

Inhaltsverzeichnis

Vorwort XIII

Autorenliste XV

Zum Aufbau des Buches XVII

Auswertung in der Chromatographie – die Integration 1

Das Chromatogramm 3

Daniel Stauffer

Chromatographischer Prozess 3

Selektivität und Effizienz – Maß für die unterschiedliche

Wanderungsgeschwindigkeit 4

Chromatographische Kenngrößen 5

Retentionsgrößen 5

Totzeit (t_m ; t_0) 5

Bruttoretentionszeit (t_{ms} ; t_R) 5

Nettoretentionszeit (t_s) 6

Retentionsfaktor oder Kapazitätsfaktor (k ; k') 6

Peak-Ausdehnung und Peakform 6

Basispeakbreite (w_b) 6

Peakbreite in halber Höhe (w_h) 7

Peakhöhe (h) 7

Peaksymmetrie, Tailingfaktor (T) 7

Auflösungsgrößen 9

Die Auflösung (R) 9

Quantitative Größe der Selektivität 10

Quantitative Größen für die Effizienz der Trennsäule 11

Bestimmung von kleinen Substanzmengen 12

Ermitteln der Nachweis-, Erfassungs-, Entscheidungs- und

Bestimmungsgrenze 13

Inhaltsverzeichnis

1.3	van Deemter- und Golay-Gleichung	15
1.4	Erzeugen von Chromatogrammen	18
1.4.1	Datenaufnahme, Erzeugen der Rohdaten	19
1.4.1.1	Bei der Datenaufnahme verwendete Parameter	22
1.4.1.2	Beispiele der unterschiedlichen Art der Datenaufnahme	24
1.4.1.3	Innere/äußere Chromatogramme	28
1.4.1.4	2-D-/3-D-Chromatogramme	28
1.4.2	Charakterisierung von Detektoren	30
1.4.2.1	Zerstörend/nicht zerstörend	31
1.4.2.2	Selektiv, spezifisch, universell	31
1.4.2.3	Konzentrations- und massenstromabhängige Detektoren	31
1.4.2.4	Detektorempfindlichkeit	33
1.4.2.5	Linearer und dynamischer Bereich	34
1.4.2.6	Ansprechzeit, Zeitkonstante	35
1.5	Integration	39
1.5.1	Integration anschaulich	39
1.5.1.1	Methoden zur Peakerkennung	41
1.5.2	Integration und Integrationsparameter, Beispiele	43
1.5.2.1	Datenaufnahme und -integration mit Empower 2	43
1.5.2.2	Datenaufnahme und -integration mit Chromeleon	45
1.5.2.3	Datenaufnahme und -integration mit EZChrom Elite	47
1.5.2.4	Datenaufnahme und -integration mit ChemStation	47
1.5.2.5	Vergleich der wichtigsten Integrationsparameter von vier unterschiedlichen Integrationsprogrammen	48
	Anhang: Experimente zur Optimierung der Zeitkonstante/ Datensammelrate	50
	Literatur	53
2	Integrationsfehler und Auswertung	55
	<i>Hans-Joachim Kuss</i>	
2.1	Was sagt die Literatur über Integrationsfehler?	55
2.2	Integration in der täglichen Praxis	58
2.2.1	Integration – einfach und immer gleich?	58
2.2.2	Vergleich von Integrationssystemen mit wenigen großen Peaks	61
2.2.3	Vergleich von Integrationssystemen mit vielen kleinen Peaks	64
2.3	Chromatogramm-Simulation	66
2.3.1	Simulation eines digitalen Chromatogramms	68
2.3.2	Ein Peak	69
2.3.3	Mehrere Peaks	71
2.3.4	Rauschen	72
2.3.5	Drift	72
2.3.6	Gaschromatogramm	75
2.3.7	Verschmolzene Peaks	77
2.3.8	Datenpunktabstand	81

Peakfläche und Peakhöhe	87
Andere Kenngrößen	88
Anwendungen der Simulation	89
Simulation einer Kalibriergeraden	91
Zehnfache Simulation an der Bestimmungsgrenze	98
Simulation eines isokratischen Chromatogramms	103
Simulation eines Gradienten-Chromatogramms	107
Nebenproduktanalyse	113
Eigene Chromatogramme simulieren	123
Welche Konsequenz ist daraus zu ziehen?	127
Auswertung	128
Auswertemethoden	129
Kalibrierung	131
Lineare Regression	131
Gewichtete lineare Regression	136
Nullpunktsgerade	140
Chromatogrammserien überprüfen	140
Literatur	142

Allgemeine Beurteilung analytischer Daten 145

Joachim Ermer

(Normal-)Verteilung von analytischen Daten	145
Probleme des Schließens	149
Analytische Variabilität	153
Variabilitätsbeiträge und Präzisionsebenen	153
Systempräzision	155
Wiederholpräzision	157
Vergleichspräzision	159
Varianzanalyse	160
Literaturangaben zur Vergleichspräzision	162
Konsequenzen für das Design eines Prüfverfahrens	163
Konzentrationsabhängigkeit der Präzision	165
Schlussfolgerungen	168
(Be)Merkswertes	168
Literatur	169

Metrologische Aspekte der Beurteilung chromatographischer Daten 171

Ulrich Panne

Einführung	171
Messunsicherheit	173
Rückführbarkeit von analytischen Messungen	186

Teil II Die Charakteristika der Auswertung in einzelnen LC-Modi 191

5 Auswertung von GC-Daten 193

Werner Engewald

- 5.1 Einführung 193
- 5.2 Worin unterscheidet sich die GC von der HPLC? 194
 - 5.2.1 Welche Konsequenzen ergeben sich aus diesen Unterschieden? 194
 - 5.2.1.1 Anwendbarkeit der GC 195
 - 5.2.1.2 Probeninjektion 199
 - 5.2.1.3 Trennsäule 200
 - 5.2.1.4 Detektor 201
 - 5.2.1.5 Schnelle Gaschromatographie 203
 - 5.3 Qualitative Analyse 204
 - 5.3.1 Vorbemerkung 204
 - 5.3.1.1 Fingerprint-Analyse 205
 - 5.3.1.2 Peakreinheit 205
 - 5.3.2 Vergleich von Retentionswerten 206
 - 5.3.3 Relative Retentionswerte 206
 - 5.3.4 Retention Time Locking (RTL) 207
 - 5.4 GC/MS-Kopplung 208
 - 5.4.1 MS als identifizierender Detektor (Scan-Modus) 209
 - 5.4.2 Nutzung von Spektrenbibliotheken 210
 - 5.4.3 Spektren-Deconvolution 213
 - 5.4.4 MS als massenselektiver Detektor 215
 - 5.4.4.1 Massenfragmentographie (Reconstructed oder Extracted Ion Chromatogramm) 215
 - 5.4.4.2 SIM (Single Ion Monitoring) oder MID (Multiple Ion Recording) 217
 - 5.4.5 Chemische Ionisation 217
 - 5.5 Quantitative Analyse 218
 - 5.5.1 Aufstellen einer Analysensequenz 219
 - 5.6 Isotopenverdünnungsanalyse (IVA) oder Stabilisotopenverdünnungsanalyse (SIVA) 219
 - 5.7 Matrixeffekte bei der Spurenanalytik 220
 - 5.8 Headspace-GC 221
 - 5.9 Abschätzung von Korrekturfaktoren beim FID 222

Literatur 224

6 Bewertung chromatographischer Daten in der Ionenchromatographie (IC) 225

Heiko Herrmann und Detlef Jensen

- 6.1 Einleitung 225
- 6.2 Eluenten 226
 - 6.2.1 Der Wasserdip – Lösemittelpeak der Ionenchromatographie 227
- 6.3 Kontaminationen 230
- 6.4 Kalibrierfunktionen 232

Qualifizierung von GPC/GFC/SEC-Daten und -Ergebnissen 235

Daniela Held und Peter Kilz

Einleitung 235

Grundlagen der GPC-Datenverarbeitung in der Ausschlusschromatographie 236

Berechnung der Molekulargewichtsmittelwerte 238

Richtlinien, Normen und Anforderungen an GPC-

Datenverarbeitungsprozesse 241

Bewertung und Tests der GPC-Datenbearbeitungsprozesse 243

Beschreibung eines allgemeinen Verifikationsverfahrens für GPC-Software 243

Überprüfung der Richtigkeit der Berechnung der Molmassenverteilung 245

Einfluss von Datenprozessen, Kalibrationsverfahren und Signalqualität auf Richtigkeit und Reproduzierbarkeit von GPC-Ergebnissen 248

Prüfung der GPC-Auswertung mit direkter Kalibration 248

Überprüfung der Ergebnisgenauigkeit einer GPC-Viskositätskopplung 249

Einfluss des Detektor-Rauschens auf die Genauigkeit von GPC-Ergebnissen 250

Einfluss der Detektordrift auf die Genauigkeit von GPC-Ergebnissen 252

Einfluss der Datendichte auf die Genauigkeit von GPC-Ergebnissen 253

Einfluss von GPC-spezifischen Größen auf Verlässlichkeit und Richtigkeit von GPC-Resultaten 254

Einflussgrößen für GPC mit direkter Kalibration 255

Einfluss der Kalibration 255

Einfluss der Geräteeigenschaften (Geräteperformance) 259

Einfluss der Auswerteparameter 260

Einflussgrößen für GPC mit Lichtstreuendetektion 262

Vergleichspräzision und Wiederholbarkeit von GPC-Analysen 265

Zusammenfassung 265

Literatur 266

Auswertung in der LC-MS-Kopplung 267

Hartmut Kirchherr

Einleitung 267

Chromatographie und Matrixeinfluss 268

Interne Standards 276

Einstellungen Massenspektrometer 280

Auswertesoftware 282

Literatur 283

9	Beurteilung von analytischen Daten in der Lebensmittelanalytik	287
	<i>Herbert Otteneder</i>	
9.1	Aufgaben der Behörde	287
9.2	Problembereiche	287
9.2.1	Pflanzenschutzmittelrückstände	289
9.2.1.1	In-house-Qualitätskontrolle (= IQC: <i>Internal Quality Control</i>)	292
9.2.1.2	Laborvergleichsuntersuchung (LVU), <i>Proficiency Test</i>	292
9.2.1.3	Validierungsstudie (<i>Method Performance Study</i>)	293
9.2.2	Schadstoffe, Kontaminanten und Mykotoxine	294
9.2.3	Pharmakologisch wirksame Stoffe	295
9.3	Definition und Bestimmung der Messunsicherheit	297
9.3.1	Analyse der Einzelkomponenten, „bottom-up“-Prinzip	297
9.3.2	Berechnung aus der Vergleichsstandardabweichung, „top down“-Prinzip	298
9.3.3	Berechnung mit der Horwitz-Gleichung	298
9.3.4	Der „Tauglichkeits“-Ansatz	299
9.3.5	Ergebnis-Interpretation mit Hilfe der Messunsicherheit	299
9.4	Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze	300
9.5	Das Problem der Wiederfindung	303
9.6	Die Probennahme	306
9.7	Nationale und internationale Leitlinien und Gremien zur Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie	309
	<i>Literatur</i>	312
10	Beurteilung von analytischen Daten aus Behördensicht – Regelarteisweise und AQS für selten angewandte und zeitaufwändige Analysenverfahren	315
	<i>Günter Papke</i>	
10.1	Einleitung	315
10.2	Werkzeuge und Definitionen für die AQS	316
10.2.1	Kontrollproben	316
10.2.2	Kontrollkarten/Zielwertkarten	316
10.2.3	Objektbezogene AQS	320
10.2.4	Stichproben-AQS	320
10.2.5	Stellvertreterproben-AQS	320
10.2.6	Validierung von Analysenverfahren	320
10.2.7	Messunsicherheit	323
10.2.8	Zusammengefasste AQS-Werkzeuge	324
10.3	Praxis der AQS	328
10.3.1	Hierarchisch aufgebaute AQS	328
10.3.2	Praxis bei selten angewandten und zeitaufwändigen	

10.3.2.1	AQS-Vorgehensweise für selten angewandte Analysenverfahren	331
10.3.2.2	AQS-Vorgehensweise für zeitaufwändige Analysenverfahren	333
10.4	Beurteilung der Analysenergebnisse	336
10.5	Fazit und Ausblick	337
	<i>Literatur</i>	338
11	Auswertung Chromatographischer Daten nach den Arzneibüchern – Kontrolle von Verunreinigungen	339
	<i>Ulrich Rose</i>	
11.1	Problemstellung	339
11.2	Auswertung qualitativer Daten	340
11.2.1	Systemeignungstest	343
11.3	Auswertung quantitativer Daten	345
	<i>Literatur</i>	347
12	Anforderungen an analytische Prüfverfahren im Rahmen der Arzneimittelzulassung	349
	<i>Susanne Keitel</i>	
12.1	Einführung	349
12.2	Beschreibung chromatographischer Prüfverfahren im Zulassungsdossier	349
12.3	Arzneibuchverfahren	352
12.4	Anforderungen an die Validierung und Bewertung durch die Zulassungsbehörde	355
12.5	Anforderungen der Zulassungsbehörde im Rahmen von Anträgen auf Genehmigung klinischer Prüfungen	360
12.5.1	Häufige Mängel	361
12.5.2	Spezielle Mängel	361
12.5.3	Fallbeispiele	362
	<i>Literatur</i>	364
13	Anforderungen an (chromatographische) Daten in der pharmazeutischen Analytik	365
	<i>Joachim Ermer</i>	
13.1	Systemeignungstests	365
13.1.1	Europäisches Arzneibuch (EP)	367
13.1.1.1	Chromatographische Parameter	369
13.1.1.2	Signal/Rausch-Verhältnis	370
13.1.1.3	Systempräzision	371
13.1.2	US-Arzneibuch	373
13.1.3	FDA Reviewer Guidance	374
13.2	Spezifikationsgrenzen und Präzision	375
13.2.1	Gehaltsbestimmungen	375
13.2.1.1	Auf Grundlage des Methodenfähigkeitsindex	375

13.2.2	Nebenproduktbestimmungen	377
13.2.3	(Be)Merkswertes	378
13.3	Interpretation und Behandlung analytischer Daten	378
13.3.1	Voraussetzungen	378
13.3.2	Messprinzipien und Variabilität	378
13.3.3	Ausreißer	379
13.3.4	Vergleich von Analysenergebnissen	380
13.3.5	Präzision	380
13.3.6	Richtigkeit	382
13.3.7	(Be)Merkswertes	383
	<i>Literatur</i>	384
14	Über Bewertung und Wertung chromatographischer Daten	38
	<i>Stavros Kromidas</i>	
14.1	Einleitung	385
14.2	Die Situation – oder warum ändert sich so wenig?	385
14.3	Wie kann sich etwas ändern und wann ist es überhaupt notwendig?	387
14.4	Wer kann etwas ändern?	390
	Stichwortverzeichnis	393