

Analisi quantitativa di un polimero idrosolubile mediante lo spettrometro i-Raman EX

La spettroscopia vibrazionale è uno strumento potente e consolidato per la caratterizzazione dei polimeri.[1,2] La spettroscopia a infrarossi e Raman sono tecniche complementari che forniscono un'impronta molecolare e sono in grado di effettuare analisi sia qualitative che quantitative.[3] In generale, la spettroscopia a infrarossi fornisce un'eccellente selezione di gruppi funzionali associati alla composizione polimerica, rendendola ampiamente utilizzata nell'identificazione dei polimeri e nella caratterizzazione strutturale. La spettroscopia Raman fornisce anche l'accesso a una selezione di gruppi funzionali che consente la determinazione della composizione chimica e della struttura. Tipicamente la spettroscopia Raman sonda gruppi chimici non polari, come vibrazioni multiple della spina dorsale CC e

bande aromatiche forti e caratteristiche. Queste caratteristiche bande Raman forniscono informazioni dettagliate sulla conformazione della catena e sulla facile discriminazione dei sistemi polimerici a base aromatica.[3]

È necessaria un'analisi quantitativa semplice e robusta per determinare l'entità della funzionalizzazione del polistirene per creare un polimero idrosolubile. La nuova generazione di strumentazione Raman fornisce un sistema ad alte prestazioni piccolo, conveniente e facile da usare. Le forti bande Raman caratteristiche del gruppo aromatico insieme al segnale trascurabile dall'acqua consentono la semplice misurazione del polimero acquoso finale per determinare l'entità della reazione.

Valutazione iniziale della spettroscopia Raman per quantificare la reazione di funzionalizzazione del polimero

Gli spettri Raman del polimero di partenza iniziale e del polimero completamente funzionalizzato mostrano entrambi bande aromatiche caratteristiche forti per i polimeri iniziali e completamente funzionalizzati (vedi **Figura 1**). Le caratteristiche spettrali più forti per i polimeri di partenza e completamente funzionalizzati si osservano come

bande isolate a 1002 e 1132 cm^{-1} , rispettivamente. Queste caratteristiche spettrali uniche dimostrano che la spettroscopia Raman è adatta per l'analisi desiderata e supporterà un semplice metodo classico del rapporto di banda univariato o un metodo quantitativo basato su PLS (Partial Least Squares).

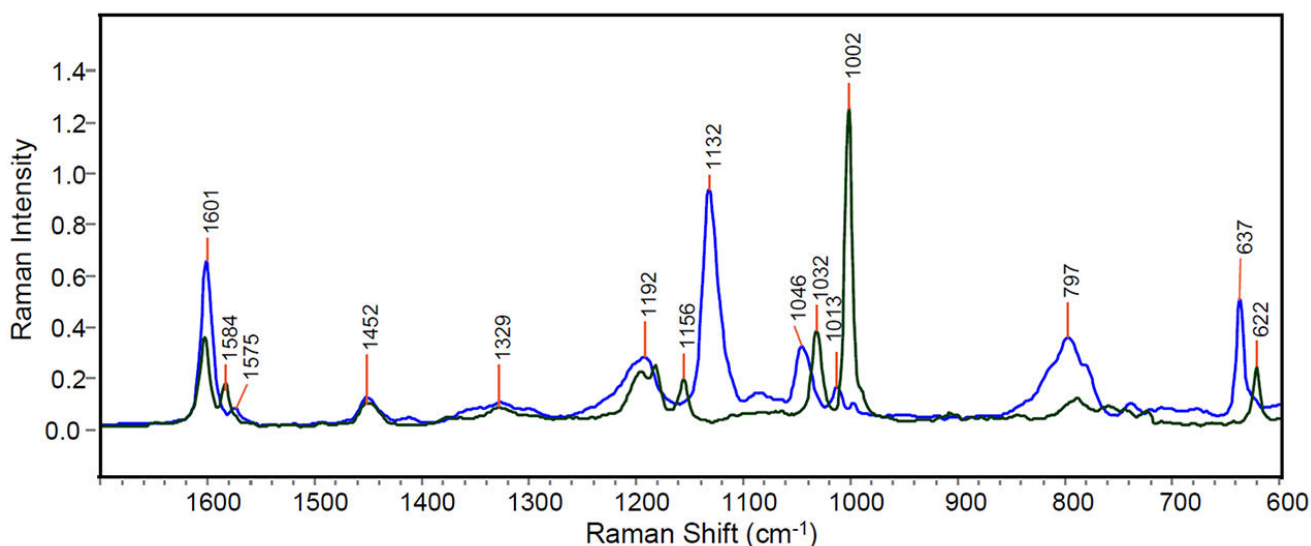


Figure 1. Gli spettri FT-Raman dei due componenti polimerici puri: il polistirene materiale di partenza (traccia verde) e il polimero completamente funzionalizzato (traccia blu) misurati a una risoluzione di 4 cm⁻¹ con eccitazione di 1064 nm

Risultati dell'analisi

Sono necessari metodi di analisi chemiometrica ben progettati che siano appropriati per un laboratorio di controllo della qualità dell'impianto (QC) per determinare l'entità della funzionalizzazione finale del polimero. Ciò richiede un sistema basato su esperti in cui l'interfaccia per l'analista QC è un semplice flusso di lavoro a pulsante.

La reazione di funzionalizzazione del polistirene comprende sia una fase organica che acquosa in cui il polimero idrosolubile desiderato è presente nella fase acquosa. L'analisi deve includere un modello

qualitativo (classificazione) preliminare per confermare che la fase corretta è stata campionata per l'analisi finale. La successiva analisi quantitativa per il polimero funzionalizzato acquoso utilizzerà un'analisi dei minimi quadrati parziali per una singola variabile (PLS1) per determinare la percentuale di polimero funzionalizzato con accuratezza e precisione ben definite. Questa strategia garantisce che l'analisi fornisca un sistema semplice e di facile utilizzo appropriato per l'ambiente del laboratorio di analisi dell'impianto multiutente.

Strumentazione

Gli spettri Raman sono misurati usando un'eccitazione di 1064 nm a ca. 495 mW, geometria di retrodiffusione a 180° e una gamma spettrale da 250 a 2500 cm⁻¹ con una risoluzione di 9,5 cm⁻¹ a 1296 nm. I componenti dello strumento includevano uno spettrometro B&W Tek i-Raman EX con un array di rivelatori InGaAs a 512 elementi raffreddati termoeletticamente. Una fibra ottica è interfacciata a un compartimento per campioni cuvetta/fiala chiuso (NR-LVH, B&W Tek). I campioni di polimero acquoso

(circa 10-20% in peso di solidi) vengono trasferiti in fiale con tappo a vite in borosilicato (altezza 4,5 cm, diametro esterno 1,5 cm, diametro interno 1,1 cm) per le misurazioni Raman. L'acquisizione dei dati viene eseguita utilizzando BWSpec v4.04 e include una sottrazione scura. Le soluzioni sono misurate utilizzando un tempo di esposizione di 500 ms e 264 accumuli per un tempo di misurazione totale di cinque minuti.

Software

Un pacchetto software di analisi multivariabile, BWIQ versione 3.0.6 (B&W Tek) è stato utilizzato per sviluppare sia la discriminazione qualitativa che i

metodi di analisi quantitativa. Il software includeva strumenti standard per il riconoscimento dei modelli, la classificazione e la chemiometria quantitativa.[4]

Analisi dei dati

Viene utilizzato un modello di classificazione per garantire che il campione fosse costituito dallo strato acquoso contenente il polimero piuttosto che dallo strato organico alifatico. L'analisi utilizzata per sviluppare il modello di classificazione PCA-MD includeva: partizione del campione (algoritmo di Kennard-Stone), preelaborazione spettrale

(centratura media, normalizzazione del valore massimo), selezione delle variabili (intervallo spettrale) e classificazione (analisi dei componenti principali-Mahalanobis Distance). Di seguito sono riportati i parametri selezionati per il modello di classificazione chemiometrico PCA-MD per gli spettri Raman misurati (vedi **Tabella 1**):

Tabella 1. Parametri per il modello di classificazione PCA-MD per gli spettri Raman misurati.

Parametro	Componente
Pretrattamento dei dati	Centro
Normalizzazione	Normalizzazione del valore massimo
Regressione	PCA_MD
Componenti principali	3
Numero d'onda	650 – 1700 cm ⁻¹

Una volta che gli spettri Raman misurati sono confermati per corrispondere a quelli del polimero solubile in acqua, è un modello parziale dei minimi quadrati impiegato per determinare l'entità della funzionalizzazione del polimero. Sono stati selezionati sessanta diversi polimeri idrosolubili con diversi gradi di funzionalizzazione del polistirene. I sistemi

variavano nel grado di funzionalizzazione dal 65-98% come determinato da ¹Spettroscopia H NMR. Di seguito sono riportati i parametri selezionati per il modello di quantificazione chemiometrico PLS1 % finale per gli spettri Raman misurati del polimero idrosolubile funzionalizzato (vedi **Tabella 2**).

Tabella 2. Parametri per il modello quantitativo PLS1 per % polimero funzionalizzato basato su spettri Raman.

Parametro	Componente
Pretrattamento dei dati	Scalabilità automatica
Derivata spettrale	Ordine della derivata seconda di Savitzky-Golay = 3, dimensione della finestra = 5
Regressione	PLS1
Componenti principali	6
Regione del numero d'onda	995-1200 cm^{-1}

I metodi sviluppati sono stati salvati nel linguaggio di marcatura della modellazione chemiometrica (CMML)

per un facile trasferimento al sito di produzione.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Valutazione iniziale dei dati Raman del polimero funzionalizzato

Gli spettri Raman misurati con lo spettrometro i-Raman EX del polimero basso, medio e altamente funzionalizzato mostrano un'eccellente specificità nella regione 900-1300 cm^{-1} (vedi **figura 2**). Una caratteristica aggiuntiva osservata a 981 cm^{-1} deriva da una specie inorganica. Un secondo pretrattamento spettrale derivato fornisce una linea di base ben definita e una risoluzione dei picchi aromatici desiderati per il polimero iniziale e funzionalizzato.

Una semplice analisi del rapporto di altezza del picco viene utilizzata per valutare la qualità dei dati Raman per determinare la funzionalizzazione del polimero. Dodici campioni che variavano nell'entità della funzionalizzazione del polimero come determinato è

stata selezionata la spettroscopia ^1H NMR. Successivamente le intensità dell'altezza del picco a punto singolo degli spettri della seconda derivata a 1126 e 1005 cm^{-1} sono determinati. L'analisi dell'altezza del picco delle due componenti (i = iniziale, F = finale) ha utilizzato il rapporto di queste due bande uniche per la banda componente F diviso per la somma delle due fasce componenti (i + F). L'intervallo atteso di questo rapporto sarà da 0 a 1, dove 1 corrisponde a un polimero funzionalizzato al 100%. Questa semplice analisi del rapporto di banda univariata ha portato a un'ottima linearità (vedi **figura 2**) confermando l'idoneità dei dati spettrali Raman a sviluppare un modello PLS1 quantitativo solido.

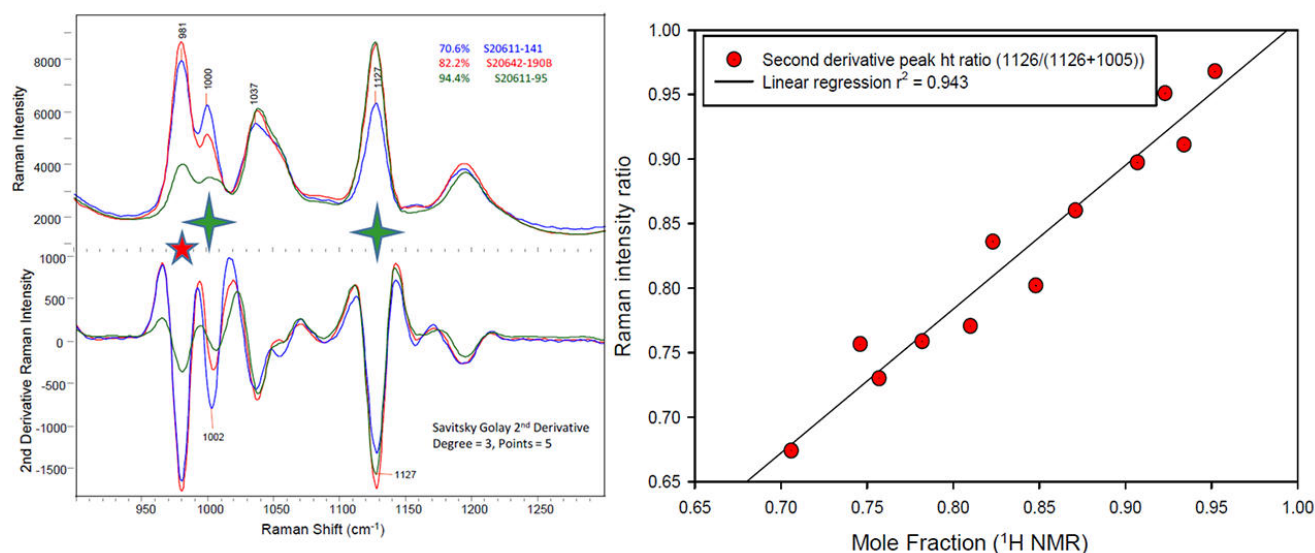


Figure 2. La sovrapposizione spettrale a sinistra mostra gli spettri Raman e i loro spettri di derivata seconda di tre diversi polimeri rappresentativi di sistemi bassi, medi e altamente funzionalizzati. La caratteristica spettrale a 981 cm⁻¹ (stella rossa) deriva da quantità variabili di una specie inorganica. Le bande altamente diagnostiche a 1002 e 1132 cm⁻¹ dalle specie polimeriche di partenza e funzionalizzate sono identificate con una stella verde. Il grafico di correlazione per il rapporto di altezza del picco semplice utilizzando le due bande diagnostiche rispetto all'estensione determinata dall'NMR 1H del polimero funzionalizzato è mostrato sulla destra.

Selezione standard

Un set di calibrazione ben progettato include la possibile variazione prevista dei campioni futuri. Ciò include gli intervalli di concentrazione dei costituenti, nonché la variabilità ambientale e indotta dal processo. Per la classificazione PCA-MD dei campioni di fase organica e acquosa, include più campioni di produzione sia dalla fase organica che da quella

acquosa. Per l'analisi quantitativa PLS1 finale, include oltre settanta campioni provenienti da esperimenti di progettazione del laboratorio di ricerca iniziale, lotti di impianti pilota e lotti di produzione che erano completamente caratterizzati dalla spettroscopia ¹H NMR.

PCA-MD Analisi della discriminazione di fasi organiche e acquose

L'analisi delle componenti principali (PCA) è un metodo chemiometrico in cui i dati spettrali originali vengono trasformati in un nuovo sistema di coordinate, che condensa le informazioni trovate nelle variabili originali intercorrelate in poche variabili non correlate, chiamate componenti principali. Il PCA può essere utilizzato per ridurre la dimensionalità azzerando uno o più dei componenti principali più piccoli. Ciò si traduce in una proiezione di dimensioni inferiori dei dati che preserva la massima varianza dei

dati.

Questa analisi multivariata rivela la struttura interna dei dati in un modo che consente una semplice spiegazione della varianza nei dati. In quanto tale, è uno strumento utile per la visualizzazione dei set di dati. In qualsiasi rotazione delle componenti principali, la prima componente rappresenta la proporzione massima della varianza e le componenti successive rappresentano la varianza rimanente. PCA consente chiaramente di raggruppare gli spettri

Raman in classi diverse. Il grafico del rapporto spiegato cumulativo quantifica quanta varianza viene spiegata nelle prime N componenti. In questa applicazione, tre (N) variabili spiegano il 98% della varianza. I metodi di analisi del cluster aggregano gli spettri Raman gradualmente, in base alla somiglianza delle loro caratteristiche spettrali (variabili). Una semplice misurazione della distanza del singolo spettro relativo ai vari cluster fornisce il riconoscimento del pattern. Una metrica di distanza standard include la distanza di Mahalanobis. In questo caso, la distanza di Mahalanobis è uno strumento

statistico accoppiato alla PCA e può essere considerata come la distanza di un punto dal centro di un cluster di componenti principali. Minore è la distanza di Mahalanobis, maggiore è la probabilità che il punto appartenga all'ammasso.

Un semplice modello di classificazione PCA-MD è stato sviluppato con successo utilizzando 37 spettri Raman di calibrazione e 34 di convalida. Il modello era accurato al 100% nella classificazione degli spettri Raman del training set sia per la fase organica che per quella acquosa.

Determinazione quantitativa basata su PLS1 della % di polimero funzionalizzato

La regressione PLS è una delle tecniche multivariate più popolari attualmente utilizzate nei metodi spettroscopici vibrazionali per analisi quantitative. Viene utilizzato per sviluppare un modello lineare tra due matrici, i dati spettrali Raman e i valori di riferimento. Il modello PLS trova la relazione empirica tra le due matrici (X e Y) e consente la previsione di una proprietà continua, come la funzionalizzazione % del polimero, dal set di addestramento. Nel caso degli spettri Raman degli standard, la variazione nel 1002 cm^{-1} e il 1127 cm^{-1} le caratteristiche spettrali sono altamente correlate con la funzionalizzazione % del polimero.

Il modello quantitativo sviluppato per il polimero % funzionalizzato utilizza un algoritmo basato su PLS1 (minimi quadrati parziali per una singola variabile). Lo spettro Raman utilizza la regione spettrale $995\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ che include bande diagnostiche sia dal polimero

di partenza che da quello reagito. Il pretrattamento dei dati includeva una seconda derivata. La performance complessiva del modello quantitativo finale è riassunta nel grafico del previsto (PLS) rispetto a noto (^1H NMR) % polimero funzionalizzato (vedi **Figura 3**). 29 standard di calibrazione (simboli blu) e 31 standard di convalida (simboli rossi) ove utilizzati. Un'eccellente linearità è stata osservata con un R^2 di 0,95 per gli standard di calibrazione e 0,87 per gli standard di validazione. L'RMSE (root mean square error) si basa sui residui dei dati di calibrazione e fornisce una semplice misura dei valori previsti. Questo è stato calcolato sia per gli standard di calibrazione (RMSEC) che di convalida (RMSEP), con un RMSEC di 1,22 e un RMSEP di 1,43. L'RME inferiore a due (<2) dimostra che il modello mostra buone prestazioni predittive.

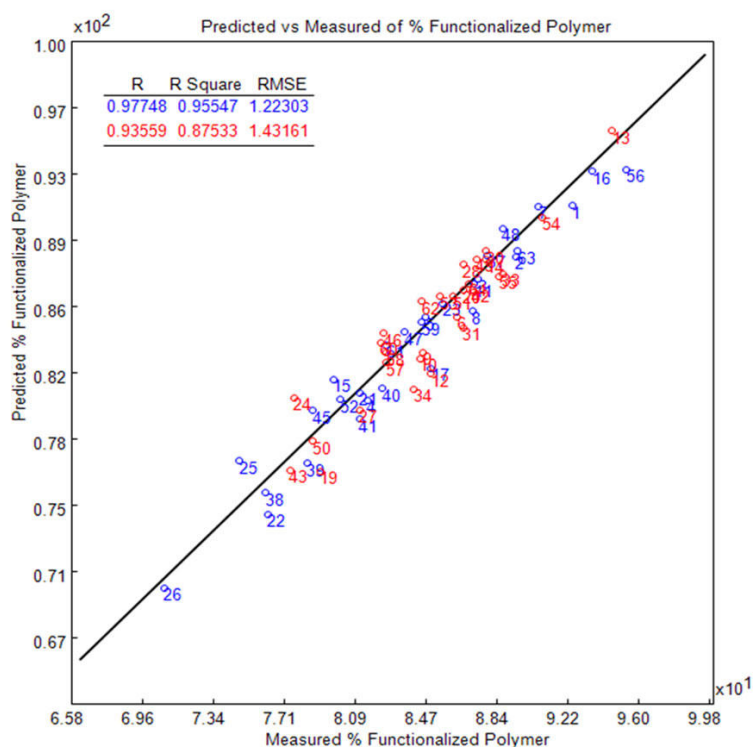


Figure 3. Grafico del previsto (PLS) rispetto al polimero funzionalizzato % misurato (^1H NMR). I simboli blu rappresentano la calibrazione e quelli rossi gli standard di validazione.

Precisione e accuratezza del modello Raman quantitativo PLS1

Il modello finale sviluppato fornisce una buona linearità tra il predetto (PLS) e saggiato (^1H NMR) sia per gli standard di calibrazione che di convalida. La **Tabella 3** riassume le prestazioni di precisione e accuratezza del modello PLS Raman quantitativo. Ciò include l'RMSEP degli standard di convalida (vedi

Figura 4) una misurazione standard di precisione di un giorno e di un lotto e infine l'RMSE medio calcolato per 16 lotti fabbricati successivi (cfr. **Figura 4**). La precisione osservata dello 0,49% e l'RMSE da 1,31 a 1,43 dimostrano le buone prestazioni statistiche di questo metodo Raman quantitativo.

Tabella 3. Selezionate misure statistiche di merito (precisione, accuratezza) per il PLS1 modello Raman quantitativo da determinare polimero % funzionalizzazione.

Merito statistico	Valore	Commenti
RMSEP	1,43%	Precisione: Figura 3 Modello PLS ¹
Precisione	0,49%	Un solo giorno, un solo lotto Raman di precisione
(Previsto - Saggio) Media RMSE	1,31%	Precisione: Figura 4 per 16 lotti aggiuntivi ¹

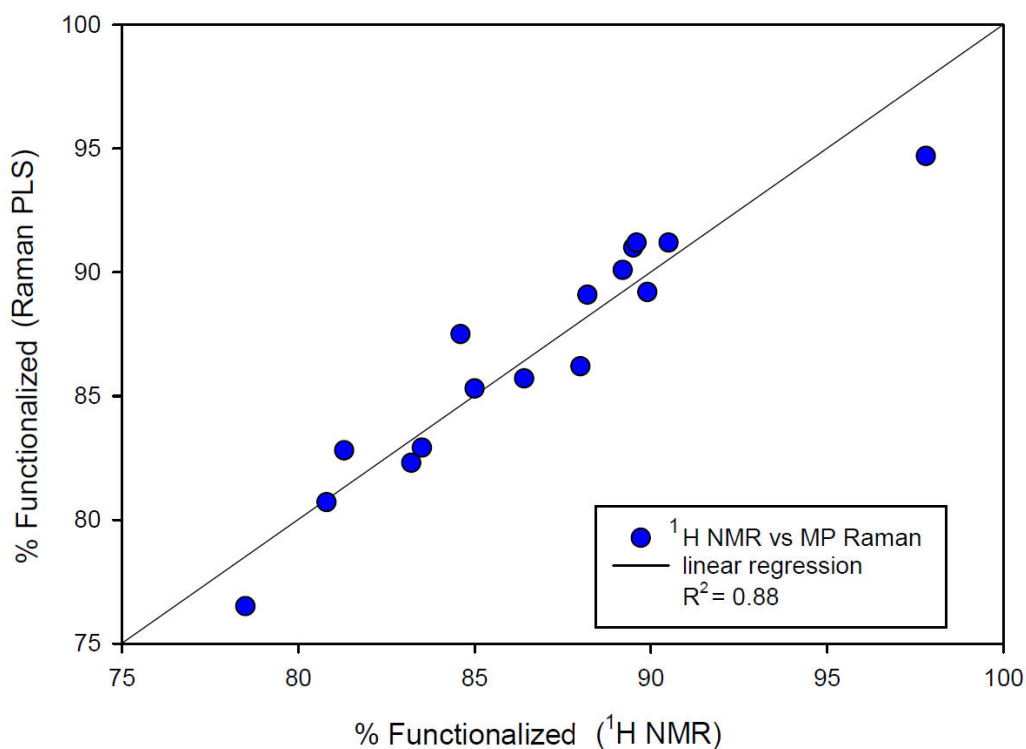


Figure 4. Convalida esterna dei lotti della seconda campagna di produzione. Raman ha previsto % di polimero funzionalizzato rispetto al valore determinato NMR.

CONCLUSIONE

Gli spettri Raman di alta qualità di un polimero idrosolubile a base acquosa (10-20% di solidi) vengono misurati rapidamente e facilmente utilizzando lo spettrometro i-Raman EX. Lo spettro Raman garantisce bande uniche e forti sia per il polimero iniziale che per quello totalmente reazionato. Ciò consente lo sviluppo di un'analisi quantitativa semplice e robusta della

funzionalizzazione percentuale del polimero utilizzando un modello chemiometrico PLS1 con il software fornito dal fornitore (BWIQ). Il metodo Raman finale mostra un'eccellente linearità, accuratezza e precisione. Questo metodo Raman è ora utilizzato di routine in un laboratorio di controllo della qualità dell'impianto (QC) multiutente.

RINGRAZIAMENTI

Ringraziamo con gratitudine Ian Anderson, Michael Lynch, Michele Astrove, Boyu Li e Peter J. Larkin di Solvay Technology Solutions per aver fornito le risorse necessarie per svolgere questo studio e per il

permesso di pubblicare questo lavoro. Ringraziamo anche Katherine Bakeev (B&W Tek) per utili discussioni sulle metodologie di classificazione.

RIFERIMENTI

1. NJ Sempre, JM Chalmers, PR Griffiths, "Spettroscopia vibrazionale dei polimeri: principi e pratica", John Wiley & Sons, Chichester, 2007
2. JL Koenig, "Spettroscopia di polimeri" Società chimica americana, Washington, DC, 1991
3. PJ Larkin, "Spettroscopia a infrarossi e Raman, principi e interpretazione spettrale, seconda Edizione", Elsevier, Cambridge, MA, 2018
4. M. Otto, "Chemometria: statistica e applicazione del computer nella chimica analitica", Wiley-VCH Verlag GmbH et Co. KGaA, Weinheim, 2017

CONTACT

Metrohm Italiana Srl
Via G. Di Vittorio, 5
21040 Origgio (VA)

info@metrohm.it