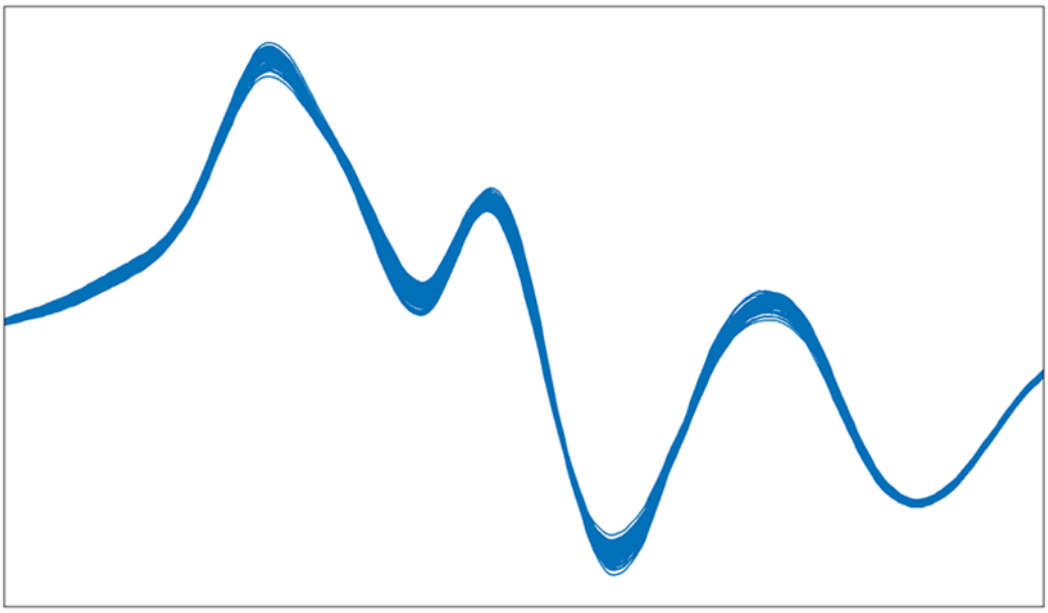
OMNIS NIR-Theorie



Handbuch

8.0600.8101DE / v10 / 2026-04-08

Metrohm

Metrohm AG
Ionenstrasse
CH-9100 Herisau
Schweiz
+41 71 353 85 85
info@metrohm.com
www.metrohm.com

OMNIS NIR-Theorie

Handbuch

8.0600.8101DE / v10 /
2026-04-08

Technical Communication
Metrohm AG
CH-9100 Herisau

Bei dieser Dokumentation handelt es sich um ein Originaldokument.

Diese Dokumentation wurde mit grösster Sorgfalt erstellt. Dennoch sind Fehler nicht vollständig auszuschliessen. Bitte richten Sie diesbezügliche Hinweise an die obenstehende Adresse.

Haftungsausschluss

Von der Gewährleistung ausdrücklich ausgeschlossen sind Mängel, die auf Umstände zurückgehen, die nicht von Metrohm zu verantworten sind, wie unsachgemässe Lagerung, unsachgemässer Gebrauch etc. Eigenmächtige Veränderungen am Produkt (z. B. Umbauten oder Anbauten) schliessen jegliche Haftung des Herstellers für daraus resultierende Schäden und deren Folgen aus. Anleitungen und Hinweise in der Produktdokumentation der Metrohm sind strikt zu befolgen. Andernfalls ist die Haftung von Metrohm ausgeschlossen.

Inhaltsverzeichnis

1 Überblick

1.1 Einleitung

Die Nahinfrarotspektroskopie (NIR-Spektroskopie) ist eine zerstörungsfreie, schnelle und reagenzienfreie Analysenmethode, die sich für ein breites Spektrum von Proben eignet. Sie kann mehrere Parameter zugleich analysieren und sowohl physikalische als auch chemische Eigenschaften eines Materials bestimmen. Dazu gehören unter anderem Analytkonzentrationen, Dichte, Partikelgrösse oder intrinsische Viskosität.

Die NIR-Spektroskopie ermöglicht ausserdem die Identifizierung unbekannter Proben (ab OMNIS Software 4.0) und die Verifizierung von Proben (ab OMNIS Software 4.2).

Die Möglichkeit zur zerstörungsfreien Messung von Proben aus der Ferne ist in der Qualitätskontrolle und Prozessüberwachung von entscheidender Bedeutung.

Das Handbuch beschreibt Techniken und Algorithmen zur Aufnahme, Verarbeitung und Analyse von Nahinfrarot-Spektren, wie sie in der OMNIS Software implementiert sind. In Kapitel 2 wird kurz erläutert, wie die Messsignale in Absorptionsspektren umgewandelt werden. Kapitel 3 behandelt die Kalibrierung des Geräts. Kapitel 4 beschreibt die Entwicklung von Modellen, die den Analyseparameter (Quantifizierung) oder die Produktzugehörigkeit (Identifizierung) vorhersagen können. Kapitel 5 befasst sich mit der Prädiktion von Unbekannten. Kapitel 6 bildet den Anhang mit Erläuterungen zu verschiedenen Algorithmen.

1.2 Konzeptrahmen

Die vorgestellten Verfahren fügen sich in den folgenden Rahmen ein:

1. **Kalibrierung, Standardisierung und Leistungstests**
   Sicherstellung der Übertragbarkeit und Zuverlässigkeit der mit dem Gerät erfassten Absorptionsspektren.
2. **Modellentwicklung**
   Es wird ein Modell für die Prädiktion eines quantitativen Parameters oder für die Identifizierung von Proben entwickelt.
   Die Entwicklung basiert auf Proben mit bekanntem Analyseparameter oder bekannter Produktzugehörigkeit.

3. **Probenanalyse**
   Von der analysierten Probe wird ein Spektrum erfasst. Auf der Grundlage des Spektrums liefert ein Quantifizierungsmodell eine quantitative Prädiktion oder ein Identifizierungsmodell identifiziert oder verifiziert die Probe.
4. **Überwachung**
   Die Überwachung des Modells und des Geräts bestätigt, dass das System für die weitere Analyse geeignet ist.

1.3 Angaben zur Dokumentation

Darstellungskonventionen

Fettgedruckte Grossbuchstaben stehen für Matrizen, fettgedruckte Kleinbuchstaben für Vektoren. Die Transponierte einer Matrix oder eines Vektors wird durch ein hochgestelltes t gekennzeichnet, zum Beispiel $\mathbf{x}^{\mathbf{t}}$.

Skalare werden durch Kleinbuchstaben dargestellt. Der Zirkumflex (^) kennzeichnet geschätzte (vorhergesagte) Werte, zum Beispiel $\hat{y}$. Ein Querstrich steht für Mittelwerte, zum Beispiel $\bar{y}$.

Ein Skalar kann eine wellenlängenabhängige Variable darstellen, zum Beispiel die Absorbanz A. Die Skalarschreibweise kann austauschbar mit der Vektorschreibweise verwendet werden.

1.4 Weiterführende Informationen

Auf den folgenden Seiten sind weitere Informationen zum Produkt verfügbar:

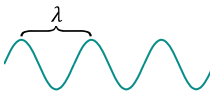
- Metrohm-Website *https://www.metrohm.com* – Übersicht über Produktfamilie, Dokumente als PDF, Angabe des Zubehörs und Informationen zu Applikationen.
- Hilfe der OMNIS Software *https://guide.metrohm.com* – Thematisch gefilterte Informationen zur OMNIS Software.

2 Nahinfrarotlicht und Spektren

2.1 Licht und seine Wechselwirkung mit Materie

Ein Spektrometer misst, wie eine Probe mit Licht interagiert. Licht kann in unterschiedlichem Masse absorbiert oder gestreut werden. Die Wechselwirkung hängt von den Eigenschaften des Lichts, insbesondere seiner Wellenlänge, und von den Eigenschaften des Materials, insbesondere seiner Molekularstruktur, ab.

Wellenlänge



Licht ist elektromagnetische Strahlung. Das Licht bewegt sich als Welle mit schwingenden elektrischen und magnetischen Feldern durch den Raum. Die Wellen breiten sich in Raum und Zeit aus. Eine Welle wird dementsprechend durch ihre Wellenlänge λ (z. B. in Nanometer = 10^{-9} Meter) und ihre Frequenz (Hz) charakterisiert.

Die Wellenlänge ist umgekehrt proportional zur Frequenz der Welle. Wellen mit höheren Frequenzen (mehr Schwingungen pro Sekunde) haben kürzere Wellenlängen und umgekehrt. Aufgrund dieser Beziehung kann die Welle entweder mit der Wellenlänge (nm) oder der Frequenz (Hz) beschrieben werden.

Licht kann Energie in diskreten Quanteneinheiten, den Photonen, austauschen. Die Energie eines einzelnen Photons, E, hängt von seiner Frequenz f bzw. seiner Wellenlänge λ ab:

$$E = hf = h\frac{c}{\lambda}$$

Hierbei entspricht h der Planck-Konstante und c der Lichtgeschwindigkeit.

Abbildung 1 zeigt verschiedene Bereiche von elektromagnetischer Strahlung.

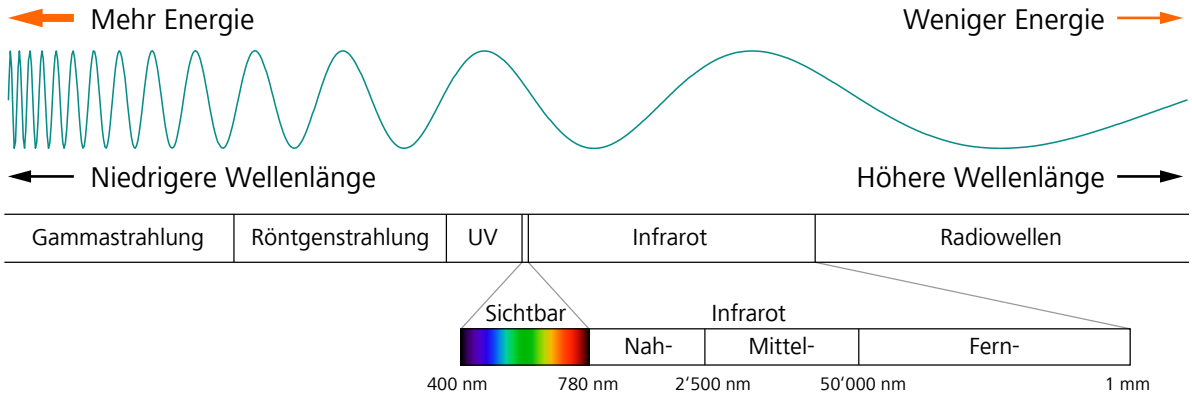


Abbildung 1 Bereiche elektromagnetischer Strahlung. Der Nahinfrarotbereich (NIR) liegt neben dem Bereich des sichtbaren Lichts. NIR umfasst Wellenlängen von 780 nm bis 2'500 nm.

Strahlungsquellen

Unterschiedliche Bereiche von elektromagnetischer Strahlung haben unterschiedliche Strahlungsquellen. Im NIR-Bereich ist die Quelle die **Wärmestrahlung**. Eine Infrarotkamera erkennt zum Beispiel den menschlichen Körper, weil dieser eine höhere Temperatur hat als die Umgebung.

Intensität

Die Amplitude der elektromagnetischen Welle bestimmt die Intensität des Lichts. Je höher die Amplitude, umso höher die Intensität. Bei sichtbarem Licht wird die Intensität als Helligkeit wahrgenommen.

Wechselwirkung von Licht und Materie

Im Folgenden wird der Prozess der Absorption von Licht durch Moleküle dargelegt.

Die Art und Weise, wie Licht mit Materie interagiert, hängt vom Bereich der elektromagnetischen Strahlung ab. Wird beispielsweise Energie von sichtbarem Licht auf Moleküle übertragen, wechseln Elektronen in den Molekülen von einem niedrigeren Energieniveau auf ein höheres Energieniveau (elektronischer Übergang). Im Infrarotbereich finden **Schwingungsübergänge** statt. Chemische Bindungen, funktionelle Gruppen und Moleküle können auf verschiedene Weise schwingen, zum Beispiel durch Streckschwingung, Deformationsschwingung oder Drehschwingung.

Moleküle dürfen nur diskrete Schwingungszustände einnehmen. Bei Umgebungstemperatur befinden sich die meisten Moleküle im Grundschwingungszustand (Niveau 0). Übergänge vom Grundschwingungszustand zu angeregten Zuständen werden nach folgendem Schema benannt:

Schwingungsübergang *i* ➔ *j*	Name
0 ➔ 1	Grundübergang
0 ➔ 2	erster Obertonübergang
0 ➔ 3	zweiter Obertonübergang

Ein höherer Schwingungszustand entspricht einem höheren Energieniveau. Für den Übergang vom Zustand *i* in den angeregten Zustand *j* muss das Molekül eine bestimmte Übergangsenergie ΔE_{ij} absorbieren.

Das Licht kann Energie in Teilen von $E = hf$ austauschen, wobei *f* die Frequenz des Lichts ist. Die Absorption von Licht findet statt, falls die Photonenenergie *hf* gleich der Übergangsenergie ΔE_{ij} ist.

Die erlaubten Schwingungszustände hängen unter anderem von den Bindungsstärken und der Masse der beteiligten Atome ab. Daher kann eine bestimmte Bindungsart mit charakteristischen Übergangsenergien bzw. absorbierten Wellenlängen in Verbindung gebracht werden.

Damit Licht absorbiert werden kann, müssen weitere Bedingungen erfüllt sein. Der Schwingungsübergang muss die Ladungsverteilung so verschieben, dass sich das elektrische Dipolmoment des Moleküls ändert. Die Wahrscheinlichkeit einer Energieabsorption hängt von der Grössenordnung der Änderung des Dipolmoments entlang der betroffenen chemischen Bindung ab.

Ein Schwingungsübergang kann sowohl bei polaren als auch bei unpolaren Molekülen und funktionellen Gruppen eine Änderung des Dipolmoments bewirken. Homodinukleare Moleküle wie N_2 absorbieren kein Infrarotlicht.

Die Dauer des angeregten Schwingungszustands ist begrenzt. Wechselt das Molekül zurück in einen niedrigeren Schwingungszustand, wird die Energie in Wärme umgewandelt.

Der NIR-Spektralbereich

Die den Grundübergängen entsprechenden Wellenlängen liegen im Mittelinfrarotbereich. Der Nahinfrarotbereich umfasst Obertonübergänge und Kombinationsbanden. *Abbildung 2* zeigt die Wellenlängenbanden, die von verschiedenen Molekülen und funktionellen Gruppen absorbiert werden.

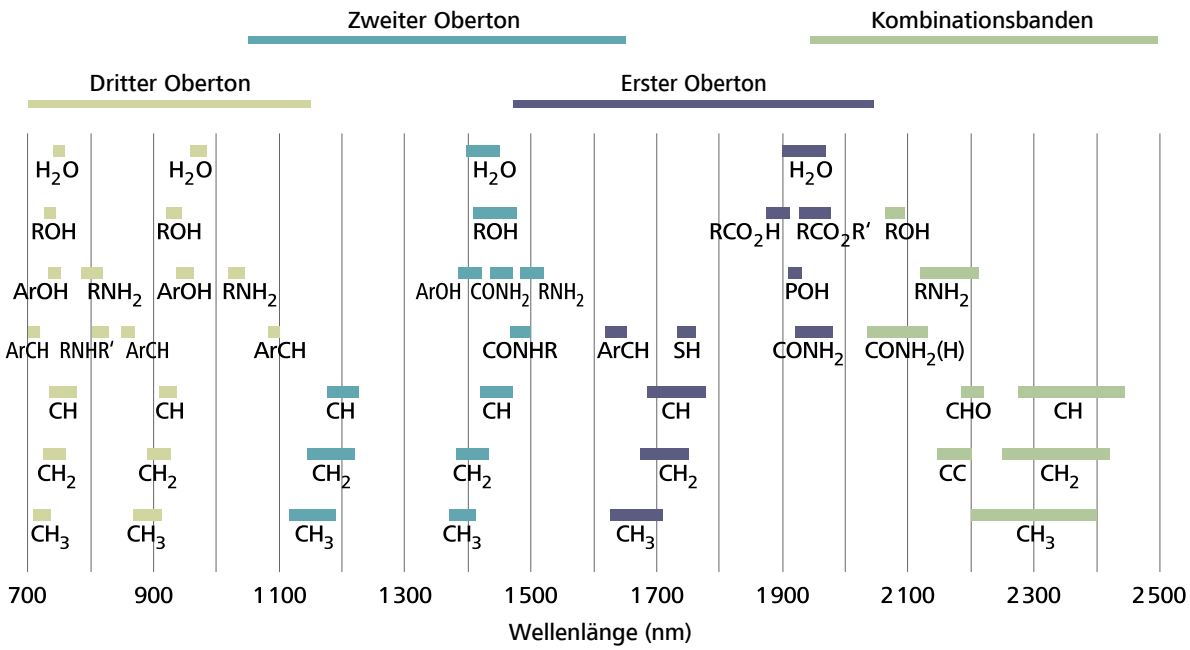


Abbildung 2 NIR-Absorptionsbanden

Der Grundübergang ist der wahrscheinlichste Übergang, er kommt am häufigsten vor. Obertonübergänge sind weniger wahrscheinlich. Daher absorbiert der Grundübergang mehr Licht als Obertonübergänge. Im Allgemeinen nimmt die Absorption mit jedem Oberton ab. Dadurch sind die Obertöne für stark absorbierende Moleküle geeignet.

Zwei oder mehr Grundschwingungen können gleichzeitig mit einer einzigen Lichtfrequenz angeregt werden, die den kombinierten Frequenzen der Grundschwingungen entspricht. Die entsprechenden Absorptionsbanden werden als **Kombinationsbanden** bezeichnet. Einige Kombinationsbanden liegen im NIR-Bereich, nämlich zwischen 1'900 und 2'500 nm.

2.2 Mathematische Grundlagen

2.2.1 Beer-Lambert-Gesetz

Das Beer-Lambert-Gesetz beschreibt, wie die Absorption von Licht durch eine homogene Probe von den Eigenschaften einer absorbierenden Substanz in der Probe abhängt.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Hierbei entspricht A der Absorbanz, ε dem molaren Extinktionskoeffizient des Absorbers (L/mol/cm), c der Konzentration des Absorbers (mol/L) und l der Schichtdicke der Probe (cm).

Der molare Extinktionskoeffizient ε ist eine Konstante, die angibt, wie viel eine Substanz absorbiert. Der molare Extinktionskoeffizient ist spezifisch für eine bestimmte Wellenlänge i und eine bestimmte Substanz j. Die

Gesamtabsorbanz eines Gemisches ist die Summe der Absorbanz aller im Gemisch enthaltenen Substanzen:

$$A_i = \sum_{j=1}^{N} \varepsilon_{ij} c_j \, l$$

Hierbei entspricht A_i der Absorbanz bei der Wellenlänge *i*, *N* der Anzahl der Substanzen im Gemisch, ε_{ij} dem molaren Extinktionskoeffizienten für die Wellenlänge *i* und die Substanz *j* und c_j der Konzentration der Substanz *j*.

Das Beer-Lambert-Gesetz setzt eine lineare Beziehung zwischen der Absorbanz und der Konzentration sowie eine lineare Beziehung zwischen der Absorbanz und dem molaren Extinktionskoeffizienten voraus. Dieses lineare Verhalten gilt für viele Situationen.

Auf Grundlage des Beer-Lambert-Gesetzes können spektroskopische Absorptionsmessungen Folgendes nachweisen:

- Schwankungen in der Konzentration eines Absorbers.
  Das ist die häufigste Anwendung.
- Schwankungen bei den Faktoren, die den molaren Extinktionskoeffizienten beeinflussen.
  Temperatur, Viskosität, pH-Wert oder die Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels können den molaren Extinktionskoeffizienten beeinflussen. In einigen Fällen kann das für spektroskopische Messungen genutzt werden.

Nicht mit dem Beer-Lambert-Gesetz verbunden sind Streueffekte. Streueffekte können manchmal genutzt werden, um z. B. Schwankungen bei der Partikelgrösse zu erkennen.

2.2.2 Lineare Regression

Eine Wellenlänge

Im einfachsten Fall hat ein Gemisch nur einen Absorber. Nach dem Beer-Lambert-Gesetz ist die Absorbanz bei einer bestimmten Wellenlänge linear zur Konzentration des Absorbers.

In Abbildung 1 stellt jeder Punkt eine Probe mit einer bekannten Konzentration des Absorbers (x-Achse) und der gemessenen Absorbanz (y-Achse) dar. Eine lineare Regression ergibt die Regressionsgerade **A**.

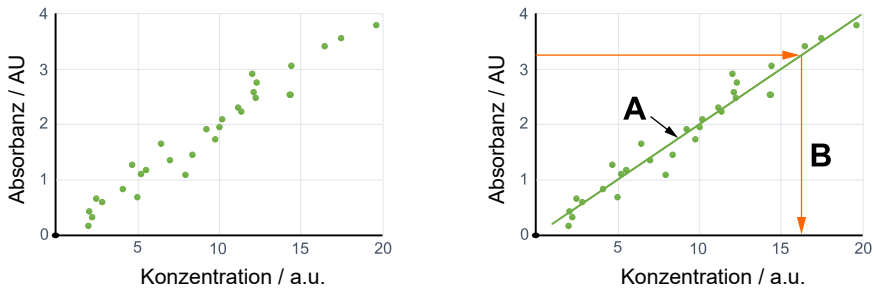


Abbildung 3 Beziehung zwischen Absorbanzwerten und Konzentrationen

Für eine Probe mit unbekannter Konzentration des Absorbers kann die Konzentration wie folgt bestimmt werden:

1. Messung der Absorbanz bei der vorgegebenen Wellenlänge.
2. Verwendung der Regressionsgeraden zur Ermittlung der Konzentration (**B**).
   Die Regressionsgerade ist ein einfaches Quantifizierungsmodell zur Prädiktion des Analyseparameters, z. B. der Konzentration des Absorbers.

Diese Vorgehensweise schlägt jedoch fehl, wenn das Gemisch mehrere Absorber mit unterschiedlichen Konzentrationen enthält.

Mehrere Wellenlängen

Anstelle einer Messung der Absorption bei einer einzigen Wellenlänge kann die Absorption bei mehreren Wellenlängen gemessen werden, was dann ein Spektrum ergibt. Ähnlich wie oben kann mittels einer linearen Regression die Beziehung zwischen den Spektren und dem Analyseparameter ermittelt werden. Für mehrere Wellenlängen ist eine multiple lineare Regression (MLR) erforderlich.

Es ist nachweisbar, dass die multiple lineare Regression den Analyseparameter auch dann vorhersagen kann, wenn das Gemisch mehrere Absorber mit unterschiedlichen Konzentrationen enthält *(siehe "Beispiel für eine lineare Regression", Kapitel 6.1, Seite 91)*.

Für eine multiple lineare Regression wäre jedoch eine grössere Probenanzahl erforderlich als die Anzahl der Wellenlängen. Für spektroskopische Prädiktionen können andere Methoden wie PCA oder PLS verwendet werden.

2.3 Wie Licht in ein Spektrum umgewandelt wird

Ein Spektrometer (oder Spektrophotometer) besteht aus einer Lichtquelle und einer Detektoreinheit. Die Lichtquelle strahlt Licht mit einem breiten Spektrum an Wellenlängen ab, mit anderen Worten polychromatisches Licht. Das Licht interagiert mit der Probe. Anschliessend erfasst das Spektrometer das verbleibende Licht als eine Funktion der Wellenlänge.

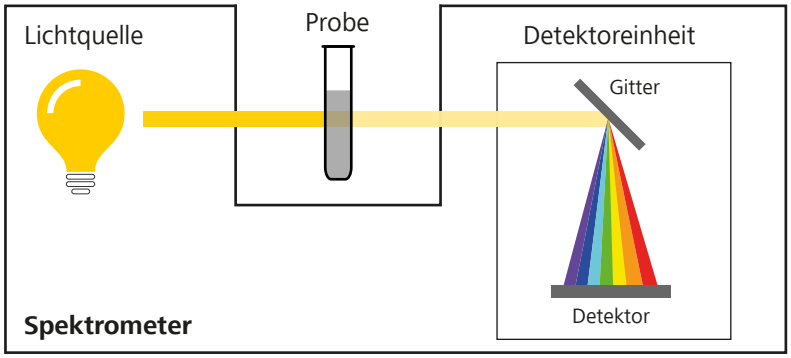


Abbildung 4 Ein Spektrometer mit Lichtquelle und Detektoreinheit.

Im Spektrometer wird das Licht mit Hilfe eines Gitters in einzelne Wellenlängen zerlegt. Ein Detektor misst das Licht, wobei jede Wellenlänge auf ein anderes Element – oder Pixel – in einem Zeilensensor trifft.

Ein **Scan** ist eine Messung über alle Pixel. Jedes Pixel erzeugt ein fotoelektrisches Signal, das proportional zur Lichtintensität ist. Die Signale können gegen die Pixel aufgetragen werden.

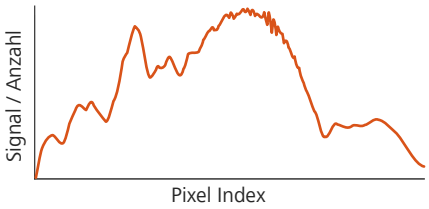


Abbildung 5 Spektrum des Detektorsignals als Funktion der Pixel.

Integrationszeit

Die Integrationszeit ist die Zeitspanne, in welcher der Detektor Licht sammelt. Eine höhere Integrationszeit erhöht das Signal.

Zu lange Integrationszeiten führen zu einer Sättigung des Detektors und zu einem Verlust an Information. Zu kurze Integrationszeiten verringern das Signal und damit das Signal-Rausch-Verhältnis.

Eine **automatische Integrationszeit** sorgt für eine optimale Belichtung, d. h. ein optimales Signal-Rausch-Verhältnis, ohne dass es zu einer Sättigung kommt. Vor jedem Probenscan und jedem Referenzscan werden mehrere Messungen durchgeführt. Die Integrationszeit wird so eingestellt,

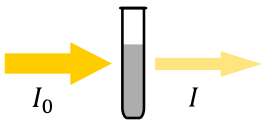
dass das Signal mit der höchsten Intensität etwa 90 % des erkennbaren Bereichs erreicht.

Unterschiede bei den Integrationszeiten werden in den weiteren Berechnungen berücksichtigt.

- **OMNIS NIR Analyzer**
  Die Integrationszeit wird immer automatisch eingestellt.
- **2060 NIR**
  Die Integrationszeit kann manuell oder automatisch eingestellt werden. Die manuelle Integrationszeit kann die Messdauer bei wiederholten, ähnlichen Messungen verkürzen. Um eine Sättigung des Detektors bei zu langen Integrationszeiten zu vermeiden, sollte die Integrationszeit mit genügend Spielraum eingestellt werden *(siehe "Sättigung", Seite 50)*.

Absorbanz

Spektroskopische Messungen bestimmen, wie viel Licht eine Probe absorbiert oder streut. Die Probe wird einem Lichtstrahl ausgesetzt. Ein Detektor misst das von einer Lichtquelle abgestrahlte Licht und das verbleibende Licht nach der Wechselwirkung mit der Probe.



Die Absorbanz A ist definiert als der dekadische Logarithmus des Verhältnisses zwischen der Lichtintensität vor der Wechselwirkung des Lichtstrahls mit der Probe (I_0) und der Lichtintensität nach der Wechselwirkung des Lichtstrahls mit der Probe (I):

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$

Eine Absorbanz von 1 bedeutet, dass 10 % des Lichts durch die Probe dringt, während eine Absorbanz von 2 bedeutet, dass 1 % durchdringt.

Die Absorbanz hat keine Einheit.

Referenzscan und Probenscan

Laut der obigen Formel werden für die Berechnung eines Absorptionsspektrums zwei Scans benötigt. Die Scans messen für jedes Pixel ein fotoelektrisches Signal S:

- Ein **Referenzscan** misst das Signal S_0 vor der Wechselwirkung des Lichtstrahls mit der Probe.
- Ein **Probenscan** misst das Signal S nach der Wechselwirkung des Lichtstrahls mit der Probe.

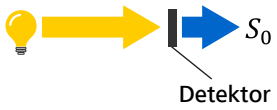
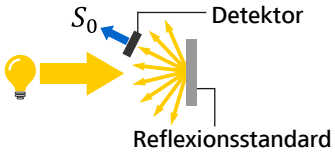
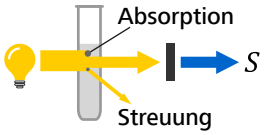
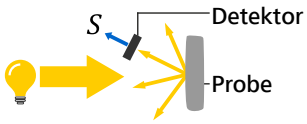
Das gemessene fotoelektrische Signal eines Pixels ist proportional zum Mittelwert der Lichtintensität über die Pixelfläche. Daher ist $S_0/S = I_0/I$. Somit können die fotoelektrischen Signale zur Berechnung der Absorbanz verwendet werden:

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \log_{10} \frac{S_0}{S}$$

Transmission und Reflexion

Im **Transmissionsmodus** wird das durch die Probe hindurchtretende Licht gemessen. S_0 wird in Abwesenheit der Probe gemessen. S wird aus dem Licht gemessen, das durch die Probe gedrungen ist.

Im **Reflexionsmodus** wird das von der Probe reflektierte Licht gemessen. Als Referenz wird anstelle der Probe ein Reflexionsstandard verwendet. Der Reflexionsstandard reflektiert idealerweise 100 % des Lichts. Ein Teil des reflektierten Lichts wird zum Detektor geleitet und liefert das Signal S_0. Das Signal S wird auf die gleiche Weise gemessen, jedoch mit der Probe, die das Licht reflektiert.

	Transmission	Diffuse Reflexion
Ohne Probe		
Mit Probe		

Die berechnete Absorbanz A repräsentiert alles Licht, das den Detektor nicht erreicht. Daher beinhaltet A nicht nur das von der Probe absorbierte Licht, sondern auch:

- Licht, das den Detektor nicht erreicht, weil es vom Detektor weg gestreut wird.
- Licht, das fälschlicherweise zum Detektor gestreut wird.

Absorptionsspektrum

Das Absorptionsspektrum wird anhand des Referenzscans (Signal S_0) und des Probenscans (Signal S) nach der obigen Formel berechnet.

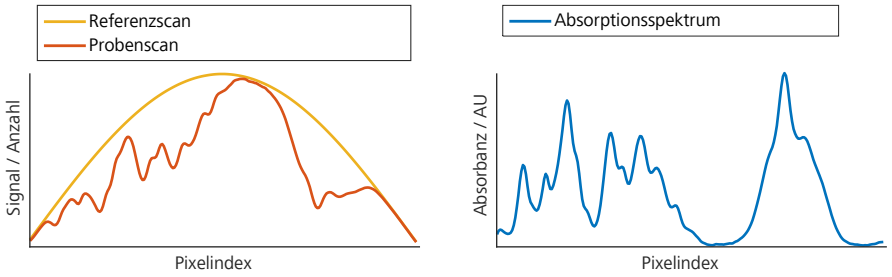


Abbildung 6 Referenzscan und Probenscan (links) sowie das berechnete Absorptionsspektrum (rechts) als Funktion des Pixelindex.

Die obige Berechnung setzt voraus, dass der Referenzscan und der Probenscan dieselben optischen Pfade oder optische Pfade mit ähnlichen optischen Eigenschaften.verwenden. In Prozessumgebungen wird ein mehrstufiger Referenzierungsansatz verwendet *(siehe "2060 NIR", Kapitel 3.2.2, Seite 17)*.

Von Pixeln zu Wellenlängen

Die Pixelskala wird in die Wellenlängenskala umgewandelt. Das Gerät weist jedem Pixel eine genaue Wellenlänge zu, z. B.:

Pixel 6 ➔ Wellenlänge 1'009.4 nm

Die genaue Wellenlänge für jedes Pixel wird durch die Wellenlängenkalibrierung bestimmt *(siehe "Wellenlängenkalibrierung", Kapitel 3.1, Seite 14)*.

Umwandlung der Wellenlängenskala

Das Spektrum wird durch Interpolation auf die Standard-Wellenlängenskala überführt:

1'000.0 nm, 1'000.5 nm, 1'001.0 nm, …

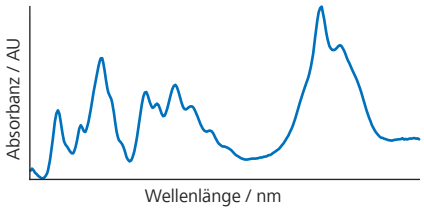


Abbildung 7 Das Absorptionsspektrum auf der Wellenlängenskala.

3 Geräteeinrichtung

Die folgenden Schritte stellen sicher, dass für eine bestimmte Probe mit einem bestimmten Probenmessaufbau identische Spektren gewonnen werden, unabhängig davon, ob sie zu unterschiedlichen Zeiten und mit demselben oder einem anderen Gerät aus der Produktfamilie **OMNIS NIR Analyzer** oder einem anderen Gerät des Typs **2060 NIR** aufgenommen wurden.

Sowohl die x-Achse als auch die y-Achse der Spektren müssen berücksichtigt werden:

- **x-Achse**: Wellenlängenkalibrierung *(siehe "Wellenlängenkalibrierung", Kapitel 3.1, Seite 14)*
- **y-Achse**: Referenzstandardisierung *(siehe "Referenzstandardisierung", Kapitel 3.2, Seite 15)*

Darüber hinaus muss sichergestellt werden, dass die Geräteleistung den Anforderungen entspricht, d. h.:

- Die **Geräteleistungstests** müssen erfolgreich durchgeführt werden, bevor mit dem Gerät Spektren aufgenommen werden können *(siehe "Geräteleistungstests", Kapitel 3.3, Seite 26)*.

Standards

Für die Wellenlängenkalibrierung und die Geräteleistungstests nutzt das Gerät einen internen, metrologisch rückführbaren **Wellenlängenstandard**.

Bei der Nutzung des Reflexionsmodus wird zudem ein **Reflexionsstandard** für die Referenzstandardisierung und die Geräteleistungstests benötigt, der sich nach dem Gerätetyp richtet:

- **OMNIS NIR Analyzer**: interner Reflexionsstandard
- **2060 NIR**: externer Reflexionsstandard

3.1 Wellenlängenkalibrierung

Die Wellenlängenkalibrierung normiert die Wellenlängenwerte, d. h. die x-Achse der Spektren. Sie ordnet jedes Pixel des Photosensor-Arrays einer Wellenlänge zu.

Die Wellenlängenkalibrierung nutzt einen internen, metrologisch rückführbaren Wellenlängenstandard. Der Wellenlängenstandard hat ein Absorptionsspektrum mit definierten Peaks und bekannten Peakpositionen.

Der Befehl **CAL WL** führt die folgenden Schritten durch:

1. Das Absorptionsspektrum des Wellenlängenstandards wird unter Verwendung eines internen Referenzpfads auf der Pixelskala aufgenommen.
2. Im aufgenommenen Spektrum werden die Peakpositionen mit Sub-Pixel-Präzision identifiziert.
3. Unter Verwendung der gemessenen Peakpositionen auf der Pixelskala und der nominalen Peakpositionen des Wellenlängenstandards wird eine polynomiale Regression durchgeführt.
4. Das Regressionspolynom ordnet jedes Pixel seiner jeweiligen Wellenlänge zu.

Die Regressionskoeffizienten werden auf dem Gerät gespeichert:

- **OMNIS NIR Analyzer**: Für jede Probenpräsentation wird ein Satz von Regressionskoeffizienten auf dem Gerät gespeichert. Das bedeutet, dass für den OMNIS NIR Analyzer Liquid/Solid eine Wellenlängenkalibrierung und Validierung an beiden Funktionseinheiten durchgeführt werden muss.
- **2060 NIR**: Die Regressionskoeffizienten sind gerätespezifisch. Für alle Kanäle wird derselbe Satz verwendet.

Validierung der Wellenlängenkalibrierung

Nach der Durchführung einer Wellenlängenkalibrierung muss diese validiert werden. Der Befehl **VAL WL** führt die folgenden Schritten durch:

1. Das Absorptionsspektrum des Wellenlängenstandards wird aufgenommen.
2. Validierung der Wellenlängen:
    a. Im aufgenommenen Spektrum werden die Peakpositionen auf der Wellenlängenskala identifiziert.
    b. Die Wellenlängenresiduen zwischen den gemessenen Peakpositionen und den bekannten Peakpositionen werden berechnet.
    c. Für jeden Peak muss das Wellenlängenresiduum innerhalb der Toleranz liegen, um den Test zu bestehen.

3. Validierung der Bandbreiten:
    a. Im aufgenommenen Spektrum werden die Peakbreiten bestimmt.
    b. Die Bandbreitenresiduen zwischen den gemessenen Peakbreiten und den bekannten Peakbreiten werden berechnet.
    c. Für jeden Peak muss das Bandbreitenresiduum innerhalb der Toleranz liegen, um den Test zu bestehen.
4. Der Gesamtstatus der Validierung ist erfolgreich, wenn alle oben genannten Residuen innerhalb der Toleranz liegen.

Die Validierung muss erfolgreich durchgeführt werden, bevor mit dem Gerät Spektren aufgenommen werden können .

3.2 Referenzstandardisierung

Die Referenzstandardisierung normiert die Absorbanzwerte, d. h. die y-Achse der Spektren.

Bestimmung der Absorbanz

Für die Berechnung der Absorbanz A einer Probe werden die Signale S_0 (Referenzscan) und S (Probenscan) benötigt *(siehe "Wie Licht in ein Spektrum umgewandelt wird", Kapitel 2.3, Seite 9)*:

$$A = \log_{10} \frac{S_0}{S}$$

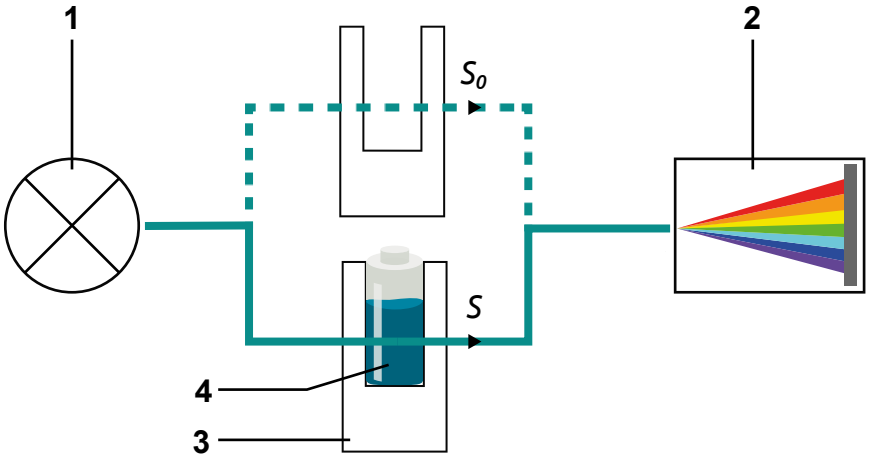


Abbildung 8 Optischer Pfad im Transmissionsmodus (als Beispiel mit einer Flüssig-Probenpräsentation).

In *Abbildung 8* gelangt das Licht von der Lichtquelle (**1**) durch einen Probenhalter (**3**) zum Detektor (**2**).

Das Referenzsignal S_0 wird ohne die Probe gemessen, das Signal S mit der Probe (**4**). Ansonsten sind die optischen Eigenschaften für beide optischen

Pfade identisch und bewirken für beide Signale eine Dämpfung um den gleichen Prozentsatz. Dies ändert nichts am Ergebnis der obigen Formel.

Die Gleichung setzt S in Beziehung zu S_0, der Referenz. Beide Signale sind gleich wichtig. Eine Abweichung bei einem der beiden Signale führt zu einem anderen Absorbanzwert und letztlich zu einem anderen Spektrum.

Sowohl S als auch S_0 werden durch Schwankungen des Geräts und der Umgebungsbedingungen beeinflusst. Um sicherzustellen, dass sich diese Einflüsse gegenseitig aufheben, sollten beide Signale innerhalb einer kurzen Zeitspanne gemessen werden.

Die Implementierung dieses Prinzips hängt vom Gerätetyp ab:

- **OMNIS NIR Analyzer**
  Das Absorptionsspektrum der Probe wird mit den Signalen S und S_0 berechnet *(siehe "OMNIS NIR Analyzer", Kapitel 3.2.1, Seite 16)*.
- **2060 NIR**
  In Prozessumgebungen ist es nicht praktikabel, den gleichen optischen Pfad für die Messungen von S und S_0 zu verwenden. Daher sind weitere Massnahmen erforderlich *(siehe "2060 NIR", Kapitel 3.2.2, Seite 17)*.

3.2.1 OMNIS NIR Analyzer

Die Referenzstandardisierung erfolgt durch Messung der Signale S_0 und S sowie der Berechnung der Absorbanz A.

Spektrum einer Probe aufnehmen

Bevor mit einer Funktionseinheit Spektren aufgenommen werden können, müssen die Geräteleistungstests für die Funktionseinheit erfolgreich durchgeführt werden *(siehe "Geräteleistungstests", Kapitel 3.3, Seite 26)*.

1. Die Probe muss in der Probenpräsentation bereit sein.
2. Das Absorptionsspektrum wird jeweils mit dem zuletzt aufgenommenen Referenzspektrum S_0 berechnet. Um einen aktuellen Wert für S_0 zu erhalten, kann der Befehl **MEAS REF SPEC** ausgeführt werden. Bei Verwendung der Feststoff-Probenpräsentation fügt das Gerät automatisch einen Reflexionsstandard in den optischen Pfad ein. Dieser Reflexionsstandard erfordert keine Korrektur des Signals S_0.
3. Mit dem Befehl **MEAS SPEC** wird die Probe gemessen. Dies ergibt das Signal S.
4. Die Software berechnet A, die Absorbanz der Probe:

   $$A = \log_{10} \frac{S_0}{S}$$

   Hierbei entspricht S_0 dem auf dem Referenzpfad gemessenen Signal, und S dem über die Probe gemessenen Signal.

3.2.2 2060 NIR

Geräte vom Typ **2060 NIR** erfordern eine externe Referenzstandardisierung.

Externe Referenzstandarisierung

Die wiederholte Messung des Signals S (mit der Probe) und des Signals S_0 (ohne die Probe) über optische Pfade mit identischen optischen Eigenschaften ist zeitaufwändig und fehleranfällig.

Deshalb werden zwei weitere Strahlengänge eingeführt *(siehe Abbildung 9, Seite 17)*:

- Eine **interne Referenz** im Gerät. Der interne Referenzpfad liefert das Signal S_{ref}, das auf einfache Weise gemessen werden kann.
- Ein weiterer externer optischer Pfad, bei dem die Faseroptiken mit einer **Kalibriervorrichtung** verbunden sind. Dieser optische Pfad liefert das Signal S_{fiber}.

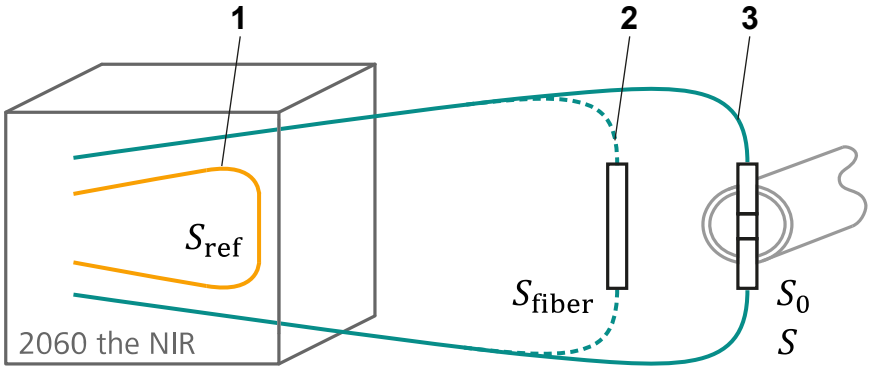


Abbildung 9 Optische Pfade als Beispiel im Transmissionsmodus: Interner Referenzpfad (1), externe Faseroptiken verbunden mit einer Kalibriervorrichtung (2) und externe Faseroptiken verbunden mit der Sonde mit oder ohne Probe (3). Die optischen Pfade 2 und 3 stellen die gleiche Faseroptik dar, die lediglich anders verbunden ist.

Die Kalibriervorrichtung fixiert die Faseroptiken und bildet damit den Referenzpfad (**2**). Im Transmissionsmodus dient die Luft als Referenz und überträgt 100 % des Lichts. Im Reflexionsmodus nimmt die Kalibriervorrichtung auch den Reflexionsstandard auf. Zunächst wird von einem idealen Reflexionsstandard ausgegangen, der 100 % des Lichts reflektiert.

Die Absorbanz A der Probe wird aus den Signalen S_0 und S berechnet. Werden die beiden zusätzlichen Signale S_{ref} und S_{fiber} zum Zähler und Nenner hinzugefügt, bleibt das Resultat unverändert:

$$A = \log_{10}\frac{S_0}{S} = \log_{10}\left(\frac{S_{ref}}{S}\cdot\frac{S_{fiber}}{S_{ref}}\cdot\frac{S_0}{S_{fiber}}\right)$$

Diese Gleichung kann umgewandelt werden in:

$$A = \log_{10}\left(\frac{S_{\text{ref}}}{S}\right) - \log_{10}\left(\frac{S_{\text{ref}}}{S_{\text{fiber}}}\right) - \log_{10}\left(\frac{S_{\text{fiber}}}{S_0}\right)$$

Die 3 Terme stellen Absorbanzwerte dar und können wie folgt bezeichnet werden:

$$A = A_{\text{total}} - A_{\text{fiber}} - A_{\text{window}}$$

Abbildung 10 veranschaulicht, wie die Signale S_{ref}, S_{fiber}, S_0 und S gemessen werden.

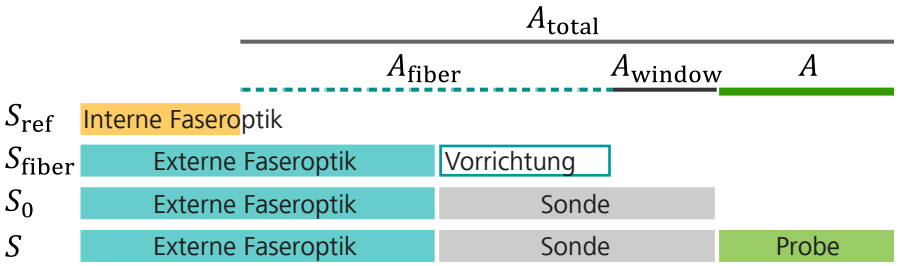


Abbildung 10 Externe Referenzstandarisierung

A_{total} ist die Absorbanz der externen Faseroptik, der Sonde und der Probe, bezogen auf die interne Faseroptik.

A_{fiber} ist die Absorbanz der externen Faseroptik plus der Kalibriervorrichtung, bezogen auf die interne Faseroptik.

A_{window} ist die Absorbanz der Sonde abzüglich der Kalibriervorrichtung.

Eliminierung von Umgebungsschwankungen

Um die Absorbanz A der Probe zu bestimmen, werden 3 Absorbanzwerte gemessen. Aus den 3 Werten wird A gemäss der obigen Gleichung berechnet:

$$A = A_{\text{total}} - A_{\text{fiber}} - A_{\text{window}}$$

Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, die 3 Absorbanzwerte zu verschiedenen Zeitpunkten zu bestimmen. Auf diese Weise können Schwankungen im Gerät oder Schwankungen der Umgebungsbedingungen für jede der 3 Bestimmungen leicht eliminiert werden:

- A_{total} wird mit jeder Probenmessung bestimmt. Dabei sollten S_{ref} und S innerhalb einer kurzen Zeitspanne gemessen werden, um die Schwankungen zu eliminieren.
- Das GlasfaserkorrekturspektrumA_{fiber} kann seltener bestimmt werden. Dabei sollten S_{ref} und S_{fiber} innerhalb einer kurzen Zeitspanne gemessen werden, um die Schwankungen zu eliminieren.

- Das Fensterkorrekturspektrum A_{window} kann seltener bestimmt werden, in der Regel nur einmal nach der Installation. Dabei sollten S_{fiber} und S_0 innerhalb einer kurzen Zeitspanne gemessen werden, um die Schwankungen zu eliminieren.

Wann ist eine Fensterkorrektur erforderlich?

Falls die Kalibriervorrichtung die optischen Eigenschaften der Sonde vollständig wiedergibt, ist A_{window} gleich 0. In diesem Fall kann die Fensterkorrektur übersprungen werden.

Für den Transmissionsmodus ist im Allgemeinen eine Fensterkorrektur erforderlich. Für den Reflexionsmodus ist keine Fensterkorrektur erforderlich. Es gibt jedoch Ausnahmen, die in der folgenden Tabelle aufgeführt sind:

Messmodus	Sonde	Referenzstandardisierung
Transmission	Transmissionspaar	Glasfaser + Fenster
	Transmissionssonde	
	Transflexionssonde mit Einzelfasern	
Reflexion	Reflexionssonde	Glasfaser
	Transflexionssonde mit MicroBundle	Glasfaser + Fenster

Um zu entscheiden, ob eine Fensterkorrektur erforderlich ist, sollte jede Kombination von Kalibriervorrichtung und Sonde einzeln untersucht werden. Gibt die Kalibriervorrichtung die optischen Eigenschaften der Sonde *nicht* vollständig wieder, ist eine Fensterkorrektur erforderlich.

Kanäle

Ein Gerät vom Typ **2060 NIR** bietet mehrere Kanäle. Jeder Kanal kann mit einer anderen Faseroptik- und Sondenkonfiguration verbunden werden. Die Referenzstandardisierung muss daher für jeden Kanal separat durchgeführt werden.

Alle Kanäle verwenden den gleichen internen Referenzpfad, d. h. das gleiche Signal S_{ref}. Ein Multiplexer schaltet zwischen der internen Referenz und den verschiedenen Messkanälen hin und her.

Durchführen einer Glasfaserkorrektur

Nach der Inbetriebnahme oder wenn sich die Faseroptikkonfiguration eines Kanals ändert, muss eine Glasfaserkorrektur durchgeführt werden. Auch ein Lampenwechsel oder eine extreme Veränderung der Umgebungsbedingungen kann eine erneute Standardisierung ratsam machen.

Bei diesem Verfahren wird ein Referenzmaterial verwendet:

- Im Reflexionsmodus ist das Referenzmaterial ein Reflexionsstandard. Es wird von einem nicht idealen Reflexionsstandard ausgegangen (z. B. 99 %). Der Reflexionsstandard hat ein bekanntes nominales Absorptionsspektrum $A_{nominal}$.
- Im Transmissionsmodus dient die Luft als Referenz. Das nominale Absorptionsspektrum ist eine Nulllinie ($A_{nominal} = 0$), da angenommen wird, dass die Luft kein Licht absorbiert.

Abbildung 11 veranschaulicht das folgende Vorgehen:

1. Die externen Faseroptiken müssen an die Kalibriervorrichtung angeschlossen werden.
   Im Reflexionsmodus wird die Kalibriervorrichtung mit dem Reflexionsstandard kombiniert.
2. Der Befehl **REF STD** mit der Schnittstelle **Glasfaser** führt die folgenden Scans durch:
   a. Ein interner Referenzscan liefert einen Wert für S_{ref}.
   b. Ein externer Scan misst die externen Faseroptiken, die Kalibriervorrichtung und das Referenzmaterial. Dies ergibt das Signal S_{raw}.
3. Die Software berechnet A_{raw} (**Gemessenes Rohspektrum**):

   $$A_{\mathrm{raw}} = \log_{10} \frac{S_{\mathrm{ref}}}{S_{\mathrm{raw}}}$$

   Hierbei entspricht A_{raw} der Absorbanz der externen Faseroptiken, der Kalibriervorrichtung und des Referenzmaterials, bezogen auf den internen optischen Pfad.
4. Das nominale Absorptionsspektrum des Referenzmaterials, $A_{nominal}$, wird in der Software als **Referenzspektrum** angezeigt. Das Referenzspektrum muss von A_{raw} subtrahiert werden, um A_{fiber} zu erhalten:

   $$A_{\mathrm{fiber}} = A_{\mathrm{raw}} - A_{\mathrm{nominal}}$$

   Hierbei entspricht A_{fiber} der Absorbanz der Faseroptiken und der Kalibriervorrichtung, bezogen auf den internen optischen Pfad.
   Hinweis: Im Transmissionsmodus ist $A_{nominal} = 0$ und $A_{fiber} = A_{raw}$.
   A_{fiber} steht für das Glasfaser-**Korrekturspektrum**.
5. A_{fiber} bleibt unverändert, bis wieder eine Glasfaserkorrektur für den jeweiligen Kanal durchgeführt wird.

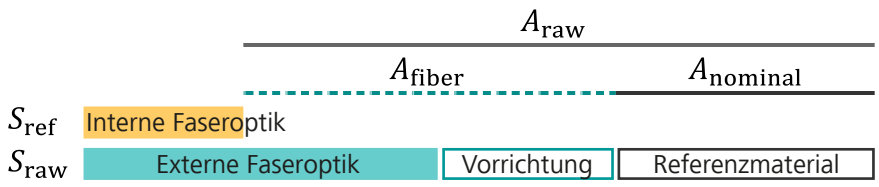


Abbildung 11 Glasfaserkorrektur

Validieren der Glasfaserkorrektur

Die Glasfaserkorrektur muss mit denselben Messparametern und derselben Kalibriervorrichtung validiert werden.

Bei diesem Verfahren wird ein Referenzmaterial verwendet:

- Im Reflexionsmodus ist das Referenzmaterial ein Reflexionsstandard. Es wird von einem nicht idealen Reflexionsstandard ausgegangen (z. B. 99 %). Der Reflexionsstandard hat ein bekanntes nominales Absorptionsspektrum A_{nominal}.
- Im Transmissionsmodus dient die Luft als Referenz. Das nominale Absorptionsspektrum ist eine Nulllinie ($A_{\text{nominal}} = 0$), da angenommen wird, dass die Luft kein Licht absorbiert.

Abbildung 12 veranschaulicht, wie die Residuen der Validierung bestimmt werden:

1. Die externen Faseroptiken müssen an die Kalibriervorrichtung angeschlossen werden.
   Im Reflexionsmodus wird die Kalibriervorrichtung mit dem Reflexionsstandard kombiniert.
2. Der Befehl **VAL REF STD** mit der Schnittstelle **Glasfaser** führt die folgenden Scans durch:
   a. Ein interner Referenzscan liefert einen Wert für S_{ref}.
   b. Ein externer Scan auf dem jeweiligen Kanal misst die externen Faseroptiken, die Kalibriervorrichtung und das Referenzmaterial. Dies ergibt das Signal S_{raw}.
3. Die Software berechnet A_{raw} (**Gemessenes Rohspektrum**):
   $$A_{\text{raw}} = \log_{10} \frac{S_{\text{ref}}}{S_{\text{raw}}}$$
4. A_{raw} wird durch das Glasfaserkorrekturspektrum korrigiert, um die Absorbanz der Faseroptiken und der Kalibriervorrichtung zu eliminieren:
   $$A_{\text{corrected}} = A_{\text{raw}} - A_{\text{fiber}}$$
   $A_{\text{corrected}}$ wird in der Software als **Gemessenes korrigiertes Spektrum** angezeigt.
5. Im Idealfall sollte $A_{\text{corrected}}$ mit dem **Referenzspektrum** A_{nominal} übereinstimmen. Die Differenzen zwischen den beiden werden als **Residuen der Validierung** berechnet:
   $$A_{\text{residual}} = A_{\text{corrected}} - A_{\text{nominal}}$$
   Hinweis: Im Transmissionsmodus ist $A_{\text{nominal}} = 0$ und $A_{\text{residual}} = A_{\text{corrected}}$.

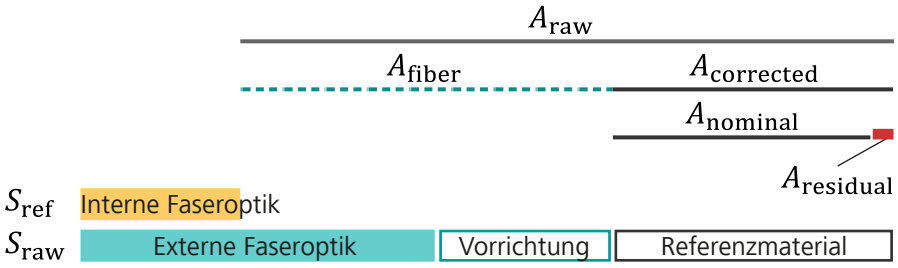


Abbildung 12 Residuen für die Validierung der Glasfaserkorrektur

Zur Untersuchung der Residuen der Validierung wird der Wellenlängenbereich in mehrere Segmente unterteilt. Für jedes Segment ergibt der quadratische Mittelwert der Residuen über die Wellenlängen das **RMS-Residuum** (Einheit: mAU):

$$A_{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{f}(A_{residual_i})^2}{f}}$$

Hierbei entspricht *f* der Anzahl der Wellenlängen im Segment und $A_{residual\ i}$ dem Residuum von Wellenlänge *i*.

Jedes Segment muss eine vordefinierte Toleranz für A_{RMS} einhalten. Wird die Toleranz von allen Segmenten eingehalten, ist die Gesamtvalidierung erfolgreich.

Die Validierung muss erfolgreich durchgeführt werden, bevor mit dem Gerät Spektren auf dem jeweiligen Kanal aufgenommen werden können.

Durchführen einer Fensterkorrektur

Falls eine Fensterkorrektur erforderlich ist, muss sie nach der Inbetriebnahme oder bei jeder Änderung der Sonden- oder Faseroptikkonfiguration eines Kanals durchgeführt werden. Auch Veränderungen an der Sonde, wie z. B. Verschmutzungen, können eine erneute Standardisierung ratsam machen.

Bei diesem Verfahren wird ein Referenzmaterial verwendet:

- Im Reflexionsmodus ist das Referenzmaterial ein Reflexionsstandard. Es wird von einem nicht idealen Reflexionsstandard ausgegangen (z. B. 99 %). Der Reflexionsstandard hat ein bekanntes nominales Absorptionsspektrum $A_{nominal}$.
- Im Transmissionsmodus dient die Luft als Referenz. Das nominale Absorptionsspektrum ist eine Nulllinie ($A_{nominal} = 0$), da angenommen wird, dass die Luft kein Licht absorbiert.

Abbildung 13 veranschaulicht das folgende Vorgehen:

1. Um einen aktuellen Wert für A_{fiber} zu erhalten, sollte eine Glasfaserkorrektur wie oben beschrieben durchgeführt werden.
   Wichtig: Die Glasfaserkorrektur muss vor der Fensterkorrektur erfolgen.
2. Die externen Faseroptiken müssen dann ohne vorhandene Probe an die Sonde angeschlossen werden. Bei Bedarf nimmt ein Reflexionsstandard den Platz der Probe ein.
3. Der Befehl **REF STD** mit der Schnittstelle **Fenster** führt die folgenden Scans durch:
   a. Ein interner Referenzscan liefert einen Wert für S_{ref}.
   b. Ein externer Scan auf dem jeweiligen Kanal misst die externen Faseroptiken, die Sonde und das Referenzmaterial. Dies ergibt das Signal S_{probe}.
4. Die Absorbanz A_{probe} bezogen auf den internen optischen Pfad ist:
   $$A_{\mathrm{probe}} = \log_{10} \frac{S_{\mathrm{ref}}}{S_{\mathrm{probe}}}$$
5. Die Software berechnet A_{raw} (**Gemessenes Rohspektrum**):
   $$A_{\mathrm{raw}} = A_{\mathrm{probe}} - A_{\mathrm{fiber}}$$
   Hierbei entspricht A_{raw} der Absorbanz der Sonde und des Referenzmaterials, bezogen auf die Kalibriervorrichtung.
6. Das nominale Absorptionsspektrum des Referenzmaterials, $A_{nominal}$, wird in der Software als **Referenzspektrum** angezeigt. Das Referenzspektrum muss von A_{raw} subtrahiert werden, um A_{window} zu erhalten:
   $$A_{\mathrm{window}} = A_{\mathrm{raw}} - A_{\mathrm{nominal}}$$
   Hierbei entspricht A_{window} der Absorbanz der Sonde, bezogen auf die Kalibriervorrichtung.
   Hinweis: Im Transmissionsmodus ist $A_{nominal} = 0$ und $A_{window} = A_{raw}$.
   A_{window} steht für das Fenster-**Korrekturspektrum**.
7. A_{window} bleibt unverändert, bis wieder eine Fensterkorrektur für den jeweiligen Kanal durchgeführt wird.

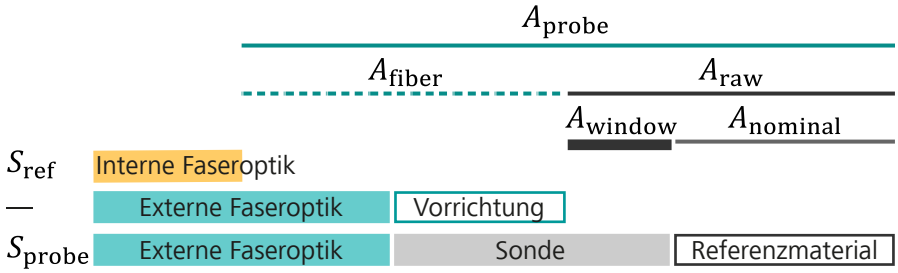


Abbildung 13 Fensterkorrektur

Validieren der Fensterkorrektur

Die Fensterkorrektur muss mit denselben Messparametern und derselben Kalibriervorrichtung validiert werden.

Bei diesem Verfahren wird ein Referenzmaterial verwendet:

- Im Reflexionsmodus ist das Referenzmaterial ein Reflexionsstandard. Es wird von einem nicht idealen Reflexionsstandard ausgegangen (z. B. 99 %). Der Reflexionsstandard hat ein bekanntes nominales Absorptionsspektrum A_{nominal}.
- Im Transmissionsmodus dient die Luft als Referenz. Das nominale Absorptionsspektrum ist eine Nulllinie ($A_{\text{nominal}} = 0$), da angenommen wird, dass die Luft kein Licht absorbiert.

Abbildung 14 veranschaulicht, wie die Residuen der Validierung bestimmt werden:

1. Die externen Faseroptiken müssen ohne vorhandene Probe an die Sonde angeschlossen werden. Bei Bedarf nimmt ein Reflexionsstandard den Platz der Probe ein.
2. Der Befehl **VAL REF STD** mit der Schnittstelle **Fenster** führt die folgenden Scans durch:
   a. Ein interner Referenzscan liefert einen Wert für S_{ref}.
   b. Ein externer Scan auf dem jeweiligen Kanal misst die externen Faseroptiken, die Sonde und das Referenzmaterial. Dies ergibt das Signal S_{probe}.
3. Die Absorbanz A_{probe} bezogen auf den internen optischen Pfad ist:

   $$A_{\text{probe}} = \log_{10} \frac{S_{\text{ref}}}{S_{\text{probe}}}$$

4. Die Software berechnet A_{raw} (**Gemessenes Rohspektrum**):

   $$A_{\text{raw}} = A_{\text{probe}} - A_{\text{fiber}}$$

5. Durch die Subtraktion des Fensterkorrekturspektrums von A_{raw} werden die Absorbanzdifferenzen zwischen der Kalibriervorrichtung und der Sonde eliminiert:

   $$A_{\text{corrected}} = A_{\text{raw}} - A_{\text{window}}$$

   $A_{\text{corrected}}$ wird in der Software als **Gemessenes korrigiertes Spektrum** angezeigt.
6. Im Idealfall sollte $A_{\text{corrected}}$ mit dem **Referenzspektrum** A_{nominal} übereinstimmen. Die Differenzen zwischen den beiden werden als **Residuen der Validierung** berechnet:

   $$A_{\text{residual}} = A_{\text{corrected}} - A_{\text{nominal}}$$

   Hinweis: Im Transmissionsmodus ist $A_{\text{nominal}} = 0$ und $A_{\text{residual}} = A_{\text{corrected}}$.

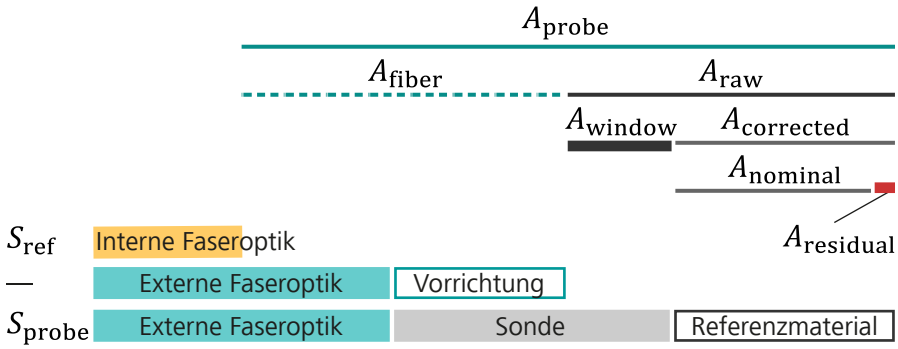


Abbildung 14 Residuen für die Validierung der Fensterkorrektur

Zur Untersuchung der Residuen der Validierung wird der Wellenlängenbereich in mehrere Segmente unterteilt. Für jedes Segment ergibt der quadratische Mittelwert der Residuen über die Wellenlängen das **RMS-Rauschen** (Einheit: mAU):

$$A_{RMS} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{f}(A_{residual_i})^2}{f}}$$

Hierbei entspricht *f* der Anzahl der Wellenlängen im Segment und $A_{residual\ i}$ dem Residuum von Wellenlänge *i*.

Jedes Segment muss eine vordefinierte Toleranz für A_{RMS} einhalten. Wird die Toleranz von allen Segmenten eingehalten, ist die Gesamtvalidierung erfolgreich.

Spektrum einer Probe aufnehmen

Bevor mit dem Gerät Spektren aufgenommen werden können, müssen die Geräteleistungstests auf dem jeweiligen Kanal erfolgreich durchgeführt werden *(siehe "Geräteleistungstests", Kapitel 3.3, Seite 26)*.

Das Vorgehen zur Aufnahme des Spektrums einer Probe ist in *Abbildung 15* veranschaulicht:

1. Die externen Faseroptiken müssen an der Sonde angeschlossen sein. Es muss eine Probe vorhanden sein.
2. Das Absorptionsspektrum wird jeweils mit dem zuletzt aufgenommenen Referenzspektrum S_{ref} berechnet. Um einen aktuellen Wert für S_{ref} zu erhalten, kann der Befehl **MEAS REF SPEC** ausgeführt werden.
3. Der Befehl **MEAS SPEC** misst die Probe, einschliesslich der Sonde und der Faseroptiken. Dies ergibt das Signal S.

4. Die Software berechnet A_{total}, die Absorbanz der Probe, einschliesslich der Sonde und der Faseroptiken, bezogen auf den internen optischen Pfad:

$$A_{\text{total}} = \log_{10} \frac{S_{\text{ref}}}{S}$$

5. Anschliessend wird die Absorbanz der Probe wie oben beschrieben unter Verwendung des Glasfaserkorrekturspektrums A_{fiber} und des Fensterkorrekturspektrums A_{window} des jeweiligen Kanals berechnet:
$A = A_{\text{total}} - A_{\text{fiber}} - A_{\text{window}}$
A steht für das Spektrum der Probe.

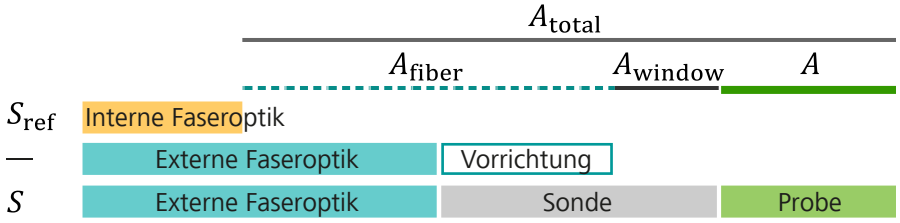


Abbildung 15 Spektrum einer Probe aufnehmen

3.3 Geräteleistungstests

Die Geräteleistungstests können über interne und über externe optische Pfade durchgeführt werden.

- **OMNIS NIR Analyzer**
  - **Interne Geräteleistungstests** (obligatorisch): Die internen Tests verwenden den Referenzpfad der jeweiligen Probenpräsentation. Die Tests prüfen die Wellenlängen und das Signalrauschen.
    Vor den Tests muss die Wellenlängenkalibrierung für die jeweilige Probenpräsentation erfolgreich durchgeführt und validiert werden.
    Bevor mit dem Gerät Spektren auf der jeweiligen Probenpräsentation aufgenommen werden können, müssen die internen Tests erfolgreich durchgeführt werden.
  - **Externe Geräteleistungstests** (optional): Die externen Tests unterstützen die Validierung nach Pharmakopöen wie USP <856>, Ph.Eur 2.2.40 und JP 2.27. Wellenlängen, Signalrauschen und photometrische Linearität werden geprüft *(siehe "Externe Geräteleistungstests (OMNIS NIR Analyzer)", Kapitel 3.3.1, Seite 30)*.

- **2060 NIR**
  Die Tests können den internen optischen Pfad oder einen der externen optischen Pfade nutzen. Die Tests prüfen die Wellenlängen und das Signalrauschen.
  Vor den Tests müssen die Wellenlängenkalibrierung und die externe Referenzstandarisierung auf dem jeweiligen Kanal erfolgreich durchgeführt und validiert werden.
  Die Geräteleistungstests müssen erfolgreich durchgeführt werden, bevor mit dem Gerät Spektren auf dem jeweiligen Kanal aufgenommen werden können. Vordefinierte Toleranzen müssen eingehalten werden. Die zulässigen Toleranzen hängen von der Faseroptikkonfiguration des jeweiligen Kanals ab, die in den gerätespezifischen Daten angegeben ist (Messmodus, Fasertyp und Faserlänge).

Wellenlängentest

Beim Wellenlängentest werden Wellenlängengenauigkeit und Wellenlängenpräzision untersucht. Dazu wird ein Wellenlängenstandard verwendet, der ein Absorptionsspektrum mit definierten Peaks und bekannten Peakpositionen aufweist:

- **Intern**: Das Absorptionsspektrum des internen, metrologisch rückführbaren Wellenlängenstandards wird über den internen optischen Pfad mehrfach bestimmt:

  $$A_{\mathrm{WL},x} = \log_{10}\left(\frac{S_{\mathrm{ref}}}{S_{\mathrm{ref,WL},x}}\right)$$

  Hierbei entspricht $A_{\mathrm{WL},x}$ dem Absorptionsspektrum des internen Wellenlängenstandards für die x-te Messung, S_{ref} dem auf dem internen Referenzpfad gemessenen Referenzspektrum und $S_{\mathrm{ref,WL},x}$ dem auf dem internen Referenzpfad mit eingesetztem internen Wellenlängenstandard gemessenen Spektrum der x-ten Messung.
- **Extern** für Geräte der Produktfamilie **OMNIS NIR Analyzer**: Der externe Wellenlängentest ist optional *(siehe "Externer Wellenlängentest", Seite 30)*.

- **Extern** für Geräte vom Typ **2060 NIR**:
  Die externen Faseroptiken müssen bei Transmission an die Kalibriervorrichtung und bei Reflexion an den Reflexionsstandard angeschlossen sein.
  Das Absorptionsspektrum des internen, metrologisch rückführbaren Wellenlängenstandards wird über einen externen optischen Pfad mehrfach bestimmt:

$$A_{\mathrm{WL},x} = \log_{10}\left(\frac{S_{\mathrm{ref}}}{S_{\mathrm{fiber,WL},x}}\right) - A_{\mathrm{fiber}}$$

  Hierbei entspricht $A_{\mathrm{WL},x}$ dem Absorptionsspektrum des internen Wellenlängenstandards für die x-te Messung, S_{ref} dem auf dem internen Referenzpfad gemessenen Referenzspektrum, $S_{\mathrm{fiber,WL},x}$ dem auf dem optischen Pfad des jeweiligen Kanals gemessenen Spektrum der x-ten Messung, wobei die Fasern mit der Kalibriervorrichtung bzw. dem Reflexionsstandard verbunden sind und der interne Wellenlängenstandard in den optischen Pfad eingesetzt ist, und A_{fiber} dem Glasfaserkorrekturspektrum aus der Referenzstandardisierung.

$A_{\mathrm{WL},x}$ enthält auch die Absorbanz des Reflexionsstandards, was für die folgenden Berechnungen irrelevant ist. Im Idealfall sind die Peakpositionen von $A_{\mathrm{WL},x}$ identisch mit den nominalen Peakpositionen des Wellenlängenstandards.

Die Wellenlängengenauigkeit und die Wellenlängenpräzision werden wie folgt geprüft:

1. Das Spektrum $S_{\mathrm{ref,WL},x}$ bzw. $S_{\mathrm{fiber,WL},x}$ wird 10 mal gemessen, woraus sich 10 Absorptionsspektren $A_{\mathrm{WL},x}$ ergeben.
2. In den Absorptionsspektren werden die Peakpositionen identifiziert.
3. Für jede Peakposition werden die folgenden Statistiken über die 10 Absorptionsspektren berechnet:
   a. Mittelwert (Einheit: nm)
   b. Standardabweichung (Einheit: nm)
4. **Genauigkeit**: Bei jedem Peak muss die Differenz zwischen der mittleren Peakposition und der nominalen Peakposition innerhalb der vordefinierten Toleranz liegen.
   ➨ **Hinweis**: Die nominalen Peakpositionen können von Test zu Test leicht variieren. Dies liegt daran, dass die Peakpositionen temperaturkorrigiert werden. Eine ähnliche Temperaturkorrektur wird bei der Wellenlängenkalibrierung vorgenommen. Sie trägt dazu bei, dass Messungen bei einer bestimmten Temperatur auf allen Geräten vergleichbare Ergebnisse liefern.
5. **Präzision**: Bei jedem Peak muss die Standardabweichung innerhalb der vordefinierten Toleranz liegen.
6. Falls die Toleranzen für alle Peaks eingehalten werden, ist der Gesamtstatus des Wellenlängentests erfolgreich.

Rauschtest

Das Signalrauschen kann intern oder extern geprüft werden:

- **Intern**: Das Rauschen wird mehrfach über die Absorbanz des internen optischen Pfads bestimmt, bezogen auf die Absorbanz der Referenzmessung auf demselben optischen Pfad:

  $$A_{\text{noise},x} = \log_{10}\left(\frac{S_{\text{ref}}}{S_{\text{ref},x}}\right)$$

  Hierbei entspricht $A_{\text{noise},x}$ dem Rauschspektrum der x-ten Messung, S_{ref} dem auf dem internen Referenzpfad gemessenen Referenzspektrum und $S_{\text{ref},x}$ dem auf demselben Pfad gemessenen Spektrum der x-ten Messung.
- **Extern** für Geräte der Produktfamilie **OMNIS NIR Analyzer**: Der externe Rauschtest ist optional *(siehe "Externe Rauschtests", Seite 30)*.
- **Extern** für Geräte vom Typ **2060 NIR**:
  Die externen Faseroptiken müssen bei Transmission an die Kalibriervorrichtung und bei Reflexion an den Reflexionsstandard angeschlossen sein.
  Das Rauschen wird als Differenz zwischen dem gemessenen Absorptionsspektrum und dem nominalen Absorptionsspektrum mehrfach bestimmt:

  $$A_{\text{noise},x} = \log_{10}\left(\frac{S_{\text{ref}}}{S_{\text{fiber},x}}\right) - A_{\text{fiber}} - A_{\text{nominal}}$$

  Hierbei entspricht $A_{\text{noise},x}$ dem Rauschspektrum der x-ten Messung, S_{ref} dem auf dem internen Referenzpfad gemessenen Referenzspektrum, $S_{\text{fiber},x}$ dem auf dem optischen Pfad des jeweiligen Kanals gemessenen Spektrum der x-ten Messung, wobei die Fasern mit der Kalibriervorrichtung bzw. dem Reflexionsstandard verbunden sind, A_{fiber} dem Glasfaserkorrekturspektrum aus der Referenzstandardisierung und A_{nominal} dem nominalen Absorptionsspektrum des Reflexionsstandards.
  Hinweis: Im Transmissionsmodus ist $A_{\text{nominal}} = 0$.

Im Idealfall ist $A_{\text{noise}} = 0$.

Der Rauschtest führt die folgenden Schritte durch:

1. Das Spektrum $S_{\text{ref},x}$ bzw. $S_{\text{fiber},x}$ wird 10 mal gemessen, woraus sich 10 Rauschspektren $A_{\text{noise},x}$ ergeben.
2. Die Rauschspektren werden in verschiedene Wellenlängensegmente unterteilt.
3. Für jedes Rauschspektrum und jedes Segment werden 3 Grössen berechnet:
   a. Photometrisches Rauschen (Einheit: mAU)
   b. Peak-To-Peak-Rauschen (Einheit: mAU)
   c. Basislinien-Bias des Rauschens (Einheit: mAU)

4. Für jede der 3 Grössen in jedem Segment wird der Mittelwert über die 10 Rauschspektren berechnet.
5. Falls alle Mittelwerte innerhalb der vordefinierten Toleranzen liegen, ist der Gesamtstatus des Rauschtests erfolgreich.

3.3.1 Externe Geräteleistungstests (OMNIS NIR Analyzer)

Geräte der Produktfamilie **OMNIS NIR Analyzer** können nach Pharmakopöen wie USP <856>, Ph.Eur 2.2.40 und JP 2.27 validiert werden (ab OMNIS Software-Version 4.4). Diese Tests erfordern externe, metrologisch rückführbare Referenzstandards. Die Referenzstandards haben individuelle nominale Absorptionsspektren, die mit einem Referenzgerät bei Raumtemperatur gemessen wurden.

Externer Wellenlängentest

Die Wellenlängengenauigkeit und die Wellenlängenpräzision werden wie folgt geprüft:

1. Der externe Wellenlängenstandard (Transmission oder Reflexion) muss in Position gebracht werden.
2. 10 Absorptionsspektren des externen Wellenlängenstandards werden aufgenommen:

   $$A_{\mathrm{WL},x} = \log_{10}\left(\frac{S_{\mathrm{ref}}}{S_{\mathrm{WL},x}}\right)$$

   Hierbei entspricht $A_{\mathrm{WL},x}$ dem Absorptionsspektrum des externen Wellenlängenstandards für die x-te Messung, S_{ref} dem auf dem internen Referenzpfad gemessenen Referenzspektrum und $S_{\mathrm{WL},x}$ dem über den externen Wellenlängenstandard gemessenen Spektrum der x-ten Messung.
3. In den 10 Absorptionsspektren $A_{\mathrm{WL},x}$ werden die Peakpositionen identifiziert.
4. Für jede Peakposition werden die folgenden Statistiken über die aufgenommenen Spektren berechnet:
   a. Mittelwert (Einheit: nm)
   b. Standardabweichung (Einheit: nm)
5. **Genauigkeit**: Bei jedem Peak muss die Differenz zwischen der mittleren Peakposition und der nominalen Peakposition innerhalb der vordefinierten Toleranz liegen.
6. **Präzision**: Bei jedem Peak muss die Standardabweichung innerhalb der vordefinierten Toleranz liegen.
7. Falls die Toleranzen für alle Peaks eingehalten werden, ist der Gesamtstatus des Wellenlängentests erfolgreich.

Externe Rauschtests

Das Signalrauschen wird einmal bei niedrigem Photonenstrom (Low-Flux) und einmal bei hohem Photonenstrom (High-Flux) geprüft:

1. Der externe Referenzstandard (Transmission oder Reflexion) für den Low-Flux-Test oder den High-Flux-Test muss in Position gebracht werden.
2. 10 Rauschspektren werden als Differenz zwischen gemessenen Absorptionsspektren und dem nominalen Absorptionsspektrum des Referenzstandards aufgenommen:

   $$A_{\mathrm{noise},x} = \log_{10}\left(\frac{S_{\mathrm{ref}}}{S_{\mathrm{ND},x}}\right) - A_{\mathrm{nominal}}$$

   Hierbei entspricht $A_{\mathrm{noise},x}$ dem Rauschspektrum der x-ten Messung, S_{ref} dem auf dem internen Referenzpfad gemessenen Referenzspektrum, $S_{\mathrm{ND},x}$ dem über den externen Referenzstandard gemessenen Spektrum der x-ten Messung, und A_{nominal} dem nominalen Spektrum des Referenzstandards.
3. Die 10 Rauschspektren werden in verschiedene Wellenlängensegmente unterteilt.
4. Für jedes Rauschspektrum und jedes Segment werden 3 Grössen berechnet:
   a. Photometrisches Rauschen (Einheit: mAU)
   b. Peak-To-Peak-Rauschen (Einheit: mAU)
   c. Basislinien-Bias des Rauschens (Einheit: mAU)
5. Für jede der 3 Grössen in jedem Segment wird der Mittelwert über die aufgenommenen Rauschspektren berechnet.
6. Falls alle Mittelwerte innerhalb der vordefinierten Toleranzen liegen, ist der Gesamtstatus des Rauschtests erfolgreich.

Photometrische Linearität

Das Ziel dieses Tests ist, über den gesamten Wellenlängenbereich eine lineare Beziehung zwischen Reflexionsgrad (oder Transmissionsgrad) und der gemessenen Absorbanz nachzuweisen:

1. Absorptionsspektren von 5 Referenzstandards mit unterschiedlichem Reflexionsgrad (oder Transmissionsgrad) werden aufgenommen.
2. Der lineare Zusammenhang zwischen Reflexionsgrad (oder Transmissionsgrad) und der gemessenen Absorbanz wird durch eine lineare Regression bei mehreren Wellenlängen sichergestellt.
3. Falls die Steigungen und y-Achsenabschnitte aller Regressionsgeraden innerhalb der vordefinierten Toleranzen liegen, ist der Gesamtstatus des Tests erfolgreich.

4 Modellentwicklung

Folgende Arten von Modellen werden unterschieden:

- Ein **Quantifizierungsmodell** beschreibt die Abhängigkeit eines Analyseparameters (z. B. Wassergehalt) von den aufgenommenen Spektren der Proben.
- Ein **Identifizierungsmodell** (ab OMNIS Software-Version 4.0) klassifiziert die Proben anhand der aufgenommenen Spektren in verschiedene Produkte (z. B. verschiedene Sorten von Kaffeebohnen).
  Ein Produkt bezeichnet eine bestimmte chemische Substanz oder eine bestimmte chemische Substanz mit spezifischen physikalischen Eigenschaften (z. B. Partikelgrösse).

Für die Analyse einer unbekannten Probe wird ein Spektrum der Probe aufgenommen. Je nach Anwendung wird das Spektrum wie folgt genutzt:

- Quantifizierung: Auf der Grundlage des Spektrums erstellt ein Quantifizierungsmodell eine Prädiktion, z. B. für den Wassergehalt der Probe.
- Identifizierung: Auf der Grundlage des Spektrums identifiziert ein Identifizierungsmodell die Probe, z. B. als Arabica-Kaffee.
- Verifizierung (ab OMNIS Software-Version 4.2): Auf der Grundlage des Spektrums verifiziert ein Identifizierungsmodell beispielsweise, ob es sich bei der Probe um Arabica-Kaffee handelt oder nicht.

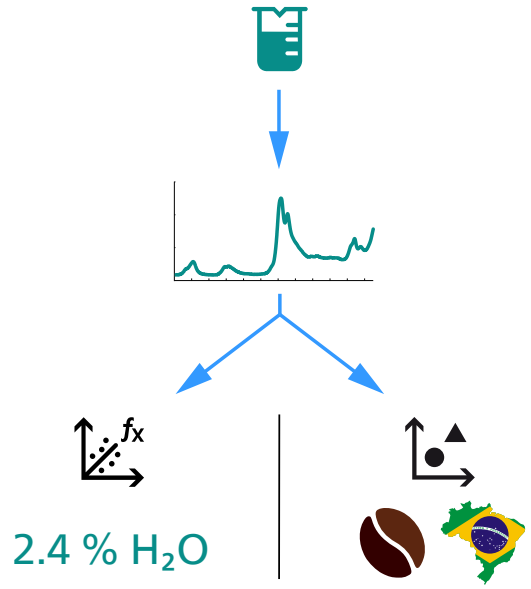


Abbildung 16 Quantifizierung (unten links) und Identifizierung (unten rechts).

Die Entwicklung eines Modells und die Analyse von Proben umfasst die folgenden Schritte:

1. **Probennahme**
   Es werden physische Proben entnommen und verarbeitet:
   a. Für jede Probe wird ein Spektrum aufgenommen.
   b. Für die Quantifizierung wird ein Referenzwert für den Analyseparameter (z. B. Wassergehalt) mit einer Referenzmethode (z. B. Titration) gemessen. Die Referenzmessung muss genau und präzise sein.
   c. Für die Identifizierung muss die Produktzugehörigkeit der Probe bekannt sein.
2. **Modellentwicklung**
   Die Modellentwicklung erfolgt in einem iterativen Prozess, der die folgenden Schritte umfasst:
   a. Aufteilung des Datensatzes in einen Kalibrierdatensatz, einen Validierdatensatz und einen Ausreisserdatensatz.
   b. Anwendung geeigneter Datenvorbehandlung und Wellenlängenbereiche auf die Spektren.
   c. Berechnung eines Modells auf Basis des Kalibrierdatensatzes.
   d. Die Validierung des Modells stellt sicher, dass das Modell die Anforderungen erfüllt. Die Validierung stützt sich in erster Linie auf den Validierdatensatz, der bei der Entwicklung des Modells nicht verwendet wurde.
      Bei der Quantifizierung sagt das Modell den Analyseparameter für die Spektren im Validierdatensatz vorher. Anschliessend werden die vorhergesagten Werte mit den bekannten Referenzwerten verglichen.
      Für die Identifizierung ordnet das Modell die Spektren verschiedenen Produkten zu. Die vorhergesagten Produktzugehörigkeiten werden mit den jeweiligen tatsächlichen Produktzugehörigkeiten verglichen.
3. **Überwachung**
   Die Überwachung des Modells gewährleistet, dass die Vorhersagekraft im Laufe der Zeit nicht abnimmt. Jede Veränderung des Prozesses oder der Proben erfordert eine Revalidierung.

4.1 Physische Proben

Am Anfang steht das Sammeln und Analysieren von physischen Proben. Eine ordnungsgemässe Probennahme ist Voraussetzung für die Entwicklung eines robusten Modells. Dabei gilt es mehrere Aspekte zu beachten.

Variationsbreite

Die Proben sollten typische, zukünftig zu erwartende Probenvariationen umfassen. Die Konzentrationen aller chemischen Komponenten und Partikelgrössen sollten mindestens die erwartete Variationsbreite abdecken.

Die Proben sollten eine angemessene Variation der Bedingungen und eine angemessene Zeitspanne abdecken. Es sollten alle Variationen berücksichtigt werden, z. B. Prozessschwankungen, saisonale Schwankungen oder Schwankungen der Umgebungsbedingungen.

Die Proben sollten gleichmässig über die Variationsbreite verteilt sein. Bei der Quantifizierung umfasst dies den Bereich der Referenzwerte. Beträgt der Bereich der Referenzwerte beispielsweise 1 % bis 10 %, sollten die Proben gleichmässig zwischen 1 % und 10 % verteilt sein.

Kalibrier- und Validierproben

In der Regel werden 2 Probensets verwendet:

- Kalibrierset: Für die Modellentwicklung verwendete Proben.
- Validierset: Für die Validierung des Modells verwendete Proben.

Beide Sets sollten die erwarteten Variationen abdecken. Für das Validierset sollten vorzugsweise unabhängige Proben gesammelt werden, um die Robustheit des Modells zu prüfen. Szenarien wie unterschiedliche Bediener, unterschiedliche Lieferanten oder gegebenenfalls unterschiedliche Geräte sollten in Betracht gezogen werden.

Ist das Sammeln unabhängiger Proben für Kalibrierung und Validierung nicht praktikabel, können alternativ die Spektren der verfügbaren Proben in einen Kalibrierdatensatz und einen Validierdatensatz aufgeteilt werden. Zur Gewährleistung der Unabhängigkeit der Sets sollte der automatische Aufteilungsalgorithmus verwendet werden.

Sobald ein Modell entwickelt wurde, kann die Verwendung expliziter Ausreisserproben in Betracht gezogen werden, um die Ausreissererkennung zu prüfen.

Alle Proben sollten auf die gleiche Weise behandelt werden. Für die Aufnahme der Spektren sollte die gleiche Methode mit der gleichen Hardwarekonfiguration und den gleichen Messparametern verwendet werden. Für Quantifizierung sollte die gleiche Referenzmethode mit den gleichen Messparametern verwendet werden.

Probenanzahl

Je mehr Variationen bei den Bedingungen, chemischen Komponenten oder Partikelgrössen abgedeckt werden müssen, umso mehr Proben werden benötigt.

Quantifizierung: Damit die statistische Analyse ordnungsgemäss funktioniert, ist eine Mindestanzahl von etwa 50 Proben erforderlich, wobei Kalibrierset und Validierset jeweils mindestens 20 bis 25 Proben enthalten müssen.

Identifizierung und Verifizierung: Für jedes Produkt müssen die Proben die erwarteten Variationen abdecken. Die Produkte können eine unterschiedliche Probenanzahl haben, die Mindestanzahl beträgt 3.

Mit mindestens 10 bis 20 Proben (je nach Anzahl der Variationen) kann ein erstes Modell ohne Validierset entwickelt werden. Falls die Kreuzvalidierung (für Quantifizierungsmodelle) oder die interne Validierung (für Identifizierungsmodelle) darauf hindeutet, dass ein adäquates Modell erstellt werden kann, müssen für die Entwicklung des endgültigen Modells weitere Kalibrier- und Validierproben gesammelt werden.

Replikate

Manchmal gibt es nur sehr wenige Proben in einem bestimmten Bereich von Bedingungen oder Referenzwerten. Um das auszugleichen, könnte man versucht sein, diese Proben zu replizieren. Das ist jedoch problematisch. Wenn sich Duplikate einer Probe sowohl im Kalibrierset als auch im Validierset befinden, sind die statistischen Kennzahlen irreführend (zu optimistisch). Auch Duplikate im gleichen Set sind zu vermeiden.

Referenzmethode (Quantifizierung)

Bei der Quantifizierung wird eine Referenzmethode zur Messung der Referenzwerte verwendet. Der **Standardfehler des Labors (SEL)** für die verwendete Referenzmethode spielt bei der Entwicklung eines Quantifizierungsmodells eine bedeutende Rolle. Der SEL ist die Standardabweichung der Differenzen zwischen den Messungen von Duplikatproben.

Der SEL ist häufig der grösste Fehler, der zum Standardfehler der Prädiktion (SEP) bei der NIR-Methode beiträgt *(siehe "SEP – Standardfehler der Prädiktion", Seite 72)*. Der SEL sollte das 0.7-fache, vorzugsweise das 0.5-fache, des erforderlichen SEP nicht überschreiten. Der Bereich der Referenzwerte sollte mindestens das 3-fache, besser das 5-fache des SEL betragen.

Eine Möglichkeit zur Reduzierung des SEL ist die Durchführung wiederholter Referenzmessungen an jeder Probe. Der Durchschnitt der Messwerte sollte als Referenzwert für die Probe festgelegt werden. Für jede Probe sollte die gleiche Anzahl an Referenzmessungen durchgeführt werden. Die statistischen Kennzahlen werden relativ zu einer bestimmten Anzahl wie-

derholter Referenzmessungen ausgedrückt. Eine unterschiedliche Anzahl wiederholter Referenzmessungen würde zu falschen Schätzwerten der statistischen Kennzahlen führen und sollte vermieden werden.

Probentemperatur

Die Probentemperatur hat einen wesentlichen Einfluss auf die Spektren von Flüssigkeiten, die Wasser oder andere Wasserstoffbrücken enthalten. Spektren anderer polarer Flüssigkeiten können genauso beeinflusst werden wie die Spektren von Feststoffen, die Wasser, Feuchtigkeit oder Lösungsmittel enthalten. Solche Proben sollten bei einer definierten Temperatur gemessen werden.

Ausreisser

Einige Proben werden später ggf. als Ausreisser identifiziert. Ein Ausreisser ist eine Probe, die aus irgendeinem Grund von der Mehrheit der Proben abweicht. Um einen negativen Einfluss auf das Modell zu vermeiden, werden als Ausreisser gekennzeichnete Proben nicht in die Berechnung des Modells einbezogen.

Es gibt verschiedene Arten von Ausreissern:

- **Spektrale Ausreisser**
  Weicht das erfasste Spektrum einer Probe von den meisten anderen Spektren ab, wird die Probe ggf. als spektraler Ausreisser erkannt *(siehe "Spektrale Ausreisser", Kapitel 4.3.3, Seite 52)*.
- **Referenzwert-Ausreisser (Quantifizierung)**
  Bei der Quantifizierung können einzelne Referenzwerte Anomalien aufweisen und später als Referenzwert-Ausreisser erkannt werden *(siehe "Referenzwert-Ausreisser (Quantifizierung)", Kapitel 4.3.4, Seite 59)*.
  Der OMNIS Model Developer (OMD) erkennt die entsprechenden Proben auf Basis der Ausreissererkennung nach ASTM D8321-22 als Ausreisser *(siehe "OMNIS Model Developer (OMD)", Kapitel 4.4.3, Seite 73)*.

4.2 Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Die spektroskopischen Daten der Kalibrierproben enthalten eine hohe Anzahl an Variablen (Wellenlängen). Die Variablen korrelieren stark miteinander. Die Daten sind deshalb hochgradig redundant. Um mit dieser Art von Daten umzugehen, werden Latente-Variablen-Modelle wie PCA und PLS verwendet.

Die **Hauptkomponentenanalyse** (**PCA**, englisch *principal component analysis*) konzentriert sich auf die Spektren, ohne die Referenzwerte zu berücksichtigen.

Die OMNIS Software nutzt die PCA während der Modellentwicklung für die automatische Datensatzaufteilung und die Erkennung spektraler Ausreisser.

Vorbereitende Schritte

Folgende vorbereitende Schritte sind erforderlich:

1. **Datenvorbehandlung**: Die OMNIS Software wendet die festgelegte Datenvorbehandlung auf die Spektren an *(siehe "Datenvorbehandlung", Kapitel 4.3.1, Seite 41)*.
2. **Wellenlängenbereiche**: Die OMNIS Software wendet die festgelegte Wellenlängenauswahl auf die Spektren an *(siehe "Wellenlängenbereiche", Kapitel 4.3.2, Seite 50)*.
3. **Mittelwertzentrierung**: Für jede Wellenlänge wird der mittlere Absorbanzwert berechnet und vom jeweiligen Wert in jedem Spektrum subtrahiert.

Die erste Hauptkomponente

Nach den vorbereitenden Schritten ordnet die PCA die Informationen in den Spektrendaten neu an und trennt die relevanten Daten vom Rauschen. Zu diesem Zweck transformiert die PCA die Wellenlängenvariablen in einen neuen Variablenraum, in sogenannte **Hauptkomponenten** (**PC**, englisch Principal Components).

Die PCA wandelt die relevanten Informationen aus einer Vielzahl von Wellenlängenvariablen in nur wenige Hauptkomponenten um. Um das Konzept anhand eines einfachen Beispiels zu veranschaulichen, wird angenommen, dass es statt Tausender nur 2 Wellenlängenvariablen gibt und diese 2 Variablen auf 1 Hauptkomponente reduziert werden.

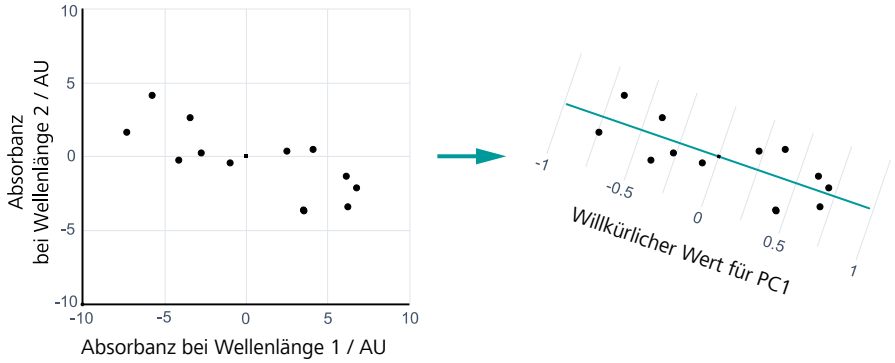


Abbildung 17 Punkte, die Spektren in einem 2-dimensionalen Wellenlängenraum darstellen (links). Die gleichen Punkte in einem 1-dimensionalen Hauptkomponentenraum (rechts).

In *Abbildung 17* links bilden die horizontale und die vertikale Achse den ursprünglichen Wellenlängenraum mit 2 Variablen. Somit stellt jeder Punkt

ein Spektrum mit nur 2 Wellenlängen dar. Der Mittelwert aller Wellenlängenwerte bildet den Nullpunkt.

Rechts bildet die Richtung durch die Daten, die die maximale Variabilität erklärt, die Hauptkomponente PC1. In diesem Beispiel ist PC1 die einzige Variable im Hauptkomponentenraum. Infolgedessen werden die 2 ursprünglichen Variablen auf 1 reduziert.

Scores und Residuen

Abbildung 18 zeigt die Grössen, die ein Spektrum *i* charakterisieren:

- Der Abstand s_i von der Mitte, gemessen im Hauptkomponentenraum. Im Beispiel mit nur 1 Hauptkomponente wird s_i in der Richtung von PC1 gemessen. Der Abstand s_i wird als der **Score** des Spektrums *i* bezeichnet.
- Der Offset e_i vom Hauptkomponentenraum zum Spektrum. Der Abstand e_i wird als das **Residuum** des Spektrums *i* bezeichnet.

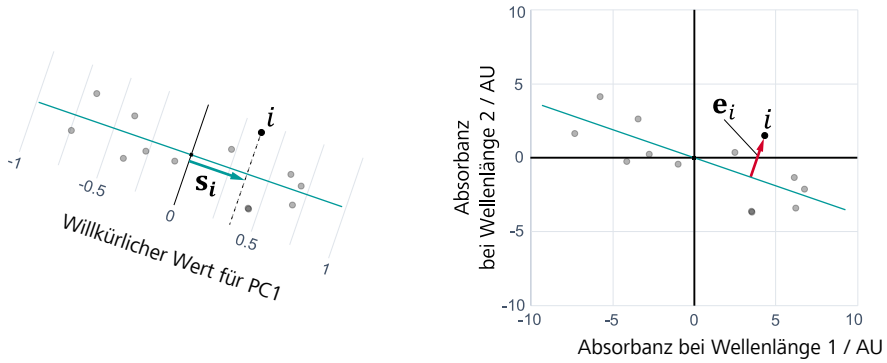


Abbildung 18 Spektrum i mit Score (links) und Residuum (rechts).

Der Score s_i wird im Hauptkomponentenraum gemessen. Das Residuum e_i wird im ursprünglichen Wellenlängenraum gemessen.

Umwandlung in mehrere Hauptkomponenten

In der Regel wird für eine angemessene Beschreibung der spektroskopischen Daten mehr als eine Hauptkomponente benötigt.

In *Abbildung 19* gibt es die 3 ursprünglichen Variablen x_1, x_2, x_3. Jeder Punkt stellt ein Spektrum mit 3 Wellenlängen dar.

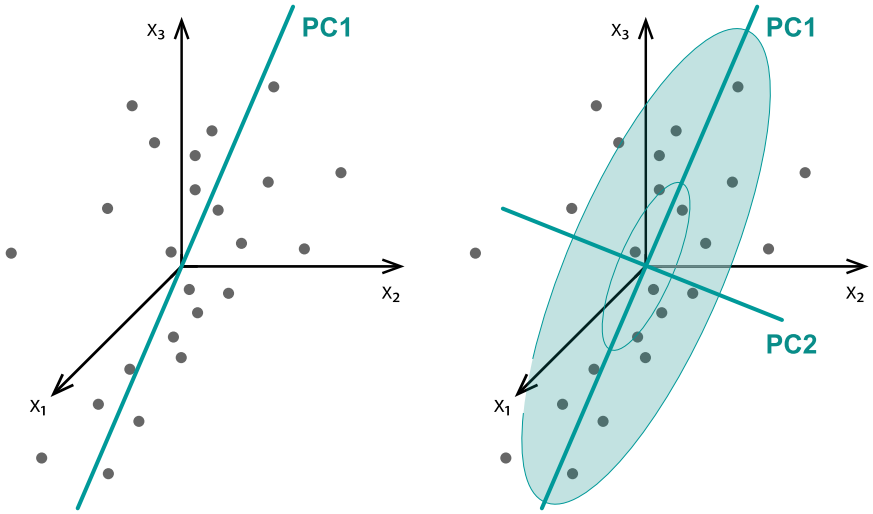


Abbildung 19 *3 ursprüngliche Variablen werden auf 1 Hauptkomponente (links) oder 2 Hauptkomponenten (rechts) reduziert. PC1 und PC2 bilden einen 2-dimensionalen Hauptkomponentenraum.*

Die erste Hauptkomponente PC1 ist abermals die Richtung durch die Daten, die die maximale Variabilität erklärt.

Die zweite Hauptkomponente PC2 ist die Richtung durch die Daten, die die maximale verbleibende Variabilität erklärt. Das Gleiche gilt für alle nachfolgenden Hauptkomponenten, die jeweils die maximale verbleibende Variabilität beschreiben. Die ersten paar Hauptkomponenten machen daher den grössten Teil der Variabilität in den Daten aus, während andere hauptsächlich Rauschen enthalten und verworfen werden können. Auf diese Weise kann die Anzahl der Variablen reduziert werden.

Ein wesentliches Merkmal der PCA ist, dass alle Hauptkomponenten **orthogonal** (im rechten Winkel) zueinander liegen. Die Scores sind daher unkorreliert.

Mahalanobis-Distanz

Wie oben dargestellt, wird der Score eines Spektrums *i* im Hauptkomponentenraum gemessen, während das Residuum im ursprünglichen Wellenlängenraum gemessen wird.

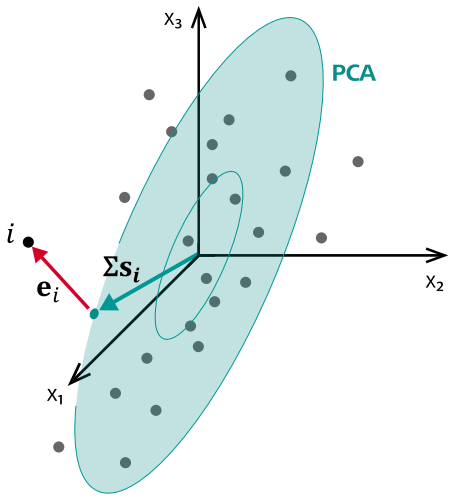
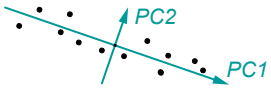


Abbildung 20 *Score und Residuum von Spektrum i. Der grüne Punkt ist die orthogonale Projektion von Punkt i (der das Spektrum i darstellt) auf den Hauptkomponentenraum.*

In *Abbildung 20* stellt der Score-Vektor $\mathbf{\Sigma s}_i$ die absolute Distanz (euklidische Distanz) vom Mittelpunkt des PCA-Modells zur orthogonalen Projektion des Spektrums auf den Hauptkomponentenraum dar.



Im Beispiel liegen die euklidischen Distanzen der Spektren in Richtung PC1 weiter auseinander als in Richtung PC2. Die Ausbreitung kann als **Varianz** gemessen werden. Die Varianz in PC1 ist höher als in PC2.

Der normalisierte Score-Vektor $\mathbf{s}_i$ steht für eine normalisierte Distanz, die sogenannte **Mahalanobis-Distanz**. Die Mahalanobis-Distanz berücksichtigt die unterschiedliche Varianz in den verschiedenen Hauptkomponentenrichtungen. Jede Richtung erhält die gleiche Gewichtung. Daher kann eine kleine euklidische Distanz in einer Richtung mit geringer Varianz genauso viel zählen wie eine grosse euklidische Distanz in einer Richtung mit höherer Varianz.

Umwandlung von Spektren mit mehreren Wellenlängen

Die gleichen Konzepte gelten für die Umwandlung von Spektren mit einer Vielzahl von Wellenlängenvariablen in Hauptkomponenten. In *Abbildung 21* wird jedes Spektrum durch eine Kurve (links) und einen Punkt (rechts) dargestellt.

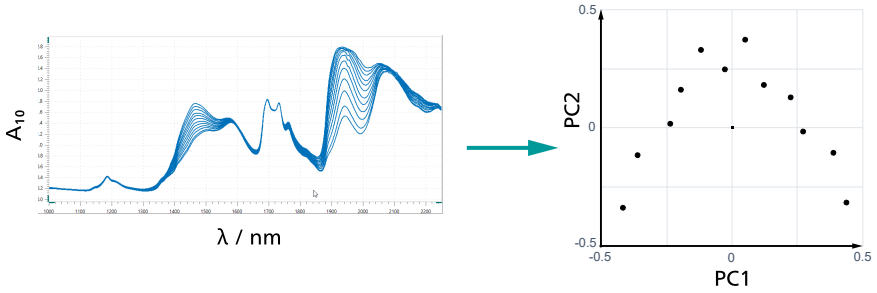


Abbildung 21 Umwandlung von Spektrendaten in einen Hauptkomponentenraum. Die Scores auf der rechten Seite sind in willkürlichen Einheiten ausgedrückt.

Die Abbildung rechts zeigt die ersten 2 Hauptkomponenten PC1 und PC2. Auf die gleiche Weise können auch die nachfolgenden Hauptkomponenten PC3, PC4 usw. visualisiert werden.

Ein PCA-Modell nutzt eine feste Anzahl von Hauptkomponenten. Je mehr Hauptkomponenten, umso mehr relevante spektrale Variationen erklärt das Modell. Gleichzeitig erfasst das Modell aber auch mehr irrelevante spektrale Variationen (Rauschen). Ein ausgewogener Kompromiss ist erforderlich.

Führt die OMNIS Software eine Hauptkomponentenanalyse durch, wird die Anzahl der Hauptkomponenten so gewählt, dass die erklärte Varianz mindestens 95 % beträgt.

PCA-Algorithmus

Es gibt mehrere Möglichkeiten für die Umwandlung der Originaldaten in einen Hauptkomponentenraum. Die OMNIS Software führt eine Singulärwertzerlegung durch *(siehe "PCA-Algorithmus", Kapitel 6.2, Seite 95)*.

4.3 Datenaufbereitung

4.3.1 Datenvorbehandlung

Spektroskopische Modelle beruhen auf der Beziehung zwischen den Absorbanzwerten und dem Analyseparameter (Quantifizierung) bzw. der Produktzugehörigkeit (Identifizierung, Verifizierung). Die **Parametrierung** der Spektren stellt sicher, dass die Spektren diese Beziehung gut zum Ausdruck bringen. Das Ziel ist, die irrelevante Variabilität zu eliminieren, ohne die nützliche Information zu verlieren. Artefakte und Nichtlinearitäten werden korrigiert. Eine richtig durchgeführte Parametrierung erhöht die Genauigkeit und Robustheit des Modells sowie die Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit der Prädiktionen.

Die Parametrierung wird auf den Kalibrierdatensatz, den Validierdatensatz und den Ausreisserdatensatz sowie auf alle zukünftigen unbekannten Proben angewendet, die mit demselben Modell analysiert werden.

Der erste Schritt der Parametrierung ist die **Datenvorbehandlung**. Die Datenvorbehandlung erfolgt in der vorgegebenen Reihenfolge. In einem zweiten Schritt der Parametrierung können die relevanten Wellenlängenbereiche festgelegt werden *(siehe "Wellenlängenbereiche", Kapitel 4.3.2, Seite 50)*.

Rauschminderung

Spektren können verschiedene Arten von Zufallsschwankungen um das Signal herum enthalten. Beispiele hierfür sind hochfrequentes Rauschen bedingt durch den Detektor und die elektronischen Schaltkreise des Geräts oder niederfrequentes Rauschen verursacht durch Gerätedrift während der Scanmessungen.

Das Spektrometer liefert ein Spektrum, das aus einer Reihe von Einzelmessungen gemittelt wird. Dadurch wird hochfrequentes Rauschen deutlich reduziert. Eine weitere Rauschminderung kann mit einem Glättungsfilter erreicht werden. Diese Filter basieren auf der Idee, dass das Rauschen hochfrequent und das Signal niederfrequent ist. Sie approximieren das Signal durch die benachbarten Absorbanzwerte und reduzieren das Rauschen durch Mittelwertbildung.

Streuungskorrektur

Unter Streuung versteht man die Richtungsänderung von Licht, verursacht durch die Wechselwirkung mit der Probe. Streulicht, das den Detektor nicht erreicht, führt zu Basislinienschwankungen in den Spektren.

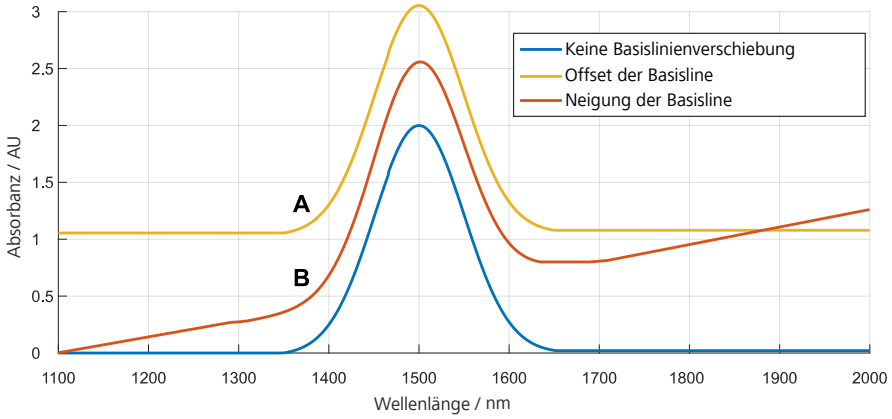


Abbildung 22 Die wichtigsten Arten der Basislinienverschiebung sind der Offset der Basislinie und die Neigung der Basislinie.

Es lassen sich verschiedene Arten von Basislinienverschiebungen unterscheiden:

- Ein konstanter additiver Faktor, der zu einem **Offset der Basislinie** führt (Spektrum **A**).
- Ein wellenlängenabhängiger multiplikativer Faktor, der zu einer **Neigung der Basislinie** führt (Spektrum **B**).

- Ein wellenlängenabhängiger multiplikativer Faktor zweiter Ordnung, der zu einer **quadratischen Neigung der Basislinie** führt. Es können auch Basislinienneigungen höherer Ordnung auftreten.
- Absorbanzabhängige multiplikative Faktoren, die zu einer **Verstärkung** führen. Verstärkungen sind jedoch irrelevant.

Die Streuung ist bei festen Proben am offensichtlichsten. Die sich daraus ergebenden Basislinienverschiebungen können verwendet werden, um Änderungen der Partikelgrösse oder andere physikalische Variationen zu erkennen.

Sind jedoch chemische Variationen von Interesse, sollten die Basislinienverschiebungen durch eine geeignete Vorbehandlung minimiert werden.

Datenvorbehandlungen

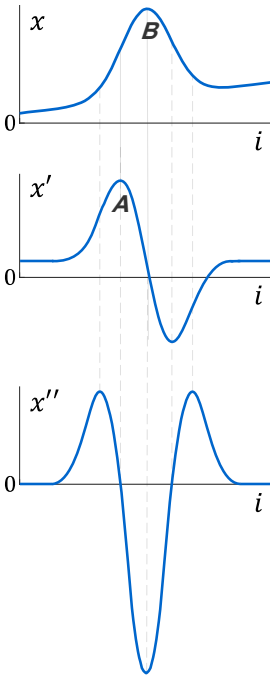
Alle nachfolgenden Datenvorbehandlungen werden jeweils auf ein einzelnes Spektrum angewendet. Es werden keine weiteren Spektren in die Berechnungen einbezogen.

Die Datenvorbehandlung verändert die Signalwerte. Die Zahlen auf der y-Achse haben keine Bedeutung mehr.

Bei den angewandten Datenvorbehandlungen handelt es sich um lineare Transformationen. Daher gilt weiterhin das Beer-Lambert-Gesetz.

4.3.1.1 Ableitungen

Ableitungen können mit dem Gap-Segment-Filter oder dem Savitzky-Golay-Filter durchgeführt werden.



Die Ableitung eines Spektrums beschreibt die Steigung oder Steilheit der Kurve an jedem Punkt. Die Steigung ist die Änderungsrate des Ausgangsspektrums.

Im Spektrum ist x_i die Absorbanz bei der Wellenlänge i. Die Ableitung erster Ordnung x_i' stellt die Steigung des Spektrums bei der Wellenlänge i dar. Wo das Ausgangsspektrum am steilsten ist, hat die Ableitung erster Ordnung ein Maximum (**A**). Wo das Ausgangsspektrum einen Peak (**B**) aufweist, ist die Ableitung erster Ordnung gleich 0.

Die Ableitung erster Ordnung beseitigt Offsets der Basislinie und wandelt Neigungen der Basislinie in Offsets der Basislinie um.

Die Ableitung zweiter Ordnung x_i'' entspricht der Steigung der Ableitung erster Ordnung bei der Wellenlänge i. Positive Peaks im Originalspektrum (**B**) werden zu negativen Peaks und umgekehrt.

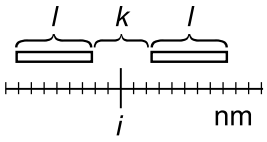
Die Ableitung zweiter Ordnung beseitigt Offsets der Basislinie und Neigungen der Basislinie aus dem Originalspektrum.

Vorsicht ist geboten, wenn das Originalspektrum ein erhebliches Mass an Rauschen enthält. Jede Ableitung verschlechtert das Signal-Rausch-

Verhältnis erheblich. Aus diesem Grund werden Ableitungen mit einer Glättungsfunktion im Gap-Segment-Filter oder Savitzky-Golay-Filter kombiniert.

4.3.1.2 Gap-Segment

Der Gap-Segment-Filter glättet das Spektrum. Optional führt der Gap-Segment-Filter eine Ableitung erster oder zweiter Ordnung durch. Die Berechnung hängt davon ab, ob Ableitungen verwendet werden:



- **Ableitungsordnung 0**: Für jede Wellenlänge *i* berechnet der Gap-Segment-Filter den Mittelwert aus 2 Segmenten mit der Segmentgrösse *l*, z. B. 10 nm. Die 2 Segmente sind durch einen Abstand mit der Grösse *k*, z. B. 5 nm, getrennt.
- **Ableitungsordnung 1**: Für die Ableitung erster Ordnung werden die Mittelwerte der 2 Segmente separat berechnet. Anschliessend wird die Differenz der beiden Mittelwerte gebildet.
- **Ableitungsordnung 2**: Die Ableitung zweiter Ordnung kann auf die gleiche Weise aus der Ableitung erster Ordnung berechnet werden.

Am Anfang und am Ende des Spektrums werden $l + k/2$ Wellenlängen berechnet, wobei Nullwerte für Segmentwellenlängen verwendet werden, die ausserhalb des Spektrums liegen.

Am Anfang und am Ende des Spektrums werden für Segmentwellenlängen, die ausserhalb des Spektrums liegen, Nullwerte verwendet.

Mit der Glättung kann eine leichte Verschiebung der Peaks und eine gewisse Verzerrung einhergehen.

Parametereinstellungen

Eine stärkere Glättung wird erzielt durch:

- eine Ableitung niedrigerer Ordnung,
- eine grössere Segmentgrösse,
- einen grösseren Segmentabstand.

Eine übermässige Glättung führt zu einem Verlust relevanter Variabilität, was die Vorhersagekraft des Modells verringert.

4.3.1.3 Savitzky-Golay

Wie der Gap-Segment-Filter glättet der Savitzky-Golay-Filter das Spektrum und führt optional eine Ableitung erster oder zweiter Ordnung durch. Der Savitzky-Golay-Filter nutzt jedoch eine andere Glättungsmethode.

Für jede Wellenlänge *i* passt der Savitzky-Golay-Filter ein Polynom niedriger Ordnung im Bereich der jeweiligen Wellenlänge an. Der Wert des Polynoms bei der Wellenlänge *i* ist der geglättete Wert. Wird eine Ableitung vorgenommen, wird der Wert der Ableitung verwendet.

Eine gewichtete Summe benachbarter Werte berechnet alles auf einmal:

$$x_i = \sum_{j=-k/2}^{k/2} c_j x_{i+j}$$

Hierbei entspricht k der Filterbreite, c_j Faltungskoeffizienten, die von der Ableitungsordnung, dem Polynomgrad und der Filterbreite abhängen und in Tabellen nachgeschlagen werden können, und x_{i+j} den Absorbanzwerten des Ausgangsspektrums bei der Wellenlänge $i+j$.

Am Anfang und am Ende des Spektrums werden für Filterwellenlängen, die ausserhalb des Spektrums liegen, extrapolierte Werte verwendet (horizontale Extrapolation).

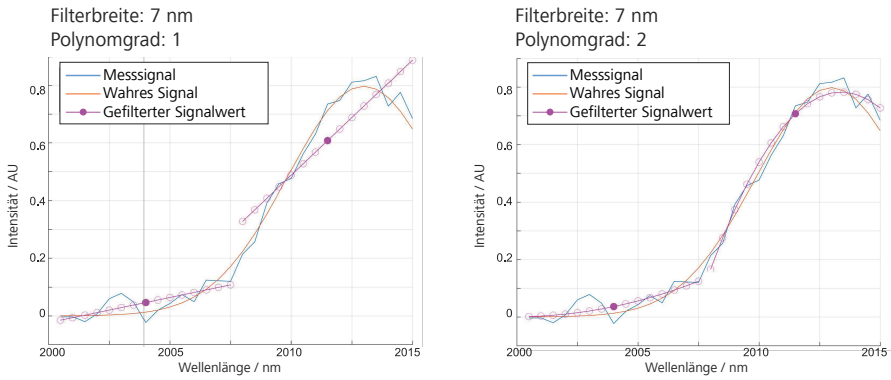


Abbildung 23 Savitzky-Golay-Filterung mit verschiedenen Polynomgraden

Abbildung 23 veranschaulicht die Savitzky-Golay-Filterung. Die Filterbreite beträgt 7 nm. Die Polynome für die Wellenlängen 2004 nm und 2011.5 nm sind dargestellt. Die neuen Werte sind die ausgefüllten Punkte oder, bei Verwendung von Ableitungen, deren Ableitung. Alle anderen Wellenlängen werden auf die gleiche Weise behandelt.

Die Filterbreite definiert den Wellenlängenbereich, in den jedes Polynom eingepasst wird. Die Faltung ist so gewichtet, dass der Einfluss der Absorbanzwerte nach beiden Seiten der jeweiligen Wellenlänge abnimmt.

Parametereinstellungen

Eine stärkere Glättung wird erzielt durch:

- eine Ableitung niedrigerer Ordnung,
- eine grössere Filterbreite,
- einen niedrigeren Polynomgrad.

Eine übermässige Glättung führt zu einem Verlust relevanter Variabilität, was die Vorhersagekraft des Modells verringert.

4.3.1.4 SNV – Standard Normal Variate

SNV normiert ein einzelnes Spektrum auf Varianz 1 und Mittelwert 0. SNV normiert die Absorbanzwerte x_i für jede Wellenlänge *i* innerhalb eines festgelegten Wellenlängenbereichs wie folgt:

$$x_i = \frac{x_i - m}{s}$$

Hierbei entspricht *m* dem Mittelwert und *s* der Standardabweichung aller Absorbanzwerte innerhalb des festgelegten Wellenlängenbereichs.

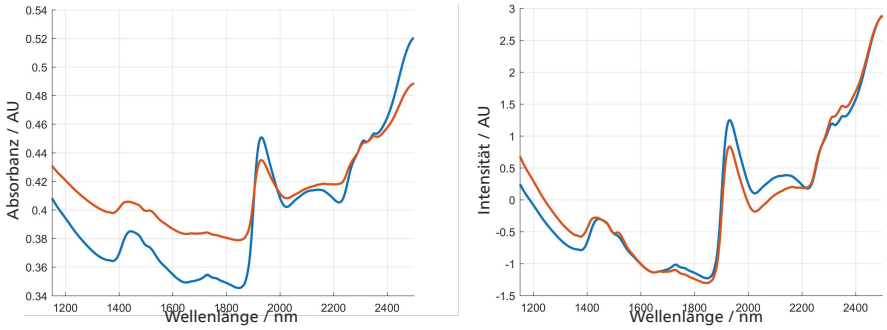


Abbildung 24 Absorptionsspektren (links) und mit SNV behandelte Spektren (rechts).

Durch die Normierung wird die Variabilität zwischen den Spektren beseitigt. Das ist sinnvoll, falls die Variabilität aus Eigenschaften resultiert, die nicht von Interesse sind, z. B. unterschiedliche Schichtdicken in körnigen oder pulverförmigen Proben oder in trüben Medien.

Hinweis: Falls nach SNV eine Ableitung angewendet wird, kann die beseitigte Variabilität teilweise wieder auftauchen. Ableitungen sollten daher vor SNV angewendet werden. Wenn SNV ausnahmsweise vor der Ableitung durchgeführt werden muss, kann die folgende Reihenfolge in Betracht gezogen werden: Detrend, SNV, Ableitung. Die übliche Reihenfolge ist jedoch: Ableitung, SNV, Detrend *(siehe "Reihenfolge bei mehreren Datenvorbehandlungsschritten", Kapitel 4.3.1.7, Seite 49)*.

Parameter

- **Wellenlängenbereiche**
  Falls Artefakte gewisse Wellenlängenbereiche beeinträchtigen (z. B. durch Sättigung oder starkes Rauschen), können diese Bereiche ausgeschlossen werden.
  Für die Berechnung des Mittelwerts und der Standardabweichung werden ausschliesslich die definierten Wellenlängenbereiche berücksichtigt. Die anschliessende Normierung wird sowohl in den definierten Wellenlängenbereichen als auch in den Zwischenbereichen durchgeführt. Für ausgeschlossene Wellenlängen am Anfang des Spektrums wird der normierte Wert der benachbarten Startwellenlänge übernommen. Für ausgeschlossene Wellenlängen am Ende des Spektrums wird der normierte Wert der benachbarten Endwellenlänge übernommen.
  Bei Bedarf können ausgeschlossene Wellenlängen auch für die Berechnung des Modells ausgeschlossen werden *(siehe "Wellenlängenbereiche", Kapitel 4.3.2, Seite 50)*.
  Hinweis: Ab OMNIS Software-Version 4.6 können mehrere Wellenlängenbereiche definiert werden.

4.3.1.5 Detrend

Detrend passt mithilfe der Methode der kleinsten Quadrate ein Polynom zweiter Ordnung an das gesamte Spektrum an. Anschliessend subtrahiert Detrend das Polynom vom Spektrum.

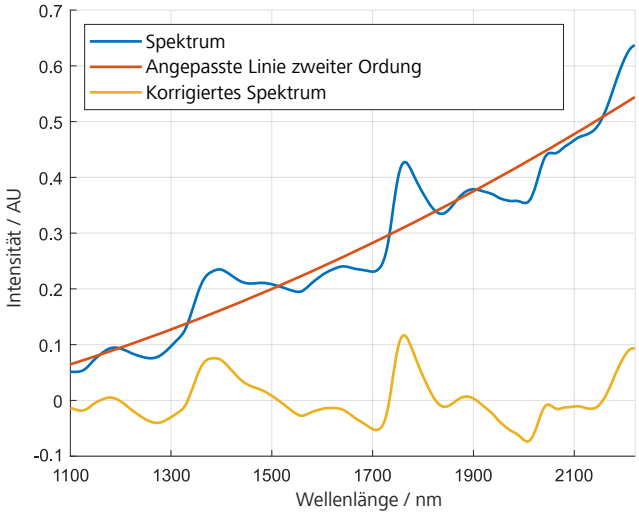


Abbildung 25 Detrend wandelt das blaue Spektrum in das gelbe Spektrum um.

Detrend reduziert wellenlängenabhängige Streueffekte bis hin zu quadratischen Neigungen der Basislinie.

Die obige Abbildung zeigt ein Spektrum (blau), in dem der Trend dominiert. Falls dieser dominierende Trend bei allen Spektren ähnlich ist, kann

Detrend gut funktionieren. In anderen Fällen neigt Detrend dazu, nützliche Variationen zu entfernen. In solchen Fällen sind Ableitungen wahrscheinlich die bessere Wahl.

Da an jedes Spektrum ein eigenes Polynom angepasst wird, kann eine zusätzliche störende Variabilität auftreten. Normalerweise wird SNV vor Detrend angewendet. Das führt zu robusteren Schätzwerten der Polynomkoeffizienten.

Parameter

- **Wellenlängenbereiche**
  Falls Artefakte gewisse Wellenlängenbereiche beeinträchtigen (z. B. durch Sättigung oder starkes Rauschen), können diese Bereiche ausgeschlossen werden.
  Ein Polynom wird an alle Intensitätswerte der definierten Wellenlängenbereiche angepasst. Anschliessend wird in allen definierten Wellenlängenbereichen das Polynom vom Spektrum subtrahiert. Für alle ausgeschlossenen Wellenlängen wird der Intensitätswert auf Null gesetzt.
  Bei Bedarf können ausgeschlossene Wellenlängen auch für die Berechnung des Modells ausgeschlossen werden *(siehe "Wellenlängenbereiche", Kapitel 4.3.2, Seite 50)*.
  Hinweis: Ab OMNIS Software-Version 4.6 können mehrere Wellenlängenbereiche definiert werden.

4.3.1.6 Übersicht der Datenvorbehandlung

Vorbehandlung	Zweck	Positive Effekte	Negative Effekte
Gap-Segment	Glättung Eine stärkere Glättung wird mit einer niedrigeren Ableitungsordnung, einer grösseren Segmentgrösse oder einem grösseren Segmentabstand erreicht.	▪ Reduziert hochfrequentes Rauschen.	▪ Eine übermässige Glättung führt zu einem Verlust relevanter Variabilität.
Ableitungen mit Gap-Segment	Basislinienkorrektur	▪ Ableitung erster Ordnung: Beseitigt Offsets der Basislinie. ▪ Ableitung zweiter Ordnung: Beseitigt Offsets der Basislinie und Neigungen der Basislinie.	▪ Verstärkt das Rauschen. ▪ Verändert das Erscheinungsbild des Spektrums.

Vorbehandlung	Zweck	Positive Effekte	Negative Effekte
Savitzky-Golay	Glättung Eine stärkere Glättung wird mit einer niedrigeren Ableitungsordnung, einer grösseren Filterbreite oder einem niedrigeren Polynomgrad erreicht.	▪ Reduziert hochfrequentes Rauschen.	▪ Eine übermässige Glättung führt zu einem Verlust relevanter Variabilität.
Ableitungen in Savitzky-Golay	Basislinienkorrektur	▪ Ableitung erster Ordnung: Beseitigt Offsets der Basislinie. ▪ Ableitung zweiter Ordnung: Beseitigt Offsets der Basislinie und Neigungen der Basislinie.	▪ Verstärkt das Rauschen. ▪ Verändert das Erscheinungsbild des Spektrums.
SNV – Standard Normal Variate	Streuungskorrektur *	▪ Beseitigt Offsets der Basislinie.	▪ Relevante Variabilität wird ggf. entfernt.
Detrend	Streuungskorrektur *	▪ Beseitigt Offsets der Basislinie. ▪ Beseitigt Neigungen der Basislinie und quadratische Neigungen der Basislinie.	▪ Relevante Variabilität wird ggf. entfernt. ▪ Es kann zu irrelevanter Variabilität kommen.

* Hinweis: Wellenlängenbereiche mit Artefakten (z. B. Sättigung oder starkes Rauschen), sollten ausgeschlossen werden.

4.3.1.7 Reihenfolge bei mehreren Datenvorbehandlungsschritten

Bei Verwendung mehrerer Datenvorbehandlungsschritte kann die Reihenfolge entscheidend sein. Die Grundregel lautet wie folgt.

Vorzugsweise sollte Gap-Segment oder Savitzky-Golay vor SNV angewendet werden, und SNV vor Detrend.

Beispiel mit einer Ableitung erster Ordnung und SNV: Die Ableitung erster Ordnung wandelt Neigungen der Basislinie in Offsets der Basislinie um. Eine anschliessende SNV beseitigt diese Offsets. Wird die Reihenfolge umgekehrt, ändert SNV die Neigungen der Basislinie nicht. Die anschliessende Ableitung erster Ordnung wandelt sie in Offsets der Basislinie um. Die Offsets würden bleiben.

Beispiel mit einer Ableitung zweiter Ordnung und SNV: Offsets der Basislinie und Neigungen der Basislinie werden in jedem Fall beseitigt. Die Anwendung der Ableitung zweiter Ordnung und von SNV in der richtigen Reihenfolge ermöglicht jedoch die Beseitigung quadratischer Neigungen der Basislinie. Die Ableitung zweiter Ordnung wandelt quadratische Neigungen der Basislinie in Offsets der Basislinie um. Eine anschliessende SNV beseitigt diese Offsets. Wird die Reihenfolge umgekehrt, ändert SNV die quadratische Neigung der Basislinie nicht. Die anschliessende Ableitung zweiter Ordnung wandelt sie in Offsets der Basislinie um. Die Offsets würden bleiben.

4.3.2 Wellenlängenbereiche

Nach der Datenvorbehandlung *(siehe "Datenvorbehandlung", Kapitel 4.3.1, Seite 41)* erfolgt der zweite Schritt der Parametrierung: Die Auswahl von Wellenlängenbereichen ermöglicht den Ausschluss von Bereichen, die für den Zweck nicht geeignet sind. Insbesondere verrauschte oder gesättigte Wellenlängenbereiche können die nachfolgenden Berechnungen beeinträchtigen und sollten ausgeschlossen werden.

Rauschen

Rauschen tritt bei hohen Absorbanzwerten auf, wenn nur eine geringe Lichtmenge den Detektor erreicht. Die folgende Abbildung zeigt verrauschte Bereiche.

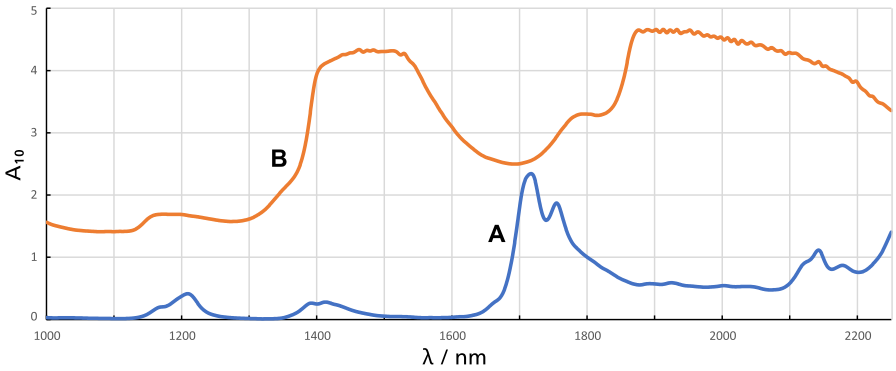


Abbildung 26 Beispiel mit verrauschten Wellenlängenbereichen.

Spektrum **A** weist normale Peakformen auf. Spektrum **B** hat 2 verrauschte Bereiche: einen von 1'400 bis 1'550 nm und einen über 1'870 nm. Die verrauschten Bereiche sind stark verrauscht und ähneln nicht einer Glockenkurve oder einer Kombination davon.

Sättigung

Zu einer Sättigung des Detektors kann es kommen, wenn eine grosse Lichtmenge den Detektor erreicht, d. h. bei niedrigen Absorbanzwerten.

- **OMNIS NIR Analyzer**
  Die Integrationszeit wird immer automatisch eingestellt. Dies verhindert Sättigung und minimiert das Rauschen *(siehe "Integrationszeit", Seite 9)*.
- **2060 NIR**
  Falls die automatische Integrationszeit aktiviert ist, tritt keine Sättigung auf.
  Ist die manuelle Integrationszeit aktiviert, können zu lange Integrationszeiten zur Sättigung des Detektors führen. Gesättigte Bereiche treten bei niedrigen Absorbanzwerten auf, sind aber visuell nicht immer leicht zu erkennen. Die manuelle Integrationszeit sollte daher mit ausreichend Spielraum eingestellt werden *(siehe "Integrationszeit", Seite 9)*.

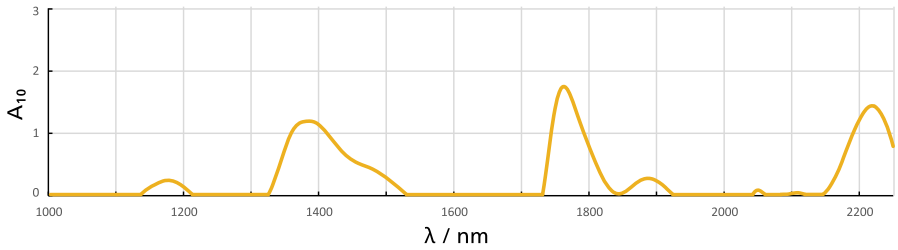


Abbildung 27 Beispiel mit gesättigten Wellenlängenbereichen.

Weitere Gründe

Es gibt noch andere Gründe für die Einbeziehung oder den Ausschluss von Wellenlängenbereichen. Die Auswahl kann auf der Kenntnis des Analyseparameters und seiner jeweiligen Absorptionsbanden beruhen *(siehe "Licht und seine Wechselwirkung mit Materie", Kapitel 2.1, Seite 3)*. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die relevanten Informationen je nach Art der Vorbehandlung ggf. in andere Wellenlängenbereiche verschoben sein können.

Wurden bei der Datenvorbehandlung Anomalien am Anfang und am Ende der Spektren eingeführt, können die entsprechenden Wellenlängen ausgeschlossen werden.

Variationen bei chemischen Komponenten oder Schwankungen der Umgebungsbedingungen können bestimmte Wellenlängenbereiche beeinflussen. Der Ausschluss dieser Wellenlängenbereiche kann die Robustheit des Modells verbessern.

Beim Ausschluss wohlgeformter Wellenlängenbereiche ist Vorsicht geboten. Bereiche, die scheinbar keine Informationen enthalten, können in Wirklichkeit versteckte und wichtige Informationen liefern. Sie können hilfreich bei der Erkennung von Ausreissern oder bei der Verarbeitung von interferierenden Absorptionsbanden sein. Tatsächlich sind interferierende Absorptionsbanden der Hauptgrund für die Durchführung multivariater Messungen *(siehe "Beispiel für eine lineare Regression", Kapitel 6.1, Seite 91)*.

4.3.3 Spektrale Ausreisser

Ein Spektrum, das sich von den meisten anderen Spektren unterscheidet, wird als spektraler Ausreisser bezeichnet.

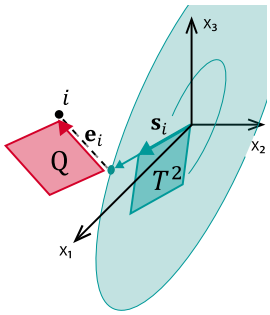
Ausreisser sollten sorgfältig geprüft werden. Ein Ausreisser kann das Modell verzerren, wenn beispielsweise eine kontaminierte Probe oder ein Messfehler die Ursache ist. In diesem Fall sollte der Ausreisser bei der Berechnung des Modells nicht berücksichtigt werden.

Andererseits kann ein Ausreisser für Eigenschaften stehen, die von den anderen Spektren nicht gut abgedeckt werden. In diesem Fall verbessert der Ausreisser sogar das Modell. Scheint der Ausreisser eine gültige Probe zu sein, sollte überprüft werden, ob die Kalibrierproben gleichmässig über die Variationsbreite verteilt sind.

Geeignete Massnahmen für die Erkennung von Ausreissern sind Hotellings T^2 und Q-Residuen.

Hotellings T² und Q-Residuen

Bei der Umwandlung spektroskopischer Daten in einen Hauptkomponentenraum können die Spektren durch ihre Scores und Residuen charakterisiert werden *(siehe "Hauptkomponentenanalyse (PCA)", Kapitel 4.2, Seite 36)*. Das Gleiche gilt für die Umwandlung in einen Raum latenter Variablen *(siehe "PLS-Regression", Kapitel 4.4.1, Seite 62)*.



Beispiel: Ein 3-dimensionaler Wellenlängenraum (x_1, x_2, x_3) wird in einen 2-dimensionalen Raum (grün) umgewandelt. Der Punkt *i* repräsentiert das Spektrum *i* und wird aus dem 3-dimensionalen Raum in den 2-dimensionalen Raum projiziert. Daraus ergibt sich:

- ein Score-Vektor $\Sigma\mathbf{s}_i$ innerhalb des 2-dimensionalen Raums bzw. seinen normalisierten Score-Vektor $\mathbf{s}_i$, der die Mahalanobis-Distanz darstellt.
- ein Residuum $\mathbf{e}_i$ innerhalb des 3-dimensionalen Raums.

Aus $\mathbf{s}_i$ und $\mathbf{e}_i$ können die folgenden Grössen hergeleitet werden *(siehe "Hotellings T² und Q-Residuen", Kapitel 6.4, Seite 98)*:

- **Hotellings T^2** oder einfach **T^2** ist die quadrierte Mahalanobis-Distanz, d. h. die quadrierte normalisierte Distanz vom Modellmittelpunkt zur orthogonalen Projektion des Spektrums auf den Hauptkomponentenraum bzw. den Raum der latenten Variablen.
  Falls alle Scores eines Spektrums dem Mittelwert entsprechen, ist T^2 gleich 0 und das Spektrum befindet sich im Mittelpunkt des Modells. In der Nähe des Mittelpunkts passt das Modell am besten.
  Weit entfernt vom Mittelpunkt passt das Modell möglicherweise schlecht. Die T^2-Werte sind hoch. Ein hoher T^2-Wert weist auf ein extremes Spektrum hin, das z. B. eine Probe mit einer extremen Zusammensetzung der chemischen Komponenten darstellt.

- Das **Q-Residuum** ist das quadrierte Residuum, d. h. die quadrierte orthogonale Distanz vom Spektrum zum Hauptkomponentenraum bzw. dem Raum der latenten Variablen.
  Die Q-Residuen zeigen die Variationen, die nicht durch das Modell erklärt werden. Ein hohes Q-Residuum zeigt an, dass das Spektrum möglicherweise nicht zum Modell passt, z. B. wenn die gemessene Probe eine andere Substanz enthält.

Erkennung spektraler Ausreisser

Die Erkennung spektraler Ausreisser identifiziert Spektren, die von der Grundgesamtheit abweichen.

1. Die Parametrierung wird wie folgt berücksichtigt:
   a. Ab OMNIS Software-Version 4.2: Der Benutzer entscheidet, ob die Parametrierung (Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl) angewendet wird oder nicht.
      Spätere Änderungen der Parametrierung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
   b. Ab OMNIS Software-Version 3.3 bis OMNIS Software-Version 4.1: Der Benutzer entscheidet, ob die Datenvorbehandlung berücksichtigt wird oder nicht. Die Wellenlängenauswahl und spätere Änderungen der Datenvorbehandlung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
   c. Bis OMNIS Software-Version 3.2: Die Datenvorbehandlung wird so berücksichtigt, wie sie zum Zeitpunkt der Ausreissererkennung festgelegt wurde. Die Wellenlängenauswahl und spätere Änderungen der Datenvorbehandlung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
2. Die Erkennung spektraler Ausreisser basiert auf dem PCA-Modell aller mittelwertzentrierten Spektren *(siehe "Hauptkomponentenanalyse (PCA)", Kapitel 4.2, Seite 36)*. Die Anzahl der Hauptkomponenten wird so gewählt, dass die erklärte Varianz mindestens 95 % beträgt.
3. Für die Erkennung spektraler Ausreisser werden die Werte für Hotellings T^2 und die Q-Residuen der Spektren verwendet. Der Algorithmus bewertet, ob Hotellings T^2 oder das Q-Residuum des geprüften Spektrums das Resultat einer zufälligen oder systematischen Variation ist.
   Eine Beschreibung des Algorithmus ist im Anhang zu finden *(siehe "Spektrale Ausreisser – Algorithmus", Kapitel 6.5, Seite 99)*.

4.3.3.1 Influence-Plot

Der Influence-Plot zeigt grundlegende Eigenschaften der Spektren und hilft bei der Analyse von spektralen Ausreissern.

Die Grundlage für den Influence-Plot ist ein PCA-Modell *(siehe "Hauptkomponentenanalyse (PCA)", Kapitel 4.2, Seite 36)* oder ein PLS-Modell:

- **Quantifizierung**: Der Influence-Plot basiert wahlweise auf **PCA** oder **PLS**.
  Die PLS-Regression reduziert ähnlich wie PCA die spektroskopischen Daten auf weniger Variablen. PLS berücksichtigt dabei auch die Referenzwerte.
  Die Hauptkomponenten der PCA werden bei PLS als **latente Variablen** bezeichnet.
  (siehe "PLS-Regression", Kapitel 4.4.1, Seite 62)
- **Identifizierung**: Ein **PCA**-basierter Influence Plot ist verfügbar (ab OMNIS Software-Version 4.3).

Arten spektraler Ausreisser

Der Influence-Plot visualisiert für jedes Spektrum die Werte für Hotellings T^2 und das Q-Residuum *(siehe "Hotellings T² und Q-Residuen", Seite 52)*. Hotellings T^2 und Q-Residuen lassen verschiedene Arten spektraler Ausreisser erkennen:

- **Hotellings T^2-Ausreisser**, auch Hebelarm-Ausreisser genannt (englisch Leverage outlier): Ein hohes T^2 bedeutet, dass die Projektion des Spektrums auf den Hauptkomponentenraum (PCA) oder den Raum der latenten Variablen (PLS) weit vom Modellmittelpunkt entfernt liegt.
- **Q-Residuen-Ausreisser**: Ein hohes Q-Residuum bedeutet, dass das Spektrum vom Modell schlecht beschrieben wird.

Abbildung 28 zeigt mehrere Spektren in verschiedenen Ansichten:

- Influence-Plot links: Die Q-Residuen beschreiben die nicht durch das Modell erklärten Variationen, während Hotellings T^2 die Variationen innerhalb des Modells selbst berücksichtigt.
  Die gestrichelten Linien zeigen die **kritischen Werte** oder **Grenzwerte** für das festgelegte Signifikanzniveau *(siehe "Spektrale Ausreisser – Algorithmus", Kapitel 6.5, Seite 99)*.
  Je höher das Signifikanzniveau, umso niedriger sind die Grenzwerte, sodass mehr Punkte ausserhalb der Grenzwerte liegen können.
- Rechts: Beispielhafter ursprünglicher Raum mit 3 Variablen x_1, x_2, x_3, der als Beispiel in einen 2-dimensionalen Raum mit latenten Variablen umgewandelt wird.
  Für die Punkte A bis D ist die orthogonale Distanz zur Ebene (gestrichelte Linien) sowie der modellierte Punkt im Raum der latenten Variablen (grüne Punkte) dargestellt.

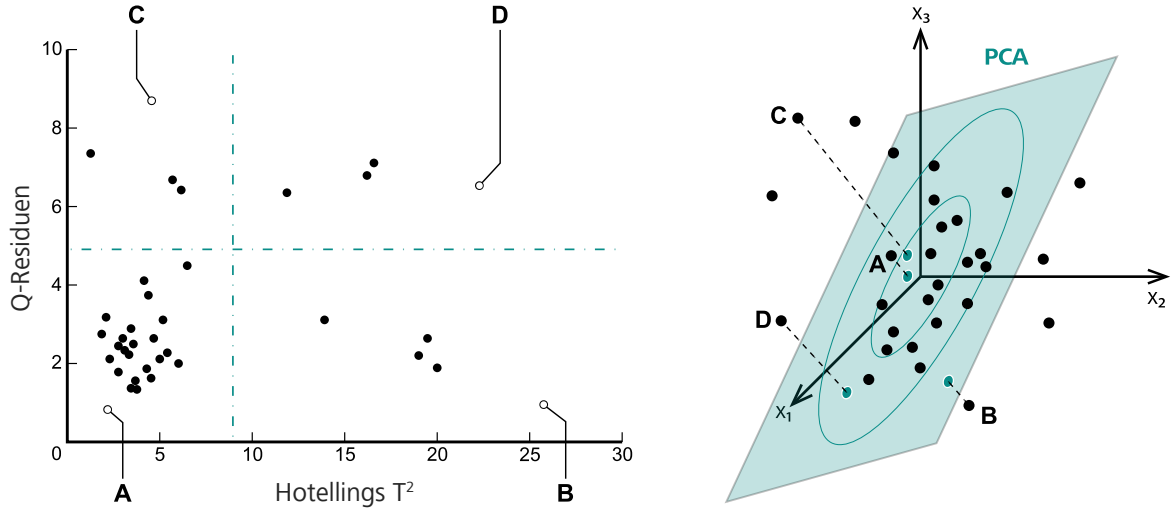


Abbildung 28 *Influence-Plot (links), ursprünglicher Raum und Raum latenter Variablen (rechts). Jedes Spektrum wird durch einen Punkt in der linken Abbildung und einen Punkt in der rechten Abbildung dargestellt.*

In beiden Ansichten sind 4 Punkte mit unterschiedlichen Merkmalen hervorgehoben:

- Spektrum A hat niedrige Scores und niedrige Residuen. Es liegt nahe am Modellmittelpunkt und wird vom Modell gut erklärt.
- Spektrum B ist ein Hotellings T^2-Ausreisser. Es liegt abseits des Mittelpunkts, wird aber vom Modell gut erklärt.
- Spektrum C ist ein Q-Residuen-Ausreisser. Es liegt abseits des Mittelpunkts und wird vom Modell schlecht erklärt.
- Das Spektrum D ist sowohl ein Hotellings T^2-Ausreisser als auch ein Q-Residuen-Ausreisser. Es liegt abseits des Mittelpunkts und wird vom Modell nur teilweise erklärt.

Der Influence-Plot zeigt, wie verschiedene Spektren das Modell beeinflussen. Da alle latenten Variablen durch den Mittelpunkt gehen, haben Spektren in der Nähe des Mittelpunkts (z. B. Spektrum A) kaum eine Chance, die Richtung der latenten Variablen zu ändern. Sie haben keinen Hebelwert. Je weiter die Distanz zum Mittelpunkt, umso grösser ist der Hebelwert und das Potenzial zur Beeinflussung des Modells. Einigen Spektren gelingt es tatsächlich, das Modell in ihre Richtung zu ziehen (Spektrum B), während das bei anderen nur in gewissem Masse (Spektrum D) oder gar nicht der Fall ist (Spektrum C).

Verglichen mit einem Modell auf Basis aller Spektren wird die Berechnung eines Modells ohne Spektrum B das Modell wahrscheinlich stärker verändern als eines ohne Spektrum D und noch stärker als ohne Spektrum C. Spektrum B beeinflusst das Quantifizierungsmodell wahrscheinlich stark – zum Guten oder zum Schlechten. Die Entscheidung, ob ein potenzieller

Ausreisser im unteren rechten Quadranten des Influence-Plots gelöscht werden soll oder nicht, erfordert besondere Sorgfalt.

Im Idealfall sollte das Modell die Variabilität einer grossen Anzahl von Spektren erfassen. Es ist nicht wünschenswert, dass das Modell nur von wenigen Spektren geprägt wird. In der obigen Abbildung haben einige wenige Spektren grosse Distanzen zum Mittelpunkt und auch zu den meisten anderen Spektren. Das ist verdächtig. Das Modell wird von wenigen Spektren beeinflusst. Dabei handelt es sich um potenzielle Ausreisser, die untersucht werden sollten. Zudem sollte sichergestellt werden, dass die Proben gleichmässig über die Variationsbreite verteilt sind.

PCA- und PLS-Influence-Plot

Der PCA-Influence-Plot hängt nur von den Spektren ab. Der PLS-Influence-Plot hängt von den Spektren und den Referenzwerten ab.

Die folgende Tabelle zeigt, wie sich verschiedene Einstellungen auf den PCA-Influence-Plot und den PLS-Influence-Plot auswirken.

	PCA-Influence-Plot	**PLS-Influence-Plot**
Spektren	Das zugrunde liegende PCA-Modell basiert auf allen Spektren im Kalibrierdatensatz, im Validierdatensatz und im Ausreisserdatensatz.	Das zugrunde liegende PLS-Modell basiert auf allen Spektren im Kalibrierdatensatz. Auf der Grundlage dieses PLS-Modells werden die T^2- und Q-Residuum-Werte der Spektren in allen 3 Datensätzen berechnet und im Plot dargestellt.
Parametrierung	Berücksichtigt die ausgewählten Datenvorbehandlungen und Wellenlängenbereiche. Hinweis: Die Ausreissererkennung basiert auf PCA und berücksichtigt die Parametrierung gemäss Benutzereinstellung und OMNIS Software-Version *(siehe "Erkennung spektraler Ausreisser", Seite 53)*.	Berücksichtigt die ausgewählten Datenvorbehandlungen und Wellenlängenbereiche. Hinweis: Die Bewertung von Ausreissern bei der Prädiktion basiert auf PLS und berücksichtigt die Datenvorbehandlungen und Wellenlängenbereiche.
Anzahl der Variablen	Nutzt die Anzahl der Hauptkomponenten, die eine erklärte Varianz von mindestens **95 %** erreicht.	Nutzt die aktuell ausgewählte Anzahl latenter Variablen.

	PCA-Influence-Plot	PLS-Influence-Plot
Signifikanzniveau und kritische Werte	Nutzt das aktuell ausgewählte Signifikanzniveau zur Berechnung und Visualisierung der kritischen Werte (gestrichelte Linien). Identifizierung: Falls die zuletzt durchgeführte Datensatzaufteilung ohne Ausreisserermittlung durchgeführt wurde, verwendet der Influence-Plot ein Signifikanzniveau von 5 %. Hinweis: Eine Erhöhung des Signifikanzniveaus führt zu niedrigeren kritischen Werten und damit zu mehr Ausreissern bei der Modellentwicklung.	Nutzt das aktuell ausgewählte Signifikanzniveau zur Berechnung und Visualisierung der kritischen Werte (gestrichelte Linien). Hinweis: Eine Erhöhung des Signifikanzniveaus führt zu niedrigeren kritischen Werten und damit zu mehr Ausreissern bei der Prädiktion.
Referenzwerte (Quantifizierung)	Referenzwerte haben keinen Einfluss auf das PCA-Modell. Allerdings kann jedes Spektrum einen zugehörigen Referenzwert-Ausreisser haben und somit als Ausreisser gekennzeichnet werden.	Die Referenzwerte beeinflussen das PLS-Modell und damit den PLS-Influence-Plot. Zudem kann jedes Spektrum einen zugehörigen Referenzwert-Ausreisser haben und somit als Ausreisser gekennzeichnet werden.

Analyse von Ausreissern

Bei der Analyse potenzieller Ausreisser sind folgende Faktoren zu berücksichtigen:

- Ein Hotellings T^2-Ausreisser weist auf eine Probe mit einer im Vergleich zu den anderen Proben extremen Zusammensetzung der chemischen Komponenten hin.
- Ein Q-Residuen-Ausreisser kann zum Beispiel auf eine kontaminierte Probe oder einen Fehler bei der Spektrenaufnahme hinweisen.

Die potenziellen Ausreisser sollten sorgfältig untersucht werden. Echte Ausreisser sollten aus der Spektrenliste entfernt werden. Gültige Proben sollten beibehalten werden. Wird der Datensatz dann erneut aufgeteilt, findet die Ausreissererkennung ggf. potenzielle Ausreisser, die im ersten Durchlauf nicht gefunden wurden. Ein möglicher Grund ist, dass das neue PCA-Modell weniger Hauptkomponenten benötigt, um die erklärte Varianz von 95 % zu erreichen. Wenn sich die neu gefundenen Ausreisser als gültige Proben erweisen, sollten sie beibehalten werden. In diesem Fall kann die automatische Aufteilung ohne die Ausreissererkennung wiederholt werden.

4.3.3.2 Score-Plot

Die Grundlage für den Score-Plot ist ein PCA-Modell oder ein PLS-Modell:

- **Quantifizierung**: Der Score-Plot (ab OMNIS Software-Version 3.0) basiert auf **PLS** *(siehe "PLS-Regression", Kapitel 4.4.1, Seite 62)*.
- **Identifizierung**: Der Score-Plot (ab OMNIS Software-Version 4.3) basiert auf **PCA** *(siehe "Hauptkomponentenanalyse (PCA)", Kapitel 4.2, Seite 36)*.

Jedes Spektrum besitzt einen Score-Wert für jede Hauptkomponente bzw. latente Variable. Im Score-Plot wird jedes Spektrum durch einen Punkt dargestellt. Die x-Achse zeigt z. B. den Score für die erste latente Variable, die y-Achse z. B. den Score für die zweite latente Variable. Gleichermassen kann jedes Paar latenter Variablen angezeigt werden.

Da die Absorbanzwerte für jede Wellenlängenvariable mittelwertzentriert wurden, sind auch die Scores jeder latenten Variable mittelwertzentriert. Ein Punkt in der Nähe des Mittelpunkts des Score-Plots (0/0) stellt ein Mittelwertspektrum in Bezug auf die beiden angezeigten latenten Variablen dar. Nahe beieinander liegende Punkte repräsentieren ähnliche Spektren, weiter auseinander liegende Punkte repräsentieren unähnliche Spektren in Bezug auf die beiden angezeigten latenten Variablen.

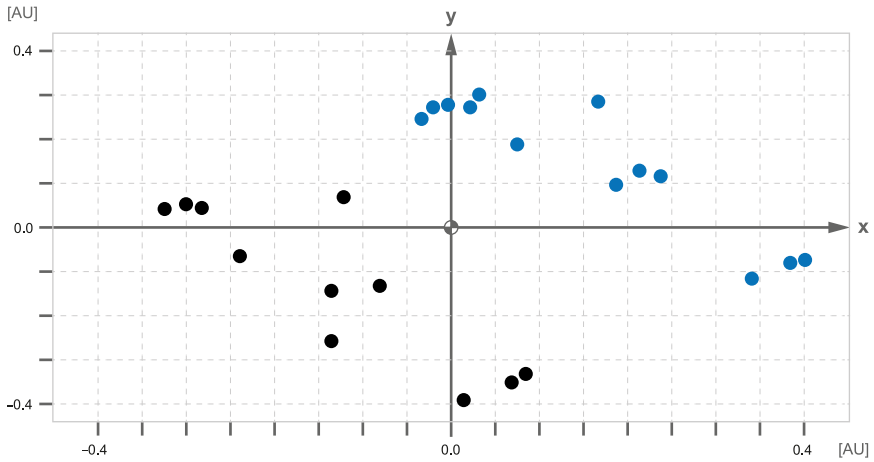


Abbildung 29 Score-Plot für die latente Variable 1 (x-Achse) und die latente Variable 2 (y-Achse). AU = willkürliche Einheit.

Abbildung 29 zeigt ein Beispiel von 2 Datensätzen, die bei unterschiedlichen Bedingungen gemessen wurden. Die Scores sind normalisiert, jede latente Variable erhält die gleiche Gewichtung.

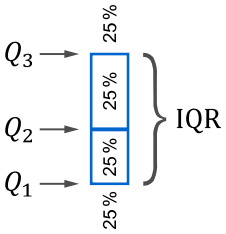
Die Scores aller Hauptkomponenten oder latenten Variablen eines Spektrums können zu einem Einzelwert (Hotellings T^2) zusammengefasst werden, der auf der x-Achse des Influence-Plots angezeigt wird.

4.3.4 Referenzwert-Ausreisser (Quantifizierung)

Bei Quantifizierungsmodellen werden neben den spektralen Ausreissern auch Referenzwert-Ausreisser ermittelt. Referenzwert-Ausreisser zeigen Anomalien im Referenzwert an.

Typischerweise handelt es sich bei Referenzwert-Ausreissern um falsch übermittelte Zahlen, z. B. 143 statt 14.3 oder 15.9 statt 51.9. Die Ausreissererkennung identifiziert solche Übertragungs- oder Transkriptionsfehler auf der Grundlage eines empirischen Ansatzes. Nur offensichtliche Fehler werden zur weiteren Untersuchung gekennzeichnet.

Box-Plots



Referenzwert-Ausreisser werden mithilfe einer Methode auf der Basis von Box-Plots ermittelt. Ein **Box-Plot** sortiert die Referenzwerte in aufsteigender Reihenfolge. Quartile unterteilen den Datensatz in 4 Teile. Jeder Teil enthält 25 % der Referenzwerte.

Das erste Quartil Q_1 trennt die 25 % niedrigsten Werte vom Rest. Q_2 ist der Median und trennt die 50 % niedrigsten Werte vom Rest. Das dritte Quartil Q_3 trennt die 75 % niedrigsten Werte vom Rest. Ein vertikales Rechteck stellt die mittleren 50 % der Daten dar, den Interquartilsabstand (IQR, englisch interquartile range).

Daten, die um einen bestimmten Betrag ausserhalb der IQR-Box liegen, werden als potenzielle Ausreisser betrachtet und können als kleine Kreise dargestellt werden. Der untere und obere Grenzwert für Ausreisser wird häufig als das 1.5-fache des IQR definiert:

$$[Q_1 - 1.5\ \mathrm{IQR}\,;\, Q_3 + 1.5\ \mathrm{IQR}]$$

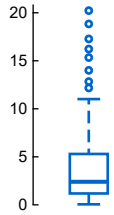
Hierbei entspricht Q_1 dem ersten Quartil, Q_3 dem dritten Quartil und IQR dem Interquartilsabstand ($Q_3 - Q_1$).

Zur Vervollständigung des Box-Plots reichen die Whisker oberhalb und unterhalb der Box bis zu den am weitesten entfernten Punkten, die nicht als potenzielle Ausreisser gekennzeichnet sind.

Anpassung für schiefe Verteilungen

Der übliche Box-Plot geht von einer annähernd symmetrischen Verteilung der Daten aus. Bei schiefen Verteilungen werden in der Regel viele reguläre Referenzwerte als potenzielle Ausreisser markiert. Aus diesem Grund nutzt die OMNIS Software eine angepasste Version des Box-Plots, welche die Schiefe der Verteilung berücksichtigt.

Im folgenden Beispiel ist die Verteilung zu den höheren Referenzwerten hin verschoben. Daraus ergeben sich 8 Ausreisser mit hohen Werten. Nach Anpassung der Ausreissergrenzwerte bleiben nur noch 2 von ihnen übrig. Auf der anderen Seite erscheint ein neuer Ausreisser mit niedrigem Wert.

Schiefe Verteilung	Angepasste Ausreissergrenzwerte
	

Eine Beschreibung der Anpassung ist im Anhang zu finden *(siehe "Referenzwert-Ausreisser – Algorithmus", Kapitel 6.6, Seite 102)*.

4.3.5 Datensatzaufteilung

Der Datensatz besteht aus Spektren und Referenzwerten (Quantifizierung) oder aus Spektren und zugehörigen Produktnamen (Identifizierung, Verifizierung). Der Datensatz wird zur Entwicklung und Validierung des Modells verwendet. Der Datensatz sollte daher in einen Kalibrierdatensatz, Validierdatensatz und Ausreisserdatensatz aufgeteilt werden. Die Aufteilung kann manuell oder automatisch vorgenommen werden.

Unter der Annahme, dass genügend Spektren zur Verfügung stehen, können zum Beispiel zwischen 20 bis 30 % der Gesamtdaten für den Validierdatensatz verwendet werden.

Automatischer Aufteilungsalgorithmus

Bei der automatischen Datensatzaufteilung wird sichergestellt, dass der Kalibrierdatensatz und der Validierdatensatz für die Gesamtheit repräsentativ und voneinander unabhängig sind. Ziel ist die Aufteilung der Daten in zwei Sätze, die annähernd denselben Bereich im PCA-Raum abdecken und ähnliche statistische Eigenschaften aufweisen. Der verwendete Algorithmus ist ein leicht modifizierter Duplex-Algorithmus aus R. D. Snee, *Validation of Regression Models: Methods and Examples*, Technometrics Band 19, Nr. 4 (Nov. 1977), S. 415–428.

Replikate

Im Datensatz sollten sich keine Replikate befinden. Der Algorithmus entfernt keine Replikate oder Pseudoreplikate und erzwingt auch nicht, dass Replikate einer bestimmten Probe demselben Datensatz hinzugefügt werden.

1. Die Parametrierung wird wie folgt berücksichtigt:
    a. Ab OMNIS Software-Version 4.2: Der Benutzer entscheidet, ob die Parametrierung (Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl) angewendet wird oder nicht.
    Spätere Änderungen der Parametrierung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
    b. Ab OMNIS Software-Version 3.3 bis OMNIS Software-Version 4.1: Der Benutzer entscheidet, ob die Datenvorbehandlung berücksichtigt wird oder nicht. Die Wellenlängenauswahl und spätere Änderungen der Datenvorbehandlung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
    c. Bis OMNIS Software-Version 3.2: Die Datenvorbehandlung wird so berücksichtigt, wie sie zum Zeitpunkt der Ausreissererkennung festgelegt wurde. Die Wellenlängenauswahl und spätere Änderungen der Datenvorbehandlung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
2. Die Aufteilung basiert auf dem PCA-Modell aller mittelwertzentrierten Spektren. Die Anzahl der Hauptkomponenten wird so gewählt, dass die erklärte Varianz mindestens 95 % beträgt.
3. Aus den PCA-Scores werden die Distanzen zwischen allen möglichen Spektrenpaaren berechnet.
4. Die 2 am weitesten voneinander entfernten Spektren werden dem Kalibrierdatensatz zugewiesen.
5. Von den verbleibenden Spektren werden die 2 am weitesten voneinander entfernten dem Validierdatensatz zugewiesen.
6. Von den verbleibenden Spektren wird das Spektrum, das am weitesten von den bereits im Kalibrierdatensatz enthaltenen Spektren entfernt ist, dem Kalibrierdatensatz zugewiesen.
7. Von den verbleibenden Spektren wird das Spektrum, das am weitesten von den bereits im Validierdatensatz enthaltenen Spektren entfernt ist, dem Validierdatensatz zugewiesen.
8. Der Wechsel wird so lange fortgesetzt, bis einer der Datensätze seine vorgesehene Grösse erreicht hat. Die restlichen Spektren werden dem anderen Datensatz zugeordnet.

4.4 Quantifizierung

4.4.1 PLS-Regression

Die OMNIS Software nutzt die PLS-Regression zur Berechnung von Quantifizierungsmodellen.

Ähnlich wie PCA reduziert die **Partielle Kleinste-Quadrate-Regression** (**PLS-Regression**, englisch *partial least squares regression*) die spektroskopischen Daten auf weniger Variablen. Jedoch:

- Die Hauptkomponenten von PCA werden bei PLS als **latente Variablen** bezeichnet. Die Richtungen der latenten Variablen und der Hauptkomponenten sind in der Regel ähnlich, aber nicht identisch.
- Neben den Spektren berücksichtigt die PLS-Regression auch die **Referenzwerte**. Daher werden weniger latente Variablen benötigt, um eine ausreichende Korrelation mit den Referenzwerten zu erreichen, was zu weniger Rauschen führt.

Aus den umfangreichen, hochgradig redundanten spektroskopischen Daten extrahiert PLS die zugrundeliegenden **latenten Variablen**. Latente Variablen werden auch als versteckte Variablen bezeichnet, da sie nicht direkt gemessen werden. Die latenten Variablen erklären einen möglichst grossen Teil der Datenvariation und modellieren gleichzeitig die Referenzwerte gut.

Vorbereitende Schritte

Die vorbereitenden Schritte für die PLS-Regression ähneln denen für PCA:

1. **Parametrierung**: Die OMNIS Software wendet die festgelegte Datenvorbehandlung und die festgelegte Wellenlängenauswahl auf die Spektren an.
2. **Mittelwertzentrierung**: Für jede Wellenlänge wird der mittlere Absorbanzwert berechnet und vom jeweiligen Wert in jedem Spektrum subtrahiert.
   Auch die Referenzwerte werden mittelwertzentriert.

Umwandlung in latente Variablen

Nach den vorbereitenden Schritten wandelt die PLS-Regression die spektralen Daten unter Berücksichtigung der Referenzwerte in einen Raum latenter Variablen um. *Abbildung 30* zeigt die ersten 2 latenten Variablen LV1 und LV2. Auf die gleiche Weise können die latenten Variablen LV3, LV4 usw. visualisiert werden.

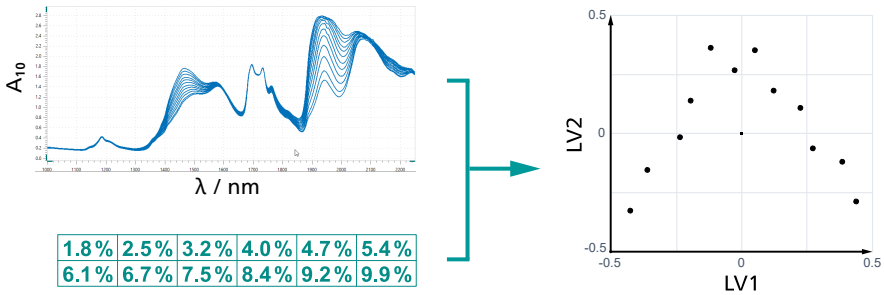
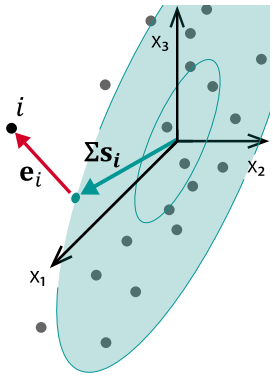


Abbildung 30 Umwandlung von Spektren und Referenzwerten in einen Raum latenter Variablen. Die Scores auf der rechten Seite sind in willkürlichen Einheiten ausgedrückt.

Die erste latente Variable LV1 erklärt die Variabilität in den spektralen Daten am besten und weist auch die höchstmögliche Korrelation mit den Referenzwerten auf. Alle nachfolgenden latenten Variablen LV2, LV3 usw. erklären die verbleibende Variabilität am besten und weisen auch die höchstmögliche Korrelation mit den Referenzwerten auf. So erklären die ersten paar latenten Variablen den grössten Teil der Variabilität und maximieren die Korrelation, während andere hauptsächlich Rauschen enthalten und verworfen werden können.

Scores und Residuen



PLS hat ähnliche Grössen wie PCA:

- **Scores**: Scores werden im Raum der latenten Variablen gemessen. Die orthogonale Projektion der Probe *i* auf jede Richtung der latenten Variablen ergibt den Score-Vektor $\mathbf{\Sigma s}_i$, der die euklidische Distanz vom Mittelpunkt darstellt.
  Die **Mahalanobis-Distanz** $\mathbf{s}_i$ ist der normalisierte Score-Vektor, der jeder Richtung die gleiche Gewichtung verleiht.
- **Residuen**: Der Residuum-Vektor $\mathbf{e}_i$ ist der Offset zwischen der Probe *i* und dem Raum der latenten Variablen, gemessen im ursprünglichen Wellenlängenraum.

PLS-Algorithmus

Der PLS-Algorithmus maximiert die Kovarianz zwischen den Spektren und den Referenzwerten *(siehe "PLS-Algorithmus", Kapitel 6.3, Seite 97)*.

4.4.1.1 Anzahl latenter Variablen

Die Wahl der Anzahl der latenten Variablen im Quantifizierungsmodell ist von grundlegender Bedeutung für die Vorhersagekraft des Modells. Ist die Anzahl latenter Variablen zu gering, werden relevante spektrale Variationen nicht erfasst. Dies wird als **Unteranpassung** bezeichnet und führt zu weniger genauen Prädiktionen.

Ist die Anzahl latenter Variablen zu hoch, werden die Kalibrierproben zu gut modelliert. Das Modell erfasst irrelevante spektrale Variationen (Rau-

schen). Dies wird als **Überanpassung** bezeichnet und führt zu schwankenden, instabilen und weniger genauen Prädiktionen unbekannter Proben.

Um die optimale Anzahl latenter Variablen zu finden, muss ein Gleichgewicht zwischen den folgenden Zielen erreicht werden:

- Der SEP liegt hinreichend nahe an seinem Minimalwert.
  Ohne Validierdatensatz wird der SECV verwendet.
- Das Quantifizierungsmodell sollte so wenige latente Variablen wie möglich verwenden. Im Zweifelsfall sollte die niedrigere Anzahl verwendet werden.
- Das Korrelationsdiagramm für den Validierdatensatz liegt nahe an seinem Optimum. Im Idealfall liegt die Steigung nahe bei 1, der y-Achsenabschnitt nahe bei 0 und die Datenpunkte weisen eine minimale Streuung auf.
  Ohne einen Validierdatensatz werden die Werte der Kreuzvalidierung verwendet *(siehe "Kreuzvalidierung", Seite 65)*.

Es ist zu beachten, dass es sich bei den statistische Kennzahlen nur um Schätzwerte auf der Grundlage der verfügbaren Kalibrierproben und Validierproben handelt. Im Allgemeinen ist ein Quantifizierungsmodell auf Basis von weniger latenten Variablen robuster.

4.4.1.2 Loading-Plot

Der Loading-Plot in der OMNIS Software basiert auf dem PLS-Modell *(siehe "PLS-Algorithmus", Kapitel 6.3, Seite 97)*.

PLS-Loadings zeigen, wie die ursprünglichen Wellenlängenvariablen (einschliesslich Parametrierung) zur Bildung jeder latenten Variablen beitragen. Es ist irrelevant, ob die Loadings positiv oder negativ sind.

Die Loadings werden so berechnet, dass die erste latente Variable die Variabilität erfasst, die für den Referenzparameter am aussagekräftigsten ist. Alle nachfolgenden latenten Variablen erfassen die verbleibende Variabilität, die für den Referenzparameter am aussagekräftigsten ist. Stark von 0 abweichende PLS-Loadings deuten also darauf hin, dass die jeweiligen Wellenlängen zur Modellierung des Referenzparameters gut geeignet sind.

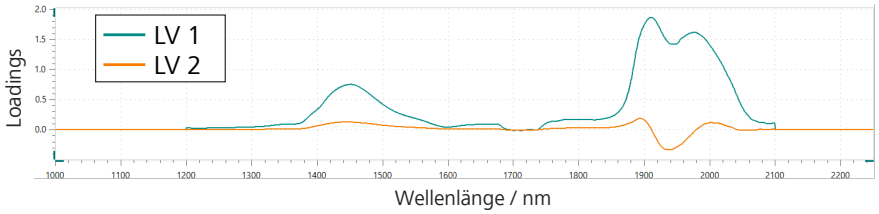


Abbildung 31 Loading-Plot für die latenten Variablen LV1 und LV2.

In *Abbildung 31* wurde die Wellenlängenauswahl auf den Bereich von 1.200 nm bis 2.100 nm beschränkt. Deshalb treten ausserhalb dieses Bereichs keine Loadings auf.

4.4.2 Validierung von Quantifizierungsmodellen

Bei der Validierung wird geprüft, ob das Modell die Anforderungen an seine Leistungsfähigkeit und Robustheit erfüllt. Dazu muss der zu erwartende Fehler der Prädiktion so realistisch wie möglich abgeschätzt werden.

Ein Quantifizierungsmodell wird in der Regel wie folgt validiert:

1. Ausgehend von einer begrenzten Probenanzahl und ohne einen Validierdatensatz wird ein Modell entwickelt und mittels Kreuzvalidierung getestet (siehe unten).
2. Mit einer grösseren Probenanzahl wird der Datensatz in einen Kalibrierdatensatz zur Entwicklung eines Modells und einen Validierdatensatz zur Validierung des Modells aufgeteilt.
3. Schliesslich werden Proben für den Validierdatensatz an einem anderen Tag gesammelt und gemessen, ggf. von einer anderen Person und mit einem anderen Gerät.

Kreuzvalidierung

Die Kreuzvalidierung stützt sich ausschliesslich auf den Kalibrierdatensatz. Sie ergibt einen Schätzwert für jede Kalibrierprobe unter Verwendung eines temporären Modells, das ohne die jeweilige Kalibrierprobe erstellt wurde.

Bei der Kreuzvalidierung wird ein Mehrrundenverfahren auf eine der folgenden Arten verwendet:

- **Leave-One-Out**
  In jeder Runde wird bei der Leave-One-Out-Kreuzvalidierung (LOO-CV) 1 Probe zurückgestellt, während aus den übrigen Proben ein Modell erstellt wird. Dieses Modell sagt dann den Analyseparameter für die zurückgestellte Probe vorher. Diese Prädiktion dient als Schätzwert für die Probe.
  Der Zyklus wird fortgesetzt, bis jede Probe einmal zurückgestellt wurde.

- **K-fold**
  Beim Kreuzvalidierungsverfahren K-fold wird der Kalibrierdatensatz in *k* Blöcke von möglichst gleicher Grösse unterteilt.
  In jeder Runde wird 1 Block zurückgestellt, während aus den übrigen Blöcken ein Modell erstellt wird. Dieses Modell sagt dann den Analyseparameter für die zurückgestellten Proben vorher.
  Der Zyklus wird fortgesetzt, bis jeder Block einmal zurückgestellt wurde.
  Die Auswahl der Blöcke kann auf verschiedene Weise erfolgen:
  - **Fixed Blocks (DUPLEX)** (ab OMNIS Software-Version 3.2): Die Blöcke werden reproduzierbar auf Basis eines Duplex-Algorithmus ausgewählt. Jede Prädiktion dient direkt als Schätzwert für die jeweilige Probe.
  - **Random**: Die Blöcke werden zufällig ausgewählt. Das oben beschriebene Vorgehen wird mehrmals wiederholt. Der Kalibrierdatensatz wird jedes Mal anders in *k* Blöcke unterteilt. Schliesslich gibt es für jede Probe mehrere Schätzwerte. Deren Mittelwert dient als Schätzwert für die jeweilige Probe.

Im Allgemeinen wird Leave-One-Out bevorzugt. Bei grossen Kalibrierdatensätzen kann das Kreuzvalidierungsverfahren K-fold verwendet werden, um Berechnungszeit zu sparen. Ein typischer Wert für *k* ist 5.

4.4.2.1 Korrelationsdiagramm

Das Korrelationsdiagramm visualisiert die Korrelation zwischen Referenzwerten und berechneten Werten. Es ermöglicht die Bewertung des Quantifizierungsmodells auf einen Blick.

Die berechneten Werte werden wie folgt ermittelt:

- Validierdatensatz und Ausreisserdatensatz: Prädiktion durch das Quantifizierungsmodell
- Kalibrierdatensatz: Schätzwerte der Kreuzvalidierung

Im Korrelationsdiagramm wird jede Probe durch einen Punkt dargestellt. Der berechnete Wert der Probe ist auf der x-Achse zu finden, der Referenzwert auf der y-Achse. Eine Regressionsgerade zeigt den systematischen Zusammenhang zwischen den Variablen. Im Idealfall hat die Regressionsgerade eine Steigung von 1 und einen y-Achsenabschnitt von 0, und alle Punkte liegen auf der Geraden. Das bedeutet, dass bei jeder Probe der berechnete Wert dem Referenzwert entspricht.

Anhand der Abweichungen vom Idealfall können systematische Fehler und zufällige Fehler unterschieden werden. Die Lage der Regressionsgerade zeigt die systematischen Fehler. Die Distanzen der Punkte von der Regressionsgeraden weisen auf die zufälligen Fehler hin.

Das folgende Korrelationsdiagramm **A** zeigt eine gute Korrelation. Die anderen Diagramme zeigen verschiedene Arten von Fehlern, die im Folgenden erläutert werden.

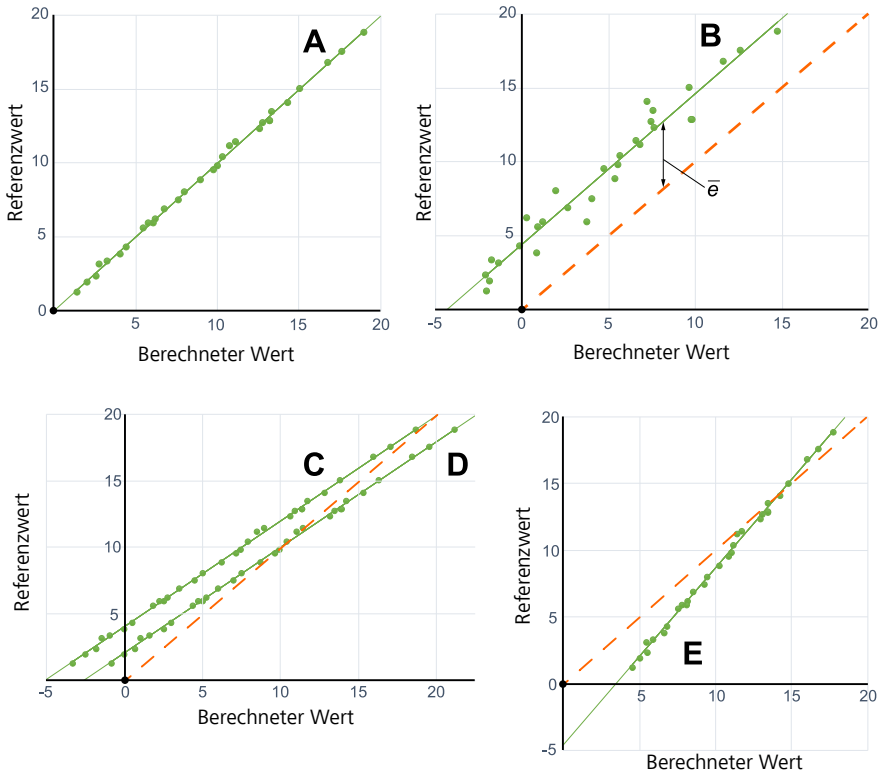


Abbildung 32 Korrelationsdiagramme. Jeder Punkt steht für eine Probe und zeigt ihren Referenzwert sowie ihren berechneten Wert. Die gestrichelte Linie zeigt die ideale 45°-Gerade.

Systematische Fehler

Systematische Fehler sind Fehler, die immer auftreten und für eine bestimmte Anwendung wiederholbar sind. Systematische Fehler können korrigiert werden. Sie werden durch den Bias $\bar{e}$ und die Steigung b der Regressionsgeraden quantifiziert:

$$y = b\hat{y} + \bar{e}$$

Falls die Steigung gleich 1 und der Bias gleich 0 ist, dann liegen keine systematischen Fehler vor.

Der **Bias** ist der durchschnittliche Fehler zwischen den Referenzwerten und den berechneten Werten:

$$\bar{e} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} e_i = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_i) = \bar{y} - \bar{\hat{y}}$$

Hierbei entspricht n der Probenanzahl, e_i dem Fehler der i-ten Probe, y_i dem Referenzwert der i-ten Probe, $\hat{y}_i$ dem berechneten Wert der i-ten Probe, $\bar{y}$ dem Mittelwert der Referenzwerte und $\bar{\hat{y}}$ dem Mittelwert der berechneten Werte.

Die Geraden **B** und **C** haben einen positiven Bias, die Gerade **E** hat einen negativen Bias.

Fehler mit entgegengesetzten Vorzeichen heben sich gegenseitig auf. Daher ist der Bias der Geraden **D** annähernd 0.

Die **Steigung** der Regressionsgeraden ist:

$$b = \frac{s_{\hat{y}y}}{s_{\hat{y}}^2}$$

Hierbei entspricht $s_{\hat{y}y}$ der Kovarianz zwischen Referenzwerten und berechneten Werten, und $s_{\hat{y}}^2$ der Varianz der berechneten Werte.

Die Steigung kann als eigenschaftsabhängiger Fehler betrachtet werden:

- $b > 1$ (Gerade **E**): Je höher der berechnete Wert, umso höher (positiver) ist der Fehler, der zum Bias beiträgt.
- $b < 1$ (Geraden **C** und **D**): Je höher der berechnete Wert, umso kleiner (negativer) ist der Fehler, der zum Bias beiträgt.
- $b = 1$ (Geraden **A** und **B**): Der Fehler, der zum Bias beiträgt, ist konstant.

Der **y-Achsenabschnitt** der Regressionsgeraden mit der y-Achse ist $\bar{y} - b\bar{\hat{y}}$.

Die Steigung und der y-Achsenabschnitt werden mit den Referenzwerten als abhängiger Variable (y-Achse) und den berechneten Werten als unabhängiger Variable (x-Achse) berechnet.

Zufällige Fehler

Falls alle Punkte direkt auf der Regressionsgeraden liegen, gibt es es keine zufälligen Fehler. Je verstreuter die Punkte sind, umso höher sind die zufälligen Fehler.

Im Korrelationsdiagramm **B** sind die zufälligen Fehler grösser als in den anderen Korrelationsdiagrammen.

Visualisierung von Fehlerarten

Die Geraden in den obigen Abbildungen zeigen die folgenden Fehlerarten:

	Systematische Fehler			Zufällige Fehler
Gerade	**Bias**	**Steigung**	**y-Achsenabschnitt**	
A	~ 0	~ 1	~ 0	klein
B	> 0	~ 1	> 0	gross
C	> 0	< 1	> 0	klein

	Systematische Fehler			Zufällige Fehler
Gerade	**Bias**	**Steigung**	**y-Achsenab-schnitt**	
D	~ 0	< 1	> 0	klein
E	< 0	> 1	< 0	klein

4.4.2.2 Statistische Kennzahlen

Statistische Kennzahlen drücken die Übereinstimmung zwischen Referenzwerten und vorhergesagten Werten in Zahlen aus. Die vorhergesagten Werte werden durch das Quantifizierungsmodell ermittelt.

R^2 – Bestimmtheitsmass

Das **Bestimmtheitsmass R^2** (englisch coefficient of determination) misst die Anpassungsgüte des Quantifizierungsmodells. Für einen bestimmten Datensatz ist dies der durch das Quantifizierungsmodell erklärte Anteil der Referenzwertvariation:

$$R^2 = \frac{SS_{reg}}{SS_{tot}} = 1 - \frac{SS_{res}}{SS_{tot}} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2}$$

Hierbei entspricht SS_{reg} der Regressionsquadratsumme (Varianz der vorhergesagten Werte, d. h. erklärte Varianz), SS_{tot} der totalen Quadratsumme (Referenzwertvarianz), SS_{res} der Residuenquadratsumme (Residualvarianz, d. h. unerklärte Varianz), y_i dem Referenzwert der *i*-ten Probe, $\hat{y}_i$ dem vorhergesagten Wert der *i*-ten Probe, und $\bar{y}$ dem Mittelwert der Referenzwerte.

Der R^2-Wert ist ein Bruchteil von 1. Ein R^2 von 1 bedeutet, dass die vorhergesagten Werte perfekt mit den Referenzwerten übereinstimmen. Ein R^2 von 0.9 bedeutet, dass 90 % der Referenzwertvarianz durch die vorhergesagten Werte erklärt werden und 10 % nicht erklärt werden.

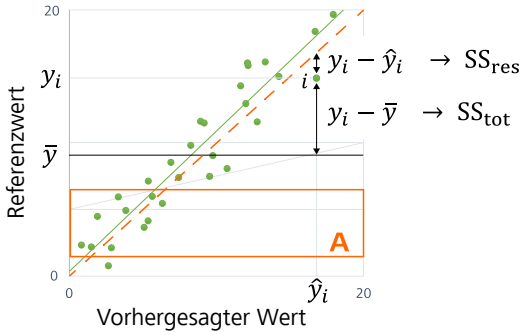


Abbildung 33 Die Komponenten zur Berechnung von R^2. Die gestrichelte Linie ist die 45°-Gerade.

Die obige Abbildung zeigt ein Korrelationsdiagramm mit einer Probe *i* und ihrem Residuum aus der PLS-Regression. Die Residualvariation ist in SS_{res} enthalten, die Referenzwertvarianz in SS_{tot}.

Ein hoher R^2-Wert ist kein Garant für ein nutzbares Quantifizierungsmodell oder genaue Prädiktionen. Die Grösse von R^2 hängt direkt von der Referenzwertvariation ab.

Eine Regression mit einem kleineren Bereich von Referenzwerten (Bereich **A**) hat ungefähr die gleiche Residualvariation, aber die Referenzwertvariation ist kleiner. Das resultierende R^2-Wert ist niedriger.

Der Grund für ein hohes R^2 könnte also ein unrealistisch grosser Referenzwertbereich sein. Andererseits können Daten aus einem Fertigungsprozess beispielsweise einen begrenzten Wertebereich aufweisen, was zu einem niedrigeren R^2-Wert führt. Zur Beurteilung der Prädiktionsfähigkeit sollten die Standardfehler herangezogen werden.

Der absolute R^2-Wert ist mit Vorsicht zu betrachten. Aussagekräftiger ist der Grad der Veränderung mit jeder zusätzlichen latenten Variablen *(siehe "Anzahl latenter Variablen", Kapitel 4.4.1.1, Seite 63)*.

Je nachdem, welche Werte zur Berechnung herangezogen werden, ergeben sich unterschiedliche R^2-Werte:

- R^2C (in der OMNIS Software nicht angezeigt): Berechnet mit den vorhergesagten Werten der Spektren im Kalibrierdatensatz.
- **R^2CV**: Berechnet mit den Schätzwerten der Kreuzvalidierung der Spektren im Kalibrierdatensatz *(siehe "Kreuzvalidierung", Seite 65)*.
- **R^2P**: Berechnet mit den vorhergesagten Werten der Spektren im Validierdatensatz.

Zur Berechnung verwendet die OMNIS Software das Quadrat des Pearson-Stichprobenkorrelationskoeffizienten $r_{y,\hat{y}}$:

Bestimmtheitsmass der Kreuzvalidierung:

$$R^2CV = r^2_{y,\hat{y}_{cv}} = \frac{(\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})\,(\hat{y}_{cv_i} - \bar{\hat{y}}_{cv}))^2}{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2 \cdot \sum_{i=1}^{n}(\hat{y}_{cv_i} - \bar{\hat{y}}_{cv})^2}$$

Hierbei entspricht y_i dem Referenzwert der *i*-ten Probe, $\bar{y}$ dem Mittelwert der Referenzwerte, $\hat{y}_{cv_i}$ dem Schätzwert der Kreuzvalidierung der *i*-ten Probe, $\bar{\hat{y}}_{cv}$ dem Mittelwert der Schätzwerte der Kreuzvalidierung, und *n* der Anzahl der Proben im Kalibrierdatensatz. Es ist zu beachten, dass jede Probe im Kalibrierdatensatz genau einen Schätzwert der Kreuzvalidierung hat.

Bestimmtheitsmass der Prädiktion:

$$R^2P = r^2_{v,\hat{v}} = \frac{(\sum_{i=1}^{v}(v_i - \overline{v})\,(\hat{v}_i - \overline{\hat{v}}))^2}{\sum_{i=1}^{v}(v_i - \overline{v})^2 \cdot \sum_{i=1}^{v}(\hat{v}_i - \overline{\hat{v}})^2}$$

Hierbei entspricht v_i dem Referenzwert der *i*-ten Validierprobe, $\overline{v}$ dem Mittelwert der Referenzwerte, $\hat{v}_i$ dem vorhergesagten Wert der *i*-ten Validierprobe, $\overline{\hat{v}}$ dem Mittelwert der vorhergesagten Werte, und v der Anzahl der Validierproben.

SEC – Standardfehler der Kalibrierung

Der **Standardfehler der Kalibrierung (SEC)** basiert auf dem Kalibrierdatensatz. Der SEC kann als Schätzwert für die theoretisch beste Prädiktionsgenauigkeit angesehen werden. SEC ist die Standardabweichung der Residuen der Partial-Least-Squares-Regression (PLS):

$$SEC = \sqrt{\frac{\mathbf{e^t e}}{n - k - 1}}$$

Hierbei entspricht **e** dem Residuenvektor, der alle Referenzwertvariationen im Kalibrierdatensatz enthält, die nicht durch das Modell beschrieben werden, *n* der Anzahl Kalibrierproben, und *k* der Anzahl latenter Variablen. Der Nenner *n*-*k*–1 ist die Anzahl der Freiheitsgrade des Residuenvektors **e**.

Mit anderen Worten: Der SEC ist die Standardabweichung der Differenzen zwischen den Referenzwerten und den vorhergesagten Werten für die Proben im Kalibrierdatensatz:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_i)^2}{n - k - 1}}$$

Hierbei entspricht y_i dem Referenzwert der *i*-ten Kalibrierprobe, $\hat{y}_i$ dem vorhergesagten Wert der *i*-ten Kalibrierprobe, *n* der Anzahl Kalibrierproben, und *k* der Anzahl latenter Variablen.

Der SEC wird manchmal auch als RMSEC bezeichnet. Der SEC enthält die zufälligen Fehler und die systematischen Fehler (Steigung und Bias).

SECV – Standardfehler der Kreuzvalidierung

Der **Standardfehler der Kreuzvalidierung (SECV)** basiert auf dem Kalibrierdatensatz. Der SECV schätzt die Prädiktionsgenauigkeit auf der Grundlage des Kalibrierdatensatzes und eines Kreuzvalidierungsverfahrens *(siehe "Kreuzvalidierung", Seite 65)*. Der SECV kann für eine erste Modellbewertung oder zur Ermittlung der optimalen Anzahl latenter Variablen verwendet werden.

Der SECV ist die Standardabweichung der Differenzen zwischen den Referenzwerten und den Schätzwerten der Kreuzvalidierung für die Proben im Kalibrierdatensatz.

$$\mathrm{SECV} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_{\mathrm{cv}_i})^2}{n}}$$

Hierbei entspricht y_i dem Referenzwert der *i*-ten Probe, $\hat{y}_{\mathrm{cv}_i}$ dem Schätzwert der Kreuzvalidierung der *i*-ten Probe, und *n* der Anzahl der Proben im Kalibrierdatensatz.

Der SECV enthält alle Fehler: die zufälligen Fehler und die systematischen Fehler (Steigung und Bias).

Andere Ansätze verwenden getrennte Werte für einen biaskorrigierten SECV und für den unkorrigierten SECV, der dann als RMSECV bezeichnet wird. Bei einem niedrigen Bias sind diese Werte ähnlich.

SEP – Standardfehler der Prädiktion

Der **Standardfehler der Prädiktion (SEP)** basiert auf dem Validierdatensatz. Daher liefert der SEP den realistischsten Schätzwert der Prädiktionsgenauigkeit.

Der SEP ist die Standardabweichung der Differenzen zwischen den Referenzwerten und den vorhergesagten Werten für die Proben im Validierdatensatz:

$$\mathrm{SEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{v}(v_i - \hat{v}_i)^2}{v}}$$

Hierbei entspricht v_i dem Referenzwert der *i*-ten Validierprobe, $\hat{v}_i$ dem vorhergesagten Wert der *i*-ten Validierprobe, und v der Anzahl der Validierproben.

Der SEP enthält alle Fehler: die zufälligen Fehler und die systematischen Fehler (Steigung und Bias).

Andere Ansätze verwenden getrennte Werte für einen biaskorrigierten SEP und für den unkorrigierten SEP, der dann als RMSEP bezeichnet wird. Bei einem niedrigen Bias sind diese Werte ähnlich.

Interpretation der statistischen Kennzahlen

Bei den statistischen Kennzahlen handelt es sich um Schätzwerte. Beispiel: Der SEP-Wert ist ein *Schätzwert* einer Standardabweichung – auf Basis der vorliegenden Proben – und hat auch seine eigene Standardabweichung. Je höher die Zahl der Validierproben, umso zuverlässiger der Schätzwert.

Der SEP sollte mit dem SECV und dem SEC vergleichbar sein. Zu grosse Unterschiede können auf eine Überanpassung hindeuten *(siehe "Anzahl latenter Variablen", Kapitel 4.4.1.1, Seite 63)*. Als Faustregel gilt, dass die Unterschiede nicht mehr als 20 % betragen sollten.

Die Standardfehler sollten auch im Verhältnis zum Standardfehler des Labors (SEL) für die Referenzmethode betrachtet werden. Die Präzision der NIR-Methode ist akzeptabel, wenn der SEP 1.4 bis 2.0 Mal höher ist als der SEL. Ein grösserer SEP kann dennoch akzeptiert werden, sofern er die Anforderungen erfüllt.

Ein SEC oder SECV unterhalb des SEL für die Referenzmethode deutet auf eine Überanpassung hin.

Bei den oben genannten Beziehungen zum SEL wird davon ausgegangen, dass der SEL auf der korrekten Anzahl wiederholter Referenzmessungen für jede Probe basiert *(siehe "Referenzmethode (Quantifizierung)", Seite 35)*.

4.4.3 OMNIS Model Developer (OMD)

Die Entwicklung eines Quantifizierungsmodells ist anspruchsvoll, zeitaufwändig und erfordert ein gewisses Fachwissen. Der OMNIS Model Developer (OMD, ab OMNIS Software-Version 4.0) automatisiert die Entwicklung und liefert gut optimierte Quantifizierungsmodelle.

Funktionsweise

Eine ordnungsgemässe Probennahme ist Voraussetzung *(siehe "Physische Proben", Kapitel 4.1, Seite 34)*. Ein aus Spektren und entsprechenden Referenzwerten bestehender Datensatz dient als Eingabe für den OMD.

Der OMD ermittelt spektrale Ausreisser mit einem Signifikanzniveau von 5 % und dem im Anhang aufgeführten Algorithmus ohne Berücksichtigung der Datenvorbehandlung *(siehe "Erkennung spektraler Ausreisser bei der Modellentwicklung", Seite 100)*.

Die Aufteilung des Datensatzes hängt von der Anzahl Spektren ab, die nach der Ausreissererkennung verbleiben:

Anzahl Spektren	Kreuzvalidierungsverfahren	Validierdatensatz
> 99	K-fold (5 Blöcke, DUPLEX)	25 % der Spektren
30–99	K-fold (5 Blöcke, DUPLEX)	—
< 30	Leave-One-Out	—

Nach der Aufteilung werden zusätzliche Ausreisser im Kalibrierdatensatz nach ASTM D8321-22 ermittelt.

Die Bewertung und Einordnung der Modelle erfolgt anhand diverser Kennzahlen. Der OMD optimiert die Datenvorbehandlung, die Wellenlängenauswahl und die Anzahl latenter Variablen, wobei ein Gleichgewicht zwischen dem Risiko einer Überanpassung und dem Risiko einer Unteranpassung angestrebt wird.

Resultat

Das Resultat des OMD ist eine Liste von Modellen, die nach ihrer Vorhersagekraft geordnet sind. Die **Vorhersagekraft** wird auf Basis der Modellkomplexität, der statistischen Kennzahlen und der Datensatzgrösse berechnet.

Die Liste ist farbcodiert, um die Auswahl des bevorzugten Modells zu erleichtern:

- Grün: gute Vorhersagekraft.
  Falls die Probenanzahl ausreichend gross ist, wird das Modell bei allen unbekannten Proben desselben Typs gut funktionieren. Die statistischen Kennzahlen ermöglichen einen zuverlässigen Schätzwert für künftige Fehler.
- Gelb: mittlere Vorhersagekraft.
  Falls die Probenanzahl ausreichend gross ist, wird das Modell voraussichtlich gut funktionieren. Die statistischen Kennzahlen könnten für künftige Proben zu optimistisch sein. Eine gesonderte Validierung wird empfohlen.
- Rot: unzureichende Vorhersagekraft.
  Das Modell hat gravierende Nachteile. Es sollte nicht verwendet werden.

Modelle gleicher Farbe werden nach einem Informationskriterium sortiert, das einen ausgewogenen Kompromiss zwischen niedrigem geschätzten Prädiktionsfehler und geringer Anzahl latenter Variablen begünstigt.

Parametrierung optimieren

Anstatt das ganze Modell automatisch zu erstellen, kann auch nur die Parametrierung optimiert werden. Die aktuellen Einstellungen (z. B. Datensatzaufteilung, Kreuzvalidierungsverfahren) bleiben unverändert, haben jedoch keinen Einfluss auf die Optimierung.

4.4.4 Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur

Die Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur ermöglicht die Korrektur systematischer Fehler (Bias, Steigung) bei der Anwendung eines Quantifizierungsmodells.

Mögliche Ursachen für systematische Fehler im Kalibrierdatensatz sind:

- Systematische Fehler im Quantifizierungsmodell. Zum Beispiel nicht erkannte Ausreisser oder eine unzureichende Probenanzahl.
- Systematische Fehler im spektroskopischen Messverfahren.
- Systematische Fehler im Referenzmessverfahren.

Falls systematische Fehler im Validierdatensatz auftreten, kommen weitere Ursachen in Frage:

- Änderungen des spektroskopischen Messverfahrens, z. B. des Geräts.

- Änderungen im Referenzmessverfahren, z. B. neues Labor, neue Ausrüstung.
- Änderungen der Proben, z. B. bei der Handhabung, Lagerung oder dem Transport.

Die Biaskorrektur und noch mehr die Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur sollten mit Bedacht angewendet werden.

Falls die systematischen Fehler nicht signifikant sind, sollte keine Korrektur angewendet werden. Falls die Fehler signifikant sind, sollten sie gründlich untersucht werden. Die Ursache der Fehler sollte nach Möglichkeit behoben werden. Können die Fehler aus einem berechtigten Grund nicht behoben werden, kann eine Biaskorrektur oder eine Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur angewendet werden.

Für einen verlässlichen Schätzwert des Bias werden mindestens 20 Proben benötigt. Für einen verlässlichen Schätzwert der Steigung werden mindestens 30 Proben benötigt.

Biaskorrektur

Das folgende Korrelationsdiagramm zeigt eine Biaskorrektur. Die Steigung der ursprünglichen Regressionsgeraden **F** bleibt unverändert. Nach der Korrektur (Regressionsgerade **G**) heben sich die positiven Fehler und die negativen Fehler gegenseitig auf.

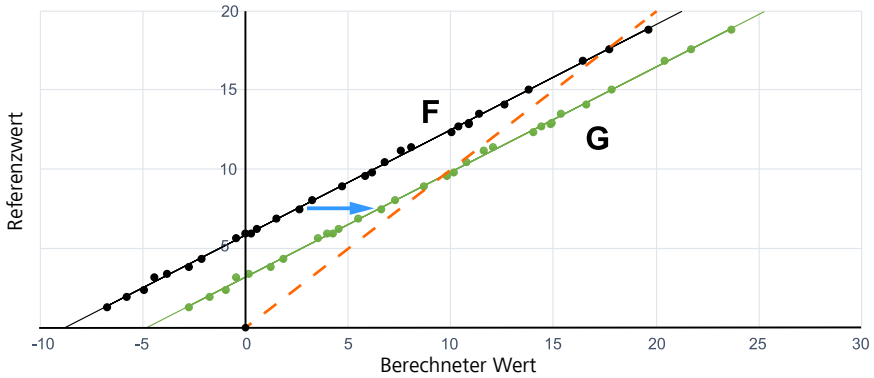


Abbildung 34 Biaskorrektur

Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur

Das folgende Korrelationsdiagramm zeigt eine Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur. Die ursprüngliche Regressionsgerade **H** wird um Steigung und y-Achsenabschnitt korrigiert. Infolgedessen werden sowohl die Steigung als auch der Bias korrigiert (Regressionsgerade **K**).

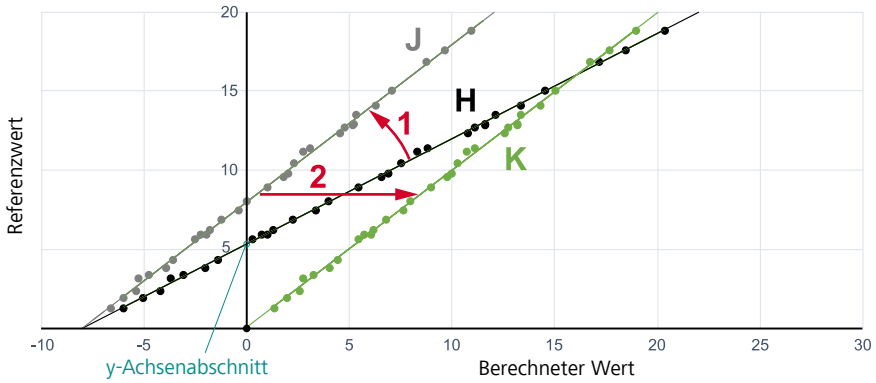


Abbildung 35 Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur

SEP

Die Proben im Korrekturdatensatz bilden die Grundlage für die Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur. Auf Basis dieser Proben berechnet die OMNIS Software die folgenden **Standardfehler der Prädiktion (SEP)**. Die Nenner berücksichtigen jeweils die entsprechenden Freiheitsgrade:

Typ der Korrektur	SEP
Unkorrigiert	$\mathrm{SEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(v_i - \hat{v}_i)^2}{n}}$
Biaskorrektur	$\mathrm{SEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(v_i - \hat{v}_i)^2}{n-1}}$
Steigungs-/y-Achsenabschnittskorrektur	$\mathrm{SEP} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(v_i - \hat{v}_i)^2}{n-2}}$

Hierbei entspricht v_i dem Referenzwert der *i*-ten Probe im Korrekturdatensatz, $\hat{v}_i$ dem vorhergesagten Wert der *i*-ten Probe im Korrekturdatensatz, und *n* der Anzahl der Proben im Korrekturdatensatz.

Der SEP enthält alle Fehler: die zufälligen Fehler und die systematischen Fehler (Steigung und Bias).

4.5 Identifizierung und Verifizierung

4.5.1 Support Vector Machine (SVM)

Identifizierungsmodelle (ab OMNIS Software-Version 4.0) verwenden Support Vector Machines (SVM) für die Klassifizierung zwischen verschiedenen Produkten. Eine Support Vector Machine ist ein überwachter maschineller Lernalgorithmus. Anhand der Kalibrierproben lernt sie, neue Proben einem Produkt zuzuordnen.

Der Einfachheit halber wird im Folgenden die Klassifizierung zwischen 2 Produkten beschrieben. Das Konzept ist erweiterbar, das endgültige Modell klassifiziert zwischen einer beliebigen Anzahl von Produkten.

Lineare Klassifizierung

Abbildung 36 (links) zeigt Eingangsdaten mit 2 Variablen.

Der Einfachheit halber werden die parametrierten Spektren in einem 2-dimensionalen Variablenraum dargestellt. Jeder Punkt stellt ein Spektrum dar, die Farbe gibt die Produktzugehörigkeit an.

Die Produkte sind linear trennbar. Der SVM-Algorithmus erstellt eine Hyperebene zwischen den Produkten (Abbildung rechts).

Hyperebenen sind eine Verallgemeinerung von Ebenen aus dem 3-dimensionalen Raum auf Räume beliebiger Dimension. Die Dimension einer Hyperebene ist um eins kleiner als die Dimension des sie umgebenden Raums. Eine Hyperebene in einem 2-dimensionalen Raum ist eine Linie.

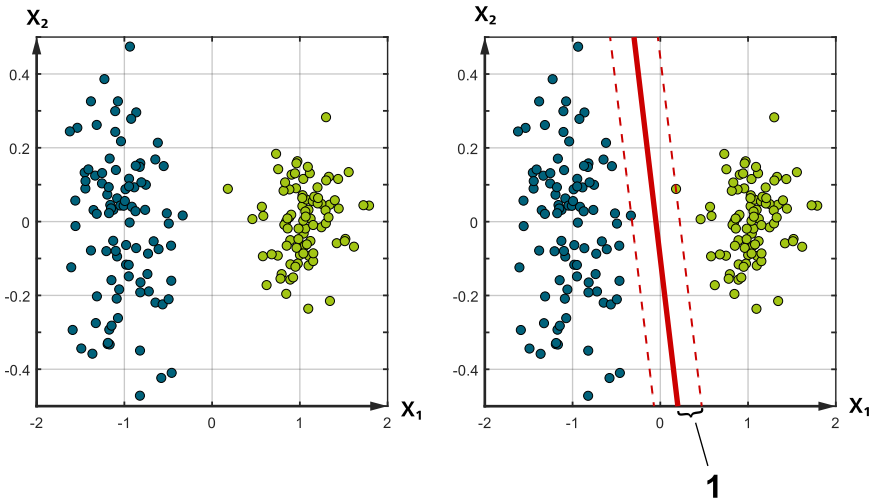


Abbildung 36 Eingangsdaten (links) und die von der SVM erstellte Hyperebene (durchgezogene rote Linie rechts). Die Werte sind in willkürlichen Einheiten angegeben.

Der SVM-Algorithmus maximiert die Spanne (**1**) zwischen der Hyperebene und dem nächstgelegenen Punkt auf jeder Seite. Neue Spektren können auf denselben Raum abgebildet und einem Produkt zugeordnet werden, je nachdem, auf welche Seite der Hyperebene sie fallen.

Für die Definition der Hyperebene berücksichtigt der SVM-Algorithmus nur die Punkte, die den Punkten des gegenüberliegenden Produkts am nächsten sind. Diese Punkte oder Vektoren unterstützen die Bildung der Hyperebene und werden als Support-Vektoren bezeichnet.

Sind die Punkte nicht linear trennbar – beispielsweise aufgrund eines Ausreissers –, kann dennoch eine linear klassifizierende Hyperebene bestimmt werden. In diesem Fall findet ein Optimierungsalgorithmus einen Kompromiss zwischen der Vergrösserung der Spanne von der Hyperebene zu den Support-Vektoren auf jeder Seite und der Gewährleistung, dass alle Punkte auf der richtigen Seite der Hyperebene liegen. Ein Regularisierungsparameter kontrolliert den Kompromiss und damit die endgültige Position der Hyperebene.

Nichtlineare Klassifizierung

In *Abbildung 37 (links)* sind die Produkte nicht linear trennbar. Für die Trennung der Produkte wird ein nichtlinearer Klassifikator benötigt.

Eine lineare oder nichtlineare Kernel-Funktion transformiert die Daten in einen höherdimensionalen Merkmalsraum. Die Transformation wird so durchgeführt, dass die Daten im Merkmalsraum durch eine Hyperebene linear getrennt werden können.

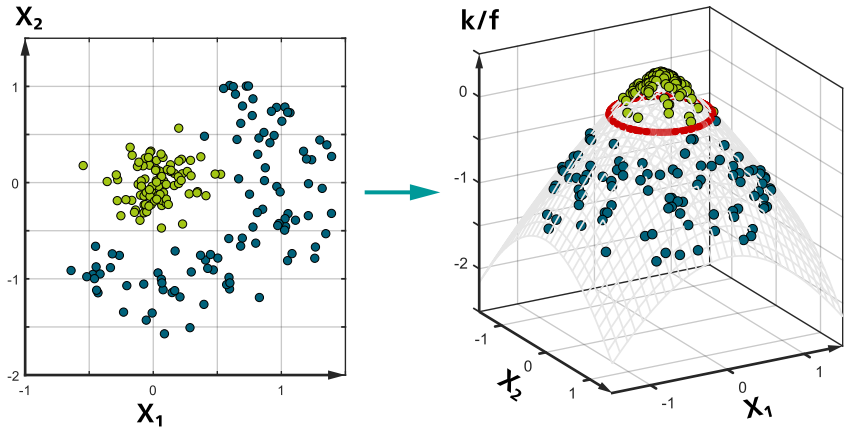


Abbildung 37 Nicht linear trennbare Produkte (links). Eine zusätzliche Dimension k/f (Kernel-Merkmal) erleichtert die Trennung (rechts). Die Werte sind in willkürlichen Einheiten angegeben.

In der Abbildung werden die Daten vom 2-dimensionalen Raum in den 3-dimensionalen Raum umgewandelt. Die Punkte des einen Produkts werden über die ursprüngliche Ebene angehoben, während die Punkte des anderen Produkts nach unten verschoben werden. Die lineare Hyperebene zwischen den Produkten ist eine 2-dimensionale Ebene, die der ursprünglichen Ebene sehr ähnlich ist. In 2 Dimensionen betrachtet, ist die Entscheidungsgrenze eine nichtlineare Linie, in diesem Fall die rote, kreisförmige Linie.

Auch hier dient die Hyperebene als Klassifikator. Eine neue Probe kann einem Produkt zugeordnet werden, je nachdem, auf welche Seite der Hyperebene ihr Spektrum fällt.

Die OMNIS Software nutzt einen Kernel mit radialer Basisfunktion, um die Daten in den Merkmalsraum zu transformieren. Der Kernel verwendet einen Skalierungsparameter, der den Grad der Nichtlinearität steuert.

Parameterauswahl

Für den Regularisierungsparameter, der die Position der Hyperebene steuert, und für den Skalierungsparameter, der den Grad der Nichtlinearität steuert, müssen geeignete Werte gewählt werden.

Beide Parameter wirken sich auf die Generalisierungsfähigkeit der Support Vector Machine aus, d. h. darauf, wie gut sie von den Kalibrierspektren auf neue, unbekannte Spektren verallgemeinern kann. Ermöglicht zum Beispiel der Skalierungsparameter einen hohen Grad an Nichtlinearität, ist die Hyperebene möglicherweise zu stark an die Kalibrierspektren angepasst (Überanpassung). Ermöglicht der Skalierungsparameter nur einen geringen Grad an Nichtlinearität, ist die Hyperebene möglicherweise nicht ausreichend an die Kalibrierspektren angepasst (Unteranpassung).

Für eine gute Generalisierung wird die **Rastersuche** verwendet. Der Algorithmus findet mit möglichst wenigen Versuchen die beste Parameterkombination:

1. Es wird ein Satz vordefinierter Parameterkombinationen verwendet.
2. Für einige ausgewählte Parameterkombinationen lernt die SVM eine Klassifizierungsregel, die die Kalibrierspektren der unterschiedlichen Produkte mit maximaler Genauigkeit unterscheidet.
3. Für jede Klassifizierungsregel wird anhand einer Kreuzvalidierung abgeschätzt, wie erfolgreich die Produktzuordnung ist.
4. Auf Basis der Resultate der Kreuzvalidierung werden weitere Parameterkombinationen ausgewählt.
   Die SVM lernt erneut die entsprechenden Klassifizierungsregeln und ein Kreuzvalidierungsverfahren schätzt die Klassifizierungsgenauigkeit. Nach einigen Wiederholungen wird die endgültige Parameterkombination ermittelt.
5. Mit der endgültigen Parameterkombination und allen Kalibrierspektren bewertet die SVM die endgültige Klassifizierungsregel.

Wahrscheinlichkeiten

Anhand der Klassifizierungsregel berechnet das Identifizierungsmodell die Wahrscheinlichkeit, ob eine bestimmte Probe zu einem bestimmten Produkt gehört oder nicht. Die Wahrscheinlichkeit hängt von den Distanzen zu den Grundgesamtheiten der Produkte und von den Modellparametern ab.

Die so berechneten Wahrscheinlichkeiten ermöglichen eine Steuerung der Zuordnung der Proben zu den Produkten *(siehe "Zuordnung einer Probe (ab OMNIS Software-Version 4.4)", Seite 80)*.

Um falsch positive Identifizierungen zu minimieren, wird ab OMNIS Software-Version 4.4 zusätzlich für jedes Produkt ein Qualifizierungsmodell trainiert *(siehe "Qualifizierung", Kapitel 4.6, Seite 84)*.

4.5.2 Prädiktion der Produktzugehörigkeit einer Probe

Für die Identifizierung einer bestimmten Probe stellt das Identifizierungsmodell pro Produkt eine Wahrscheinlichkeit bereit *(siehe "Wahrscheinlichkeiten", Seite 80)*.

Jede Wahrscheinlichkeit ist ein individueller Wert zwischen 0 % und 100 %. Die Werte summieren sich über die Produkte nicht auf 100 %.

Die Werte sind relativ zueinander zu betrachten, was einen Vergleich der verschiedenen Produkte ermöglicht.

Zuordnung einer Probe (ab OMNIS Software-Version 4.4)

Die Auswertung erfolgt mit Hilfe einer einstellbaren **Wahrscheinlichkeitsschwelle** und mit Qualifizierungen für einzelne Produkte:

1. Für jedes Produkt, dessen Wahrscheinlichkeit über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegt, wird eine Qualifizierung der Probe mit dem entsprechenden Qualifizierungsmodell durchgeführt. Falls die Qualifizierung fehlschlägt, wird die Wahrscheinlichkeit für das entsprechende Produkt auf Null gesetzt.
2. Auswertung mit den modifizierten Wahrscheinlichkeiten aus Schritt 1:
    a. Falls keine Wahrscheinlichkeit über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegt, schlägt die Identifizierung fehl (Identifizierungsstatus **Nicht identifiziert**).
    b. Falls eine einzige Wahrscheinlichkeit über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegt, ist die Probe erfolgreich identifiziert und wird dem entsprechenden Produkt zugeordnet (Identifizierungsstatus **Identifiziert**).
    c. Falls mehrere Wahrscheinlichkeiten über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegen, ist die Prädiktion mehrdeutig und die Identifizierung fehlgeschlagen (Identifizierungsstatus **Mehrdeutig**).

Tabelle 1 zeigt ein Auswertungsbeispiel mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeitsschwellen. In diesem Beispiel verlaufen die Qualifizierungen für die Produkte A und C beide erfolgreich.

Tabelle 1 Auswertungsbeispiel mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeitsschwellen (ab OMNIS Software-Version 4.4)

Wahrscheinlichkeit	Wahrscheinlichkeitsschwelle	Qualifizierung	Identifizierungsresultat
Produkt A: 87 % Produkt B: 71 % Produkt C: 68 % Produkt D: 30 %	90 %	–	Nicht identifiziert
	80 %	Produkt A: erfolgreich → 87 %	Produkt A
	70 %	Produkt A: erfolgreich → 87 % Produkt B: fehlgeschlagen → 0 %	Produkt A
	60 %	Produkt A: erfolgreich → 87 % Produkt B: fehlgeschlagen → 0 % Produkt C: erfolgreich → 68 %	Mehrdeutig

Zuordnung einer Probe (OMNIS Software-Version 4.0 bis 4.3)

Die Wahrscheinlichkeiten der Probe werden mit Hilfe einer einstellbaren **Wahrscheinlichkeitsschwelle** ausgewertet:

- Falls keine Wahrscheinlichkeit über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegt, schlägt die Identifizierung fehl (Identifizierungsstatus **Nicht identifiziert**).

- Falls eine einzige Wahrscheinlichkeit über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegt, ist die Probe erfolgreich identifiziert und wird dem entsprechenden Produkt zugeordnet (Identifizierungsstatus **Identifiziert**).
- Falls mehrere Wahrscheinlichkeiten über der Wahrscheinlichkeitsschwelle liegen, ist die Prädiktion mehrdeutig und die Identifizierung fehlgeschlagen (Identifizierungsstatus **Mehrdeutig**).

Tabelle 2 zeigt ein Auswertungsbeispiel mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeitsschwellen.

Tabelle 2 Auswertungsbeispiel mit unterschiedlichen Wahrscheinlichkeitsschwellen (OMNIS Software-Version 4.0 bis 4.3)

Wahrscheinlichkeit	Wahrscheinlichkeitsschwelle	Identifizierungsresultat
Produkt A: 87 %	90 %	Nicht identifiziert
Produkt B: 72 %	80 %	Produkt A
Produkt C: 68 %	70 %	Mehrdeutig

4.5.3 Validierung von Identifizierungsmodellen

Ein Identifizierungsmodell wird in der Regel wie folgt validiert:

1. Ausgehend von einer begrenzten Probenanzahl und ohne Validierdatensatz wird ein Modell entwickelt und mit den Proben im Kalibrierdatensatz getestet.
2. Bei einer ausreichenden Probenanzahl kann der Datensatz in einen Kalibrierdatensatz und einen Validierdatensatz aufgeteilt werden. Die Proben im Validierdatensatz werden nicht für die Entwicklung des Modells verwendet.
3. Schliesslich werden Proben für einen externen Validierdatensatz an einem anderen Tag gesammelt und gemessen, ggf. von einer anderen Person und mit einem anderen Gerät.

Für jede Probe wird die vorhergesagte Produktzugehörigkeit mit der jeweiligen tatsächlichen Produktzugehörigkeit verglichen. Falls sie übereinstimmen, ist die Prädiktion richtig (= erfolgreich), andernfalls falsch (= fehlgeschlagen).

Validierung

Die OMNIS Software zeigt für Identifizierungsmodelle die folgenden Grössen an, die angeben, wie gut die Modelle funktionieren. Im Idealfall liegen alle Kennzahlen bei 100 %.

Erfolgreich % (Gesamt) misst die *Genauigkeit*, die Gesamtkorrektheit eines Modells. Die Prozentzahl beantwortet die Frage: Wie viele der Proben kann das Modell richtig identifizieren?

$$\textit{Erfolgreich \% (Gesamt)} = \frac{\textit{korrekte Klassifizierungen}}{\textit{alle Klassifizierungen}}$$

Erfolgreich % (Gesamt) verleiht jeder Probe das gleiche Gewicht. Daher haben Produkte mit mehr Proben eine grössere Wirkung auf die Prozentzahl als Produkte mit weniger Proben.

Ähnliche Zahlen für *Erfolgreich %* sind für jedes Produkt verfügbar.

Identifizierung verbessern

Die folgenden Aktionen können zur Verbesserung des Modells beitragen:

- **Anpassen der Wahrscheinlichkeitsschwelle**
  - Falls viele Prädiktionen mehrdeutig sind oder viele 0.0 % Wahrscheinlichkeiten auftreten, kann die Wahrscheinlichkeitsschwelle angehoben werden.
  - Falls viele Proben nicht identifiziert werden, weil die Wahrscheinlichkeitsschwelle nicht erreicht wurde, kann die Wahrscheinlichkeitsschwelle gesenkt werden.
- **Anpassen der Parametrierung**
  Geeignetere Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl ermitteln.
- **Verwendung von Modellhierarchien**
  Eine Modellhierarchie ermöglicht eine hierarchische Strukturierung von Identifizierungsmodellen.
  Beispiel: Ein Identifizierungsmodell mit 4 verschiedenen Produkten kann nicht ohne weiteres zwischen den ähnlichen Produkten Fruktose und Glukose unterscheiden. Werden Fruktose und Glukose zu einer Produktgruppe „Zucker“ zusammengefasst, kann das Modell zwischen Zucker und den beiden anderen Produkten unterscheiden. Wird eine Probe als Zucker identifiziert, übernimmt ein anderes Modell die Unterscheidung zwischen Fruktose und Glukose. Da dieses Modell spezialisierter ist, kann es leichter zwischen den ähnlichen Produkten unterscheiden.

Nicht identifizierte Proben

Falls Proben fälschlicherweise nicht identifiziert werden:

- Proben und Probenhandhabung auf Anomalien prüfen.
- Wahrscheinlichkeitsschwelle prüfen, ggf. herabsetzen.
- Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl prüfen.

- Die Spektren der nicht identifizierten Proben im Score Plot prüfen:
  - Falls die Spektren nicht bereits im Modell enthalten sind: Die Spektren zum Validierdatensatz des jeweiligen Produkts hinzufügen.
  - Im Score Plot die Scores der zu prüfenden Spektren mit den Scores der Spektren im Kalibrierdatensatz vergleichen.

  Falls die Proben keine Outlier sind, aber ihre Variationen im Kalibrierdatensatz unterrepräsentiert sind, sollte der Kalibrierdatensatz entsprechend erweitert werden.

4.6 Qualifizierung

Qualifizierungsmodelle (ab OMNIS Software-Version 4.4) unterscheiden eine Gruppe von Proben von anderen Proben. Diese Modelle eignen sich bspw. dazu, verwendbare Proben (positive Proben) von nicht verwendbaren Proben (negativen Proben) zu unterscheiden.

4.6.1 Berechnung von Qualifizierungsmodellen

Die Berechnung eines Qualifizierungsmodells verläuft ähnlich wie beim Identifizierungsmodell *(siehe "Support Vector Machine (SVM)", Kapitel 4.5.1, Seite 77)*. Der Kalibrierdatensatz für die Qualifizierung enthält jedoch nur eine einzige Art von Proben (positive Proben).

Eine Support Vector Machine (SVM) transformiert die Eingangsdaten in einen höherdimensionalen Raum. Ein Regularisierungsparameter legt die Position der Hyperebene fest, während ein Skalierungsparameter den Grad der Nichtlinearität bestimmt. Eine Rastersuche ermittelt eine geeignete Projektion. Die Entscheidungsgrenze für diese Projektion bildet die Grundlage für das Qualifizierungsmodell.

4.6.2 Validierung von Qualifizierungsmodellen

Vorgehensweise

Ein Qualifizierungsmodell wird in der Regel schrittweise entwickelt und validiert. Dabei wird die Anzahl der Proben nach und nach erhöht:

1. Positiver Validierdatensatz:
   a. Bei einer begrenzten Anzahl positiver Proben wird zunächst kein positiver Validierdatensatz erstellt.
   b. Sobald eine ausreichende Anzahl positiver Proben zur Verfügung steht, wird mit Hilfe der automatischen Datensatzaufteilung ein positiver Validierdatensatz erstellt.

   Negativer Validierdatensatz:
   a. Die gesammelten negativen Proben werden dem negativen Validierdatensatz zugeordnet.
   b. Die automatische Ermittlung von negativen Spektren kann eingesetzt werden, um spektrale Ausreisser zu erkennen und dem negativen Validierdatensatz zuzuordnen *(siehe "Spektrale Ausreisser – Algorithmus", Kapitel 6.5, Seite 99)*.
2. Schliesslich werden Proben für den positiven und den negativen Validierdatensatz an einem anderen Tag gesammelt und gemessen, ggf. von einer anderen Person und mit einem anderen Gerät.

Die Proben im positiven und im negativen Validierdatensatz werden für die Berechnung des Modells nicht verwendet.

Validierung

Für jede Probe ermittelt das Qualifizierungsmodell ein Resultat (positiv oder negativ). Für die Proben im Kalibrierdatensatz und im positiven Validierdatensatz wird ein positives Resultat erwartet. Für die Proben im negativen Validierdatensatz wird ein negatives Resultat erwartet. Falls das Resultat der Erwartung entspricht, ist die Prädiktion richtig (= erfolgreich), andernfalls falsch (= fehlgeschlagen).

Die OMNIS Software zeigt für Qualifizierungsmodelle die folgenden Werte an:

Erfolgreich % (Gesamt) misst die Gesamtkorrektheit eines Modells.

$$\textit{Erfolgreich \% (Gesamt)} = \frac{\textit{korrekte Prädiktionen}}{\textit{alle Prädiktionen}}$$

Ähnliche Zahlen für *Erfolgreich %* sind für jeden Datensatz verfügbar. Im Idealfall liegen alle Kennzahlen bei 100 %.

Qualifizierung verbessern

Eine geeignetere Parametrierung (Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl) kann das Qualifizierungsmodell verbessern.

Nicht qualifizierte Proben

Falls Proben fälschlicherweise nicht qualifiziert werden:

- Proben und Probenhandhabung auf Anomalien prüfen.
- Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl prüfen.

- Die Spektren der nicht qualifizierten Proben im Score Plot prüfen:
  - Falls die Spektren nicht bereits im Modell enthalten sind: Die Spektren zum positiven Validierdatensatz hinzufügen.
  - Im Score Plot die Scores der zu prüfenden Spektren mit den Scores der Spektren im Kalibrierdatensatz vergleichen.

  Falls die Proben keine Outlier sind, aber ihre Variationen im Kalibrierdatensatz unterrepräsentiert sind, sollte der Kalibrierdatensatz entsprechend erweitert werden.

5 Prädiktion

5.1 Quantifizierung

Bei der Prädiktion einer Probe mit unbekanntem Analyseparameter wird wie folgt vorgegangen:

1. Das Spektrum der Probe wird aufgenommen.
2. Das Quantifizierungsmodell wendet dieselbe Datenvorbehandlung und dieselben Wellenlängenbereiche wie für die Spektren im Kalibrierdatensatz an.
3. Anhand des resultierenden Spektrums sagt das Modell den Analyseparameter vorher.

Bei der Berechnung des Quantifizierungsmodells wurden die Kalibrierspektren und die Referenzwerte mittelwertzentriert. Das wird natürlich beim oben beschriebenen Vorgehen berücksichtigt.

5.1.1 Ausreisser und Resultatüberwachung

Bei der Prädiktion eines quantitativen Analyseparameters können unterschiedliche Arten von Ausreissern erkannt und die Resultate überwacht werden:

Ausreisser/Überwachung		Ursache (Beispiel)
Spektrale Ausreisser	Hotellings T^2	Die Konzentration einer chemischen Komponente liegt ausserhalb des Konzentrationsbereichs der Kalibrierproben.
	Q-Residuen	Die Probe enthält Bestandteile, die in den Kalibrierproben nicht vorhanden sind.
Nearest Neighbor-Ausreisser (optional, ab OMNIS Software-Version 4.2)		Die Probe weist Probenvariationen auf, die in dieser Kombination in den Kalibrierproben nicht vertreten sind.
Resultatüberwachung (optional)		Der Resultatwert des Analyseparameters liegt ausserhalb der vom Kunden gewählten Akzeptanzkriterien.

Spektrale Ausreisser

Spektrale Ausreisser werden wie folgt ermittelt:

1. Die Software berechnet die Werte für Hotellings T^2 und Q-Residuen für das Spektrum auf Basis des Quantifizierungsmodells (PLS-Modell).
2. Falls T^2 oder der Q-Residuenwert des Spektrums grösser als der entsprechende vom Modell berechnete kritische Wert ist, wird die Probe in Bezug auf das angewendete Modell als Ausreisser gekennzeichnet *(siehe "Ausreisserbewertung bei der Prädiktion (Quantifizierung)", Seite 101)*.

Die T^2 und Q-Residuenwerte sind in der OMNIS Software als Variable verfügbar. Sie können mit den Werten im PLS-Influence-Plot des Quantifizierungsmodells verglichen werden. Die gestrichelten Linien geben die kritischen Werte an.

Nearest Neighbor-Ausreisser

(ab OMNIS Software-Version 4.2)

Im Idealfall decken die Kalibrierproben alle möglichen Kombinationen der Probenvariationen ab. In der Realität treten einige Kombinationen häufiger auf, andere überhaupt nicht. Dementsprechend sind die Kalibrierproben im Raum der latenten Variablen ungleich verteilt. In manchen Bereichen finden sich viele Kalibrierproben, dazwischen gibt es Lücken.

Falls das Spektrum einer unbekannten Probe in eine Lücke zwischen den Kalibrierproben fällt, kann das Prädiktionsresultat ungültig oder ungenau sein. Um solche Fälle zu erkennen, wird die Distanz *D* von der unbekannten Probe *i* zu jeder Kalibrierprobe *u* berechnet:

$$D = \sqrt{(\mathbf{s_i} - \mathbf{s_u})^{\mathbf{t}} (\mathbf{s_i} - \mathbf{s_u})}$$

Hierbei entspricht $\mathbf{s_i}$ den Scores der unbekannten Probe *i* und $\mathbf{s_u}$ den Scores der Kalibrierprobe *u*. Die Scores sind normalisiert und orthogonal.

Die kleinste Distanz ist die Distanz zur nächstgelegenen Kalibrierprobe und wird als **Nearest Neighbor Distance** (NND) bezeichnet:

Falls der NND-Wert einen bestimmten NND-Grenzwert übersteigt, wird die unbekannte Probe als Nearest Neighbor-Ausreisser bezeichnet.

Der NND-Grenzwert wird wie folgt bestimmt:

1. Für jede Kalibrierprobe wird ein NND-Wert bestimmt. Dieser Wert entspricht der Distanz zur nächstgelegenen der übrigen Kalibrierproben.
2. Der maximale NND-Wert aller Kalibrierproben ist der NND-Grenzwert.

Der NND-Wert der unbekannten Probe und der NND-Grenzwert sind in der OMNIS Software als Variable verfügbar.

Resultatüberwachung

In der OMNIS Software kann die Resultatüberwachung verwendet werden, um Warngrenzen und Eingreifgrenzen für den Bereich der Prädikti-

onsresultate zu definieren. Optional können Aktionen definiert werden, die bei einer Verletzung der definierten Grenzen ausgelöst werden.

5.2 Identifizierung und Verifizierung

Bei der Identifizierung oder Verifizierung einer Probe wird wie folgt vorgegangen:

1. Das Probenspektrum wird aufgenommen.
2. Das Identifizierungsmodell wendet dieselbe Datenvorbehandlung und dieselbe Wellenlängenauswahl wie für die Spektren im Kalibrierdatensatz an.
3. Das Identifizierungsmodell wertet das Spektrum aus *(siehe "Prädiktion der Produktzugehörigkeit einer Probe", Kapitel 4.5.2, Seite 80)*.
4. Falls das Identifizierungsmodell Teil einer Modellhierarchie ist und ein weiteres Identifizierungsmodell mit dem ermittelten Produkt verknüpft ist, wird dieses Modell ausgeführt. Falls ein oder mehrere Quantifizierungsmodelle mit dem ermittelten Produkt verknüpft sind, werden diese Modelle ausgeführt.
5. Das Identifizierungsresultat oder das Verifizierungsresultat wird angezeigt, bei einer Modellhierarchie ggf. auch Quantifizierungsresultate.

Identifizierungsstatus

- Identifiziert
  Die Identifizierung ist erfolgreich.
- Mehrdeutig
  Mehrere Produkte übertreffen die Wahrscheinlichkeitsschwelle. Die Identifizierung ist fehlgeschlagen.
- Nicht identifiziert
  Kein Produkt übertrifft die Wahrscheinlichkeitsschwelle. Die Identifizierung ist fehlgeschlagen.

Verifizierungsstatus

- Erfolgreich
  Die Probe wurde erfolgreich identifiziert und das Resultat entspricht dem erwarteten Produkt.
- Fehlgeschlagen
  Die Verifizierung ist fehlgeschlagen.

5.3 Qualifizierung

Bei der Qualifizierung einer Probe wird wie folgt vorgegangen:

1. Das Probenspektrum wird aufgenommen.
2. Das Qualifizierungsmodell wendet dieselbe Datenvorbehandlung und dieselbe Wellenlängenauswahl wie für die Spektren im Kalibrierdatensatz an.
3. Anhand des resultierenden Spektrums qualifiziert das Modell die Probe.
4. Das Qualifizierungsresultat wird angezeigt.

Qualifizierungsstatus

- Erfolgreich
- Fehlgeschlagen

6 Anhang

6.1 Beispiel für eine lineare Regression

Univariate lineare Regression

Im einfachsten Fall hat ein Gemisch nur einen Absorber und das Spektrum nur einen Peak. Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen des Absorbers weisen Peaks mit unterschiedlichen Absorbanzwerten auf *(siehe "Beer-Lambert-Gesetz", Kapitel 2.2.1, Seite 6)*.

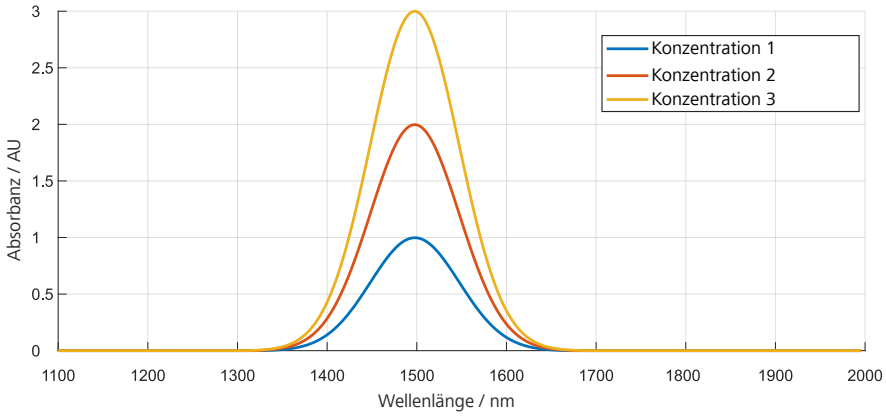


Abbildung 38 Modellierte Daten für 3 Proben mit einem Peak bei 1'500 nm.

Die 3 gemessenen Absorbanzwerte bei 1'500 nm können gegen die Konzentration des Absorbers aufgetragen werden.

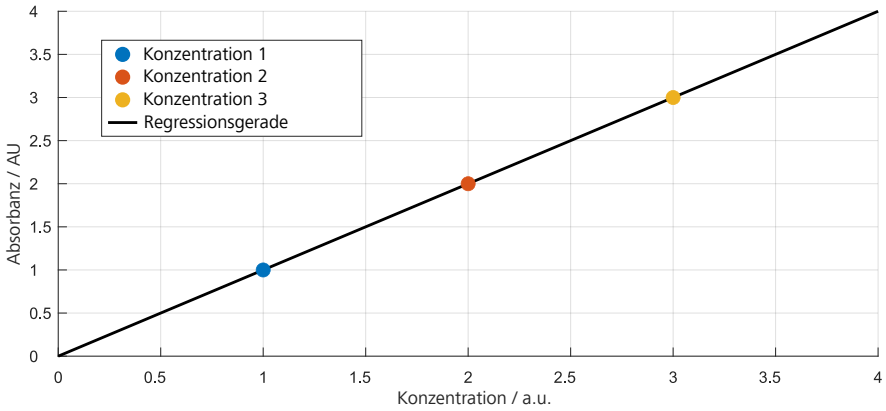


Abbildung 39 Beziehung zwischen Absorbanzwerten und Konzentrationen.

Gemäss dem Beer-Lambert-Gesetz ist die Beziehung zwischen den Absorbanzwerten und den Konzentrationen linear. Mit dem Satz von

3 Proben kann eine lineare Regression durchgeführt werden, die eine Regressionsgerade wie abgebildet ergibt.

Da es nur 1 Variable gibt (1 Wellenlänge), handelt es sich um eine univariate lineare Regression. Diese Regression kann als Quantifizierungsmodell verwendet werden. Bei einer Probe mit unbekannter Konzentration wird die Absorbanz A bei 1'500 nm gemessen. Aus der Regressionsgeraden ergibt sich dann die entsprechende Konzentration c des Absorbers:

$$c = bA$$

Der Koeffizient *b* ist konstant und identisch mit der Steigung der Regressionsgeraden.

Es ist zu beachten, dass alle Proben den gleichen Absorber mit dem gleichen molaren Extinktionskoeffizienten enthalten müssen. Zudem müssen alle Absorptionsmessungen mit identischen Schichtdicken durchgeführt werden.

Multivariate lineare Regression

Reale Gemische enthalten mehr als einen Absorber. Das aufgenommene Spektrum ist die Summe aller Absorberspektren *(siehe "Beer-Lambert-Gesetz", Kapitel 2.2.1, Seite 6)*.

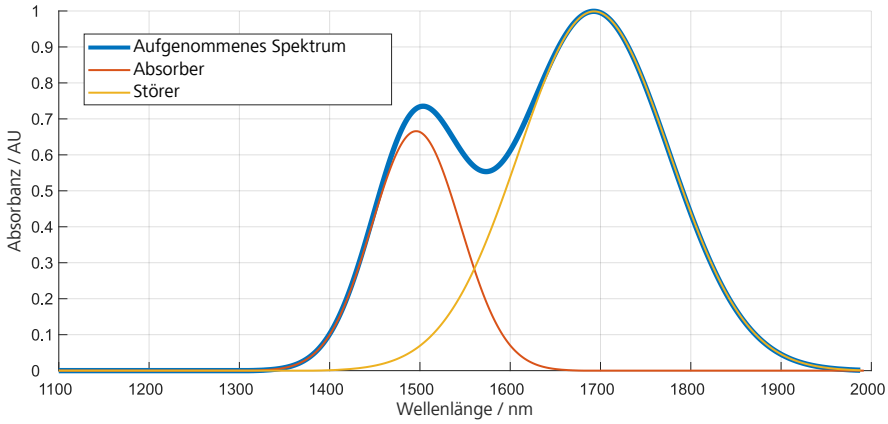


Abbildung 40 Modellierte Daten mit 2 Komponenten. Der Absorber (rote Linie) soll quantifiziert werden.

Das aufgenommene Spektrum (blaue Linie) ist die Summe aus dem reinen Absorberspektrum und einem überlappenden Störerspektrum. Bei 1'500 nm setzt sich der gemessene Absorbanzwert nicht nur aus der Absorbanz des Absorbers, sondern auch aus der Absorbanz des Störers zusammen. Der Analyseparameter kann nicht mit einer einzigen Messung bei 1'500 nm quantifiziert werden. Es ist auch unmöglich zu wissen, ob ein Störer vorhanden war und ob die Messung zuverlässig ist.

Was passiert, wenn 2 Wellenlängen z. B. bei 1'500 nm und 1'700 nm gemessen werden? Die gemessene Absorbanz bei Wellenlänge 1, A_1, ist die Summe des reinen Absorbersignals A_1^a (Index a = Absorber) und des

reinen Störersignals A_1^{f} (Index f = Störer). Das Gleiche gilt für die gemessene Absorbanz bei Wellenlänge 2, A_2:

$$A_1 = A_1^{\mathrm{a}} + A_1^{\mathrm{f}} = \varepsilon_1^{\mathrm{a}} c_{\mathrm{a}} + \varepsilon_1^{\mathrm{f}} c_{\mathrm{f}}$$
$$A_2 = A_2^{\mathrm{a}} + A_2^{\mathrm{f}} = \varepsilon_2^{\mathrm{a}} c_{\mathrm{a}} + \varepsilon_2^{\mathrm{f}} c_{\mathrm{f}}$$

Hierbei entsprechen $\varepsilon_1^{\mathrm{a}}$ und $\varepsilon_1^{\mathrm{f}}$ den molaren Extinktionskoeffizienten bei Wellenlänge 1 für den Absorber bzw. den Störer, und c_{a} und c_{f} den Konzentrationen für den Absorber bzw. den Störer.

In den obigen Gleichungen ist die Schichtdicke l aus dem Beer-Lambert-Gesetz ausgeschlossen. Das macht die Algebra später ein wenig einfacher. Die Schichtdicke muss natürlich bei allen Proben gleich sein. Die Absorbanzen in den Gleichungen sind daher Absorbanzen pro cm.

Die Gleichungen können in Matrixform wie folgt geschrieben werden:

$$\begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_1^{\mathrm{a}} & \varepsilon_1^{\mathrm{f}} \\ \varepsilon_2^{\mathrm{a}} & \varepsilon_2^{\mathrm{f}} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_{\mathrm{a}} \\ c_{\mathrm{f}} \end{bmatrix}$$

Daher:

$$\begin{bmatrix} c_{\mathrm{a}} \\ c_{\mathrm{f}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_1^{\mathrm{a}} & \varepsilon_1^{\mathrm{f}} \\ \varepsilon_2^{\mathrm{a}} & \varepsilon_2^{\mathrm{f}} \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} A_1 \\ A_2 \end{bmatrix}$$

Die Lösung für die Konzentration des Absorbers ergibt:

$$c = c_{\mathrm{a}} = \frac{\varepsilon_2^{\mathrm{f}}}{\varepsilon_1^{\mathrm{a}}\varepsilon_2^{\mathrm{f}} - \varepsilon_1^{\mathrm{f}}\varepsilon_2^{\mathrm{a}}} A_1 + \frac{-\varepsilon_1^{\mathrm{f}}}{\varepsilon_1^{\mathrm{a}}\varepsilon_2^{\mathrm{f}} - \varepsilon_1^{\mathrm{f}}\varepsilon_2^{\mathrm{a}}} A_2$$

Daraus ergibt sich, dass die Konzentration des Absorbers auch bei Vorhandensein eines Störers berechnet werden kann, indem die Absorbanz bei zwei Wellenlängen gemessen und jede Absorbanz mit einer Konstante multipliziert wird.

Die Konstanten beziehen sich auf die molaren Extinktionskoeffizienten und können in Tabellen nachgeschlagen werden. Das geschieht in der Realität aber nie. Stattdessen werden sie durch einen Kalibrierschritt und die Lösung des linearen Gleichungssystems durch eine multivariate lineare Regression wie die PLS-Regression ermittelt. Daher werden die Konstanten als Regressionskoeffizienten b_1 und b_2 bezeichnet:

$$c = b_1 A_1 + b_2 A_2$$

Mehr als 2 Absorber

Wie oben gezeigt genügt es bei 1 Absorber, die Absorbanz bei 1 Wellenlänge zu bestimmen. Mit 2 Absorbern genügt es, die Absorbanz bei 2 Wellenlängen zu bestimmen.

Das kann verallgemeinert werden. Mehr Absorber erfordern mehr Absorbanzwerte A_i bei verschiedenen Wellenlängen i. Es handelt sich immer noch um eine lineare Beziehung:

$$c = b_1A_1 + b_2A_2 + \cdots + b_nA_n$$

Entwicklung eines Quantifizierungsmodells

Bevor die obige Gleichung die Konzentration in unbekannten Proben vorhersagen kann, müssen die Koeffizienten b_1, b_2 usw. bestimmt werden. Dazu ist ein Kalibrierschritt erforderlich. Es werden mehrere Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen des Analyseparameters gemessen.

In Einklang mit der später für PCA und PLS verwendeten Terminologie kann c durch y und A durch x ersetzt werden. Dann sieht die obige Gleichung für jede Kalibrierprobe ausgeschrieben wie folgt aus:

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_{1,1} & x_{1,2} & \cdots & x_{1,f} \\ x_{2,1} & x_{2,2} & \cdots & x_{2,f} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{n,1} & x_{n,2} & \cdots & x_{n,f} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ b_n \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ \vdots \\ e_n \end{bmatrix}$$

Hierbei entspricht n der Probenanzahl, f der Anzahl der Wellenlängen, y_1 dem Referenzwert für die Probe 1, gemessen mit der Referenzmethode (z. B. Titration), $x_{1,1}$ der gemessene Absorbanz von Probe 1 bei Wellenlänge 1, und $\{x_{1,1} \ldots x_{1,f}\}$ dem Spektrum von Probe 1, gemessen bei f Wellenlängen. $b_1 \ldots b_n$ entsprechen den Regressionskoeffizienten, und $e_1 \ldots e_n$ den Fehlertermen, die zeigen, wie gut die Regressionskoeffizienten die Messdaten modellieren.

In einer kompakteren Matrixform ergibt das:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X^t p} + \mathbf{e}$$

X ist definiert als Matrix $f \times n$. $\mathbf{X^t}$ ist die transponierte Matrix **X**, d. h. die Zeilen und Spalten werden vertauscht, um die obige Matrix $n \times f$ zu erhalten. Der Prädiktionsvektor **p** entspricht den obigen Regressionskoeffizienten **b**.

Der Prädiktionsvektor **p** ermöglicht die Prädikation des Analyseparameters für eine neue Probe auf Basis ihres Spektrums **x**. Der vorhergesagte Wert $\hat{y}$ ist:

$$\hat{y} = \mathbf{x^t p}$$

Die Aufgabe der multivariaten linearen Regression ist die Bestimmung von Regressionskoeffizienten, die minimale Fehlerterme ergeben. Eine multiple lineare Regression (MLR) würde jedoch eine grössere Anzahl an Kalibrierproben erfordern als die Anzahl der Wellenlängen. Ein weiteres Hindernis ist die hohe Korrelation zwischen den Variablen.

Für spektroskopische Prädiktionen können andere Methoden verwendet werden. Mit PCA kann die Datenmenge stark reduziert und die Korrelation

vollständig eliminiert werden. Mit einer PLS-Regression werden zusätzlich die Referenzwerte der Proben berücksichtigt.

6.2 PCA-Algorithmus

Die **Hauptkomponentenanalyse** (**PCA**, englisch *principal component analysis*) wird für die automatische Datensatzaufteilung und die Erkennung spektraler Ausreisser verwendet *(siehe "Hauptkomponentenanalyse (PCA)", Kapitel 4.2, Seite 36)*.

Für die Hauptkomponentenanalyse der parametrierten und mittelwertzentrierten Spektren führt die OMNIS Software eine **Singulärwertzerlegung** (**SVD**, englisch *singular value decomposition*) durch. Sie zerlegt die ursprüngliche Datenmatrix **X** (die Spektren des Kalibrierdatensatzes) in 3 Matrizen und berechnet n Hauptkomponenten:

$$\mathbf{X} = \mathbf{L}\boldsymbol{\Sigma}\mathbf{S}^{\mathbf{t}}$$

Hierbei entspricht **X** den ursprünglichen Spektrendaten (eine Matrix $f \times n$ mit f Wellenlängen und n Proben), **L** den Loadings (eine Matrix $f \times n$), $\boldsymbol{\Sigma}$ den Singulärwerten (eine Matrix $n \times n$), und **S** den Scores (eine Matrix $n \times n$). Die Gleichung kann in grafischer Form dargestellt werden *(siehe Abbildung 41, Seite 96)*.

Die Loadings **L** projizieren die Achsen des Wellenlängenraums auf die Achsen des Hauptkomponentenraums. Die Spaltenvektoren von **L** sind die Hauptachsen oder Hauptrichtungen.

Die Scores **S** sind die Projektionen der ursprünglichen Spektren auf die Hauptachsen. Jeder Zeilenvektor von **S** enthält ein bestimmtes Spektrum.

$\boldsymbol{\Sigma}$ ist eine Diagonalmatrix der Singulärwerte σ_i. Die Singulärwerte beschreiben die durch jede Hauptkomponente erklärte Varianz. Durch Konvention sind sie so sortiert, dass $\sigma_1 > \sigma_2 > \ldots > \sigma_n$.

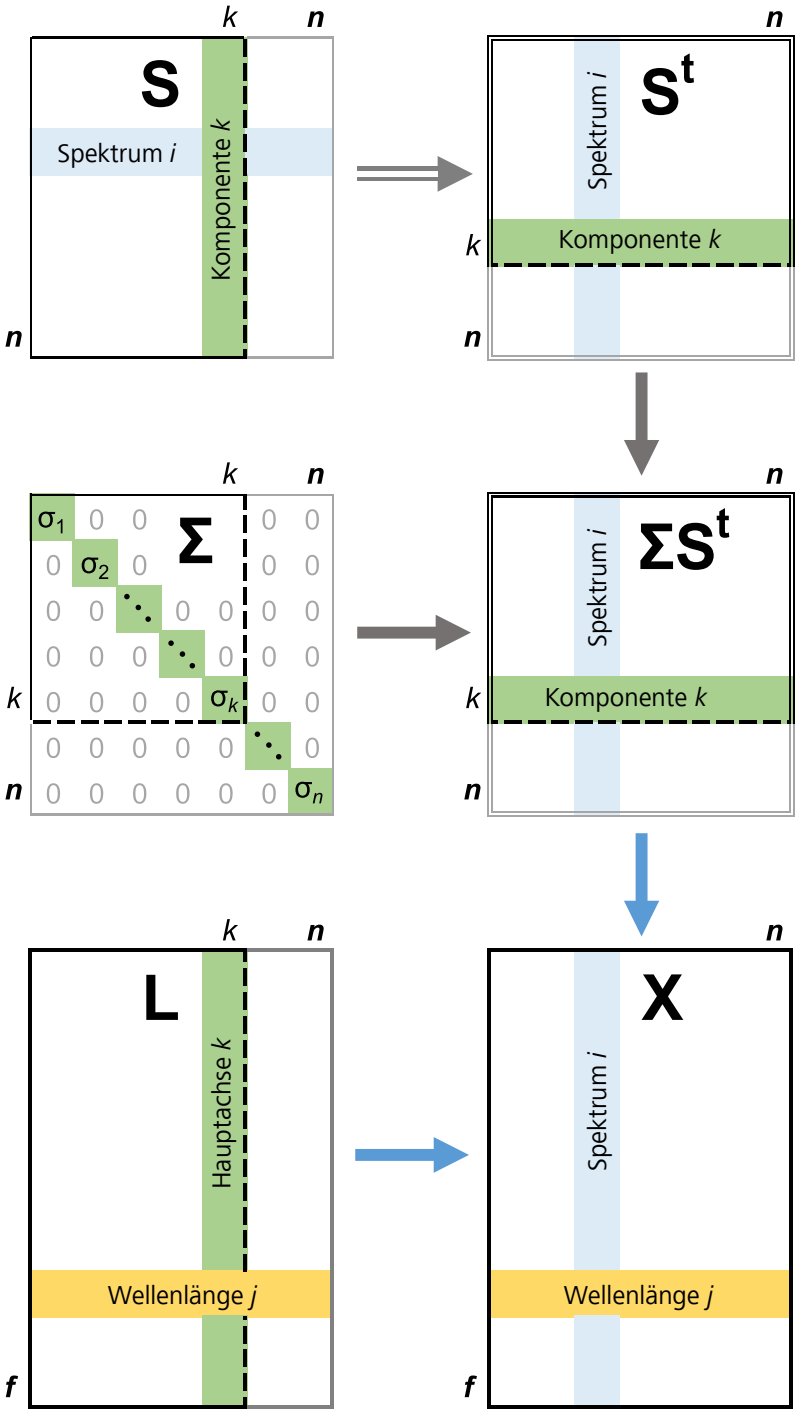


Abbildung 41 *Gleichung der Singulärwertzerlegung in grafischer Form. Die gestrichelten Linien zeigen die verkürzten Matrizen für ein Modell mit k Hauptkomponenten. Die Informationen in den n-k ausgelassenen Hauptkomponenten fliessen in die Residualmatrix ein (eine Matrix f × n, nicht abgebildet).*

Residualmatrix

Ein PCA-Modell nutzt nur die ersten paar der berechneten *n* Hauptkomponenten. In *Abbildung 41* sind es die ersten *k* von *n* Hauptkomponenten. Die Originaldaten **X** können in vom Modell beschriebene Daten und nicht vom Modell beschriebene Daten unterteilt werden:

$$\mathbf{X} = \mathbf{L_a}\mathbf{\Sigma_a}\mathbf{S_a^t} + \mathbf{E}$$

Hierbei entspricht **X** den ursprünglichen Spektrendaten (eine Matrix $f \times n$), $\mathbf{L_a}$ (eine Matrix $f \times k$) den ersten *k* Spalten von **L**, Σ_a (eine Diagonalmatrix $k \times k$) den ersten *k* Singulärwerten, $\mathbf{S_a}$ (eine Matrix $n \times k$ mit *k* Hauptkomponenten) den ersten *k* Spalten von **S**, und **E** der Residualmatrix (eine Matrix $f \times n$), die alle spektralen Variationen in **X** enthält, die nicht vom Modell beschrieben werden können.

In der Regel ist $k \ll n \ll f$. Zum Beispiel: $k = 3$ Hauptkomponenten, $n = 100$ Proben und $f = 2'500$ Wellenlängen.

Jede Spalte $\mathbf{e_i}$ der Residualmatrix **E** zeigt die orthogonale Distanz des Spektrums *i* zum PCA-Raum, genannt **Residuum**. Je mehr Hauptkomponenten das Modell verwendet, umso kleiner ist das Residuum.

6.3 PLS-Algorithmus

Die **Partielle Kleinste-Quadrate-Regression** (**PLS-Regression**, englisch *partial least squares regression*) wird zur Berechnung des Quantifizierungsmodells verwendet *(siehe "PLS-Regression", Kapitel 4.4.1, Seite 62)*.

PLS bezieht zwei Datenblöcke mit ein:

- Die parametrierte und mittelwertzentrierte Matrix **X** (die Spektren).
- Den mittelwertzentrierten **y**-Vektor (die Referenzwerte).

PLS zerlegt die Matrix **X** in 2 Matrizen:

$$\mathbf{X} = \mathbf{LS^t} + \mathbf{Z}$$

Hierbei entspricht **X** (eine Matrix $f \times n$ mit *f* Wellenlängen und *n* Proben) den vorbehandelten und mittelwertzentrierten Spektren, **L** den Loadings (eine Matrix $f \times k$ mit *k* latenten Variablen), **S** den Scores (eine Matrix $n \times k$), und **Z** der Residualmatrix (eine Matrix $f \times n$), die alle spektralen Variationen in **X** enthält, die nicht vom Modell beschrieben werden können.

Während bei PCA die Score-Matrix **S** die Varianz von **X** erklärt, erklärt bei PLS die Score-Matrix **S** die Kovarianz zwischen **X** und **y**. PLS maximiert die durch die Scores erklärte Kovarianz. Das bedeutet, dass die Scores nicht nur die Variabilität von **X** am besten erklären, sondern auch die höchstmögliche Korrelation mit den Referenzwerten aufweisen.

Zur Maximierung der Kovarianz zwischen **X** und **y** tauscht der PLS-Algorithmus Daten zwischen **X** und **y** aus. Daher verschmelzen **X** und **y** zu

einem einzigen, integrierten System. Dabei werden die Scores **S** gegen die Referenzwerte **y** regressiert, um die Regressionskoeffizienten **b** zu erhalten:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Sb} + \mathbf{e}$$

dabei ist **e** der Residualvektor, der alle Referenzwertvariationen in **y** enthält, die nicht vom Modell beschrieben werden können.

Prädiktion

Aus den Regressionskoeffizienten **b** lässt sich der Prädiktionsvektor **p** ermitteln. Für die Prädiktion des Analyseparameters $\hat{y}$ einer neuen Probe werden der Prädiktionsvektor **p** und das vorbehandelte und mittelwertzentrierte Spektrum **x** verwendet:

$$\hat{y} = \mathbf{x}^{\mathbf{t}}\mathbf{p}$$

Die OMNIS Software implementiert die PLS mit dem SIMPLS-Algorithmus und einem einzigen Satz von Referenzwerten (PLS-1).

6.4 Hotellings T² und Q-Residuen

Hotellings *T*² und Q-Residuen charakterisieren die Spektren in einem PCA- oder PLS-Modell. Sie helfen insbesondere bei der Identifizierung möglicher Ausreisser *(siehe "Hotellings T² und Q-Residuen", Seite 52)*.

Hotellings T²

Die Mahalanobis-Distanz ist ein Mass für die Grösse der Abweichung eines Spektrums vom Modellmittelpunkt. Die Distanz wird normalisiert. Jede Hauptkomponente bzw. latente Variable erhält das gleiche Gewicht.

Unter der Annahme, dass die Spektren bzw. die Scores normalverteilt sind, folgen die quadrierten Mahalanobis-Distanzen, MD², einer Hotellings *T*²-Verteilung:

$$\mathrm{MD}^2 \sim T^2$$

Die quadrierte Mahalanobis-Distanz für das Spektrum *i* ist die Quadratsumme der normalisierten Scores für die ersten *k* Hauptkomponenten oder latenten Variablen:

$$\mathrm{MD}_i^2 = \mathbf{s_i}\mathbf{s_i^t} = \sum_{a=1}^{k} s_{i,a}^2$$

Hierbei entspricht $\mathbf{s_i}$ der *i*-ten Zeile der verkürzten Score-Matrix **S**, $s_{i,a}$ dem normalisierten Score für das Spektrum *i* und die Hauptkomponente (oder latente Variable) *a*, und *k* der Anzahl verwendeter Hauptkomponenten oder latenter Variablen.

MD² kann einfach als T^2 bezeichnet werden. Ein Spektrum mit $T^2 = 0$ projiziert auf den Mittelpunkt des mittelwertzentrierten Modells, d. h. alle Scores liegen im Mittel. Je weiter sich die Projektion eines Spektrums auf die Hyperebene vom Mittelpunkt entfernt, umso höher ist der T^2-Wert. In der Nähe des Mittelpunkts passt das Modell am besten. Weit entfernt vom Mittelpunkt passt das Modell möglicherweise schlecht.

Es kann ein **Signifikanzniveau** von z. B. 5 % für einen Hypothesentest festgelegt werden, der Ausreisser erkennt *(siehe "Spektrale Ausreisser – Algorithmus", Kapitel 6.5, Seite 99)*.

Q-Residuum

Das Q-Residuum für das Spektrum *i* ist die quadrierte Distanz vom PCA- oder PLS-Modell zum Spektrum:

$$Q_i = \mathbf{e_i^t e_i} = \sum_{j=1}^{f} e_{i,j}^2$$

Hierbei entspricht $\mathbf{e_i}$ der *i*-ten Spalte der Residualmatrix **E**, $e_{i,j}$ dem Residuum für das Spektrum *i*, und *f* der Anzahl der Wellenlängen.

Die Q-Residuen zeigen die Variationen, die nicht durch das Modell erklärt werden. Ein hohes Q-Residuum zeigt an, dass das Spektrum möglicherweise nicht mit dem Modell übereinstimmt, z. B. wenn die gemessene Probe eine andere Substanz enthält.

Es kann ein **Signifikanzniveau** von z. B. 5 % für einen Hypothesentest festgelegt werden, der Ausreisser erkennt *(siehe "Spektrale Ausreisser – Algorithmus", Kapitel 6.5, Seite 99)*.

6.5 Spektrale Ausreisser – Algorithmus

Die Erkennung spektraler Ausreisser identifiziert Spektren, die von der Grundgesamtheit abweichen *(siehe "Erkennung spektraler Ausreisser", Seite 53)*. Der Algorithmus bewertet, ob die Werte für Hotellings T^2 oder für das Q-Residuum des geprüften Spektrums das Resultat einer zufälligen oder einer systematischen Variation sind.

Erkennung spektraler Ausreisser bei der Modellentwicklung

1. Die Parametrierung wird wie folgt berücksichtigt:
   a. Ab OMNIS Software-Version 4.2: Der Benutzer entscheidet, ob die Parametrierung (Datenvorbehandlung und Wellenlängenauswahl) angewendet wird oder nicht.
   Spätere Änderungen der Parametrierung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
   b. Ab OMNIS Software-Version 3.3 bis OMNIS Software-Version 4.1: Der Benutzer entscheidet, ob die Datenvorbehandlung berücksichtigt wird oder nicht. Die Wellenlängenauswahl und spätere Änderungen der Datenvorbehandlung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
   c. Bis OMNIS Software-Version 3.2: Die Datenvorbehandlung wird so berücksichtigt, wie sie zum Zeitpunkt der Ausreissererkennung festgelegt wurde. Die Wellenlängenauswahl und spätere Änderungen der Datenvorbehandlung haben keinen Einfluss auf die Datensatzaufteilung.
2. Die Erkennung spektraler Ausreisser basiert auf dem PCA-Modell aller mittelwertzentrierten Spektren in der Spektrenliste *(siehe "Hauptkomponentenanalyse (PCA)", Kapitel 4.2, Seite 36)*. Das zu testende Spektrum wird ebenfalls in das PCA-Modell aufgenommen. Die Anzahl der Hauptkomponenten wird so gewählt, dass die erklärte Varianz mindestens 95 % beträgt.

3. **Hotellings T^2-Ausreisser**:
   Auf Basis der Hotellings T^2-Werte *(siehe "Hotellings T²", Seite 98)* wird ein Hypothesentest nach H. Hotelling, *The Generalization of Student's Ratio*, The Annals of Mathematical Statistics Band 2, Nr. 3 (Aug. 1931), S. 360–378 durchgeführt.
   a. Die Nullhypothese lautet, dass der T^2-Wert des zu untersuchenden Spektrums zu den T^2-Werten des PCA-Modells passt. Ist die Nullhypothese wahr, folgt T^2 einer Hotellings T^2-Verteilung. Die Verteilung kann als skalierte F-Verteilung ausgedrückt werden:
   $$T^2 \sim \frac{k(n-1)}{n-k} F_{k,n-k}$$
   dabei ist k die Anzahl der Hauptkomponenten, n die Anzahl der Spektren und $F_{k,n-k}$ die F-Verteilung mit den Parametern k und n-k.
   b. Das einstellbare Signifikanzniveau steuert die Wahrscheinlichkeit, mit der die Nullhypothese zurückgewiesen wird, falls sie wahr ist (bekannt als Typ-I-Fehler). Der Standardwert ist 5 %.
   c. Auf Basis dieser Verteilung und des Signifikanzniveaus wird ein kritischer Wert für T^2 berechnet.
   d. Falls der T^2-Wert für das Spektrum grösser als der kritische Wert ist, wird die Nullhypothese zurückgewiesen und das Spektrum als potenzieller Ausreisser gekennzeichnet.
4. **Q-Residuen-Ausreisser**
   Auf Basis der Q-Residuen *(siehe "Q-Residuum", Seite 99)* wird ein Hypothesentest nach J. E. Jackson und G. S. Mudholkar, *Control Procedures for Residuals Associated With Principal Component Analysis*, Technometrics Band 21, Nr. 3 (Aug. 1979), S. 341–349 durchgeführt.
   a. Die Nullhypothese lautet, dass das Q-Residuum des zu untersuchenden Spektrums zu den Q-Residuen des PCA-Modells passt. Ist die Nullhypothese wahr, kann eine annähernd normalverteilte Q-Residuum-Teststatistik erstellt werden.
   b. Das einstellbare Signifikanzniveau steuert die Wahrscheinlichkeit, mit der die Nullhypothese zurückgewiesen wird, falls sie wahr ist (bekannt als Typ-I-Fehler). Der Standardwert ist 5 %.
   c. Auf Basis dieser Teststatistik und des Signifikanzniveaus wird ein kritischer Wert für Q berechnet.
   d. Falls der Wert des Q-Residuums für das Spektrum grösser als der kritische Wert ist, wird die Nullhypothese zurückgewiesen und das Spektrum als potenzieller Ausreisser gekennzeichnet.

Ausreisserbewertung bei der Prädiktion (Quantifizierung)

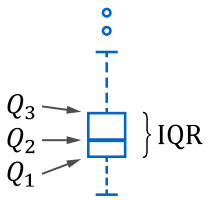
Bei der Quantifizierung steht während der Prädiktion eine Ausreisserbewertung zur Verfügung:

1. Vorbereitende Schritte:
   a. Das Quantifizierungsmodell verwendet denselben Algorithmus wie oben. Die Basis ist jedoch das Quantifizierungsmodell (PLS-Modell) mit allen mittelwertzentrierten Spektren des Kalibrierdatensatzes. Datenvorbehandlung, Wellenlängenbereiche und Anzahl der latenten Variablen werden wie im Quantifizierungsmodell angegeben berücksichtigt.
   b. Auf Basis des festgelegten Signifikanzniveaus berechnet das Quantifizierungsmodell die kritischen Werte für T^2 und Q (gestrichelte Linien im PLS-Influence-Plot). Die kritischen Werte werden im Quantifizierungsmodell hinterlegt.
2. Bei der Prädiktion werden die T^2- und Q-Werte des Spektrums auf Basis des Quantifizierungsmodells berechnet.
3. Ist der T^2- oder der Q-Wert des Spektrums grösser als der jeweilige kritische Wert, wird die Probe in Bezug auf das angewendete Quantifizierungsmodell als potenzieller Ausreisser betrachtet.

6.6 Referenzwert-Ausreisser – Algorithmus

Box-Plots ermöglichen die Erkennung von Ausreissern bei den Referenzwerten *(siehe "Referenzwert-Ausreisser (Quantifizierung)", Kapitel 4.3.4, Seite 59)*.

Um die Schiefe der Verteilung zu berücksichtigen, werden die Ausreissergrenzwerte mit den folgenden Berechnungen angepasst.



Das **Medcouple** (MC) misst die Schiefe der Referenzwerte. Die Berechnung beginnt mit dem Median des Box-Plots, Q_2. Mit allen möglichen Paaren (englisch *couples*) aus der oberen Hälfte und der unteren Hälfte der Referenzwerte wird eine Funktion berechnet. Der Median der Resultate ist das Medcouple:

$$\mathrm{MC} = \underset{y_i \le Q_2 \le y_j}{\mathrm{med}} \frac{(y_j - Q_2) - (Q_2 - y_i)}{y_j - y_i}$$

Hierbei entspricht Q_2 dem zweiten Quartil, das die Mittellinie im Box-Plot definiert, und y_i, y_j einem Paar von Referenzwerten.

Das Medcouple liegt immer zwischen –1 und 1. Für eine symmetrische Verteilung ist MC = 0. Eine schiefe Verteilung mit MC > 0 ist zu den höheren Referenzwerten hin verzerrt, mit MC < 0 zu den niedrigeren Referenzwerten.

Die Berechnung der **angepassten Ausreissergrenzwerte** hängt davon ab, zu welcher Seite die Verteilung verschoben ist:

$$\mathrm{MC} \ge 0\text{: } [Q_1 - 1.5\, e^{-4\mathrm{MC}}\, \mathrm{IQR}\,;\, Q_3 + 1.5\, e^{3\mathrm{MC}}\, \mathrm{IQR}]$$
$$\mathrm{MC} < 0\text{: } [Q_1 - 1.5\, e^{-3\mathrm{MC}}\, \mathrm{IQR}\,;\, Q_3 + 1.5\, e^{4\mathrm{MC}}\, \mathrm{IQR}]$$

Bei einer symmetrischen Verteilung (MC = 0) betragen die Distanzen zwischen den Grenzwerten und der Box 1.5 IQR.

Die Exponentialfunktion ermöglicht eine genaue und robuste Ausreissererkennung bei verschiedenen Verteilungen mit unterschiedlicher Schiefe, wie empirisch nachgewiesen von M. Hubert und E. Vandervieren, *An adjusted boxplot for skewed distributions*, Computational Statistics & Data Analysis Band 52, Nr. 12 (Aug. 2008), S. 5186–5201.

Der erwartete Prozentsatz der markierten Ausreisser liegt bei etwa 1 % und ist dem Prozentsatz des Standard-Box-Plots für die Normalverteilung recht ähnlich. Hinweis: Dieser Prozentsatz ist unabhängig vom Signifikanzniveau.