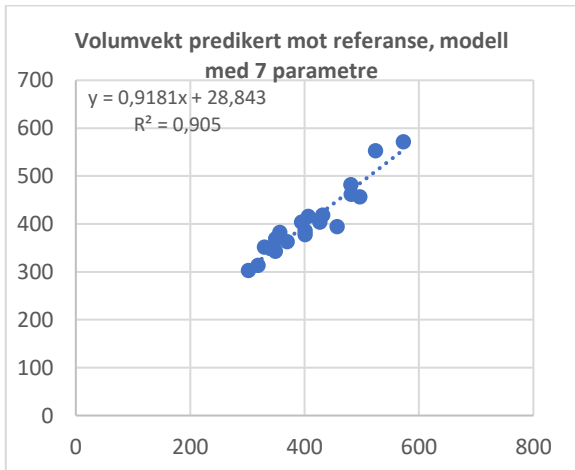
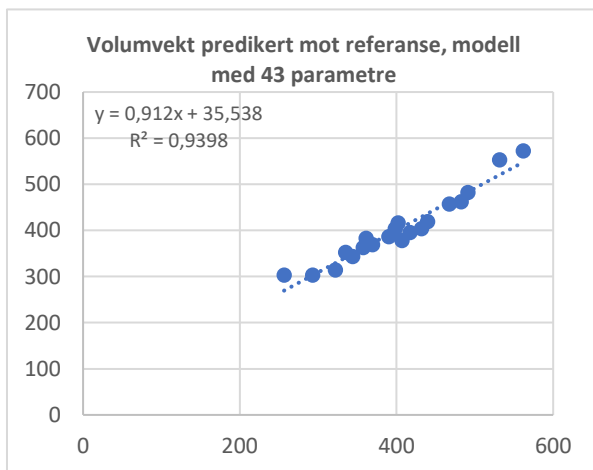
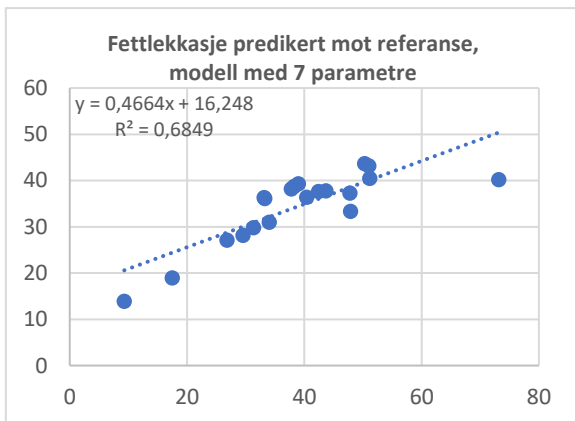
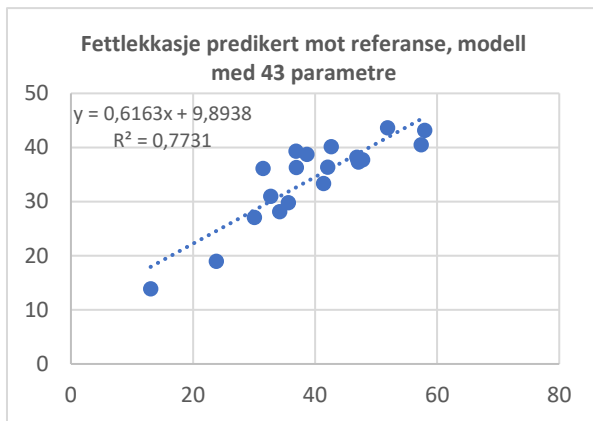
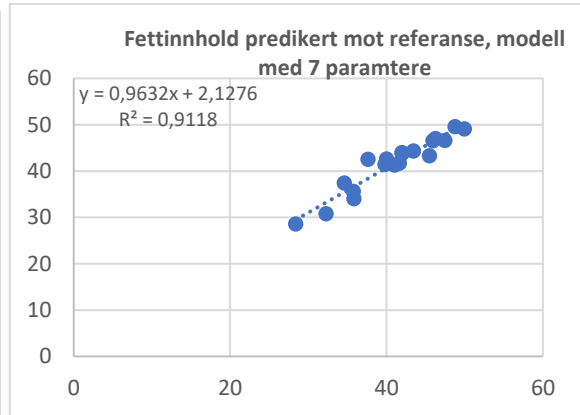
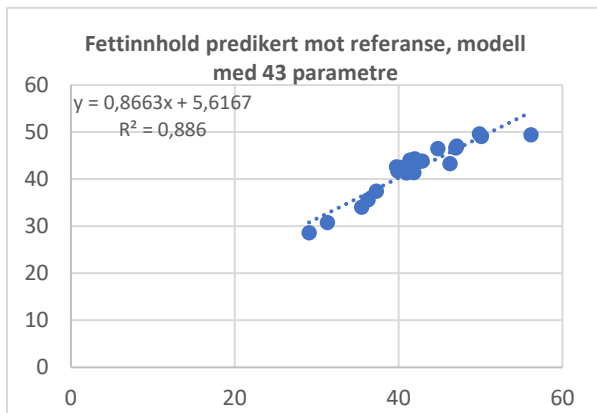
## Vedlegg E: PCA analyse mellom mikroCT data og ulike ekstruderings betingelser

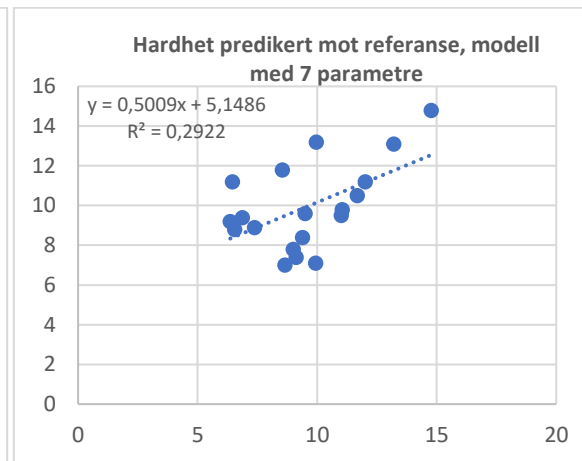
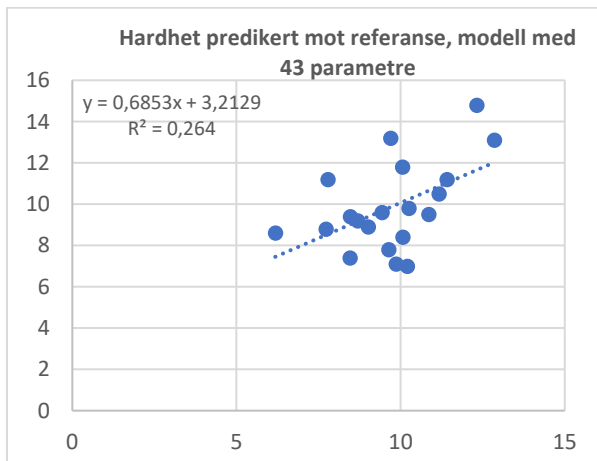
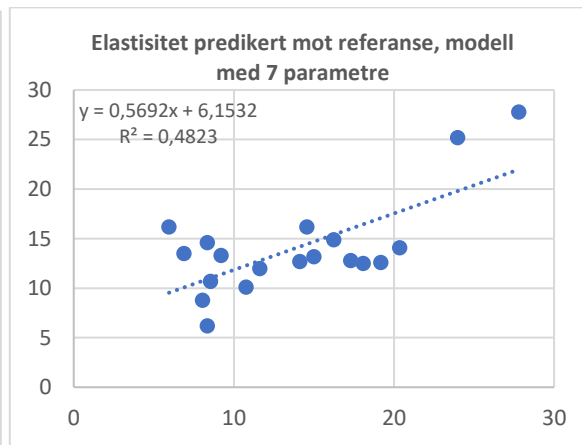
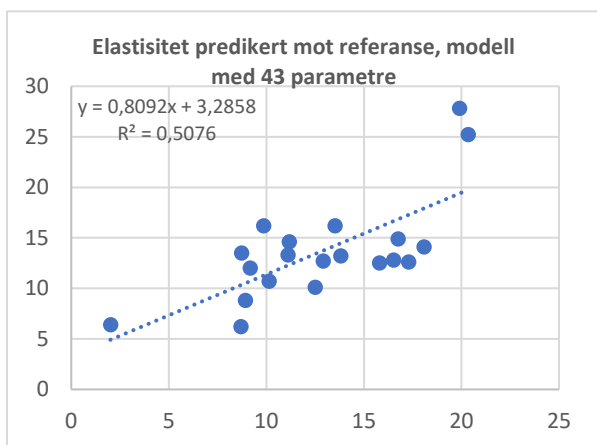
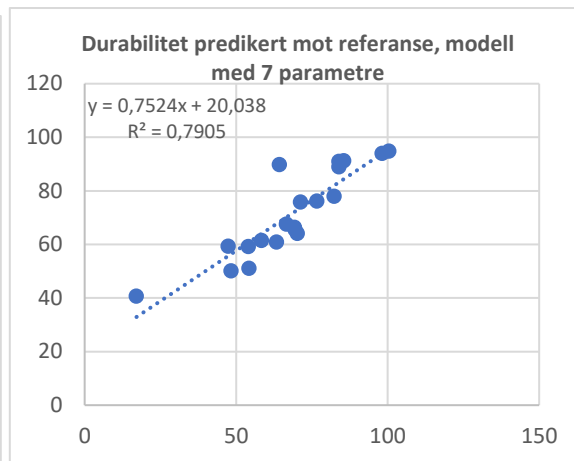
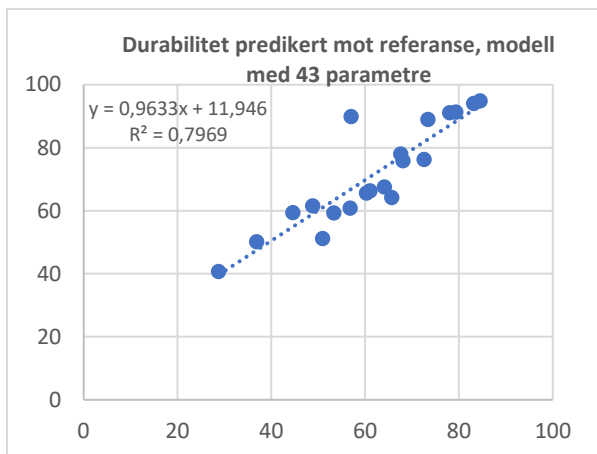
Det ble utført en PCA-analyse mellom mikroCT data og ulike ekstruderings betingelser, ettersom også disse faktorene påvirker pelletens fysiske kvalitet. Porene i pelleten er avhengig av prosess parametere som temperatur og mekanisk energi (SME kW) under ekstrudering og trykk (SME kW)) etter dyse. Figur G viser korrelasjon under 50% for alle prosessparametere. Ettersom forklaringsvariansen for temperatur, trykk og mekanisk energi er så pass lav blir disse parameterne utelatt i oppgaven.

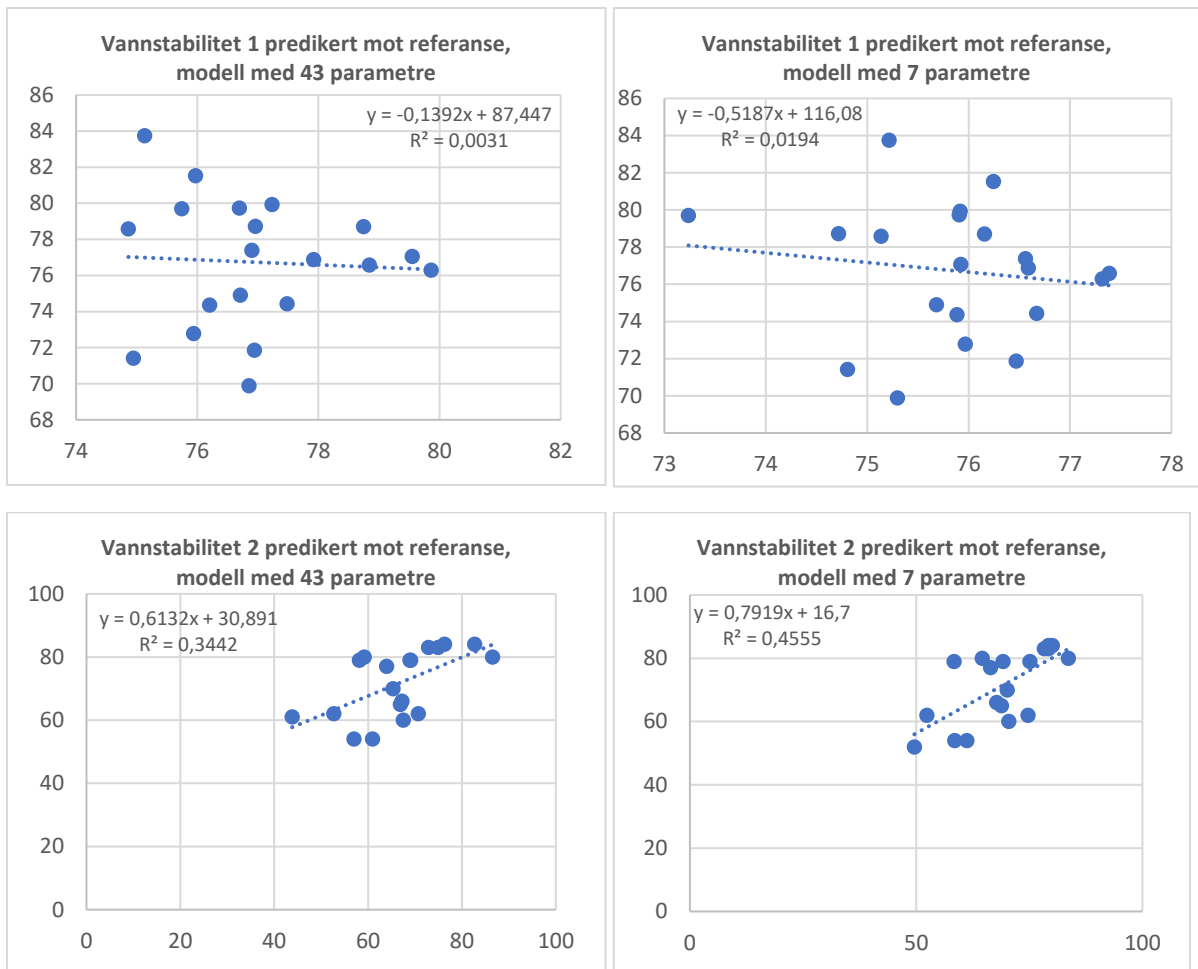


Figur E: Korrelasjon mellom mikroCT resultat og ekstruderings parametere

Vedlegg F: Lineær sammenheng mellom predikerte verdier og referanseverdier i de to multivariable modellene







Figur F Lineær sammenheng mellom predikerte verdier og referanseverdier i PLS-R modell for 43 CT parametre (venstre) og 7 CT parametre (høyre).

## Vedlegg G: Sammenligning mellom predikerte verdier fra univariable modeller og referanseverdier

Vedlegg G viser resultatene til alle de skannede pelletene og viser ulikheten mellom replikatene.

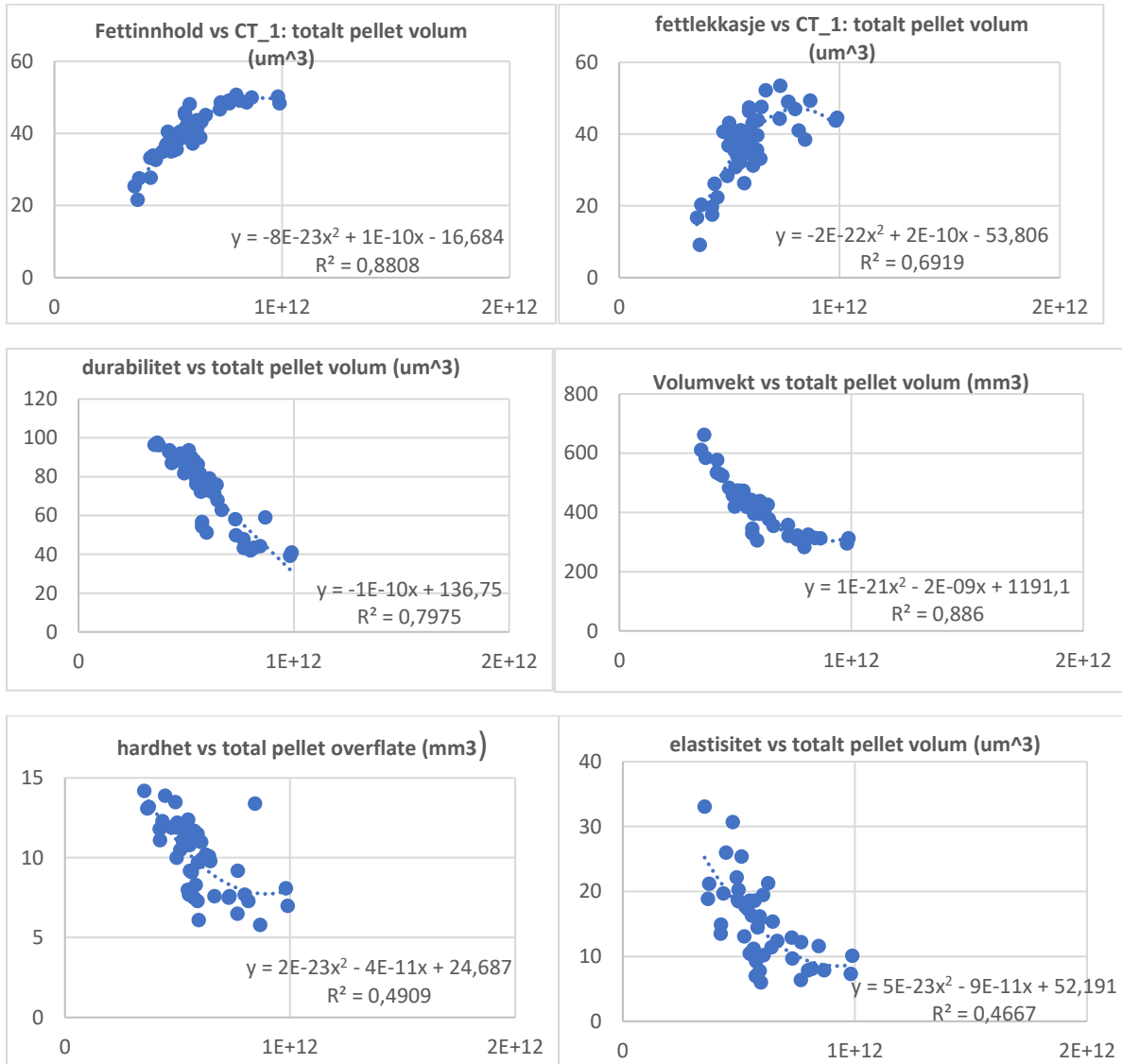
Dette excel arket er for stort for A4 sider og finnes derfor kun i elektronisk form med filnavn «Univariable modeller\_sammenligning mellom predikerte og referanse verdier».

Dette kan anskaffes på epost ved å kontakte Marit Cecilie Værland; [marit\\_varland@cargill.com](mailto:marit_varland@cargill.com)

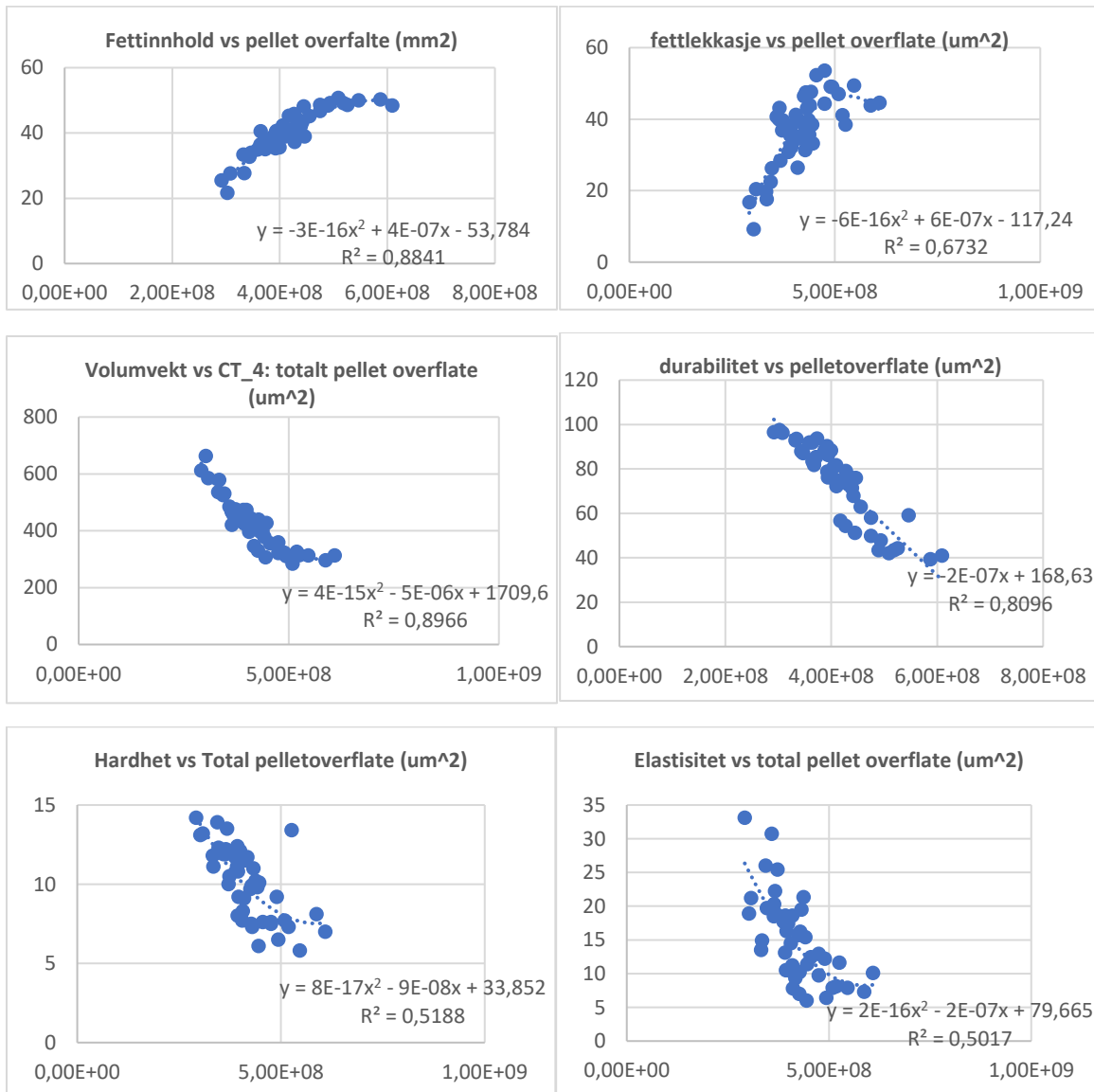


# Vedlegg H: Linearitet mellom predikerte verdier fra univariable modeller og referanseverdier

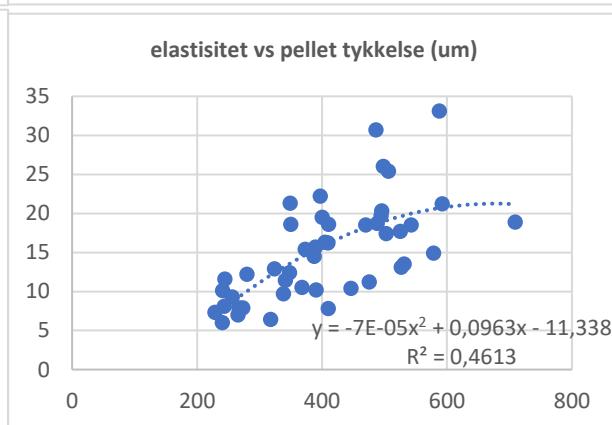
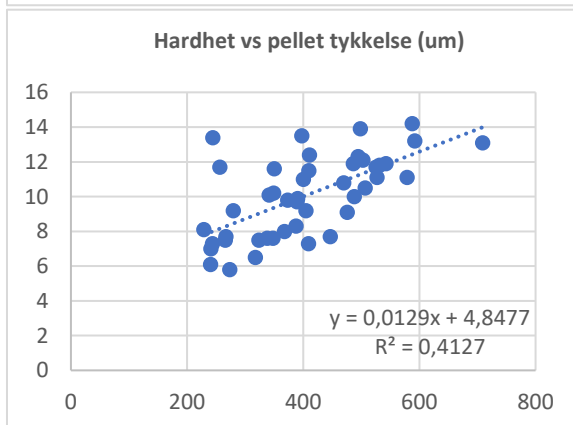
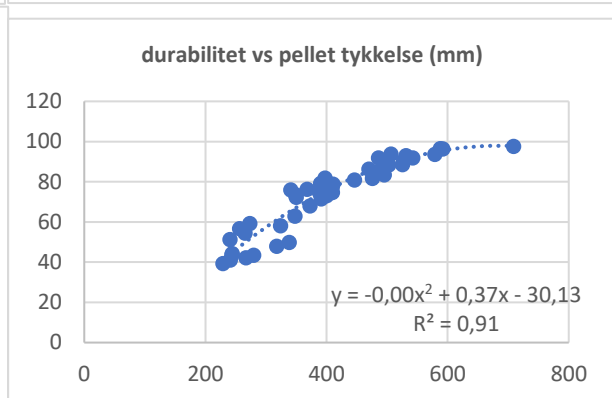
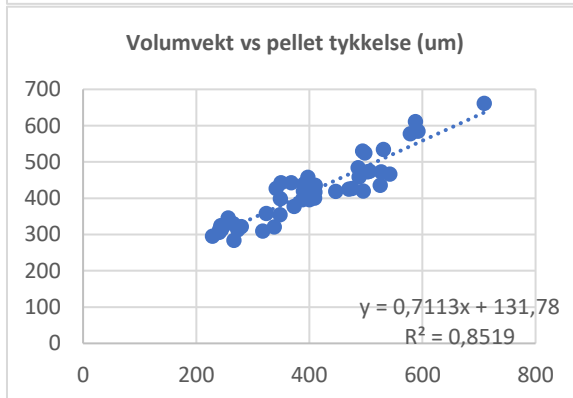
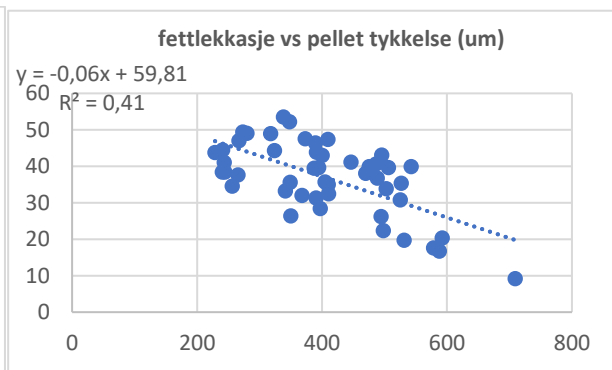
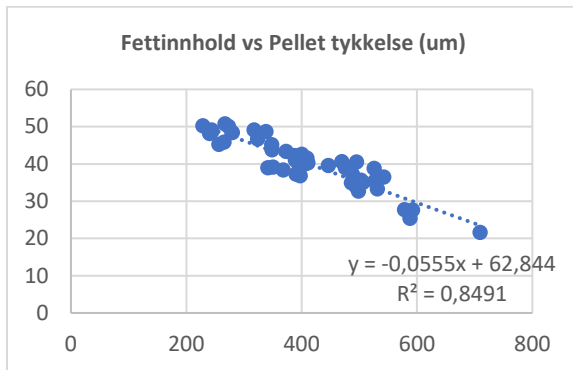
## H.1 MODELLERING AV TOTALT PELLET VOLUM



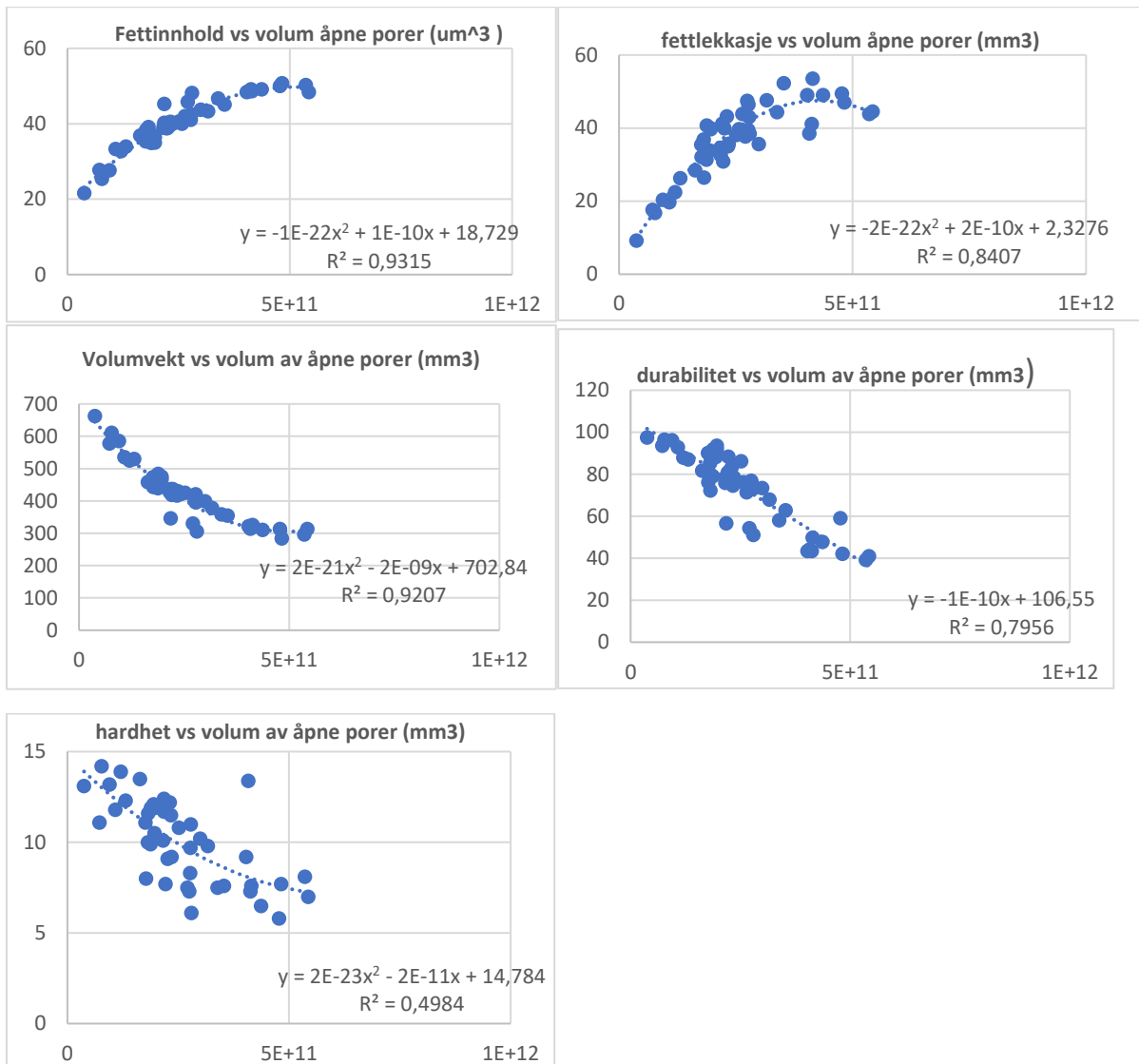
## H.2 MODELLERING AV TOTAL PELLET OVERFLATE



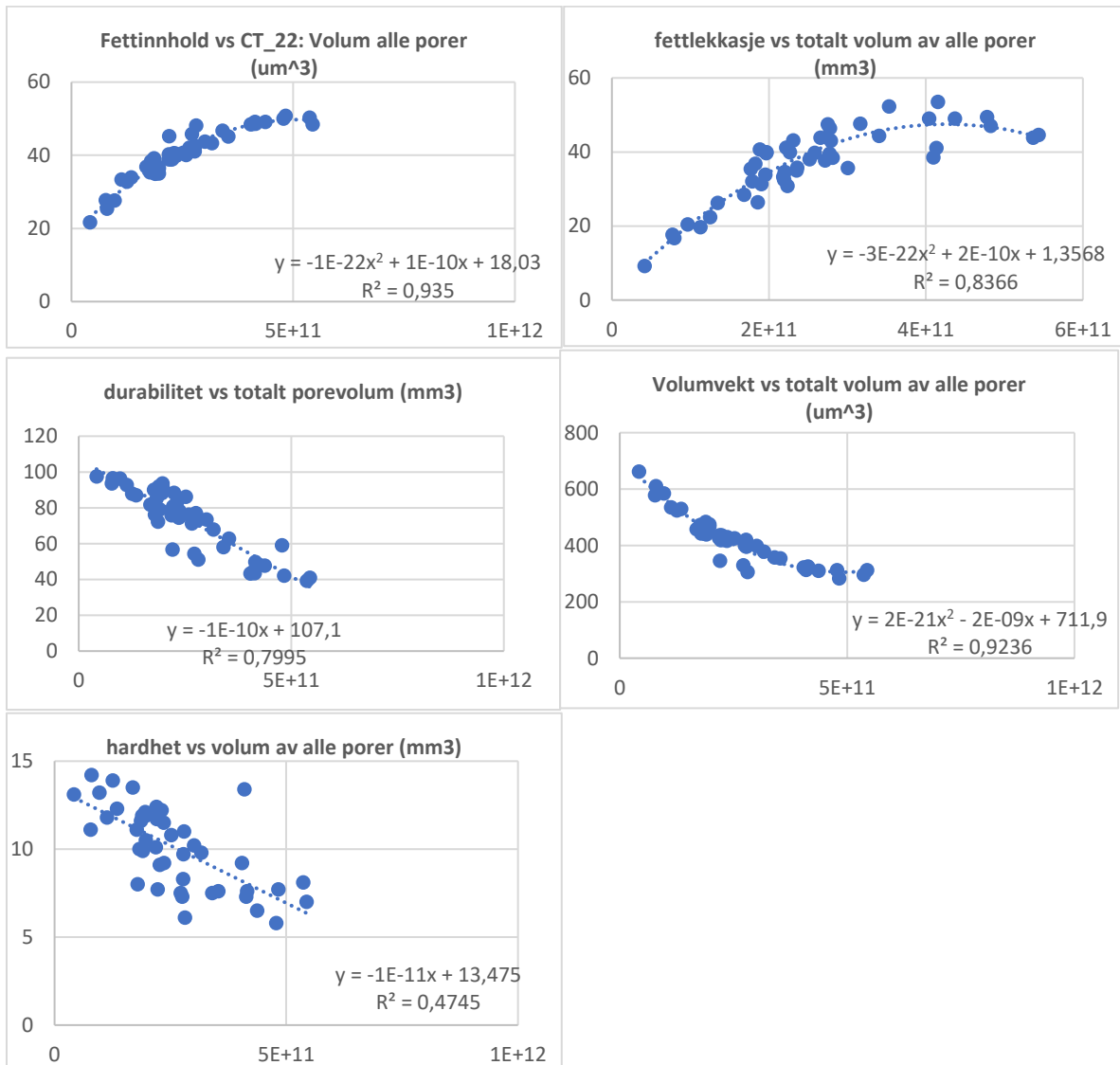
### H.3 MODELLERING AV PELLETTYKKELSE



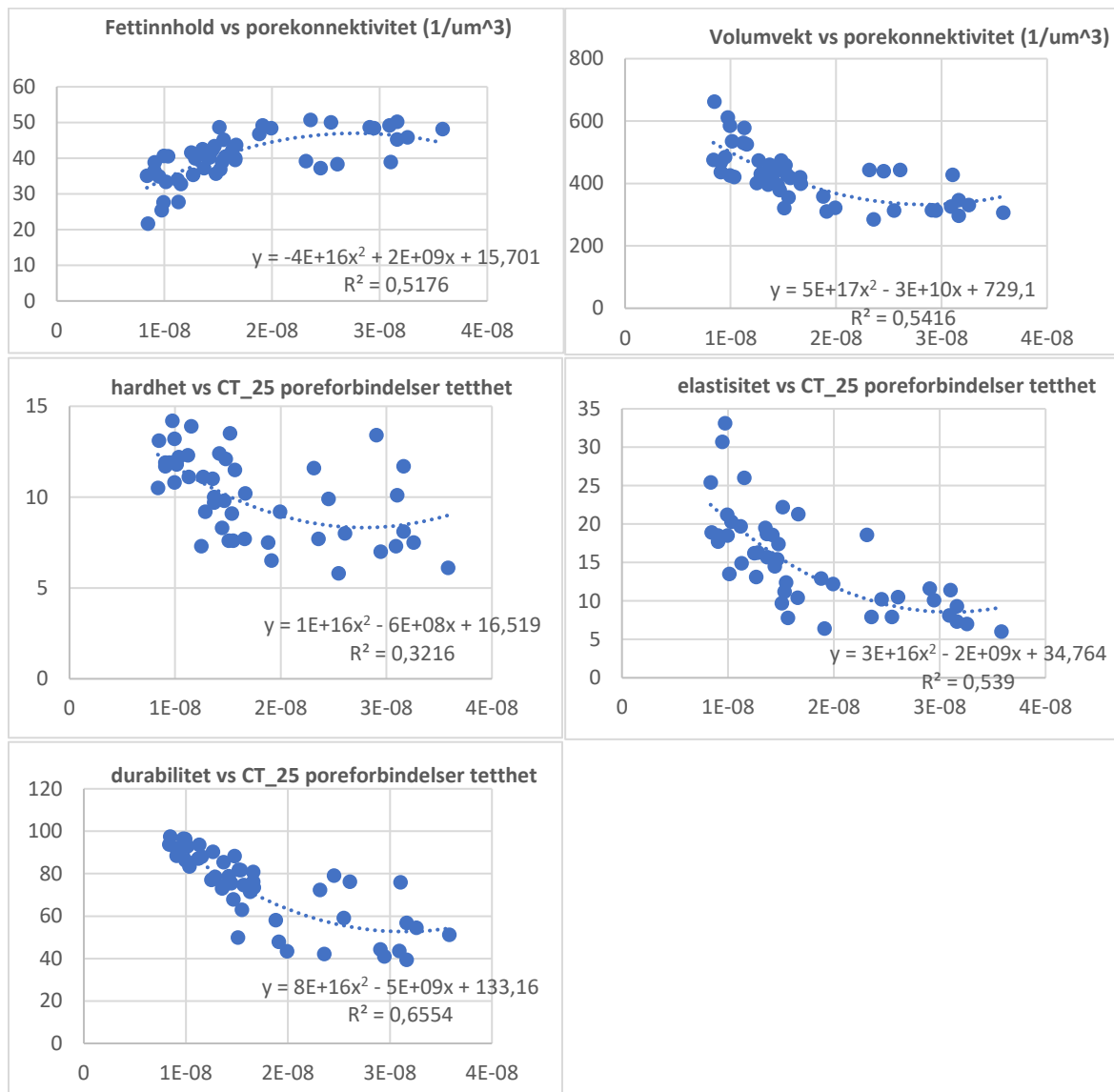
## H.4 MODELLER AV VOLUM PÅ ÅPNE PORER



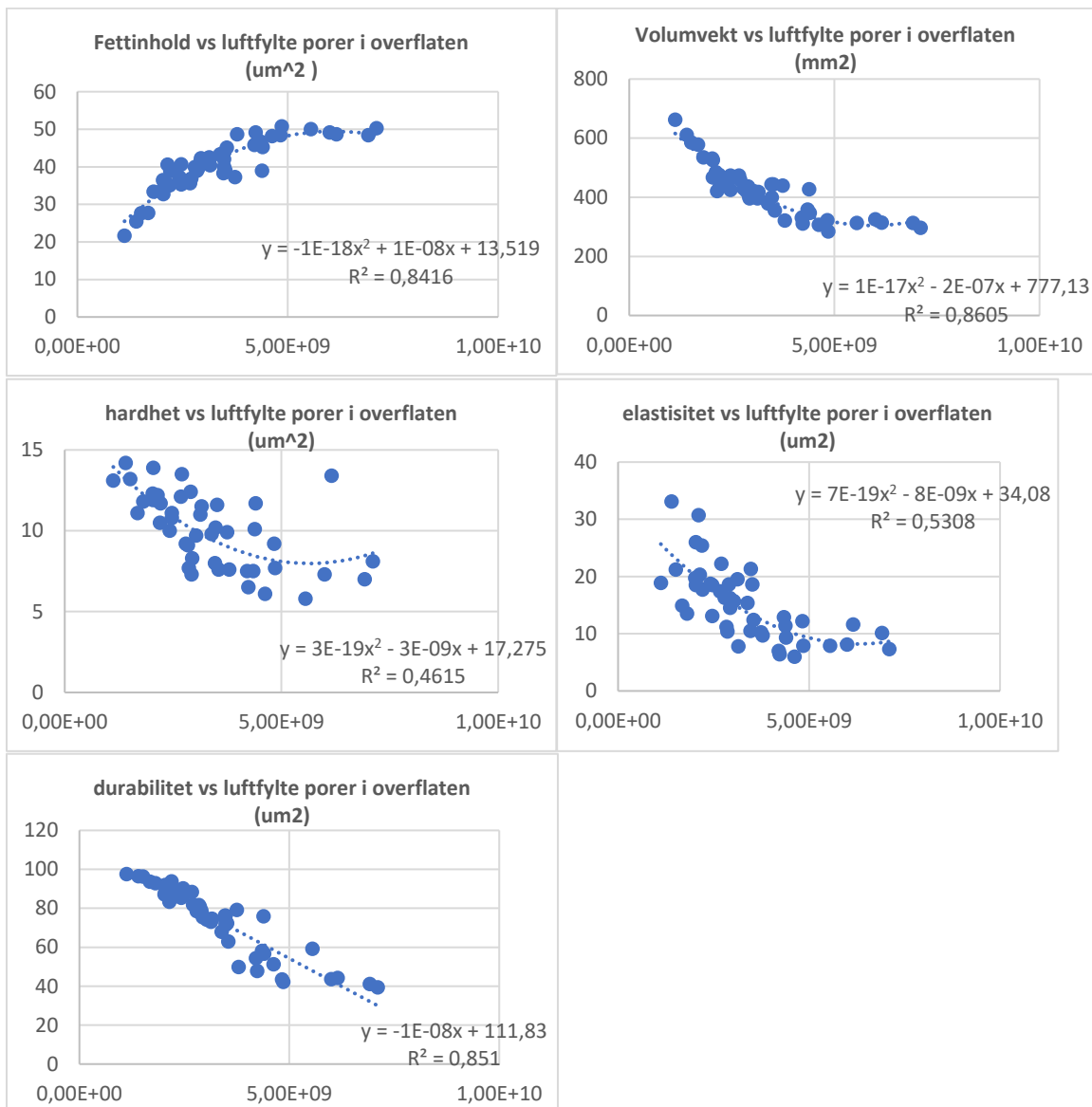
## H.5 MODELL AV VOLUM PÅ ALLE PORER



## H.6 MODELLER FOR KONNEKTIVITET (POREFORBINDELSER)



## H.7 MODELLER AV LUFTFYLTE PORER I OVERFLATEN



## Vedlegg I: Validering av univariable modeller

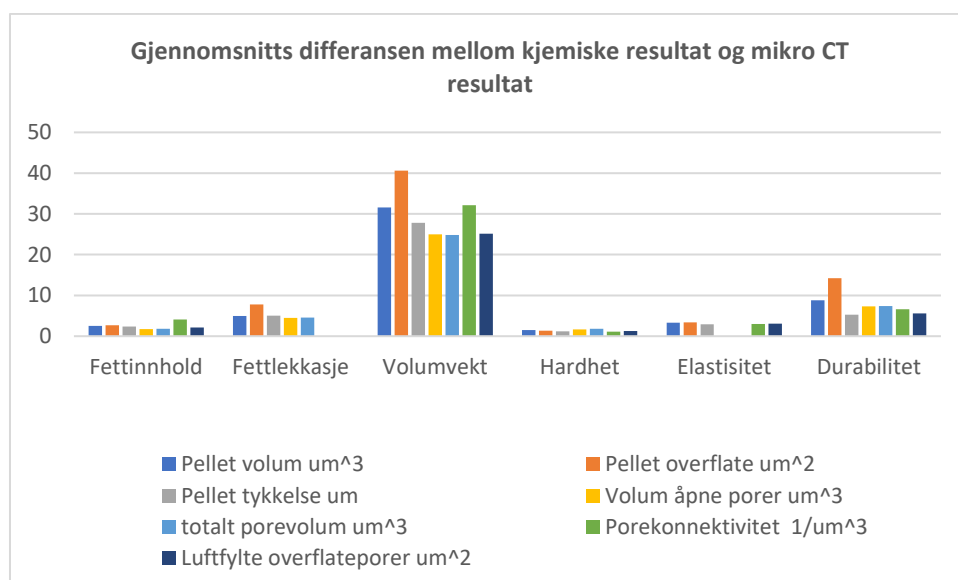
Validering av modellene er basert på 20 valideringsprøver. hver valideringsprøve er gjennomsnittsverdien til 4 replikater fra et parti med pellet.

### I.1 GJENNOMSNIFFS DIFFERANSEN OG STANDARDAVVIKET MELLOM REFERANSE RESULTATER OG PREDIKERTE RESULTATER.

Den predikerte verdien til de skannede pelletene ble kalkulert ut fra polynom 2.grads ligning

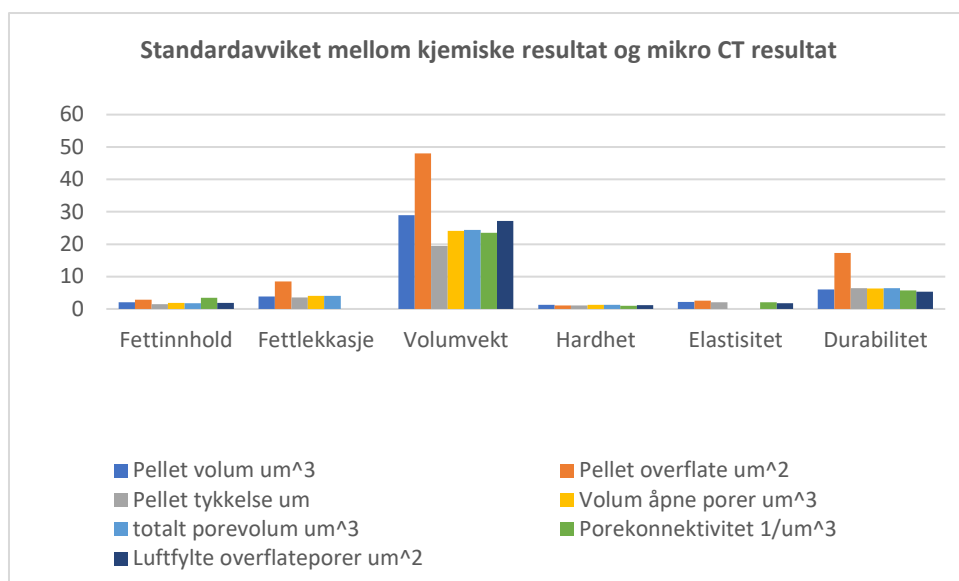
Tabell I-1 gjennomsnitts differansen og standardavviket mellom referanse resultat og predikert resultat. CT parameteren: CT\_2 pellet overflate, ga lite relevant informasjon og ble derfor utelukket.

	CT_1 Pellet volum um <sup>3</sup>		CT_4 Pellet overflate um <sup>2</sup>		CT_12 Pellet tykkelse um		CT_20 Volum åpne porer um <sup>3</sup>		CT_22 totalt volum av porer um <sup>3</sup>		CT_25 Porekonnektivitet 1/um <sup>3</sup>	
	gj.snitt	std.der	gj.snitt	std.der	gj.snitt	std.der	gj.snitt	std.avvik	gj.snitt	std.avvik	gj.snitt	std.avvik
<b>Fettinnhold</b>	2,5314	2,0916	2,6969	2,8776	2,3869	1,5012	1,7727	1,8725	1,8009	1,7659	2,1028	1,8645
<b>Fettlekkasje</b>	4,9346	3,8287	7,7657	8,4693	5,0055	3,5152	4,5223	4,0827	4,5982	4,0640		
<b>Volumvekt</b>	31,5513	28,9988	40,5945	48,0210	27,8507	19,4913	25,0106	24,0776	24,8274	24,4325	25,1527	27,1814
<b>Hardhet</b>	1,5212	1,2869	1,3683	1,1215	1,2170	1,0774	1,6282	1,2639	1,8104	1,2728	1,2951	1,1922
<b>Elastisitet</b>	3,2722	2,1606	3,3808	2,5779	2,9018	2,0393					3,0426	1,8072
<b>Durabilitet</b>	8,7916	5,9869	14,2353	17,3167	5,2943	6,3677	7,3510	6,3591	7,4166	6,3860	5,6061	5,2975



Figur I-1 gjennomsnitts differansen mellom kjemiske resultat og mikro CT resultat. Valideringsprøvene består av 20 ulike pelleter.





Figur I-2 Standard avviket mellom kjemiske resultat og mikro CT resultat. Valideringsprøvene består av 20 ulike pelletter.

## I.2 VALIDERING AV HVER UNIVARIABEL MODELL BASERT PÅ 20 VALIDERINGSPRØVER.

	Totalt pellet volum	Pellet overflate	Pellet tykkelse	Volum åpne porer	Volum alle porer	Pore konnektivitet	Luftfylte porer overflaten
<b>Fettinnhold</b>							
Stigningstall	1,09	0,90	0,86	1,04	1,01	0,99	0,96
Offset	-3,50	3,74	5,52	-1,99	-1,27	3,88	1,81
korrelasjon	0,89	0,80	0,88	0,92	0,96	0,83	0,89
R <sup>2</sup> (pearson)	0,79	0,65	0,78	0,85	0,92	0,68	0,80
RMSED	3,28	3,94	23,82	2,58	1,92	5,37	2,81
SED	3,37	4,02	2,87	2,64	1,84	4,03	2,87
SEC	2,09	2,88	1,50	1,87	1,77	3,49	1,86
Gj.snitt differanse	2,53	2,7	2,39	1,77	1,80	4,08	2,10

	Totalt pellet volum	Pellet overflate	Pellet tykkelse	Volum åpne porer	Volum alle porer	Pore konnektivitet	Luftfylte porer overflaten
<b>Fettlekkasje</b>							
Stigningstall	1,04	0,85	0,60	1,02	1,00	NA	NA
Offset	2,86	6,04	17,75	3,63	4,25	NA	NA
korrelasjon	0,86	0,49	0,77	0,87	0,86	NA	NA
R <sup>2</sup> (pearson)	0,75	0,24	0,60	0,75	0,75	NA	NA
RMSED	6,25	11,49	6,12	6,09	6,14	NA	NA
SED	4,68	11,76	4,88	4,48	4,47	NA	NA
SEC	3,83	8,47	3,52	4,08	4,06	NA	NA
Gj.snitt differanse	4,93	7,77	5,01	4,52	4,60	NA	NA

<b>Volumvekt</b>	<b>Totalt pellet volum</b>	<b>Pellet overflate</b>	<b>Pellet tykkelse</b>	<b>Volum åpne porer</b>	<b>Volum alle porer</b>	<b>Pore konnektivitet</b>	<b>Luftfylte porer overflaten</b>
<b>Stigningstall</b>	1,14	0,90	0,90	1,06	1,05	0,8	1,02
<b>Offset</b>	-60,78	46,28	39,42	-26,87	-23,86	91,37	-17,15
<b>korrelasjon</b>	0,89	0,72	0,89	0,91	0,91	0,85	0,90
<b>R<sup>2</sup> (pearson)</b>	0,79	0,52	0,79	0,83	0,83	0,72	0,81
<b>RMSED</b>	42,85	62,88	33,99	34,72	34,83	39,84	37,03
<b>SED</b>	43,58	64,14	34,87	35,58	35,66	39,39	36,90
<b>SEC</b>	28,00	48,02	19,49	24,08	24,43	23,53	27,18
<b>Gj.snitt differanse</b>	31,55	40,59	27,85	25,01	24,83	32,15	25,15

<b>Hardhet</b>	<b>Totalt pellet volum</b>	<b>Pellet overflate</b>	<b>Pellet tykkelse</b>	<b>Volum åpne porer</b>	<b>Volum alle porer</b>	<b>Pore konnektivitet</b>	<b>Luftfylte porer overflaten</b>
<b>Stigningstall</b>	0,41	0,46	0,40	0,33	0,26	0,47	0,43
<b>Offset</b>	5,57	5,20	5,88	6,47	7,05	5,24	5,32
<b>korrelasjon</b>	0,48	0,57	0,62	0,41	0,33	0,69	0,58
<b>R<sup>2</sup> (pearson)</b>	0,23	0,33	0,39	0,17	0,11	0,47	0,33
<b>RMSED</b>	1,99	1,77	1,63	2,06	2,21	1,48	1,76
<b>SED</b>	2,03	1,81	1,67	2,11	2,26	1,52	1,78
<b>SEC</b>	1,29	1,12	1,08	1,26	1,27	0,96	1,19
<b>Gj.snitt differanse</b>	1,52	1,37	1,22	1,63	1,81	1,12	1,30

<b>Elastisitet</b>	<b>Totalt pellet volum</b>	<b>Pellet overflate</b>	<b>Pellet tykkelse</b>	<b>Volum åpne porer</b>	<b>Volum alle porer</b>	<b>Pore konnektivitet</b>	<b>Luftfylte porer overflaten</b>
<b>Stigningstall</b>	0,64	0,54	0,56	NA	NA	0,68	0,66
<b>Offset</b>	5,04	6,71	6,60	NA	NA	5,29	4,56
<b>korrelasjon</b>	0,68	0,61	0,72	NA	NA	0,74	0,73
<b>R<sup>2</sup> (pearson)</b>	0,46	0,38	0,52	NA	NA	0,54	0,54
<b>RMSED</b>	3,92	4,25	3,55	NA	NA	3,68	3,54
<b>SED</b>	4,02	4,34	3,58	NA	NA	3,64	3,63
<b>SEC</b>	2,16	2,58	2,04	NA	NA	2,11	1,81
<b>Gj.snitt differanse</b>	3,27	3,38	2,90	NA	NA	3,02	3,04

<b>Durabilitet</b>	<b>Totalt pellet volum</b>	<b>Pellet overflate</b>	<b>Pellet tykkelse</b>	<b>Volum åpne porer</b>	<b>Volum alle porer</b>	<b>Pore konnektivitet</b>	<b>Luftfylte porer overflaten</b>
<b>Stigningstall</b>	0,97	1,29	0,85	0,89	0,89	0,77	0,94
<b>Offset</b>	-1,64	-32,70	9,32	5,84	5,71	17,05	0,93
<b>korrelasjon</b>	0,84	0,70	0,87	0,83	0,83	17,05	0,90
<b>R<sup>2</sup> (pearson)</b>	0,71	0,48	0,75	0,70	0,69	0,70	0,82
<b>RMSED</b>	10,64	24,64	8,28	9,72	9,79	8,75	7,71
<b>SED</b>	10,15	22,25	8,36	9,68	9,71	8,96	7,22
<b>SEC</b>	5,99	19,59	6,37	6,36	6,39	5,73	5,30
<b>Gj.snitt differanse</b>	8,79	14,94	5,29	7,35	7,41	6,60	5,60