



Application Note AN-RS-034

Scansione raster orbitale (ORSTM)

Campionamento più sicuro e rappresentativo con Raman a 785 nm

La capacità di un sistema ottico di raccogliere in modo efficace la luce è detta rapidità ottica. In un mondo ideale di campioni omogenei, il sistema spettroscopico Raman avrebbe bisogno solo di un piccolo spot laser con un'apertura di dimensioni simili per catturare spettri ad alta risoluzione. Tuttavia, le cose sono più complicate di così. Per identificare tutti i componenti in un campione eterogeneo occorre un'area di interrogazione più grande. Per poterla ottenere, si potrebbero aumentare le dimensioni dello spot laser per coprire un'area maggiore. Purtroppo, l'alta risoluzione necessita di un'apertura piccola, il che riduce la quantità di luce Raman che un sistema è in grado di catturare, sacrificando così la sensibilità. In

alternativa, si potrebbe usare un'apertura piccola mentre si muove rapidamente (scansione raster) un laser strettamente focalizzato su un campione, per raccogliere le informazioni da un'area più grande del campione. Questo è il principio su cui si basa il metodo Orbital Raster Scanning (ORS™) sviluppato da Metrohm Raman.

La tecnologia ORS è un modo brevettato da Metrohm Raman per superare il problema della risoluzione bassa, della scarsa sensibilità e della degradazione del campione quando si sta ancora interrogando un'area grande del campione. Nella presente Application Note viene illustrata questa tecnologia in una varietà di applicazioni.

INTRODUZIONE

Figura 1 mostra una rappresentazione grafica della scansione raster orbitale, che è definita come lo

spostamento rapido di un raggio laser ben focalizzato su un'ampia area.

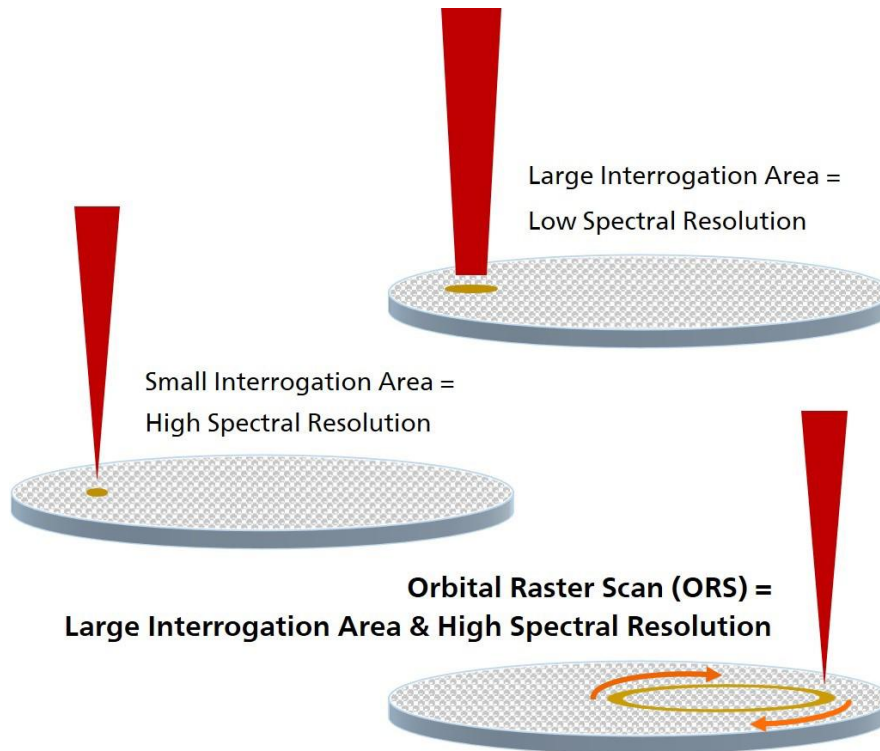


Figure 1. ORS raccoglie rapidamente le informazioni più rappresentative e della massima qualità su qualsiasi campione.

La spettroscopia Raman viene utilizzata in molte applicazioni e settori diversi in cui è essenziale disporre di dati di alta qualità. Le capacità dei sistemi MIRA (Metrohm Instant Raman Analyzer) e MISA (Metrohm Instant SERS Analyzer) di Metrohm Raman

con ORS sono evidenziate in tre diverse applicazioni di seguito: regolazione farmaceutica, identificazione dei materiali e campionamento di substrati SERS (Surface Enhanced Raman Scattering).

ORS E CAMPIONAMENTO RAPPRESENTATIVO NEI PRODOTTI FARMACEUTICI

La Farmacopea Europea (Ph. Eur. o EP) è uno standard completo per la produzione di medicinali, il controllo di qualità dei medicinali e delle materie prime e gli strumenti utilizzati per eseguire tali test. Gli spettrometri Raman sono sempre più utilizzati per il controllo di qualità dei medicinali perché sono facili

da usare, flessibili e forniscono misurazioni rapide e non distruttive. Un capitolo recentemente rivisto, **Ph. Eur. 2.2.48 Spettroscopia Raman**, si concentra sugli aspetti che migliorano l'affidabilità dei risultati e cita specificamente ORS [1].

«Quando si utilizza la spettroscopia Raman [...] è

necessario prestare attenzione per garantire che la misurazione sia rappresentativa. Ciò può essere ottenuto, ad esempio, ruotando il campione, eseguendo misurazioni multiple su diverse preparazioni del campione, utilizzando la scansione raster orbitale (ORS) [...]» [1]

I prodotti farmaceutici sono miscele di eccipienti e principi attivi farmaceutici (API) in proporzioni attentamente controllate. Il campionamento

representativo può essere un problema con il piccolo diametro del raggio della maggior parte dei sistemi Raman (40–200 μm) e la piccola dimensione delle particelle (in media 36–39 μm) nelle compresse [2]. Gli spettrometri MIRA e MISA con ORS rastrellano il laser attorno a un cerchio di 2000 μm di diametro per interrogare una vasta area in un tempo molto breve e catturare tutti gli ingredienti in un'unica scansione.



ORS E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Tutti i sistemi MIRA e MISA utilizzano una bassa potenza laser per raccogliere spettri ad alta risoluzione. Ciò risulta dalla combinazione di eccitazione laser a 785 nm e di un design spettrografo brevettato ad alta durata «spazio libero». Ad esempio, i laser ≤ 50 mW sono sufficienti per una buona acquisizione del segnale Raman a 785 nm nei sistemi

MIRA e MISA, mentre i sistemi a 1064 nm devono impiegare laser da 420 ± 30 mW per compensare lo scarso rapporto segnale-rumore e la ridotta dispersione Raman mostrata a lungo lunghezze d'onda. La combinazione di bassa potenza laser e ORS è ideale per l'interrogazione di materiali sensibili, come sostanze altamente colorate e volatili.

Identificazione Raman del polistirene

Un confronto tra i sistemi Raman convenzionali a 1064 nm e MIRA XTR DS 785 nm nell'interrogazione del fusto in plastica di una penna a sfera mostra

chiaramente il vantaggio di combinare bassa potenza laser e ORS (figura 2).

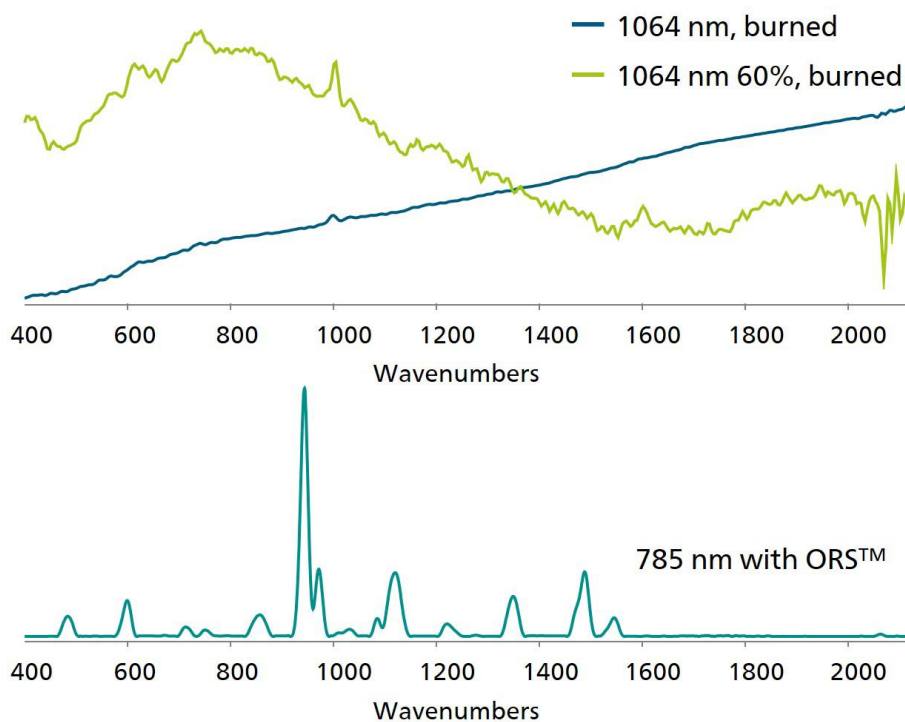


Figure 2. Un confronto di spettri Raman raccolti da una penna di plastica grigia, con sistemi a 1064 nm e 785 nm.

Il cratere a sinistra nella **Figura 3** è stato creato quando un sistema laser fisso a 1064 nm al 100% di potenza ha bruciato il campione. Il secondo test al

60% di potenza laser ha dato lo stesso risultato (**Figura 3**, a destra) ed entrambi i test non sono riusciti a identificare il materiale.



Figure 3. Penna in plastica grigia, bruciata con sistema a 1064 nm e identificata come polistirene con MIRA XTR DS.

MIRA XTR DS ha raccolto dati di alta qualità senza danni al campione e ha identificato la plastica come polistirene, con un Hit Quality Index (HQI) di 0,91. Ciò

indica un'elevata correlazione tra lo spettro del campione e uno spettro della libreria.

Identificazione Raman dell'etere di polifenilene (PPE)

Un secondo esempio di campionamento non distruttivo e identificazione positiva del materiale con

un sistema MIRA può essere visto in Figura 4.

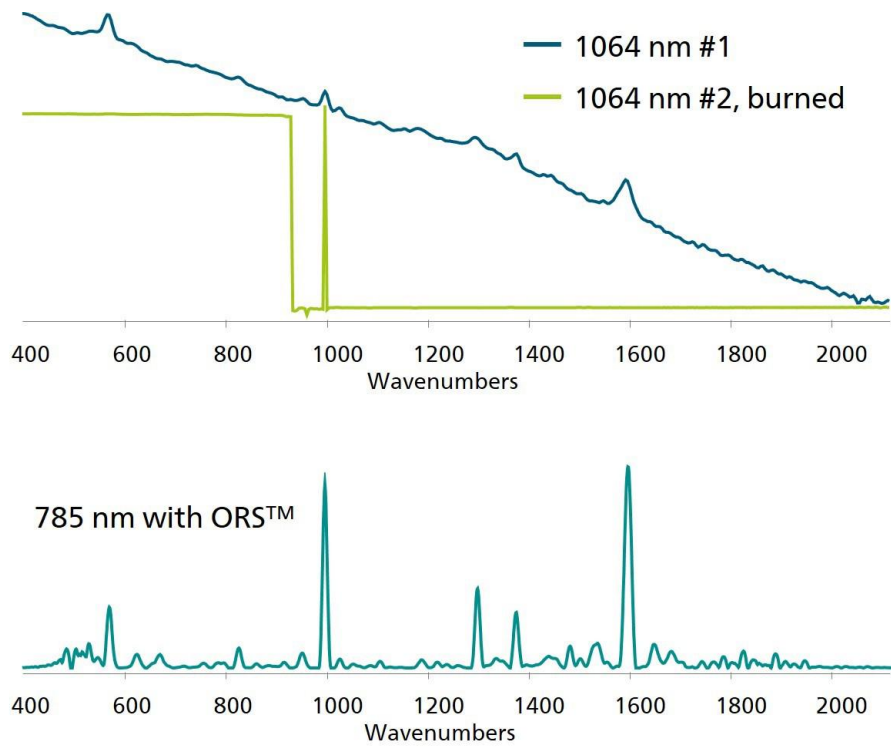


Figure 4. Un confronto di spettri Raman raccolti da un materiale colorato con sistemi a 1064 nm e 785 nm.

Il primo test con il sistema laser fisso a 1064 nm ha prodotto uno spettro a bassa risoluzione, sebbene con alcuni picchi Raman identificabili. La seconda

prova ha bruciato il materiale (Figura 5) e non ha fornito informazioni utili.



Figure 5. Esempio di masterizzazione di campioni con un sistema a 1064 nm. Questo materiale è stato identificato come etere di polifenilene (PPE) con MIRA XTR DS.

Anche in questo caso, MIRA XTR DS ha identificato facilmente questo materiale, fornendo un'identificazione positiva di DPI con HQI = 0,91. Bisogna riconoscere che questi risultati possono avere

successo a causa di una combinazione di fattori: laser a bassa potenza a 785 nm e ORS. La seguente applicazione si concentrerà interamente sul potere di ORS di migliorare i risultati per materiali eterogenei.

ORS E CAMPIONAMENTO DI SUBSTRATI P-SERS

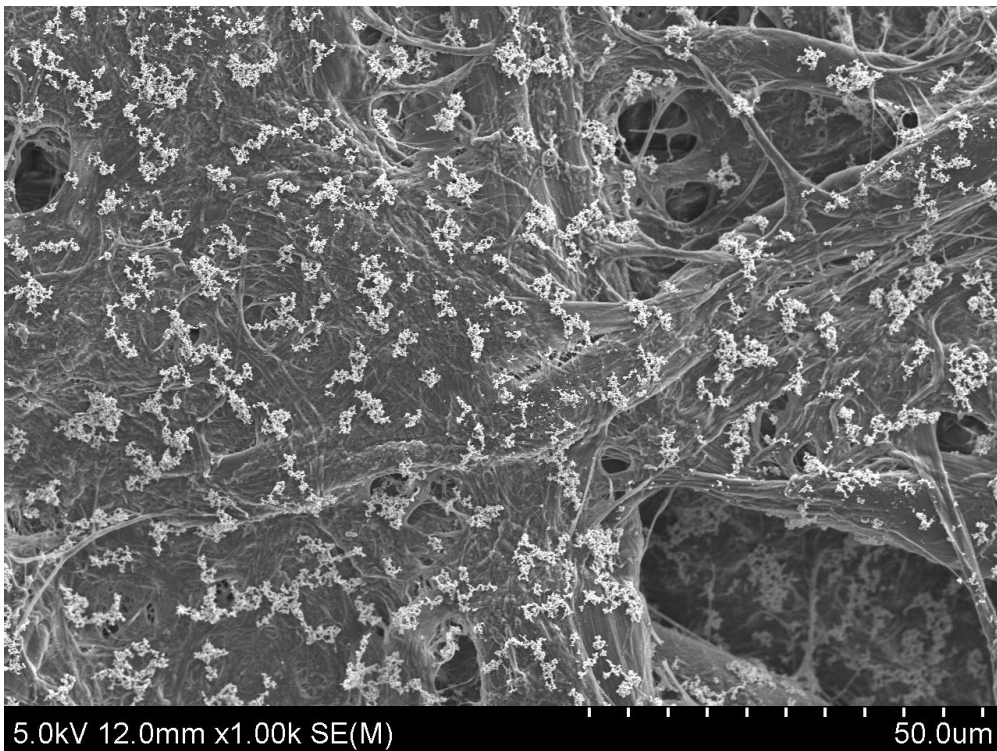
I P-SERS sono substrati cartacei incorporati con nanoparticelle che migliorano il segnale Raman e consentono il rilevamento molto sensibile di analiti in

tracce con SERS. P-SERS sono utilizzati con MISA, un sistema Raman portatile a 785 nm dotato di ORS.



Gli inchiostri preparati da colloidali d'argento e d'oro vengono utilizzati per stampare substrati P-SERS, determinando una distribuzione eterogenea di

nanoparticelle sulle fibre di carta [3]. Questo può essere visto nelle immagini SEM qui sotto (Figura 6).



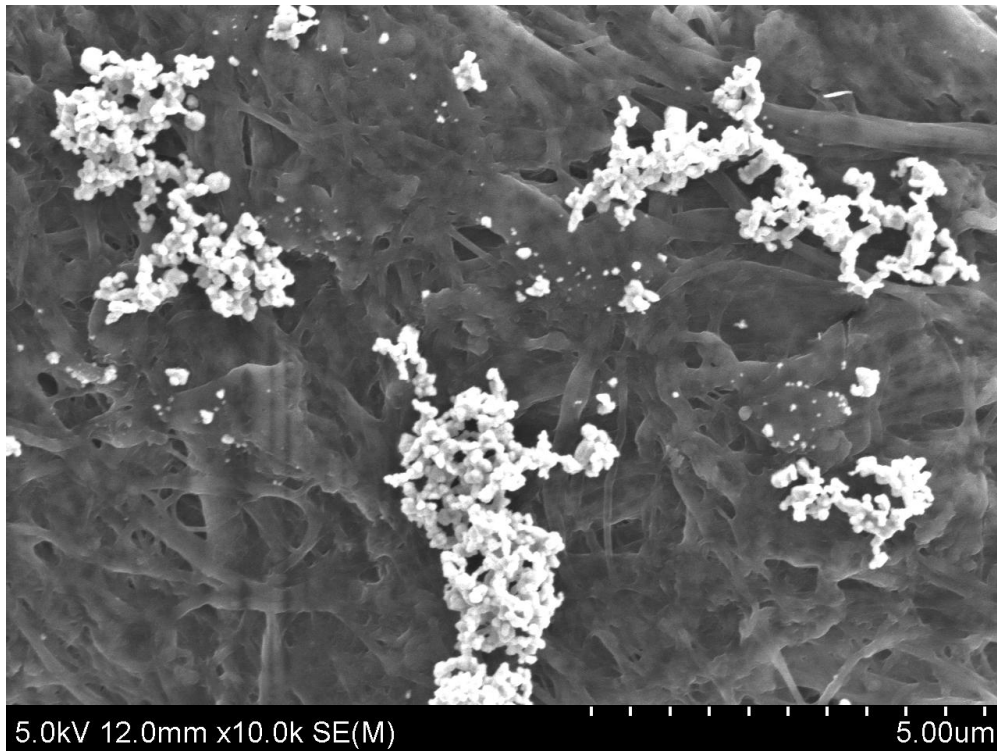


Figure 6. Distribuzione di nanoparticelle d'argento su substrati P-SERS.

La scansione di uno standard su P-SERS con il raster OFF e il contrasto con i dati raster ON è una perfetta dimostrazione del vantaggio ORS. Il BPE [1,2-Bis(4-piridil)etilene] è stato solvato e fatto cadere

direttamente sulla parte stampata di una striscia P-SERS. Questa striscia è stata analizzata con MISA utilizzando parametri di acquisizione costanti ma con raster ON e OFF (Figura 7).

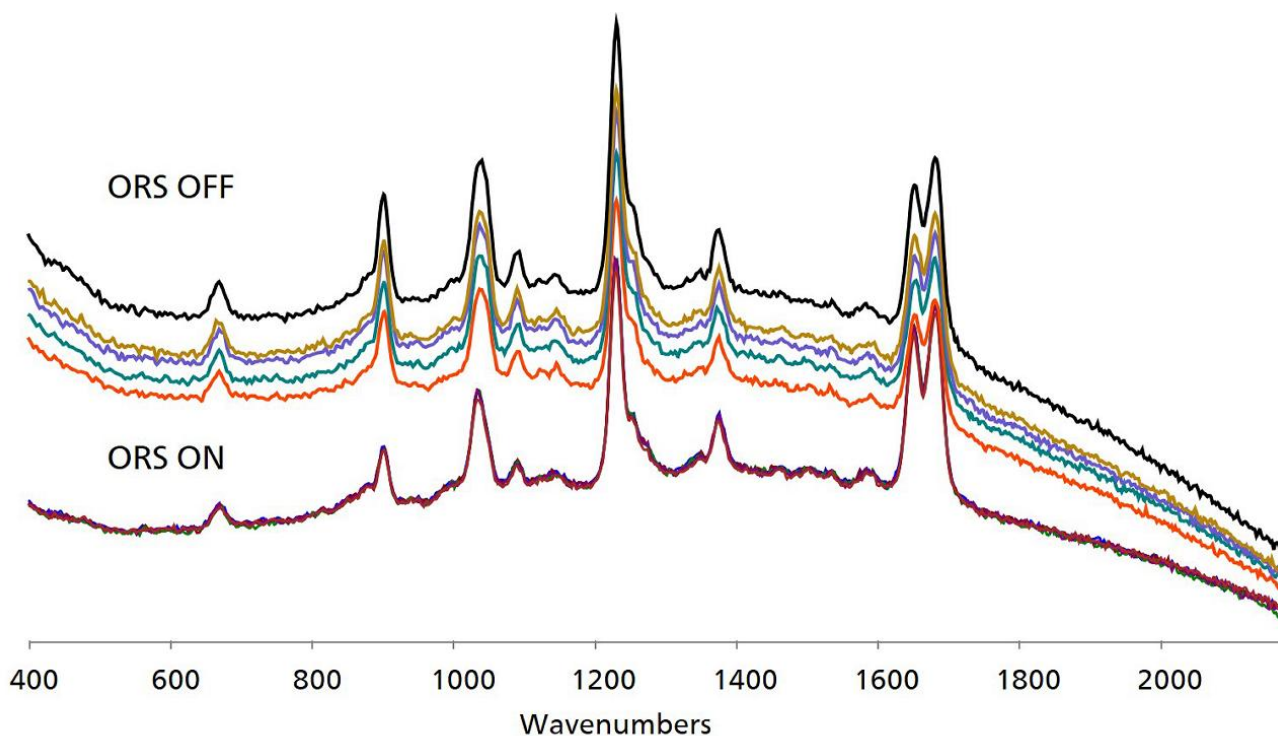


Figure 7. Dati SERS acquisiti con il raster ON (in basso) e OFF (in alto).

Ogni set di cinque spettri in **Figura 7**, ORS OFF o ON, contiene gli stessi picchi di firma per BPE. Tuttavia, la coerenza spettrale è l'ideale con il raster attivo. Ciascuno spettro è la media dei dati da un gran numero di hotspot di produzione del segnale raccolti durante una singola scansione ORS. Il risultato è una

migliore rappresentazione della superficie eterogenea. La variabilità dell'intensità del segnale SERS (deviazione standard su un set di cinque spettri = 1,4%) con ORS ON è significativamente inferiore rispetto a ORS OFF (SD = 10%). Ciò conferma la forza di ORS nell'ottenere dati coerenti da un campione.

CONCLUSIONE

Tutti i sistemi di Metrohm Raman sono dotati di ORS, che presenta tre vantaggi significativi rispetto ai sistemi a trave stazionaria:

1. **Fiducia nella conservazione del campione**, perché il punto laser non rimane nella stessa posizione e il rischio di bruciare il campione è molto basso.
2. **Consistenza dei dati, anche per campioni eterogenei.** Il raggio raster raccoglie i dati su un'area più ampia del campione, aumentando la riproducibilità.
3. **Raccolta dati della migliore qualità.** ORS copre un'ampia area di campionamento senza perdere la risoluzione.

RIFERIMENTI

[1] Farmacopea Europea (Ph. Eur.) 10a edizione | EDQM - Direzione Europea per la Qualità dei Medicinali <https://pheur.edqm.eu/home> (accesso 08-11-2021). [2] Smith, C. J.; Stephens, J. D.; Hancock, B. C.; Vahdat, A. S.; Cetinkaia, C. Valutazione acustica della granulometria media nei compatti farmaceutici.

int. J. Farma. **2011**, *419* (1-2), 137-146. <https://doi.org/10.1016/j.jipharm.2011.07.032> [3] Yu, W. W.; Bianco, M. Array per spettroscopia Raman con superficie stampata a getto d'inchiostro su carta di cellulosa. *Anale. Chimica.* **2010**, *82* (23), 9626-9630. <https://doi.org/10.1021/ac102475k>



CONTACT

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

info@metrohm.it

CONFIGURAZIONE



MIRA P Advanced

Metrohm Instant Raman Analyzer (MIRA) P è uno spettrometro raman palmare ad alte prestazioni utilizzabile per determinazione e verifica rapide e non distruttive di svariate tipologie di materiale tra cui principi attivi ed eccipienti farmaceutici. Nonostante le dimensioni ridotte, MIRA P è estremamente robusto e dispone di uno spettrografo ad alta efficienza dotato della tecnologia brevettata ORS (Orbital Raster Scan). MIRA P soddisfa la normativa FDA 21 CFR parte 11.

La configurazione Advanced Package comprende una lente accessoria che permette l'analisi dei materiali diretta o attraverso gli imballi originali (laser classe 3b) e un porta vial per analizzare i campioni contenuti in vial di vetro (laser classe 1).



MISA Advanced

Metrohm Instant SERS Analyzer (MISA) è un sistema di analisi portatile ad alte prestazioni che consente di rilevare/identificare rapidamente sostanze illegali, additivi alimentari e impurità negli alimenti a livello di tracce. MISA dispone di uno spettrografo ad alta efficienza dotato della tecnologia unica Orbital-Raster-Scan (ORS) di Metrohm. Si caratterizza per un ingombro minimo e la lunga durata della batteria, caratteristiche che lo rendono perfetto per eseguire prove sul posto o per applicazioni di laboratorio mobili. MISA prevede diversi accessori laser di classe 1 per garantire la flessibilità nel campionamento. L'analizzatore funziona tramite BlueTooth o collegamento USB.

MISA Advanced è un pacchetto completo che consente all'utente di eseguire analisi SERS con le soluzioni di nanoparticelle di Metrohm e le strisce P-SERS.

Il pacchetto MISA Advanced contiene un accessorio per fiale MISA, un accessorio P-SERS, uno standard di calibrazione ASTM, un minicavo USB, un alimentatore USB e il software MISA Cal per il funzionamento dello strumento MISA. Viene fornito con in dotazione una robusta valigetta per lo stoccaggio sicuro dello strumento e dei relativi accessori.