

Verbesserte Messung flüssiger Proben mittels FTIR

Das Cary 630 FTIR-Spektrometer mit DialPath-Modul bietet Vorteile gegenüber Messungen mittels abgeschwächter Totalreflexion (ATR).



Autoren

Frank Higgins und Alan Rein
Agilent Technologies, Inc. USA

Einleitung

Die Sicherstellung der Qualität eintreffender Ausgangsmaterialien sowie von Fertigprodukten der Rohstoffindustrie, der kosmetischen, chemischen und pharmazeutischen Industrie sowie anderer herstellender Industriezweige ist wichtig und die FTIR-Spektroskopie wird zu diesem Zweck häufig eingesetzt. Handelt es sich bei diesen Materialien um Flüssigkeiten, gibt es für die Analyse derzeit zwei mögliche Analysemethoden: die Transmissionsspektroskopie und die ATR-Spektroskopie (die Messung mittels abgeschwächter Totalreflexion).

Vor 1980 kam nur die Transmissionsmethode zur Analyse von Flüssigkeiten mittels IR-Spektroskopie im mittleren Wellenlängenbereich zum Einsatz. Bei den Transmissionsmesszellen gab es zwei Arten: geschlossene Messzellen oder Zellen mit variabler Schichtdicke. Geschlossene Messzellen wurden vom Hersteller aus einem für die Applikation geeigneten Fenstermaterial hergestellt und auf eine feste Schichtdicke eingestellt. Flüssige Proben wurden mit Spritzen und Fittings des Luer-Lock-Typs in die geschlossene Messzelle eingeführt. Diese Zellen waren für weniger viskose Flüssigkeiten geeignet. Bei der Messung von Flüssigkeiten mit höherer Viskosität gab es jedoch Probleme beim Füllen und Reinigen der Messzelle.

Messzellen mit variabler Schichtdicke hatten herausnehmbare Fenster, die es dem Benutzer ermöglichten, die Schichtdicke für eine bestimmte Applikation mithilfe zugeschnittener Abstandshalter, meist aus PTFE, anzupassen. Diese Zellen boten mehr Flexibilität als Messzellen mit fester Schichtdicke, hatten aber den Nachteil, dass Leckagen und spektrale Interferenzen auftreten konnten, was die Leistung beeinträchtigte.

Nach 1980 kamen zahlreiche Flüssigkeitsmesszellen des ATR-Typs auf den Markt. Da diese Zellen einfacher in der Handhabung waren, stieg ihre Popularität so stark an, dass heute ATR (sowohl für Feststoffe als auch für Flüssigkeiten) die am häufigsten eingesetzte Messmethode in der IR-Spektroskopie im mittleren Wellenlängenbereich ist. Bei der Messung mittels abgeschwächter Totalreflexion (ATR-Messung) wird die Schichtdicke durch die Eindringtiefe der evaneszenten Welle, die abhängig von der Wellenlänge ist, definiert und mit der Anzahl an Reflexionen multipliziert. Daher liegt die maximale Schichtdicke, die mit dem typischen Material für ein ATR-Element (Diamant oder ZnSe) erzielt werden kann, üblicherweise bei nicht mehr als ungefähr 12 bis 15 µm. Die Messung mittels abgeschwächter Totalreflexion ist gut geeignet für Messungen mit kleiner Schichtdicke (reine Flüssigkeiten oder undurchsichtige Lösungen mit Analyten in höherer Konzentration im mittleren IR-Bereich), während für Messungen mit größerer Schichtdicke im mittleren IR-Bereich die Transmissionspektroskopie mit der Verwendung von Messzellen mit fester oder variabler Schichtdicke, wie oben beschrieben, noch immer der Standard ist.

DialPath verändert, wie Flüssigkeiten mittels FTIR analysiert werden

Die Agilent DialPath-Technologie ist eine innovative Art und Weise, Flüssigkeiten zu messen. Das DialPath-Modul vereint die variable Schichtdicke der klassischen Transmissionsmesszelle mit der Benutzerfreundlichkeit und Unkompliziertheit der ATR-Methode. Bei dieser Technologie (Abbildung 1) wird ein drehbarer optischer Kopf eingesetzt, um eine von drei werkseitig kalibrierten, festen Schichtdicken zwischen 30 und 1000 µm auszuwählen. Zur Untersuchung einer Probe wird ein kleiner Tropfen der flüssigen Probe zwischen zwei horizontal angeordnete Fenster des DialPath-Moduls, wie in Abbildung 1 und Abbildung 2 (Mitte) gezeigt, gegeben. Die Flüssigkeit ist zwischen den zwei Fenstern eingeschlossen und der Abstand zwischen den beiden Fenstern definiert die äußerst reproduzierbare optische Schichtdicke. Für Proben mit geringer Konzentration wird eine größere Schichtdicke ausgewählt, für höher konzentrierte Proben wird eine kleinere Schichtdicke verwendet. Die zwei Fenster können einfach sauber gewischt werden, um das Gerät für die nächste Probe vorzubereiten.

Das Agilent TumbIR-Modul, das die gleiche Technik wie das DialPath-Modul verwendet, verfügt nur über eine Schichtdicke, nicht über drei. Beide Module sind permanent justiert und können einfach an der Vorderseite des Cary 630 FTIR-Systems angebracht werden (Abbildung 3).

Der Analyzer hat viele Vorteile gegenüber der älteren Technik mit Transmissionsmesszelle:

- Er ermöglicht die sofortige Auswahl einer von drei unterschiedlichen Schichtdicken je nach Bedarf.
- Zur Änderung der Schichtdicke ist keine Zerlegung erforderlich.
- Es sind keine Abstandshalter erforderlich, Leckagen und Interferenzen an der Zelle werden eliminiert.
- Zur Probenaufgabe ist kein automatischer Probengeber erforderlich.
- Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Viskosität können gleichermaßen effizient untersucht werden.
- Flüchtige Analyten und Lösemittel können genau gemessen werden.
- Die Probenaufreinigung geht sehr schnell vonstatten.
- Proben können schnell analysiert werden.
- Es sind kein weiteres Zubehör und keine weiteren Verbrauchsmaterialien (Zellfenster, Abstandshalter, Reinigungsmaterial usw.) erforderlich.

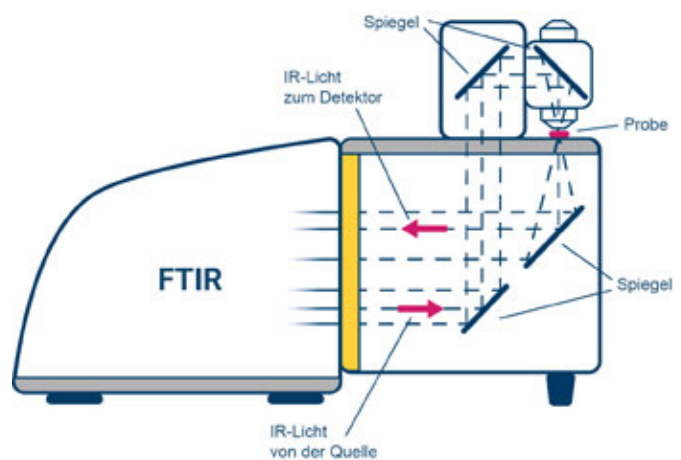


Abbildung 1: Graphische Darstellung des Strahlengangs durch das DialPath-Modul und das Cary 630 FTIR-Spektrometer.

1 Stellen Sie sicher, dass der Kristall sauber ist



2 Geben Sie die Probe auf das Fenster



3 Drehen Sie den DialPath-Regler auf die zur Analyse erforderliche Weglänge



Abbildung 2: Analyse flüssiger Proben. Drei Schritte für die Analyse mit dem DialPath-Modul.



Abbildung 3: Agilent Cary 630 FTIR-Spektrometer, das mit dem exklusiv von Agilent angebotenen DialPath-Modul ausgerüstet ist. Das Cary 630 ist ein sehr kompaktes, einfach bedienbares Hochleistungs-FTIR-Spektrometer. In Kombination mit der DialPath-Technologie entsteht ein leistungsstarkes Gerät für die Analyse von Flüssigkeiten.

Experimentelles und Ergebnisse

Die Flüssigkeiten Propylenglykol, Glycerol, Triacetin und Dipropylenglykol werden als Additive in Lebensmitteln, Arzneimitteln und Kosmetika verwendet. Diese Additive werden mittels DialPath-Technologie analysiert, um ihre Identität und Reinheit zu überprüfen. Um qualitativ hochwertige IR-Spektren im mittleren Wellenlängenbereich zu erhalten, wurde die kleine Schichtdicke von 30 μm ausgewählt, um sicherzustellen, dass die Extinktion der Probe innerhalb des Messbereichs des Geräts liegt. Die Spektren (Abbildung 4), die aus 64 aufaddierten Interferogrammen mit einer Auflösung von 4 cm^{-1} bestehen, wurden innerhalb von ungefähr 30 Sekunden aufgenommen. Diese Spektren wurden dann mit Referenzspektren aus einer Bibliothek des Systems verglichen und erzielten eine Qualität der Übereinstimmung von mehr als 0,99 für jedes Spektrum (auf einer Skala von 0 bis 1,000, wobei 1,000 eine perfekte Übereinstimmung bedeutet). Die Qualität der Übereinstimmung bestätigt die Identität und Reinheit der vier Flüssigkeiten.

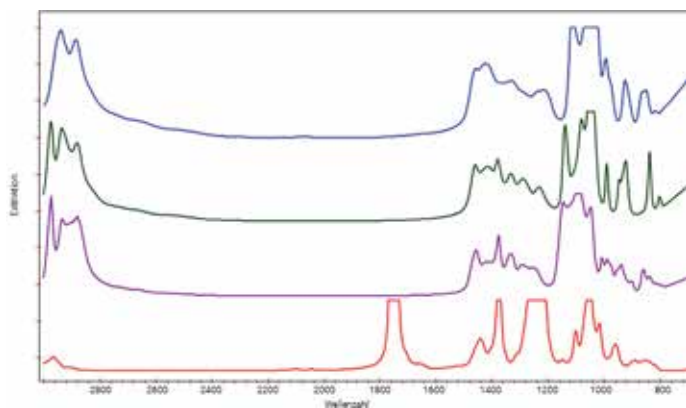


Abbildung 4: Spektren der Produktverbindungen, die mit einem DialPath-Modul mit einer Schichtdicke von 30 μm aufgenommen wurden. Blau = Glycerol, rot = Triacetin, grün = Propylenglykol und violett = Dipropylenglykol.

In diesen Produktverbindungen liegen Verunreinigungen in geringen Konzentrationen vor, die bestimmt werden müssen, da es für sie festgelegte Schwellenwerte gibt, die bei für den menschlichen Gebrauch bestimmten Produkten nicht überschritten werden dürfen. Reine Proben der zwei Hauptverunreinigungen, Ethylenglykol und Diethylenglykol, wurden mit der Einstellung der Schichtdicke auf 30 µm analysiert. Die Spektren der zwei Verunreinigungen ähneln sich stark (Abbildung 5) und ähneln auch den Spektren der Produktverbindungen. Um die Verunreinigungen zu quantifizieren, wurde eine Reihe von Kalibrierungsproben mit jeweils unterschiedlichem Anteil an beiden Verunreinigungen in jeder der einzelnen Produktverbindungen hergestellt. Gemäß dem Lambert-Beerschen Gesetz erhöht sich die Extinktion der Verunreinigung im Infrarotbereich proportional zur Konzentration der Verunreinigung. Für jede Verunreinigung in den Produktverbindungen wurde eine separate Kalibrierung unter Verwendung eines Algorithmus der partiellen kleinsten Quadrate (PLS) entwickelt. Die PLS-Chemometrik ermöglicht eine genaue Modellierung des molaren Extinktionskoeffizienten der relevanten Absorptionsbanden von Ethylenglykol und Diethylenglykol in allen Additiven.

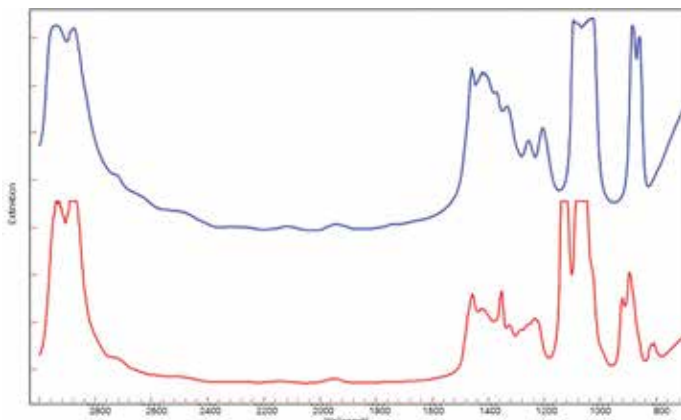


Abbildung 5: Spektren der Verunreinigungen Ethylenglykol (blau) und Diethylenglykol (rot), die mit einer Schichtdicke von 30 µm aufgenommen wurden. Die Spektren ähneln sich untereinander stark und ähneln auch den Spektren der Produktverbindungen.

Da sich die Spektren der Verunreinigungen und der Additive so stark ähneln, wurden für die Messung spezifische Wellenlängenbereiche verwendet. Im Falle des Glycerols beispielsweise erwiesen sich die spektralen Bereiche von 875 bis 905 cm⁻¹ und von 1130 bis 1200 cm⁻¹ als effektive Bereiche zur Messung der Banden der Verunreinigungen. Die Schichtdicke von 100 µm war jedoch zu groß und

verdeckte die relevanten Banden (Abbildung 6), während die Schichtdicke von 30 µm nicht das für die Messung der Verunreinigung erforderliche Maß an Empfindlichkeit bot. Aus diesem Grund wurde die Schichtdicke von 75 µm für die Durchführung der Analyse ausgewählt.

Diese Schichtdicke liefert im relevanten Bereich genügend Transparenz und ist gleichzeitig eine geeignete Schichtdicke für die Messung der Verunreinigungen. Auf der Grundlage der partiellen kleinsten Quadrate basierende Kalibrierungen für die Verunreinigungen in Glycerol (Abbildung 7) ergaben einen Wert für R² von 0,9895 für Ethylenglykol und von 0,9745 für Diethylenglykol. Auf der Grundlage dieser Kalibrierungen wurden Quantifizierungsgrenzen (LOQ) von ungefähr 0,075 Vol.% und Nachweisgrenzen (LOD) von ungefähr 0,04 Vol.% für die beiden Verunreinigungen in Glycerol erzielt. Da die Quantifizierungsgrenze unter der Grenze der FDA von 0,1 Vol.% liegt, kann der Benutzer sicher sein, dass das Glycerol sauber ist, und die viel niedrigere Nachweisgrenze ermöglicht es dem Benutzer, das Herstellungsverfahren zu optimieren, um die Verunreinigungen in diesen Verbindungen zu minimieren. Die Agilent MicroLab Software führt automatisch alle Berechnungen direkt nach der Datenakquisition durch und stellt die Endergebnisse in einem leicht verständlichen Format dar. Der für die Methodenentwicklung zuständige Chemiker kann Schwellenwerte für eine Farbkodierung der Ergebnisse einstellen und definieren, ob aufgrund des Ergebnisses Handlungsbedarf besteht (Abbildung 8).

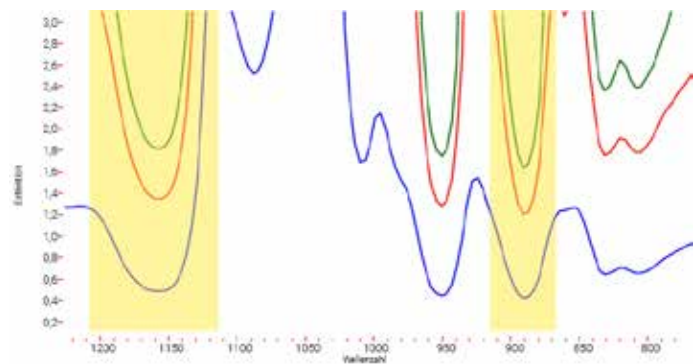


Abbildung 6: Für Glycerol ist die Schichtdicke von 100 µm (grün) zu undurchlässig und die Schichtdicke von 30 µm (blau) erzielt für die Verunreinigungen keine ausreichende Nachweisgrenze. Die Schichtdicke von 75 µm liefert die nötige Empfindlichkeit, um Verunreinigungen in relevantem Ausmaß nachzuweisen. Die gelb unterlegten Bereiche markieren die spektralen Bereiche, die sich als effizient für die Messung von Banden, die von den Verunreinigungen stammen, erwiesen haben.

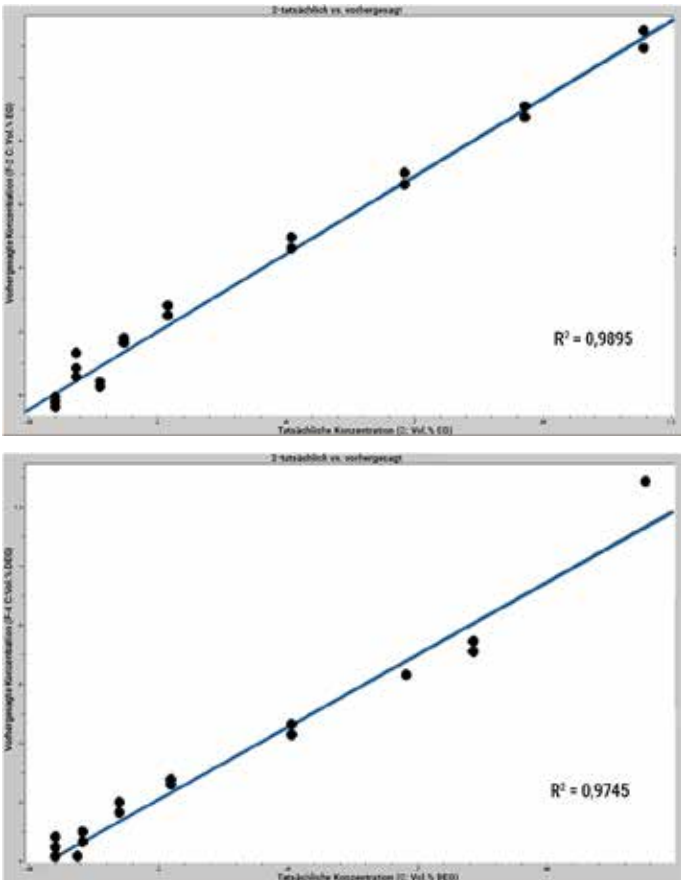


Abbildung 7: Kalibrierkurven von Ethylenglykol (oben) und Diethylenglykol (unten) in Glycerol. Die Kalibrierkurven der Verunreinigungen in Glycerol zeigen jeweils einen sehr guten Wert für R^2 und eine Nachweisgrenze von 0,04 Vol.-%.

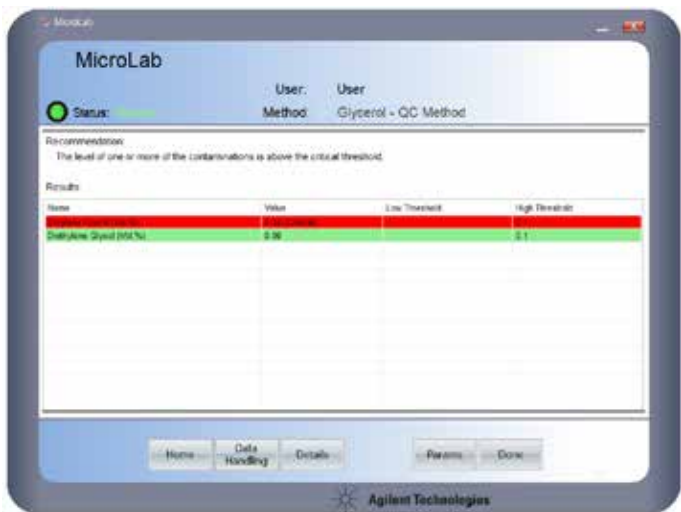


Abbildung 8: Die Agilent MicroLab Software zeigt die Analyseergebnisse für die Verunreinigung Ethylenglykol in Glycerol an. Farb-kodierte, klar erkennbare Ergebnisse werden direkt nach der Datenakquisition gemäß den eingestellten Schwellenwerten der Methode ausgegeben. Die rot unterlegte Zeile weist darauf hin, dass der Anteil an Verunreinigung den spezifizierten Wert überschreitet.

Die Messung von Verunreinigungen in Glycerol ist ein hervorragendes Beispiel für die Bedeutung der Möglichkeit, die richtige Schichtdicke auswählen zu können, um für entscheidende Messungen die optimale Empfindlichkeit zu erzielen. Aufgrund der Viskosität von Glycerol würde ein Analytiker für die Messung eine ATR-Methode auswählen, da die herkömmliche Flüssigkeitsmesszelle für Transmissionsmessungen schwierig mit viskosen Flüssigkeiten zu füllen ist. Die ATR-Methode würde für reines Glycerol Spektren in sehr guter Qualität liefern. Durch die begrenzte Schichtdicke der Methode wäre aber eine Quantifizierung der Verunreinigungen nicht in dem Maße möglich, wie sie mit der Schichtdicke von 75 µm erzielt wird. Die DialPath-Technologie ist so einfach anzuwenden wie eine ATR-Zelle, sowohl bei der Probenzuführung als auch bezüglich der Probenaufreinigung.

Ähnliche Verfahren wurden für den Nachweis von Ethylenglykol und Diethylenglykol in den Additiven Triacetin, Propylenglykol und Dipropylenglykol durchgeführt. Für den Nachweis dieser Verunreinigungen in Triacetin beispielsweise ergab die Schichtdicke von 100 µm optimale Ergebnisse. Der Grund hierfür ist die Tatsache, dass Triacetin relativ transparente Bereiche in seinem Spektrum zwischen 812 und 939 cm^{-1} sowie zwischen 1100 und 1200 cm^{-1} (wie in Abbildung 4 gezeigt) aufweist, die sich gut für den Nachweis der Banden der Verunreinigungen eignen. Triacetin ist in diesem Bereich noch weniger optisch undurchlässig als das im vorherigen Beispiel beschriebene Glycerol, was die Verwendung der größeren Schichtdicke ermöglicht. Die Kalibrierung der Verunreinigungen in Triacetin mit der Methode der partiellen kleinsten Quadrate erzielte Werte für R^2 für Ethylenglykol und Diethylenglykol von 0,9997 bzw. 0,9998 und Nachweisgrenzen von 0,04 Vol.-% für Ethylenglykol und von 0,02 Vol.-% für Diethylenglykol. Messungen von Triacetinproben mit diesen Kalibrierungen ergaben, dass der Anteil an Verunreinigungen im spezifizierten Bereich liegt. Für Diethylenglykol wurde ein geringer Anteil (0,04 % oder 400 ppm) nachgewiesen, was eventuell genauerer Untersuchung bedarf.

Schlussfolgerungen

Die Einfachheit der Methode insgesamt ist der Hauptgrund dafür, dass ATR-Analysen reiner Flüssigkeiten und/oder von Analyten in höherer Konzentration so populär geworden sind. Die ATR-Messung bietet jedoch nur eine begrenzte Auswahlmöglichkeit in Bezug auf die Schichtdicke und ist nicht geeignet bei Messungen von Analyten in geringeren Konzentrationen. Dies zeigt sich sehr gut bei den Beispielen in dieser Studie, deren Ziel es war, Verunreinigungen in geringen Konzentrationen und mit Spektren, die denen der erwünschten Produkte ähneln, zu quantifizieren, um sicherzustellen, dass eintreffende Additive den Herstellungsspezifikationen entsprechen.

In diesem Beispiel waren Transmissionsmessungen nötig, um die erforderlichen Quantifizierungsgrenzen zu erreichen. Dies ist allerdings mit herkömmlichen Flüssigkeitsmesszellen für die Transmissionsmessung mühsam und unter Umständen weniger genau, insbesondere bei Flüssigkeiten, die so viskos sind wie Glycerol.

Das Cary 630 FTIR mit DialPath-Modul ermöglicht es dem Benutzer, schnell und genau die richtige größere Schichtdicke, die für den Nachweis von Analyten in geringeren Konzentrationen erforderlich ist, auszuwählen und bietet die Möglichkeit, eine kleinere Schichtdicke für den Einsatz bei der Identitätsüberprüfung von Flüssigkeiten auszuwählen. Gleichzeitig ermöglicht die DialPath-Technologie, dass diese Messungen in Situationen, in denen die kleinere Schichtdicke geeignet ist, genauso schnell und einfach ausgeführt werden können wie ATR-Messungen. Tatsächlich erübrigt sich mit der DialPath-Technologie der Einsatz der ATR-Messungen für die Untersuchung vieler reiner Flüssigkeiten zur Identitätsüberprüfung, da diese Technologie genauso schnell und einfach eingesetzt werden kann wie ATR-Messungen.

www.agilent.com/chem/cary630

DE44340.9346296296

Änderungen vorbehalten.

© Agilent Technologies, Inc. 2021
Gedruckt in den USA, 28. Mai 2021
5990-8538DEE