

Inhaltsverzeichnis

Vorwort *XIII*

Autorenliste *XV*

Zum Aufbau des Buches *XVII*

Teil I Auswertung in der Chromatographie – die Integration *1*

1 Das Chromatogramm *3*

Daniel Stauffer

1.1 Chromatographischer Prozess *3*

1.1.1 Selektivität und Effizienz – Maß für die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit *4*

1.2 Chromatographische Kenngrößen *5*

1.2.1 Retentionsgrößen *5*

1.2.1.1 Totzeit ($t_m; t_0$) *5*

1.2.1.2 Bruttoretentionszeit ($t_{ms}; t_R$) *5*

1.2.1.3 Nettoretentionszeit (t_s) *6*

1.2.1.4 Retentionsfaktor oder Kapazitätsfaktor ($k; k'$) *6*

1.2.2 Peak-Ausdehnung und Peakform *6*

1.2.2.1 Basispeakbreite (w_b) *6*

1.2.2.2 Peakbreite in halber Höhe (w_h) *7*

1.2.2.3 Peakhöhe (h) *7*

1.2.2.4 Peaksymmetrie, Tailingfaktor (T) *7*

1.2.3 Auflösungsgrößen *9*

1.2.3.1 Die Auflösung (R) *9*

1.2.3.2 Quantitative Größe der Selektivität *10*

1.2.3.3 Quantitative Größen für die Effizienz der Trennsäule *11*

1.2.4 Bestimmung von kleinen Substanzmengen *12*

1.2.4.1 Ermitteln der Nachweis-, Erfassungs-, Entscheidungs- und Bestimmungsgrenze *13*

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
2.3.9	Tailing	87

2.3.10	Peakfläche und Peakhöhe	87
2.3.11	Andere Kenngrößen	88
2.4	Anwendungen der Simulation	89
2.4.1	Simulation einer Kalibriergeraden	91
2.4.2	Zehnfache Simulation an der Bestimmungsgrenze	98
2.4.3	Simulation eines isokratischen Chromatogramms	103
2.4.4	Simulation eines Gradienten-Chromatogramms	107
2.4.5	Nebenproduktanalyse	113
2.4.6	Eigene Chromatogramme simulieren	123
2.4.7	Welche Konsequenz ist daraus zu ziehen?	127
2.5	Auswertung	128
2.5.1	Auswertemethoden	129
2.5.2	Kalibrierung	131
2.5.3	Lineare Regression	131
2.5.4	Gewichtete lineare Regression	136
2.5.5	Nullpunktsgerade	140
2.5.6	Chromatogrammserien überprüfen	140
	<i>Literatur</i>	142
3	Allgemeine Beurteilung analytischer Daten	145
	<i>Joachim Ermer</i>	
3.1	(Normal-)Verteilung von analytischen Daten	145
3.2	Probleme des Schließens	149
3.3	Analytische Variabilität	153
3.3.1	Variabilitätsbeiträge und Präzisionsebenen	153
3.3.2	Systempräzision	155
3.3.3	Wiederholpräzision	157
3.3.4	Vergleichspräzision	159
3.3.4.1	Varianzanalyse	160
3.3.4.2	Literaturangaben zur Vergleichspräzision	162
3.3.5	Konsequenzen für das Design eines Prüfverfahrens	163
3.3.6	Konzentrationsabhängigkeit der Präzision	165
3.3.7	Schlussfolgerungen	168
3.4	(Be)Merkmenswertes	168
	<i>Literatur</i>	169
4	Metrologische Aspekte der Beurteilung chromatographischer Daten	171
	<i>Ulrich Panne</i>	
4.1	Einführung	171
4.2	Messunsicherheit	173
4.3	Rückführbarkeit von analytischen Messungen	186
	<i>Literatur</i>	189

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? 195
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) 216
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 Wasserdrip – Lösemittelpeak der Ionenchromatographie 227
6.3 Kontaminationen 230
6.4 Kalibrierfunktionen 232
Literatur 233

7	Qualifizierung von GPC/GFC/SEC-Daten und -Ergebnissen	235
	<i>Daniela Held und Peter Kilz</i>	
7.1	Einleitung	235
7.2	Grundlagen der GPC-Datenverarbeitung in der Ausschlusschromatographie	236
7.2.1	Berechnung der Molekulargewichtsmittelwerte	238
7.3	Richtlinien, Normen und Anforderungen an GPC-Datenverarbeitungsprozesse	241
7.4	Bewertung und Tests der GPC-Datenbearbeitungsprozesse	243
7.4.1	Beschreibung eines allgemeinen Verifikationsverfahrens für GPC-Software	243
7.4.2	Überprüfung der Richtigkeit der Berechnung der Molmassenverteilung	245
7.5	Einfluss von Datenprozessen, Kalibrationsverfahren und Signalqualität auf Richtigkeit und Reproduzierbarkeit von GPC-Ergebnissen	248
7.5.1	Prüfung der GPC-Auswertung mit direkter Kalibration	248
7.5.2	Überprüfung der Ergebnisgenauigkeit einer GPC-Viskositätskopplung	249
7.5.3	Einfluss des Detektor-Rauschens auf die Genauigkeit von GPC-Ergebnissen	250
7.5.4	Einfluss der Detektordrift auf die Genauigkeit von GPC-Ergebnissen	252
7.5.5	Einfluss der Datendichte auf die Genauigkeit von GPC-Ergebnissen	253
7.6	Einfluss von GPC-spezifischen Größen auf Verlässlichkeit und Richtigkeit von GPC-Resultaten	254
7.6.1	Einflussgrößen für GPC mit direkter Kalibration	255
7.6.1.1	Einfluss der Kalibration	255
7.6.1.2	Einfluss der Geräteeigenschaften (Geräteperformance)	259
7.6.1.3	Einfluss der Auswerteparameter	260
7.6.2	Einflussgrößen für GPC mit Lichtstreuendetektion	262
7.6.3	Vergleichspräzision und Wiederholbarkeit von GPC-Analysen	265
7.7	Zusammenfassung	265
	<i>Literatur</i>	266
8	Auswertung in der LC-MS-Kopplung	267
	<i>Hartmut Kirchherr</i>	
8.1	Einleitung	267
8.2	Chromatographie und Matrixeinfluss	268
8.3	Interne Standards	276
8.4	Einstellungen Massenspektrometer	280
8.5	Auswertesoftware	282
	<i>Literatur</i>	283

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 – Reglarbeitsweise 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 Analysenverfahren 330

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
13.2.1.2	Auf Grundlage des 95 %-Prognosebereiches (DPhG-Verfahren)	376

XII | *Inhaltsverzeichnis*

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	385
	<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