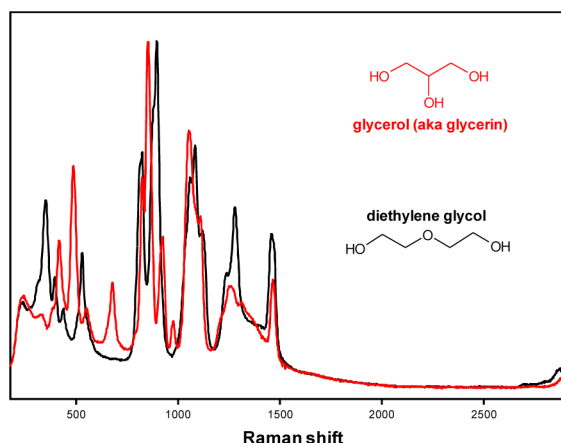


# Использование портативного Раман-спектрометра Thermo TruScan RM для количественных измерений

Барри Джонс, Nutricia, Ливерпуль, Великобритания  
Шилах Халси, Thermo Fisher Scientific, Хемел Хемпстед, Великобритания

В то время как основной областью применения TruScan является определение подлинности, данные, полученные с помощью прибора, можно также использовать для автономного количественного анализа при вторичном тестировании упаковок. В этом примере мы использовали TruScan для получения сведений о смеси глицерина, воды и диэтиленгликоля (DEG), а также использовали указанные данные для разработки мультивариантной модели калибровки для определения массовой доли диэтиленгликоля. Спектры чистых компонентов глицерина и DEG показаны справа.

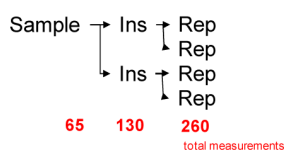


## Экспериментальная часть

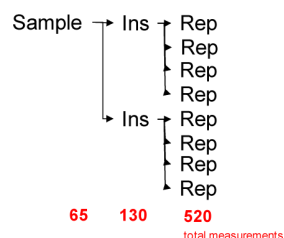
Калибровочные образцы глицерина (чистота USP), воды и DEG были приготовлены гравиметрически с концентрацией DEG в диапазоне 0% – 80% (вес.): от 0% до 5% с шагом 1%, от 5% до 80% с шагом 5%. Все образцы были приготовлены в трёх экземплярах, за исключением концентраций 1% и 80%, которые были приготовлены в четырёх экземплярах. Общее число образцов составило 65, в 23 квазиравномерных расчётных точках. В закрытых системах, как эта, существует обязательная сильная ковариация между концентрациями глицерина и DEG. Вязкость глицерина затруднила достижение однородности, поэтому после приготовления образцы нагревали в термостате при 70°C в течение 1 часа, затем смешивали в барабанном смесителе в течение 5 минут.

В связи с необходимостью независимой валидации было приготовлено 65 новых образцов с аналогичными интервалами концентраций и 23 расчётными точками. Калибровочные спектры были получены в режиме «RUN» прибора TruScan, в этом случае все настройки прибора определяются автоматически, в том числе время анализа. К сожалению, это означает разное время анализа для разных образцов, однако, фактическое время анализа может быть при желании изменено. Гнездовые повторные измерения проводились с учётом возможности точного определения компонентов дисперсии. Первое гнездо удаления и перемещения флаконов-образцов после случайной переориентации, второе гнездо требовало повторного измерения без перемещения флаконов-образцов. В общей сложности, 260 спектров было получено в последующий калибровочный анализ. Спектры валидационных образцов измеряли на следующий день также с помощью прибора TruScan в автоматическом режиме. Гнездовые повторные измерения были проведены вновь, насчитывая, в общей сложности, 520 валидационных случаев. На рисунке ниже показаны детали измерений, проводившихся для калибровки/валидации.

### Calibration



### Validation



## Моделирование

Спектральный диапазон был сокращён до 250-1500 волновых чисел (спектральных особенностей не было обнаружено в диапазоне 1500-2850). Выпадающие числа при калибровке и валидации не удалялись. Для компенсации любых изменений времени

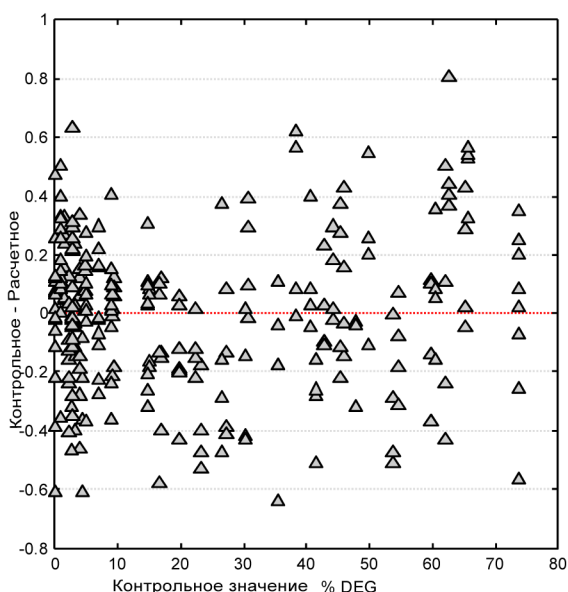
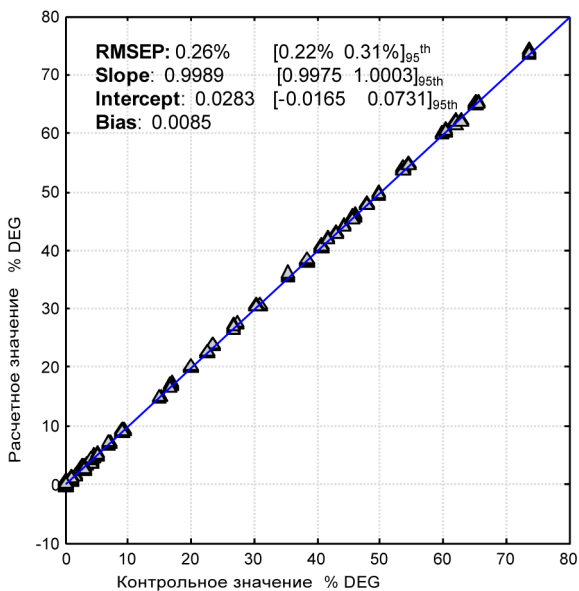
### Ключевые слова:

- Портативные анализаторы
- Спектроскопия Рамановского рассеяния
- Количественный анализ

засветки каждый спектр был нормализован до длины единиц (Евклидовы) и отцентрирован. Нелинейность, полученная в этой процедуре, была получена в результате включения полиномиальных членов в регрессию. Мы также попытались скорректировать спектр непосредственно по фактическому времени анализа, однако это не дало преимуществ по сравнению с простой нормализацией. Модели PLS были построены, и перекрёстная валидация с использованием калибровочных данных и явный излом кривой RMSECV наблюдался при 2 скрытых переменных. Эта модель использовалась для прогнозирования независимых валидационных образцов. Контрольные оценки концентраций (DEG, %) показаны далее.

## Результаты

Некоторое резюме статистики представлено далее на графике. В частности обоснование того, что 0,26% DEG было достигнуто (оценки интервалов включены).



Формальное определение предела обнаружения или ROC анализ не были проведены, однако, с помощью грубой оценки был выбран предел 0,5%, который приведёт к примерно 10% ложно-положительных заключений и менее чем к 10% ложно-негативных заключений при истинных концентрациях DEG выше 1% м./м.

Спрогнозированная дисперсия ошибки была в дальнейшем разделена на компоненты дисперсии путём повторных измерений. Наблюдались следующие компоненты дисперсии:

Компонент	Дисперсия, %
Образец (приготовление)	24,6%
Вставка	17,2%
Чистый повтор	58,2%
<b>Сумма</b>	<b>100%</b>

Таким образом, из общего процента RMSEP (0,26%) около половины принадлежит фундаментальным источниками вариабельности, таким, как помехи считывания и флуктуационный шум (чистый повтор). Этот компонент RMSEP, как ожидается, может быть снижен, если время интеграции увеличится, однако следует учитывать, что общая RMSEP снизится только до 0,17% даже при бесконечном времени интеграции. Член вставки обуславливает малую часть общей RMSEP, и предположительно вследствие оптической изменчивости стекла флаконов и позиционирования самого флакона. Член образец+приг. объясняется неселективностью калибровочной модели и погрешностью контрольных значений, но, опять же, является довольно малым, и даже при бесконечном уменьшении снизит наблюдаемую RMSEP до 0,23%.

В завершение, калибровка, разработанная для этого устройства, была успешно перенесена на второй прибор TruScan. Потери точности не наблюдалось при прогоне валидации на этой единице, несмотря на то, что потребовалось внесение поправки углового коэффициента/смещения для минимизации отклонения.

## Резюме

Несмотря на то, что основной областью применения TruScan является определение подлинности, данные, полученные с помощью прибора, можно также использовать для автономного количественного анализа. Этот высококачественный рамановский спектрометр может заменить лабораторные системы дальнейшего анализа. В рассмотренном случае нам удалось обнаружить примесь DEG на уровне 1%, используя для этого простую мультивариантную калибровочную процедуру.