

Applicazione dei Design of Experiments (DoE) e dell'Analisi Multivariata nelle Analisi Gascromatografiche

I Design of Experiments (DoE) sono una metodologia statistica utilizzata per pianificare, condurre e analizzare esperimenti controllati al fine di ottenere informazioni significative con un numero ridotto di prove. Questa tecnica permette di individuare e quantificare l'effetto dei fattori che influenzano un processo.

I Design of Experiments (DoE) possono rappresentare un cruciale aiuto per la pianificazione e l'analisi degli esperimenti, nelle analisi gascromatografiche consentendo di esaminare l'effetto di vari fattori, come la temperatura della colonna, il flusso del gas vettore e la quantità di campione, ottimizzando le risorse e migliorando l'affidabilità dei risultati.

L'analisi multivariata permette di gestire e interpretare i dati complessi provenienti da esperimenti gascromatografici, identificando le relazioni tra le variabili e predicendo il comportamento del sistema sotto studio.

Un esempio di applicazione pratica potrebbe riguardare l'ottimizzazione di una separazione gascromatografica. Utilizzando il DoE, è possibile progettare un esperimento che varia sistematicamente i fattori di interesse, come la temperatura della colonna e il flusso del gas vettore, per identificare le condizioni ottimali che massimizzano la separazione dei composti desiderati.

Una volta raccolti i dati sperimentali, l'analisi multivariata può essere impiegata per analizzare i risultati e comprendere meglio le interazioni tra i fattori. Ad esempio, l'analisi delle componenti principali (PCA) può ridurre la dimensionalità dei dati, evidenziando i fattori che hanno il maggior impatto sulla separazione dei composti.

In un contesto di controllo qualità, DoE e analisi multivariata possono essere utilizzati per monitorare e migliorare i processi analitici.

In conclusione, l'integrazione di DoE e analisi multivariata nelle analisi gascromatografiche rappresenta un potente strumento per migliorare l'efficienza, la qualità e l'innovazione nei processi analitici, contribuendo a risultati più affidabili e robusti.

Esempio:

Questo esempio ha l'obiettivo di documentare e analizzare la separazione di quattro analiti specifici: Metanolo, Diclorometano, Esano e Cloroformio, utilizzando un metodo fast di gascromatografia. Lo scopo è:

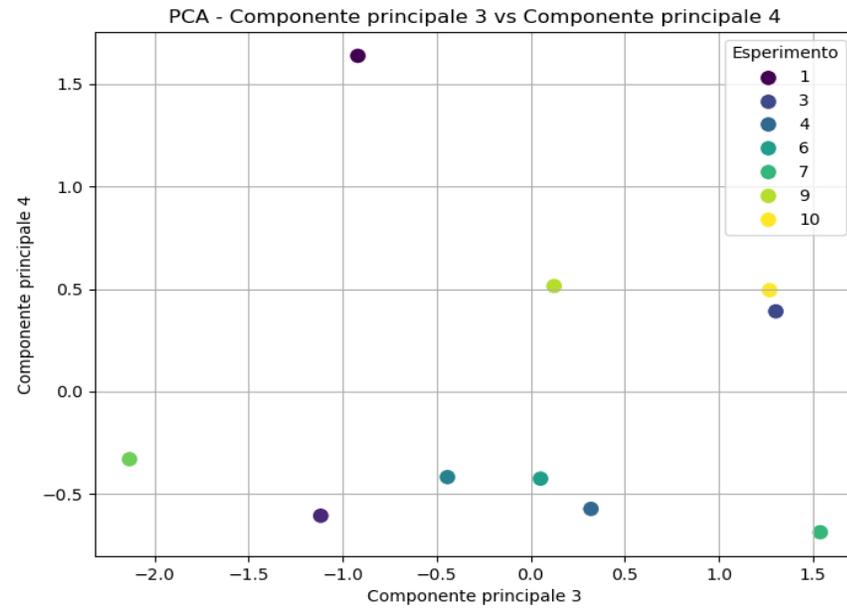
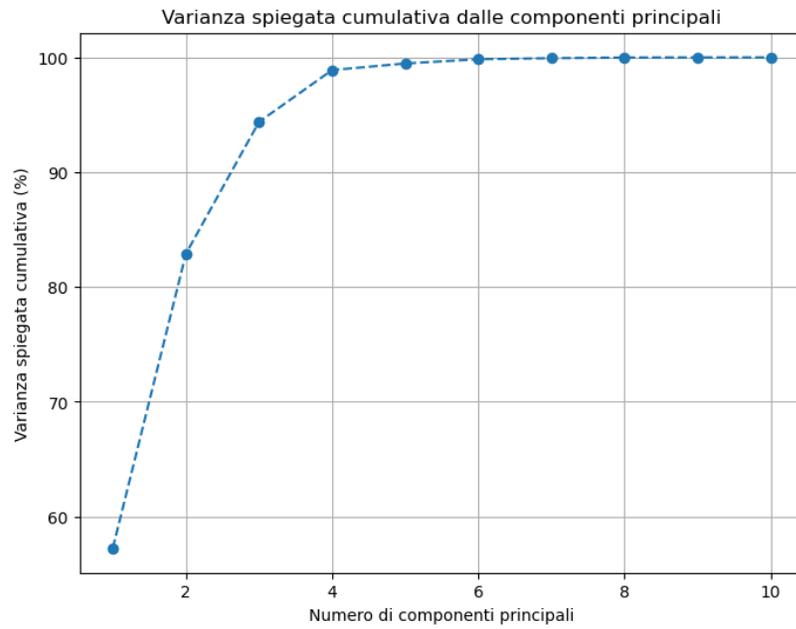
1. **Descrivere le Condizioni Strumentali:** Fornire una dettagliata descrizione delle condizioni strumentali utilizzate durante gli esperimenti, inclusi i parametri dell'iniettore, la colonna, il flusso, le impostazioni del forno e del rilevatore.
2. **Ottimizzare la Separazione degli Analiti:** Valutare le condizioni ottimali per la separazione degli analiti, considerando vari parametri come la temperatura iniziale del forno, la velocità di riscaldamento, il flusso e il rapporto di split.
3. **Presentare i Risultati degli Esperimenti:** Riassumere i risultati di 10 esperimenti eseguiti con diverse combinazioni di parametri strumentali in una tabella chiara e comprensibile, per identificare le condizioni che producono la migliore separazione degli analiti.
4. **Analizzare l'Effetto dei Parametri:** Analizzare come vari parametri influenzano la separazione degli analiti, per comprendere meglio i meccanismi sottostanti e migliorare l'efficacia del metodo.
5. **Fornire Raccomandazioni:** Sulla base dei risultati ottenuti, fornire raccomandazioni su quali condizioni strumentali siano più adatte per ottenere una separazione efficace e riproducibile degli analiti menzionati.

Metodo strumentale di partenza

- **Iniettore:** 150°C, split 1:100
- **Colonna:** 20 m x 180 µm x 1 µm
- **Flusso:** 1 mL/min
- **Forno:**
 - Temperatura iniziale: 40°C, hold time: 1 min
 - Rate: 40°C/min fino a 120°C
 - Hold time: 0 min
- **Tempo di esecuzione:** 3 min
- **Rilevatore:** 280°C
- **Analiti:** Metanolo, Diclorometano, Esano, Cloroformio

Esperimento	Temperatura iniziale (°C)	Velocità di riscaldamento (°C/min)	Flusso del gas (mL/min)	SPLT ratio	Tempo di ritenzione Esano (min)	Risoluzione (diclorometano/esano)	Area picco (Cloroformio)	Simmetria (Metanolo)	Simmetria (Diclorometano)	Simmetria (Esano)	Simmetria (Cloroformio)	Tempo totale (min)
1	40	40	1	0.01	2.1	11.2	412	1.14	0.43	1.02	0.87	3
2	40	30	0.8	0.013	2.4	10.8	548	1.18	0.32	1.03	0.8	3.67
3	50	40	1	0.02	1.9	9	733	0.96	0.3	1.02	0.76	2.75
4	50	20	1.2	0.01	1.8	10.7	419	0.93	0.46	1.06	0.91	4.5
5	60	30	1	0.013	1.7	8.4	535	0.8	0.33	0.95	0.81	3
6	60	40	0.8	0.02	1.8	6.9	833	0.74	0.24	0.9	0.68	2.5
7	40	20	1.2	0.013	2.1	12.1	563	1.32	0.46	1.13	0.9	5
8	50	30	0.8	0.01	2.1	9.8	413	0.89	0.36	0.97	0.83	3.33
9	60	30	1.2	0.01	1.5	8.9	398	0.84	0.43	1	0.89	3
10	50	40	1	0.02	1.9	9.1	721	0.96	0.31	1.02	0.79	2.75

PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
1.986	0.929	-0.919	1.636	0.217	0.170	0.051	-0.043	0.003	0
0.834	2.726	-1.116	-0.605	0.008	-0.268	0.088	0.034	-0.049	0
-1.903	1.022	1.303	0.391	-0.229	-0.070	0.118	0.102	0.056	0
2.648	-1.796	0.320	-0.572	-0.304	0.315	0.121	-0.009	-0.029	0
-1.497	-1.763	-0.443	-0.417	0.131	-0.217	0.088	-0.155	0.037	0
-5.125	0.176	0.052	-0.425	0.343	0.284	-0.018	0.035	-0.022	0
4.017	1.058	1.539	-0.686	0.318	0.020	-0.101	-0.004	0.028	0
0.085	0.005	-2.133	-0.330	-0.267	0.083	-0.153	0.036	0.042	0
0.596	-3.253	0.125	0.514	0.122	-0.251	-0.060	0.109	-0.029	0
-1.641	0.895	1.270	0.494	-0.339	-0.067	-0.135	-0.105	-0.037	0



Cosa rappresentano i pallini:

Ogni pallino nel grafico rappresenta un esperimento.

Le coordinate di ogni pallino corrispondono ai valori delle prime due componenti principali (PC1 e PC2), che sono state calcolate dalla PCA.

Interpretazione del grafico:

1. Distribuzione degli esperimenti: Se gli esperimenti si raggruppano in certe aree del grafico, significa che sono simili tra loro in termini di variabili cromatografiche. Se sono molto distanti, vuol dire che sono molto diversi.

2. Proprietà dei pallini:

Pallini più vicini tra loro: Esperimenti con condizioni cromatografiche simili (ad esempio, combinazioni simili di temperatura, flusso del gas, ecc.).

Pallini distanti: Esperimenti con condizioni che portano a separazioni cromatografiche molto diverse.

3. Direzione delle componenti principali:

PC1 (orizzontale) rappresenta la variabilità principale dei dati. Se i punti sono distribuiti lungo l'asse orizzontale, significa che questa dimensione spiega gran parte della variabilità.

PC2 (verticale) cattura la variabilità residua dopo aver considerato PC1. Le differenze lungo questo asse sono meno significative rispetto a quelle lungo PC1, ma comunque utili per distinguere gli esperimenti.

Esempio di utilizzo dell'analisi dei componenti principali. (Obiettivo: Tempi ed efficienza cromatografica)

Per ottenere un run time di 2.5 minuti e una buona simmetria nel metodo analitico, dobbiamo concentrarci su alcuni parametri chiave che includono la temperatura iniziale, la velocità di riscaldamento, il flusso del gas, lo SPLT ratio, e la simmetria dei picchi.

Analisi delle condizioni per un run time di 2.5 minuti:

1. Run Time: Abbiamo visto che il tempo totale di analisi varia tra 2.5 minuti e 5 minuti. Un run time di 2.5 minuti è tra i più brevi che si possono ottenere, quindi dobbiamo prestare attenzione a ottimizzare i parametri per ridurre al minimo il tempo, ma senza compromettere la separazione e la qualità dei picchi

2. Simmetria dei picchi: La simmetria è un indicatore cruciale per determinare la qualità della separazione. Una simmetria buona dovrebbe essere vicina a 1 (idealmente tra 0.9 e 1.1). Le simmetrie per Metanolo, Diclorometano, Esano, e Cloroformio sono piuttosto buone, ma dobbiamo cercare di mantenere una simmetria equilibrata anche per un tempo di analisi così ridotto.

Osservazioni sui dati:

Dai dati, possiamo notare che i seguenti esperimenti hanno un run time di 2.5 minuti e potrebbero essere ottimi candidati:

Esperimento	Temperatura Iniziale (°C)	Velocità di Riscaldamento (°C/min)	Flusso Gas (mL/min)	SPLT Ratio	Tempo Totale (min)	Simmetria Esano	Simmetria Diclorometano	Simmetria Metanolo	Simmetria Cloroformio	Risoluzione
6	60	40	0.8	0.02	2.5	0.9	0.24	0.74	0.68	6.9
10	50	40	1	0.02	2.75	1.02	0.31	0.96	0.79	9.1

Esperimento 6: Il tempo totale è esattamente 2.5 minuti, con una simmetria dei picchi buona ma non per tutti gli analiti (simmetria Esano = 0.9, simmetria Diclorometano = 0.24). La risoluzione tra Esano e Diclorometano è relativamente bassa, ma il tempo di analisi è molto breve.

Esperimento 10: Il tempo è di 2.75 minuti, ma la simmetria migliora (simmetria Esano = 1.02), con una risoluzione migliore rispetto all'esperimento 6.

Previsione per le condizioni strumentali:

Per ottenere un run time di 2.5 minuti e mantenere una buona simmetria, suggerirei le seguenti condizioni basate sugli esperimenti precedenti:

1. Temperatura Iniziale: 60°C

Esperimento 6 ha una temperatura iniziale alta che favorisce tempi di ritenzione più brevi.

Temperatura iniziale elevata aiuta a velocizzare l'analisi e ridurre il tempo di ritenzione.

2. Velocità di Riscaldamento: 40°C/min

Velocità di riscaldamento più alta accelera la separazione e riduce il tempo complessivo.

Questo parametro è già usato in entrambi gli esperimenti con tempi brevi, quindi dovrebbe essere mantenuto.

3. Flusso del Gas: 0.8 mL/min

Un flusso più basso come quello usato nell'Esperimento 6 aiuta a ridurre la velocità di eluzione, ma a costi di risoluzione. Tuttavia in questo caso, il focus è su un tempo breve, quindi un flusso più basso è un buon compromesso.

4. SPLT Ratio: 1:50

Lo SPLT ratio aiuta a migliorare la risoluzione e separazione. 1:50 ha funzionato bene negli esperimenti con tempo ridotto.

5. Simmetria dei Picchi:

La simmetria dei picchi in Esperimento 6 è relativamente buona, con un valore di simmetria di Esano di 0.9. Questo valore è considerato accettabile per una buona separazione. Per Diclorometano, la simmetria è piuttosto bassa (0.24), quindi potremmo cercare di ottimizzare la separazione o la simmetria di questo picco se necessario.

Sintesi delle Condizioni Strumentali:

Temperatura iniziale: 60°C

Velocità di riscaldamento: 40°C/min

Flusso del gas: 0.8 mL/min

SPLT ratio: 1:50

Simmetria: Buona simmetria per Esano (0.9) e Diclorometano (migliorabile).

Conclusione:

Con le condizioni strumentali previste, 2.5 minuti di run time e una buona simmetria sono possibili, ma potrebbero esserci dei compromessi nella risoluzione tra Esano e Diclorometano. Si potrebbe decidere di sperimentare leggermente con la temperatura finale e il flusso del gas per trovare l'equilibrio perfetto.

Alternativa

Obiettivo: **Per identificare le migliori condizioni analitiche.**

Possiamo considerare fattori come il tempo totale, la risoluzione e la sensibilità (area del picco), così come la simmetria dei picchi. Ecco una sintesi delle condizioni migliori per tempi brevi, efficienza e sensibilità:

Per identificare le migliori condizioni analitiche, possiamo considerare fattori come il tempo totale, la risoluzione e la sensibilità (area del picco), così come la simmetria dei picchi. Ecco una sintesi delle condizioni migliori per tempi brevi, efficienza e sensibilità:

Migliori Condizioni Analitiche

1. Esperimento 6

- **Temperatura iniziale:** 60°C
- **Velocità di riscaldamento:** 40°C/min
- **Flusso del gas:** 0.8 mL/min
- **Rapporto di split:** 0.02
- **Tempo di ritenzione Esano:** 1.8 min
- **Risoluzione (diclorometano/esano):** 6.9
- **Area picco (Cloroformio):** 833
- **Simmetria (Metanolo):** 0.74
- **Simmetria (Diclorometano):** 0.24

- **Simmetria (Esano):** 0.9
- **Simmetria (Cloroformio):** 0.68
- **Tempo totale:** 2.5 min

2. Esperimento 3

- **Temperatura iniziale:** 50°C
- **Velocità di riscaldamento:** 40°C/min
- **Flusso del gas:** 1 mL/min
- **Rapporto di split:** 0.02
- **Tempo di ritenzione Esano:** 1.9 min
- **Risoluzione (diclorometano/esano):** 9
- **Area picco (Cloroformio):** 733
- **Simmetria (Metanolo):** 0.96
- **Simmetria (Diclorometano):** 0.3
- **Simmetria (Esano):** 1.02
- **Simmetria (Cloroformio):** 0.76
- **Tempo totale:** 2.75 min

3. Esperimento 10

- **Temperatura iniziale:** 50°C
- **Velocità di riscaldamento:** 40°C/min
- **Flusso del gas:** 1 mL/min
- **Rapporto di split:** 0.02
- **Tempo di ritenzione Esano:** 1.9 min
- **Risoluzione (diclorometano/esano):** 9.1
- **Area picco (Cloroformio):** 721
- **Simmetria (Metanolo):** 0.96
- **Simmetria (Diclorometano):** 0.31
- **Simmetria (Esano):** 1.02
- **Simmetria (Cloroformio):** 0.79

- **Tempo totale:** 2.75 min

Tra questi esperimenti, l'Esperimento 6 sembra offrire il miglior compromesso tra tempi brevi (2.5 min), buona sensibilità (area del picco 833), e ragionevole simmetria dei picchi.

Tuttavia, anche gli Esperimenti 3 e 10 presentano buone prestazioni complessive.