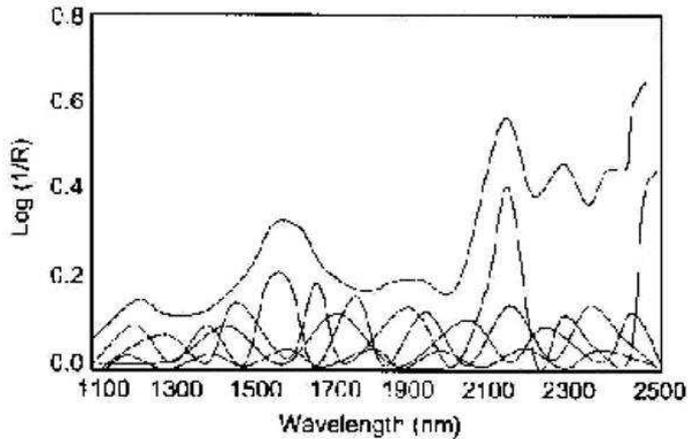


LA TECNICA NIRS

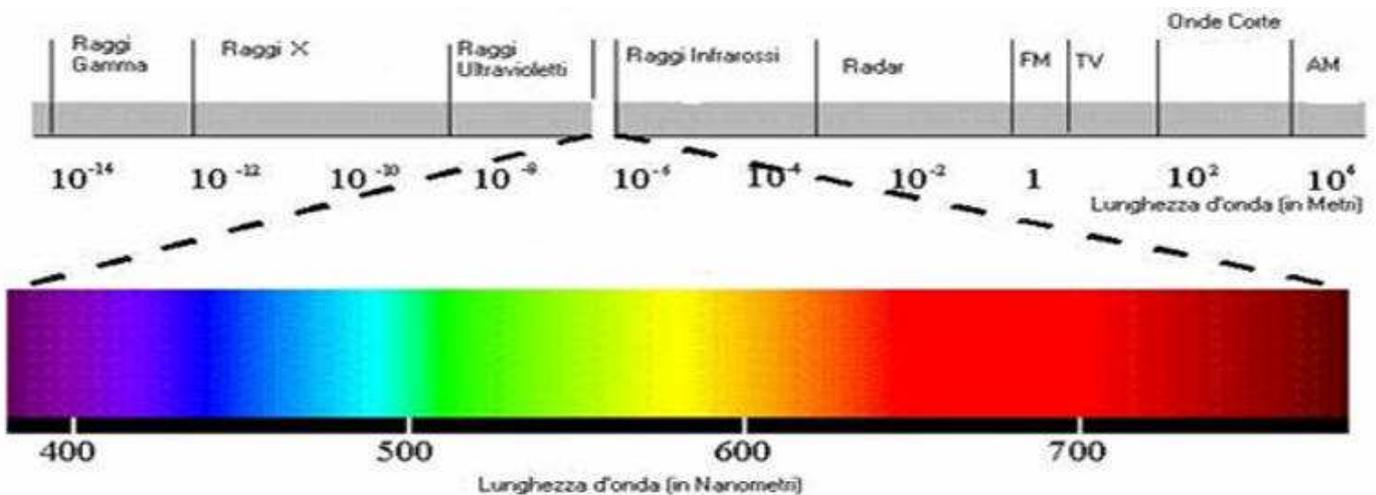
La Tecnica NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) è un metodo di analisi secondario che sfrutta alcune proprietà fisiche della materia ed in particolare l'interazione di questa con le radiazioni del vicino infrarosso.

Questa tecnica si avvale della specifica capacità di ogni composto chimico di assorbire, trasmettere o riflettere la radiazione luminosa. La combinazione delle proprietà assorbenti, combinate con quelle di dispersione dell'energia luminosa, determina la diffusa riflettanza della luce, che contiene informazioni sulla



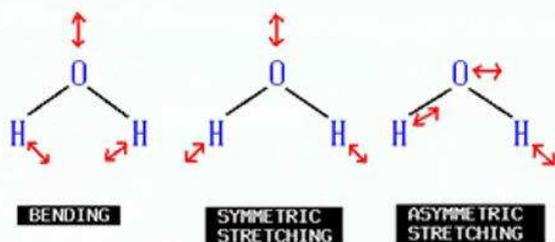
composizione chimica del campione. Il tempo impiegato per una singola analisi varia da pochi secondi a pochi minuti. Questo metodo consente una rapida indagine di numerosi campioni con una notevole diminuzione di tempo e di costi rispetto alle tecniche tradizionali. Ciò si deve principalmente alla semplicità delle operazioni di preparazione e alla varietà di analisi realizzabili. La possibilità di riutilizzare il campione e l'assenza di reagenti completa il quadro dei vantaggi. Al contrario, si presentano di notevole complessità la scelta del giusto algoritmo da utilizzare per l'interpretazione dei dati e l'accurata procedura di calibrazione della

s sofisticata attrezzatura; è inoltre svantaggiosa la dipendenza dai metodi chimici tradizionali. Il metodo non è applicabile ad una completa analisi di tutti i costituenti quali, per esempio, gli elementi minerali.



ASSORBIMENTO NEL VICINO INFRAROSSO

“Spettroscopia” significa “osservazione dello spettro”. Questo tipo di analisi ha il suo fondamento nell'interazione tra le radiazioni elettromagnetiche e la materia da analizzare. Le radiazioni del medio infrarosso forniscono quanti di energia che causano cambiamenti nello stato energetico delle vibrazioni molecolari. Un campione irradiato assorbe l'energia selettivamente in funzione della specifica frequenza di vibrazioni delle molecole presenti, creando così lo spettro di assorbimento.



Lo spettro del medio infrarosso di un campione può consistere in un picco di bande di assorbimento dal quale è possibile identificarne tutti i componenti. A causa del forte rumore degli strumenti, lo spettro MIR (Middle Infrared Reflectance) non viene generalmente

Vibration modes of H₂O molecules

utilizzato per le predizioni quantitative. La regione del NIR contiene bande di assorbimento corrispondenti a sovratoni e combinazioni delle vibrazioni fondamentali che avvengono nel MIR. Le vibrazioni fondamentali riguardano legami OH, CH e NH, caratterizzati dalla larga anarmonicità tipica del leggero atomo di idrogeno. La regione spettrale del NIR è così dominata dall'assorbimento associato ai gruppi funzionali X-Hn. Tutti i legami organici hanno bande di assorbimento nella regione del NIR mentre i minerali possono essere rilevati esclusivamente in complessi organici e nei chelati, oppure per i loro effetti sui legami dell'idrogeno.

LA SCELTA DEI CAMPIONI

Per l'analisi di nuovi prodotti è necessario creare curve di calibrazione specifiche per le quali bisogna disporre di un adeguato e rappresentativo numero di campioni. Idealmente il set di calibrazione dovrebbe avere la più ampia variabilità possibile dei costituenti e la migliore uniformità dei campioni. Un metodo proposto è quello delle componenti principali PCA (Principal Components Analysis), metodo per cui si scelgono i campioni in base al loro spettro e mediante l'uso di due algoritmi. Il primo serve per escludere i campioni con spettro anomalo ($H < 3$, dove H è la distanza standardizzata di Mahalanobis). Il secondo è applicato ai campioni così selezionati, eliminando quelli con spettro troppo simile ($H < 0.6$).

LA CALIBRAZIONE

L'approccio chemiometrico (estrazione d'informazioni chimiche usando un computer e la matematica) è diffusamente utilizzato per mettere in relazione le proprietà fisico-chimiche dei campioni da analizzare con l'assorbimento di radiazioni, nell'intervallo di lunghezza d'onda del NIR (Near Infrared). Le informazioni cercate devono quindi essere parallelamente determinate con una tecnica indipendente. Il primo passo consiste nella realizzazione di un esperimento di calibrazione, che comporta la creazione di un set di riferimento tramite la collezione di campioni che devono contenere tutte le possibili variazioni che si potrebbero trovare nei campioni sconosciuti. Una volta ottenuto un adeguato e rappresentativo numero di curve di taratura, bisogna scegliere una metodologia statistica adeguata per ottenere la calibrazione. La più classica è la regressione lineare semplice. Nel caso siano coinvolti un maggior numero di variabili si utilizza la regressione lineare multipla che permette l'ottenimento di stime più precise. In entrambi i casi l'elevato grado di intercorrelazione tra assorbanze a diverse lunghezze d'onda crea difficoltà. Migliori risultati si ottengono con il metodo PCR (Principal Component Regression) o con il metodo PLS (Partial Least Square), che si basano sulle informazioni dell'intero spettro, costruendo fattori che catturano tutta la possibile variabilità dei dati sperimentali. Ottenuta la curva di calibrazione si dovrà procedere alla sua validazione realizzandola all'inizio su un set di campioni noti, per procedere poi con nuovi campioni. In particolare, si può ricorrere alla validazione incrociata escludendo di volta in volta dalla calibrazione un gruppo di campioni selezionati per costruirla, per poi reinserirli nel passaggio successivo fino a che tutti i campioni siano stati considerati sconosciuti.