

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
<i>Joachim Ermer</i>	
(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)Merkenswertes	168
Literatur	169
Metrologische Aspekte der Beurteilung chromatographischer Daten	171
<i>Ulrich Panne</i>	
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
	<i>Werner Engewald</i>	
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)	21
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
	<i>Literatur</i>	224
6	Bewertung chromatographischer Daten in der Ionenchromatographie (IC)	225
	<i>Heiko Herrmann und Detlef Jensen</i>	
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
<i>Daniela Held und Peter Kilz</i>	
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
<i>Hartmut Kirchherr</i>	
Einleitung	267
Chromatographie und Matrixeinfluss	268
Interne Standards	276
Einstellungen Massenspektrometer	280
Auswertesoftware	282

Teil III Anforderungen an und Umgang mit chromatographischen Daten aus Sicht von Organisationen und Behörden 285

- 9 Beurteilung von analytischen Daten in der Lebensmittelanalytik 287
Herbert Otteneder
- 9.1 Aufgaben der Behörde 287
- 9.2 Problembereiche 287
- 9.2.1 Pflanzenschutzmittelrückstände 289
- 9.2.1.1 In-house-Qualitätskontrolle (= IQC: *Internal Quality Control*) 292
- 9.2.1.2 Laborvergleichsuntersuchung (LVU), *Proficiency Test* 292
- 9.2.1.3 Validierungsstudie (*Method Performance Study*) 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
Literatur 312
- 10 Beurteilung von analytischen Daten aus Behördensicht – Regelerbeitsweise und AQS für selten angewandte und zeitaufwändige Analysenverfahren 315
Günter Papke
- 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
	Literatur	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
	Literatur	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
	Literatur	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)Merkenswertes	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)Merkenswertes	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