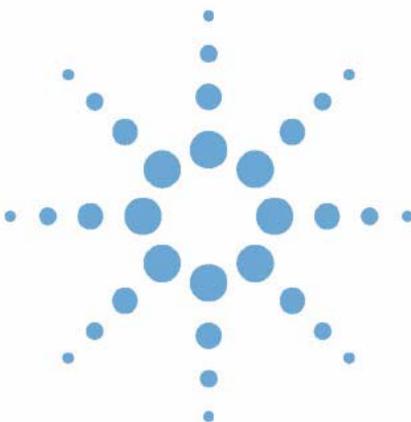
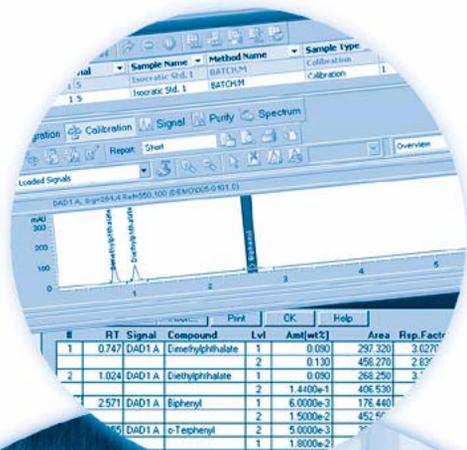


# Agilent ChemStation



## Informationen zur ChemStation



Agilent Technologies

# Hinweise

© Agilent Technologies, Inc. 2004, 2005-2009

Die Vervielfältigung, elektronische Speicherung, Anpassung oder Übersetzung dieses Handbuchs ist gemäß den Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes ohne vorherige schriftliche Genehmigung durch Agilent Technologies verboten.

Microsoft<sup>®</sup> Microsoft is a U.S. registered trademark of Microsoft Corporation.

## Handbuch-Teilenummer

G2070-92126

## Ausgabe

07/09

Gedruckt in Deutschland

Agilent Technologies  
Hewlett-Packard-Strasse 8  
76337 Waldbronn, Germany

## Softwareversion

Dieses Handbuch gilt für die Versionen B.04.xx der Agilent ChemStation Software, wobei xx kleinere Versionsänderungen der Software kennzeichnet, welche die Gültigkeit dieses Handbuchs nicht beeinflussen.

## Gewährleistung

**Agilent Technologies behält sich vor, die in diesem Handbuch enthaltenen Informationen jederzeit ohne Vorankündigung zu ändern. Agilent Technologies übernimmt keinerlei Gewährleistung für die in diesem Handbuch enthaltenen Informationen, insbesondere nicht für deren Eignung oder Tauglichkeit für einen bestimmten Zweck. Agilent Technologies übernimmt keine Haftung für Fehler, die in diesem Handbuch enthalten sind, und für zufällige Schäden oder Folgeschäden im Zusammenhang mit der Lieferung, Ingebrauchnahme oder Benutzung dieses Handbuchs. Falls zwischen Agilent und dem Benutzer eine schriftliche Vereinbarung mit abweichenden Gewährleistungsbedingungen hinsichtlich der in diesem Dokument enthaltenen Informationen existiert, so gelten diese schriftlich vereinbarten Bedingungen.**

## Technolizenz

Die in diesem Dokument beschriebene Hardware und/oder Software wird/werden unter einer Lizenz geliefert und dürfen nur entsprechend den Lizenzbedingungen genutzt oder kopiert werden.

## Sicherheitshinweise

### VORSICHT

Ein **VORSICHT**-Hinweis macht auf Arbeitsweisen, Anwendungen o.ä.aufmerksam, die bei falscher Ausführung zur Beschädigung des Produkts oder zum Verlust wichtiger Daten führen können. Wenn eine Prozedur mit dem Hinweis **VORSICHT** gekennzeichnet ist, dürfen Sie erst fortfahren, wenn Sie alle angeführten Bedingungen verstanden haben und diese erfüllt sind.

### WARNUNG

Ein **WARNUNG**-Hinweis macht auf Arbeitsweisen, Anwendungen o. ä. aufmerksam, die bei falscher Ausführung zu Personenschäden, u. U. mit Todesfolge, führen können. Wenn eine Prozedur mit dem Hinweis **WARNUNG** gekennzeichnet ist, dürfen Sie erst fortfahren, wenn Sie alle angeführten Bedingungen verstanden haben und diese erfüllt sind.

Nur für wissenschaftliche Anwendungen.

# Inhaltsangabe

In diesem Handbuch werden die verschiedenen Begriffe und Prinzipien der Agilent ChemStation beschrieben. Anhand des Handbuchs können Sie sich Einblick in die Funktionsweise der ChemStation verschaffen.

Informationen zur Bedienung der ChemStation finden Sie im Hilfesystem oder in der Online-Hilfe „Erste Schritte“.

## 1 Funktionen der Agilent ChemStation

Dieses Kapitel gibt eine Übersicht über die Hauptkomponenten und die wichtigsten Funktionen der ChemStation.

## 2 Methoden

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte von Methoden und die Arbeit mit diesen Methoden.

## 3 Datenerfassung

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte von Datenerfassung, Datendateien, Logbüchern usw.

## 4 Integration

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte der Integration und den Integrationalgorithmus der ChemStation. Es beschreibt den Integrationsalgorithmus, die Integration und die manuelle Integration.

## 5 Quantifizierung

Dieses Kapitel beschreibt die Quantifizierung mit der ChemStation. Area%, Height% und Norm%-Berechnungen, ESTD- und ISTD-Berechnungen sowie die Quantifizierung nicht identifizierter Peaks werden ausführlich beschrieben.

## 6 Peakidentifizierung

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte der Peakidentifizierung.

### **7 Kalibrierung**

Dieses Kapitel beschreibt die Kalibrierung in der ChemStation.

### **8 Automatisierung**

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte der Automatisierung. Erläutert wird die Arbeit mit Sequenzen bei der ChemStation, was beim Ablauf einer Sequenz geschieht und wie Sequenzen an spezifische Anforderungen angepasst werden können.

### **9 Datenprüfung, erneute Verarbeitung und Batchüberprüfung**

In diesem Kapitel werden die Möglichkeiten zur Datenprüfung und zur erneuten Verarbeitung von Sequenzen beschrieben. Darüber hinaus werden die Grundlagen zu Batchüberprüfung, Batchkonfiguration, Überprüfungsfunktionen und Batchreporterstellung dargestellt.

### **10 Verwendung der ChemStation-Reports**

Dieses Kapitel beschreibt die Funktionen eines Reports. Es beinhaltet Einzelheiten zur Erstellung von Ergebnisreports, zu quantitativen Ergebnissen, Reportformaten, Reportausgabeeinheiten und Sequenzübersichten.

### **11 Systemeignungsevaluierung**

In diesem Kapitel wird beschrieben, welche Funktionen die ChemStation ausführen kann, um die Leistung des Analysengeräts vor seiner Verwendung für die Probenanalyse sowie der Analysenmethode vor ihrer routinemäßigen Verwendung auszuwerten. Außerdem wird beschrieben, wie die Leistung der Analysensysteme vor und während der routinemäßigen Analyse überprüft werden kann.

### **12 Überprüfung des Systems**

In diesem Kapitel werden die Verifizierungsfunktionen und die GLP-Verifizierungsfunktionen der ChemStation beschrieben.

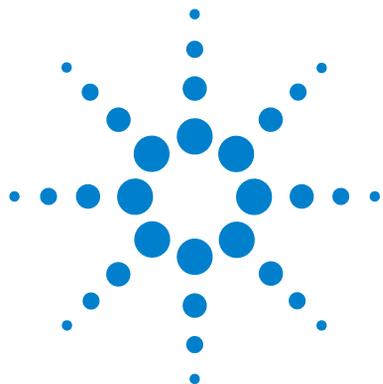
# Inhalt

<b>1 Funktionen der Agilent ChemStation</b>	<b>9</b>
Allgemeine Beschreibung	11
Hardware der ChemStation	14
Software der ChemStation	15
Instrumentensteuerung	33
Dokumentation	35
Verzeichnisstruktur der ChemStation	37
Navigationsfenster	41
<b>2 Methoden</b>	<b>43</b>
Was ist eine Methode?	45
Bestandteile einer Methode	46
Status von Methoden	49
Erstellen von Methoden	52
Methoden bearbeiten	53
Verzeichnisstruktur von Methoden	55
Was geschieht während der Ausführung einer Methode?	56
Zusammenfassung des Methodenablaufs	62
<b>3 Datenerfassung</b>	<b>63</b>
Was ist Datenerfassung?	64
Datendateien	65
Online-Monitore	67
Logbuch	68
Statusinformationen	69
<b>4 Integration</b>	<b>71</b>
Was ist die Integration?	73
Was wird bei der Integration durchgeführt?	74
Integrationsalgorithmen der ChemStation	75
Überblick	77
Begriffserläuterung	82

Funktionsprinzip	84
Peakerkennung	85
Basislinienbestimmung	94
Peakflächenberechnung	107
Integrationsereignisse	110
Manuelle Integration	116
<b>5 Quantifizierung</b>	<b>121</b>
Was ist Quantifizierung?	122
Berechnungsmethoden in der Quantifizierung	123
Korrekturfaktoren	124
Nicht kalibrierte Berechnungsverfahren	126
Kalibrierte Berechnungsverfahren	127
ESTD-Berechnung	128
Norm%-Berechnung	131
ISTD-Berechnung	132
<b>6 Peakidentifizierung</b>	<b>137</b>
Was ist eine Peakidentifizierung?	138
Regeln zur Peakübereinstimmung	139
Methoden der Peakidentifizierung	140
Absolute Retentions-/Migrationszeit	142
Korrigierte Retentions-/Migrationszeiten	144
Peak-Qualifier	146
Identifizierungsprozess	149
<b>7 Kalibrierung</b>	<b>151</b>
Begriffserläuterung	152
Kalibriertabelle	153
Kalibrierkurve	154
Unbekannte Proben	156
Kalibrierverfahren	157
Gruppenkalibrierung	164
Peaksummierung	165
Neukalibrierung	166

<b>8 Automatisierung</b>	<b>171</b>
Was ist Automatisierung?	173
Was ist eine Sequenz bzw. eine Sequenzvorlage?	174
Registerkarte "Preferences - Sequence" (Voreinstellungen - Sequenz)	175
Sequenzparameter	177
Sequenztafel	178
Erstellen einer Sequenz (Sequenzen und Sequenzvorlagen)	179
Arbeiten mit Sequenzen (Sequenzen und Sequenzvorlagen)	181
Logbuchdatei einer Sequenz	185
Was geschieht während der Ausführung einer Sequenz?	186
Struktur der Sequenzdatendatei (Erstellung eindeutiger Ordner EIN)	188
Vergabe von Dateinamen in einer Sequenz	189
Arbeitsschritte nach der Sequenz	191
Automatische Neukalibrierung	193
Spezifizieren von Neukalibrierungen	194
Sequenztypen	197
Explizite Kalibriersequenzen	198
Zyklische einstufige Kalibriersequenzen	199
Zyklische Kalibriersequenzen für mehrstufige Kalibrierung	200
Kombination aus expliziter und zyklischer Kalibrierung	204
Umschließende zyklische Kalibriersequenzen (Bracketing)	206
Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten	210
<b>9 Datenprüfung, erneute Verarbeitung und Batchüberprüfung</b>	<b>215</b>
Navigationstabelle der Datenanalyse	216
Was versteht man unter Batchüberprüfung?	222
Aktivierung der Funktion zur Batchüberprüfung bei installierter ChemStation Open-LAB Option	223
Batchkonfiguration	224
Funktionen für die Überprüfung	227
Batch-Reports	228
<b>10 Verwendung der ChemStation-Reports</b>	<b>229</b>
Was ist ein Report?	230
Reportergebnisse	231
Quantitative Ergebnisse	233

Reporterstellung mit Werten der benutzerdefinierten Felder	235
Reportvorlagen	236
Weitere Parameter für die Reportvorlagen	239
Reportausgabe	240
Sequenzübersichtsreport	242
<b>11 Systemeignungsevaluierung</b>	<b>247</b>
Rauschbestimmung	251
Berechnung der Peaksymmetrie	256
Formeln und Rechenmethoden zur Beurteilung der Systemeignung	258
Allgemeine Definitionen	259
Leistungstest-Definitionen	260
Definitionen der Reproduzierbarkeit	266
Interner gespeicherter Doppelpräzisions-Zahlenzugriff	271
<b>12 Überprüfung des Systems</b>	<b>275</b>
Ansichten für Überprüfung und Fehlerdiagnose	276
Das Register "GLPsave"	279
Funktion "DAD Test" (DAD-Test)	281



# 1 Funktionen der Agilent ChemStation

Allgemeine Beschreibung	11
Zusätzliche Gerätemodule	12
Zusatzmodule für die Auswertung von Daten	12
Produkte zur Datenanalyse	13
Hardware der ChemStation	14
Software der ChemStation	15
Betriebssystem	15
Methoden und Sequenzen	15
Systemkonfiguration	15
Datenmodell	16
Dateinamen-Konventionen	16
Benutzeroberfläche der Software	18
Datenerfassung	20
Datenanalyse – Anzeige	21
Datenanalyse – Integration	22
Datenanalyse – Quantifizierung	22
Datenanalyse – Daten prüfen, Daten erneut verarbeiten und Batchüberprüfung	23
Datenanalyse – Standard-Reporterstellung	23
Datenanalyse – Spezielle Reports	24
Dienstprogramme und Kompatibilitäten	27
Anpassung	27
Automatisierung	28
Gute Laborpraxis	29
Instrumentensteuerung	33
Einsatz in Netzwerken	33
Dokumentation	35
Verzeichnisstruktur der ChemStation	37



# 1 Funktionen der Agilent ChemStation

## Inhaltsangabe

Navigationfenster	41
Navigationsschaltflächen	41
ChemStation-Explorer	41

Dieses Kapitel gibt eine Übersicht über die Hauptkomponenten und die wichtigsten Funktionen der ChemStation.

## Allgemeine Beschreibung

Die ChemStation-Software für GC-, LC-, LC/MSD-, CE-, CE/MSD- und A/D-Systeme dient der Gerätesteuerung, der Datenerfassung und der Datenanalyse für

- Agilent 7890A Gaschromatographen,
- Agilent 6890N, 6890Plus und 6890A Gaschromatographen,
- Agilent 6850 Gaschromatographen,
- Gaschromatographen der Serie II,
- Agilent Module und LC-Systeme der Serie 1100/1200,
- Agilent LC/MSD der Serie 1100,  
Agilent Single Quadrupol LC/MS-Systeme der Serie 6100
- Agilent 1600 Kapillarelektrophorese-System,
- Agilent 7100 Kapillarelektrophorese-System,
- Agilent CE/MS-System und
- Agilent 35900E Zweikanalschnittstellen für A/D-Wandler.

Die Software ist zum Einsatz auf IBM-kompatiblen PCs mit Microsoft® Windows XP Professional ausgelegt.

Die Software wird als Einzelgerät-ChemStation in fünf Versionen verkauft. Alle Versionen umfassen die Datenerfassung, Gerätesteuerung, Datenauswertung (Integration, Quantifizierung und Reporterstellung) sowie die Automatisierung und Anpassung eines Analysengeräts. Jedes Gerätemodul hat seinen eigenen Zeitablauf und kann dabei Daten simultan aus verschiedenen Detektoren aufzeichnen. Die fünf Versionen sind:

- eine Einzelgerät-ChemStation für Gaschromatographie-Systeme (GC), Produktnummer G2070BA,
- eine Einzelgerät-ChemStation für Flüssigkeitschromatographie-Systeme (LC), Produktnummer G2170BA,
- eine Einzelgerät-ChemStation für Kapillar-Elektrophorese-Systeme (CE), Produktnummer G1601BA,
- eine Einzelgerät-ChemStation für Flüssigkeitschromatographie-Systeme mit massenselektivem Detektor (LC/MSD), Produktnummer G2710BA und

## 1 Funktionen der Agilent ChemStation

### Allgemeine Beschreibung

- eine Einzelgerät-ChemStation (A/D) für die Erfassung von Analogdaten mit externer Ereignissteuerung, Produktnummer G2072BA.

Die Möglichkeiten zur Gerätesteuerung mit der ChemStation-Software können durch den Erwerb zusätzlicher Gerätemodule erweitert werden. Dies ermöglicht gemischte Konfigurationen mit mehreren Analysengeräten.

## Zusätzliche Gerätemodule

Folgende zusätzlichen Gerätemodule stehen zur Verfügung:

- Zusatzmodul zur GC-Gerätesteuerung und Datenerfassung, Produktnummer G2071BA,
- Zusatzmodul zur LC-Gerätesteuerung und Datenerfassung, Produktnummer G2171BA,
- Zusatzmodul zur CE-Gerätesteuerung und Datenerfassung, Produktnummer G2172BA,
- Zusatzmodul zur LC/MSD-Gerätesteuerung, Datenerfassung und Datenauswertung, Produktnummer G2712BA,
- Zusatzmodul zur analogen Datenerfassung, Produktnummer G2073BA, und
- MSD-Zusatzmodul zur Aktualisierung eines LC-Systems auf LC7MSD, Produktnummer G2712BA.

## Zusatzmodule für die Auswertung von Daten

Die Möglichkeiten zur Datenbearbeitung mit der ChemStation können durch den Erwerb zusätzlicher Datenbearbeitungsmodule für Spezialanwendungen erweitert werden:

- Zusatzmodul zur Spektrenauswertung des Diodenarray-Detektors (DAD), Produktnummer G2180BA,
- Zusätzliches ChemStore-Datenbankmodul zur Organisation von Probanden und Ergebnissen, Produktnummer G2181BA,
- Zusätzliches Datenverarbeitungsmodul für die Auswertung und Bioanalyse von LC/MSD-Daten, Produktnummer G2720BA, nur für die LC/MSD ChemStation.

- ChemStation OpenLAB-Option, Produktnummer G2189BA, bietet eine Schnittstelle zwischen ChemStation und *Agilent Enterprise Content Manager* (ECM).

An jede ChemStation können bis zu vier chromatographische Geräte angeschlossen werden. Wenn Geräte mit spektroskopischen Detektoren (Diodenarray-Detektor für die Flüssigkeitschromatographie oder Kapillar-Elektrophorese) angeschlossen sind, können von einer ChemStation lediglich zwei Diodenarray-Detektoren gesteuert werden. Die Anzahl der unterstützten Geräte beträgt drei. Wenn die ChemStation für LC/MS zur Steuerung eines LC/MS-Moduls der Serie 1100/1200 (optional mit einem LC der Serie Agilent 1100/1200 oder der Serie 1090 II) verwendet wird, kann vom PC kein weiteres Gerät unterstützt werden.

## Produkte zur Datenanalyse

Es sind zudem zwei Produkte zur reinen Datenauswertung verfügbar, die ohne konfigurierte Geräte funktionieren. Sie sind für die Datenanalyse in Büroumgebungen ausgelegt:

- ChemStation für die LC-3D-Datenauswertung, Produktnummer G2190BA, enthält die Datenanalysefunktionen der GC-, LC- und CE-ChemStation sowie Funktionen zur Diodenarray-Spektrenauswertung.
- ChemStation für die LC/MSD-Datenauswertung, Produktnummer G2730BA, bietet Diodenarray-Spektrenauswertung, Massenspektrenauswertung sowie die Datenauswertungsfunktionen der Basis-ChemStation.

## **Hardware der ChemStation**

Weitere Informationen zur ChemStation-Hardware finden Sie im Handbuch *Installation der ChemStation*.

## Software der ChemStation

### Betriebssystem

Die ChemStation benötigt als Betriebssystem Microsoft Windows XP Professional SP3 oder Windows Vista Business SP1.

Für die Kontrollkarten-Funktion der ChemStation ist Microsoft Excel erforderlich.

### Methoden und Sequenzen

Eine analytische Methode ist die vollständige Beschreibung einer bestimmten Trennung. Sie enthält alle Parameter zur Instrumentensteuerung, Datenerfassung und Auswertung einschließlich Integration, Quantifizierung und Reporterstellung. Das System kann so konfiguriert werden, dass es Daten von verschiedenen Proben mit verschiedenen Methoden aufnimmt. Die Steuerdatei für eine solche Folge heißt Sequenz und enthält Informationen zu den einzelnen Proben. Sie greift auf die geeigneten Methoden und die Angaben zur Neukalibrierung zu. Weitere Informationen zu Methoden und Sequenzen finden Sie in [“Automatisierung”](#) auf Seite 28 und in der Online-Hilfe.

### Systemkonfiguration

Die Konfiguration eines Instrumentensystems erfolgt mithilfe des Konfigurationseditors. Er ermöglicht Ihnen die Definition Ihres Instruments, dessen GPIB- oder LAN-Adressen, der Verzeichnisse zur Speicherung von Daten, Sequenzen, Methoden sowie die Farbdefinitionen der ChemStation-Software. Weitere Informationen entnehmen Sie bitte den mit den zusätzlichen ChemStation-Modulen ausgelieferten Handbüchern.

## Datenmodell

Das Datensystem der ChemStation beruht auf einem Datenmodell mit Speicherstrukturen, die als Register bezeichnet werden. Register sind zweckmäßige Strukturen, die analytische Daten und Informationen zweidimensional (z. B. mit Zeit- und Intensitätsachse) und dreidimensional (z. B. mit Zeit-, Intensitäts- und Wellenlängenachse) abbilden können.

Die ChemStation verfügt über Befehle und Funktionen zur Konstruktion, Vergrößerung, Extraktion und, sofern keine Primärdaten geändert werden, Änderung von Registern. Weitere Informationen hierzu finden Sie im *Macro Programming Guide* (Leitfaden zur Makroprogrammierung), der als Online-Hilfe verfügbar ist.

## Dateinamen-Konventionen

### Dateinamen-Konventionen

ChemStation erzeugt und verarbeitet nach folgenden Regeln gültige Namen für Dateien und Verzeichnisse:

Folgende Zeichen sind nicht als Namensbestandteil für Dateien und Verzeichnisse erlaubt: < > : " / \ | @ % \* ? ' & Leerzeichen usw.

Die Verwendung dieser Zeichen in Datei- oder Verzeichnisnamen kann beim Laden von Dateien in ChemStation Probleme bereiten. Außerdem startet bei Verwendung dieser Zeichen im Installationsordner die Überarbeitungskopie nicht. Bei Vorhandensein des %-Zeichens im Installationsordner funktionieren einige Tastaturkürzel der Agilent Chemstation nicht korrekt.

Zusätzlich gelten folgende Regeln:

**Tabelle 1** Zeichenbeschränkungen

ChemStation-Parameter	Character
Namen für Methodendateien:	% und . (Dezimalpunkt) ist nicht erlaubt
Name für Datendatei (Präfix/Zähler):	Leerzeichen sind nicht erlaubt
Datenunterverzeichnis und Sequenzunterverzeichnis:	[] + = ; , . (Dezimalpunkt); Leerzeichen sind nicht erlaubt

Folgende reservierte Gerätenamen können nicht als Dateiname verwendet werden:

- CON, PRN, AUX, NUL
- COMx (wobei x eine Zahl von 1 bis 9 ist)
- LPT1x (wobei x eine Zahl von 1 bis 9 ist)

Vermeiden Sie auch diese Namen mit anschließender Erweiterung (z.B. Nul.txt).

## HINWEIS

Englische, japanische und chinesische Betriebssysteme prüfen die Einhaltung der Namens-Konventionen. Agilent kann keine Unterstützung bei nicht englischen Betriebssystemen und deren Sonderzeichen garantieren.

## Maximale Länge der ChemStation-Namen für Dateien und Unterverzeichnisse

Im Folgenden sind die Agilent ChemStation Spezifikationen für Datei- und Unterverzeichnisnamen aufgelistet:

**Tabelle 2** Maximale Länge der ChemStation-Namen für Dateien und Unterverzeichnisse

Datendatei/Unterverzeichnis/Pfad	Max. Eingabelänge	Automatisch hinzufügen	Beispiel
Datendateiname	38	.D	Demodad.d
Datendateiname mit Präfix/Zähler	15	.D	longname000001.d
Benutzerdefinierte Reportvorlagen für Methodensequenzen- und Hypersequenzbibliotheken	40	.M .S .HYP .UVL .FRP	def_lc.m def_lc.s def_lc.hyp demodad.uvl areapct.frp
Datendatei-Unterverzeichnis	40		Demo (in Probeninfo)
Datensequenz-Unterverzeichnis	40		Demo (in Sequenzparametern)

**Tabelle 2** Maximale Länge der ChemStation-Namen für Dateien und Unterverzeichnisse

Datendatei/Unterverzeichnis/Pfad	Max. Eingabelänge	Automatisch anfügen	Beispiel
Name des Sequenzdatencontainers	40		test_date_time (wird unter Verwendung der Sequenzvoreinstellungen erstellt)
Datenpfad	100	100	c:\chem32\1\data
Methodenpfad			c:\chem32\1\methods
Sequenzpfad			c:\chem32\1\sequence
Hypersequenzpfad			c:\chem32\1\hyper
Bibliothekpfad			c:\chem32\speclib
Pfad für benutzerdefinierte Reportvorlagen			c:\chem32\repstyle

Alle ChemStation-Logbücher zeigen Systemmeldungen in einem erweiterten Format an; Informationsmeldungen werden über mehrere Zeilen ausgegeben. Einige Reports (z. B. Sequenzreports) kürzen Dateinamen, damit alle Angaben in die Reportvorlage passen.

## Benutzeroberfläche der Software

Die ChemStation-Software ist in mehrere Ansichten gegliedert, in denen Softwarefunktionen entsprechend deren analytischen Aufgaben in Gruppen zusammengefasst sind. In die Softwarekonfiguration sind standardmäßig folgende drei Ansichten eingebunden:

- "Method und Run Control" (Methoden- und Analysensteuerung) zur Gerätesteuerung und zur Datenerfassung,
- "Data Analysis" (Datenanalyse) zur Überprüfung und erneuten Auswertung bereits erlangter Daten,
- "Report Layout" (Reportlayout) zum Erstellen bestimmter Reportvorlagen.

Für weitere Datenanalysenmodule oder bestimmte Instrumentenkonfigurationen für Fehlerdiagnosen und Instrumentenüberprüfungen stehen zusätzliche Ansichten zur Verfügung. Zudem kann die ChemStation-Ansicht "Companion" verwendet werden, wenn die Instrumentenbediener die Möglichkeit haben sollen, Proben bequem über eine vorgefertigte Tabelle abzuarbeiten.

Das Navigationsfenster enthält die Navigationsschaltfläche, mit der Sie schnell zwischen den ChemStation-Ansichten und der Baumstruktur des ChemStation-Explorers wechseln können. Der Inhalt des ChemStation-Explorers ist abhängig von der jeweiligen Ansicht und bietet Zugriff auf unterschiedliche ChemStation-Elemente.

Jede Ansicht besteht aus einer Reihe standardmäßiger Benutzerelemente wie Menüs und Symbolleisten. Die voreingestellte Symbolleiste ermöglicht den schnellen Zugriff auf allgemeine Informationen zur Systemspezifikation wie Methoden und Sequenzen. Die Ansicht "Method und Run Control" (Methoden- und Analysensteuerung) enthält zusätzlich eine Informationszeile zum Systemstatus, ein Informationsfeld zur Probe, das sowohl für einzelne als auch automatisierte Läufe festgelegt werden kann, und eine schematisch dargestellte Instrumentenschnittstelle für GC-, GE- und LC-Konfigurationen. Über diese schematische Benutzerschnittstelle können Sie sehr schnell auf die Instrumentenparameter zugreifen, wobei ein grafischer Überblick über den Status jeder Analyse gegeben wird. Sie können die schematisch dargestellte Instrumentenschnittstelle auch ausschalten, um Arbeitsspeicher und andere Windows-Ressourcen zu sparen.

Die Ansicht "Data Analysis" (Datenanalyse) erweitert die Standardsymbolleiste um bestimmte Datenanalysenmodi einschließlich Integration, Kalibrierung, Reporterstellung, Anmerkungen, Signalvergleich und zusätzliche spezielle Modi, sofern diese installiert sind. Jeder dieser einzelnen Datenanalysenmodi wird durch einen spezifischen Symbolsatz unterstützt.

Die Ansicht "Report Layout" (Reportlayout) ermöglicht Ihnen, das Layout einer bestimmten Reportvorlage mithilfe grafischer Objekte zu definieren. Auch diese Ansicht enthält eine Symbolleiste, die speziell für diese Aufgaben ausgelegt ist.

## Datenerfassung

Der Status der Instrumente wird laufend verfolgt und auf dem Bildschirm zusammen mit der aktuellen Analysenzeit dargestellt, wenn die ChemStation als sichtbares Fenster oder als Symbol ausgeführt wird. Alle Ereignisse aus einem Analysenlauf einschließlich aller Fehlermeldungen und der Instrumentenbedingungen bei Start und Ende des Laufs werden in einem Logbuch des Systems abgelegt. Ein Auszug dieses Logbuchs wird in jeder Datendatei gespeichert.

Instrumentenbedingungen wie Flussrate, Temperatur, Druck und die Lösungsmittelzusammensetzung bei LC-Systemen können aufgezeichnet und in jeder Datendatei gespeichert werden. Diese Instrumentenparameter können angezeigt und als Beleg der Analysenqualität ausgedruckt werden. Genaue Einzelheiten der gespeicherten Parameter hängen von der Methode und den Möglichkeiten des konfigurierten Instruments ab.

Weitere Anzeigefenster können dazu verwendet werden, die vom Instrument erfassten Daten in Echtzeit zu überwachen. Die Daten werden in ihrer tatsächlichen Maßeinheit wie mAU, V oder bar angegeben. Jedes der Fenster kann mehrere übereinander gelegte Chromatogramme/ Elektropherogramme oder Instrumentenparameter, z. B. den Druck, enthalten. Die Voreinstellungen für die Anzeige lassen sich anpassen und werden vom System gespeichert, sodass der Anwender eine bevorzugte Einstellung als Standardeinstellung für das Instrument festlegen kann. Das Fenster ist zoomfähig und mithilfe des Cursors kann der Wert für ein bestimmtes Signal zu jeder Zeit der Analyse abgerufen werden.

Die gesamte Funktionalität der ChemStation kann auch während laufender Analysen durch eine Offline-Kopie genutzt werden. Während die Datenerfassung ausgeführt wird, ist die Datenanalyse der Online-Sitzung eines Instruments nicht verfügbar und das Überprüfen der Daten muss in der Offline-Kopie ausgeführt werden.

Für Anwender, die mit der Datenanalyse beginnen möchten, bevor die Datenerfassung abgeschlossen ist, steht der Snapshot-Befehl zur Verfügung. Der Snapshot wird in die Offline-Kopie der Instrumentensitzungen aufgenommen und ist für die Überprüfung sofort verfügbar.

Das Layout der Signal- und Statusinformationsfenster, einschließlich der Bestandteile der schematisch dargestellten Instrumentenschnittstelle, wird automatisch gespeichert.

Weitere Informationen zur Datenerfassung finden Sie in ["Datenerfassung"](#) auf Seite 63 und in der Online-Hilfe.

## Datenanalyse – Anzeige

Die Ansicht "Data Analysis" (Datenanalyse) enthält eine erweiterte Standard-symbolleiste, die Zugriff auf aufgabenorientierte Funktionen zur Datenanalyse, z. B. Integration, Kalibrierung, Reporterstellung, Anmerkungen und Signalvergleich, bietet. Im Folgenden sind die wichtigsten Grafikfunktionen aufgeführt:

- Darstellungen im Einzel- oder Mehrsignalmodus, wählbar beim Laden des Chromatogramms/Elektropherogramms
- Überlagern von Chromatogrammen/Elektropherogrammen verschiedener Proben
- Subtraktion eines Chromatogramms/Elektropherogramms von einem anderen
- Grafische Anpassung der Signale in vertikaler und horizontaler Richtung, um den visuellen Vergleich zu vereinfachen
- Signalumkehr oder -spiegelung, um den visuellen Vergleich zu vereinfachen
- Grafische Funktionen zum Zoomen oder Verschieben
- Anpassung der Darstellungsmerkmale, z. B. der Auswahl von Markierungen, Basislinien, Achsen, Retentions-/Migrationszeiten und Substanznamen (der Anwender kann auch die Schriftart der Retentionszeit und der Substanznamen festlegen, die Größe und Ausrichtung der Darstellung bestimmen, auswählen, ob die Darstellung überlagert oder getrennt erfolgen soll und die Skalierungsfaktoren festlegen)
- Die Darstellung des Chromatogramms/Elektropherogramms kann, je nach den Möglichkeiten des konfigurierten Instruments, auch mit Verläufen der Instrumentenparameter überlagert sein
- Anmerkungen können vom Anwender definiert und in die Anzeige eingefügt werden, wobei die Schriftart und -größe sowie die Ausrichtung und Farbe wählbar sind (eine einmal definierte Anmerkung kann grafisch verschoben, editiert oder gelöscht werden)
- Kopieren der Anzeige in die Windows-Zwischenablage als Metafile oder im Bitmap-Format
- Eine Funktion für die *Modusauswahl*, um die Werte einzelner Datenpunkte in Detektoreinheiten anzuzeigen
- Export von digitalisierten Werten in die Windows-Zwischenablage.

## Datenanalyse – Integration

Der ChemStation-Integrationsalgorithmus in seiner neuen zweiten Version optimiert Robustheit, Zuverlässigkeit und Anwenderfreundlichkeit.

## Datenanalyse – Quantifizierung

Der Kalibriermodus der ChemStation für die Datenanalyse ermöglicht die gleichzeitige Darstellung folgender Elemente:

- Die kalibrierten Signale mit Angabe des Retentions-/Migrationszeitfensters der aktuellen Substanz
- Die Kalibriertabelle, deren Darstellung mit einer umfassenden Auswahl von Kalibrierparametern festgelegt werden kann und
- Die Kalibrierkurve für die zu kalibrierende Substanz.

Alle Fenster des Kalibriermodus sind miteinander verknüpft, sodass Veränderungen, die in einem Fenster vorgenommen werden, auf alle anderen übertragen werden. Der Modus ermöglicht die grafische Auswahl und Veränderung der Kalibrierdaten.

Die Quantifizierung erfolgt als Berechnung von %-Werten, normalisierten %-Werten, externem Standard, externen Standard %, internem Standard und internen Standard % für Peakfläche oder Peakhöhe. Sie kann mehrstufig erfolgen und mehrere Definitionen eines internen Standards umfassen. Kalibrierungshistorien werden automatisch gespeichert und zur Wichtung von Berechnungen bei Neukalibrierungen verwendet.

Weitere Informationen zur Kalibrierung und Quantifizierung finden Sie in [“Kalibrierung”](#) auf Seite 151.

## Datenanalyse – Daten prüfen, Daten erneut verarbeiten und Batchüberprüfung

In der Ansicht "Data Analysis" (Datenanalyse) sind folgenden zwei zusätzlichen Toolsets verfügbar:

- Navigationstabelle
- Batchüberprüfung

Die Navigationstabelle ermöglicht mehrere grafische Vorgänge:

- Standardmäßige Funktionen zur Tabellenkonfiguration, z. B. Sortieren, Drag-and-Drop-Optionen, Spaltenauswahl, Elementgruppierung, um eine bevorzugte Konfiguration für die Navigationstabelle festzulegen
- Rechtsklick-Funktionen zum Laden oder Überlagern von Signalen, um Daten zu exportieren und Reporte zu drucken
- Überprüfung der Signaldetails durch Erweitern einer Zeile in der Navigationstabelle
- Überprüfung von Signalen und Erstellen von ChemStation-Reporten unter Verwendung einer der geladenen Methoden oder der einzelnen Datendateimethode DA.M, z. B. um manuelle Integrationsereignisse zu überprüfen
- Erneutes Verarbeiten von Sequenzdaten (erfasste Sequenzdaten von ChemStation Version B.02.01 und höher)

In der Ansicht "Batch Review" (Batchüberprüfung) sind folgende grafischen Vorgänge möglich:

- Definieren automatischer oder manueller Überprüfungen und erneutes Verarbeiten von (kalibrierten) Datendateien
- Neukalibrierung von Kalibriertabellen
- Überprüfung der Substanztabellen kalibrierter Methoden
- Erstellen spezifischer Batch-Reporte

## Datenanalyse – Standard-Reporterstellung

Anwender-definierbare Reportvorlagen für die Analysenreporte sind im Bildschirm "Report Specification" (Report angeben) wählbar. Jede Standard Reportvorlage umfasst standardisierte Informationsgruppen und optionale Informationsgruppen.

Weitere Informationen zu den verfügbaren Reportvorlagen finden Sie in [“Verwendung der ChemStation-Reports”](#) auf Seite 229.

## Datenanalyse – Spezielle Reports

Für Anwendungen, die spezielle Reports erfordern, stehen in der ChemStation erweiterte Reportmöglichkeiten zur Verfügung. Sie umfassen die statistische Auswertung der Trennleistung, Trendanalysen sowie benutzerdefinierte Reportvorlagen.

### Reports zur Systemeignung

Reports zur Systemeignung ermöglichen dem Anwender, die Systemleistungsparameter für einzelne Analysen zu überprüfen. Hierfür stehen drei Reportvorlagen zur Verfügung.

Die Standardreportvorlage **Performance** enthält folgende Parameter für nicht kalibrierte Methoden:

- Retentions-/Migrationszeit
- Kapazitätsfaktor ( $k'$ )
- Peakfläche
- Peakhöhe
- Symmetrie
- Halbwertbreite des Peaks
- Effizienz als Anzahl der Böden
- Auflösung
- Selektivität

Bei Methoden mit Kalibrierungen werden die Spalten für Peakfläche, Peakhöhe und Selektivität durch die Substanznamen und -mengen ersetzt.

Die Kopfzeile des Reports enthält die Standardkopf- und -fußzeile, die Probeninformation, die Parameter zur Trennsäule und optional eine Abbildung des Chromatogramms/Elektropherogramms.

Die Vorlage **Performance and Noise** enthält zusätzlich zu den Daten des Reports **Performance** eine Auswertung des Signalrauschens in bis zu sieben benutzerdefinierten Auswertungsbereichen. Die Angabe des Rauschens erfolgt als Sig-

nal-Rausch-Verhältnis für jeden Peak oder jede kalibrierte Substanz in Form einer Rauschtabelle für jedes Signal. Jede Rauschtabelle enthält Rauschwerte als sechsfache Standardabweichung, als Peak-zu-Peak-Wert und als ASTM-Berechnung sowie Angaben zu Wanderung und Drift.

Die Reportvorlage **Extended Performance** zeigt von jedem einzelnen Peak eine grafische Darstellung, in der der Peakstart, das Peakende, die Halbwertbreiten und die Basislinie eingetragen sind. Zusätzlich werden folgende Parameter angegeben:

- Fläche, Höhe und Menge
- Schräge
- Überschuss
- USP-Tailingfaktor
- Zeitintervall zwischen den Datenpunkten und Anzahl der Datenpunkte im Peak
- statistische Momente (M0 bis M4)
- Peakbreite in halber Höhe: tatsächlicher Wert, Berechnung mit 5 Sigma-, Tangenten- und Tailingmethode
- Anzahl theoretischer Böden pro Säule und pro Meter, berechnet mit der Halbwertbreite des Peaks, 5 Sigma-, Tangenten- und statistischen Methode

Anwender können eigene Bereiche zur Berechnung des Rauschens und eigene Akzeptanzkriterien angeben. Werte außerhalb des benutzerdefinierten Akzeptanzbereichs werden im Report markiert.

Weitere Informationen zu den Systemeignungsberechnungen finden Sie unter [“Systemeignungsevaluierung”](#) auf Seite 247.

## Sequenzübersichtsreports

Übersichtsreports werden am Ende einer automatischen Analyse erstellt. Es stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung - von einer kurzen Zusammenfassung der analysierten Proben bis hin zur genauen grafischen Auswertung von Reproduzierbarkeit oder Trendanalysen nach Benutzervorgaben.

Weitere Informationen zu Sequenzübersichtsreports finden Sie im Online-Hilfesystem und unter [“Sequenzübersichtsreport”](#) auf Seite 242.

## Benutzerdefinierte Reports

Im Menü zur Erstellung benutzerdefinierter Reports der ChemStation können Anwender den genauen Inhalt ihrer eigenen Reports festlegen. Sie können Reportvorlagen grafisch gestalten. Es können allgemeine Informationen zu den Proben sowie Informationen zu Signalen, Integration und quantitativen analytischen Ergebnissen enthalten sein. Sie können eigene Gestaltungselemente wie Texte, Tabellen und Grafiken definieren, die Informationen in Abschnitte gliedern und relative Position, Größe und Ausrichtung aller Elemente grafisch festlegen. Eigene Abschnitte können hinzugefügt, gelöscht, sortiert oder verschachtelt werden.

Anwender können eigene Kopf- und Fußzeilen für alle Seiten definieren, Zeitstempel angeben sowie Seitenzahlen im Format **page x of y** einfügen. Der Report kann alle ChemStation- oder alle benutzerdefinierten Parameter enthalten.

Ein Reportdesign kann mit einer bestimmten Methode verbunden und als Standardformat für diesen Analysetyp festgelegt werden.

Benutzerdefinierte Reports können auf dem Bildschirm, über Drucker oder in einer Datei ausgegeben werden. Reports auf dem Bildschirm enthalten auch Grafiken.

Weitere Informationen zum Reportlayout finden Sie in der Online-Hilfe.

## Kontrollkarten-Reports

Die ChemStation-Software enthält die Funktion **Control Chart**. Sobald diese Funktion installiert und aktiviert ist, kann der Anwender beim Ausführen einer Methode automatisch einen bestimmten Substanzparameter verfolgen. Zu diesen Parametern zählen: Menge, Responsefaktor, Retentions-/Migrationszeit und Fläche.

Weitere Informationen zu Kontrollkarten-Reports finden Sie in der Online-Hilfe.

## Dienstprogramme und Kompatibilitäten

### Allgemeine Informationen

Die ChemStation kann Datendateien im Chromatographie-Format ANDI (Analytical Data Interchange) der Analytical Instrument Association (AIA), Version 1.0, Copyright 1992, importieren und exportieren. Der Datenimport wird auf Compliance-Ebene 1 (Proben- und Signaldaten) und der Datenexport auf Compliance-Ebene 2 (Proben- und Signaldaten sowie Integrationsergebnisse) unterstützt.

Die ChemStation enthält Befehle und Funktionen, mit denen der dynamische Datenaustausch (DDE) auf der Ebene von Microsoft Windows sowohl als DDE-Empfänger als auch als DDE-Verteiler durchgeführt werden kann. Die Befehlsreihe enthält Befehle zum Verbinden und Trennen von Verbindungen, zum beidseitigen Austausch von Informationen sowie zum ferngesteuerten Ausführen von Funktionen.

### Anpassung

Die ChemStation lässt sich mithilfe des umfangreichen Befehlssatzes an die Bedürfnisse des Kunden anpassen. Die enthaltenen Befehle können zu automatischen Funktionen kombiniert werden. Eine solche Kombination von Befehlen heißt Makro. Anwender können zur Erstellung von Makros eigene Variablen definieren, Verzweigungen und Schleifen sowie Ein-/Ausgabeoperationen festlegen. Diese umfassen Dateioperationen, Interaktionen mit dem Anwender, eigene verschachtelte Makros sowie Datenabgleich und Austausch mit anderen MS-DOS- oder Windows-Applikationen.

Für weitere Informationen zur weitgehenden Anpassung schlagen Sie bitte im *Makroprogrammierhandbuch* nach, das über die Online-Hilfe verfügbar ist.

## Automatisierung

Die ChemStation kann Sequenzen ausführen, die mehrere Methoden beinhalten.

Im Parametersatz einer Sequenz kann die Verwendung automatisch erzeugter Dateien oder sequentiell nummerierter Dateien mit einem Präfix nach Benutzervorgabe von bis zu fünfzehn Zeichen eingestellt werden. Der Anwender kann vollständige Analysen oder solche Sequenzen wählen, die nur die erneute Datenverarbeitung durchführen. Weiter kann zwischen mehreren Abschlussbefehlen oder einem benutzerdefiniertem Abschlussmakro gewählt werden, das dann ausgeführt wird, wenn eine Sequenz durch eine Fehlerbedingung beendet wird oder alle Analysen abgeschlossen sind.

Die Sequenztabelle mit den auszuführenden Analysenläufen wird ähnlich wie bei einer Tabellenkalkulation erstellt. Hier können die Nummern von Probenflaschen, Probennamen, Analysenmethoden, Parameter zur quantitativen Auswertung, einschließlich Probenmenge, Multiplikator und Verdünnungsfaktor, Angaben zur Kalibrierung, Datenübergabeparameter LIMSID und Anzahl der Injektionswiederholungen, festgelegt werden. Abhängig von den konfigurierten Instrumenten und Modulen sind weitere Felder verfügbar. Wenn z. B. ein Agilent LC-System der Serie 1100/1200 einen Fraktionssammler enthält, erscheint die Spalte "Fract. Start" in der Sequenztabelle. Das Erscheinungsbild der Sequenztabelle kann vom Anwender festgelegt werden. Der Benutzer kann zwischen den einzelnen Zellen einer Tabelle hin- und herspringen und einzelne Zellen, einzelne oder mehrere Zeilen kopieren und einfügen, um Sequenzen effizienter und schneller erstellen zu können.

Proben können in der Sequenztabelle den Typ Unbekannt, Kalibrierung oder Kontrolle enthalten. Der Probenotyp legt fest, ob die Probe einer speziellen Datenanalyse unterzogen wird:

- Unbekannte Proben werden entsprechend der Methodenspezifikationen ausgewertet und als Report ausgegeben.
- Kalibrierproben werden dazu verwendet, die Substanzen zur Quantifizierung der Methode wie unten beschrieben neu zu kalibrieren.
- Kontrollproben werden bezogen auf den in der Methode festgelegten Grenzwert für eine Substanz ausgewertet. Wenn das Ergebnis außerhalb eines bestimmten Bereichs liegt, wird die Sequenz angehalten.

Kalibrierungsstandards können als einfach, zyklisch oder umschließend definiert werden. Einfache Neukalibrierung bedeutet, dass eine Neukalibrierung immer dann durchgeführt wird, wenn eine Kalibrierprobe an der Reihe ist.

Zyklische Neukalibrierungen werden während einer Analysenserie in festgelegten Intervallen durchgeführt. Bei der abschließenden Neukalibrierung wird je ein Standard vor und einer nach einer Reihe unbekannter Proben analysiert. Zur quantitativen Auswertung der unbekannteren Proben wird eine Kalibrierungstabelle aus den Mittelwerten der beiden Kalibrierungen verwendet.

Die Funktion für Teilsequenzen erlaubt einen Einblick in die Reihenfolge der Sequenzbearbeitung und stellt eine Wiederholungsmöglichkeit zur Analyse oder erneuten Verarbeitung einzelner Proben zur Verfügung. Bei der wiederholten Auswertung kann für die Quantifizierung zwischen den Originaldaten oder neuen Einträgen der Probentabelle gewählt werden.

Sequenzen können zur schnellen Analyse von Vorrangproben unterbrochen werden. Danach kann die Sequenz ohne eine Beeinflussung des automatischen Ablaufs fortgesetzt werden. Proben können zu einer Sequenztafel hinzugefügt werden, während die Sequenz abgearbeitet wird.

Sowohl die Sequenz als auch die Teilsequenz können ausgedruckt werden.

Weitere Informationen zu Sequenzen finden Sie in ["Automatisierung"](#) auf Seite 171 und in der Online-Hilfe.

## Gute Laborpraxis

Die ChemStation wurde gemäß internationalen Richtlinien zu Entwicklung und Ausführung entwickelt und weist eine Reihe von Funktionen auf, die den Betrieb im geregelten Umfeld erleichtern. Diese Funktionen beziehen sich auf die umfassende Spezifikation und Überprüfung von Methoden hinsichtlich ihrer Eignung für den beabsichtigten Verwendungszweck sowie auf die Funktionskontrolle im System und stellen die Nachvollziehbarkeit, Herkunft und Qualität der Daten sicher.

## Entwicklungsprozess

Ein zum Lieferumfang des Softwarepakets gehörendes Zertifikat zur Validierung dokumentiert die Schritte der Softwareentwicklung und Erprobung als Teil des Entwicklungsprozesses. Der Entwicklungsprozess wird gemäß dem ISO 9001-Qualitätsstandard dokumentiert. Er ist zusammen mit den eigenen Revalidierungsprotokollen im *Validation Binder Agilent ChemStation for LC* dokumentiert.

## Spezifikation und Anwendung von Methoden

- Globale Methoden: Alle Spezifikationen für Instrumente und die Datenanalyse werden an einem Ort gespeichert. Methoden enthalten Spezifikationen zu den Substanzbereichen. Hierdurch wird sichergestellt, dass Mengenangaben nicht außerhalb des Kalibrierungsbereichs erfolgen.
- Das Logbuch über Änderungen der Methode ermöglicht es Anwendern einer validierten Methode, automatisch zu dokumentieren, wie und wann die Methode geändert wurde. Anwender können optional eine Begründung für die Änderung der Methode in das Logbuch eintragen. Das Logbuch wird automatisch als Teil der Methode im Binärformat abgelegt. Um einen unerlaubten Eingriff in die Dokumentationen zu verhindern, wird es entsprechend des Schemas zur Anmeldung eines Anwenders wie im Folgenden beschrieben geschützt. Jede Veränderung im Logbuch kann auf dem Bildschirm angezeigt und ausgedruckt werden.
- In jeder Methode können für eine Reihe von chromatographischen/elektropherographischen Parametern und Systemleistungsparametern Grenzwerte auf der Basis einzelner Substanzen festgelegt werden. Eine genauere Beschreibung hierzu finden Sie im Abschnitt "Datenanalyse - Quantifizierung". Ergebnisse, die diese Parameterbereiche überschreiten, werden dazu verwendet, die Durchführung automatischer Sequenzen - wie unter "Automatisierung" beschrieben - zu kontrollieren. Sie werden im entsprechenden Analysenreport vermerkt.
- Reports zur Systemeignung und Systemleistung (siehe den Abschnitt zur Reporterstellung oben) liefern genaue Daten zur Trennleistung.

Die ChemStation kann mit Zugangsbeschränkungen auf zwei Ebenen, der Bediener- und der Managerebene, konfiguriert werden. Die Managerebene kann durch ein Passwort geschützt werden und ermöglicht den Zugriff auf alle Funktionen der ChemStation. Die Bedienerebene ist auf die Nutzung von Grundfunktionen und die Ausführung definierter analytischer Methoden beschränkt. Die Bedienerebene ist zum Einsatz in Routinelabors gedacht und verhindert, dass Bediener Methoden ändern oder neu erstellen können.

## Stabilität von Methoden

Die Stabilität von Methoden kann mithilfe von Sequenzübersichtsreports (siehe "Sequenzübersichtsreport" auf Seite 242) getestet werden. Erweiterte Reportformate mit vom Anwender zu definierenden Kriterien werden als Trendgrafiken ausgegeben und können zur Beurteilung der realistischen

Betriebsgrenzen dienen. Die Betriebsgrenzen können in eine Methode aufgenommen werden, wodurch zusammen mit Kontrollproben sichergestellt wird, dass die Methode innerhalb dieser Grenzen arbeitet.

## Systembetrieb

Das Verification Kit der ChemStation ist Teil der Standardsoftware und überprüft automatisch auf korrekte Installation und Funktion der Datenanalyse der Software, indem bekannte Ergebnisse mit einer Testauswertung verglichen werden. Das Verification Kit ermöglicht die Definition eigener Datensätze und Methoden zur Durchführung des Tests.

## Nachvollziehbarkeit, Herkunft und Qualität der Daten

Das Logbuch liefert ein Protokoll über das komplette System. Es speichert alle unerwarteten Ereignisse (Fehler, Parameteränderungen während der Analyse) sowie die Instrumentenbedingungen vor und nach jeder Analyse. Eine Kopie des relevanten Logbuchauszugs wird mit jeder Datendatei gespeichert.

Die aktuellen Instrumentenbedingungen, z. B. Druck, Flussrate und Temperatur während einer Analyse werden ebenfalls gespeichert, falls das entsprechende Instrument dies unterstützt. Diese Daten können später mit dem Chromatogramm/Elektropherogramm grafisch dargestellt werden, um die Instrumentenbedingungen während dieser Analyse anzuzeigen und in den Report aufzunehmen.

Mit den Datendateien werden Kopien der verwendeten Methode gespeichert, womit eine vollständige Reproduzierbarkeit der Daten zu einem späteren Zeitpunkt möglich ist. Die Methode wird nach Abschluss aller analytischen Schritte gespeichert.

Alle Reports enthalten Datumseinträge und eine nachvollziehbare Seitennummerierung (*Seite x von y*). Der Anwender kann einen Reportumfang von einer einfachen Übersicht bis hin zur Darstellung aller Systemdetails wählen (vgl. Abschnitt zu Reports oben).

GLP-Registerdateien, die als Teil einer Methode definiert werden, sichern alle Originaldaten mit Probeninformationen sowie die Datenauswertungsmethode, die chromatographischen/elektropherographischen Signale, die Instrumentenbedingungen, die Ergebnisse aus Integration und Quantifizierung, die Daten des Reports und das Logbuch des Analysenlaufs in einer Binärdatei mit

## 1 Funktionen der Agilent ChemStation

### Software der ChemStation

Prüfsummenschutz. Dieses Binärformat kann nicht bearbeitet werden und garantiert daher die Echtheit der Ergebnisse. Die Datei enthält ein Revisionschema, das anzeigt, ob die Daten erneut verarbeitet wurden.

In der Sequenztabelle können Kontrollproben typen definiert und dazu verwendet werden, die Instrumentenleistung über einen Vergleich mit den Ergebnissen der Kontrollproben automatisch zu überprüfen, wenn das Instrument unbeobachtet läuft. Ergebnisse, die außerhalb eines vom Anwender festgelegten Akzeptanzbereichs liegen, führen zum Abbruch der automatischen Abarbeitung von Sequenzen durch das Instrument.

## Instrumentensteuerung

Die Möglichkeiten der Instrumentensteuerung mit der ChemStation können durch den Erwerb zusätzlicher Instrumentenmodule zu einer gemischten Mehrinstrumenten-Konfiguration erweitert werden. Weitere Informationen finden Sie in den Handbüchern der zusätzlichen ChemStation-Module.

### Einsatz in Netzwerken

Die ChemStation wurde erfolgreich auf die Kompatibilität mit der Agilent Lan-Manager-Software sowie auf die Kompatibilität mit Microsoft Windows XP Professional und Windows Vista Business Produkten getestet, die auf der IEEE 802.3 CSMA/CD-Spezifikation basieren. Sie sollte mit jeder Netzwerk-Software kompatibel sein, die dem Programmierstandard von Microsoft Windows entspricht.

Diese Produkte ermöglichen es der ChemStation physisch vorhandene Geräte (z. B. Plotter und Drucker) sowie Informationen wie Daten- oder Methodendateien mit anderen Labors und deren Computern gemeinsam zu nutzen.

#### Client/Server

Die ChemStation-Software kann auf einem geeigneten Netzwerkservers installiert und nach Bedarf auf einen damit verbundenen PC geladen werden. Die Client-spezifische Konfiguration gewährleistet eine angemessene Umgebung für verschiedenen Techniken und einzelne Anwender. Die zentralisierte Installation der Software ermöglicht die Verwaltung mehrerer Kopien derselben ChemStation-Installation in einer Netzwerkkumgebung.

#### Instrumentensteuerung über LAN

Die ChemStation-Software ermöglicht die Instrumentensteuerung über LAN und die Datenerfassung für Agilent 7890 und Agilent 6890 Gaschromatographen, Agilent 35900E A/D-Steuermodule und Agilent Flüssigkeitschromatographen der LC-Serien 1100/1200. Sie können die Instrumente problemlos

## **1 Funktionen der Agilent ChemStation**

### **Instrumentensteuerung**

steuern und überwachen, indem Sie sie an ein LAN anschließen, in dem sich auch der ChemStation-PC befindet. Diese Anordnung ermöglicht es, den ChemStation-PC von den Instrumenten, die er steuert, örtlich zu trennen.

# Dokumentation

Die Dokumentation enthält spezifische Abschnitte zu folgenden Themen:

- Das Installieren und Erlernen der ChemStation-Software
- Das Anwenden der ChemStation-Software
- Das Verstehen der Arbeitsprinzipien der Software
- Die Anpassen der ChemStation

## Installation und Erlernen

Jede ChemStation-Software wird mit einem Installationshandbuch geliefert, das Details über die wichtigsten Punkte der PC Hardware- und Softwareanforderungen, die Installation der Instrumentenschnittstelle, die Installation der ChemStation und die Installationsqualifizierung enthält. Das Installationshandbuch ist spezifisch für die erworbene Konfiguration und kann Anweisungen zu Fehlerbehebung, Systemdokumentationen und Wartung des Systems beinhalten.

## Anwenden der Software

Für den Routineanwender wurden zwei zusätzliche Kategorien von Online-Informationen entworfen.

Die ChemStation enthält eine verständliche, an den Kontext anlehrende, katalogisierte Online-Hilfe im Windows-Format. Sie liefert zu jeder Bildschirmdarstellung und zur Bedeutung der wichtigsten darin enthaltenen Parameter detaillierte Erklärungen. Die Erklärungen werden, wenn nötig, durch Grafiken ergänzt und können in die Windows-Zwischenablage kopiert werden, von wo aus Anwender diese in ihre eigene Dokumentation einfügen oder sie ausdrucken können.

Mithilfe der Online-Übungen in der Online-Hilfe lernen Sie die Software bei der Arbeit mit eigenen Methoden und Daten kennen. Sie bieten einen Überblick über die ersten Schritte zur Datenerfassung und -analyse.

Der Abschnitt "How to" der Online-Hilfe enthält Checklisten über die techniko-orientierten und die chromatographischen Aufgaben, um weniger routinierten Benutzern beim ordnungsgemäßen Einrichten des Systems zu helfen. Diese Checklisten sind direkt mit den detaillierten Informationen der Online-Hilfe verknüpft.

## **Verstehen der Prinzipien**

Das Handbuch *Informationen zu Ihrer ChemStation* dokumentiert die Prinzipien der Software-Bedienung und die Algorithmen bei der Datenverarbeitung.

## **Anpassung**

Erfahrene Anwender, die die Bedienungsweise der ChemStation an ihre Anforderungen anpassen oder zusätzliche Funktionen integrieren möchten, können dies durch Schreiben von Makros erreichen.

Das Hauptreferenzhandbuch, der *Macro Programming Guide* (Leitfaden zur Makroprogrammierung), der über die Online-Hilfe verfügbar ist, enthält leicht verständliche Beispiele, die durch die vollständige Beschreibung der internen Datentypen und -strukturen ergänzt sind.

Die Hilfedatei zu den Befehlen dient dem Programmierer als Arbeitsreferenz und ist direkt über das Hilfemenü der ChemStation oder über das Dialogfeld "Show Command" (Befehl anzeigen) zugänglich. Sie enthält Erklärungen zu Syntax und den Parametern mit Beispielmakros, die den Einsatz vieler der Befehle erläutern. Dadurch, dass der Anwender online arbeitet, kann er ganze Beispiele oder eine Befehlssyntax direkt in die eigenen Makrodateien kopieren.

## Verzeichnisstruktur der ChemStation

Die Verzeichnisstruktur der ChemStation wird im folgenden Beispiel verdeutlicht. Sie besteht aus allgemeinen Verzeichnissen, die von allen konfigurierten Instrumenten verwendet werden, sowie aus instrumentenspezifischen Verzeichnissen. Das Installationsprogramm legt im Verzeichnis der ChemStation (Standardname: CHEM32) für jedes konfigurierte Instrument ein Unterverzeichnis mit dessen Instrumentennummer an. In diesem Verzeichnis werden standardmäßig alle Daten, Methoden und Sequenzen für dieses Instrument gespeichert. Mithilfe der Voreinstellungen können zusätzliche Unterverzeichnisse für Daten, Methoden und Sequenzen hinzugefügt werden. Anschließend können Sie im ChemStation-Explorer zu den neu hinzugefügten Speicherorten navigieren, um die Daten, Methoden und Sequenzen zu laden. Die neuen Speicherorte sind außerdem in allen Auswahllisten in den ChemStation-Menüeinträgen verfügbar (z. B. in der Liste für die Pfadeinstellungen in den Sequenzparametern).

Dies sind die Unterverzeichnisse der ChemStation:

# 1 Funktionen der Agilent ChemStation

## Verzeichnisstruktur der ChemStation

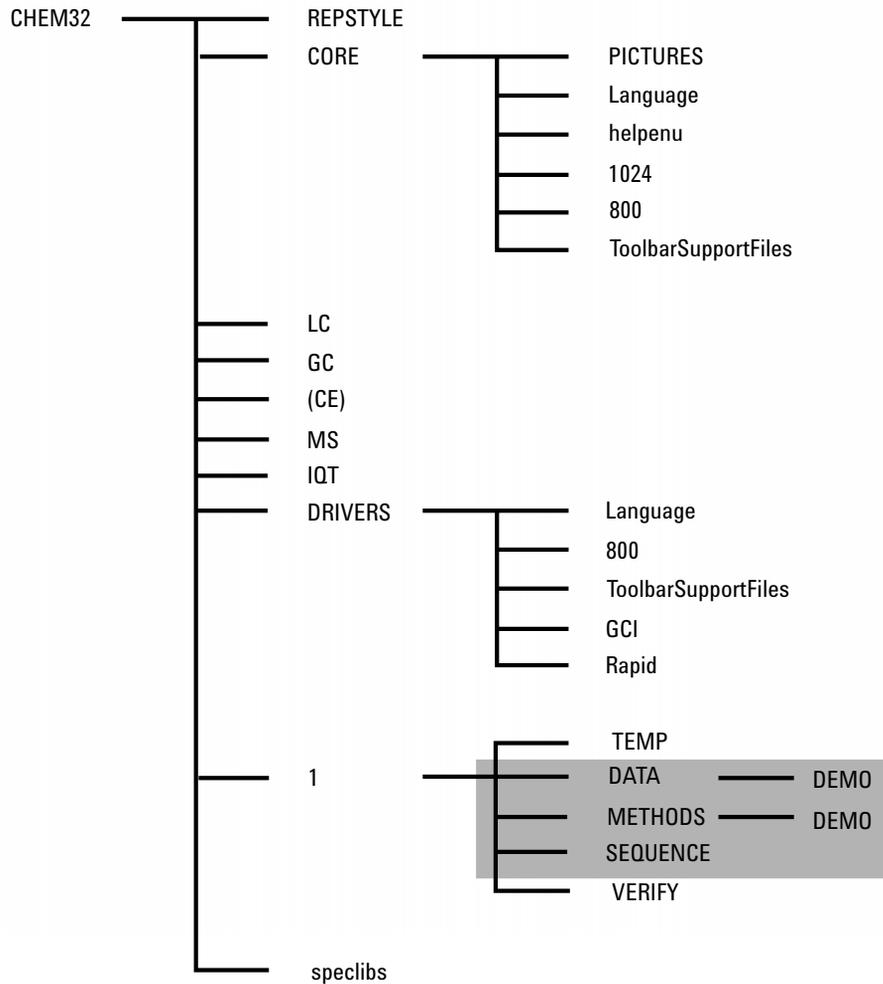


Abbildung 1 Verzeichnisstruktur der ChemStation

**Tabelle 3** Unterverzeichnisse der ChemStation

Verzeichnis	Contents
Chem32	Das Verzeichnis enthält die Programme zur Konfiguration und zum Starten der ChemStation Software. Das Verzeichnis muss in der Variablen PATH aufgeführt sein. Das Verzeichnis wird automatisch bei der Installation erstellt, falls Sie kein anderes angeben.
REPSTYLE	Wird für die Reportvorlagen verwendet, die mit dem Report Template Editor erstellt werden.
CORE	Wird für die Hauptbestandteile der Software verwendet, die von allen chromatographischen/elektrophoretischen Gerätekonfigurationen gemeinsam benutzt werden. Es handelt sich um das Arbeitsverzeichnis der ChemStation.
PICTURES	Enthält die grafischen Elemente der ChemStation.
Language	Enthält den sprachenspezifischen Code der Software.
1024, 800, ToolbarSupport Files	Enthält die Initialisierungsdateien für die grafische Benutzeroberfläche. Bitte nicht ändern.
helpenu	Wird von der US-englischen Version der Hilfedateien verwendet.
BACKUP	Enthält die Sicherungskopien alter Dateien während der Installation.
DRIVERS	Enthält die Gerätetreiber.
1	Wird für das konfigurierte Gerät (1 bis 4) verwendet. Dieses Unterverzeichnis enthält weitere fünf Unterverzeichnisse: DATA, METHODS, SEQUENCE, VERIFY und TEMP.
DATA	Enthält die standardmäßigen Ergebnisverzeichnisse der Analysen. Es kann auch weitere Unterverzeichnisse aufweisen, sofern Sie bei Ihrer Arbeit weitere Unterverzeichnisse anlegen, indem Sie diese in den Dialogfeldern Probeninformation oder Sequenzparameter definieren. Ergebnisverzeichnisse erkennt man an dem Namen mit der Erweiterung .D. Weitere Informationen zur Struktur des Datensystems finden Sie unter <a href="#">"Datenerfassung"</a> auf Seite 63. Mithilfe der Voreinstellungen können zusätzliche Datenpfade hinzugefügt werden.

## 1 Funktionen der Agilent ChemStation

### Verzeichnisstruktur der ChemStation

**Tabelle 3** Unterverzeichnisse der ChemStation

Verzeichnis	Contents
METHODS	In diesem Verzeichnis stehen standardmäßig alle Methoden (Dateierweiterung ".M"). Einzelheiten zum Inhalt finden Sie unter <a href="#">"Verzeichnisstruktur von Methoden"</a> auf Seite 55. Mithilfe der Voreinstellungen können zusätzliche Datenpfade hinzugefügt werden.
SEQUENCE	Dies ist der standardmäßige Pfad zu den Sequenzvorlagen. Die Sequenzvorlagen in diesem Verzeichnis haben die Erweiterung .S. Mithilfe der Voreinstellungen können zusätzliche Datenpfade hinzugefügt werden, siehe <a href="#">"Registerkarte "Preferences - Sequence" (Voreinstellungen - Sequenz)"</a> auf Seite 175 und <a href="#">"Sequenzparameter"</a> auf Seite 177.
VERIFY	Enthält Datendateien, Methoden und Ergebnisse von Auswertungen der Daten von Registerdateien (.REG). Diese Dateien führen die ChemStation-Verifizierung entsprechend der Beschreibung in der Online-Hilfe durch. Für jede Verifizierungsprüfung wird ein Satz an Daten-, Methoden- und Registerdateien verwendet.
TEMP	Das Unterverzeichnis TEMP enthält temporäre Arbeitsdateien und Protokolldateien. Für das Gerät 1 heißt das Online-Logbuch zum Beispiel INSTR1.LOG und das Offline-Logbuch INSTR1-2.LOG.
LC, GC, CE, MS	Gerätespezifische Dateien wie INI-Dateien.
IQT	Enthält die Dateien für die IQT-Reporterstellung.
speclibs	Enthält Spektrenbibliotheken.

## Navigationsfenster

Das in allen ChemStation-Ansichten auf der linken Seite enthaltene Navigationsfenster beschleunigt den Zugriff auf viele wichtige ChemStation-Elemente und ermöglicht das schnelle Wechseln zwischen Ansichten. Das Navigationsfenster enthält die Baumstruktur des ChemStation-Explorers und einen konfigurierbaren Bereich für Schaltflächen. Es enthält außerdem eine Funktion zum automatischen Ausblenden von Elementen, sodass der ChemStation-Arbeitsbereich nicht eingeschränkt wird. Des Weiteren bietet es Standardfunktionen, z. B. zum Ändern der Größe und zum Neuordnen der Navigationsschaltflächen.

## Navigationsschaltflächen

Mithilfe der Navigationsschaltflächen können Sie zwischen den ChemStation-Ansichten wechseln. Der Bereich mit den Navigationsschaltflächen kann minimiert, erweitert und neu angeordnet werden.

## ChemStation-Explorer

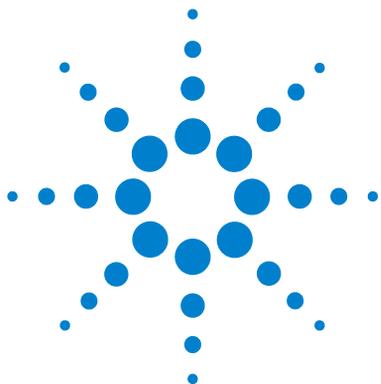
Der Inhalt der Navigationsfenster ist abhängig von der jeweiligen Ansicht. Für die Methoden- und Analysenlaufsteuerung, die Datenanalyse und das Reportlayout können Sie im ChemStation-Explorer zu den unterschiedlichen ChemStation-Elementen navigieren. Standardmäßig basieren diese Elemente für Daten, Methoden und Sequenzen auf den Einstellungen des Konfigurationseditors. Über die Option "Preferences" (Voreinstellungen) im Ansichtsmenü können Sie die Speicherorte dieser Elemente erweitern und für Methoden, Sequenzen und Daten neue Speicherorte angeben.

## 1 Funktionen der Agilent ChemStation

### Navigationsfenster

**Tabelle 4** Elemente im Navigationsfenster

<b>Navigationsschaltflächen</b>	<b>Elemente im ChemStation-Explorer</b>
Methoden- und Analysenlaufsteuerung	Sequenzvorlagen/Mustermethoden
Datenanalyse	Daten/Mustermethoden
Reportlayout	Mustermethoden
Verifizierung (LC und LC/MS)	Verknüpfungen für die Ansicht "Verification" (Verifizierung)
Diagnose (LC und LC/MS)	Verknüpfungen für die Ansicht "Diagnosis" (Diagnose)
Optimierung (LC/MS)	Verknüpfungen für die Ansicht "Tune" (Optimierung)



## 2 Methoden

Was ist eine Methode?	45
Bestandteile einer Methode	46
Methodeninformationen	46
Gerätesteuerung	46
Datenanalyse	46
Runtime-Checkliste	48
Status von Methoden	49
Gespeicherte Methoden	49
Aktuelle Methode	50
Erstellen von Methoden	52
Methoden bearbeiten	53
Bearbeitbare Methodenbestandteile	53
Verzeichnisstruktur von Methoden	55
Was geschieht während der Ausführung einer Methode?	56
Ablauf einer Methode	56
Befehl oder Makro vor dem Analysenlauf (Pre-Run) (Runtime-Checkliste)	57
Datenerfassung (Runtime-Checkliste)	57
Datenanalyse (Runtime-Checkliste)	58
Angepasste Datenanalyse (Runtime-Checkliste)	59
Speichern von GLP-Daten (Runtime-Checkliste)	59
Befehl oder Makro nach dem Analysenlauf (Runtime-Checkliste)	60
Speichern einer Kopie der Methode mit den Daten (Runtime-Checkliste)	60
Kopie der Methode als DA.M mit Daten speichern (ChemStation-Standardeinstellung)	61
Zusammenfassung des Methodenablaufs	62



## **2 Methoden**

### **Navigationsfenster**

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte von Methoden und die Arbeit mit diesen Methoden.

## Was ist eine Methode?

Eine Methode besteht aus allen erforderlichen Parametern zur Datenerfassung und Datenanalyse. Hinzu kommen die für die jeweiligen Proben vor und nach dem Analysenlauf durchzuführenden Schritte (sofern erforderlich).

Die verfügbaren Methoden (\*.m) werden im ChemStation-Explorer angezeigt. Zur schnellen und einfachen Navigation können Sie in der Strukturansicht im ChemStation-Explorer zusätzliche Speicherorte für Methoden hinzufügen. Diese geben Sie in der Registerkarte **Paths** des Dialogfelds **Preferences** ein.

## Bestandteile einer Methode

Eine Methode hat einen Namen, der bis zu acht alphanumerische Zeichen enthalten kann. An der Dateinamenerweiterung ".M" können Sie erkennen, dass es sich um eine Methode handelt. Methoden werden als Verzeichnisse gespeichert und enthalten bestimmte Dateien für die einzelnen Komponenten einer Methode.

Jede Methode besteht aus vier Komponenten:

- Methodeninformationen
- Instrumentensteuerung
- Datenanalyse
- Runtime-Checkliste

### Methodeninformationen

In diesem Abschnitt werden Informationen zur Methode gespeichert.

### Gerätesteuerung

Hier werden Parameter zur Steuerung von Analysengeräten oder deren Komponenten festgelegt. Bei LC-Geräten dienen Parameter wie die Zusammensetzung der mobilen Phase, Flussrate, Injektionsvolumen, Wellenlänge des Detektors usw. zur Steuerung von Pumpe, Injektor und Detektor. Bei GC-Geräten steuern Parameter wie Einlasstemperatur, Einlassdruck, Flussrate auf gepackter Säule usw. das Analysengerät.

### Datenanalyse

Hier werden Parameter zur Steuerung der Datenverarbeitung festgelegt.

## Signaldetails

Hier werden Signale und ihre Eigenschaften für die Datenauswertung definiert.

## Integrationsereignisse

Hier werden zeitgesteuerte Ereignisse definiert, die innerhalb eines Chromatogramms/Elektropherogramms zu bestimmten Retentions-/Migrationszeiten auftreten. Mithilfe dieser zeitgesteuerten Ereignisse kann die Art der Signalintegration geändert werden.

## Peakidentifizierung

Hier werden Parameter definiert, die zur Peakerkennung in Chromatogrammen/Elektropherogrammen dienen.

## Peakquantifizierung

Hier werden Datenverarbeitungsparameter definiert, die sich auf die Quantifizierungsberechnungen für die Menge oder Konzentration der zu den Peaks gehörenden Probenkomponenten auswirken.

## Kalibrierung und Neukalibrierung

Hier werden Parameter für die Kalibrierung definiert, die festlegen, wie und wie oft eine Kalibrierung ausgeführt wird.

## Benutzerdefinierte Felder

Definieren die Eigenschaften benutzerdefinierter Felder für Proben oder Substanzen, die für die Methode zur Verfügung stehen. Die benutzerdefinierten Felder ermöglichen das Hinzufügen spezieller Informationen zu einer Probe oder einer Substanz in einer Probe.

## Report

Hier wird das Format des Reports festgelegt, der nach einem Analysenlauf gedruckt wird.

## Runtime-Checkliste

Hier wird definiert, welche Teile der Methode bei einem Analysenlauf ausgeführt werden.

Sie können die Runtime-Checkliste für folgende Funktionen verwenden:

- Erfassen, Speichern und Verarbeiten von Daten zum Erstellen eines Reports
- Ausführen von nur einem Methodenteil
- Erfassen und Speichern von Daten ohne Analyse
- erneute Analyse von Datendateien
- Einsatz eigener Makros zur Datenanalyse und Schritte vor und nach dem Analysenlauf
- Speichern der Analysenergebnisse in Registern für GLP-Zwecke

## Status von Methoden

Eine Methode kann auf zwei Arten vorliegen: als gespeicherte Methode oder als aktuelle geladene Methode.

### Gespeicherte Methoden

Dies sind Methoden, die auf der Festplatte des Computers gespeichert sind. Gespeicherte Methoden haben einen Namen, der bis zu vierzig alphanumerische Zeichen enthält und die Erweiterung „.M“ hat. Methoden werden in der ChemStation an bis zu drei Speicherorten abgelegt:

- Die Mustermethode wird in einem Unterverzeichnis für Methoden gespeichert, das im ChemStation-Explorer im Knoten „Methoden“ verfügbar und nicht direkt mit einem Datencontainer verknüpft ist.
- Wenn eine Sequenz mit der Option **Unique Folder Creation ON** (siehe [“Registertkarte "Preferences - Sequence" \(Voreinstellungen - Sequenz\)”](#) auf Seite 175) gestartet wird, werden Kopien aller in der Sequenz verwendeten Mustermethoden zusammen mit den Sequenzdatendateien in dem Sequenzdatencontainer gespeichert. Diese Methoden sind direkt mit der Sequenz verknüpft und werden auch bei der erneuten Verarbeitung der Sequenz verwendet. Änderungen an diesen Methoden werden nicht an die Mustermethoden weitergegeben. Bei der erneuten Verarbeitung der Sequenz werden Änderungen an die Sequenzcontainermethode und an die einzelnen Methoden (DA.M) weitergeleitet. Wenn Sie nun die aktualisierte Sequenzcontainermethode für die Datenerfassung verwenden möchten, müssen Sie einen der folgenden Schritte ausführen:
  - Kopieren Sie diese Methode aus dem Sequenzdatencontainer in einen der definierten Methodenpfade.
  - Wählen Sie die Option **save as**, um die aktualisierte Methode als Mustermethode zu speichern.

Die neue/aktualisierte Methode ist dann im ChemStation-Explorer in der Methodenansicht als Mustermethode verfügbar.

- Zusätzlich werden zwei Kopien der zur Analyse einer Probe verwendeten Methode mit den Datendateien gespeichert: ACQ.M und DA.M. ACQ.M ist die Erfassungsmethode und DA.M die Datenanalysemethode. „DA.M“ ist die Methode, die zusammen mit der Datendatei geladen wird, wenn das Kontrollkästchen **Load DA method from data file** in der Registerkarte **Signal Options** des Dialogfelds **Preferences** aktiviert ist. Änderungen an dieser Methode (z. B. zeitabhängige Integrationsereignisse) sind spezifisch für die zugehörige Datendatei und werden weder an die Sequenz- noch an die Mustermethode weitergeleitet.

Durch einen Rechtsklick in der Navigationstabelle auf die entsprechende Methodenzeile können Sie einzelne oder Sequenzmethoden auf die entsprechende Sequenz- oder Mustermethode aktualisieren. Bei der Ausführung von **Update Master Method/Update Sequence Method** werden die Datenanalyseparameter der gewählten Methode in die entsprechende Muster-/Sequenzmethode kopiert. Diese automatische Aktualisierung wird in das Methodenlogbuch der Zielmethode eingetragen.

**Tabelle 5** Verfügbarkeit der Funktion **Update ... Method** in der Navigationstabelle

<b>Geladene Methode</b>	<b>Verfügbare Aktualisierungsoption</b>
Einzelne Datenanalysemethode (DA.M)	<b>Update Master Method</b> <b>Update Sequence Method</b>
Sequenzmethode	<b>Update Master Method</b>
Mustermethode	---

## Aktuelle Methode

Wenn eine gespeicherte Methode von der Festplatte abgerufen wird, ist sie die aktuelle Methode. Im Speicher ist immer eine aktuelle Methode vorhanden. Beim ersten Start der ChemStation wird die von Agilent Technologies gelieferte Standardmethode als Teil des Startprozesses geladen. Dies kann eine der folgenden Methoden sein:

- DEF\_LC.M für ein LC-Instrument
- DEF\_GC.M für ein GC-Instrument
- DEF\_CE.M für ein CE-Instrument

Eine Kopie der Standardmethode wird im Speicher abgelegt und wird zur aktuellen Methode. Sie können an dieser Stelle eine andere Methode laden, die dann zur aktuellen Methode wird.

## Erstellen von Methoden

Beim Erstellen einer neuen Methode wird die aktuelle Methode geändert und unter einem neuem Methodennamen gespeichert. Beachten sie, dass nach der Änderung einer Methode die Version auf der Festplatte unverändert bleibt, bis die Änderungen gespeichert werden.

Die Art der Methodenerstellung ist frei wählbar. Sie können eine Methode erstellen, die entweder einen oder alle Teile einer Analyse steuert. Sie können beispielsweise eine Methode nur für die Datenerfassung erstellen. Für die Datenanalyse mit Report zur Bibliothekssuche von Spektren können Sie die Methode dann um diese Aufgaben erweitern.

### HINWEIS

Wenn Sie zum Analysieren einer Probe eine Methode laden, laden Sie immer eine Mustermethode aus einem Methodenknoten im ChemStation-Explorer. Sie sollten vermeiden, Sequenzmethoden (aus einem Sequenzdatencontainer) oder einzelne Methoden zu verwenden, die mit den Datendateien verknüpft sind ("ACQ.M" oder "DA.M").

---

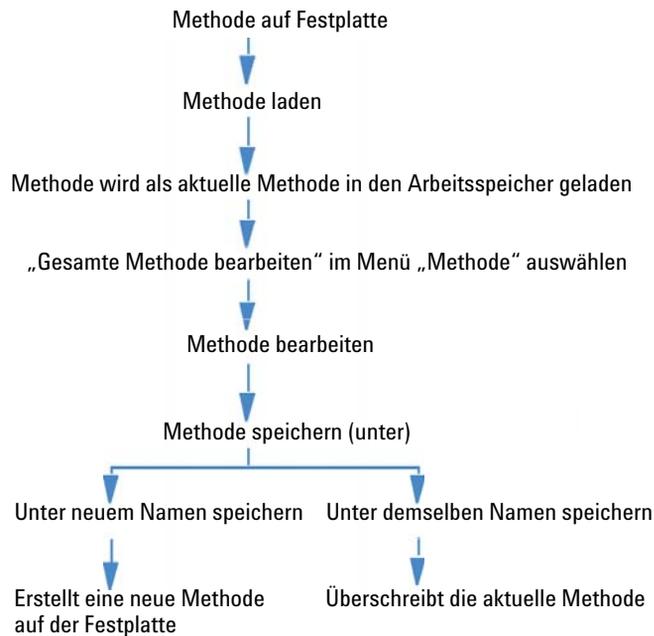
### HINWEIS

Löschen Sie bitte keine der Standardmethoden (DEF\_LC.M, DEF\_CE.M oder DEF\_GC.M). Diese Methodendateien werden als Vorlage beim Erstellen neuer Methoden benötigt.

---

## Methoden bearbeiten

Sie können eine vorhandene Methode bearbeiten, indem Sie den Menüpunkt „Gesamte Methode bearbeiten“ im Menü „Methode“ aufrufen. Sie werden durch alle Dialogfelder geleitet und können die Methode am Ende speichern. Dieser Ablauf wird im Folgenden verdeutlicht:



**Abbildung 2** Methodenbearbeitung

## Bearbeitbare Methodenbestandteile

Jede Methode besteht aus vier Komponenten, die separat bearbeitet werden können:

Einige der folgenden Abschnitte beziehen sich auf bestimmte Dialogfelder, andere enthalten allgemeine Beschreibungen.

## 2 Methoden

### Methoden bearbeiten

- *Methodeninformationen* umfassen Folgendes:
  - Text zur Beschreibung einer Methode
- Die *Instrumentensteuerung* hängt von der Konfiguration ab und kann beispielsweise Folgendes umfassen:
  - Ofenparameter
  - Injektorparameter
  - Detektorparameter
- Die *Datenanalyse* umfasst Folgendes:
  - Signaldetails
  - Integrationsparameter
  - Quantifizierungsparameter
  - Kalibrierparameter
  - Startparameter für benutzerdefinierte Felder
  - Reporterstellungsparameter
- Die *Runtime-Checkliste* umfasst Folgendes:
  - Bestandteile der Methode, die ausgeführt werden

#### HINWEIS

Beachten Sie, dass Methoden auf der ChemStation an drei Speicherorten abgelegt werden können. Stellen Sie sicher, dass Sie die richtige Methode bearbeiten.

---

## Verzeichnisstruktur von Methoden

Eine Methode besteht aus einer Gruppe von Dateien, die im Methodenverzeichnis gespeichert werden.

Das Unterverzeichnis „Methoden“ enthält alle Methoden (Dateierweiterung „.M“). Mithilfe der Voreinstellungen können zusätzliche Methodenunterverzeichnisse hinzugefügt werden.

Methodendateien mit der Erweiterung .MTH enthalten die Parametersätze und liegen im UNICODE-Format vor. Die Datei INFO.MTH enthält die Steuerparameter der Methode.

Methodendateien mit Geräteparametern haben den Namen des zugehörigen Analysemoduls. Beispiel:

**Tabelle 6** Beispiele für Methodendateien

HPCE1.MTH	Enthält die Erfassungsmethode für die Kapillarelektrophorese
ADC1.MTH	Enthält die Agilent 35900-Erfassungsmethode. Wenn zwei identische Geräte konfiguriert sind, heißen die Methodendateien „ADC1.MTH“ und „ADC2.MTH“.
DAMETHOD.REG	Für die Datenauswertung.
LALS1.REG	Besteht aus Parametern für den Agilent Automatischen Probengeber der Serie 1100/1200, wenn ein klassisches modulares LC-System konfiguriert wird. Die Methodendateien für andere Agilent Module der Serie 1100/1200 folgen derselben Konvention: „lxxx1.reg“, wobei „xxx“ für das Modul steht.
AgilentSamplerDriver 1.RapidControl.xxx.xml	Besteht aus Parametern für den Agilent Automatischen Probengeber der Serie 1100/1200, wenn ein modulares LC-System konfiguriert wird. Es sind mehrere .xml-Dateien für die verschiedenen Teile der Parameter vorhanden (werden durch den „xxx“-Teil des Dateinamens angegeben). Für die anderen Module sind ähnliche .xml-Dateien verfügbar.

# Was geschieht während der Ausführung einer Methode?

Im Dialogfeld "Runtime Checklist" (Runtime-Checkliste) wird festgelegt, welcher Teil einer Methode in einem Analysenlauf ausgeführt wird.

Die Runtime-Checkliste besteht aus acht Teilen:

- Befehl oder Makro vor dem Analysenlauf
- Datenerfassung
- Standarddatenanalyse
- Analysemethode für das zweite Datensignal (nur bei GC-Instrumenten)
- Angepasste Datenanalyse
- Speichern von GLP-Daten
- Befehl oder Makro nach dem Analysenlauf
- Kopie der Methode mit den Daten speichern (RUN.M)

Bei der Ausführung einer Methode werden die im Dialogfeld "RunTime Checklist" (Runtime-Checkliste) spezifizierten Teile ausgeführt.

## Ablauf einer Methode

Die Abbildung vermittelt einen Überblick über den Status der ChemStation während des Ablaufs einer Methode, wenn *alle* Bestandteile der Runtime-Checkliste gewählt wurden.

### HINWEIS

Beachten Sie, dass die Methodendateien ACQ.M and DA.M bei deaktivierter Erstellung eindeutiger Ordner nicht generiert werden. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter "Registerkarte "Preferences - Sequence" (Voreinstellungen - Sequenz)" auf Seite 175.

## Was geschieht während der Ausführung einer Methode?

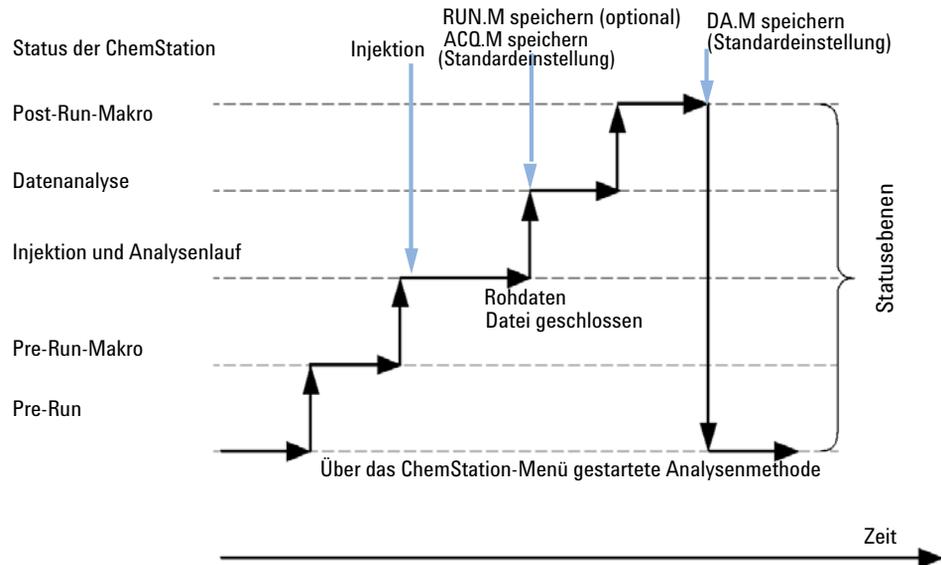


Abbildung 3 Ablauf einer Methode

## Befehl oder Makro vor dem Analysenlauf (Pre-Run) (Runtime-Checkliste)

Wenn ein Makro oder ein Befehl zur Ausführung vor dem Analysenlauf angegeben wird, erfolgt die Ausführung vor dem Start der Analyse. Dieser Teil dient normalerweise der Systemanpassung in Verbindung mit anderen Softwarepaketen.

## Datenerfassung (Runtime-Checkliste)

- Alle Parameter werden auf die Anfangsbedingungen gesetzt, die in der aktuellen Methode angegeben sind.
- Wenn angegeben, wird ein Injektionsprogramm ausgeführt, und es erfolgt eine Injektion aus der aktuell definierten Probenflasche.

## 2 Methoden

### Was geschieht während der Ausführung einer Methode?

- Auf dem Bildschirm wird der Verlauf der Analyse zusammen mit chromatographischen/elektropherographischen Informationen sowie gegebenenfalls den Spektren dargestellt.
- Daten werden erfasst und in einer Datei gespeichert.
- Nach Abschluss der Datenerfassung wird standardmäßig eine Kopie der aktuell ausgeführten Methode als ACQ.M für die Datendatei gespeichert.

## Datenanalyse (Runtime-Checkliste)

Bei Erreichen der Stoppzeit wird der Analysenlauf beendet und die Rohdaten werden auf der Festplatte des Computers gespeichert. Der Softwareteil zur Datenanalyse startet nach dem Speichern der Rohdaten.

### Integration

- chromatographische/elektropherographische Objekte im Signal werden so integriert wie im Dialogfeld "Integration Events" (Integrationsereignisse) festgelegt.
- Peakstart, Peakmaximum, Retentions-/Migrationszeiten sowie das Peakende werden ermittelt.
- Unter jedem Peak wird der Verlauf der Basislinie zur Bestimmung der endgültigen Peakfläche und Peakhöhe definiert.
- Die Integrationsergebnisse werden als Liste dargestellt.

### Peakidentifizierung und Quantifizierung

- Mit den Retentions-/Migrationszeiten und optionalen Peak-Qualifiern identifiziert die Software die Peaks durch Vergleich mit bekannten Substanzen, die in der Kalibriertabelle definiert sind.
- Mit den Peakhöhen oder Peakflächen berechnet die Software unter Verwendung der Kalibrierparameter aus der Kalibriertabelle die gefundene Menge jeder erkannten Substanz .

### **Suche in der Spektrenbibliothek (Nur ChemStations für LC-3D-, CE-, CE/MS- und LC/MS-Systeme)**

Für alle Peaks mit verfügbaren UV/VIS-Spektren kann eine automatische Suche in vorgegebenen Spektrenbibliotheken erfolgen, um basierend auf den UV/MS-Spektren die Substanzen in der Probe zu identifizieren. Weitere Informationen zur Installation und Funktion des Spektrenmoduls finden Sie im Handbuch *Understanding Your Spectral Module*.

### **Überprüfen der Peakreinheit (nur bei ChemStations für LC-3D-, CE-, CE/MS- und LC/MS-Systeme)**

Für Peaks mit vorhandenen UV/VIS-Spektren kann ein Reinheitsfaktor errechnet und in einem Register gespeichert werden. Die Peakreinheit kann auch automatisch am Ende eines Analysenlaufs als Teil einer Methode ermittelt werden. Hierzu muss das Feld "Check Purity" (Reinheit überprüfen) aktiviert werden, wenn die automatische Bibliothekssuche oder eine geeignete Reportvorlage gewählt wird. Weitere Informationen zur Installation und Funktion des Spektrenmoduls finden Sie im Handbuch *Understanding Your Spectral Module*.

### **Ausdruck eines Reports**

Es wird ein Report mit qualitativen und quantitativen Ergebnissen des Analysenlaufs generiert.

## **Angepasste Datenanalyse (Runtime-Checkliste)**

Die angepasste Datenanalyse ermöglicht Ihnen die Ausführung spezieller Makros zur Auswertung Ihrer analytischen Daten.

## **Speichern von GLP-Daten (Runtime-Checkliste)**

Das Binärregister "GLPSave.Reg" wird zusammen mit der Datenanalysemethode im Standardunterverzeichnis der Datendatei gespeichert. Dadurch wird die Echtheit der Daten und die Qualität der einzelnen Analysenläufe gewährleistet.

## 2 Methoden

### Was geschieht während der Ausführung einer Methode?

Das Binärregister "GLPSave.Reg" enthält folgende Informationen in einem Format, das nicht bearbeitet werden kann und durch eine Prüfsumme geschützt ist:

- die wichtigsten Instrumentensollwerte (können grafisch angezeigt werden)
- chromatographische oder elektropherographische Signale
- Integrationsergebnisse
- Quantifizierungsergebnisse
- Datenanalysemethode
- Logbuch

Diese Daten werden nur gespeichert, wenn die Option "Save GLP Data" (GLP-Daten speichern) durch Aktivieren des Kontrollkästchens in der Runtime-Checkliste gewählt wurde. Sie können diese Daten über das Menü "Data Analysis" (Datenanalyse) der ChemStation anzeigen, aber nicht ändern.

### **Befehl oder Makro nach dem Analysenlauf (Runtime-Checkliste)**

Falls ein Befehl oder ein Makro zur Ausführung nach dem Analysenlauf gewählt wurde, erfolgt die Ausführung, z. B. das Anfertigen einer Sicherheitskopie der Daten auf Diskette, nach der Datenanalyse.

### **Speichern einer Kopie der Methode mit den Daten (Runtime-Checkliste)**

Dies erfolgt nach der Datenerfassung nur, wenn in der Runtime-Checkliste die Option "Save Method with Data" (Methode mit Daten speichern) aktiviert wurde. Hiermit wird die *aktuelle* Methode als RUN.M in das Datenverzeichnis kopiert.

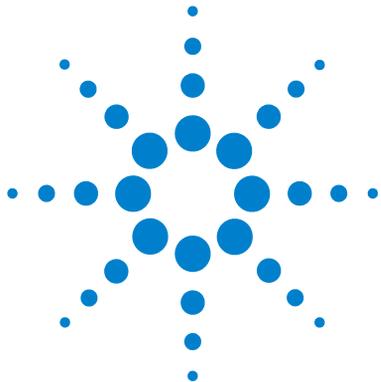
## Kopie der Methode als DA.M mit Daten speichern (ChemStation-StandardEinstellung)

Abhängig von den markierten Elementen in der **Run Time Checklist** wird eine Kopie der *aktuell* ausgeführten Methode gemeinsam mit der Datendatei als DA.M gespeichert. Dies geschieht bei der Ausführung des letzten markierten Elements in der **Run Time Checklist**, im Allgemeinen nach der **Standard Data Analysis**.

# Zusammenfassung des Methodenablaufs

Die folgende Liste fasst den Ablauf der Methode zusammen, für den Fall, dass alle Teile der Runtime-Checkliste gewählt wurden.

- 1** *Befehl oder Makro vor dem Analysenlauf*  
Führt eine Aufgabe aus, bevor der Analysenlauf gestartet wird.
- 2** *Datenerfassung*  
Führt ein Injektorprogramm aus.  
Injiziert die Probe.  
Erfasst die Rohdaten.  
Speichert diese Daten.
- 3** *Kopie der Methode mit den Daten speichern (RUN.M) - optional nach Runtime-Checkliste*
- 4** *Kopie der Methode mit den Daten speichern (ACQ.M) - ChemStation-Standard-einstellung*
- 5** *Datenanalyse (Datenverarbeitung)*  
Lädt die Datendatei.  
Integriert die Datendatei.  
Identifiziert und quantifiziert Peaks.  
Durchsucht die Spektrenbibliothek, sofern verfügbar.  
Überprüft die Peakreinheit, sofern verfügbar.  
Druckt einen Report.
- 6** *Angepasste Datenanalyse*  
Führt Ihre Makros aus.
- 7** *Speichern von GLP-Daten*  
Speichert die binäre Registerdatei "GLPSave.Reg"
- 8** *Befehl oder Makro nach dem Analysenlauf*  
Führt eine Aufgabe nach Abschluss der Analyse durch, z. B. das Generieren eines angepassten Reports.
- 9** *Kopie der Methode mit den Daten speichern (DA.M) - ChemStation-Standard-einstellung*



## 3 Datenerfassung

Was ist Datenerfassung?	64
Datendateien	65
Online-Monitore	67
Online-Monitor für Signale	67
Online-Monitor für Spektren	67
Logbuch	68
Statusinformationen	69
Statusanzeige der ChemStation	69
Statuszeile	69
Systemdiagramm	70

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte von Datenerfassung, Datendateien, Logbüchern usw.



## Was ist Datenerfassung?

Während der Datenerfassung werden alle analogen Signale im Analyseninstrument in digitale Signale konvertiert. Das digitale Signal wird elektronisch an die ChemStation übertragen und in der Signaldatendatei gespeichert.

Die verfügbaren Daten (\*.d) werden im ChemStation-Explorer angezeigt. Zur schnellen und einfachen Navigation können Sie in der Strukturansicht im ChemStation-Explorer zusätzliche Speicherorte für Datendateien hinzufügen. Diese geben Sie in der Registerkarte "Paths" (Pfade) des Dialogfelds "Preferences" (Voreinstellungen) ein.

## Datendateien

Eine Datendatei besteht aus einer Gruppe von Dateien, die im Verzeichnis DATA als Unterverzeichnis mit einem Datensatznamen und der Erweiterung „.D“ angelegt werden. Ein Datendateiname kann manuell definiert werden und einschließlich der Erweiterung bis zu 40 Zeichen lang sein. Jede Datei im Verzeichnis folgt einer Namenskonvention. Mithilfe der Voreinstellungen können zusätzliche Datenverzeichnisse hinzugefügt werden.

**Tabelle 7** Datendateien

Name	Description
*.CH	Datendateien mit chromatographischen/elektropherographischen Signalen. Der Dateiname besteht aus dem Modul- oder Detektortyp, der Modulnummer und einer Identifikationsnummer für das Signal oder den Kanal. Zum Beispiel heißt der Rohdatensatz ADC1A.CH, wobei ADC das Modul, 1 die Modulnummer und A die Signalidentifikation ist. Die Erweiterung für Chromatographie ist ".CH".
*.UV	Datendateien mit UV-Spektren. Der Dateiname besteht aus Detektortyp und Gerätenummer (nur bei Diodenarray-Detektor und Fluoreszenzdetektor).
REPORT.TXT, REPORT.PDF	Reportdatendateien für die zugehörigen Signaldateien.
SAMPLE.MAC	Makro für Probeninformationen.
SAMPLE.MAC.BAC	Datensicherung des Originalmakros für Probeninformationen. Diese Datei wird erzeugt, wenn die Originalprobenparameter (wie Multiplikatoren) bei der erneuten Verarbeitung geändert werden.
RUN.LOG	Logbucheinträge, die während eines Analysenlaufs generiert wurden. Das Logbuch zeichnet alle Vorgänge während der Analyse auf. Es werden alle etwaigen Fehlermeldungen und wichtige Statusänderungen der ChemStation aufgezeichnet.
LCDIAG.REG	Nur bei LC. Enthält Instrumentenkurven (Gradienten, Temperaturkurven, Druckwerte usw.), Injektionsvolumina und Lösungsmittelbeschreibungen.
ACQRES.REG	Enthält Säuleninformationen. Bei GC-Systemen enthält die Datei auch das Injektionsvolumen.

**Tabelle 7** Datendateien

Name	Description
GLPSAVE.REG	Teil der Datendatei, wenn "Save GLP Data" (GLP-Daten speichern) aktiviert ist.
M_INTEV.REG	Enthält manuelle Integrationsparameter.

Die Methode kann zusammen mit den Ergebnisdateien (run.m) gespeichert werden. In diesem Fall wird das Methodenverzeichnis als Unterverzeichnis des Datendateiverzeichnisses angelegt. Hierzu wird die Option „Methode mit Daten speichern“ in der Runtime-Checkliste verwendet.

Für mit der ChemStation Version B.02.01 oder höher erfasste Daten enthält jeder Datenordner (\*.D) die folgenden beiden Methodenordner:

- Erfassungsmethode (ACQ.M) für alle einzelnen Datendateien
- Datenanalysemethode (DA.M) für alle einzelnen Datendateien

In der einzelnen Erfassungsmethode „ACQ.M“ werden die Erfassungsparameter gespeichert. Es wird daher empfohlen, dass Sie diese Methode während zukünftiger Datenprüfungen nicht ändern. „DA.M“ ist die Datenanalysemethode für die jeweilige Datendatei. Wenn beispielsweise die Kalibriertabelle aktualisiert wird, unterscheiden sich die DA.M-Dateien für die einzelnen Analysenläufe. Diese Vorgehensweise kann bei der ChemStation B.03.01 oder höher ausgeschaltet werden, indem die Option „Erstellen eindeutiger Ordner“ deaktiviert wird.

## Online-Monitore

Es gibt zwei verschiedene Online-Monitore: Einen Online-Monitor für das Signal und einen weiteren für Spektren.

### Online-Monitor für Signale

Der Online-Monitor für Signale ermöglicht es Ihnen, mehrere Signale und, sofern dies vom angeschlossenen Instrument unterstützt wird, eine grafische Darstellung der Instrumentenleistung, im selben Fenster darzustellen. Sie können bequem die gewünschten Signale auswählen, um die Zeit- und Absorptionsachse zu formatieren. Für Detektoren, die diese Funktion unterstützen, gibt es eine Ausgleichschaltfläche.

Wenn Sie den Cursor in der Anzeige bewegen, können Sie den absoluten Signalresponse in der Meldungszeile ablesen.

### Online-Monitor für Spektren

Den Online-Monitor für Spektren gibt es nur in Verbindung mit ChemStations, die die Spektrenauswertung unterstützen. Er zeigt eine Auftragung der Absorption als Funktion der Wellenlänge. Sie können sowohl den angezeigten Wellenlängenbereich als auch die Absorptionskala einstellen.

## Logbuch

Das Logbuch zeigt Meldungen an, die vom analytischen System erzeugt wurden. Diese Meldungen können Fehlermeldungen, Systemmeldungen oder Ereignismeldungen aus einem Modul sein. Im Logbuch werden diese Ereignisse unabhängig davon eingetragen, ob die Meldungen auch auf dem Bildschirm angezeigt werden. Weitere Informationen zu einem Ereignis erhalten Sie, wenn Sie auf die entsprechende Zeile doppelklicken, um den entsprechenden Hilfetext anzuzeigen.

# Statusinformationen

## Statusanzeige der ChemStation

Das Statusfenster der ChemStation zeigt eine Statusübersicht der ChemStation-Software.

Wenn eine einzige Analyse läuft, zeigt sie Folgendes an:

- In der ersten Zeile des Statusfensters der ChemStation wird "Run in Progress" (Analyse läuft) angezeigt.
- In der zweiten Zeile des Statusfensters der ChemStation wird der aktuelle Status der Methode angezeigt.
- In der dritten Zeile wird der Name der Rohdatendatei zusammen mit der aktuellen Laufzeit in Minuten angezeigt (bei einem GC-Instrument werden auch Dateien für den vorderen und den hinteren Injektor angezeigt).

Das Fenster für den Instrumentenstatus bietet Informationen zu den Instrumentenmodulen und Detektoren. Sie zeigen den Status der einzelnen Komponenten und, je nach System, die aktuellen Bedingungen, z. B. Druck, Gradient oder Fluss, an.

## Statuszeile

Die grafische Benutzeroberfläche des ChemStation-Systems enthält Symbolzeilen und eine Statuszeile in der Anzeige "Method and Run Control" (Methoden- und Analysensteuerung) der ChemStation. Die Statuszeile zeigt den Systemstatus und Informationen zur aktuellen Methode und Sequenz an. Wenn diese nach dem Laden geändert wurden, sind sie mit einem gelben Zahnrad markiert. Bei einem LC-Modul der Agilent-Serie 1100/1200 macht ein gelbes EMF-Symbol den Anwender darauf aufmerksam, wenn Haltbarkeitsgrenzen von Verbrauchsmaterialien (z. B. der Lampe) überschritten wurden.

## Systemdiagramm

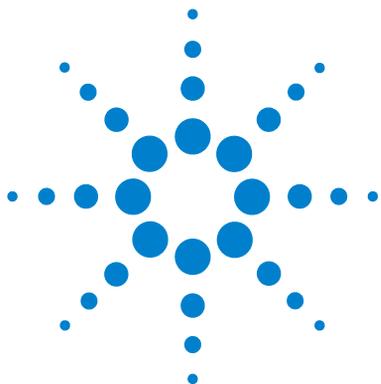
Sie können für Ihr ChemStation-System ein grafisches Systemdiagramm aufrufen, wenn dies vom konfigurierten Analyseinstrument (z. B. von den LC-Modulen der Agilent-Serie 1100/1200 oder den GC-Systemen der Agilent-Serie 6890) unterstützt wird. Dies ermöglicht Ihnen, den Systemstatus auf einen Blick zu überprüfen. Wählen Sie den Befehl "System Diagram" (Systemdiagramm) im Menü "Method and Run Control" (Methoden- und Analysensteuerung) aus, um das Diagramm zu aktivieren. Dieses Diagramm ist eine grafische Darstellung Ihres ChemStation-Systems. Jeder Bestandteil wird durch ein Symbol repräsentiert. Der aktuelle Status wird unter Verwendung des folgenden Farbcodes angezeigt.

**Tabelle 8** Farbcodierung des Systemdiagramms

Farbe	Status
Grau	Deaktiviert oder ausgeschaltet
Gelb	Nicht bereit
Grün	Bereit
Blau	Analyse läuft
Rot	Fehler

Zusätzlich können Sie Auflistungen der aktuellen Parametereinstellungen aufrufen. Abgesehen von der Statusübersicht ermöglicht das Diagramm einen schnellen Zugriff auf die Dialogfelder der Parametereinstellungen für jede Komponente des Systems.

Weitere Informationen zum Systemdiagramm finden Sie im Instrumentenabschnitt der Online-Hilfe.



## 4 Integration

Was ist die Integration?	73
Was wird bei der Integration durchgeführt?	74
Integrationsalgorithmen der ChemStation	75
Integrationsfunktionen	75
Überblick	77
Anfängliche Basislinie definieren	78
Basislinienverfolgung	78
Basislinienbestimmung	79
Identifizierung der Schlüsselpunkte eines Peaks	80
Begriffserläuterung	82
Schlüsselpunkte	82
Lösungsmittelpeak	82
Schulter (Vorderseite, Rückseite)	83
Steigung	83
Funktionsprinzip	84
Peakerkennung	85
Peakbreite	85
Peakerkennungsfilter	86
Bündelung	88
Algorithmus der Peakerkennung	89
Berechnungen bei Abweichung von der Gauß-Kurve	92
Basislinienbestimmung	94
Standard-Basislinienkonstruktion	94
Anfang der Basislinie	95
Strichmarken	95
Ende der Basislinie	95
Basislinienunterschreitung	96



## 4 Integration

### Statusinformationen

Peak-zu-Tal-Verhältnis	97
Tangentiale Anpassung	99
Nicht zugeordnete Peaks	104
Peak-Trenncodes	105
Peakflächenberechnung	107
Flächenberechnung	107
Einheiten und Umrechnungsfaktoren	109
Integrationsereignisse	110
Anfangsereignisse	110
Zeitgesteuerte Ereignisse	113
Automatische Integration	114
Manuelle Integration	116

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte der Integration und den Integrationalgorithmus der ChemStation. Es beschreibt den Integrationsalgorithmus, die Integration und die manuelle Integration.

## Was ist die Integration?

Über die Integration werden in einem chromatographischen Signal die Peaks ermittelt und deren Größe berechnet.

Die Integration ist erforderlich für:

- Quantifizierung
- Berechnungen der Peakreinheit (nur ChemStations für LC-3D-, CE-, CE/MS- und LC/MS-Systeme)
- Suche in Spektrenbibliotheken (nur ChemStations für LC-3D-, CE-, CE/MS- und LC/MS-Systeme)

## 4 Integration

Was wird bei der Integration durchgeführt?

### Was wird bei der Integration durchgeführt?

Zur Integration eines Peaks führt die Software folgende Aktionen aus:

- Für jeden Peak werden die Start- und Endzeiten ermittelt und mit vertikalen Strichmarkierungen versehen.
- Das Maximum jedes Peaks wird festgelegt. Es entspricht der Retentions-/Migrationszeit.
- Es wird eine Basislinie erzeugt.
- Für jeden Peak werden Fläche, Höhe und Peakbreite berechnet.

Dieser Vorgang wird mit den sogenannten Integrationsereignissen gesteuert.

# Integrationsalgorithmen der ChemStation

Der ChemStation-Integrationsalgorithmus in seiner neuen zweiten Version optimiert Robustheit, Zuverlässigkeit und Anwenderfreundlichkeit.

## Integrationsfunktionen

Der Integrationsalgorithmus beinhaltet die folgenden Schlüsselfunktionen:

- Eine Autointegrationsfunktion zur Einrichtung anfänglicher Integratorparameter
- Die Fähigkeit, für jedes Chromatographie-/Elektropherographiesignal eine eigene Tabelle mit Integrationsereignissen festzulegen, wenn mehrere Signale oder mehr als ein Detektor verwendet werden
- Die interaktive Festlegung von Integrationsereignissen, die es dem Anwender ermöglichen, die Zeiten für die Ereignisse grafisch zu bestimmen
- Manuelle oder "Rubber Band"-Integration für Chromatogramme/Elektropherogramme, die eine spezielle Interpretation erfordern (diese Ereignisse können auch in die Methode integriert und somit automatisch aufgerufen werden)
- Darstellung und Ausdruck von Integrationsergebnissen
- Die Fähigkeit, mindestens 1000 Peaks pro Chromatogramm/Elektropherogramm zu integrieren
- Definition der Integrationsparameter, um die Integrator-Grundeinstellungen für "Area Reject" (Schwellenwert für die Fläche), "Peak Width" (Peakbreite) und "Slope Sensitivity" (Steigungsempfindlichkeit) festzulegen oder zu ändern
- Parameter zur Kontrolle der Basislinie wie "force baseline" (Basislinie erzwingen), "hold baseline" (Basislinie halten), "baseline at all valleys" (Basislinie zu jedem Tal), "baseline at the next valley" (Basislinie beim nächsten Tal), "fit baseline backwards from the end of the current peak" (Rückwärtige Anpassung der Basislinie vom Ende des aktuellen Peaks)
- Kontrolle der Flächenaddition
- Negative Peakerkennung

## 4 Integration

### Integrationsalgorithmen der ChemStation

- Tangentiale Anpassung mit Befehlen zur Festlegung des Lösungsmittel-peaks
- Die Fähigkeit, für alle chromatographischen/elektropherographischen
- Signale individuelle Ereignistabellen zur tangentialen Anpassung an Vorder- und Rückseite der Peaks festzulegen
- Die Möglichkeit zur Eingabe von Parametern zur Basislinienkorrektur (nicht signalbezogen)
- Befehle zur Integratorsteuerung, die Bereiche der Retentions-/Migrationszeiten festlegen, in denen der Integrator wirksam ist
- Verbesserte Erfassung von nicht-äquidistanten Datenpunkten für eine bessere Leistung bei DAD-LC-Daten, die aus DAD-Spektren gebildet wurden.

## Überblick

Um ein Chromatogramm/Elektropherogramm zu integrieren, muss der Integrator:

- 1 die anfängliche Basislinie bestimmen,
- 2 die Basislinie ständig verfolgen und aktualisieren,
- 3 den Peakbeginn erkennen und diesen Punkt mit einer vertikalen Strichmarke versehen,
- 4 das Maximum jedes Peaks finden und die Retentionszeit/Migrationszeit drucken,
- 5 das Peakende erkennen und diesen Punkt mit einer vertikalen Strichmarke versehen,
- 6 eine Basislinie erzeugen und
- 7 die Fläche, Höhe und Peakbreite für jeden Peak berechnen.

Dieser Vorgang wird durch *Integrationsereignisse* gesteuert. Die wichtigsten Ereignisse sind *Initial Slope Sensitivity* (*Anfängliche Steigungsempfindlichkeit*), *Peak Width* (*Peakbreite*), *Area Reject* (*Schwellenwert für die Fläche*) und *Height Reject* (*Schwellenwert für die Höhe*). Mithilfe der Software können Sie Anfangswerte für diese und andere Ereignisse festlegen. Die Anfangswerte werden zu Beginn des Chromatogramms aktiviert. Zusätzlich bietet die Funktion für die automatische Integration mehrere Anfangsereignisse, die Sie weiter optimieren können.

In den meisten Fällen liefern die Anfangsereignisse gute Integrationsergebnisse über den gesamten Verlauf des Chromatogramms. Es kann jedoch Situationen geben, in denen Sie eine weitergehende Steuerung des Integrationsverlaufs benötigen.

Die Software ermöglicht eine genaue Steuerung der Integration, indem Sie neue Integrationsereignisse für entsprechende Zeiten im Chromatogramm definieren.

Weitere Informationen hierzu finden Sie in [“Anfangsereignisse”](#) auf Seite 110.

## Anfängliche Basislinie definieren

Da die Eigenschaften einer Basislinie von der Applikation und dem verwendeten Detektor abhängen, verwendet der Integrator zur Optimierung der Basislinie sowohl Parameter aus der Methode als auch aus der Datendatei.

Bevor der Integrator Peaks integrieren kann, muss er einen *Basislinienpunkt* festlegen. Zu Beginn der Analyse legt der Integrator eine anfängliche Basislinienebene fest, indem er den ersten Datenpunkt als vorläufigen Basislinienpunkt festlegt. Dann versucht er, diesen anfänglichen Basislinienpunkt durch Mittelwertbildung mit dem Eingangssignal neu zu definieren. Wenn der Integrator keinen neu definierten anfänglichen Basislinienpunkt erhält, behält er den ersten Datenpunkt als potenziellen anfänglichen Basislinienpunkt bei.

## Basislinienverfolgung

Im weiteren Analysenverlauf sammelt der Integrator die digitalen Daten mit einer Rate, die durch die Anfangspeakbreite oder die berechnete Peakbreite bestimmt wird. Hierbei wird zunächst jeder Datenpunkt als möglicher Basislinienpunkt angenommen.

Der Integrator ermittelt eine *Basislinienhüllkurve* anhand der Steigung der Basislinie unter Verwendung eines Algorithmus zur Basislinienverfolgung, bei dem die Steigung durch die erste Ableitung und die Krümmung durch die zweite Ableitung bestimmt wird. Die Basislinienhüllkurve kann als Kegel dargestellt werden, dessen Spitze auf dem aktuellen Datenpunkt liegt. Die oberen und unteren Zulässigkeitsgrenzen für den Kegel sind:

- + Steigung + Krümmung + Basislinienschwankung müssen kleiner als der Schwellenwert sein,
- - Steigung - Krümmung + Basislinienschwankung müssen positiver (bzw. negativer) als der Schwellenwert sein.

Mit der Aufnahme neuer Datenpunkte bewegt sich der Kegel vorwärts, bis er seine Form verliert.

Ein Datenpunkt muss folgende Bedingungen erfüllen, um als Basislinienpunkt gewertet zu werden:

- Er muss innerhalb der definierten Basislinienhüllkurve liegen.

- Die Krümmung der Basislinie am Datenpunkt (durch die Ableitungsfilter ermittelt) muss unterhalb eines kritischen Werts liegen, der durch die aktuellen Einstellungen der Steigungsempfindlichkeit festgelegt wird.

Der beim Analysenstart festgelegte anfängliche Basislinienpunkt wird laufend mit einer durch die Peakbreite bestimmten Häufigkeit neu auf den sich verschiebenden Mittelwert der Datenpunkte gesetzt, die innerhalb der Basislinienhüllkurve liegen. Der Integrator überprüft die Basislinie laufend und setzt sie gelegentlich neu, um eine Drift auszugleichen, bis ein Peakanstieg festgestellt wird.

## Basislinienbestimmung

Der Integrator ermittelt die chromatographische/elektropherographische Basislinie während der Analyse mit einer Frequenz, die von dem Wert der Peakbreite abhängt. Wenn der Integrator eine bestimmte Anzahl Datenpunkte erfasst hat, setzt er die Basislinie neu vom ursprünglichen Basislinienpunkt auf den aktuellen Basislinienpunkt. Anschließend fährt der Integrator mit der Verfolgung der Basislinie für den nächsten Satz Datenpunkte fort und setzt dann die Basislinie wieder neu. Dieser Vorgang wird solange fortgesetzt, bis der Integrator einen Peakanfang feststellt.

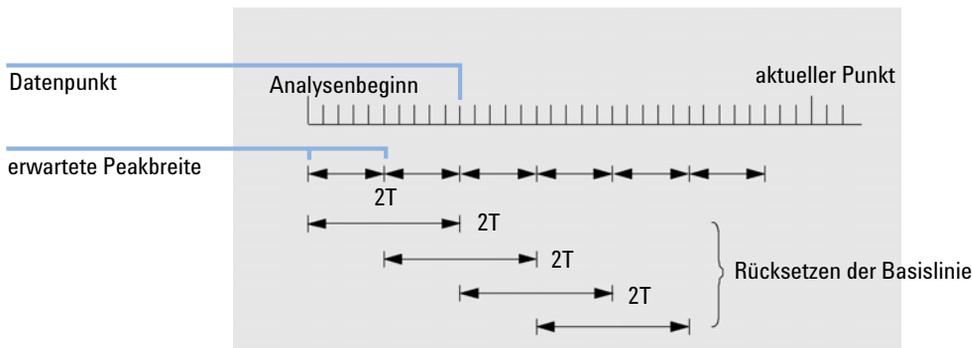


Abbildung 4 Basislinie

Bei Analysenbeginn wird diese Basislinieneinstellung als Basislinienanfang genommen. Wenn sie nicht definiert ist, wird der erste Datenpunkt genommen. Dieser Basislinienpunkt wird dann regelmäßig nach folgender Formel neu gesetzt:

Die Flächen werden über den Zeitraum  $T$  (erwartete Peakbreite) summiert. Diese Zeit kann niemals kleiner als ein Datenpunkt sein. Dies wird fortgesetzt, solange die Bedingungen für eine Basislinie gegeben sind. Steigung und Krümmung werden ebenfalls ermittelt. Wenn sowohl die Steigung als auch die Krümmung kleiner als der Schwellenwert sind, werden zwei summierte Flächen addiert und mit der vorherigen Basislinie verglichen. Wenn der neue Wert kleiner als die vorherige Basislinie ist, wird der alte Wert sofort durch den neuen ersetzt. Wenn der neue Wert größer als der vorherige Wert ist, wird er als möglicher neuer Basislinienwert gespeichert und als solcher bestätigt, wenn ein weiterer Wert die Bedingungen von Steigung und Krümmung erfüllt. Diese letztere Begrenzung ist nicht wirksam, wenn negative Peaks zulässig sind. Während der Basislinienermittlung erfolgt auch eine Prüfung auf schnell eluierende Lösungsmittel. Diese sind zu schnell für einen normalen Steigungsnachweis. (Wenn eine Steigung bestätigt ist, ist das Lösungsmittelkriterium nicht mehr gültig.) Zunächst ist der erste Datenpunkt die Basislinie. Sie wird ersetzt durch den  $2T$ -Mittelwert, falls das Signal auf der Basislinie liegt. Die Basislinie wird dann alle  $T$  zurückgesetzt (siehe [Abbildung 4](#) auf Seite 79).

## Identifizierung der Schlüsselpunkte eines Peaks

Der Integrator stellt einen eventuellen Peakanfang fest, wenn mögliche Basislinienpunkte außerhalb der Basislinienhüllkurve liegen und die Basislinienkrümmung einen bestimmten Wert überschreitet, der durch den Wert für die Steigungsempfindlichkeit vorgegeben ist. Wenn diese Bedingung weiterhin besteht, erkennt der Integrator eine ansteigende Peakflanke und der Peak wird verarbeitet.

### Peakanfang

- 1 Steigung und Krümmung liegen innerhalb des Grenzwerts: Basislinie weiterhin verfolgen.
- 2 Steigung und Krümmung liegen oberhalb des Grenzwerts: möglicher Peak.
- 3 Steigung bleibt oberhalb des Grenzwerts: Peak erkannt und Schlüsselpunkt definiert.
- 4 Die Krümmung wird negativ: vorderer Wendepunkt.

### **Peakmaximum**

- 1 Die Steigung durchläuft den Nullpunkt und wird negativ: Peakmaximum, Schlüsselpunkt definiert.
- 2 Die Krümmung wird positiv: hinterer Wendepunkt.

### **Peakende**

- 1 Steigung und Krümmung liegen innerhalb des Grenzwerts: nahendes Peakende.
- 2 Steigung und Krümmung bleiben innerhalb des Grenzwerts: Peakende, Schlüsselpunkt definiert.
- 3 Der Integrator fährt mit der Basislinienverfolgung fort.

## Begriffserläuterung

### Schlüsselpunkte

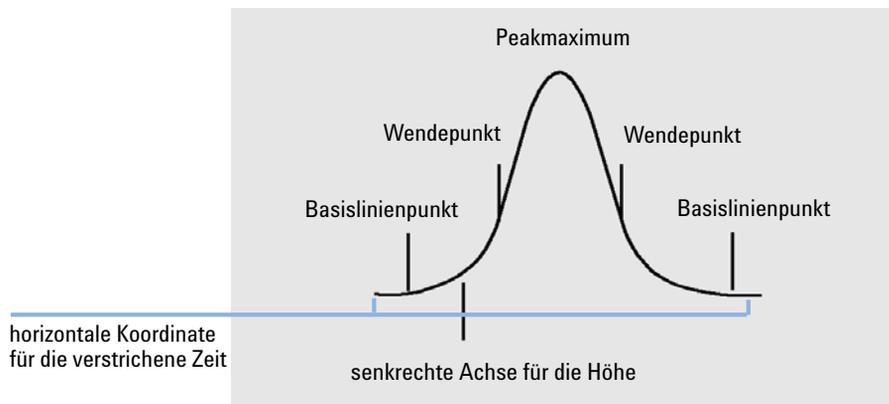


Abbildung 5 Schlüsselpunkte

Schlüsselpunkte sind Punkte, die der Integrator zur Definition und Quantifizierung eines Peaks verwendet. Basislinienpunkte, Talpunkte, Maximum und Wendepunkte werden als Schlüsselpunkte gespeichert. Jeder Schlüsselpunkt besitzt einen horizontalen Koordinatenwert mit der verstrichenen Zeit und einen vertikalen Koordinatenwert mit der Höhe über der Basislinie. Zusätzlich werden andere Parameter ermittelt, die der Integrator zur Peakflächenberechnung benötigt, wie Peaktyp, Trenncodes, Anfangs- und Endwerte möglicher Peaks sowie die entsprechende Höhe, Fläche und Steigungswerte.

### Lösungsmittelpeak

Der Lösungsmittelpeak ist normalerweise ein sehr großer Peak ohne analytische Bedeutung und wird i. d. R. nicht integriert. Wenn jedoch kleine, analytisch wichtige Peaks nahe dem Lösungsmittelpeak eluieren, zum Beispiel auf der absteigenden Flanke, können besondere Integrationsbedingungen eingestellt werden, um ihre Flächen um den Anteil des Lösungsmittelpeaks an der absteigenden Flanke zu korrigieren.

## Schulter (Vorderseite, Rückseite)

Schultern bilden sich, wenn zwei Peaks so dicht nebeneinander eluieren, dass kein Tal zwischen ihnen ausgebildet wird und sie somit nicht aufgelöst werden. Schultern können auf der Vorderseite oder auf der Rückseite eines Peaks auftreten. Erkannte Schultern können entweder durch tangentielle Anpassung oder durch eine Basisliniensenkrechte integriert werden.

## Steigung

Die Steigung eines Peaks, die eine Änderung der Konzentration in Abhängigkeit von der Zeit kennzeichnet, wird zur Bestimmung des Peakanfangs, des Peakmaximums und des Peakendes verwendet.

# Funktionsprinzip

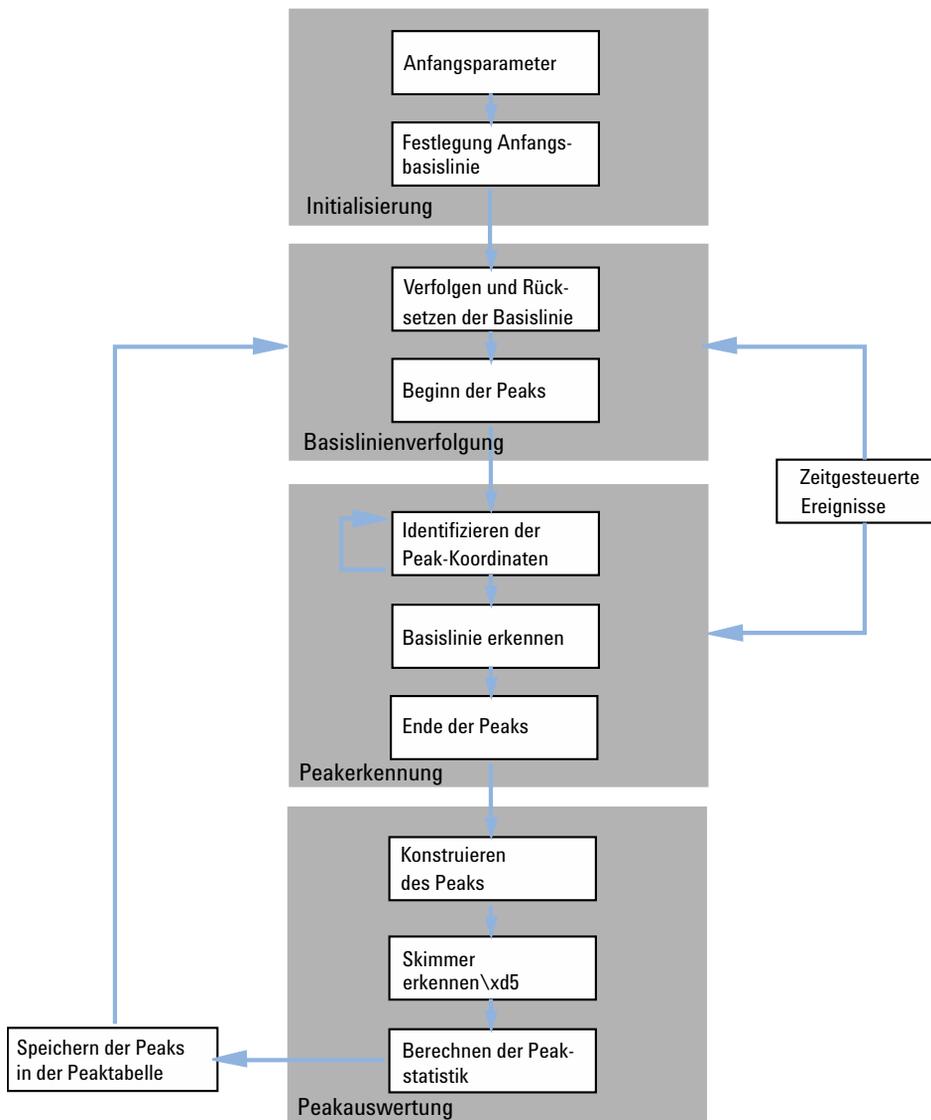


Abbildung 6 Integrator-Flussdiagramm

## Peakerkennung

Der Integrator verwendet verschiedene Werkzeuge zur Erkennung und Charakterisierung eines Peaks:

- Peakbreite
- Peakerkennungsfilter
- Bündelung
- Peakerkennungsalgorithmus
- Peakmaximum-Algorithmus
- Berechnungen bei Abweichung von der Gauß-Kurve (z. B. Tailing, nicht aufgelöste Peaks)

### Peakbreite

Bei der Integration wird die Peakbreite aus der Peakfläche und der Peakhöhe errechnet:

$$\text{Breite} = \text{Fläche}/\text{Höhe}$$

Wenn Wendepunkte verfügbar sind, kann die Berechnung auch aus der Breite zwischen den Wendepunkten erfolgen.

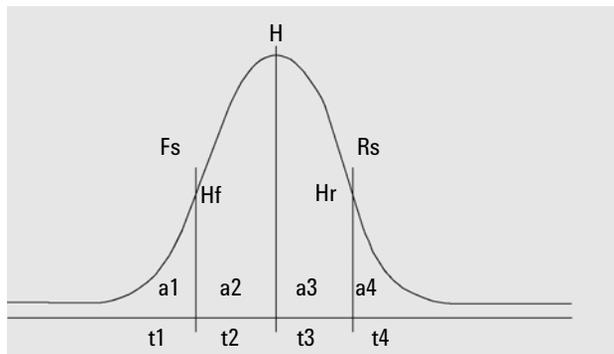


Abbildung 7 Peakbreitenberechnung

Die Gesamtfläche A in Abbildung „Peakbreitenberechnung“ ist die Summe der Flächen a1, a2, a3 und a4. Fs ist die vordere Steigung am Wendepunkt, Rs ist die hintere Steigung am Wendepunkt. Wenn kein Wendepunkt gefunden wurde, wird die Peakbreite wie folgt definiert:

$$\text{Breite} = \text{Angepasste Fläche} / \text{Angepasste Höhe}$$

Die Einstellung der Peakbreite bestimmt die Fähigkeit des Integrators, zwischen Peak und Basislinienrauschen zu unterscheiden. Die Peakbreite sollte für eine gute Leistung ähnlich der tatsächlichen chromatographischen/elektrophographischen Peakbreite eingestellt sein.

Die Peakbreite kann auf drei Arten geändert werden:

- Sie können vor dem Analysenlauf die Anfangspeakbreite bestimmen.
- Während des Analysenlaufs aktualisiert der Integrator die Peakbreiten bei Bedarf automatisch, um eine gute Übereinstimmung mit den Peakerkennungsfiltren zu gewährleisten.
- Sie können während des Analysenlaufs über zeitgesteuerte Ereignisse die Peakbreite neu festlegen oder ändern.

Die Definitionen zur Peakbreite, die bei den Berechnungen zur Systemeignung verwendet werden, finden Sie unter **“Peakbreite”** auf Seite 85.

## Peakerkennungsfiltren

Der Integrator verfügt über drei Filter zur Erkennung von Peaks, mit deren Hilfe Änderungen in der Steigung und Krümmung innerhalb einer Gruppe aufeinander folgender Datenpunkte erkannt werden. Diese Filter enthalten die erste Ableitung (für die Steigung) und die zweite Ableitung (für die Krümmung) der vom Integrator untersuchten Datenpunkte. Dies sind die Erkennungsfiltren:

- Filter 1** Steigung (Krümmung) von zwei (drei) aufeinander folgenden Datenpunkten
- Filter 2** Steigung von vier aufeinander folgenden Datenpunkten und Krümmung von drei nicht zusammenhängenden Datenpunkten
- Filter 3** Steigung von acht aufeinander folgenden Datenpunkten und Krümmung von drei nicht aufeinander folgenden Datenpunkten

Die Einstellung der Peakbreite bestimmt den tatsächlich verwendeten Filter. Beim Analysenbeginn wird beispielsweise Filter 1 verwendet. Wenn die Peakbreite während der Analyse zunimmt, wechselt der Filter zunächst zu Filter 2 und dann zu Filter 3. Um gute Ergebnisse von den Erkennungsfiltren zu erhalten, muss die Peakbreite nahe der tatsächlichen Peakbreite des chromatographischen/elektropherographischen Peaks liegen. Der Integrator aktualisiert bei Bedarf während des Analysenlaufs die Peakbreite, um die Integration zu optimieren.

Der Integrator berechnet die aktualisierte Peakbreite je nach Instrumentenkonfiguration auf unterschiedliche Weise.

Für LC/CE-Konfigurationen verwendet die Peakbreitenberechnung standardmäßig eine zusammengesetzte Berechnung:

$$0,3 \times (\text{rechter Wendepunkt} - \text{linker Wendepunkt}) + 0,7 \times \text{Fläche/Höhe}$$

Bei einer GC-Konfiguration verwendet die Peakbreitenberechnung standardmäßig das Verhältnis Fläche zu Höhe. Diese Berechnung führt zu keiner Überbewertung der Peakbreite bei in halber Höhe überlappenden Peaks.

Bei bestimmten Analysen, beispielsweise isothermen GC- und isokratischen LC-Analysen, werden die Peaks im Laufe der Analyse deutlich breiter. Um dies zu kompensieren, aktualisiert der Integrator die Peakbreite automatisch, da sich die Peaks während der Analyse verbreitern. Dies geschieht automatisch, wenn nicht die Aktualisierung deaktiviert worden ist oder die Peakbreite mithilfe eines zeitgesteuerten Ereignisses auf einen bestimmten Wert gesetzt worden ist.

Die Aktualisierung der Peakbreite wird wie folgt gewichtet:

$$0,75 \times (\text{bestehende Peakbreite}) + 0,25 \times (\text{aktuelle Peakbreite})$$

Wenn ein zeitgesteuertes Integrationsereignis die Peakbreite auf einen bestimmten Wert setzt oder diese deaktiviert, wird die automatische Peakbreitenanpassung deaktiviert.

## Bündelung

Der Integrator bewirkt mittels der Bündelung, dass bei sich verbreiternden Peaks die Peakerkennungsfilter sauber arbeiten und eine gute Selektivität behalten.

Der Integrator kann die Peakbreite für sich verbreiternde Peaks nicht unbegrenzt erhöhen. Die Peaks könnten dann so breit werden, dass sie von den Peakerkennungsfiltern nicht mehr erkannt werden. Um diese Einschränkung zu überwinden, bündelt der Integrator Datenpunkte, was bei gleicher Fläche den Peak effektiv enger macht.

Bei der Datenbündelung werden die Datenpunkte mit einer Potenz von 2 gebündelt, z. B. ungebündelt = 1x, einmal gebündelt = 2x, zweifach gebündelt = 4x usw.

Die Bündelung hängt von der Datenrate und der Peakbreite ab. Der Integrator verwendet diese Parameter zur Einstellung des Bündelungsfaktors, um die entsprechende Anzahl an Datenpunkten zu erhalten. Siehe [Tabelle 9](#) auf Seite 88.

Die Bündelung erfolgt mit einer Potenz von 2 im Hinblick auf die erwartete Peakbreite oder auf Erfahrungswerte. Der Bündelungsalgorithmus wird in [Tabelle 9](#) auf Seite 88 zusammengefasst.

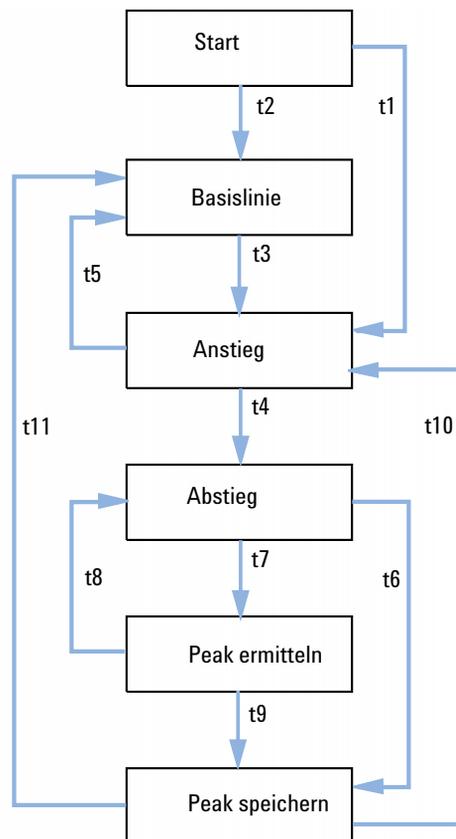
**Tabelle 9** Kriterien für die Bündelung

Erwartete Peakbreite	Verwendeter Filter	Bündelung
0 - 10 Datenpunkte	Erster	Keine
8 - 16 Datenpunkte	Zweiter	Keine
12 - 24 Datenpunkte	Dritter	Keine
16 - 32 Datenpunkte	Zweiter	Einfach
24 - 48 Datenpunkte	Dritter	Einfach
32 - 96 Datenpunkte	Dritter, zweiter	Zweifach
64 - 192 Datenpunkte	Dritter, zweiter	Dreifach

## Algorithmus der Peakerkennung

Der Integrator legt den Peakbeginn mit einem Basislinienpunkt fest, der durch den Algorithmus der Peakerkennung ermittelt wird. Der Algorithmus der Peakerkennung vergleicht zunächst die Ergebnisse der Peakerkennungsfilter mit dem Wert der anfänglichen Steigungsempfindlichkeit, um den Steigungszähler zu vergrößern oder zu verringern. Der Integrator legt den Punkt, an dem der Steigungszähler  $\geq 15$  lautet, als Peakbeginn fest.

Der Peakerkennungsalgorithmus wird in [Abbildung 8](#) auf Seite 89 dargestellt.



**Abbildung 8** Peakerkennung

### Es gelten folgende Kriterien:

- t1 Der Steigungszähler ist größer oder gleich 1.
- t2 Der Steigungszähler ist gleich 0.
- t3 Der Steigungszähler ist größer oder gleich 2.
- t4
  - Peakmaximum and halbe Peakbreite gefunden oder
  - Peakmaximum gefunden und Zähler für abfallende Flanke größer oder gleich 2.
- t5
  - Peakabbruch oder
  - Basislinie jetzt neu festlegen.
- t6
  - Peaktal gefunden und Steigungszähler größer oder gleich 2 oder
  - Sigma des Abstiegs ist größer als das doppelte Sigma vom Peakende oder
  - Basislinie jetzt neu festlegen oder
  - Basislinie im nächsten Tal neu festlegen und Peaktal gefunden.
- t7 Kriterium für abfallende Flanke wird nicht mehr erfüllt.
- t8 Kriterium für abfallende Flanke wird wieder erfüllt.
- t9
  - Peaktal gefunden und Steigungszähler größer oder gleich 2 oder
  - Zähler für abfallende Flanke gleich null oder
  - Sigma des Abstiegs ist größer als das Sigma vom Peakende oder
  - Basislinie jetzt neu festlegen oder
  - Basislinie im nächsten Tal neu festlegen.
- t10 Der Steigungszähler ist größer oder gleich 2.
- t11 Der Steigungszähler ist kleiner oder gleich 1.

### Peakanfang

In [Tabelle 10](#) auf Seite 91 legen die erwarteten Peakbreiten fest, welche Filterwerte für Steigung und Krümmung mit der Steigungsempfindlichkeit verglichen werden. Wenn die erwartete Peakbreite beispielsweise klein ist, werden Werte aus Filter 1 zum Steigungszähler addiert. Wenn die erwartete Peakbreite größer wird, werden die Werte von Filter 2 und eventuell Filter 3 verwendet.

Wenn der Steigungszähler  $\geq 15$  ist, erkennt der Algorithmus einen Peakanfang.

**Tabelle 10** Erhöhungswerte für den Steigungs-Akkumulator

<b>Ableitungsfilter 1 - 3 Ausgabe gegen Steigungsempfindlichkeit</b>	<b>Filter 1</b>	<b>Filter 2</b>	<b>Filter 3</b>
Steigung > Steigungsempfindlichkeit	+8	+5	+3
Krümmung > Steigungsempfindlichkeit	+0	+2	+1
Steigung < (-) Steigungsempfindlichkeit	-8	-5	-3
Steigung >  Steigungsempfindlichkeit	-4	-2	-1
Krümmung < (-) Steigungsempfindlichkeit	-0	-2	-1

### Peakende

In [Tabelle 11](#) auf Seite 91 legen die erwarteten Peakbreiten fest, welche Filterwerte für Steigung und Krümmung mit der Steigungsempfindlichkeit verglichen werden. Wenn die erwartete Peakbreite beispielsweise klein ist, werden Werte aus Filter 1 zum Zähler für die abfallende Flanke addiert. Wenn die erwartete Peakbreite größer wird, werden die Werte von Filter 2 und eventuell Filter 3 verwendet.

Wenn der Zähler für die abfallende Flanke  $\geq 15$  ist, erkennt der Algorithmus ein Peakende.

**Tabelle 11** Erhöhungswerte für den Abstiegs-Akkumulator

<b>Ableitungsfilter 1 - 3 Ausgabe gegen Steigungsempfindlichkeit</b>	<b>Filter 1</b>	<b>Filter 2</b>	<b>Filter 3</b>
Steigung > Steigungsempfindlichkeit	+8	+5	+3
Krümmung > Steigungsempfindlichkeit	+0	+2	+1
Steigung < (-) Steigungsempfindlichkeit	-11	-7	-4
Steigung >  Steigungsempfindlichkeit	-28	-18	-11
Krümmung < (-) Steigungsempfindlichkeit	-0	-2	-1

### Algorithmus für das Peakmaximum

Das Peakmaximum wird als höchster Punkt im Chromatogramm erkannt, indem eine parabolische Anpassung durch die höchsten Datenpunkte konstruiert wird.

## Berechnungen bei Abweichung von der Gauß-Kurve

### Überlappende Peaks

Überlappende Peaks treten auf, wenn ein neuer Peak beginnt, bevor das Peakende des vorherigen Peaks gefunden wurde. Die Abbildung zeigt, wie der Integrator überlappende Peaks behandelt.

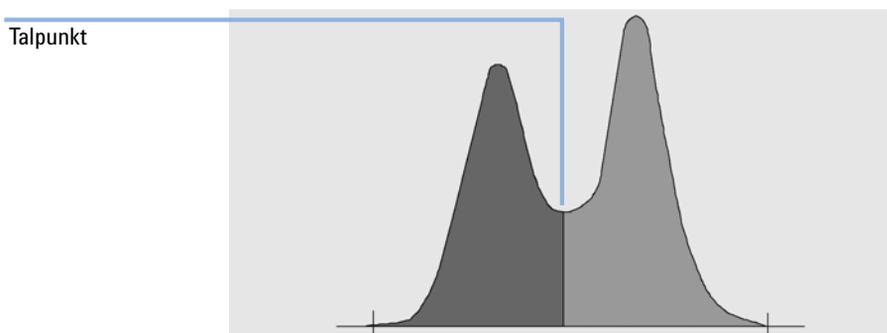


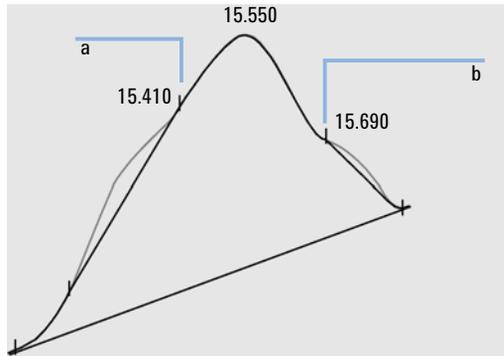
Abbildung 9 Überlappende Peaks

Der Integrator wertet überlappende Peaks wie folgt aus:

- 1 Er summiert die Fläche des ersten Peaks bis zum Talpunkt.
- 2 Am Talpunkt endet die Summierung für den ersten Peak, und die Summierung für den zweiten Peak beginnt.
- 3 Wenn der Integrator das Ende des zweiten Peaks feststellt, endet die Flächensummiertung. Dieser Vorgang kann als Trennung der überlappenden Peaks durch Lotfällung im Talpunkt zwischen den Peaks dargestellt werden.

## Schultern

Schultern sind nicht aufgelöste Peaks auf der ansteigenden oder abfallenden Flanke eines größeren Peaks. Wenn eine Schulter vorhanden ist, gibt es kein wirkliches Tal im Sinne einer negativen Steigung, der eine positive Steigung folgt. Ein Peak kann eine beliebige Anzahl Schultern auf der ansteigenden oder abfallenden Flanke besitzen.



**Abbildung 10** Peakschultern

Schultern werden durch die Krümmung des Peaks, also die zweite Ableitung, erkannt. Wenn die Krümmung gegen Null geht, registriert der Integrator einen Wendepunkt, wie beispielsweise die Punkte a und b in [Abbildung 10](#) auf Seite 93.

- Eine mögliche vordere Schulter ist vorhanden, wenn ein zweiter Wendepunkt vor dem Peakmaximum festgestellt wird. Bei Bestätigung einer Schulter wird der Schulterbeginn auf den maximalen positiven Krümmungspunkt vor dem Wendepunkt gelegt.
- Eine mögliche hintere Schulter ist vorhanden, wenn ein zweiter Wendepunkt vor dem Peakende oder Tal festgestellt wird. Bei Bestätigung einer Schulter wird der Schulterbeginn auf den Zielpunkt vom Startpunkt zur Kurve gelegt.

Als Retentions-/Migrationszeit wird der Zeitpunkt mit der größten negativen Krümmung der Schulter festgelegt. Mit einem programmierten Integrationsereignis kann der Integrator auch Schulterflächen wie normale Peaks durch Basisliniensenkrechten an den Wendepunkten der Schulter berechnen. Die Fläche der Schulter wird von der Fläche des Hauptpeaks subtrahiert.

Peakschultern können durch ein zeitgesteuertes Ereignis wie normale Peaks behandelt werden.

## Basislinienbestimmung

Nachdem alle Peakgruppen festgelegt wurden und die Basislinie gefunden wurde, benötigt der Integrator den Algorithmus zur Basislinienbestimmung, der die Basislinie mithilfe einer Pegs-and-Thread-Technik zuordnet. Er verwendet Annäherungen an trapezförmige Flächen und die entsprechenden Höhen, um den Analysenlauf zu normalisieren und die niedrigste Basislinie zu erhalten. In den Algorithmus zur Basislinienbestimmung fließen auch Parameter aus der Methode und der Datendatei ein, die den Detektor und die Applikation beschreiben und zur Optimierung der Berechnung verwendet werden.

### Standard-Basislinienkonstruktion

Im einfachsten Fall konstruiert der Integrator die Basislinie als Folge gerader Liniensegmente zwischen folgenden Punkten:

- dem Anfang der Basislinie
- den Strichmarken
- dem Peakende

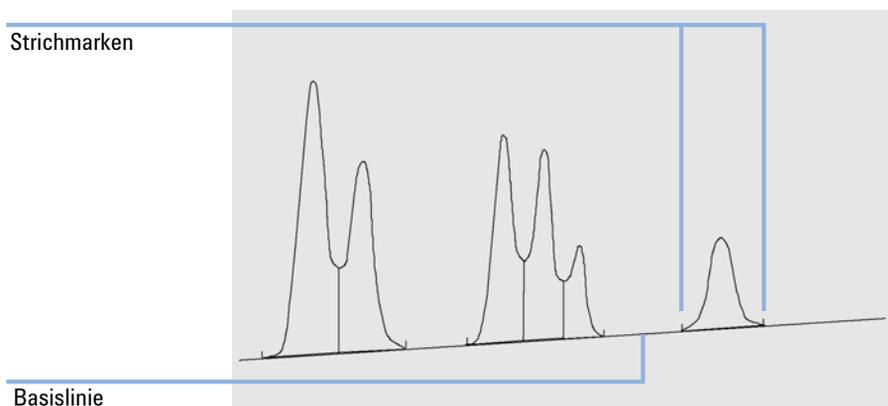


Abbildung 11 Standard-Basislinienkonstruktion

## Anfang der Basislinie

Wenn zu Beginn eines Analysenlaufs keine Basislinie gefunden wird, wird der Anfang der Basislinie auf eine der folgenden Weisen festgelegt:

- Vom Startpunkt der Analyse zum ersten Basislinienpunkt, wenn der Startpunkt der Analyse vor dem ersten Basislinienpunkt liegt
- Vom Startpunkt der Analyse zum ersten Talpunkt, wenn der Startpunkt der Analyse vor dem ersten Tal liegt
- Vom Startpunkt der Analyse zum ersten Talpunkt, wenn das erste Tal eine imaginäre Linie zwischen dem Startpunkt der Analyse und dem ersten Basislinienpunkt schneidet
- Vom Startpunkt der Analyse zu einer horizontalen Basislinie, die zum ersten Basislinienpunkt verlängert wird

## Strichmarken

Strichmarken kennzeichnen den Peakanfang und das Peakende. Ihre Position wird von den Zeiten für Peakanfang und Peakende vorgegeben, die in der Peaktabelle gespeichert sind.

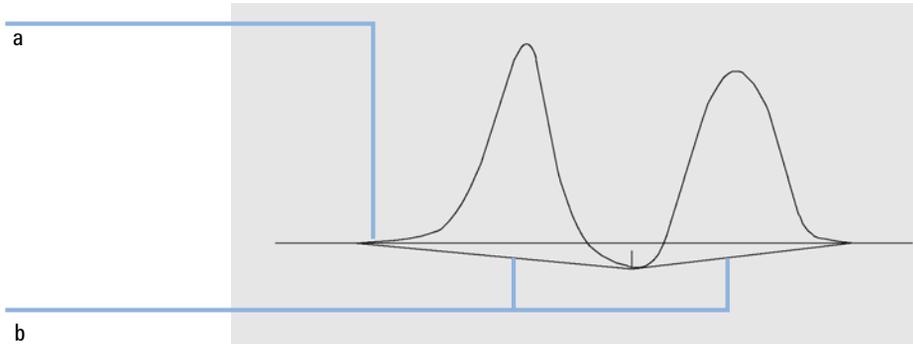
## Ende der Basislinie

Der letzte gültige Basislinienpunkt kennzeichnet das Ende der Basislinie. In den Fällen, in denen der Analysenlauf nicht auf der Basislinie endet, wird das Ende der Basislinie anhand des letzten gültigen Basislinienpunkts unter Berücksichtigung der ermittelten Basisliniendrift berechnet.

Wenn ein Peak in einem scheinbaren Tal endet, der folgende Peak aber unterhalb des festgelegten Schwellenwerts für die Fläche liegt, wird die Basislinie vom Peakanfang zum nächsten echten Basislinienpunkt gezogen. Wenn ein Peak auf ähnliche Weise beginnt, gelten die gleichen Regeln.

## Basislinienunterschreitung

Eine Unterschreitung geschieht, wenn das Signal unter die konstruierte Basislinie fällt (Punkt a in [Abbildung 12](#) auf Seite 96. Wenn eine Basislinienunterschreitung erfolgt, wird im Allgemeinen dieser Teil der Basislinie wie bei Punkt b in [Abbildung 12](#) auf Seite 96 behandelt.

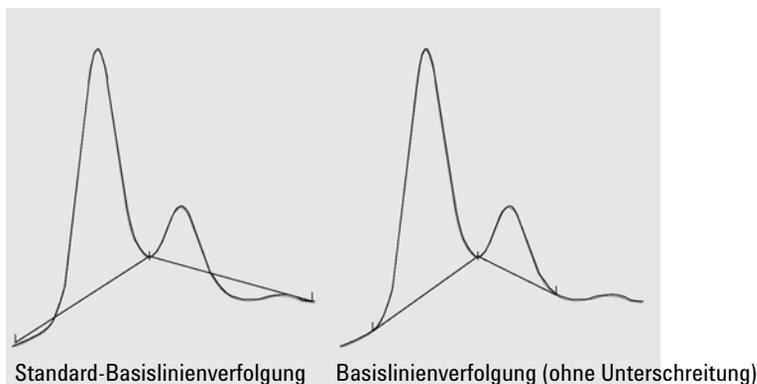


**Abbildung 12** Basislinienunterschreitung

Sie können die folgenden Basislinienoptionen verwenden, um alle Basislinienunterschreitungen zu entfernen:

### **Classical Baseline Tracking (no penetrations) (Klassische Basislinienverfolgung [keine Unterschreitung])**

Bei Auswahl dieser Option wird jede Peakgruppe nach einer Basislinienunterschreitung durchsucht. Wenn Unterschreitungen gefunden werden, werden Anfangs- und/oder Endpunkte der Peaks verschoben, bis keine Unterschreitung mehr vorliegt (siehe Basislinien in [Abbildung 12](#) auf Seite 96 und [Abbildung 13](#) auf Seite 97)



**Abbildung 13** Standard-Basislinienverfolgung und Basislinienverfolgung (keine Unterschreitung)

#### HINWEIS

Die Basislinienverfolgung (ohne Unterschreitung) ist für Lösungsmittelpeaks, ihre Nebenpeaks und Schultern nicht verfügbar.

### Erweiterte Basislinienverfolgung

Bei der erweiterten Verfolgung des Basislinienverlaufs versucht der Integrator, Peakanfang und Peakende zu optimieren, die Basislinie für eine Peakgruppe neu zu erstellen und Basislinienunterschreitungen zu beseitigen (siehe [Abbildung 12](#) auf Seite 96). In vielen Fällen liefert die erweiterte Basislinienverfolgung eine stabilere Basislinie, die weniger von der Steigungsempfindlichkeit abhängig ist.

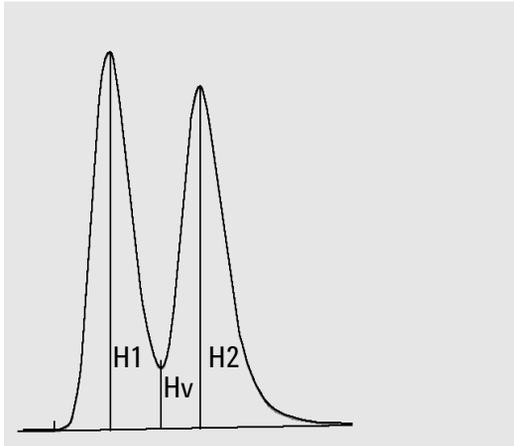
### Peak-zu-Tal-Verhältnis

Dieser benutzerdefinierte Parameter ist ein Bestandteil der erweiterten Basislinienverfolgung. Er entscheidet, ob zwei Peaks, die keine Basislinientrennung aufweisen, durch eine Basisliniensenkrechte oder eine Tal-Basislinie voneinander getrennt werden. Der Integrator berechnet das Verhältnis zwischen der basislinienkorrigierten Höhe des kleineren Peaks und der basislinienkorrigierten Höhe des Tals. Wenn der Peak-zu-Tal-Quotient kleiner als der benutzerdefinierte Wert ist, wird eine Basisliniensenkrechte verwendet. Ansonsten wird

## 4 Integration

### Basislinienbestimmung

die Basislinie vom Start des ersten Peaks zum Tal gezogen und dann vom Tal zur Basislinie am Ende des zweiten Peaks (vgl. [Abbildung 13](#) auf Seite 97 mit [Abbildung 14](#) auf Seite 98).



**Abbildung 14** Peak-zu-Tal-Verhältnis

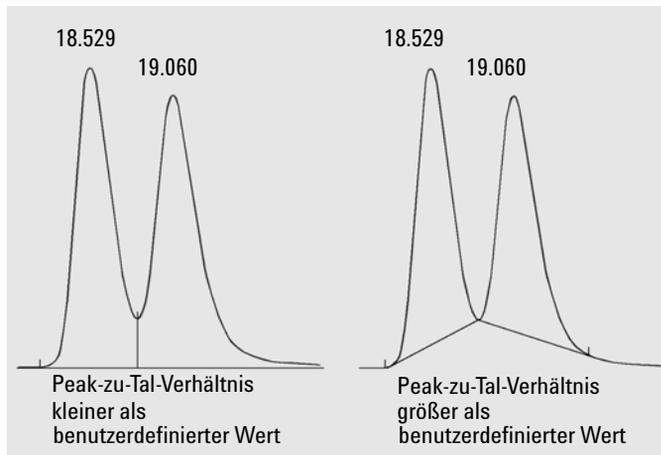
Das Peak-zu-Tal-Verhältnis wird durch folgende Gleichungen ermittelt:

$$H1 \geq H2, \text{ Peak-zu-Tal-Verhältnis} = H2/Hv$$

und

$$H1 < H2, \text{ Peak-zu-Tal-Verhältnis} = H1/Hv$$

[Abbildung 15](#) auf Seite 99 zeigt, wie der eingegebene Wert für das Peak-zu-Tal-Verhältnis die Basislinie beeinflusst.



**Abbildung 15** Auswirkung des Peak-zu-Tal-Verhältnisses auf die Basislinien

## Tangentiale Anpassung

Die tangentiale Anpassung ist eine Möglichkeit der Basislinienkonstruktion für Peaks, die auf der ansteigenden oder abfallenden Flanke eines Peaks erscheinen. Wenn die tangentiale Anpassung aktiviert ist, stehen vier Modelle zur Berechnung der entsprechenden Peakflächen zur Verfügung:

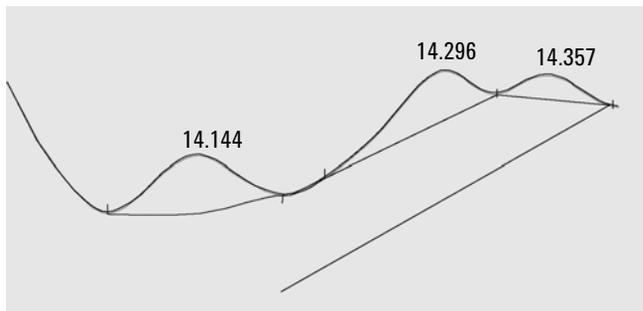
- Exponentielle Kurvenanpassung
- Neue exponentielle Anpassung
- Geradenanpassung
- Kombination aus einer exponentiellen und einer Geradenberechnung für beste Übereinstimmung (Standardanpassungen)

### Exponentielle Kurvenanpassung

Dieses Anpassungsverfahren zeichnet eine Kurve mittels einer exponentiellen Gleichung durch Anfang und Ende des Nebenpeaks (die Anfangshöhe des Nebenpeaks ist um die Peaksteigung des Hauptpeaks korrigiert). Die Kurve verläuft unter jedem Nebenpeak, der dem Hauptpeak folgt. Die Fläche unter der Anpassungskurve wird vom Nebenpeak subtrahiert und zum Hauptpeak addiert (siehe [Abbildung 17](#) auf Seite 100).

## 4 Integration

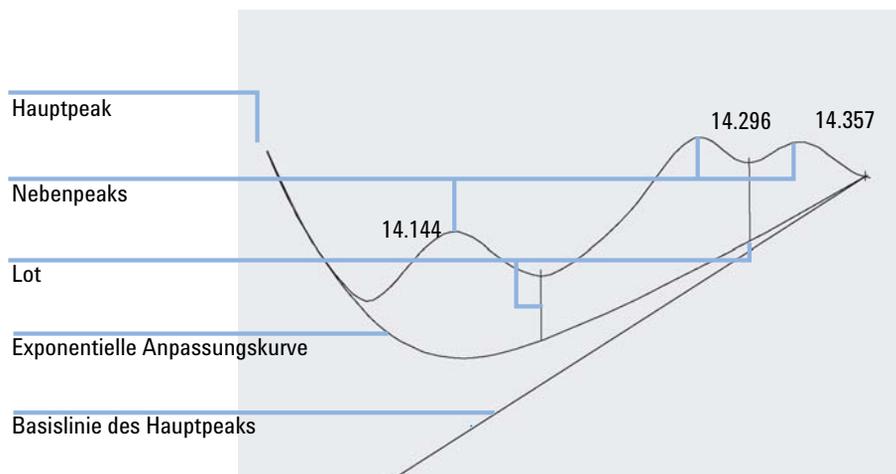
### Basislinienbestimmung



**Abbildung 16** Exponentielle Anpassung

### Neue exponentielle Kurvenanpassung

Dieses Anpassungsverfahren zeichnet eine Kurve mittels einer exponentiellen Gleichung durch den ansteigenden Beginn oder das abfallende Ende eines Hauptpeaks. Die Kurve verläuft unter einem oder mehreren Peaks, die dem Hauptpeak folgen (Nebenpeaks). Die Fläche unter der Anpassungskurve wird von den Nebenpeaks subtrahiert und zum Hauptpeak addiert. Es kann mehr als ein Nebenpeak mit dem gleichen exponentiellen Modell angepasst werden. Alle Peaks nach dem ersten Nebenpeak werden mittels Basisliniensenkrechte getrennt, wobei die Senkrechte nur bis zur Anpassungskurve geht (siehe [Abbildung 17](#) auf Seite 100).



**Abbildung 17** Neues Verfahren der exponentiellen Anpassung

## Geradenanpassung

Dieses Anpassungsverfahren zeichnet eine gerade Linie durch Anfang und Ende des Nebenpeaks. Die Höhe zu Beginn des Nebenpeaks wird um die Steigung des Hauptpeaks korrigiert. Die Fläche unter der geraden Linie wird vom Nebenpeak subtrahiert und zum Hauptpeak addiert (siehe [Abbildung 18](#) auf Seite 101).

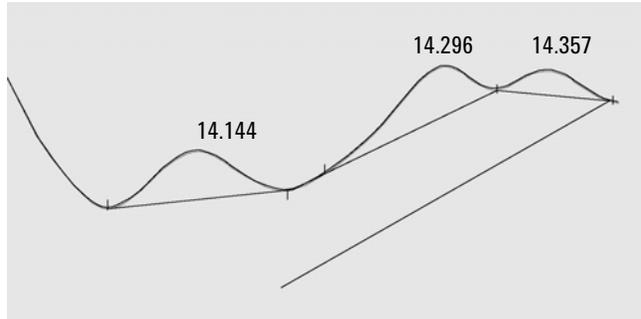


Abbildung 18 Geradenanpassung

## Standardanpassungen

Die geeignete Berechnung wird für eine bestimmte Anwendung festgelegt. Die Standardeinstellung ist die Kombination aus exponentieller und Geradenberechnung für die beste Übereinstimmung.

Der Wechsel von der exponentiellen zur Geradenberechnung wird so vollzogen, dass eine plötzliche Diskontinuität der Höhen oder Flächen ausgeschlossen ist.

- Wenn ein Signal weit über der Basislinie liegt, wird zur Berechnung des Tailings die Exponentialfunktion verwendet.
- Wenn sich das Signal innerhalb des Basislinienbereichs befindet, wird zur Berechnung des Tailings die Geradenfunktion verwendet.

Die kombinierten Berechnungen gehen in den Report als exponentielle oder tangentielle Anpassung ein.

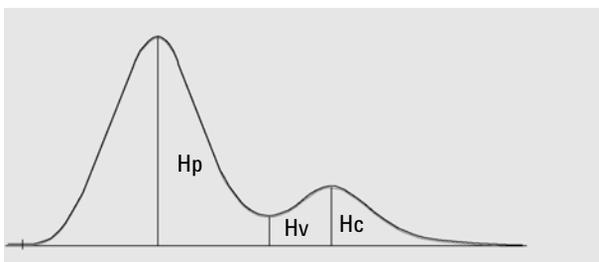
## Anpassungskriterien

Ob zur Berechnung der Fläche des Nebenpeaks auf der abfallenden Flanke des Hauptpeaks eine Geradenanpassung verwendet wird, wird durch zwei Kriterien festgelegt:

- Verhältnis Peakhöhe-Hauptpeak zu Peakhöhe-Nebenpeak
- Tal-zu-Höhe-Verhältnis

Diese Kriterien werden nicht verwendet, wenn ein zeitgesteuertes Ereignis für eine exponentielle Anpassung aktiv ist, oder wenn der Hauptpeak selber ein Nebenpeak ist. Der Trenncode zwischen Hauptpeak und Nebenpeak muss vom Typ **Valley** sein.

**Tail Skim Height Ratio** ist das Verhältnis der basislinienkorrigierten Höhe des Hauptpeaks ( $H_p$  in [Abbildung 19](#) auf Seite 102) zur basislinienkorrigierten Höhe des Nebenpeaks ( $H_c$ ). Dieses Verhältnis muss größer sein als der angegebene Wert für den anzupassenden Nebenpeak.



**Abbildung 19** Anpassungskriterien

Sie können die exponentielle Anpassung für den ganzen Analysenlauf deaktivieren, indem Sie den Wert des Verhältnisses Peakhöhe-Hauptpeak zu Peakhöhe-Nebenpeak auf einen hohen Wert oder auf Null setzen.

**Valley Height Ratio** ist das Verhältnis der Höhe des Nebenpeaks über der Basislinie ( $H_c$  in [Abbildung 19](#) auf Seite 102) zur Höhe des Tals über der Basislinie ( $H_v$  in gleicher Abbildung). Dieses Verhältnis muss kleiner sein als der angegebene Wert für den anzupassenden Nebenpeak.

### Berechnung der exponentiellen Kurvenanpassung für die Anpassungen

Zur Berechnung der exponentiellen Kurvenanpassung wird folgende Gleichung verwendet (siehe [Abbildung 22](#) auf Seite 104):

$$H_b = H_o \times \exp(-B \times (Tr - To)) + A \times Tr + C$$

wobei

$H_b$  = Höhe der exponentiellen Anpassung zum Zeitpunkt  $Tr$

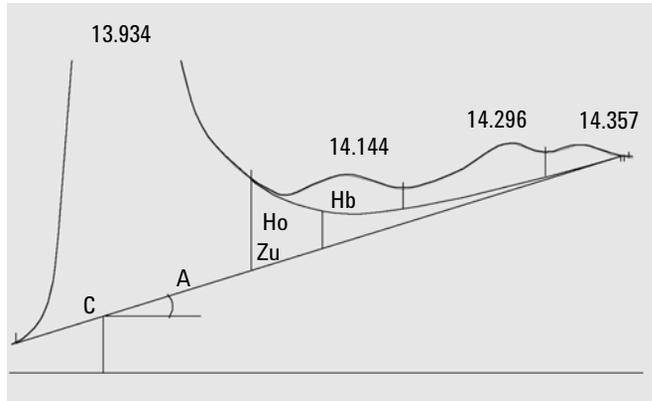
$H_o$  = Höhe (oberhalb der Basislinie) zu Beginn der exponentiellen Anpassung

$B$  = Abklingfaktor der Exponentialfunktion

$T_0$  = Zeit für den Beginn der exponentiellen Anpassung

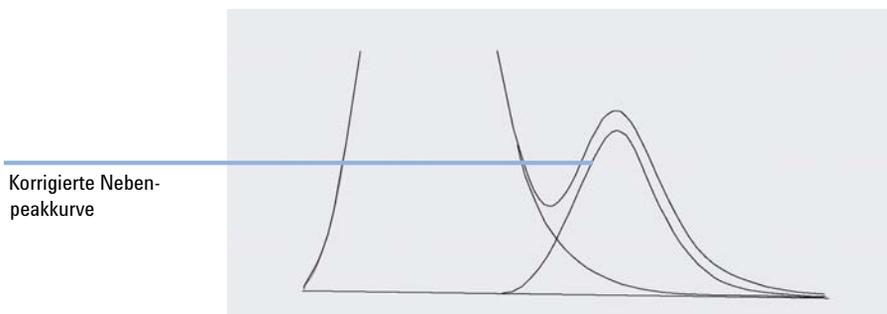
$A$  = Steigung der Basislinie des Hauptpeaks

$C$  = Offset der Basislinie des Hauptpeaks



**Abbildung 20** Verwendete Werte zur Berechnung der exponentiellen Anpassung

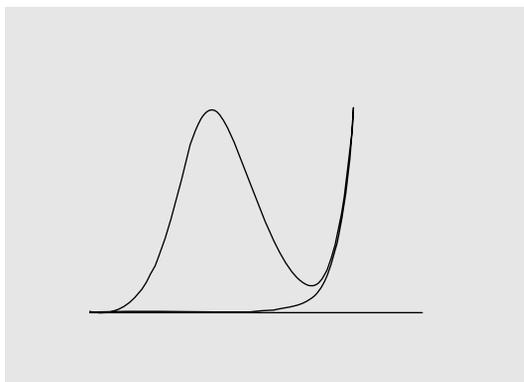
Das exponentielle Modell wird angepasst an den Teil der abfallenden Flanke des Hauptpeaks unmittelbar vor dem ersten Nebenpeak. [Abbildung 21](#) auf Seite 103 zeigt die korrigierte Kurve eines Nebenpeaks nach tangentialer Anpassung.



**Abbildung 21** Tail-korrigierter Nebenpeak

### Peakanpassung im Anstieg

Wie bei den Nebenpeaks auf der absteigenden Flanke eines Hauptpeaks ist auch für Peaks auf der ansteigenden Flanke eines Hauptpeaks eine besondere Integration erforderlich, siehe [Abbildung 22](#) auf Seite 104.



**Abbildung 22** Vordere Peakanpassung

Die Peakanpassung im Anstieg wird genau so behandelt wie die Peakanpassung auf der absteigenden Flanke. Es werden die gleichen Anpassungsmodelle verwendet.

Die Anpassungskriterien sind:

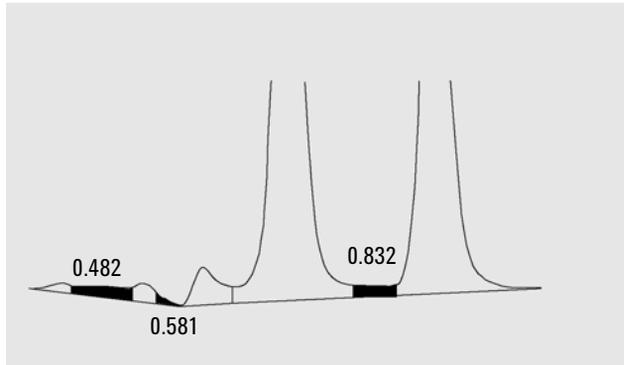
- Verhältnis Peakhöhe Hauptpeak und Peakhöhe Nebenpeak auf der Vorderseite
- Tal-zu-Höhe-Verhältnis

Der Tal-Höhen-Quotient nimmt dieselben Werte bei der Anpassung von ansteigender und absteigender Flanke an (siehe "Tal-Höhen-Quotient"). Der Höhen-Quotient der Anpassung im Anstieg wird ebenso berechnet wie der angepasste Höhen-Quotient (siehe "Höhen-Quotient"), kann aber unterschiedliche Werte annehmen.

### Nicht zugeordnete Peaks

Einige Basislinienführungen ergeben kleine Flächen zwischen der Basislinie und dem Signal, die jedoch keinem bekannten Peak zugeordnet werden können. Solche Flächen werden normalerweise weder gemessen noch im Report

aufgeführt. Wenn die Funktion aktiviert ist, werden diese Flächen gemessen und im Report als "Unassigned Peaks" (Nicht zugeordnete Peaks) aufgeführt. Als Retentions-/Migrationszeit solcher Flächen wird die Mitte zwischen Anfang und Ende der Fläche angegeben, siehe [Abbildung 23](#) auf Seite 105.



**Abbildung 23** Nicht zugeordnete Peaks

## Peak-Trenncodes

Jedem Peak wird im Report ein Code aus zwei, drei oder vier Zeichen zugeordnet, der beschreibt, wie die Basislinie gezogen worden ist.

### Buchstabe 1 und 2

Der erste Buchstabe beschreibt die Basislinie am Peakanfang, der zweite die Basislinie am Peakende.

- B** Der Peak beginnt oder endet auf der Basislinie.
- V** Der Peak beginnt oder endet mit einer Basisliniensenkungen im Tal.
- P** Der Peak beginnt oder endet bei einer Basislinienunterschreitung.
- H** Der Peak beginnt oder endet mit einer erzwungenen horizontalen Basislinie.
- F** Der Peak beginnt oder endet mit einem erzwungenen Punkt.
- M** Der Peak wurde manuell integriert.
- U** Der Peak war nicht zugeordnet.

Zusätzliche Markierungen können noch hinzugefügt werden (in der Reihenfolge der Wichtigkeit):

### **Buchstabe 3**

- D** Der Peak ist verzerrt.
- A** Die Integration wurde abgebrochen.
- U** Eine Bereichsunterschreitung ist aufgetreten.
- O** Eine Bereichsüberschreitung ist aufgetreten.

### **4. Zeichen**

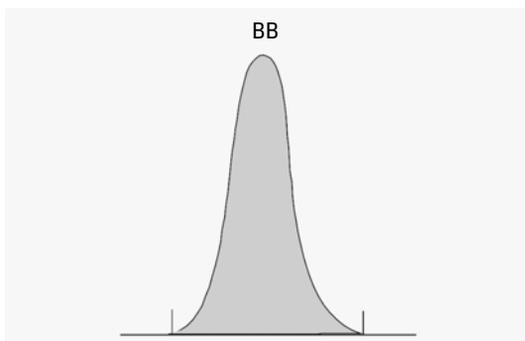
Das 4. Zeichen beschreibt den Peaktyp:

- S** Der Peak ist ein Lösungsmittelpeak.
- N** Der Peak ist ein negativer Peak.
- +** Der Peak ist ein flächensummierter Peak.
- T** Ein Peak mit tangentialer Anpassung (Standardanpassung).
- X** Ein Peak mit tangentialer Anpassung (altes exponentielles Verfahren).
- E** Ein Peak mit tangentialer Anpassung (neues exponentielles Verfahren).
- m** Peak mit manueller Basislinie.
- n** Negativer Peak mit manueller Basislinie.
- t** Peak mit tangentialer Anpassung bei manueller Basislinie.
- R** Der Peak ist ein neu berechneter Lösungsmittelpeak.
- f** Peak nach Tangente an einer Schulter im Anstieg.
- b** Peak nach Tangente an einer Schulter im Abstieg.
- F** Peak nach Basisliniensenkrechter an einer Schulter im Anstieg.
- B** Peak nach Basisliniensenkrechter an einer Schulter im Abstieg.
- U** Der Peak ist nicht zugeordnet.

## Peakflächenberechnung

Der letzte Schritt einer Integration ist das Ermitteln der Peakfläche.

Peakflächen werden aus dem Inhalt der Datei mit den Schlüsselpunkten ermittelt. Schlüsselpunkte sind Punkte, die der Integrator zur Definition und Quantifizierung eines Peaks verwendet (siehe [“Identifizierung der Schlüsselpunkte eines Peaks”](#) auf Seite 80). Darin sind Basislinienpunkte, Talpunkte, Peakmaxima und Punkte in halber Peakhöhe enthalten. Schlüsselpunkte besitzen eine horizontale Koordinate für die verstrichene Zeit und eine vertikale Koordinate für die Höhe von der Basislinie, sowie andere Parameter, die der Integrator zur Berechnung der Flächen benötigt.



**Abbildung 24** Flächenberechnung bei Basislinie-zu-Basislinie-Peaks

Im Falle eines einfachen, isolierten Peaks wird die Peakfläche durch die aufsummierten Flächen oberhalb der Basislinie zwischen Peakanfang und Peakende (gekennzeichnet durch die Strichmarken) ermittelt.

## Flächenberechnung

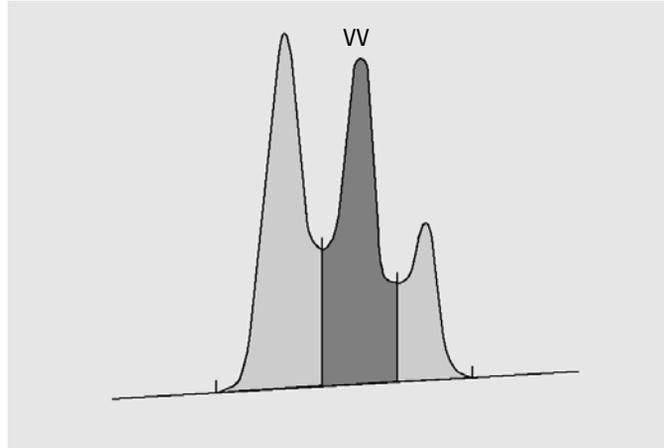
Die Fläche, die der Integrator während der Integration berechnet, ergibt sich wie folgt:

- Bei Basislinie-zu-Basislinie-Peaks (BB) ist dies die Fläche oberhalb der Basislinie zwischen den Strichmarken, siehe [Abbildung 24](#) auf Seite 107

## 4 Integration

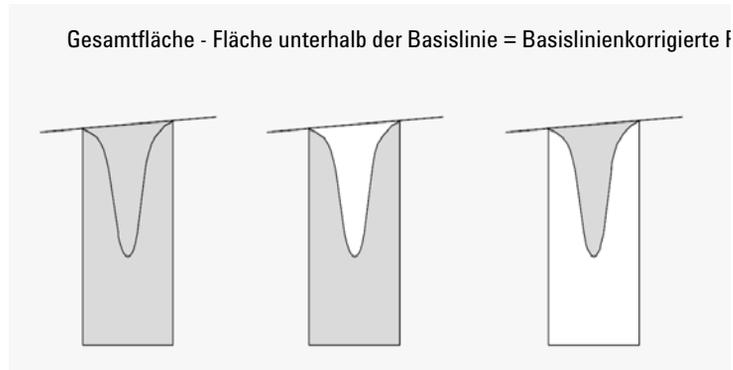
### Peakflächenberechnung

- Bei Tal-zu-Tal-Peaks (VV) ist dies die Fläche oberhalb der Basislinie, eingegrenzt durch vertikal gefällte Linien von den Strichmarken, siehe [Abbildung 25](#) auf Seite 108



**Abbildung 25** Flächenberechnung bei Tal-zu-Tal-Peaks

- Bei Tangentenpeaks (T) die Fläche oberhalb der neu gesetzten Basislinie
- Bei Lösungsmittelpeaks (S) die Fläche oberhalb der horizontalen Verlängerung des letzten Basisliniepunktes und unterhalb der neu gesetzten Basislinie nach Tangentenpeaks (T) Ein Lösungsmittelpeak kann auch zu langsam ansteigen, um als solcher erkannt zu werden, oder es kann in einem Analysenlauf auch eine Peakgruppe geben, die Sie als Lösungsmittel mit aufgesetzten Peaks behandeln wollen. Dies ist normalerweise eine Gruppe mit überlappenden Peaks, bei denen der erste wesentlich größer als der Rest ist. Eine einfache Basisliniensenkrechte würde die späteren Peaks überbewerten, da sie auf der abfallenden Flanke des ersten Peaks sitzen. Indem der erste Peak als Lösungsmittelpeak deklariert wird, können die restlichen Peaks vom Tail abgetrennt werden.
- Negative Peaks unterhalb der Basislinie erhalten eine positive Fläche, wie in [Abbildung 26](#) auf Seite 109 gezeigt.



**Abbildung 26** Flächenberechnung bei negativen Peaks

## Einheiten und Umrechnungsfaktoren

Von außen betrachtet bestehen die Daten aus einer Reihe von Datenpunkten. Dabei kann es sich um gemessene Daten oder integrierte Daten handeln. Bei integrierten Daten entspricht jeder Datenpunkt einer Fläche, die als *Höhe x Zeit* angegeben wird. Bei gemessenen Daten entspricht jeder Datenpunkt einer Höhe.

Daher ist im Falle der integrierten Daten die Höhe eine berechnete Größe, die man durch Division der Fläche durch die seit dem letzten Datenpunkt verstrichene Zeit erhält. Im Falle der erfassten Daten wird die Fläche durch Multiplikation des Messwerts mit der seit dem letzten Datenpunkt verstrichenen Zeit berechnet.

Bei der Integrationsberechnung werden beide Größen verwendet. Im Integrator werden intern folgende Einheiten verwendet: *Anzahl x Millisekunden* für die Fläche und *Anzahl* für die Höhe. Hierdurch wird bei Bedarf eine gemeinsame Basis für Integerkürzungen geschaffen. Die Messungen von Zeit, Fläche und Höhe werden in echten physikalischen Einheiten ausgewiesen, unabhängig davon, wie sie von der Software gemessen, berechnet und gespeichert werden.

## Integrationsereignisse

Der Integrator stellt dem Benutzer mehrere anfängliche und zeitgesteuerte Integratorereignisse zur Verfügung. Viele Ereignisse sind Ein/Aus- und Start/Stopp-Paare.

### Anfangsereignisse

- Anfangspeakbreite** Die **initial peak width** bestimmt die interne Peakbreite des Integrators für den Analysenstart. Diese Anfangspeakbreite dient dazu, die Größe des Steigungszählers für die Erkennung von Peaksteigung, Peakabfall und Tailing festzulegen. Der Integrator kann diesen Wert im Laufe der Analyse aktualisieren, um die Integration zu optimieren. Die Peakbreite wird vom Benutzer als die Anzahl an Zeiteinheiten angegeben, die der Peakbreite auf halber Höhe des ersten Peaks entspricht (den Lösungsmittelpeak ausgenommen).
- Steigungsempfindlichkeit** Die **slope sensitivity** ist die Einstellung für die Peakempfindlichkeit. Diese Einstellung ändert sich linear.
- Schwellenwert für die Höhe** **Height reject** gibt die Mindesthöhe eines Peaks an. Jeder Peak, der kleiner als dieses Minimum ist, wird nicht als Peak registriert.
- Schwellenwert für die Fläche** **Area reject** gibt die Mindestfläche eines Peaks an. Jeder Peak, der eine kleinere Fläche als dieses Minimum hat, wird nicht als Peak registriert.
- Schultererkennung** Wenn die **shoulder detection** aktiviert ist, erkennt der Integrator Schultern anhand der Krümmung des Peaks, die durch die zweite Ableitung gegeben ist. Wenn die Krümmung gegen Null geht, wertet der Integrator diesen Wendepunkt als möglichen Anfang einer Schulter. Wenn der Integrator vor dem Peakmaximum einen weiteren Wendepunkt findet, ist die Schulter identifiziert.

### Peakbreite

Die Einstellung der Peakbreite bestimmt die Selektivität des Integrators, um zwischen Peaks und Basislinienrauschen zu unterscheiden. Die Peakbreite sollte für eine optimale Leistung ähnlich der tatsächlichen Breite in halber

Höhe der chromatographischen/elektropherographischen Peakbreite eingestellt sein. Der Integrator kann diesen Wert im Laufe der Analyse aktualisieren, um die Integration zu optimieren.

### Peakbreite auswählen

Wählen Sie die Einstellung so, dass möglichst kein Rauschen als Peak interpretiert wird, ohne dass ein Informationsverlust auftritt.

- Zur Auswahl einer akzeptablen Anfangspeakbreite für einen einzelnen Peak nehmen Sie die Peakbreite in Zeiteinheiten als Ausgangspunkt.
- Zur Auswahl einer akzeptablen Anfangspeakbreite bei mehreren Peaks nehmen Sie für eine optimale Peakselektivität einen Wert, der gleich oder kleiner als die kleinste Peakbreite ist.

Wenn die gewählte Anfangspeakbreite zu klein ist, kann Rauschen als Peaks interpretiert werden. Wenn breite und schmale Peaks vermischt auftreten, können Sie durch die Programmierung von laufzeitgesteuerten Ereignissen die Peakbreite für bestimmte Peaks festlegen. Gelegentlich können die Peaks im Analysenverlauf deutlich breiter werden, beispielsweise bei der isothermen GC- und der isokratischen LC-Analyse. Um dies auszugleichen, vergibt der Integrator automatisch neue Werte für die Peakbreite, während die Peaks im Verlauf einer Analyse breiter werden, es sei denn, dass die Funktion deaktiviert ist oder mit einem zeitgesteuerten Ereignis verwendet wird.

Die Aktualisierung der Peakbreite wird wie folgt gewichtet:

$$0,75 \times (\text{bestehende Peakbreite}) + 0,25 \times (\text{aktuelle Peakbreite})$$

Wenn ein zeitgesteuertes Integrationsereignis die Peakbreite auf einen bestimmten Wert setzt oder diese deaktiviert, wird die automatische Peakbreitenanpassung deaktiviert.

### Schwellenwert für die Höhe und Peakbreite

Sowohl die **peak width** als auch der **height reject** sind für den Integrationsvorgang sehr wichtig. Sie können durch Veränderung dieser Werte unterschiedliche Ergebnisse erhalten.

- Erhöhen Sie den Schwellenwert für die Höhe und die Peakbreite, wenn Sie Hauptbestandteile in einer stark verrauschten Umgebung bestimmen müssen. Eine größere Peakbreite verbessert die Filterung des Rauschens und ein größerer Schwellenwert für die Höhe unterdrückt zufälliges Rauschen.

- Verringern Sie den Schwellenwert für die Höhe und die Peakbreite, um Spurenkomponten zu bestimmen, deren Höhe im Bereich des Rauschens liegt. Eine Verringerung der Peakbreite vermindert die Signalfilterung, während die Verringerung des Schwellenwerts für die Höhe sicherstellt, dass kleine Peaks nicht wegen geringer Höhe zurückgewiesen werden.
- Wenn eine Analyse Peaks mit unterschiedlichen Peakbreiten enthält, stellen Sie die Peakbreite nach dem engsten Peak ein und reduzieren Sie den Schwellenwert für die Höhe so, dass die breiten Peaks nicht wegen ihrer geringeren Höhe ignoriert werden.

### Optimierung der Integration

Es ist oftmals hilfreich, die Werte für Steigungsempfindlichkeit, Peakbreite und die Schwellenwerte für die Höhe und Fläche zu ändern, um eine benutzerdefinierte Integration durchzuführen.

Abbildung 27 auf Seite 112 zeigt, wie diese Parameter die Integration von fünf Peaks im Signal beeinflussen.

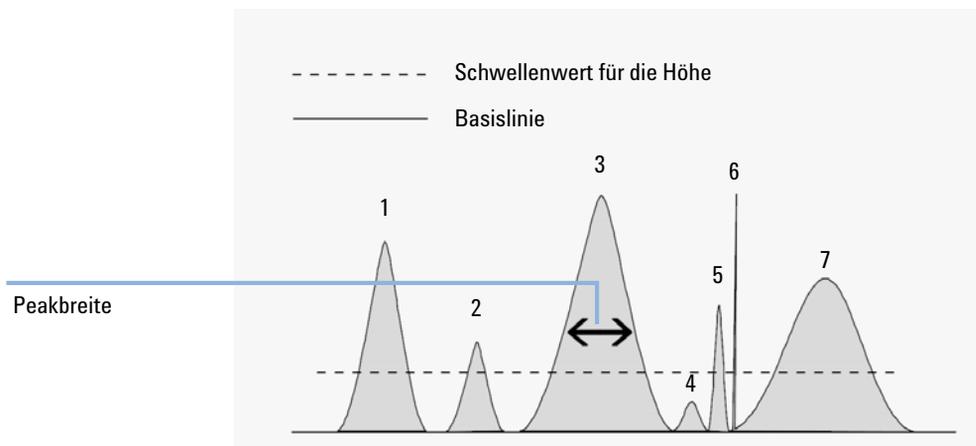


Abbildung 27 Anfangsereignisse verwenden

Ein Peak wird nur integriert, wenn die Bedingungen von allen vier Integrationsparametern erfüllt sind. Mit der Peakbreite für Peak 3, dem Schwellenwert für die Fläche und der Steigungsempfindlichkeit aus [Abbildung 27](#) auf Seite 112 werden nur die Peaks 1, 3, 5 und 7 integriert.

**Peak 1** wird integriert, da alle vier Integrationsparameter zutreffen.

- Peak 2** wird nicht integriert, da die Fläche kleiner als der Schwellenwert für die Fläche ist.
- Peak 3** wird integriert, da alle vier Integrationsparameter zutreffen.
- Peak 4** wird nicht integriert, da die Peakhöhe kleiner als der Schwellenwert für die Höhe ist.
- Peak 5** wird nicht integriert, da die Fläche kleiner als der Schwellenwert für die Fläche ist.
- Peak 6** wird nicht integriert, da Filtereinstellung und Bündelung den Peak unsichtbar machen.
- Peak 7** wird integriert.

**Tabelle 12** Schwellenwerte für die Höhe und Fläche

Integrationsparameter	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 4	Peak 5	Peak 7
Schwellenwert für die Höhe	Darüber	Darüber	Darüber	Darunter	Darüber	Darüber
Schwellenwert für die Fläche	Darüber	Darunter	Darüber	Darunter	Darunter	Darüber
Peak integriert	Ja	Nein	Ja	Nein	Nein	Ja

## Zeitgesteuerte Ereignisse

Sie können die Konstruktion der Basislinie mit zeitgesteuerten Ereignissen anpassen, wenn die standardmäßige Konstruktion nicht ausreicht. Diese Ereignisse können bei der Summierung von Peakflächen und zur Korrektur kurzfristiger und langfristiger Basislinienabweichungen sinnvoll sein. Weitere Informationen über Integrationsereignisse finden Sie unter [“Anfangsereignisse”](#) auf Seite 110.

## Automatische Integration

Die Funktion **Autointegrate** liefert die Anfangswerte für die Anfangsereignisse. Dies ist besonders hilfreich bei der Einführung neuer Methoden. Sie beginnen mit einer Standardtabelle für Integrationsereignisse, die keine zeitgesteuerten Ereignisse enthält. Anschließend können Sie dann mit den von der Funktion zur automatischen Integration vorgeschlagenen allgemeinen Einstellungen weiter optimieren.

### Funktionsprinzip

Die Funktion **Autointegrate** liest die Chromatogrammdaten und berechnet für jedes Signal im Chromatogramm die optimalen Werte für die anfänglichen Integrationsparameter.

Der Algorithmus untersucht 1 % am Anfang und Ende des Chromatogramms und bestimmt das Rauschen und die Steigung für diese Abschnitte. Das Rauschen wird als die 3-fache Standardabweichung der linearen Regression dividiert durch die Wurzel des Prozentanteils bei der Regression der verwendeten Datenpunkte bestimmt. Diese Werte werden für die Zuordnung geeigneter Werte für den Schwellenwert der Höhe und die Steigungsempfindlichkeit verwendet. Der Algorithmus ordnet dann der Peakbreite einen vorläufigen Wert zu, der abhängig von der Chromatogrammlänge 0,5 % bei LC und 0,3 % bis 0,2 % bei GC beträgt. Der anfängliche Schwellenwert für die Fläche wird auf null gesetzt, und es wird eine Testintegration gestartet. Dieser Test wird bei Bedarf unter Anpassung der Werte mehrere Male wiederholt, bis schließlich 5 Peaks erkannt werden oder eine Integration mit einem anfänglichen Schwellenwert für die Höhe von 0 gestartet wird. Die Testintegration wird beendet, wenn nach 10 Versuchen die obigen Bedingungen erfüllt sind.

Die Ergebnisse der Integration werden geprüft und die Peakbreite wird entsprechend den Peakbreiten der gefundenen Peaks angepasst, wobei die Anfangspeaks bevorzugt werden. Die Peaksymmetrie der ermittelten Peaks wird verwendet, um die Peaks mit einer Symmetrie zwischen 0,8 und 1,3 in die Peakbreitenberechnung aufzunehmen. Wenn nicht ausreichend symmetrische Peaks gefunden werden, wird dieser Grenzwert auf  $\text{minSymmetry}/1,5$  und  $\text{maxSymmetry} \times 1,5$  gelockert. Anschließend wird die Basislinie zwischen den Peaks untersucht, um die vorherigen Werte für den Schwellenwert für die Höhe und die Steigungsempfindlichkeit zu verbessern. Der Schwellenwert für die Fläche wird auf 90 % der kleinsten Fläche des bei der Testintegration gefundenen symmetrischsten Peaks eingestellt.

Das Chromatogramm wird dann mit diesen abschließenden Werten für die Integrationsparameter erneut integriert und die Ergebnisse der Integration werden gespeichert.

### **Parameter für die automatische Integration**

Die folgenden Parameter werden durch die Funktion zur automatischen Integration festgelegt:

- Anfangssteigungsempfindlichkeit
- Anfangshöhe
- Anfangspeakbreite
- Anfänglicher Schwellenwert für die Fläche

## Manuelle Integration

### Manuelle Integration

Dieser Integrationstyp ermöglicht Ihnen die Integration ausgewählter Peaks oder Peakgruppen. Mit Ausnahme des anfänglichen Schwellenwerts für die Fläche werden im Bereich der manuellen Integration die Software-Werte für Integrationsereignisse ignoriert. Wenn ein oder mehrere Peaks nach der manuellen Integration unterhalb des Schwellenwerts für die Fläche liegen, werden sie übergangen. Für die manuellen Integrationsereignisse werden absolute Zeitangaben verwendet. Sie kompensieren keine Signaldrift.

Die **Manual Integration** ermöglicht Ihnen die Definition von Peakstart und Peakende und die Einbeziehung der damit ermittelten Peakflächen in die Quantifizierung und Reporterstellung. Manuell integrierte Peaks werden in Reports mit dem Peak-Trenncode M markiert.

Die **Manual Integration** bietet folgende Möglichkeiten:

- |                              |   |
|------------------------------|---|
| <b>Basislinie zeichnen</b>   | <b>Draw Baseline</b> bestimmt, wo für einen Peak oder eine Peakgruppe die Basislinie verlaufen soll. Sie können außerdem angeben, ob die Peaks in dem gegebenen Bereich automatisch bei allen Talpunkten getrennt werden sollen.                |
| <b>Negative Peaks</b>        | <b>Negative Peaks</b> bestimmt, wann Flächen unterhalb der Basislinie als negative Flächen behandelt werden sollen. Sie können außerdem angeben, ob die Peaks in dem gegebenen Bereich automatisch bei allen Talpunkten getrennt werden sollen. |
| <b>Tangentiale Anpassung</b> | <b>Tangent Skim</b> berechnet die Flächen von Peaks, indem sie vom Hauptpeak tangential abgetrennt werden. Die Fläche des tangential abgetrennten Peaks wird von der Fläche des Hauptpeaks subtrahiert.   |
| <b>Peak teilen</b>           | <b>Split Peak</b> bestimmt einen Punkt, an dem ein Peak durch eine Basisliniensenk-rechte geteilt wird.   |
| <b>Peak(s) löschen</b>       | <b>Delete Peak(s)</b> löscht einen oder mehrere Peaks aus den Integrationsergebnissen.  |

## Peak-Trenncodes für manuell integrierte Peaks

Manuell integrierte Peaks werden im Integrationsreport mit dem Trenncode *MM* gekennzeichnet.

Falls vor dem manuell integrierten Peak ein Peak vorhanden ist, dessen Ende durch die manuelle Integration verändert wird, trägt er den Code *F* (für „forced“, erzwungen).

Ein Lösungsmittelpeak, der durch manuelle Integration beeinflusst wurde, zum Beispiel durch tangentielle Anpassung, trägt den Code *R* (für „re-calculated solvent“, neu berechneter Lösungsmittelpeak).

## Dokumentation manueller Integrationsereignisse

Manuelle Integrationsereignisse, z. B. eine manuell eingezeichnete Basislinie, sind noch datendateispezifischer als zeitgesteuerte Integrationsereignisse. Bei komplizierten Chromatogrammen ist es äußerst wünschenswert, diese Ereignisse für eine erneute Verarbeitung verwenden zu können. Daher werden ab ChemStation B.04.01 manuelle Integrationsereignisse nicht mehr mit der Methode, sondern direkt mit der Datendatei gespeichert.

Bei jeder Überprüfung oder erneuten Verarbeitung der Datendatei werden automatisch diese manuellen Ereignisse aus der Datendatei angewendet. Wenn für einen Analysenlauf manuelle Integrationsereignisse verwendet werden, wird dies in der entsprechenden Spalte der **Navigation Table** gekennzeichnet.

Zusätzlich zu den Funktionen zur manuellen Basislinienerstellung und zum Löschen von Peaks bietet die Benutzeroberfläche drei weitere Funktionen zum

- Speichern manueller Ereignisse des aktuellen Chromatogramms in der Datendatei
- Entfernen aller Ereignisse aus dem aktuellen Chromatogramm
- Widerrufen der letzten manuellen Integrationsereignisse (möglich bis zur Speicherung des Ereignisses).

Bei der weiteren Überprüfung der nächsten Datendatei in der **Navigation Table** prüft die ChemStation auf ungesicherte manuelle Integrationsergebnisse und fragt, ob der Benutzer diese Ereignisse sichern möchte.

Die manuellen Ereignisse, die bei der Überprüfung mittels der **Navigation Table** in der Datendatei gespeichert wurden, beeinflussen nicht die manuellen Integrationsereignisse, die während der Überprüfung im **Batch** gespeichert wurden. Diese beiden Verfahren zur Überprüfung sind bezüglich der manuellen Ereignisse der Datendatei vollständig getrennt.

In den ChemStation Versionen vor B.04.01 sind die manuellen Integrationsereignisse in den Methoden und nicht in den jeweiligen Datendateien gespeichert. In der Version B.04.01 kann diese Arbeitsweise weiterhin angewandt werden. Im Menü **Integration** in der Ansicht **Data Analysis** befinden sich zur Bearbeitung der manuellen Integrationsereignisse in der Methode folgende Funktionen:

- **Update Manual Events of Method:** Speichern der neu erstellten manuellen Ereignisse in der Methode.
- **Apply Manual Events from Method:** Anwendung der aktuell gespeicherten manuellen Ereignisse aus der Methode auf die geladene Datendatei.
- **Remove Manual Events from Method:** Löschen der manuellen Ereignisse in der Methode.

Um die manuellen Ereignisse von der Speicherung in der Methode in die Speicherung in der Datendatei umzuwandeln, müssen die Ereignisse aus der Methode angewendet und die Ergebnisse in der Datendatei gespeichert werden. Bei Bedarf können die Ereignisse dann in der Methode gelöscht werden.

Falls das Kontrollkästchen **Manual Events** in der **Integration Events Table** der Methode ausgewählt ist, werden die manuellen Ereignisse der Methode immer angewendet, wenn eine Datendatei mit dieser Methode geladen wird. Wenn die Datendatei zusätzliche manuelle Ereignisse enthält, werden diese nach den Ereignissen aus der Methode angewendet. Wenn das Kontrollkästchen **Manual Events** markiert ist, werden die Benutzer nicht zur Speicherung der Ereignisse in der Datendatei aufgefordert.

Um die manuellen Ereignisse von der Speicherung in der Methode in die Speicherung in der Datendatei umzuwandeln, müssen die Ereignisse aus der Methode angewendet und die Ergebnisse in der Datendatei gespeichert werden. Sie können die Ereignisse nun aus der Methode löschen.

Falls das Kontrollkästchen **Manual Events** in der **Integration Events Table** der Methode ausgewählt ist, werden die manuellen Ereignisse der Methode immer angewendet, wenn eine Datendatei mit dieser Methode geladen wird. Wenn die Datendatei zusätzliche manuelle Ereignisse enthält, werden diese nach den

Ereignissen aus der Methode angewendet. Wenn das Kontrollkästchen **Manual Events** markiert ist, werden die Benutzer nicht zur Speicherung der Ereignisse in der Datendatei aufgefordert.

### **Konvertierung der manuellen Integrationsereignisse, die in einer Methode gespeichert sind**

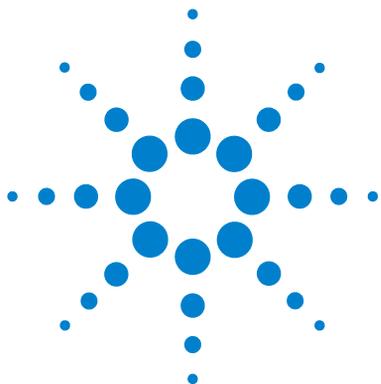
In den ChemStation Versionen vor B.04.01 sind die manuellen Integrationsereignisse in den Methoden und nicht in den jeweiligen Datendateien gespeichert. Um die manuellen Ereignisse in Datendateien zu speichern, wurde üblicherweise die individuelle Methode DA.M jeder einzelnen Datendatei verwendet.

Das Menü **Integration** in der Ansicht **Data Analysis** bietet die Möglichkeit, entweder die manuellen Integrationsereignisse aus der Methode in der Datendatei zu speichern oder weiterhin mit den manuellen Ereignissen in der Methode zu arbeiten:

- **Update Manual Events of Method:** Speichern der neu erstellten manuellen Ereignisse in der Methode.
- **Apply Manual Events from Method:** Anwendung der aktuell gespeicherten manuellen Ereignisse aus der Methode auf die geladene Datendatei.
- **Remove Manual Events from Method:** Löschen der manuellen Ereignisse in der Methode.

## **4 Integration**

### **Manuelle Integration**



## 5 Quantifizierung

Was ist Quantifizierung?	122
Berechnungsmethoden in der Quantifizierung	123
Korrekturfaktoren	124
Absoluter Responsefaktor	124
Multiplikator	124
Verdünnungsfaktor	124
Probenmenge	125
Nicht kalibrierte Berechnungsverfahren	126
Area% und Height%	126
Kalibrierte Berechnungsverfahren	127
ESTD-Berechnung	128
Norm%-Berechnung	131
ISTD-Berechnung	132
Analysenlauf 1: Kalibrierung	133
Analysenlauf 2: Unbekannte Probe	134
ISTD-Berechnung für kalibrierte Peaks	134
ISTD-Berechnung nicht kalibrierter Peaks	135

Dieses Kapitel beschreibt die Quantifizierung mit der ChemStation. Area%-, Height% und Norm%-Berechnungen, ESTD- und ISTD-Berechnungen sowie die Quantifizierung nicht identifizierter Peaks werden ausführlich beschrieben.



## Was ist Quantifizierung?

Nach Integration und Identifizierung der Peaks ist die Quantifizierung der nächste Analysenschritt. Bei der Quantifizierung wird mithilfe der Peakfläche oder Peakhöhe die Konzentration einer Substanz in einer Probe ermittelt.

Eine quantitative Analyse besteht aus mehreren Schritten, die wie folgt zusammengefasst werden können:

- Die zu analysierende Substanz muss bekannt sein.
- Es muss eine Methode zur Analyse von Proben mit dieser Substanz vorhanden sein.
- Es müssen eine oder mehrere Proben mit bekannter Konzentration dieser Substanz analysiert werden, um deren Response zu ermitteln.

Alternativ können auch mehrere Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen der untersuchten Substanzen analysiert werden, falls Ihr Detektor einen nicht linearen Response aufweist. Dieser Vorgang wird als *mehrstufige Kalibrierung* bezeichnet.

- Es wird eine Probe mit der unbekanntem Konzentration der Substanz analysiert, um einen der Konzentration entsprechenden Response zu erhalten.
- Der Vergleich der Responsewerte der unbekanntem Konzentration mit den Responsewerten der bekannten Konzentration ergibt die Konzentration der Substanz in der unbekanntem Probe.

Für einen korrekten Vergleich der Responsewerte der unbekanntem Probe mit der bekannten Probe müssen die Daten unter identischen Bedingungen erfasst und verarbeitet werden.

## Berechnungsmethoden in der Quantifizierung

Die ChemStation bietet folgende Berechnungsmöglichkeiten zur Konzentrationsbestimmung der Substanz einer Mischung:

- Prozentualer Anteil
- Normalisierung
- Externer Standard (ESTD)
- ESTD%
- Interner Standard (ISTD)
- ISTD%

Die Berechnungen zur Konzentrationsbestimmung einer Substanz in einer unbekannt Probe hängen vom Typ der Quantifizierung ab. Jede Berechnungsmethode verwendet Peakfläche oder Peakhöhe, erzeugt jedoch einen unterschiedlichen Report.

## Korrekturfaktoren

Zur quantitativen Berechnung werden vier verschiedene Korrekturfaktoren eingesetzt: *absoluter Responsefaktor*, *Multiplikator*, *Verdünnungsfaktor* und *Probenmenge*. Diese Faktoren werden bei Kalibrierungen zur Korrektur von Detektorresponse-Abweichungen bei unterschiedlichen Probensubstanzen, Konzentrationen, Probenverdünnungen und Probenmengen sowie zur Umrechnung von Konzentrationseinheiten verwendet.

### Absoluter Responsefaktor

Der absolute Responsefaktor einer Substanz ist definiert als Quotient der Substanzmenge und der gemessenen Fläche oder Höhe des Substanzpeaks bei der Analyse einer Kalibrierungsmischung. Der absolute Responsefaktor wird stets bei Kalibrierberechnungen verwendet und korrigiert den Detektorresponse für einzelne Probenbestandteile.

### Multiplikator

Der Multiplikator wird in jeder Berechnungsformel zur Multiplikation des Ergebnisses für jede Komponente verwendet. Multiplikatoren können dazu eingesetzt werden, Konzentrationseinheiten in Mengeneinheiten umzurechnen.

### Verdünnungsfaktor

Der Verdünnungsfaktor ist eine Zahl, mit der alle Ergebnisse multipliziert werden, bevor der Report gedruckt wird. Sie können den Verdünnungsfaktor zur Einheitenumrechnung der Ergebnisse oder zur Korrektur von Konzentrationsänderungen bei der Probenvorbereitung verwenden. Er kann auch in allen anderen Berechnungen verwendet werden, die einen konstanten Faktor erfordern.

## Probenmenge

Bei ESTD%- oder ISTD%-Berechnungen werden in den ESTD- und ISTD-Reporten relative statt absoluter Werte angegeben. Das bedeutet, dass die Menge jeder Substanz als prozentualer Anteil an der Probengesamtmenge angegeben wird. Die Probenmenge dient in ESTD%- und ISTD%-Reporten zur Umrechnung der absoluten Menge der analysierten Substanzen in relative Werte. Dies geschieht mit einer Division durch den angegebenen Wert.

## Nicht kalibrierte Berechnungsverfahren

Für nicht kalibrierte Berechnungsverfahren wird keine Kalibriertabelle benötigt.

### Area% und Height%

Die Berechnungsart „Area%“ berechnet die Fläche jedes Peaks der Probe als prozentualen Anteil an der Gesamtfläche aller Peaks eines Analysenlaufes. Die Area%-Berechnung erfordert keine vorherige Kalibrierung und hängt in bestimmten Grenzen des Detektors nicht von der injizierten Probenmenge ab. Es werden keine Responsefaktoren berücksichtigt. Falls alle Substanzen identische Responsefaktoren aufweisen, kann die Angabe „Area%“ eine Näherung für die vorhandenen Mengen der Substanzen darstellen.

„Area%“ wird routinemäßig dort eingesetzt, wo qualitative Ereignisse gewünscht sind, und um Kalibriertabellen für andere Kalibrierverfahren zu erstellen.

Die Angabe „Height%“ berechnet die Höhe jedes Peaks der Probe als prozentualen Anteil an der Gesamthöhe aller Peaks eines Analysenlaufes.

Der Multiplikator und der Verdünnungsfaktor aus den **Calibration Settings**, aus dem Dialogfeld **Sample Information** oder aus der **Sequence Table** werden bei der Area%- oder Height%-Berechnung nicht berücksichtigt.

## Kalibrierte Berechnungsverfahren

Die Methoden Externer Standard (ESTD), Normalisierung und Interner Standard (ISTD) erfordern Responsefaktoren und daher eine Kalibriertabelle. In der Kalibriertabelle ist die Konvertierung von Responsewerten in die Einheiten festgelegt, die für das gewählte Verfahren benötigt werden.

## ESTD-Berechnung

Das ESTD-Verfahren ist das grundlegende Quantifizierungsverfahren, bei dem Standards und Proben unter identischen Bedingungen analysiert werden. Die Ergebnisse der unbekannt Probe werden mit der Kalibriertabelle verglichen. So wird die Menge der unbekannt Substanz in der Probe errechnet.

Das ESTD-Verfahren verwendet absolute Responsefaktoren und unterscheidet sich damit vom ISTD-Verfahren. Die Responsefaktoren werden in einer Kalibrierung gewonnen und gespeichert. In den nachfolgenden Probenläufen werden die Substanzmengen durch Anwendung dieser Responsefaktoren auf die gemessenen Mengen errechnet. Stellen Sie sicher, dass die aufgegebene Probenmenge von Analysenlauf zu Analysenlauf reproduzierbar ist, da sich in der Probe kein Standard zur Korrektur bei Abweichungen in der Probenmenge oder Probenaufbereitung befindet.

Bei der Erstellung eines ESTD-Reports erfolgt die Berechnung der Menge einer bestimmten Substanz in der unbekannt Probe in zwei Schritten:

- 1 Für die Substanz wird eine Gleichung für die Kurve durch die Kalibrierpunkte ermittelt, die mit den Werten aus dem Dialogfeld "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) oder "Calibration Curve" (Kalibrierkurve) angepasst wird.
- 2 Die Menge der Substanz in der unbekannt Probe wird mit der unten beschriebenen Gleichung berechnet. Diese Menge kann im Report angegeben werden, oder zuvor durch Anwendung von Multiplikator, Verdünnungsfaktor oder Probenmenge weiter bearbeitet werden, bevor sie im Report erscheint.

Die Formel des ESTD-Verfahrens zur Berechnung der absoluten Menge der Substanz  $x$  lautet:

$$\text{Absolute Amt of } x = \text{Response}_x \cdot RF_x \cdot M \cdot D$$

wobei

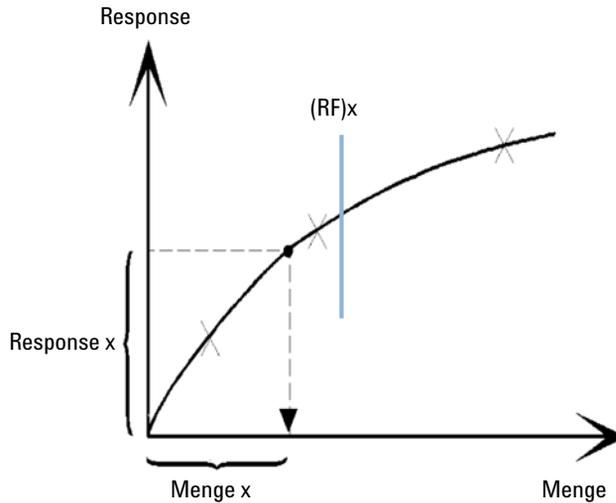
$\text{Response}_x$  der Response von Peak  $x$  ist;

$RF_x$  der Responsefaktor der Substanz  $x$  ist, der wie folgt berechnet wird:

$$RF_x = \frac{\text{Amount}_x}{\text{Response}_x}$$

$M$  ist der Multiplikator.

$D$  ist der Verdünnungsfaktor.



**Abbildung 28** Responsefaktor

Multiplikator und Verdünnungsfaktor werden dem Dialogfeld **Calibration Settings** (Kalibriereinstellungen) oder **Sample Information** (Probeninformationen) entnommen.

Wenn der ESTD%-Report gewählt wird und die Probenmenge nicht Null ist, wird die relative Menge (in %) einer Substanz wie folgt berechnet:

$$\text{Relative Amt of } x = \frac{\{\text{Absolute Amt of } x\} \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

wobei

*Absolute Amount of x* (Absolute Menge von x) analog zur oben gezeigten ESTD-Methode berechnet wird;

## 5 Quantifizierung

### ESTD-Berechnung

*Sample Amount* (Probenmenge) dem Dialogfeld "Sample Information" (Probeninformationen) oder "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) aus Einzelanalysen entnommen wird. Wenn die Probenmenge Null ist, wird der ESTD berechnet.

## Norm%-Berechnung

Bei der Normalisierungsmethode werden Responsefaktoren auf die Peakflächen oder -höhen angewendet, um Schwankungen der Detektorempfindlichkeit für verschiedene Probenbestandteile auszugleichen.

Der Norm%-Report wird genauso berechnet wie der ESTD-Report, außer dass über einen zusätzlichen Rechenschritt die relativen Mengen anstelle der absoluten Mengen der Substanzen berechnet werden.

Der Norm%-Report hat dieselben Nachteile wie die Area%- und Height%-Reports. Jede Änderung mit einem Einfluss auf die Gesamtpeakfläche hat auch Einfluss auf die berechneten Konzentrationen der Einzelpeaks. Der Normalisierungsreport sollte nur dann verwendet werden, wenn alle relevanten Substanzen eluiert und integriert wurden. Der Ausschluss ausgewählter Peaks aus einem Normalisierungsreport verändert die Ergebnisse dieser Probe im Report.

Die Gleichung zur Berechnung des Norm%-Werts einer Substanz x lautet:

$$\text{Norm\% of } x = \frac{\text{Response}_x \cdot \text{RF}_x \cdot 100 \cdot M \cdot D}{\sum (\text{Response} \cdot \text{RF})}$$

wobei

$\text{Response}_x$	die Fläche (oder Höhe) von Peak x ist,
$\text{RF}_x$	der Responsefaktor ist,
$\sum (\text{Response} \cdot \text{RF})$	ist die Gesamtsumme aller $(\text{Response} \cdot \text{RF})$ -Produkte aller Peaks einschließlich Peak x,
$M$	ist der Multiplikator.
$D$	ist der Verdünnungsfaktor.

Der Multiplikator und der Verdünnungsfaktor werden den Dialogfeldern **Calibration Settings**, dem Dialogfeld **Sample Information** oder der Sequenztabelle entnommen.

## ISTD-Berechnung

Die ISTD-Berechnung eliminiert die Nachteile des ESTD-Verfahrens durch Hinzufügen einer bekannten Menge einer Substanz als Normalisierungsfaktor. Diese Substanz, der *interne Standard*, wird sowohl zu Kalibrier- als auch zu unbekanntem Proben hinzugefügt.

Die Software übernimmt die entsprechenden Responsefaktoren aus einer früheren Kalibrierung, die in der Methode gespeichert ist. Mit der Konzentration des internen Standards und den Peakflächen oder -höhen des Analysenlaufs berechnet die Software die Konzentration unbekannter Substanzen.

Die als interner Standard eingesetzte Substanz sollte ein ähnliches Verhalten wie die kalibrierte Substanz aufweisen, sowohl chemisch als auch bezüglich der Retentions-/Migrationszeit, muss aber chromatographisch unterscheidbar sein.

**Tabelle 13** ISTD-Verfahren

Vorteile	Nachteile
Schwankungen der Probengröße sind unproblematisch.	Der interne Standard muss jeder Probe hinzugefügt werden.
Instrumentendrift wird durch den internen Standard kompensiert.	
Die Effekte der Probenvorbereitung werden minimiert, wenn das Verhalten des internen Standards und der unbekanntem Probe einander ähnlich sind.	

Wenn das ISTD-Verfahren für Kalibrierungen mit nicht-linearer Charakteristik verwendet wird, muss sichergestellt werden, dass die Rechenmethode keine systematischen Fehler erzeugt. Bei mehrstufigen Kalibrierungen muss die Menge des internen Standards konstant gehalten werden, das heißt, auf jeder Kalibrierstufe muss dieselbe Menge enthalten sein, wenn die Kalibrierkurve nicht linear ist.

Bei einer Analyse mit internem Standard wird die Menge der relevanten Substanz über das Responseverhältnis der beiden Peaks auf die Menge an internem Standard bezogen.

Bei einer ISTD-Kalibrierung mit zwei Analysenläufen erfolgt die Berechnung des korrekten Mengenverhältnisses einer bestimmten Substanz in einer unbekannt Probe in den folgenden Phasen:

## Analysenlauf 1: Kalibrierung

- 1 Die Kalibrierpunkte werden erstellt, indem für jede Stufe eines bestimmten Peaks in der Kalibriertabelle ein Mengenverhältnis und ein Responseverhältnis berechnet werden.

Das Mengenverhältnis ist die Menge der Substanz dividiert durch die Menge des internen Standards für diese Kalibrierstufe.

Das Responseverhältnis ist die Peakfläche der Substanz dividiert durch die Peakfläche oder -höhe des internen Standards für diese Kalibrierstufe.

- 2 Die Gleichung der Kurve durch die Kalibrierpunkte wird auf der Basis der Anpassung (Fit) berechnet, die im Dialogfeld "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) oder "Calibration Curve" (Kalibrierkurve) angegeben ist.

$$RF_x = \frac{\text{Amount Ratio}}{\text{Response Ratio}}$$

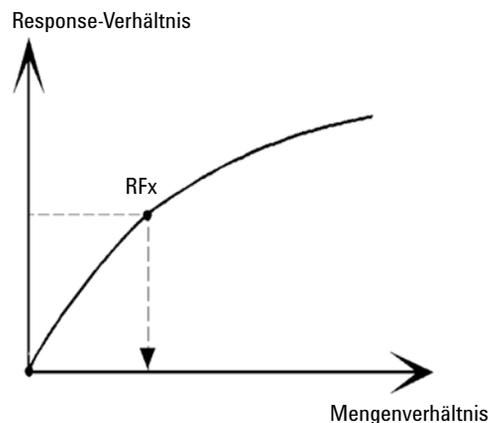


Abbildung 29 Mengenverhältnis

## Analysenlauf 2: Unbekannte Probe

- 1 Zur Ermittlung des Responseverhältnisses der unbekannt Probe wird der Response der Substanz in der unbekannt Probe durch den Response des internen Standards in der unbekannt Probe dividiert.
- 2 Das Mengenverhältnis für die unbekannt Probe wird mit der Kurvenanpassung aus Schritt 2 oben und der Menge an internem Standard in der Probe ermittelt.

## ISTD-Berechnung für kalibrierte Peaks

Die Gleichungen zur Berechnung der Menge einer kalibrierten Substanz x für eine Einpunktkalibrierung lauten:

$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

$$\text{Actual Amount of } x = RF_x \cdot \{\text{Response Ratio}\}_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

wobei

$RF_x$  der Responsefaktor für Substanz x ist.

Die tatsächliche Menge des internen Standards in der Probe (*Tats. Menge*) ist der Wert, der im Dialogfeld „Probeninformationen“ (Kalibriereinstellungen) oder „Probeninformationen“ eingegeben wurde.

$M$  ist der Multiplikator.

$D$  ist der Verdünnungsfaktor.

Ist der Reporttyp ISTD% ausgewählt, wird die relative Menge (in %) der Menge x in der Probe mit folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Relative Amt of } x = \frac{[\text{Absolute Amt of } x] \cdot 100}{\text{Sample Amount}}$$

## ISTD-Berechnung nicht kalibrierter Peaks

Zur Definition des Responsefaktors nicht identifizierter Peaks gibt es zwei Möglichkeiten.

- 1 Verwendung eines festen Responsefaktors, der im Feld "With Rsp Factor" (Mit Rsp-Faktor) des Dialogfelds "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) angegeben ist. Sie können einen festen Responsefaktor durch Angabe einer ISTD-Korrektur korrigieren.

$$\text{Actual Amount of } x = \text{RF}_x \cdot \{\text{Response Ratio}\}_x \cdot \text{Actual Amount of ISTD} \cdot M \cdot D$$

$$\text{Response Ratio} = \frac{\text{Response}_x}{\text{Response}_{\text{ISTD}}}$$

$\text{RF}_x$  ist der Responsefaktor aus dem Dialogfeld **Calibration Settings** (Kalibriereinstellungen).

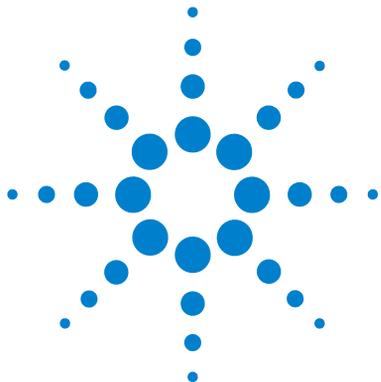
Sie können an diesen Formeln sehen, dass die Variationen des ISTD-Response zur Korrektur der Quantifizierung der unbekannt Substanz benutzt werden.

- 2 Verwendung eines kalibrierten Peaks. Damit wird sichergestellt, dass zur Quantifizierung aller Peaks derselbe Responsefaktor benutzt wird. Der Responsefaktor der ausgewählten Substanz und der nicht kalibrierte Peak werden durch Neukalibrierungen korrigiert. Änderungen des Responsefaktors des kalibrierten Peaks führen zur gleichen Änderung des Responsefaktors des unbekannt Peaks. Falls eine Kalibriertabelle erstellt wurde, können Sie unter "Using Compound" (Substanz verwenden) im Dialogfeld "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) eine Substanz auswählen.

Die Gleichungen zur Berechnung der Menge einer Substanz eines nicht kalibrierten Peaks x sind oben aufgeführt.

## **5 Quantifizierung**

### **ISTD-Berechnung**



## 6 Peakidentifizierung

Was ist eine Peakidentifizierung?	138
Regeln zur Peakübereinstimmung	139
Methoden der Peakidentifizierung	140
Absolute Retentions-/Migrationszeit	140
Korrigierte Retentions-/Migrationszeiten	140
Peak-Qualifier	140
Mengenbegrenzungen	141
Absolute Retentions-/Migrationszeit	142
Korrigierte Retentions-/Migrationszeiten	144
Einzelne Referenzpeaks	144
Mehrere Referenzpeaks	145
Peak-Qualifier	146
Signalkorrelation	147
Überprüfung der Qualifier	147
Berechnung des Qualifier-Verhältnisses	148
Identifizierungsprozess	149
Erkennen des Referenzpeaks	149
Erkennen der ISTD-Peaks	149
Erkennen aller verbleibenden kalibrierten Peaks	150
Klassifizierung nicht identifizierter Peaks	150

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte der Peakidentifizierung.



# Was ist eine Peakidentifizierung?

Die Peakidentifizierung ist die Identifizierung von Substanzen in einer unbekannt Probe aufgrund ihrer chromatographischen/elektropherographischen Eigenschaften durch die Analyse einer bekannten Kalibrierprobe.

Die Identifizierung von Substanzen ist die Voraussetzung zur Quantifizierung, wenn diese erforderlich ist. Das Signalverhalten jeder untersuchten Substanz wird in der Kalibriertabelle der Methode gespeichert.

Die Peakidentifizierung erfolgt durch Vergleich jedes Peaks im Signal mit den Peaks in der Kalibriertabelle.

Die Kalibriertabelle enthält die erwarteten Retentions-/Migrationszeiten der untersuchten Substanzen. Ein Peak, der mit der Retentions-/Migrationszeit eines Peaks in der Kalibriertabelle übereinstimmt, erhält die Attribute dieser Substanz, z. B. Name und Responsefaktor. Peaks ohne Übereinstimmung mit einem Peak der Kalibriertabelle werden als unbekannt eingestuft. Dieser Vorgang wird durch folgende Elemente gesteuert:

- Retentions-/Migrationszeiten für Peaks in der Kalibriertabelle, die als Zeitreferenzpeaks angegeben sind
- Retentions-/Migrationszeitfenster für Referenzpeaks
- Retentions-/Migrationszeiten für kalibrierte Peaks der Kalibriertabelle, die keine Zeitreferenzpeaks sind
- Retentions-/Migrationszeitfenster für diese Nicht-Referenzpeaks
- Vorhandensein weiterer qualifizierender Peaks mit den richtigen Verhältnissen

## Regeln zur Peakübereinstimmung

Folgende Regeln werden zur Feststellung einer Übereinstimmung zwischen Peaks angewandt:

- Wenn ein Probenpeak innerhalb des vorgegebenen Zeitfensters (Peak Matching Window) eines Peaks der Kalibriertabelle liegt, werden diesem die Attribute der Substanz der Kalibriertabelle zugeordnet.
- Wenn mehrere Probenpeaks in das entsprechende Zeitfenster fallen, wird der Peak mit der geringsten Abweichung von der vorgegebenen Retentions-/Migrationszeit als diese Substanz identifiziert,
- Wenn ein Peak als Zeitreferenz oder interner Standard dient, wird der größte Peak im Zeitfenster als diese Substanz identifiziert.
- Wenn Peak-Qualifier verwendet werden, wird das Peakverhältnis in Kombination mit dem vorgegebenen Zeitfenster zur Identifizierung der Substanz benutzt.
- Wenn der Peak ein Peak-Qualifier ist, wird der gemessene Peak identifiziert, der dem Hauptpeak der Substanz am nächsten ist.
- Wenn ein Probenpeak nicht in eines der vorgegebenen Zeitfenster fällt, wird er als unbekannte Substanz aufgelistet.

## Methoden der Peakidentifizierung

Eine Übereinstimmung von Probenpeaks mit den Peaks in der Kalibriertabelle der ChemStation-Software kann anhand verschiedener Methoden festgestellt werden.

### Absolute Retentions-/Migrationszeit

Die Retentions-/Migrationszeit des Probenpeaks wird mit den erwarteten Retentions-/Migrationszeiten für jede Substanz in der Kalibriertabelle verglichen.

### Korrigierte Retentions-/Migrationszeiten

Die erwarteten Retentions-/Migrationszeiten der Substanzpeaks werden mit den aktuellen Retentions-/Migrationszeiten eines oder mehrerer Referenzpeaks korrigiert. Der Vergleich erfolgt dann mit diesen korrigierten (relativen) Retentions-/Migrationszeiten. Der bzw. die Referenzpeaks müssen in der Kalibriertabelle enthalten sein.

### Peak-Qualifier

Zusätzlich zur Peakidentifizierung mittels Retentions-/Migrationszeiten können Peak-Qualifier zur Erzielung genauerer Ergebnisse verwendet werden. Wenn mehr als ein Peak im Retentions-/Migrationszeitfenster liegt, sollte die richtige Substanz über Qualifier ermittelt werden.

## Mengenbegrenzungen

Die Grenzwerte für die Mengenangaben werden im Dialogfeld "Compound Details" (Substanzdetails) definiert und zur Qualifizierung der Peakidentifizierung benutzt. Wenn die Mengenangabe einer identifizierten Substanz im vorgegebenen Bereich liegt, wird die Peakidentifizierung im Report aufgeführt.

## Absolute Retentions-/Migrationszeit

Zur Feststellung einer Peakübereinstimmung wird ein Zeitfenster für die Retentions-/Migrationszeiten verwendet. Dieses Zeitfenster wird um die erwartete Retentions-/Migrationszeit für einen erwarteten Peak zentriert. Jeder Probenpeak, der innerhalb dieses Fensters liegt, wird zur Identifizierung dieser Substanz herangezogen.

Abbildung 30 auf Seite 142 zeigt ein Retentions- bzw. Migrationszeitfenster für Peak 2 zwischen 1,809 und 2,631 Minuten, die erwartete Retentions-/Migrationszeit beträgt 2,22 Minuten. Für Peak 2 sind nur zwei Möglichkeiten verfügbar. Eine ist bei 1,85 Minuten und die andere bei 2,33 Minuten. Wenn der erwartete Peak kein Referenzpeak ist, wird der Peak gewählt, der am nächsten an der Retentions-/Migrationszeit von 2,22 Minuten liegt.

Wenn der erwartete Peak ein Zeitreferenzpeak oder ein interner Standard ist, wird der größte Peak im Fenster genommen.

In beiden Fällen wählt die ChemStation den Peak bei 2,33 Minuten. Wenn die Peaks gleich groß wären, würde der Peak, der dem Mittelpunkt des Zeitfensters am nächsten liegt, gewählt.

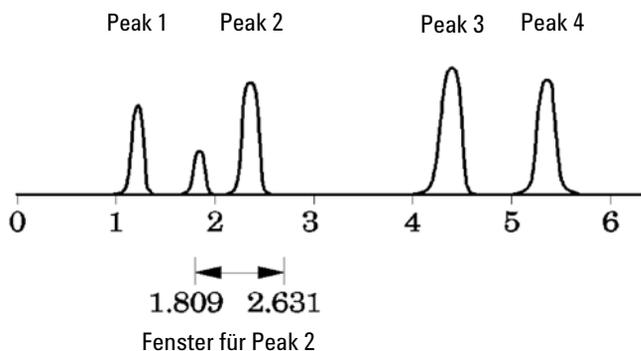


Abbildung 30 Retentions-/Migrationszeitfenster

Zum Auffinden von Peaks werden drei Zeitfenstertypen benutzt.

- Zeitfenster für Referenzpeaks, die nur auf Referenzpeaks angewendet werden

- Zeitfenster für Nicht-Referenzpeaks, die auf alle anderen kalibrierten Peaks angewendet werden
- Spezielle Zeitfenster mit Werten für einzelne Substanzen, die im Dialogfeld **Compound Details** (Substanzdetails) festgelegt werden.

Die Standardwerte für diese Zeitfenster werden im Dialogfeld "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) eingegeben. Der Zeitraum vor und nach der Retentions-/Migrationszeit, die für die Peakübereinstimmung verwendet wird, ist die Summe aus absolutem und prozentuell angepasstem Zeitfenster.

Ein Fenster von 5 % bedeutet, dass die Retentions- bzw. Migrationszeit des Peaks innerhalb eines Rahmens von plus/minus 2,5 % der kalibrierten Retentions-/Migrationszeit des Peaks liegt. Beispielsweise muss ein Peak mit einer Retentions-/Migrationszeit von 2,00 Minuten im Kalibrierlauf in den nachfolgenden Analysen nach Ablauf von 1,95 bis 2,05 Minuten erscheinen.

Ein Fenster mit der Absolutbreite von 0,20 Minuten und einer relativen Anpassung von 10 % ergibt also ein Retentions-/Migrationszeitfenster zwischen 1,80 und 2,20 Minuten.

$$1,80 \text{ min} = 2,00 \text{ min} - 0,10 \text{ min} (0,20 \text{ min} / 2) - 0,10 \text{ min} (10 \% \text{ von } 2,00 \text{ min}).$$

$$2,20 \text{ min} = 2,00 \text{ min} + 0,10 \text{ min} (0,20 \text{ min} / 2) + 0,10 \text{ min} (10 \% \text{ of } 2,00 \text{ min}).$$

## Korrigierte Retentions-/Migrationszeiten

Die Übereinstimmung von Peaks auf der Grundlage absoluter Retentions-/Migrationszeiten ist leicht anwendbar, aber nicht immer zuverlässig. Einzelne Retentions-/Migrationszeiten können leichte Abweichungen aufgrund schwankender chromatographischer Bedingungen oder Methoden aufweisen. Als Folge davon können die Peaks außerhalb des Zeitfensters liegen und werden somit nicht identifiziert.

Unvermeidlichen Schwankungen der absoluten Retentions-/Migrationszeiten lassen sich durch die Festlegung einer Retentions-/Migrationszeit relativ zu einem oder mehreren Referenzpeaks vermeiden.

Referenzpeaks werden in der Kalibriertabelle mit einem Eintrag in der Referenzspalte für diesen Peak identifiziert. Die Methode einer relativen Peakübereinstimmung verwendet einen oder mehrere Referenzpeaks zur Positionsanpassung des Vergleichsfensters, um Verschiebungen der Retentions-/Migrationszeiten von Probenpeaks zu kompensieren.

Falls in der Methode kein Referenzpeak definiert ist oder die ChemStation nicht mindestens einen Referenzpeak während des Analysenlaufs erkennen kann, werden von der Software die absoluten Retentions-/Migrationszeiten zur Identifizierung verwendet.

### Einzelne Referenzpeaks

Für den Referenzpeak wird um die erwartete Retentions-/Migrationszeit ein Retentions-/Migrationszeitfenster erzeugt. Der größte Peak in diesem Fenster wird als Referenzpeak identifiziert. Die erwarteten Retentions-/Migrationszeiten aller anderen Peaks in der Kalibriertabelle werden mit dem Verhältnis der erwarteten Retentions-/Migrationszeit zur tatsächlichen Retentions-/Migrationszeit des Referenzpeaks korrigiert.

## Mehrere Referenzpeaks

Die Korrektur der Retentions-/Migrationszeiten mit einem einzelnen Referenzpeak basiert auf der Annahme, dass die Abweichungen der aktuellen zu den erwarteten Retentions-/Migrationszeiten gleichmäßig und linear über den ganzen Analysenlauf verlaufen. Oftmals ändern sich bei langen Analysenzeiten die Retentions-/Migrationszeiten jedoch nicht einheitlich. In solchen Fällen können bessere Ergebnisse erzielt werden, wenn mehrere Referenzpeaks in geeigneten Abständen im Analysenlauf eingesetzt werden. Dadurch wird das Signal in separate Zonen aufgeteilt. Innerhalb jeder Zone wird dann eine lineare Abweichung der Retentions-/Migrationszeiten angenommen und getrennt für jede Zone ermittelt.

### HINWEIS

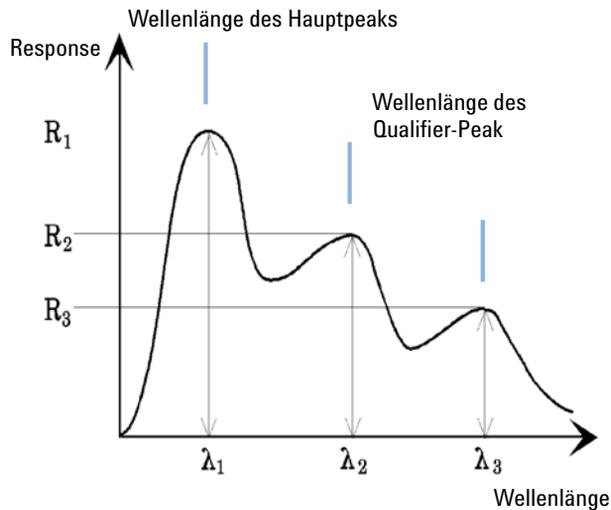
Der Algorithmus für die Zeitkorrektur kann scheitern, wenn die Retentionszeiten der Referenzpeaks zu eng beieinander liegen und nicht über den gesamten Analysenlauf verteilt sind.

---

## Peak-Qualifier

Viele Substanzen können mit mehreren Signalen detektiert werden. Grundsätzlich ist diese Methode auf alle Arten der Chromatographie anwendbar, die mit mehreren Detektoren oder mit Detektoren arbeiten, die über mehrere Signalausgänge verfügen. Sie wird aber hauptsächlich in der LC mit Multiwellenlängendetektoren oder Diodenarray-Detektoren eingesetzt. Diese Detektoren werden normalerweise so eingestellt, dass eine Wellenlänge nahe der maximalen Absorption des Hauptpeaks in der Kalibriertabelle eingesetzt wird. Dies ist in [Abbildung 31](#) auf Seite 146  $\lambda_1$ .

Die beiden anderen detektierten Wellenlängen können zur Bestätigung des Peaks dienen. In der Abbildung sind dies  $\lambda_2$  und  $\lambda_3$ .



**Abbildung 31** Peak-Qualifier

Peaks ohne Verunreinigungen weisen ein konstantes Verhältnis des Response über verschiedene Wellenlängen auf.

Der Peak-Qualifier weist einen anteiligen Response des Hauptpeaks auf. Die akzeptierten Grenzen des Response-Bereichs können in der Kalibriertabelle eingestellt werden, wenn die Option "Identification Details" (Identifizierungs-

details) aktiviert ist. Wenn das Verhältnis zwischen dem Hauptpeak-Qualifier  $\lambda_1$  und dem Qualifier-Peak, z. B.  $\lambda_3$ , innerhalb vorgegebener Grenzen liegt, ist die Substanzidentität bestätigt.

## Signalkorrelation

Unter Signalkorrelation versteht man, dass zwei Peaks, die von unterschiedlichen Detektoren innerhalb eines bestimmten Zeitfensters gemessen wurden, derselben Substanz zugeordnet werden. Das Fenster für die Signalkorrelation kann mit dem Parameter **SignalCorrWin** in der Tabelle **QuantParm** des Registers **DaMethod** gesteuert werden. Wenn das Fenster für die Signalkorrelation auf 0,0 Minuten gestellt ist, ist die Signalkorrelation ausgeschaltet (weitere Informationen finden Sie im *Makroprogrammierhandbuch*). Wenn die Signalkorrelation deaktiviert ist, werden Peaks, die zur selben Retentions-/Migrationszeit von zwei unterschiedlichen Detektoren erfasst werden, als unterschiedliche Substanzen behandelt.

Standardmäßig ist das Fenster für die Signalkorrelation für LC-, CE-, CE/MS- und LC/MS-Daten auf 0,03 Minuten und für GC-Daten auf 0,0 Minuten eingestellt.

## Überprüfung der Qualifier

Wenn die Signalkorrelation aktiviert ist, werden standardmäßig die Qualifier für alle Datentypen überprüft. Diese Option kann deaktiviert werden, indem Sie das Flag **UseQualifiers** in der Tabelle **Quantification Parameters** (Quantifizierungsparameter) der Methode festlegen (weitere Informationen hierzu finden Sie im Leitfaden zur Makroprogrammierung). Die Überprüfung der Qualifier wird auch dann deaktiviert, wenn die Signalkorrelation deaktiviert ist.

## Berechnung des Qualifier-Verhältnisses

Wenn die Überprüfung der Qualifier für eine Substanz aktiviert ist, wird das Größenverhältnis des Qualifiers zum Hauptpeak gegenüber den kalibrierten Grenzwerten überprüft. Je nach der Einstellung unter "Specify Report" (Reporttyp auswählen) kann die Größe über die Höhe oder die Fläche ermittelt werden.

Die Peak-Qualifier können genauso kalibriert werden wie die Zielsubstanzen. Der Anwender muss die erwarteten Qualifier-Verhältnisse nicht angeben. Sie werden automatisch berechnet:

Beide werden zur Retentionszeit der Substanz bestimmt.

Der Parameter "QualTolerance" definiert den akzeptablen Bereich des Qualifier-Verhältnisses, z. B.  $\pm 20\%$ .

Die Toleranz kann in der Kalibriertabelle in der Benutzeroberfläche ("Identification Details", Identifizierungsdetails) festgelegt werden und wird in absoluten Prozentwerten angegeben.

Bei einer mehrstufigen Kalibrierung berechnet die ChemStation eine minimale Qualifier-Toleranz aufgrund der gemessenen Qualifier-Verhältnisse auf jeder Kalibrierstufe. Die minimale Qualifier-Toleranz wird nach folgender Formel berechnet:

$$\text{minimum qualifier tolerance} = \frac{\sum_{i=1}^n (q_i - \bar{q})}{\bar{q} \times i} \times 100$$

wobei  $q_i$  das gemessene Qualifier-Verhältnis auf der Stufe  $i$  ist.

## Identifizierungsprozess

Beim Versuch der Peakidentifizierung durchläuft die Software die integrierten Daten dreimal.

### Erkennen des Referenzpeaks

Beim ersten Durchgang werden die Zeitreferenzpeaks identifiziert. Die Software sucht im Analysenlauf nach Retentions-/Migrationszeiten, die mit denen der Referenzpeaks in der Kalibriertabelle übereinstimmen. Ein Peak eines Analysenlaufs wird als Referenzpeak der Kalibriertabelle identifiziert, wenn dessen Retentions-/Migrationszeit innerhalb des angegebenen Fensters des Peaks aus der Kalibriertabelle liegt.

Werden in diesem Fenster mehrere Peaks gefunden, wird der Peak mit der größten Fläche oder Höhe, gegebenenfalls mit einer positiven Übereinstimmung der Peak-Qualifier, als Referenzpeak gewählt.

Für jeden gefundenen Zeitreferenzpeak wird die Abweichung zwischen der gefundenen Retentions-/Migrationszeit und der in der Kalibriertabelle ermittelt. Alle anderen erwarteten Retentions-/Migrationszeiten in der Kalibriertabelle werden danach angepasst.

### Erkennen der ISTD-Peaks

Im zweiten Durchgang werden alle ISTD-Peaks identifiziert. Falls sie nicht bereits als ISTD identifiziert wurden, können sie als Zeitreferenzpeaks identifiziert werden. ISTD-Peaks werden durch ihre Retentions-/Migrationszeitfenster und durch Peak-Qualifier identifiziert. Werden in demselben ISTD-Fenster mehrere Peaks gefunden, wird der größte Peak gewählt.

## Erkennen aller verbleibenden kalibrierten Peaks

Im dritten Durchgang werden alle anderen Peaks aus der Kalibriertabelle gesucht. Diese Nicht-Referenzpeaks der Kalibriertabelle werden über ihre Retentions- bzw. Migrationszeitfenster auf Übereinstimmung mit den Peaks des Analysenlaufs untersucht.

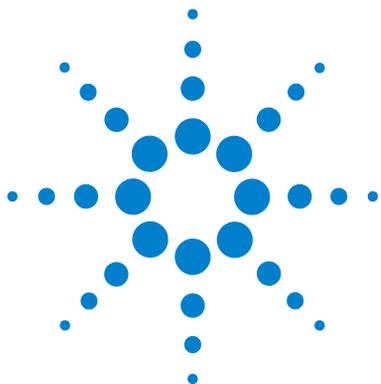
Jeder kalibrierte Nicht-Referenzpeak ist in der Kalibriertabelle mit seiner eigenen Retentions-/Migrationszeit angegeben. Diese wird für den entsprechenden Lauf basierend auf der Voridentifizierung der Zeitreferenzpeaks angepasst. Das Retentions-/Migrationszeitfenster des kalibrierten Peaks wird entsprechend der korrigierten Retentions-/Migrationszeit des kalibrierten Peaks angepasst.

Werden mehrere Peaks im selben Fenster gefunden, wird der Peak mit der Retentions-/Migrationszeit gewählt, der am nächsten an der erwarteten Retentions-/Migrationszeit liegt und der auch den Vorgaben des Qualifiers entspricht.

## Klassifizierung nicht identifizierter Peaks

Falls nicht identifizierte Peaks vorhanden sind, werden diese als unbekannt klassifiziert. Die ChemStation versucht, die unbekanntesten Peaks derselben Substanz zu einer Gruppe zusammenzufassen. Wenn ein Peak in mehreren Signalen entdeckt wurde, werden die Peaks mit derselben Retentions-/Migrationszeit in jedem Signal einer einzelnen Substanz zugeordnet.

Unbekannte Peaks werden im Report aufgenommen, wenn die entsprechende Vorgabe im Dialogfeld "Calibration Settings" (Kalibriereinstellungen) eingestellt wurde.



## 7 Kalibrierung

Begriffserläuterung	152
Kalibriertabelle	153
Kalibrierkurve	154
Unbekannte Proben	156
Kalibrierverfahren	157
Einstufige Kalibrierung	157
Mehrstufige Kalibrierung	158
Kalibrierbereiche	160
Kalibrierkurven anpassen	160
Behandlung des Koordinatenursprungs	161
Gruppenkalibrierung	164
Peaksummierung	165
Neukalibrierung	166
Was ist Neukalibrierung?	166
Warum eine Neukalibrierung durchführen?	166
Manuelle Neukalibrierung	166
Neukalibrierung mit Peaksummierung	167
Optionen für die Neukalibrierung	167
Möglichkeiten der Neukalibrierung	168
Neukalibrierung nicht identifizierter Peaks	168

Dieses Kapitel beschreibt die Kalibrierung in der ChemStation.



## Begriffserläuterung

- Kalibrierung** Als Kalibrierung wird der Vorgang bezeichnet, bei dem durch Injektion speziell vorbereiteter Kalibrierproben Responsefaktoren zur Berechnung der absoluten Substanzkonzentration ermittelt werden. Die Kalibriertabelle wird auch zur Identifizierung verwendet. Siehe [“Peakidentifizierung”](#) auf Seite 137.
- Substanz** Eine chemische Substanz kann bei einer Kalibrierung mit mehreren Signalen mehrere Peaks liefern, normalerweise einen Peak pro Signal. Bei einer Kalibrierung mit einem Signal liegt nur ein Peak pro Substanz vor.
- Kalibrierstufe** Eine Kalibrierstufe enthält die Kalibrierpunkte für die Kalibrierung einer Probenkonzentration. Bei einer Kalibrierung mit mehreren Signalen können die Kalibrierpunkte auf mehrere Signale verteilt sein.
- Kalibrierpunkt** Ein Kalibrierpunkt bezieht sich auf das Mengen/Response-Verhältnis eines Peaks auf der Kalibrierkurve.
- Kalibrierprobe** Eine Kalibrierprobe, auch Kalibrierstandard oder Standardmischung genannt, ist eine Probe mit einem bekannten Gehalt der Substanz, die quantifiziert werden soll. In der Software wird die Kalibrierprobe als Injektion aus der Kalibrierflasche bezeichnet.

Kalibrierproben sind bei den Anbietern von Feinchemikalien erhältlich oder können durch sorgfältiges Verdünnen einer bekannten Menge eines reinen Stoffes hergestellt werden. Die Menge des Stoffes in der Kalibrierprobe wird meist in Konzentrationseinheiten angegeben, oft in der Einheit ng/µl.

## Kalibriertabelle

Eine Kalibriertabelle enthält Umrechnungen von Peakflächen oder Peakhöhen in Einheiten, die Sie selbst wählen können. Sie enthält eine Liste mit Retentions- bzw. Migrationszeiten aus einem Kalibrierlauf. Diese Retentions- bzw. Migrationszeiten werden mit denen eines Analysenlaufes verglichen. Wenn eine Übereinstimmung vorliegt, wird für den Peak der Probe angenommen, dass es sich um dieselbe Substanz handelt wie in der Kalibriertabelle (siehe [“Peakidentifizierung”](#) auf Seite 137). Bei der Analyse oder der Reporterstellung werden die Mengen jedes eingetragenen Peaks dazu verwendet, die Mengen für das ausgewählte Kalibrierverfahren zu bestimmen. Die Art und Menge an Informationen, die zur Erstellung einer Kalibriertabelle notwendig ist, hängt von der Art des Kalibrierverfahrens ab.

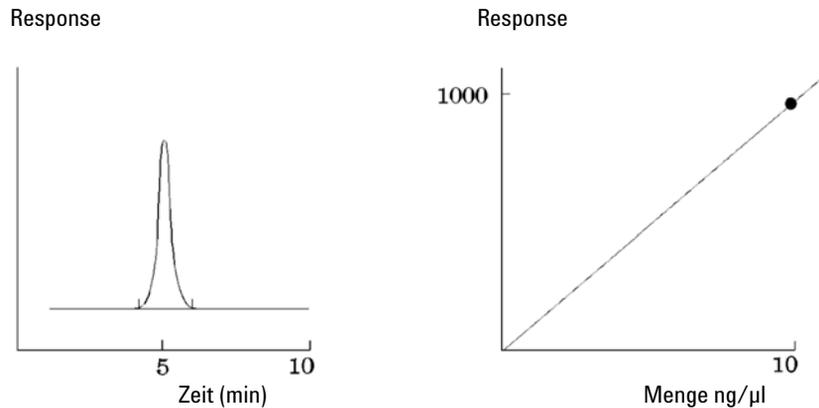
Folgende Informationen sind zur Erstellung einer Kalibriertabelle erforderlich:

- Die Retentions- bzw. Migrationszeiten aller Komponenten der Kalibrier Mischung.
- Eine Mengenangabe für jede Komponente der Kalibrier Mischung in konsistenten Einheiten.

## Kalibrierkurve

Eine Kalibrierkurve ist eine grafische Auftragung von Menge und Response für eine Substanz aus einer oder mehreren Kalibrierproben.

Normalerweise wird ein Aliquot der Kalibrierprobe injiziert, ein Signal gemessen und der Response mithilfe der Peakfläche oder Peakhöhe gemäß [Abbildung 32](#) auf Seite 154 berechnet.



**Abbildung 32** Kalibrierprobe (10 ng/µl) Signal und Kalibrierkurve

Mit der grafischen Darstellung der Kalibrierkurve wird ein *Korrelationskoeffizient* angegeben. Der Korrelationskoeffizient ist die Wurzel aus dem Regressionskoeffizienten und stellt ein Maß für die Anpassung der Kalibrierkurve an die Datenpunkte dar. Der Koeffizient wird mit drei Dezimalstellen im folgenden Wertebereich angezeigt:

0,000 bis 1,000

wobei

0,000 = keine Übereinstimmung

1,000 = perfekte Übereinstimmung

Für jede Kalibrierstufe wird der *relative Residualwert* angezeigt. Er wird mit folgender Formel berechnet:

$$relRES = \frac{Response_{calibrated} - Response_{calculated}}{Response_{calculated}} \cdot 100$$

wobei

relRES = Relativer Residualwert in Prozent

Der berechnete Responsefaktor stellt den Punkt in der Kalibrierkurve dar.

Die *Residuale Standardabweichung* kann beim Drucken von Kalibriertabellen und Kurven sowie in einigen Reports ausgegeben werden und wird anhand folgender Formel berechnet:

$$ResSTD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (Resp_{calibratedi} - Resp_{calculatedi})^2}{n - 2}}$$

wobei

ResSTD = residuale Standardabweichung

Respcalibratedi = kalibrierter Response für Punkt i

Respcalculatedi = berechneter Response für Punkt i

n = Anzahl der Kalibrierpunkte

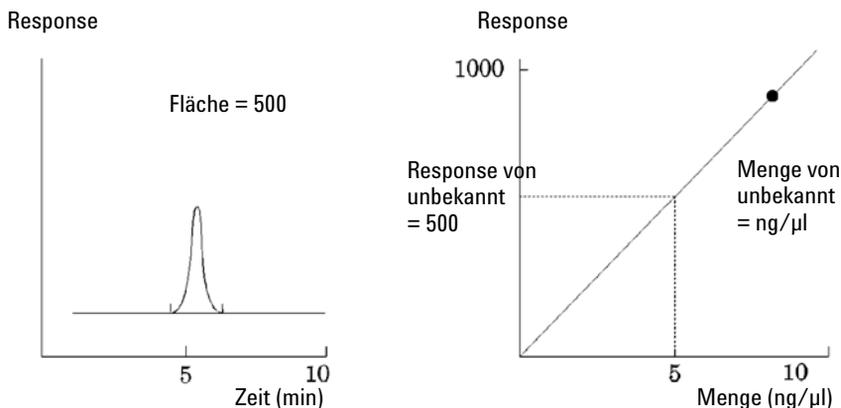
## Unbekannte Proben

Eine unbekannte Probe ist eine Probe, die eine unbekannte Menge einer Substanz enthält, die quantifiziert werden soll.

Um die Menge der Substanz in der unbekanntem Probe zu bestimmen, müssen Sie Folgendes ausführen:

- Eine Kalibrierkurve für die Substanz erstellen
- Ein Aliquot der unbekanntem Probe injizieren und eine Analyse auf exakt dieselbe Weise ausführen wie bei der Kalibrierprobe
- Aus dem Signal den Response ermitteln, der als Fläche oder Höhe des Peaks entsprechend der unbekanntem Menge der Substanz gemessen wird
- Die Menge der Substanz in der unbekanntem Probe mithilfe der Kalibrierkurve berechnen

Wenn die Fläche des Peaks in der unbekanntem Probe beispielsweise 500 beträgt, können Sie anhand der Kalibrierkurve in [Abbildung 33](#) auf Seite 156 ermitteln, dass die Menge in der unbekanntem Probe 5 ng/μl beträgt.



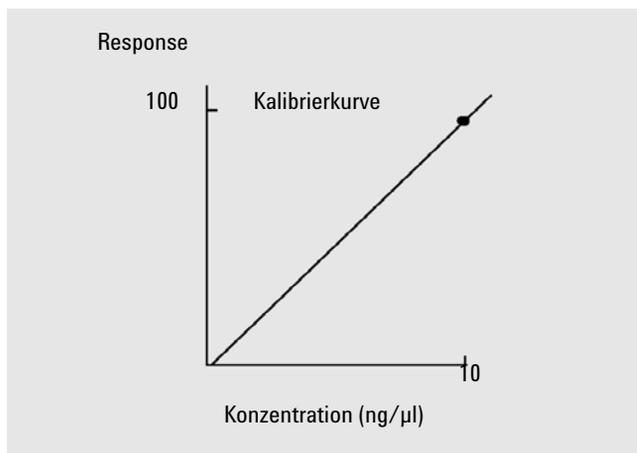
**Abbildung 33** Signal und Kalibrierkurve einer unbekanntem Probe

# Kalibrierverfahren

Die ChemStation bietet die beiden Kalibrierverfahren einstufige Kalibrierung (Single-Level Calibration) und mehrstufige Kalibrierung (Multilevel Calibration).

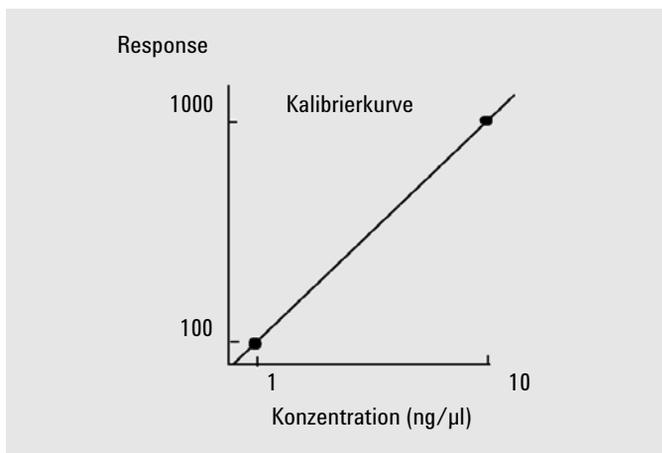
## Einstufige Kalibrierung

Die Kalibrierkurve in [Abbildung 34](#) auf Seite 157 enthält einen Punkt, d. h. eine Stufe. Bei der Kurve einer einstufigen Kalibrierung wird angenommen, dass der Detektorresponse innerhalb des Arbeitsbereichs der untersuchten Probenkonzentration linear ist. Der Responsefaktor eines bestimmten Substanzpeaks wird durch den Kehrwert der Steigung der Kalibrierkurve durch Messpunkt und Koordinatenursprung bestimmt. Ein Nachteil der einstufigen Kalibrierung ist die Annahme, dass der Detektorresponse linear zur Probenkonzentration verläuft und dass die Kurve der Gegenüberstellung von Konzentration und Response durch den Koordinatenursprung verläuft. Dies stimmt nicht immer und kann daher zu ungenauen Ergebnissen führen.



**Abbildung 34** Einstufige Kalibrierkurve

Zur Erzielung korrekter quantitativer Ergebnisse sollte eine Kalibrierkurve mindestens zwei Kalibrierstufen umfassen. Diese Kalibrierstufen sollten die erwarteten Mengen in der unbekannt Probe umschließen.



**Abbildung 35** Zweistufige Kalibrierkurve

Wenn Sie beispielsweise eine Probe quantifizieren möchten, deren Gehalt im Bereich von 1 bis 10 ng/µl liegt, sollte die Kalibrierkurve mindestens die beiden in [Abbildung 35](#) auf Seite 158 gezeigten Stufen enthalten.

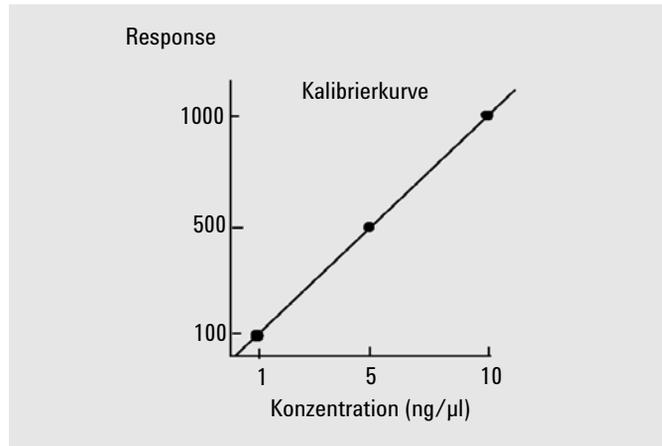
### **Mengenbegrenzungen**

Die ChemStation ermöglicht Ihnen die Definition von Quantifizierungsbereichen in Form von absoluten Mengen für jede Substanz.

## **Mehrstufige Kalibrierung**

Mehrstufige Kalibrierungen können bei nicht linearem Verhalten einer Substanz im kalibrierten Bereich oder zur Bestätigung der Linearität des Kalibrierbereichs eingesetzt werden. Jede Kalibrierstufe entspricht einer Kalibrierprobe mit einer bestimmten Konzentration. Die Kalibrierproben sollten mit Konzentrationen angesetzt werden, die den Bereich der erwarteten Konzentrationen in den unbekannt Proben umschließen. Dadurch ist es möglich, Änderungen des Detektorresponsewerts in Abhängigkeit von der Konzentration zu berücksichtigen und die Responsefaktoren zu berechnen.

Diese Kurve der mehrstufigen Kalibrierung hat drei Kalibrierstufen und eine lineare Kurvenanpassung, die durch den Koordinatenursprung verläuft. Dieses Verfahren zur linearen Anpassung durch den Ursprung ist ähnlich dem Verfahren bei der einstufigen Kalibrierung. Das Verhältnis zwischen Detektorresponse und Konzentration wird als linear angenommen. Der Unterschied besteht darin, dass bei der linearen Anpassung die Steigung des Detektorresponse durch den besten Kurvenverlauf durch eine Reihe von Punkten bestimmt wird, wobei ein Punkt einer Stufe entspricht.



**Abbildung 36** Mehrstufige Kalibrierkurve mit drei Stufen

Die entsprechende Kalibriertabelle, die die tabellarische Zusammenfassung der Daten ist, die zum Generieren dieser Kurve verwendet werden, sieht ähnlich aus wie in [Tabelle 14](#) auf Seite 159 dargestellt.

**Tabelle 14** Kalibriertabelle

Stufe	Menge (ng/μl)	Response (Flächeneinheiten)
1	1	100
2	5	500
3	10	1000

In diesem Beispiel wurden die Kalibrierproben zur Erzeugung der drei Kalibrierpunkte mit 1, 2 und 3 bezeichnet.

## Kalibrierbereiche

Jede mehrstufige Kalibrierung ist für den Konzentrationsbereich gültig, der durch die Kalibrierproben vorgegeben wurde. Eine Extrapolation der Kalibrierkurve, besonders im nicht linearen Fall, ist bestenfalls eine Annäherung. Der gültige Kalibrierbereich kann für jede Substanz im Dialogfeld "Compound Details" (Substanzdetails) definiert werden. Jeder Eintrag besteht aus einer Ober- und einer Untergrenze. Bei Überschreiten dieser Grenzen wird eine entsprechende Anmerkung in den Report eingefügt.

## Kalibrierkurven anpassen

Für die mehrstufige Kalibrierung sind verschiedene Anpassungsverfahren verfügbar.

- Punkt zu Punkt linear
- Linear
- Logarithmisch
- Potenz
- Exponent
- Quadratisch
- Kubisch
- Mittelwertbildung (Response/Menge)

### Nicht lineare Anpassungsverfahren

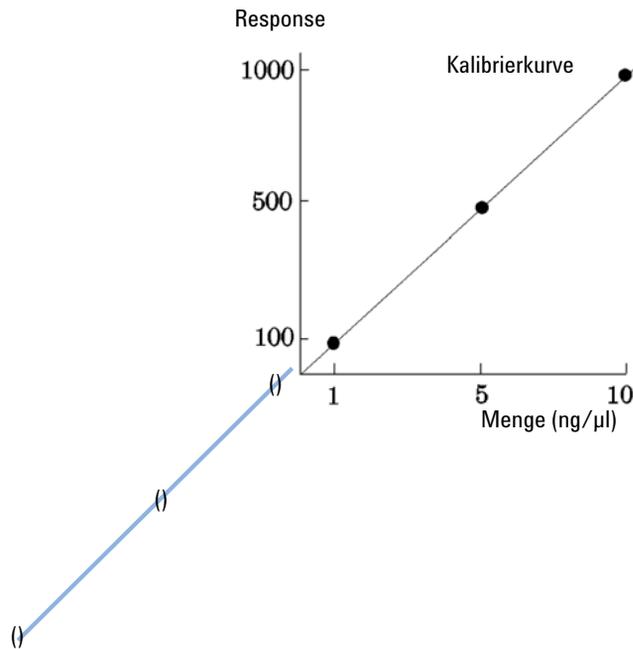
In einigen Fällen ändert sich der Detektorresponse nicht linear mit der Probenkonzentration. In diesen Fällen ist eine Kalibrierung auf der Basis einer linearen Regression unzulässig und es sollte eine mehrstufige Kalibrierung eingesetzt werden.

## Behandlung des Koordinatenursprungs

Es stehen vier Möglichkeiten zur Einbeziehung des Koordinatenursprungs zur Verfügung:

- Ursprung ignorieren
- Ursprung einbeziehen
- Verlauf durch Koordinatenursprung erzwingen
- Mit Koordinatenursprung verbinden

Um zu erzwingen, dass der Koordinatenursprung in der Kalibrierkurve enthalten ist, werden die Kalibrierpunkte am Ursprung vom ersten Quadranten in den dritten gespiegelt. Die Verwendung aller Punkte für die Regressionsberechnung stellt sicher, dass die Kalibrierkurve durch den Ursprung läuft. Dies wird auch in [Abbildung 37](#) auf Seite 161 erklärt.



**Abbildung 37** Verlauf durch Koordinatenursprung erzwingen

Weitere Informationen zu Kurvenanpassungen in Kalibrierungen und zur Behandlung des Koordinatenursprungs finden Sie in der *Online-Hilfe*.

## Wichtung der Kalibrierpunkte

Bei der Erstellung Ihrer Standardkalibrierkurve können Sie eine relative Wichtung der verschiedenen Kalibrierpunkte angeben.

Folgende Optionen können zur Wichtung gewählt werden:

Wichtung	Beschreibung
Gleich	Alle Kalibrierpunkte der Kurve werden gleich gewichtet.
Linear (Menge)	Ein Kalibrierpunkt der Menge $x$ erhält die Wichtung $1/x$ , normalisiert auf die niedrigste Konzentration. So ergibt sich für den höchsten Wichtungsfaktor der Wert 1. Die Normalisierung erfolgt durch Multiplizierung der Wichtung mit der kleinsten Menge. Die Wichtung eines Kalibrierpunkts mit der Menge $x$ ist beispielsweise $(1/x) \times a$ , wenn $a$ der kleinsten Menge der kalibrierten Substanz im Kalibrierstandard entspricht. Wenn der Ursprung einbezogen ist, wird ihm der Mittelwert der Wichtungen der anderen Kalibrierpunkte zugewiesen.
Linear (Response)	Ein Kalibrierpunkt mit dem Response $y$ erhält die Wichtung $1/y$ , normalisiert auf den niedrigsten Response. So ergibt sich für den höchsten Wichtungsfaktor der Wert 1. Die Normalisierung erfolgt durch Multiplizierung der Wichtung mit dem kleinsten Response. Die Wichtung eines Kalibrierpunkts mit der Menge $y$ ist beispielsweise $(1/y) \times b$ , wenn $b$ dem Response der kleinsten Menge der kalibrierten Substanz im Kalibrierstandard entspricht. Wenn der Ursprung einbezogen ist, wird ihm der Mittelwert der Wichtungen der anderen Kalibrierpunkte zugewiesen.
Quadratisch (Menge)	Ein Kalibrierpunkt der Menge $x$ erhält die Wichtung $1/x^2$ , normalisiert auf die niedrigste Menge. So ergibt sich für den höchsten Wichtungsfaktor der Wert 1. Die Normalisierung erfolgt durch Multiplizierung der Wichtung mit der kleinsten Menge. Die Wichtung eines Kalibrierpunkts mit der Menge $x$ ist beispielsweise $(1/x^2) \times a^2$ , wenn $a$ der kleinsten Menge der kalibrierten Substanz im Kalibrierstandard entspricht.
Quadratisch (Response)	Ein Kalibrierpunkt mit dem Response $y$ erhält die Wichtung $1/y^2$ , normalisiert auf den niedrigsten Response. So ergibt sich für den höchsten Wichtungsfaktor der Wert 1. Die Normalisierung erfolgt durch Multiplizierung der Wichtung mit dem kleinsten Response. Die Wichtung eines Kalibrierpunkts mit der Menge $y$ ist beispielsweise $(1/y^2) \times b^2$ , wenn $b$ dem Response der kleinsten Menge der kalibrierten Substanz im Kalibrierstandard entspricht.
# Kalibrierungen	Ein Kalibrierpunkt wird gemäß der Anzahl der Neukalibrierungen des Punkts gewichtet. Es wird keine Normalisierung durchgeführt.

Quadratische Kalibrierpunkt-Wichtungen können beispielsweise zur Anpassung bei streuenden Kalibrierpunkten verwendet werden. Dadurch wird sichergestellt, dass die Kalibrierpunkte in der Nähe des Ursprungs, für die in der Regel eine präzisere Messung möglich ist, eine höhere Wichtung erhalten als Kalibrierpunkte, die weiter weg vom Ursprung liegen und möglicherweise gestreut sind.

Sie sollten Ihre Entscheidung bezüglich der Kalibrierpunktewichtung von den Anforderungen Ihrer Methode abhängig machen.

## Gruppenkalibrierung

Gruppenkalibrierungen können für Substanzen verwendet werden, bei denen nur die Konzentrationen einer Gruppe von Substanzen, nicht aber die einzelnen Konzentrationen bekannt sind. Ein Beispiel dafür sind Isomere. Es werden vollständige Substanzgruppen kalibriert. Folgende Formel wurde benutzt:

Kalibrierung

$$Conc_{AB} = RF_A \cdot Response_A + RF_B \cdot Response_B$$

wobei

$Conc_{AB}$  die Konzentration der Substanzgruppe ist, die aus Substanz A und B besteht.

$Response_A$  die Fläche (oder Höhe) der Substanz A ist

$RF_A$  der Responsefaktor ist

Dabei werden für die Substanzen einer Gruppe dieselben Responsefaktoren vorausgesetzt:

$$RF_A = RF_B$$

Folglich wird die Konzentration einer Substanz aus einer Substanzgruppe wie folgt berechnet:

$$Conc_A = \frac{Conc_{AB} \cdot Resp_A}{Resp_A + Resp_B}$$

## Peaksummierung

Die Tabelle der Peaksummen wird für einige Anwendungen für die petrochemische oder pharmazeutische Industrie geliefert und lässt sich folgendermaßen sehr wirksam einsetzen:

- Addition der Peakflächen, die innerhalb eines benutzerdefinierten Bereichs liegen
- Addition der Flächen eines Peakbereichs und Berechnung mit einem einzigen Multiplikator
- Addition der Flächen aller Peaks mit gleichem Namen

Die Tabelle der Peaksummen ähnelt in mancher Hinsicht der Standard-Kalibriertabelle, ist mit dieser aber nicht identisch. Wie die Kalibriertabelle ist sie mit der aktuellen Methode verknüpft.

**HINWEIS**

Bevor Sie eine Tabelle der Peaksummen anlegen können, müssen Sie eine Kalibriertabelle für eine Analyse erstellen.

---

## Neukalibrierung

### Was ist Neukalibrierung?

Unter Neukalibrierung versteht man die Aktualisierung einer Kalibrierstufe in einer Kalibrierkurve. Bei der Neukalibrierung wird eine Probe analysiert, die dieselben Substanzen in denselben Mengen enthält wie die Originalprobe. Durch die Analyse der Kalibrierprobe erhalten Sie aktualisierte Responsefaktoren und Retentions-/Migrationszeiten. Sie können auch eine Mittelwertbildung der Responsefaktoren aus mehreren Kalibrierläufen zur gleichmäßigen Wichtung der Responsefaktoren wählen.

### Warum eine Neukalibrierung durchführen?

Die meisten Kalibrierungen sind nur für eine begrenzte Zeit gültig, weil sich die chromatographischen Rahmenbedingungen ändern. Die Neukalibrierung dient der Aufrechterhaltung der Analysengenauigkeit. Nehmen Sie beispielsweise an, dass eine Kalibriertabelle für die Substanz Koffein angelegt ist, die Sie immer zur Quantifizierung von Proben mit Koffein verwenden. Gelegentlich müssen Sie die Trennsäule/Kapillare austauschen. Auch wenn es sich um den gleichen Typ Säule/Kapillare handelt, besitzt die Säule/Kapillare nicht genau dieselben Eigenschaften wie die vorherige Säule/Kapillare, mit der Sie die Kalibriertabelle für Koffein angelegt haben. Zur Wahrung der Konsistenz sollten Sie die einzelnen Stufen der Kalibriertabelle neu kalibrieren, bevor die neue Säule zur Analyse unbekannter Koffeinmengen verwendet wird. Hierdurch werden die Proben unter gleichen Systembedingungen analysiert und quantifiziert.

### Manuelle Neukalibrierung

Sie können Informationen für Peakkalibrierungen auch manuell eingeben und die Kalibriertabelle mithilfe der Schaltfläche "Manual Setup" (Manuelle Einrichtung) im Dialogfeld "New Calibration Table" (Neue Kalibriertabelle) normalisieren. In der Regel wird eine neue Kalibriermethode erstellt, indem eine

Kalibrierstandardmischung analysiert, eine Kalibriertabelle erstellt und die Mengen für alle kalibrierten Peaks eingetragen werden, um so die Responsefaktoren zu erhalten. Für einige Anwendungen, z. B. in der petrochemischen Industrie, ist dieser Ansatz ineffizient, da dieselben Substanzen bereits seit Jahren untersucht werden und die Responsefaktoren der verschiedenen Substanzen für verschiedene Detektoren bereits vorliegen.

In diesem Fall wird die Kalibriertabelle manuell erstellt, indem die Peaks und ihre Responsefaktoren in die Kalibriertabelle eingetragen werden. Außerdem muss die Methode mit einem Standard, der mindestens einen Referenzpeak enthält, neu kalibriert und Delta%-Aktualisierung ausgewählt werden.

## Neukalibrierung mit Peaksummierung

Wenn eine Neukalibrierung durchgeführt wird, werden die Bereiche für die Retentions-/Migrationszeiten in der Peaksummen-Tabelle vor der eigentlichen Neukalibrierung aktualisiert. Neukalibrierungen der Peaksumme werden auf diese Weise durchgeführt, um sicherzustellen, dass Abweichungen in die Zeitberechnungen aufgenommen werden.

## Optionen für die Neukalibrierung

Es gibt mehrere Möglichkeiten, die Werte für den Response in der Kalibriertabelle durch neue Kalibrierdaten zu ersetzen.

### Mittelwert

Der Mittelwert aus allen Ergebnissen der Kalibrierläufe wird nach folgender Formel berechnet

$$Response = \frac{n \cdot Response + MeasResponse}{n + 1}$$

### Gleitender Mittelwert

Aus allen Kalibrierläufen wird ein gewichteter Mittelwert berechnet. Die neue Wichtung wird im Dialogfeld "Recalibration Settings" (Einstellungen für die Neukalibrierung) eingetragen.

$$Response = \left(1 - \frac{Weight}{100}\right) \cdot Response + \left(\frac{Weight}{100}\right) \cdot MeasResponse$$

### **Ersetzen**

Die alten Werte für den Response werden durch die neuen Werte ersetzt.

## **Möglichkeiten der Neukalibrierung**

Mit der ChemStation-Software können Neukalibrierungen auf zwei Arten durchgeführt werden. Sie können interaktiv oder automatisch während einer Sequenz neu kalibrieren. Die interaktive Neukalibrierung ist die direkte Durchführung aller Schritte zur Neukalibrierung mit der ChemStation nach der Injektion einer oder mehrerer Proben. Neukalibrierungen mit einer Sequenz erfordern die Angabe des Zeitpunkts der Neukalibrierung. Die Neukalibrierung wird von der Software dann automatisch vorgenommen. Weitere Informationen hierzu finden Sie in ["Automatische Neukalibrierung"](#) auf Seite 193.

Weitere Informationen zur Durchführung einer Neukalibrierung mithilfe der Software finden Sie im Abschnitt "How To" des Online-Hilfesystems.

## **Neukalibrierung nicht identifizierter Peaks**

Es gibt drei Möglichkeiten zur Neukalibrierung nicht identifizierter Peaks.

### **Keine Neukalibrierung**

Wenn ein Peak der Kalibriertabelle bei der Ausgabe der Integrationsergebnisse nicht identifiziert werden kann, wird die Kalibrierung abgebrochen. Wenn dies innerhalb einer Sequenz auftritt, wird die Sequenz ebenfalls abgebrochen.

### **Partielle Neukalibrierung**

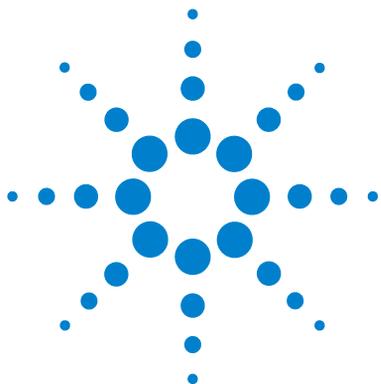
Diese Möglichkeit gestattet die Neukalibrierung der identifizierten Peaks. Fehlende Peaks führen nicht zum Abbruch der Kalibrierung, aber zu einem entsprechenden Hinweis im Report.

### **Neukalibrierung aller Retentions-/Migrationszeiten**

Diese Funktion gestattet die Neukalibrierung der Retentions-/Migrationszeiten aller identifizierten und nicht identifizierten Peaks. Dies geschieht mithilfe der Retentions-/Migrationszeiten aller identifizierten Peaks. Für nicht identifizierte Peaks ist keine Aktualisierung der Responsefaktoren verfügbar.

## **7 Kalibrierung**

### **Neukalibrierung**



## 8 Automatisierung

- Was ist Automatisierung? 173
- Was ist eine Sequenz bzw. eine Sequenzvorlage? 174
- Registerkarte "Preferences - Sequence" (Voreinstellungen - Sequenz) 175
- Sequenzparameter 177
- Sequenztafel 178
- Erstellen einer Sequenz (Sequenzen und Sequenzvorlagen) 179
  - Verwenden des Editors für Sequenztafeln 179
  - Verwenden der Schaltfläche "Insert Vial Range" (Probenbereich einfügen) 179
  - Verwenden der Schaltfläche "Append Line" (Zeile hinzufügen) 180
  - Verwendung der Schaltfläche "Custom Fields" (Benutzerdefinierte Felder) 180
- Arbeiten mit Sequenzen (Sequenzen und Sequenzvorlagen) 181
  - Vorrangproben 181
  - Durchführung von Sequenzen mit Kontrollproben 181
  - Stoppen einer Sequenz 182
  - Abbrechen einer Sequenz 182
  - Pausieren einer Sequenz 182
  - Ausführen einer Teilsequenz 182
- Logbuchdatei einer Sequenz 185
- Was geschieht während der Ausführung einer Sequenz? 186
- Struktur der Sequenzdatei (Erstellung eindeutiger Ordner EIN) 188
- Vergabe von Dateinamen in einer Sequenz 189
  - Automatische Vergabe von Dateinamen in einer Sequenz 189
  - Manuelle Vergabe von Dateinamen 190
- Arbeitsschritte nach der Sequenz 191



Nicht-bereit-Zeitlimit (nur bei LC und CE)	191
Wartezeit (nur bei LC und CE)	192
Automatische Neukalibrierung	193
Spezifizieren von Neukalibrierungen	194
Parameter für die Neukalibrierung in der Sequenztabelle	194
Sequenztypen	197
Explizite Kalibriersequenzen	198
Zyklische einstufige Kalibriersequenzen	199
Zyklische Kalibriersequenzen für mehrstufige Kalibrierung	200
Analysefolge der Methode A	201
Analysefolge der Methode B	202
Kombination aus expliziter und zyklischer Kalibrierung	204
Beispiel	204
Analysefolge der Methode „SimpReg“	205
Umschließende zyklische Kalibriersequenzen (Bracketing)	206
Beispiel	206
Arbeitsschritte einer umschließenden Kalibrierung	207
Beispiel	208
Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten	210
Zyklische Neukalibrierungssequenz mit "Round-Robin"-Kalibrierflaschen	210
Zyklische Neukalibrierung aus verschiedenen Kalibrierflaschen	212
Umschließende Sequenz mit verschiedenen Kalibrierflaschen vor und nach den Probeninjektionen	212

Dieses Kapitel beschreibt die Konzepte der Automatisierung. Erläutert wird die Arbeit mit Sequenzen bei der ChemStation, was beim Ablauf einer Sequenz geschieht und wie Sequenzen an spezifische Anforderungen angepasst werden können.

## Was ist Automatisierung?

Unter Automatisierung versteht man das unbeaufsichtigte Ausführen mehrerer Analysen.

Der Sequenzteil der ChemStation-Software ermöglicht Ihnen die automatische Datenerfassung, Datenanalyse und Reporterstellung.

## Was ist eine Sequenz bzw. eine Sequenzvorlage?

Eine Sequenz ist eine Folge von Anweisungen zur Automatisierung der Analyse von Proben.

Mit einer Sequenz können Proben automatisch injiziert und die Daten gemäß der für die Proben angegebenen Methoden erfasst und analysiert werden. Jede Probe in einer Sequenz kann mit einer anderen analytischen Methode analysiert werden, was unterschiedliche chromatographische/elektropherographische Bedingungen und Berechnungsparameter ermöglicht.

In der ChemStation stehen Ihnen zwei Datenspeicherungsmodi zur Verfügung, sodass Sie den Modus wählen können, der für Ihre Arbeitsabläufe am besten geeignet ist. Diese Modi wirken sich auf die Sequenznutzung aus:

- Erstellung eindeutiger Ordner EIN
- Erstellung eindeutiger Ordner AUS

Mit „Erstellung eindeutiger Ordner EIN“ zur Gewährleistung der Konsistenz der Probandaten werden Sequenzen als Sequenzvorlagen genutzt, mit denen sich die Erfassung mehrfach durchführen lässt. Diese Sequenzen können jedoch nicht zur erneuten Verarbeitung in der Methoden- und Analysenlaufsteuerung verwendet werden. Beim Ausführen einer Sequenzvorlage wird ein Container für die Sequenzdaten erstellt, der sämtliche zugehörigen Dateien enthält. Bei jeder Wiederverwendung der Sequenzvorlage wird ein neuer Sequenzdatencontainer erstellt.

Bei „Erstellung eindeutiger Ordner AUS“ werden alle Daten im selben Verzeichnis gespeichert. Die Sequenzdateien (\*.s) werden nicht als Sequenzvorlagen verwendet. Bei der erneuten Ausführung einer Sequenz werden vorhandene Daten überschrieben, wenn der Benutzer das Datenverzeichnis nicht ändert.

Die verfügbaren Sequenzen/Sequenzvorlagen (\*.s) werden im ChemStation-Explorer angezeigt. Zur schnellen und einfachen Navigation können Sie in der Strukturansicht im ChemStation-Explorer zusätzliche Speicherorte für Sequenzen/Sequenzvorlagen hinzufügen. Diese geben Sie in der Registerkarte **Paths** des Dialogfelds **Preferences** ein.

## Registerkarte "Preferences - Sequence" (Voreinstellungen - Sequenz)

In der Registerkarte "Sequence" (Sequenz) kann der Benutzer zwischen zwei unterschiedlichen Datenspeicherungsmodi wählen. Diese Modi legen fest, wie die Sequenzdaten in der ChemStation gespeichert werden.

### **Unique Folder Creation ON (Erstellung eindeutiger Ordner EIN)**

In diesem Datenspeicherungsmodus besteht zwischen den Rohdaten und der Methode eine dauerhafte, stabile Verknüpfung. Alle Datendateien sind unabhängig davon, ob sie in einer Sequenz oder bei einer Einzelanalyse erfasst wurden, mit mindestens zwei Methoden verknüpft: mit der Methode, die zur Datenerfassung verwendet wurde, und der Methode, mit der die Datenanalyse durchgeführt wurde.

Die Sequenzdaten werden unter Verwendung eines definierten Namens für den Container für Sequenzdaten in diesem gespeichert. Die Namenskonventionen (Namensmuster) für diese Sequenzcontainer können Sie in der Registerkarte "Sequence" (Sequenz) des Dialogfelds "Preferences" (Voreinstellungen) angeben. Wenn Sie kein Muster angeben, wird ein Standardmuster für Sequenznamen verwendet. Die Registerkarte "Sequence" (Sequenz) wird nur für die Datenerfassung verwendet und ist daher nur für Online-Systeme verfügbar.

Das Muster für Sequenznamen kann unterschiedliche Abschnitte enthalten. Basierend auf den von Ihnen ausgewählten Abschnitten im Sequenznamenmuster erstellt das System einen Namen für den Sequenzdatencontainer. In diesem Sequenzdatencontainer werden alle Datendateien, Methoden, das Sequenzlogbuch sowie die Dateien "sequence\_name.s" und "sequence\_name.b", die zu einer bestimmten Sequenz gehören, gespeichert. Der Sequenzdatencontainer wird beim Starten der Sequenz erstellt.

Die Sequenzdateien (\*.s) werden als Sequenzvorlagen verwendet. Mit diesem Konzept haben Sie die Möglichkeit, alle Sequenzdateien mehrere Male auszuführen, ohne dass vorhandene Daten überschrieben oder die Sequenzparameter geändert werden. Wenn im Sequenznamensmuster weder Zähler- noch Zeitangaben verwendet werden, führt das System automatisch einen Zähler

ein, um das Überschreiben der Daten zu vermeiden. Für die zweite, dritte und alle nachfolgenden Sequenzen, die dieselbe Sequenzvorlage verwenden, wird dem Sequenzcontainernamen ein Zähler hinzugefügt.

#### **Unique Folder Creation OFF (Erstellung eindeutiger Ordner AUS)**

In diesem Datenspeicherungsmodus ist nur der Methodename mit der Daten-datei und der zur Erfassung und Verarbeitung verwendeten Methode verknüpft. Es werden keine Kopien der Methode mit der Sequenz oder der Datendatei abgelegt. Bei einer Änderung der Methode oder bei Erstellung einer neuen Methode mit diesem Namen kann die Sequenz nicht genau reproduziert werden. Die Sequenzdatendateien werden gemäß den Parametern gespeichert, die im Dialogfeld "Sequence Parameters" (Sequenzparameter) unter "Data File" (Datendatei) angegeben sind. Die Funktion zur Sequenzbenennung auf der Registerkarte "Sequence" (Sequenz) des Dialogfelds "Preferences" (Voreinstellungen) ist in diesem Modus deaktiviert. Dieser Datenspeicherungsmodus ist mit den Prozessen in älteren ChemStation-Versionen als B.02.01 identisch. Aus diesem Grund können die neuesten Funktionen für die Datenprüfung und erneute Verarbeitung der ChemStation-Ansicht "Data Analysis" (Datenanalyse) nicht vollständig genutzt werden.

#### **HINWEIS**

Sequenzdaten, die mit deaktivierter Option "Erstellung eindeutiger Ordner" erfasst wurden, müssen mit der Option "Reprocess" (Erneut verarbeiten) in der Ansicht "Method and Run Control" (Methoden- und Analysensteuerung) erneut verarbeitet werden.

---

#### **HINWEIS**

Für die Add-on-Lösungen G2189BA ChemStation OpenLAB und G2181BA ChemStore muss der Modus "Unique Folder Creation ON" (Erstellung eindeutiger Ordner EIN) verwendet werden. Wenn das Add-on zusätzlich zur ChemStation-Software installiert wird, ist die Option "Unique Folder Creation OFF" (Erstellung eindeutiger Ordner AUS) nicht mehr verfügbar.

---

## Sequenzparameter

Das Dialogfeld **Sequence Parameters** enthält Informationen, die für alle Proben einer Sequenz gleich bleiben. Sie können in diesem Dialogfeld folgende Parameter einstellen:

- Wählen Sie das Datenverzeichnis im Kombinationsfeld **Path** aus, geben Sie den Bedienernamen ein (der im Dialogfeld **access level** eingegebene Bedienername wird angezeigt) und
- geben Sie an, wie die Sequenzverarbeitung ausgeführt werden soll, indem Sie die entsprechenden Methoden- und Analysenlaufparameter auswählen.

Hier können zum Beispiel folgende Eingaben gemacht werden:

- Durchführung der Sequenz entsprechend der Runtime-Checkliste
- Nur die Datenerfassung durchführen
- Nur erneute Verarbeitung: für Daten, die mit ChemStation B.01.03 oder einer früheren Version erfasst wurden, und für Daten, die mit der Option **Unique Folder Creation OFF** erfasst wurden

### HINWEIS

Sequenzdaten, die mit ChemStation-Versionen bis B.01.03 oder mit der Option **Unique folder Creation OFF** erfasst wurden, müssen mit der Option **reprocess** in der Ansicht **Method and Run Control** erneut verarbeitet werden.

Sequenzdaten, die mit der ChemStation-Version B.02.01 oder einer höheren Version erfasst wurden, müssen mit der Option **reprocess** in der Navigationstabelle **Data Analysis Navigation table** erneut verarbeitet werden.

Wenn die Option **reprocess** gewählt wird, können Sie zwischen den Probendaten, die bei der ursprünglichen Auswertung der Proben gewählt wurden, oder aktualisierten Daten wählen. Dies geschieht durch Aktivieren des Kontrollkästchens **Use Sequence Table information** oder durch Eingabe der Daten in die Sequenztabelle.

- Legen Sie mit dem Parameter **shutdown** fest, was nach Ende der Sequenz geschehen soll.
- Legen Sie fest, ob Strichcodes verwendet werden sollen und was bei einer Nichtübereinstimmung der Strichcodes geschehen soll. Dies setzt voraus, dass Sie einen Strichcodeleser an Ihrem System angeschlossen haben.

## Sequenztafel

In der Sequenztafel werden die Methoden zur Analyse der Proben und die Reihenfolge der Probenflaschen in der Messung festgelegt. Diese Tafel enthält auch Informationen zu jeder Probe, einschließlich eines Namens und Parametern zur Quantifizierung und Neukalibrierung.

Das Gruppenfeld "Injector" (Injektor) wird beim Einsatz mit Instrumenten angezeigt, die Dual Sampling unterstützen, z. B. ein GC. Die Wahl von **Front** (Vorne) oder **Back** (Hinten) zeigt die Zeilen in der Sequenztafel neben dem aktiven Status dieses Injektors an.

Eine Beschreibung der einzelnen Spalten dieser Tafel und das Zusammenwirken mit Informationen aus der Methode finden Sie in der Online-Hilfe.

## Erstellen einer Sequenz (Sequenzen und Sequenzvorlagen)

Verwenden Sie die Sequenztabelle zur Festlegung der Proben, Methoden und Probenflaschen in der Sequenz. Die Sequenztabelle zeigt alle Proben der Sequenz in der Reihenfolge, in der die Analyse erfolgt, und enthält die notwendigen Informationen bezüglich Probenflaschen, Methode und Kalibrierung für jede Probe.

### Verwenden des Editors für Sequenztabelle

Wenn Sie die Darstellung und den Inhalt Ihrer Sequenztabelle ändern möchten, öffnen Sie den Editor für Sequenztabelle, indem Sie in der unteren rechten Ecke der Sequenztabelle auf das Listensymbol klicken. Der Editor für Sequenztabelle wird geöffnet, in dem Sie festlegen können, ob eine bestimmte Spalte in der Sequenztabelle gezeigt wird. Weiterhin kann für jede Spalte der Sequenztabelle die Spaltenbreite bestimmt werden. Abhängig von der installierten Software werden weitere Spaltenfelder hinzugefügt, z. B. das Feld "Target Mass" (Zielmasse) bei einem installierten LC/MS oder das Feld "Study" (Studie) bei einer ChemStore Add-On Installation.

### Verwenden der Schaltfläche "Insert Vial Range" (Probenbereich einfügen)

Wenn viele Proben dieselbe Methode verwenden, können Sie diese schnell in die Sequenztabelle einfügen, indem Sie die Funktion "Insert Vial Range" (Probenbereich einfügen) nutzen. Diese Funktion kopiert Methodennamen, Bereich der Probenflaschen, Anzahl der Injektionen pro Probenflasche und bei Bedarf die Probenmenge, STD-Menge, Multiplikations- und Verdünnungsfaktor. Das System fügt die erforderlichen Informationen für jede Probe innerhalb dieses Bereichs in die Sequenztabelle ein.

## 8 Automatisierung

### Erstellen einer Sequenz (Sequenzen und Sequenzvorlagen)

#### **Verwenden der Schaltfläche "Append Line" (Zeile hinzufügen)**

Wenn Sie eine leere Zeile an die Sequenz anhängen möchten, klicken Sie auf die Schaltfläche "Append Line" (Zeile hinzufügen).

#### **Verwendung der Schaltfläche "Custom Fields" (Benutzerdefinierte Felder)**

Wenn in den Methoden in der Sequenztabelle benutzerdefinierte Felder eingerichtet worden sind, können Sie mit der Schaltfläche "Custom Fields" die Werte dieser Felder für jede Probe ändern (probenbezogene Felder) oder Werte für die Substanzen in einer Methode eintragen (substanzbezogene Felder).

## Arbeiten mit Sequenzen (Sequenzen und Sequenzvorlagen)

Sequenzen (Sequenzen und Sequenzvorlagen) werden über das Sequenzmenü erstellt und aufgerufen. Sequenzen werden auf dieselbe Weise erstellt und gespeichert wie Methoden. Beim Speichern einer Sequenz wird eine Datei mit der Erweiterung ".S" angelegt. Wenn Sie die Sequenz erneut bearbeiten oder laden möchten, erfolgt der Zugriff mit "Load Sequence" (Sequenz laden) im Menü "Sequence" (Sequenz).

### Vorrangproben

Eine aktuell laufende Sequenz kann nach Abschluss der aktuellen Methode unterbrochen werden. Eine eingeschobene Vorrangprobe kann dann mit derselben oder einer anderen Methode analysiert werden. Die Sequenz wird anschließend mit derjenigen Probe fortgesetzt, mit der die Sequenz auch ohne Unterbrechung weitergelaufen wäre.

### Durchführung von Sequenzen mit Kontrollproben

Eine Probe kann im Feld "Sample Type" (Probentyp) der Sequenztafel als Kontrollprobe festgelegt werden. Die Methode, mit der diese Probe analysiert wird, muss eine Kalibriertabelle enthalten, in der Grenzwerte für eine der enthaltenen Substanzen eingegeben sind. Wenn die festgelegten Grenzwerte für die Kontrollprobe überschritten werden, wird die Sequenz gestoppt und eine Meldung in das Logbuch geschrieben. Wenn Sie eine der Reportvorlagen der ChemStation verwenden, werden die Grenzwerte für die Kontrollproben in den Analysenreport aufgenommen. Weitere Informationen zum Festlegen einer Sequenz mit Kontrollproben finden Sie im Abschnitt "How To" Ihres Online-Hilfesystems.

## Stoppen einer Sequenz

Der aktuelle Analysenlauf wird vor dem Stoppen der Sequenz vollständig abgeschlossen. Eine gestoppte Sequenz kann nicht mehr fortgesetzt werden.

## Abbrechen einer Sequenz

Mit der Funktion "Abort" (Abbrechen) wird eine Sequenz sofort abgebrochen.

## Pausieren einer Sequenz

Während einer Pause im Sequenzablauf können die Namen von Sequenztabeln und Datensätzen nicht geändert werden. Sie können in der Sequenztabelle nur die Zeilen, die noch nicht bearbeitet wurden, oder in der aktuellen Zeile die Nummer der Probenflasche ändern. Sie können bei anstehenden Analysen Zeilen hinzufügen, löschen und ändern.

Es könnte zum Beispiel erforderlich sein, einer aktiven Sequenz weitere Proben hinzuzufügen. Sie können die Sequenz bearbeiten und angeben, dass diese Proben im Anschluss an die aktuell laufende Sequenz analysiert werden.

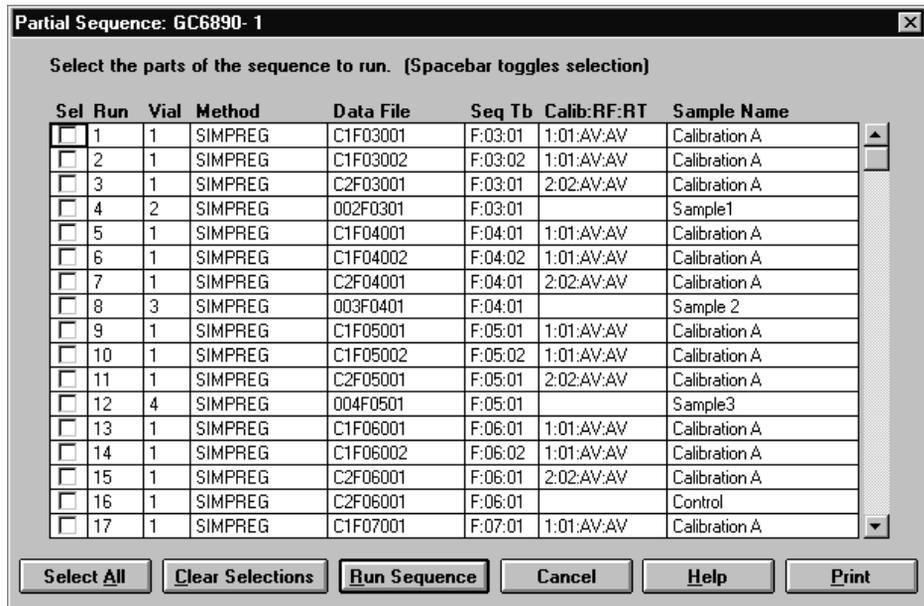
## Ausführen einer Teilsequenz

Eine bereits erstellte Sequenztabelle kann durch Wahl von **Partial Sequence** im Menü **Sequence** auch teilweise ausgeführt werden. Das System zeigt das Dialogfeld **Partial Sequence** an und ermöglicht Ihnen die Auswahl einzelner Proben aus der Analysentabelle.

Jede Zeile des Dialogfelds **Partial Sequence** entspricht einem Analysenlauf. Für jeden Analysenlauf werden Probenfläschchen, Methode, Datendatei- und Probenname angegeben. Zusätzlich enthalten die Spalten „Seq Tbl“ und „Calib:RF:RT“ kodierte Informationen zur Sequenztabelle und den Kalibrierproben. In der Online-Hilfe finden Sie die Erläuterungen dieser Kodierungen.

Über die Schaltfläche **Print** können Sie die Teilsequenz ausdrucken.

Das folgende Dialogfeld **Partial Sequence** wird angezeigt, wenn die Simpreg-Methode und die Sequenztabelle, die später in **Tabelle 20** auf Seite 204 und **Tabelle 21** auf Seite 205 gezeigt werden, aktuell sind. Die Proben 1, 2, 4, 5 und 8 sind für die Bearbeitung markiert.



**Abbildung 38** Dialogfeld "Partial Sequence" (Teilsequenz)

### Teilsequenz im Modus „Erstellung eindeutiger Ordner EIN“

Die Sequenzdaten werden unter Verwendung eines definierten Namens für den Container für Sequenzdaten in diesem gespeichert. Bei der Analyse einer Teilsequenz erstellt das System bei jeder Ausführung eines Teils dieser Sequenz basierend auf den **Preference** einen neuen Sequenzdatencontainer. Auf diese Weise ist es möglich, z. B. drei Sequenzdatencontainer derselben Sequenz zu erstellen, indem drei Mal eine Teilsequenz ausgeführt wird, die auf derselben Sequenz basiert.

## 8 Automatisierung

### Arbeiten mit Sequenzen (Sequenzen und Sequenzvorlagen)

#### **Teilsequenz im Modus „Erstellung eindeutiger Ordner AUS“**

Die Sequenzdatendateien werden gemäß den Parametern gespeichert, die im Dialogfeld **Data File** unter **Sequence Parameters** angegeben sind. Auch wenn die Sequenz nur teilweise ausgeführt wird, werden alle Datendateien im selben Unterverzeichnis abgelegt.

## Logbuchdatei einer Sequenz

Es wird eine Logbuchdatei angelegt, die alle während der Ausführung der Analyse aufgetretenen Ereignisse enthält. Dies ist zur Fehlererkennung bei unbeobachtet ausgeführten Sequenzen, zum Beispiel über Nacht, von Nutzen. Der Name der Logbuchdatei hat immer die Dateierweiterung ".log". Die Logbuchdatei befindet sich in dem Verzeichnis, in dem die Sequenzdaten gespeichert sind.

# Was geschieht während der Ausführung einer Sequenz?

## **Sequenz mit der Option "Unique Folder Creation ON" (Erstellung eindeutiger Ordner EIN) starten**

Das System erstellt einen Sequenzdatencontainer basierend auf der Pfaddefinition in den Sequenzparametern und den Sequenzvoreinstellungen. Die Sequenzvorlage (\*.s) und alle in der Sequenztabelle für diese Sequenz definierten Methoden werden in denselben Sequenzdatencontainer kopiert. Bei der Erfassung verwendet das System weiterhin diese Dateien. Beim Starten der Sequenz wird die in der entsprechenden Sequenzzeile aufgeführte Methode aus diesem Datencontainer in der ChemStation geladen.

## **Sequenz mit der Option "Unique Folder Creation OFF" (Erstellung eindeutiger Ordner AUS) starten**

Beim Starten einer Sequenz lädt das System die Sequenzdatei (\*.s) und die dem Eintrag in der jeweiligen Sequenzzeile der Sequenztabelle entsprechende Methode in die ChemStation. Anders als beim zweiten Datenspeicherungsmodus "Unique Folder Creation ON" (Erstellung eindeutiger Ordner EIN) wird kein Sequenzdatencontainer erstellt. Sequenzen und Methoden verbleiben in ihrem Hauptverzeichnis.

## **Weitere Schritte bei der Sequenzausführung:**

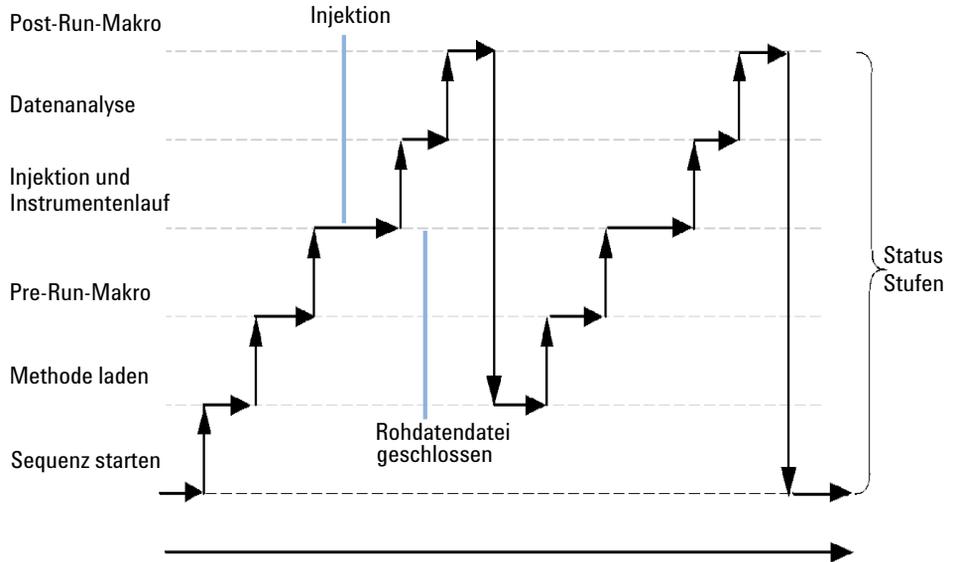
Die folgenden Schritte werden für jede ausgeführte Sequenzzeile wiederholt:

- Bei vorhandenem Autosampler sucht die ChemStation-Software zuerst die Probe im Autosampler gemäß der Zahl in der Spalte "Vial" (Probenflasche).
- Die Methodenparameter werden an das Analyseninstrument übergeben.
- Das Makro vor dem Analysenlauf wird ausgeführt.
- Die Probe wird entweder manuell oder automatisch in das Instrument injiziert.
- Die Datenanalyse der Methode wird durchgeführt. Dies umfasst Integration, Quantifizierung, Reporterstellung und ggf. benutzerdefinierte Makros. Bei aktivierter Option "Erstellung eindeutiger Ordner" speichert das System beim Analysenlauf zwei weitere Methoden namens ACQ.M und DA.M.

Was geschieht während der Ausführung einer Sequenz?

- Das Makro nach dem Analysenlauf wird ausgeführt.
- Während des gesamten Vorgangs protokolliert die ChemStation den Fortschritt der Sequenz in Echtzeit und legt eine Logbuchdatei an.

**Status der ChemStation**



**Abbildung 39** Sequenzstatus

## Struktur der Sequenzdatendatei (Erstellung eindeutiger Ordner EIN)

In ChemStation Version B.02.01 und höher wurde die Verbindung zwischen den Rohdaten und der Methode gestärkt, wie in der Abbildung „Struktur der Sequenzdatendatei (Erstellung eindeutiger Ordner EIN)“ dargestellt.

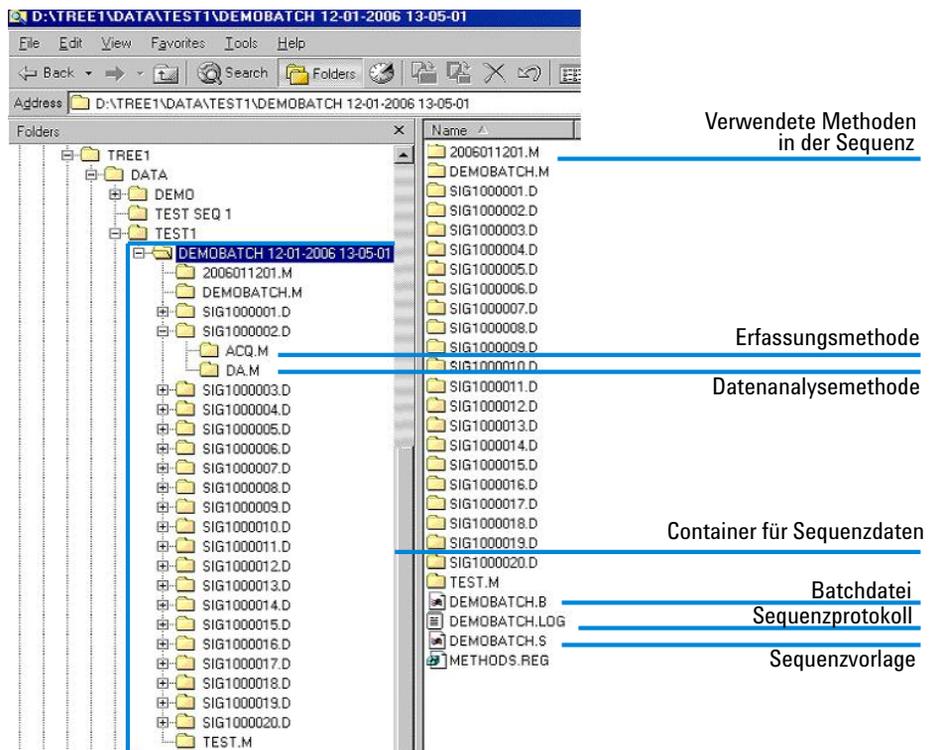


Abbildung 40 Struktur der Sequenzdatendatei

## Vergabe von Dateinamen in einer Sequenz

In einer Sequenz können Dateinamen folgendermaßen vergeben werden:

- automatisch
- manuell
- mit Präfix/Zähler

### Automatische Vergabe von Dateinamen in einer Sequenz

#### Probenflaschen

Beispiel: 017-0103.D

wobei

- Die ersten drei Stellen nennen die Nummer der Probenflasche, hier 017.
- Die vierte Stelle bei der Flüssigkeitschromatographie und Kapillar-Elektrophorese ist ein Trennstrich (-). In der Gaschromatographie erscheint hier entweder ein F (für Front) oder ein B (für Back).
- Die fünfte und sechste Stelle stehen für die Zeilennummer der Sequenz, die die verwendete Methode vorgibt, hier 01 für die erste Zeile der Sequenz.
- Die siebte und achte Stelle entsprechen der Injektionsnummer dieser Probenflasche mit dieser Methode, hier 03 für die dritte Injektion.

#### Analyse von Leerproben

Beispiel: NV--0499.D

wobei

- NV steht für "no vial" (keine Probenflasche)
- - ist der Trennstrich
- 0499 ist die 99. Leerprobe aus Sequenzzeile 4.

## Manuelle Vergabe von Dateinamen

Eine Spalte in der Sequenztabelle hat die Beschriftung "Datafile" (Datendatei). Wenn hier nichts eingetragen wird, werden die Dateinamen nach einer der anderen Möglichkeiten (automatisch oder über Präfix/Zähler) vergeben. Wird in die Spalte mit der Beschriftung "Datafile" (Datendatei) Text eingegeben, verwendet die ChemStation diesen Text als Dateinamen für den Analysenlauf.

Wenn in einer Zeile mit einem manuell vergebenen Dateinamen für eine Probenflasche mehrere Injektionen vorgesehen sind, schneidet die ChemStation automatisch Buchstaben vom eingegebenen Namen ab und hängt die Injektionsnummer an. Dies verhindert, dass derselbe Dateiname für mehrere Injektionen vergeben wird.

### Vergabe von Dateinamen über einen Präfix/Zähler

Wenn Sie für die Benennung von Datendateien Präfix und Zähler verwenden, erstellt die ChemStation für jede Analyse einen Namen. Bei Instrumenten, die Analysen mit Doppelsignalen ermöglichen, z. B. dem GC, erstellt die ChemStation für jedes Signal einen Dateinamen.

Bei der Einrichtung der Sequenz sind lange Dateinamen für Präfix/Zähler möglich. Der Name einer Datendatei mit Präfix/Zähler kann bis zu fünfzehn Zeichen lang sein, was zusammen mit der Erweiterung ".d" siebzehn Zeichen ergibt.

Folgende Regeln gelten für das Feld "Prefix/counter" (Präfix/Zähler):

- Der Zähler darf bis zu 6 Zeichen lang sein
- Wenn ein Präfix kürzer als neun Zeichen ist, wird die Stellenzahl des Zählers automatisch auf 6 Ziffern erhöht
- Die als Zähler angegebene Zahl ist die Startzahl, die hoch gezählt wird

**Tabelle 15**

Präfix	Zähler	ergibt den Dateinamen
long	000001	long000001
longname	000001	longname000001
testwithalongna	1	testwithalongna1

## Arbeitsschritte nach der Sequenz

Sie können angeben, was nach dem Ende der planmäßigen Sequenzanalyse oder wenn die ChemStation während der Analyse einen Fehler entdeckt, geschehen soll. Für LC-Sequenzen ermöglicht das Kontrollkästchen "Post-Sequence Cmd/Macro" (Befehl/Makro nach Sequenzende) des Dialogfelds "Sequence Parameters" (Sequenzparameter) folgende Auswahlmöglichkeiten:

- Aktivieren des STANDBY-Status mit ausgeschalteter Pumpe und Lampe
- Aktivieren des LAMPOFF-Status mit ausgeschalteten Lampen (nur bei LC und CE)
- Aktivieren des PUMPOFF-Status mit ausgeschalteten Pumpen (nur bei LC und CE)
- Aktivieren eines SHUTDOWN-Makros oder Modifikation von SHUTDOWN.MAC zur Festlegung bestimmter Operationen.

So können Sie Ihr System nach der Ausführung der Sequenz abschalten. Das Makro SHUTDOWN kann auch zum Reduzieren oder Abschalten des Flusses benutzt werden.

Im Dialogfeld "Sequence Parameters" (Sequenzparameter) können Sie die Ausführung eines beliebigen Makros festlegen, indem Sie dessen Namen im Feld "Post-Sequence Cmd/Macro" (Befehl/Makro nach Sequenzende) eingeben und das Kontrollkästchen aktivieren.

### Nicht-bereit-Zeitlimit (nur bei LC und CE)

Der Parameter "Not Ready Timeout" (Nicht-bereit-Zeitlimit) im Dialogfeld "Sequence Parameters" (Sequenzparameter) bestimmt die Zeitdauer, die das System maximal darauf wartet, dass ein Instrument bereit ist. Nach einer Zeitüberschreitung erfolgt eine Abschaltung (Shutdown).

## Wartezeit (nur bei LC und CE)

Im Dialogfeld "Sequence Parameters" (Sequenzparameter) kann eine Wartezeit angegeben werden, die nach dem Laden der Methode und vor der ersten Injektion mit dieser Methode verstreicht. Diese kann zur Äquilibration der Säulen/Kapillare bei neuen Analysenbedingungen verwendet werden.

## Automatische Neukalibrierung

Eine Kalibrierung wird in der Regel nach dem Ändern der Arbeitsbedingungen, z. B. nach dem Wechsel einer Säule oder Kapillare, durchgeführt. Eine automatische Neukalibrierung wird normalerweise beim Start einer Sequenzanalyse oder in regelmäßigen Abständen während der Sequenz zur Kompensation von Faktoren durchgeführt, die das analytische Ergebnis beeinflussen.

Zur Durchführung einer automatischen Sequenzneukalibrierung stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung:

- Explizit angegebene Kalibriersequenzen
- Zyklische Kalibriersequenzen

### **Neukalibrierung im Modus "Unique Folder Creation ON" (Erstellung eindeutiger Ordner EIN)**

Während der Neukalibrierung wird die Kalibriertabelle der verwendeten Methode gemäß den festgelegten Methodeneinstellungen aktualisiert. Bei Verwendung des Datenspeicherungsmodus "Unique Folder Creation ON" (Erstellung eindeutiger Ordner EIN) sind die neu kalibrierten Methoden im Sequenzdatencontainer vorhanden. Bei diesem Vorgang wird die Kalibriertabelle der Sequenzmethode aktualisiert. Darüber hinaus enthält die DA.M-Methode der einzelnen Datendateien die aktualisierte Kalibrierung, die zur Ergebniserzeugung verwendet wurde.

### **Neukalibrierung im Modus "Unique Folder Creation OFF" (Erstellung eindeutiger Ordner AUS)**

Während der Neukalibrierung wird die Kalibriertabelle der verwendeten Methode gemäß den festgelegten Methodeneinstellungen aktualisiert. Bei Verwendung des Datenspeicherungsmodus "Unique Folder Creation OFF" (Erstellung eindeutiger Ordner AUS) wird die Kalibriertabelle der Mustermethode bei der Neukalibrierung aktualisiert.

## Spezifizieren von Neukalibrierungen

Die Parameter zur Neukalibrierung einer Sequenz werden direkt in die Sequenztabelle eingetragen. Diese Parameter legen fest, wie die Methode im Lauf einer Sequenz neu kalibriert wird.

### Parameter für die Neukalibrierung in der Sequenztabelle

Der Responsefaktor und die Retentions-/Migrationszeiten können auf mehrere Arten aktualisiert werden. Der Kalibrierpunkt, der aktualisierte Responsefaktor und die aktualisierten Retentions-/Migrationszeiten werden in der Datenanalyse benutzt, wenn die Kalibriertabelle neu kalibriert wurde.

Wenn in der Spalte mit der Beschriftung "SampleType" (Probentyp) der Probentabelle "Calibration" (Kalibrierung) eingegeben ist, werden folgende Spalten aktiviert und somit bearbeitbar:

- CAL Level (Kalibrierstufe)
- Update RT (RT aktualisieren)
- Update RF (RF aktualisieren)
- Interval (Intervall)

Die Werte, die Sie für jede dieser Spalten eingeben können, sind in der Tabelle aufgeführt.

**Tabelle 16** Die Parameter für die Neukalibrierung in der Sequenztabelle

<b>CAL Level</b>	<b>Update RT (RT aktualisieren)</b>	<b>Update RF (RF aktualisieren)</b>	<b>Interval (Intervall)</b>
Calibration table Level # (1-999) (Kalibriertabelle - Stufe [1-999])	No Update (Keine Aktualisierung)	No Update (Keine Aktualisierung)	Cyclic recalibration interval # (1-999) (Zyklisches Neukalibrierungsintervall ([1-999]))
	Average (Mittelwert)	Average (Mittelwert)	Blank (Leerprobe)
	Replace (Ersetzen)	Replace (Ersetzen)	

**Tabelle 16** Die Parameter für die Neukalibrierung in der Sequenztabelle

CAL Level	Update RT (RT aktualisieren)	Update RF (RF aktualisieren)	Interval (Intervall)
		Bracket (Klammer)	
		Delta%	

Die Tabelle zeigt die Spalten der Sequenztabelle, die die Parameter für die Neukalibrierung enthalten, sowie die verfügbaren Werte.

### **No Update (Keine Aktualisierung)**

Responsefaktoren und Retentions-/Migrationszeiten werden nicht aktualisiert.

### **Replace (Ersetzen)**

Ersetzt die vorherigen Retentions-/Migrationszeiten und Responsewerte (Flächen oder Höhen) mit den Werten des aktuellen Laufs. Der Response wird für Peaks, die in diesem Lauf nicht gefunden wurden, nicht geändert.

### **Average (Mittelwert)**

Aus den Retentions-/Migrationszeiten und Responsewerten (Fläche oder Höhe) der Originalkalibrierung und allen nachfolgenden Kalibrierungen werden für jeden Peak Mittelwerte gebildet. Wenn ein Peak in einem der Neukalibrierläufe fehlt, wird die durchschnittliche Response nicht beeinträchtigt.

### **Klammer**

Die Analysenläufe werden von Kalibrierungen vor und nach der Messung umschlossen. Die Auswertung wird durchgeführt, nachdem die letzte Kalibrierprobe analysiert wurde. Die vorhandenen Kalibrierdaten werden durch die Ergebnisse des Kalibrierungslaufs der öffnenden Klammer ersetzt. Die schließende Kalibrierung wird mit jener in der Kalibriertabelle gemittelt.

### **Interval (Intervall)**

Das Intervall legt die Häufigkeit von Neukalibrierungen während der Analyse einer Sequenz fest. Die Kalibrierhäufigkeit entspricht der Anzahl durchzuführenden Probeninjektionen, die vor dem nächsten Satz an Kalibrierinjektionen analysiert werden. Zu Beginn des Analysenlaufs wird eine Kalibrierung durchgeführt und die Ergebnisse (Responsefaktoren) werden in der Kalibriertabelle eingetragen. Diese Ergebnisse werden in den folgenden quantitativen Berechnungen verwendet. Nach der vorgegebenen Zahl von Injektionen wird eine erneute Kalibrierung durchgeführt. Deren Ergebnisse werden in die Kalibriertabelle eingegeben und überschreiben die früheren Ergebnisse.

### **Delta%**

Mithilfe der Delta%-Berechnung lassen sich die Responsefaktoren einer Analyse mit Responsefaktoren vergleichen, die von Hand in eine Kalibriertabelle eingetragen wurden. Dabei wird Delta% auf alle kalibrierten Peaks der Tabelle angewandt. Sie können verschiedene interne Standards festlegen, über deren gemessene Responsefaktoren dann die neuen Responsefaktoren der anderen Peaks berechnet werden. Sie legen für jeden Peak in der Kalibriertabelle fest, welcher interne Standard für die Delta%-Berechnung verwendet werden soll.

## Sequenztypen

Es gibt folgende Sequenztypen:

- Explizite Kalibriersequenzen
- Explizite einstufige Kalibriersequenzen
- Zyklische mehrstufige Kalibriersequenzen
- Explizite und zyklische Kalibrierungen in einer Sequenz
- Umschließende zyklische Kalibriersequenzen

## Explizite Kalibriersequenzen

Dieser Sequenztyp führt eine Neukalibrierung in den Intervallen durch, die Sie in der Sequenztabelle eingegeben haben.

Zur Durchführung expliziter Kalibriersequenzen werden die Kalibrierproben in die Sequenz eingegeben, ohne dass ein Eintrag für ein Intervall in der Sequenztabelle erfolgt. Eine Neukalibrierung wird mit jeder in der Sequenztabelle eingetragenen Kalibrierprobe durchgeführt.

## Zyklische einstufige Kalibriersequenzen

Dieser Sequenztyp entnimmt in regelmäßigen Abständen Kalibrierlösung aus derselben Probenflasche.

Das Intervall in der Sequenztabelle legt fest, wie oft die Neukalibrierung durchgeführt wird. Ein Intervall von 2 führt zu einer Neukalibrierung nach jeweils zwei analysierten Proben der Sequenz.

## Zyklische Kalibriersequenzen für mehrstufige Kalibrierung

Dieser Sequenztyp benutzt mehrere Kalibrierproben zur Neukalibrierung einer Mehrpunktkalibrieremethode.

Das folgende Beispiel beschreibt eine Sequenz, die aus den beiden Methoden A und B zur Kalibrierung besteht und mit der zwei verschiedene Probengruppen analysiert werden. Beide Methoden sind Mehrpunktkalibrierungen, die in definierten Intervallen automatisch rekaliert werden.

Für jede Methode existieren drei Einträge in der Sequenztabelle:

- Zwei Kalibrierpunkte:
  - Sequenzzeilen 1 und 2 in Methode A.
  - Sequenzzeilen 8 und 9 in Methode B.
- Fünf Einträge für Proben:
  - Sequenzzeilen 3 bis 7 für Methode A.
  - Sequenzzeilen 10 bis 14 für Methode B.

Die Angabe der regelmäßigen Intervalle erfolgt durch Einträge unter „Recalibration Interval“ in der Rekalibrierungstabelle der Sequenz.

- Methode A wird nach der Vermessung von jeweils 2 Proben rekaliert.
- Methode B wird nach der Vermessung von jeweils 3 Proben rekaliert.

Die unten aufgeführte Sequenztabelle ist zur Vereinfachung des Beispiels verkürzt.

**Tabelle 17** Sequenztabelle für Methode A und Methode B

Zeile	Probenflasche	Methodenname	Inj/Probenflasche	Proben typ	Kalibrierstufe	RF aktualisieren	RT aktualisieren	Intervall
1	1	Methode A	1	Kalibrierung	1	Mittelwert	Keine Aktualisierung	2
2	2	Methode A	1	Kalibrierung	2	Mittelwert	Keine Aktualisierung	2
3	10	Methode A	1					

**Tabelle 17** Sequenztabelle für Methode A und Methode B

Zeile	Proben- flasche	Methodenname	Inj./Proben- flasche	Proben typ	Kalibrier- stufe	RF aktualisieren	RT aktualisieren	Intervall
4	11	Methode A	1					
5	12	Methode A	1					
6	13	Methode A	1					
7	14	Methode A	1					
8	3	Methode B	1	Kalibrierung	1	Mittelwert	Keine Aktualisierung	3
9	5	Methode B	2	Kalibrierung	2	Mittelwert	Keine Aktualisierung	3
10	20	Methode B	1					
11	21	Methode B	1					
12	22	Methode B	1					
13	23	Methode B	1					
14	24	Methode B	1					

## Analysenfolge der Methode A

Dieser Abschnitt beschreibt die Analysenfolge der Methode A, die den ersten Teil der Sequenz mit zwei Methoden darstellt.

**Tabelle 18** Analysenfolge der Methode A

Inj.-Nr.	Methode	Probenflasche	Betrieb
1	Methode A	1	Kalibrierstufe 1 und Report
2	Methode A	2	Kalibrierstufe 2 und Report
3	Methode A	10	Probenanalyse und Report
4	Methode A	11	Probenanalyse und Report
5	Methode A	1	Kalibrierstufe 1 und Report

**Tabelle 18** Analysenfolge der Methode A

6	Methode A	2	Kalibrierstufe 2 und Report
7	Methode A	12	Probenanalyse und Report
8	Methode A	13	Probenanalyse und Report
9	Methode A	1	Kalibrierstufe 1 und Report
10	Methode A	2	Kalibrierstufe 2 und Report
11	Methode A	14	Probenanalyse und Report

## Analysenfolge der Methode B

Dieser Abschnitt beschreibt die Analysenfolge der Methode B, die den zweiten Teil der Sequenz mit zwei Methoden darstellt.

Methode B unterscheidet sich dadurch von Methode A, dass in Kalibrierstufe 2 zwei Injektionen pro Probenflasche erfolgen. Der Intervalleintrag ist auf 3 gesetzt

**Tabelle 19** Analysenfolge der Methode B

Inj.-Nr.	Methode	Probenflasche	Betrieb
12	Methode B	3	Kalibrierstufe 1 und Report
13	Methode B	5	Kalibrierstufe 2 und Report
14	Methode B	5	Kalibrierstufe 2 und Report
15	Methode B	20	Probenanalyse und Report
16	Methode B	21	Probenanalyse und Report
17	Methode B	22	Probenanalyse und Report
18	Methode B	3	Kalibrierstufe 1 und Report
19	Methode B	5	Kalibrierstufe 2 und Report
20	Methode B	5	Kalibrierstufe 2 und Report
21	Methode B	23	Probenanalyse und Report
22	Methode B	24	Probenanalyse und Report

Beachten Sie, dass die Ergebnisse in [Tabelle 18](#) auf Seite 201 (Methode A) und [Tabelle 19](#) auf Seite 202 (Methode B) durch Verwendung von "Partial Sequence" (Teilsequenz) erhalten werden können. Nach dem Einrichten der Sequenztabelle kann damit eine Vorschau auf die Analysenfolge aufgerufen werden.

## Kombination aus expliziter und zyklischer Kalibrierung

Dieser Sequenztyp besteht aus expliziten und zyklischen Kalibrierungen in derselben Sequenz.

Diese Möglichkeit erlaubt Ihnen eine komplette Neukalibrierung der Methode zu Beginn einer Sequenz (*explizite Neukalibrierung*) und danach die Aktualisierung der Kalibrierung (*zyklische Neukalibrierung*) während der Sequenz.

- Für jede Kalibrierstufe in der Sequenztabelle müssen zwei Zeilen für die Kalibrierung angegeben werden. Eine Zeile enthält die Einträge für die explizite, die andere die für die zyklische Neukalibrierung.
- Die Sequenztabelle muss Einträge für jede Kalibrierzeile aufweisen. Alle Probenflaschen der zyklischen Neukalibrierungen müssen vor den Einträgen der expliziten Neukalibrierung und der Proben selbst eingetragen werden.

### Beispiel

Die unten dargestellte Sequenztabelle zeigt eine Methode mit Einpunktkalibrierung namens SimpReg. Sie ist zur Vereinfachung des Beispiels verkürzt.

**Tabelle 20** Sequenztabelle für SIMPREG

1	1	SimpReg	1	Kalibrierung	1	Mittelwert	Mittelwert	3
2	1	SimpReg	1	Kalibrierung	1	Ersetzen	Ersetzen	
3	2	SimpReg	1					
4	3	SimpReg	1					
5	4	SimpReg	1					
6	5	SimpReg	1					
7	6	SimpReg	1					

Die Tabelle hat zwei Einträge für einen Kalibrierpunkt.

- Die erste Zeile bezieht sich auf denselben Kalibrierpunkt und gibt die Mittelwertbildung der Kalibrierparameter vor. Das Rekalibrierintervall gibt an, dass nach je drei Proben eine Neukalibrierung durchgeführt wird.
- Der zweite Eintrag ersetzt alle Parameter der Neukalibrierung, d. h. es erfolgt eine vollständige Neukalibrierung. Es gibt *kein* Neukalibrierungsintervall.

### Sequenztafel

Die Sequenztafel besteht aus sieben Zeilen. Die erste Zeile spezifiziert die Probe zur zyklischen Neukalibrierung. Die zweite Zeile spezifiziert die explizite Neukalibrierung, die zu Beginn der Sequenz durchgeführt wird. Die dritte bis siebte Zeile spezifiziert die zu analysierenden Proben.

Die Reihenfolge der Einträge in die Sequenztafel ist sehr wichtig. Alle Einträge zu Probenflaschen für zyklische Neukalibrierungen *müssen* vorden Einträgen der Proben oder den Einträgen zur expliziten Neukalibrierung der Methode stehen.

## Analysenfolge der Methode „SimpReg“

In diesem Abschnitt wird die Analysenfolge der Methode „SimpReg“ beschrieben.

**Tabelle 21** Analysenfolge der Methode „SimpReg“

Seq.-Zeile	Inj.-Nr.	Methode	Probenflasche	Operation
2	1	SimpReg	1	Einfache Kalibrierung
1	2	SimpReg	1	Regelmäßige Kalibrierung
3	3	SimpReg	2	Analysenlauf
3	4	SimpReg	3	Analysenlauf
4	5	SimpReg	4	Analysenlauf
5	6	SimpReg	1	Regelmäßige Kalibrierung
6	7	SimpReg	5	Analysenlauf
7	8	SimpReg	6	Analysenlauf

# Umschließende zyklische Kalibriersequenzen (Bracketing)

Die Kalibriertabelle zur quantitativen Auswertung der Probe wird bei einer zyklisch kalibrierten Sequenz durch Mittelwertbildung aus den Ergebnissen der aktuellen und der vorherigen Kalibrierung gewonnen. Diese neue Kalibriertabelle stellt eine exaktere Berücksichtigung des Response des Instruments zum Zeitpunkt der Probenanalyse dar.

## Beispiel

Folgende Situation soll betrachtet werden:

- Das Analyseninstrument zeigt einen Response mit Drift.
- Es werden drei Injektionen identischer Mischungen mit zwei Substanzen durchgeführt.
- Zwei dieser Injektionen werden als Kalibrierproben, eine weitere als Probe spezifiziert.
- Die erste und die dritte Injektion sind die Kalibrierproben.
- Die zweite Injektion ist eine Probe.

Zur Berechnung eines möglichst exakten Ergebnisses für die zweite Injektion (die Probe) muss zwischen den beiden Kalibrierungen eine Interpolation durchgeführt werden, wie im Folgenden dargestellt. Dieser Prozess wird als umschließende Kalibrierung (Bracketing) bezeichnet.

## Umschließende zyklische Kalibriersequenzen (Bracketing)

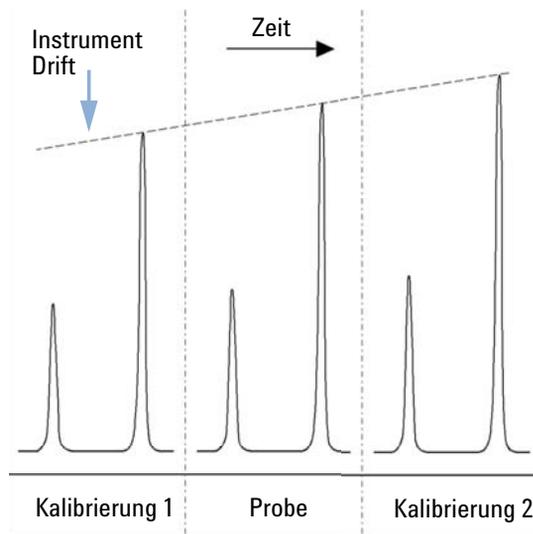


Abbildung 41 Umschließende Kalibrierung

## Arbeitsschritte einer umschließenden Kalibrierung

- Die ersten Probenflaschen der Kalibrierung werden analysiert.
- Die Proben werden analysiert.
- Die nächsten Kalibrierproben werden analysiert.
- In der Kalibriertabelle werden die Responsefaktoren durch Mittelwertbildung aus den Ergebnissen der umschließenden Kalibrierung berechnet und ersetzen die alten Werte.
- Die Datendateien der Proben werden ausgewertet und die Reporte werden erstellt.
- Die Sequenz kehrt zu Schritt 2 zurück, falls weitere Proben analysiert werden müssen.

## Beispiel

In diesem Abschnitt wird eine 2-Punkt-Kalibrierung einer Sequenz mit einer Methode namens "Brack.M" beschrieben. Die Methode "Brack.M" ist eine zwei-stufige STD-Methode, die die zyklische Kalibrierung verwendet.

### Sequenztafel

Die Sequenztafel für die Methode "Brack.M" (nächste Seite) ist zur Vereinfachung des Beispiels verkürzt. Sie besteht aus sieben Zeilen. Die ersten zwei Zeilen legen die Bedingungen für jede Stufe der Neukalibrierung fest. In den verbleibenden Zeilen werden die zu analysierenden Proben definiert.

Die Sequenztafel für die Methode "Brack.M" besteht aus:

- Dem Eintrag "Bracket" (Umschließende Kalibrierung) in der Spalte "Update Response Factor" (Responsefaktor aktualisieren), wodurch die umschließende Kalibrierung der Proben mit Kalibrierungen spezifiziert wird.
- Dem Eintrag "Replace" (Ersetzen) in der Spalte "Update" (Aktualisierung) der Retentions-/Migrationszeiten, wodurch die Retentions-/Migrationszeiten ersetzt werden.
- Dem Eintrag "3" in der Spalte "Recalib Interval" (Intervall für die Neukalibrierung), wodurch eine Neukalibrierung nach jeweils drei Proben spezifiziert wird.

**Tabelle 22** Sequenztafel für BRACK-M

1	1	BRACK-M	2	Kalibrierung	1	Klammer	Ersetzen	3
2	2	BRACK-M	2	Kalibrierung	2	Klammer	Ersetzen	3
3	10	BRACK-M	1					
4	11	BRACK-M	1					
5	12	BRACK-M	1					
6	13	BRACK-M	1					
7	14	BRACK-M	1					

### Analysefolge der Sequenz mit umschließender Kalibrierung

Run No.	Method Name	Vial No.	Inj No.	DataFile Name	Lvl No.	Upd RF	Upd Ret	Operation
1	Brack.M	1	1	c1-03001.d	1	R	R	Report for Calibration Run No.1
2	Brack.M	1	2	c1-03002.d	1	A	R	Report for Calibration Run No.2
3	Brack.M	2	1	c2-03001.d	2	R	R	Report for Calibration Run No.3
4	Brack.M	2	2	c2-03002.d	2	A	R	Report for Calibration Run No.4 Print Calibration Table
5	Brack.M	10	1	010-0301.d				Sample Analysis, no report
6	Brack.M	11	1	011-0301.d				Sample Analysis, no report
7	Brack.M	12	1	012-0301.d				Sample Analysis, no report
8	Brack.M	1	1	c1-03003.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
9	Brack.M	1	2	c1-03004.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
10	Brack.M	2	1	c2-03003.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
11	Brack.M	2	2	c2-03004.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report Print Calibration Table
				010-0301.d				Report for Sample Run No.5
				011-0301.d				Report for Sample Run No.6
				012-0301.d				Report for Sample Run No.7
				c1-03003.d	1	R		Report for Calibration Run No.8
				c1-03004.d	1	A		Report for Calibration Run No.9
				c2-03003.d	2	R		Report for Calibration Run No.10
				c2-03004.d	2	A		Report for Calibration Run No.11
12	Brack.M	13	1	013-0301.d				Sample Analysis, no report
13	Brack.M	14	1	014-0301.d				Sample Analysis, no report
14	Brack.M	1	1	c1-03005.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
15	Brack.M	1	2	c1-03006.d	1	A	R	Calibration Analysis, no report
16	Brack.M	2	1	c2-03005.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report
17	Brack.M	2	2	c2-03006.d	2	A	R	Calibration Analysis, no report Print Calibration Table
				013-0301.d				Report for Sample Run No.12
				014-0301.d				Report for Sample Run No.13
				c1-03005.d	1	R		Report for Calibration Run No.14
				c1-03006.d	1	A		Report for Calibration Run No.15
				c2-03005.d	2	R		Report for Calibration Run No.16
				c2-03006.d	2	A		Report for Calibration Run No.17

Where A = average

R = replace

# Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten

## Zyklische Neukalibrierungssequenz mit "Round-Robin"-Kalibrierflaschen

Wenn Sie eine lange Sequenz mit zyklischer Neukalibrierung ausführen, d. h. eine automatische Neukalibrierung nach einer festen Anzahl von Probeninjektionen durchführen, besteht die Gefahr, dass die Kalibrierflasche im Lauf der Sequenz geleert wird. Die Sequenztabelle der ChemStation bietet die Möglichkeit, eine Reihe von Probenflaschen mit derselben Standardverdünnung *zyklisch nacheinander* (Round Robin) zu verwenden.

Über diese Möglichkeit lassen sich lange Sequenzen mit automatischen Neukalibrierläufen nach festen Intervallen definieren, bei denen die Kalibrier-substanzen für jede Stufe aus mehreren Probenflaschen entnommen und gleichmäßig verbraucht werden.

Wenn Sie die passende Anzahl von Kalibrierflaschen einsetzen, wird jede Kalibrierflasche nur einmal verwendet. Dies ist besonders in solchen Fällen erforderlich, bei denen für jede Neukalibrierung eine neue Kalibrierflasche verwendet werden muss, weil das Analyt entweicht oder reagieren können. Der folgende Abschnitt beschreibt, wie die Sequenztabelle der ChemStation ausgefüllt werden muss, um diese Anforderungen zu erfüllen.

Ermitteln Sie über die Anzahl der Kalibrierungen innerhalb einer Sequenz die Menge an Kalibrierflaschen für jede Stufe.

Legen Sie für jede Kalibrierflasche eine gesonderte Zeile für die zyklische Neukalibrierung an. Informationen für dieselbe Kalibrierstufe müssen in angrenzenden Zeilen der Sequenztabelle stehen und auch die festgelegten Positionen der Kalibrierflaschen müssen nebeneinander liegen. Wählen Sie für alle Kalibrierzeilen identische Intervalle für die Neukalibrierung. Wenn Ihre Sequenz beispielsweise alle 6 Probeninjektionen eine Kalibrierung durchführen soll, müssen Sie das Neukalibrierintervall auf 6 stellen.

Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten

**Tabelle 23** Zyklische Neukalibrierungssequenz mit drei Probenflaschen für jede Kalibrierstufe

Proben- flaschen-Nr.	Probenname	Probentyp	Methodenname	Anz. Inj.	Stufe	Upd RT	Upd RF	Intervall
1	Kal1a	Kalibrierung	Methode A	1	1	Mittelwert	Mittelwert	6
2	Kal1b	Kalibrierung	Methode A	1	1	Mittelwert	Mittelwert	6
3	Kal1c	Kalibrierung	Methode A	1	1	Mittelwert	Mittelwert	6
5	Kal2a	Kalibrierung	Methode A	1	2	Mittelwert	Mittelwert	6
6	Kal2b	Kalibrierung	Methode A	1	2	Mittelwert	Mittelwert	6
7	Kal2c	Kalibrierung	Methode A	1	2	Mittelwert	Mittelwert	6
10	Probe 10	Probe	Methode A	6				
11	Probe 11	Probe	Methode A	6				
12	Probe 12	Probe	Methode A	6				
13	Probe 13	Probe	Methode A	6				
14	Probe 14	Probe	Methode A	6				

Die Proben werden in folgender Reihenfolge abgearbeitet:

- Probenflasche 1 (Kal1a)
- Probenflasche 5 (Kal2a)
- 6 Injektionen aus Probenflasche 10 (Probe 10)
- Probenflasche 2 (Kal1b)
- Probenflasche 6 (Kal2b)
- 6 Injektionen aus Probenflasche 11 (Probe 11)
- Probenflasche 3 (Kal1c)
- Probenflasche 7 (Kal2c)
- 6 Injektionen aus Probenflasche 12 (Probe 12)
- Probenflasche 1 (Kal1a)
- Probenflasche 5 (Kal2a)
- 6 Injektionen aus Probenflasche 13 (Probe 13)
- Probenflasche 2 (Kal1b)
- Probenflasche 6 (Kal2b)
- usw.

## 8 Automatisierung

Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten

### Zyklische Neukalibrierung aus verschiedenen Kalibrierflaschen

Um sicherzustellen, dass aus jeder Kalibrierflasche nur einmal injiziert wird, muss in der Sequenz eine ausreichende Zahl von verschiedenen Kalibrierflaschen festgelegt sein, sodass die im vorherigen Beispiel beschriebene *zyklische* Abfolge nicht vorliegt. Wenn in einer Sequenz zum Beispiel 80 Proben analysiert und nach jeweils 10 Proben eine Neukalibrierung erfolgen sollen, muss die Sequenztabelle für jede Stufe  $80/10 + 1 = 9$  Kalibrierzeilen enthalten.

Wie im letzten Beispiel müssen die Zeilen, die aneinander angrenzende Positionen kennzeichnen, auch in der Sequenztabelle benachbart sein.

### Umschließende Sequenz mit verschiedenen Kalibrierflaschen vor und nach den Probeninjektionen

Diese Möglichkeit lässt sich auch bei umschließenden Sequenzen anwenden. Durch Angabe des richtigen Probenflaschenbereichs kann eine umschließende Sequenz so definiert werden, dass für den Kalibrierlauf vor den Proben andere Probenflaschen verwendet werden als für den Lauf nach den Proben. Auch in diesem Fall müssen die Kalibrierzeilen innerhalb der Sequenz wie auch die Positionen der Kalibrierflaschen aneinandergrenzen.

Ob die Kalibrierflaschen für die umschließende Sequenz zyklisch nacheinander oder nur einmal injiziert werden, hängt allein von der Anzahl der Kalibrierflaschen für jede Stufe und davon ab, wie häufig innerhalb der Sequenz neu kalibriert werden soll.

Im folgenden Beispiel sind 3 Injektionen mit umschließender Kalibrierung definiert. Die Kalibriersubstanz für den anfänglichen Kalibrierlauf wird aus einer anderen Probenflasche entnommen als die für den abschließenden Kalibrierlauf. Neukalibrierungen sind nach jeder Probeninjektion erforderlich, sodass das Neukalibrierungsintervall 1 sein muss. Die Anzahl der Kalibrierzeilen pro Stufe entspricht der Anzahl der Proben plus 1.

Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten

**Tabelle 24** Verschiedene Probenflaschen für die Kalibrierläufe vor und nach den Probeninjektionen

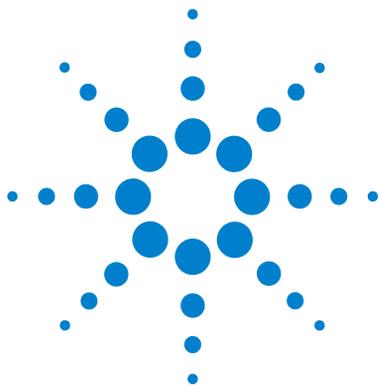
Probenflaschen-Nr.	Probenname	Probentyp	Methodenname	Anz. Inj.	Stufe	RT aktual.	RF aktual.	Intervall
1	Kal1a	Kalibrierung	Methode A	1	1	Klammer	Klammer	1
2	Kal1b	Kalibrierung	Methode A	1	1	Klammer	Klammer	1
3	Kal1c	Kalibrierung	Methode A	1	1	Klammer	Klammer	1
4	Kal1d	Kalibrierung	Methode A	1	1	Klammer	Klammer	1
10	Probe 10	Probe	Methode A	1				
11	Probe 11	Probe	Methode A	1				
12	Probe 12	Probe	Methode A	1				

Die Sequenz wird in folgender Reihenfolge analysiert:

- Probenflasche 1 (Kal1a), Kalibrierlauf vor dem 1. Probensatz
- Probenflasche 10 (Probe 10)
- Probenflasche 2 (Kal1b), Kalibrierlauf nach dem 1. und vor dem 2. Probensatz
- Probenflasche 11 (Probe 11)
- Probenflasche 3 (Kal1c), Kalibrierlauf nach dem 2. und vor dem 3. Probensatz
- Probenflasche 12 (Probe 12)
- Probenflasche 4 (Kal1d), Kalibrierlauf nach dem 3. Probensatz

## **8 Automatisierung**

Sequenzen für die zyklische Neukalibrierung mit mehreren Probenflaschen, die dieselbe Standardverdünnung enthalten



## 9 Datenprüfung, erneute Verarbeitung und Batchüberprüfung

- Navigationstabelle der Datenanalyse 216
  - Konfiguration der Navigationstabelle 216
  - Symbolleiste der Navigationstabelle 218
  - Datenprüfung mithilfe der Navigationstabelle 219
  - Erneutes Verarbeiten der Sequenz mithilfe der Navigationstabelle 220
- Was versteht man unter Batchüberprüfung? 222
- Aktivierung der Funktion zur Batchüberprüfung bei installierter ChemStation OpenLAB Option 223
- Batchkonfiguration 224
  - Batch-Tabelle 224
  - Substanztabelle 225
  - Batch-Report 225
  - Benutzeroberfläche 225
- Funktionen für die Überprüfung 227
  - Kalibrierung in der Batchüberprüfung 227
- Batch-Reports 228
  - Batch-Historie 228

In diesem Kapitel werden die Möglichkeiten zur Datenprüfung und zur erneuten Verarbeitung von Sequenzen beschrieben. Darüber hinaus werden die Grundlagen zu Batchüberprüfung, Batchkonfiguration, Überprüfungsfunktionen und Batchreporterstellung dargestellt.



## Navigationstabelle der Datenanalyse

Die Datenanalysenansicht enthält eine Navigationstabelle zur Vereinfachung der Navigation durch die Datendateien. Die Navigationstabelle zeigt die Analysenläufe, die im ausgewählten Daten- oder Sequenzdaten-Unterverzeichnis vorhanden sind. Mithilfe der Navigationstabelle können Sie einzelne Analysenläufe laden oder automatisch durch die geladenen Signale blättern. Weitere Einzelheiten finden Sie im Handbuch "Erste Schritte mit den neuen Arbeitsabläufen in der ChemStation".

### Konfiguration der Navigationstabelle

In der Navigationstabelle werden die Datendateiinformationen abhängig von den verfügbaren Datensätzen angezeigt. Die Navigationstabelle ist schreibgeschützt, d. h. die darin enthaltenen Werte können nicht überschrieben werden.

**Tabelle 25** Spalten der Navigationstabelle

<b>Spalten für einzelne Analysenläufe</b>	<b>Spalten für Sequenzläufe</b>
Overlay (Überlagern)	Overlay (Überlagern)
Date / Time (Datum/Zeit)	Line (Zeile)
Operator (Bediener)	Inj (Injektion)
Vial (Probenflasche)	Vial (Probenflasche)
Data File (Datendatei)	Sample Name (Probenname)
Sample Name (Probenname)	Method Name (Methodenname)
Method Name (Methodenname)	Sample Type (Probentyp)
Manual Events (Manuelle Ereignisse)	Manual Events (Manuelle Ereignisse)
Sample Info (Probeninfo)	Cal Level (Kalibrierstufe)
Sample Amount (Probenmenge)	Sample Info (Probeninfo)
ISTD Amount (ISTD-Menge)	Sample Amount (Probenmenge)

**Tabelle 25** Spalten der Navigationstabelle

Spalten für einzelne Analysenläufe	Spalten für Sequenzläufe
Multiplier (Multiplikator)	ISTD Amount (ISTD-Menge)
Dilution (Verdünnung)	Multiplier (Multiplikator)
---	Dilution (Verdünnung)
---	Data File (Datendatei)

Die Navigationstabelle enthält Standardfunktionen für die Tabellenkonfiguration, z. B. Sortieren und Drag-and-Drop, um Spalten an unterschiedliche Positionen zu verschieben. Es ist auch möglich, die in der Navigationstabelle angezeigten Spalten auszuwählen.

Ferner können Sie eine spaltenspezifische Gruppierung vornehmen. So können Sie beispielsweise einzelne Analysenläufe eines bestimmten Anwenders anzeigen, indem Sie die geladenen Dateien nach der Spalte "operator" (Anwender) sortieren.

Die Navigationstabelle bietet Funktionen, die durch Klicken mit der rechten Maustaste aufgerufen werden können, um ein Signal zu laden, ein Signal zu überlagern, Daten zu exportieren, Reports zu drucken, die Parameter der Erfassungsmethode anzuzeigen usw. Jede Zeile in der Navigationstabelle kann durch Klicken auf das Pluszeichen (+) links neben der Zeile zur Konfiguration signalspezifischer Optionen erweitert werden:

- *Signal (Signal)*: Listet die erfassten Signale auf und ermöglicht Ihnen die Angabe der zu ladenden Signale. Die Auswahl der Signalanzeige wird für jeden Analysenlauf separat festgelegt.
- *General Info (Allgemeine Info)*: Listet die Kopfzeilendetails zum Analysenlauf auf.
- *Instrument curves (Gerätekurve)*: Ermöglicht Ihnen, die auf dem Chromatogramm/Elektropherogramm und im Ausdruck anzuzeigenden Instrumentendatenkurven auszuwählen.

## Symbolleiste der Navigationstabelle

Die **Navigation Table** enthält zwei Werkzeugleisten, mit denen Sie entweder die Daten eines einzelnen Analysenlaufs bzw. einer Sequenz anzeigen oder die Sequenzdaten erneut verarbeiten können.

### Werkzeugleiste zur Datenprüfung

Die Überprüfungsfunktionalität der Navigationstabelle ermöglicht Ihnen, die geladenen Signale automatisch oder manuell zu überprüfen. Je nach Auswahl unter **Preferences / Signal/Review** kann das System die Signale automatisch integrieren und für jede geladene Datei einen Report drucken. Die auf die Datendatei angewandte Methode wird im oberen Menü angezeigt.

### Werkzeugleiste für die erneute Sequenzverarbeitung

Die Werkzeugleiste für das erneute Verarbeiten von Sequenzen ist nur verfügbar, wenn eine Sequenz geladen wird, die mit ChemStation B.02.01 oder höher und mit aktivierter Option **Unique Folder Creation** erfasst wurde. Es ist möglich, das erneute Verarbeiten der Sequenz zu starten, zu stoppen oder anzuhalten. Ferner bietet die Symbolleiste Zugriff auf die folgenden Dialogfelder, in denen Sie die Parameter für das erneute Verarbeiten und Drucken von Sequenzen festlegen können:

- **Sequence Table** (eine Kopie der ursprünglichen \*.s-Vorlage, die sich im Sequenzdatencontainer befindet)
- Dialogfeld **Sequence Parameters**
- Dialogfeld **Sequence Output**
- Dialogfeld **Sequence Summary Parameters**
- Dialogfeld **Extended Statistic Parameters**
- **Save Current Sequence**
- **Print Current Sequence**

## Datenprüfung mithilfe der Navigationstabelle

Sie können je nach erforderlichem Arbeitsablauf die Daten auf eine der folgenden Weisen überprüfen:

- 1 Die Sequenzdaten mit der Einzelmethode jeder Datendatei überprüfen (Sequenzdaten B.02.01 oder höher): Wählen Sie die Option **Individual Method from Data File (DA.M)** im Dialogfeld **Preferences / Signal/Review Options**, damit das System vor dem Laden der Sequenzdaten die einzelnen Datenanalysemethoden (DA.M) lädt, die mit der Datendatei gespeichert sind. Da während der Datenprüfung auf jede Zeile in der Navigationstabelle zugegriffen wird, wird die verknüpfte DA.M für die ausgewählte Datendatei geladen und für das Überprüfen der Daten und zum Generieren des Reports verwendet. Der Methodenname wird in der Statusleiste angezeigt. Das System fügt in Klammern „aus Datendatei“ hinzu, um anzuzeigen, dass es sich bei der geladenen Methode um die Einzelmethode der Datendatei handelt.
- 2 Die Daten mit der Sequenzmethode überprüfen: Wählen Sie die Option **Sequence Method** unter **Preferences / Signal/Review Options**, damit das System die Sequenzmethode lädt, die der aktuellen Zeile der Navigationstabelle entspricht. Diese Methode wird immer gemeinsam mit einer Datendatei geladen und zur Überprüfung sowie zum Generieren des Reports verwendet. Der Methodenname wird in der Statusleiste angezeigt. Das System fügt in Klammern „Sequenz“ hinzu, um anzuzeigen, dass es sich bei der geladenen Methode um die Sequenzmethode handelt, die der aktuellen Zeile der Navigationstabelle entspricht.
- 3 Die Daten mit einer anderen Methode überprüfen: Wenn Sie zum Überprüfen der Daten eine andere Methode als die einzelne Datenanalysemethode (DA.M) verwenden möchten, die mit der Datendatei oder der Sequenzmethode gespeichert ist, muss die Option **current method** im Dialogfeld **Preferences / Signal/Review Option** aktiviert sein. In diesem Fall verwendet das System zum Überprüfen und Generieren des Reports die aktuell geladene Methode. Der Methodenname wird in der Statusleiste angezeigt.

### HINWEIS

Für LC-, CE-, LC/MS- und CE/MS-Systeme ist die Option **Individual Method from Data File (DA.M)** standardmäßig aktiviert.

Für GC-Systeme ist die Option **Current Method** standardmäßig aktiviert.

## Erneutes Verarbeiten der Sequenz mithilfe der Navigationstabelle

### HINWEIS

Sequenzdaten, die mit ChemStation-Versionen bis B.01.03 erfasst wurden, müssen mit der Option **reprocess** in der Ansicht **Method and Run Control** erneut verarbeitet werden. Dasselbe gilt für Daten, die bei deaktivierter Erstellung eindeutiger Ordner mit der Version B.03.01 erfasst wurden.

Sequenzdaten, die mit der ChemStation-Version B.02.01 oder einer höheren Version erfasst wurden, müssen mit der Werkzeugleiste für die erneute Verarbeitung in der Navigationstabelle **Data Analysis** erneut verarbeitet werden.

---

Für das erneute Verarbeiten mithilfe der Navigationstabelle in der **Data Analysis** sind alle erforderlichen Dateien im Sequenzdatencontainer vorhanden:

- Sequenzdatendateien (\*.d)
- Alle während der Sequenz verwendeten Methodendateien (\*.m)
- Kopie der ursprünglichen Sequenzvorlage (\*.s)
- Sequenzspezifische Batchdatei (\*.b)
- Sequenzspezifisches Logbuch (\*.log)

Während der erneuten Verarbeitung werden die einzelnen Methoden (DA.M) für die Datendateien und die Batchdatei (\*.b) aktualisiert.

Mit den Funktionen für das erneute Verarbeiten der **Data Analysis** ist es möglich, die Sequenzvorlage (\*.s) im Datencontainer zu ändern, um den Multiplikator, die Verdünnung usw. zu ändern oder um eine andere Methode für die erneute Verarbeitung auszuwählen. Standardmäßig ist der Sequenzparameter **parts of method to run** für das erneute Verarbeiten der Datenanalyse auf **Reprocessing only** gesetzt und die Option **Use Sequence Table Information** ist aktiviert. Mithilfe dieser vordefinierten Werte können Sie die Parameter in der Sequenzvorlage ändern und eine erneute Analyse durchführen, ohne die Sequenzparameter der **Data Analysis** erneut bearbeiten zu müssen.

Wenn Sie die Methode in der Sequenzvorlage nicht explizit geändert haben, verwendet das System die im Sequenzdatencontainer gespeicherten Sequenzmethoden, um die Sequenz erneut zu verarbeiten. Bei diesen Methoden handelt es sich um die ursprünglich während der Datenerfassung verwendeten Methoden. Beachten Sie, dass auch bei Auswahl der Option **load DA method from data file** im Dialogfeld **Preferences / Signal/Review Options** das System die Sequenzcontainermethode und nicht die DA.M der einzelnen Datendateien für das erneute Verarbeiten verwendet.

Wenn bestimmte Methodenparameter geändert werden müssen, z. B. um Daten in eine \*.xls-Datei auszugeben, müssen die Methoden im Sequenzcontainer geändert und gespeichert werden. Diese allgemeine Änderung wird anschließend während der erneuten Verarbeitung auf alle Datendateien angewendet.

Wenn Sie nun die aktualisierte Sequenzcontainermethode für die weitere Datenerfassung verwenden möchten, müssen Sie diese Methode aus dem Sequenzdatencontainer in einen der definierten Methodenpfade kopieren. Die neue/aktualisierte Methode ist dann im ChemStation-Explorer in der Methodenansicht als Mustermethode verfügbar.

## Was versteht man unter Batchüberprüfung?

Unter Batchüberprüfung versteht man die Möglichkeit, schnell einen ersten Überblick über die Ergebnisse einer Sequenz oder einer Auswahl von Analysenläufen zu erhalten. Dies ist vor allem bei großen Probenzahlen sehr zeitsparend. Immer wenn eine Sequenz ausgeführt wird, wird automatisch eine Batch-Datei (mit der Dateinamenerweiterung ".b") erstellt und mit den Datensätzen im Datenverzeichnis abgelegt. Diese Batch-Datei enthält Zeiger auf die entsprechenden Datensätze der Batchüberprüfung. Um einen Batch zu laden, muss der Anwender nur eine Methode für den Batch auswählen und dann die einzelnen Datendateien aussuchen, die innerhalb des Batches bearbeitet werden sollen. Sie können die Genauigkeit der Kalibrierung, die Leistungsfähigkeit des Instruments und die einzelnen Integrationen überprüfen, ehe Sie die Ergebnisse verbessern. Alle für ein Chromatogramm spezifischen Integrationsparameter sowie ihre Änderungen werden aus Gründen der Nachvollziehbarkeit der Ergebnisse mit der Datendatei gespeichert. Diese interaktive Umgebung bietet auch vollen Zugriff auf alle anderen Funktionen der Datenanalyse, wie die Überprüfung der Peakreinheit, die Bibliothekssuche usw.

Die Batchüberprüfung verwendet dieselben Register für die Datenanalyse ("ChromReg" und "ChromRes") wie die Standarddatenanalyse und sollte daher nicht innerhalb einer Online-Sitzung zum Einsatz kommen, in der gerade Analysen durchgeführt werden.

## Aktivierung der Funktion zur Batchüberprüfung bei installierter ChemStation OpenLAB Option

Bei integrierter ChemStation OpenLAB Option ist standardmäßig die Funktion zur Batchüberprüfung nicht aktiviert. Um die Batchüberprüfung zu benutzen, muss diese Funktion durch einen Eintrag im Abschnitt [PCS] der Datei ChemStation.ini aktiviert werden. Diese Datei befindet sich im Windows-Verzeichnis c:\WINDOWS.

```
[PCS] _BatchReview=1
```

Beim Standardeintrag, \_BatchReview=0, ist die Funktion ausgeschaltet.

## Batchkonfiguration

Als Batch bezeichnet man eine individuelle Auswahl von Datendateien, die mit einer benutzerdefinierten Methode verarbeitet werden. Dabei wird für alle Datendateien innerhalb eines Batches dieselbe Methode verwendet. Die Verarbeitungsschritte, die für jede zu bearbeitende Probe durchgeführt werden sollen, sind frei wählbar (Integration, Identifizierung/Quantifizierung, Reporterstellung).

Die Ergebnisse aller Kalibrierläufe eines Batches gehen über gemittelte Responsefaktoren in eine Kalibriertabelle ein, die dann zur Quantifizierung verwendet wird.

### Batch-Tabelle

Die Läufe werden in einer frei definierbaren Batch-Tabelle angezeigt:

- Die Anzahl und der Inhalt der Tabellenspalten können festgelegt werden.
- Die Läufe können folgendermaßen sortiert werden:
  - nach dem Laufindex (in der Reihenfolge, in der sie erfasst wurden) unabhängig von allen anderen Kriterien,
  - nach dem Probenotyp (zuerst Kontrollproben, dann Kalibrierproben, dann normale Proben) und innerhalb des Probenotyps nach dem Laufindex,
  - nach der Methode (wenn mehrere Methoden zur Datenerfassung verwendet wurden) und innerhalb jeder Methode nach dem Laufindex;
- Proben, Standards und Kontrollen können in der Tabelle angezeigt oder ausgeblendet werden.

Jeder Lauf entspricht einer Zeile der Batch-Tabelle. Sie können einen Analysenlauf aus der Batch-Tabelle (z. B. für die Kalibrierung) ausblenden, indem Sie den Probenotyp in "Removed" (Entfernt) ändern.

## Substanztabelle

Die Ergebnisse für die Substanzen werden in einer individuell definierbaren Substanztabelle dargestellt, deren Inhalt von den Probentypen der Batch-Tabelle abhängt:

- Die Substanzliste enthält alle Substanzen, die in der Methode aufgeführt wurden, die in der Batchüberprüfung zum Einsatz kam
- Wenn nur Kalibrierproben in der Batch-Tabelle angeführt sind (Proben und Kontrollen also versteckt sind), enthält die Substanztabelle zusätzliche Spalten für weitere Informationen für die Kalibrierung (erwartete Menge, relativer und absoluter Fehler)
- Wenn nur Kontrollläufe in der Batch-Tabelle angeführt sind (wenn die Proben und Standards also versteckt sind), enthält die Substanztabelle zusätzliche Spalten für mögliche Grenzwerte.

Für Spalten, die substanzspezifische Informationen enthalten, können Sie den Namen der Substanz in den Titel der Tabelle aufnehmen, indem Sie %s in die Spaltenbedingungen aufnehmen.

## Batch-Report

Der Batch-Report enthält zwei Tabellen, die im Allgemeinen der Batch- und der Substanztabelle entsprechen. Auch diese Tabellen sind individuell definierbar.

Für Spalten, die substanzspezifische Informationen enthalten, können Sie den Namen der Substanz in den Titel der Tabelle aufnehmen, indem Sie %s in die Spaltenbedingungen aufnehmen. Auch mehrzeilige Kopfzeilen sind erlaubt; über Eingabe des Zeichens ‘|’ erfolgt ein Zeilenumbruch an dieser Stelle.

## Benutzeroberfläche

Die Batchüberprüfung ermöglicht die Auswahl zwischen zwei Benutzeroberflächen:

- die Standardoberfläche enthält eine Leiste mit Schaltflächen, die den Zugriff auf die meisten Batch-Menüeinträge ermöglichen, einschließlich der Batch- und Substanztabelle

## 9 Datenprüfung, erneute Verarbeitung und Batchüberprüfung

### Batchkonfiguration

- eine minimale Benutzeroberfläche bietet eine ganz ähnliche Symbolleiste, wobei allerdings die Batch- und die Substanztabelle durch ein Feld ersetzt sind, das nur die Information für die festgelegte Batch-Tabelle enthält. Die Symbolleiste für die minimale Benutzeroberfläche enthält keine direkte Schaltflächen für die Batch- oder die Substanztabelle.

## Funktionen für die Überprüfung

Datendateien können auf zwei unterschiedliche Arten dargestellt werden:

- manuell, indem aus der Tabelle ein darzustellender Lauf ausgewählt wird,
- automatisch, mit festgelegten Intervallen zwischen den einzelnen Datendateien. Bei der automatischen Darstellung werden nur die Probenotypen dargestellt, die auch in der Tabelle zu sehen sind. Die Läufe werden entsprechend der Reihenfolge, in der sie in der Tabelle aufgeführt sind, angezeigt. Die automatische Überprüfung kann angehalten und später fortgesetzt oder ganz gestoppt werden.

Die Standardfunktionen der ChemStation sind auch in der Batchüberprüfung verfügbar. Sie umfassen die Kalibrierung, die manuelle Änderung von Chromatogrammen, z. B. die Glättung oder die manuelle Integration. Alle an einer Datendatei vorgenommenen Änderungen lassen sich kennzeichnen und mit der Datendatei speichern. Chromatogramme, die nachbearbeitet wurden, werden in der Batch-Tabelle mit einem Sternchen markiert. Sie können auch die Änderungen des aktuellen Chromatogramms oder die Änderungen aller Chromatogramme des Batches wieder verwerfen.

Wenn ein Analysenlauf aufgerufen wird, werden die ausgewählten Verarbeitungsschritte durchgeführt. Wenn der Lauf bereits verarbeitet und mit den Änderungen gespeichert wurde, wird er in seiner nachbearbeiteten Form aufgerufen. Dies geht natürlich schneller, da die Verarbeitungsschritte nicht mehr durchgeführt werden müssen.

### Kalibrierung in der Batchüberprüfung

Die Kalibrierung in der Batchüberprüfung arbeitet unabhängig von den Neukalibrierungseinstellungen der Sequenztafel. Der erste Schritt bei der Batchkalibrierung ersetzt stets die Einträge der Kalibriertabelle für Response und Retentionszeit. Bei den folgenden Kalibrierstandards werden Response und Retentionszeit gemittelt.

## Batch-Reports

Die benutzerkonfigurierbare **“Batch-Tabelle”** auf Seite 224 kann direkt auf dem Drucker, auf dem Bildschirm oder in einer Datei ausgegeben werden. Der Dateiname enthält ein frei wählbares Präfix, und die Datei kann in einem der folgenden Formate abgelegt werden:

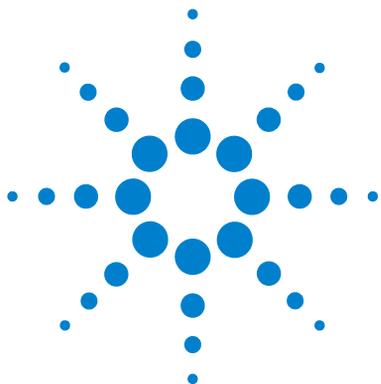
- als ASCII-Textdatei mit der Dateinamenerweiterung .TXT
- im Data Interchange Format mit der Dateinamenerweiterung .DIF
- als kommagetrennte Datei mit der Dateinamenerweiterung .CSV
- im Microsoft Excel-Format mit der Dateinamenerweiterung .XLS

Die Optionen für die Reporterstellung ermöglichen es auch, die Proben unabhängig von der Reihenfolge in der Batch-Tabelle zu sortieren (über den Laufindex, der Probenart oder die Methode). Die Sortierprioritäten lauten wie für die **“Batch-Tabelle”** auf Seite 224.

## Batch-Historie

Die Batchüberprüfung zeichnet alle Aktionen für den aktuellen Batch auf. Aktionen, die zu Änderungen des Batches führen (z. B. eine Änderung des dargestellten Chromatogramms, eine Änderung des Probenartst, Laden und Speichern des Batches) erweitern die Batch-Historie um eine Zeile mit Datum- und Zeitangabe, dem Namen des derzeitigen Anwenders sowie einer Beschreibung des Vorgangs.

Sie können der Batch-Historie auch eigene Kommentare hinzufügen. Vorhandene Einträge in der Batch-Historie lassen sich nicht ändern. Die Auflistung kann nur über den Menüeintrag "Batch History" (Batch-Historie) aufgerufen werden.



## 10 Verwendung der ChemStation-Reports

Was ist ein Report?	230
Reportergebnisse	231
Unkalibrierte Reports	231
Kalibrierte Reporte	231
Report mit externem Standard	231
Report mit internem Standard	232
Kontrollkarten-Report	232
Quantitative Ergebnisse	233
Reporterstellung mit Werten der benutzerdefinierten Felder	235
Reportvorlagen	236
Hinzufügen eines individuellen Reports zu den Reportvorlagen	238
Weitere Parameter für die Reportvorlagen	239
Tabelle der Peaksummen	239
Reportvorlage für unkalibrierte Peaks	239
Reportausgabe	240
Report-Dateiformate	240
Sequenzübersichtsreport	242
Überblick	242
Erstellung eines zusammenfassenden Reports für Sequenzen	242

Dieses Kapitel beschreibt die Funktionen eines Reports. Es beinhaltet Einzelheiten zur Erstellung von Ergebnisreports, zu quantitativen Ergebnissen, Reportformaten, Reportausgabeeinheiten und Sequenzübersichten.



## 10 Verwendung der ChemStation-Reports

### Was ist ein Report?

## Was ist ein Report?

Ein Report kann qualitative und quantitative Informationen zu einer analysierten Probe enthalten. Der Report kann ausgedruckt, auf dem Bildschirm angezeigt oder in einer Datei gespeichert werden. Der Report kann Details der Peakerkennung eines Analysenlaufs und Darstellungen der Chromatogramme bzw. Elektropherogramme enthalten.

## Reportergebnisse

Es stehen zwei Reporttypen zur Verfügung:

- Ein unkalibrierter Report ohne Korrektur des Detektor-Response
- Ein kalibrierter Report mit korrigiertem Detektor-Response für unterschiedliche Substanzen.

### Unkalibrierte Reports

Unkalibrierte Reports umfassen die Reports **Area%** und **Height%**. Diese Reports werden hauptsächlich zur Vorbereitung kalibrierter Reports verwendet. Sie können auch als endgültiger Report benutzt werden, wenn die Substanzen vergleichbare Responsefaktoren aufweisen, sodass sich auch ähnliche Flächen- oder Höhenwerte ergeben.

### Kalibrierte Reports

In kalibrierten Reporten werden die unterschiedlichen Responsefaktoren der untersuchten Substanzen berücksichtigt. Eine oder mehrere Kalibrierproben mit bekanntem Gehalt dieser Substanzen müssen dazu unter identischen Bedingungen analysiert werden. Die integrierten Daten dieser Kalibrierprobe(n) werden zur Erstellung einer Kalibriertabelle benötigt. Das ist eine Liste mit Retentions-/Migrationszeiten, Mengen und Responsewerten, die zur Reporterstellung benötigt werden. Der kalibrierte Report beruht auf zwei Kalibrierverfahren, dem externen und dem internen Standard.

### Report mit externem Standard

Der ESTD-Report erstellt eine Ergebnisliste mit Konzentrationseinheiten Ihrer Wahl oder Angaben der prozentualen Anteile an der Gesamtmenge der Substanzen. Das Verfahren des externen Standards erfordert die genaue Kenntnis

der injizierten Volumina von Kalibrier- und Probenlösung. Die Zuverlässigkeit dieses Reports hängt von der Reproduzierbarkeit der Injektionsvolumina und anderer Faktoren ab, die sich von Probe zu Probe ändern können.

## Report mit internem Standard

Die Beschränkungen des Reports mit externem Standard entfallen bei der Verwendung eines internen Standards. Eine exakt bekannte Menge des internen Standards wird sowohl zur Kalibrierlösung als auch zur Probenlösung gemischt. Die Responsefaktoren jeder interessierenden Substanz werden durch den Response des internen Standards dividiert, womit das Response-Verhältnis errechnet wird. Die Kalibrierkurven werden als Auftragung dieses Response-Verhältnisses gegen das Mengenverhältnis gewonnen. Mit dieser Information werden die Ergebnisse im Report berechnet. Mit diesem Verfahren werden Fehler des Injektionsvolumens oder leichte Schwankungen des chromatographischen/elektropherographischen Systems mit Auswirkungen auf alle Substanzen berücksichtigt. Im ISTD-Report werden die Ergebnisse mit Einheiten Ihrer Wahl ausgegeben.

## Kontrollkarten-Report

Beim Kontrollkarten-Report wird ein einzelnes Ergebnis für eine bestimmte kalibrierte Substanz über mehrere Läufe hinweg verfolgt. Die **Control Chart**-Funktion wird installiert, sobald die ChemStation betriebsbereit ist. Am Ende eines Laufes, dessen Methode diese Funktion beinhaltet, wird das verfolgte Ergebnis direkt in ein Microsoft Excel-Datenblatt überführt. Schließlich wird der Report auch über Excel ausgedruckt.

## Quantitative Ergebnisse

Der Reporttyp trägt den Namen der Berechnungsmethode, die zur Auswertung verwendet wurde, z. B. "ISTD-Report". Jeder Typ wird im Folgenden kurz beschrieben. Die Berechnungsmethoden für die einzelnen Reporte finden Sie in ["Quantitative Ergebnisse"](#) auf Seite 233.

**Area%** (Flächen%) erzeugt den einfachsten Report und erfordert keine Kalibrierdaten, da keine Korrektur des Detektor-Response für unterschiedliche Substanzen erfolgt. Dieser Reporttyp kann zur Entwicklung einer Kalibriertabelle zur Verwendung mit anderen Reportoptionen genutzt werden. Dieser Report ist für Analysen mit Substanzen geeignet, deren Responsefaktoren keine signifikanten Unterschiede aufweisen.

**Height%** (Höhen%) erzeugt einen Report ähnlich des Typs "Area%" (Fläche%), wobei anstelle der Peakfläche die Peakhöhe zur Berechnung verwendet wird.

**Norm%** erzeugt einen Report, in dem jede Komponente als prozentualer Anteil an der Gesamtmenge ausgegeben wird. Die Peaks werden vor der Berechnung hinsichtlich ihres Detektor-Response korrigiert.

**ESTD** (Externer Standard) erzeugt einen Report der aktuellen Menge jeder Substanz in frei wählbaren Einheiten. Die Mengenermittlung erfolgt mit einer zuvor erstellten Kalibriertabelle. Die Verwendung eines externen Standards erfordert die Kenntnis des Injektionsvolumens der Kalibrier Mischung.

**ESTD%** erzeugt einen Report der relativen Mengen jeder Substanz als prozentualer Anteil der injizierten Probe. Die Mengenermittlung erfolgt mit einer zuvor erstellten Kalibriertabelle. Die Verwendung eines externen Standards erfordert die Kenntnis des Injektionsvolumens der Kalibrier Mischung.

**ISTD** (Interner Standard) erzeugt einen Report mit den tatsächlichen Mengen jeder Substanz. Die Mengen werden mit einer zuvor erstellten Kalibrierkurve berechnet. Die Verwendung eines internen Standards in der Probe und der Kalibrier Mischung erfordert keine so exakte Kontrolle des Injektionsvolumens. Diese Methode korrigiert Schwankungen der Instrumentenleistung zwischen einzelnen Analysenläufen.

## 10 Verwendung der ChemStation-Reports

### Quantitative Ergebnisse

**ISTD%** erzeugt einen Report mit den relativen Mengen jeder Substanz als prozentualem Anteil der injizierten Probe. Die Verwendung eines internen Standards in der Probe und der Kalibrier Mischung erfordert keine so exakte Kontrolle des Injektionsvolumens. Diese Methode korrigiert Schwankungen der Instrumentenleistung zwischen einzelnen Analysenläufen.

## Reporterstellung mit Werten der benutzerdefinierten Felder

Die Werte der benutzerdefinierten Felder, die einer Probe entsprechend ihrer Erfassungsmethode zugewiesen sind, können für den Report bearbeitet werden. Die benutzerdefinierten Felder befinden sich am Ende des Reportkopfes, der die allgemeinen Probeninformationen enthält. Die benutzerdefinierten Felder zu Substanzen befinden sich am Reportende.

## Reportvorlagen

Folgende Reportvorlagen sind verfügbar:

Sie können die gewünschte Reportvorlage durch Aktivieren des entsprechenden Kästchens im Dialogfeld „Report angeben“ auswählen.

- **None.** Es wird keinerlei Text in den Report aufgenommen. Das Chromatogramm wird nur dann als Report ausgegeben, wenn die Option „Chromatogrammausgabe hinzufügen“ ausgewählt ist.
- **Short.** Enthält quantitative Ergebnisse aller integrierten Signale, die im Dialogfeld „Signaldetails“ (nur bei LC) oder „Signal“ (nur bei GC) aufgeführt sind. Die Peakbreite beim Kurzreport wird mit der etwas komplexeren Formel des Integrators ermittelt:  $PB = 0,3(IPRight - IPLLeft) + 0,7(Area/Heighth)$ , wobei IPRight und IPLLeft die Wendepunkte sind.
- **Detail.** Enthält Signale, quantitative Ergebnisse in Textform und Kalibrierkurven. Der Kopfteil wird in der Datei RPTHEAD.TXT im Methodenverzeichnis gespeichert. Sie können den Kopfteil mit einem Texteditor bearbeiten, um einen für die Methode spezifischen Text hinzuzufügen.
- **Header + Short** enthält den Kopfteil der Datei und quantitative Ergebnisse. Der Kopfteil wird in der Datei RPTHEAD.TXT im Methodenverzeichnis gespeichert. Sie können den Kopfteil mit einem Texteditor bearbeiten, um einen für die Methode spezifischen Text hinzuzufügen.
- **GLP + Short** enthält Kopfteil, Probeninformationen, Gerätebedingungen, Logbuch, Signal und quantitative Ergebnisse. Der Kopfteil wird in der Datei RPTHEAD.TXT im Methodenverzeichnis gespeichert. Sie können den Kopfteil mit einem Texteditor bearbeiten, um einen für die Methode spezifischen Text hinzuzufügen.
- **GLP + Detail** enthält Kopfteil, Probeninformationen, Gerätebedingungen, Logbuch, Signal, Kalibrierkurven und quantitative Ergebnisse. Der Kopfteil wird in der Datei RPTHEAD.TXT im Methodenverzeichnis gespeichert. Sie können den Kopfteil mit einem Texteditor bearbeiten, um einen für die Methode spezifischen Text hinzuzufügen.

- **Full** enthält Kopfteil, Probeninformationen, Gerätebedingungen, Logbuch, Signale und quantitative Ergebnisse. Der Kopfteil wird in der Datei RPTHEAD.TXT im Methodenverzeichnis gespeichert. Sie können den Kopfteil mit einem Texteditor bearbeiten, um einen für die Methode spezifischen Text hinzuzufügen.
- **Performance** erstellt einen Report gemäß der Grenzwerte aus dem Dialogfeld „Leistungsgrenzen bearbeiten“ im Menü „Systemeignung“.

Bei unkalibrierten Methoden umfassen die Reportparameter Peaknummer, Retentions-/Migrationszeit, Peakfläche, Peakhöhe, Signalbeschreibung, tatsächliche Halbwertsbreite (siehe auch [“Tatsächliche Peakbreite Wx \[min\]”](#) auf Seite 262), Symmetrie,  $k'$ , Anzahl der Böden und die Auflösung für jeden Peak.

Bei kalibrierten Methoden umfassen die Reportparameter Peaknummer, Retentions-/Migrationszeit, Substanzname, Menge, Signalbeschreibung, tatsächliche Halbwertsbreite, Symmetrie,  $k'$ , Anzahl der Böden und die Auflösung für jeden Peak.

Die Berechnung der halben Peakhöhe ist nicht gleich der etwas komplexeren Formel für die Peakbreite, die vom Integrator verwendet wird. Die Werte für Effizienz und Auflösung beruhen auf dieser berechneten Peakbreite. Der Kopfteil des Reports umfasst alle relevanten Informationen zur Methode, einschließlich Gerät, Säule/Kapillare, Probe und Parameter der Datenerfassung. Das Signal wird zudem gezeichnet.

- **Performance + Noise** kombiniert die Reportvorlage „Systemleistung“ mit Berechnungen zum Rauschen für Bereiche, die im Dialogfeld „Rauschbereich bearbeiten“ im Menü „Systemeignung“ festgelegt werden. Außerdem ist das Rauschen als sechsfache Standardabweichung, als Peak-zu-Peak-Wert und als ASTM-Rauschen angegeben. Ferner werden Drift und Signalabwanderung bestimmt.
- **Performance + Extended** erzeugt einen erweiterten Report mit allen Parametern aus den Leistungsberechnungen der Peaks und einzelnen Peakdarstellungen. Die Darstellungen umfassen die Basislinie, die Tangenten und die Peakbreiten bei definierten Höhen. Dieser Reporttyp berücksichtigt nur kalibrierte Peaks.

Zusätzlich zu den Parametern, die für den Leistungsreport ausgedruckt werden, werden weitere Parameter zur Peakleistung bestimmt: Anfangs- und Endzeit des Peaks, Schräge, Überschuss, Peakbreite, USP für das Peak-tailing, Zeitintervall zwischen Datenpunkten, Anzahl der Datenpunkte, statistische Momente, Anzahl der Böden, Böden pro Meter, Selektivität und Peakauflösung werden für jeden Peak ausgegeben. Die Peakbreite, Anzahl

der Böden, Böden pro Meter, Selektivität und Auflösung werden mit der tatsächlichen Halbwertsbreite-, 5 Sigma-, Tangenten- und Tailing-Methode berechnet (genauere Beschreibungen finden Sie in ["Leistungstest-Definitionen"](#) auf Seite 260).

Der Kopfteil des Reports umfasst alle relevanten Informationen zur Methode, einschließlich Gerät, Säule/Kapillare, Probe und Parameter der Datenerfassung. Das Signal wird ebenfalls grafisch dargestellt. Eine vollständige Liste der Algorithmen zur Berechnung der Leistungsparameter finden Sie in ["Leistungstest-Definitionen"](#) auf Seite 260.

Die Spektrenreportvorlagen (**Short + Spectrum**), **Detail + Spectrum**, **Performance + Library Search** sind unter *Informationen zu Ihrem Spektrenmodul* beschrieben.

## Hinzufügen eines individuellen Reports zu den Reportvorlagen

Sie können der Liste der verfügbaren Reportvorlagen eine individuelle Reportvorlage hinzufügen, die Sie in der Ansicht "Report Layout" (Reportlayout) der ChemStation erstellt haben.

### HINWEIS

Bei allen Reports außer den Leistungsreports sind die aufgelisteten Peakbreiten vom Integrator mit einer komplexeren Formel berechnet worden (weitere Informationen zur Peakbreitenberechnung finden Sie in ["Peakbreite"](#) auf Seite 85).

---

## Weitere Parameter für die Reportvorlagen

### Tabelle der Peaksummen

Die Tabelle der Peaksummen wird für einige Anwendungen für die petrochemische oder pharmazeutische Industrie geliefert und lässt sich folgendermaßen sehr wirksam einsetzen:

- Addition der Peakflächen, die innerhalb eines benutzerdefinierten Bereichs liegen
- Addition der Flächen eines Peakbereichs und Berechnung mit einem einzigen Multiplikator
- Addition der Flächen aller Peaks mit gleichem Namen

Wenn der Report erstellt ist, verwendet die ChemStation die Tabelle der Peaksummen dazu, den Peaksummenreport zu generieren. Die Berechnungen erfolgen analog dem Standardreport, außer dass Norm% durch den Peaksummenreport ersetzt ist.

### Reportvorlage für unkalibrierte Peaks

Wenn Sie die Reportvorlage für unkalibrierte Peaks verändern möchten, müssen Sie einen der folgenden Reporte im Dialogfeld "Specify Report" (Report angeben) auswählen.

- Über "Separately" (Separat) werden die unkalibrierten Peaks im Report in einer gesonderten Tabelle (wenn die Peaks nach der Retentions-/Migrationszeit sortiert sind) oder in getrennten Tabellen (wenn die Peaks nach dem Signal sortiert sind) angeführt.
- Über "With Calibrated Peaks" (Mit kalibrierten Peaks) werden die unkalibrierten Peaks zusammen mit den kalibrierten Peaks im Report angeführt.
- Über "Do Not Report" (Nicht protokollieren) werden die unkalibrierten Peaks überhaupt nicht in den Report aufgenommen.

## Reportausgabe

Der Report kann an folgende Stellen ausgegeben werden:

- Bildschirm  
Ein Report (bestehend aus Text und Grafiken) wird auf dem Bildschirm in der Reportvorschau dargestellt und kann von dort aus gedruckt werden.
- Drucker  
Ein Report, der aus Text und Grafik besteht, wird auf dem aktuellen Drucker ausgegeben.
- Datei  
Der Report wird in einer Datei gesichert. Nachdem Daten in einer Datei gespeichert wurden, ist eine Nachbearbeitung der Daten mit einem anderen Programm, z. B. Microsoft EXCEL möglich.

## Report-Dateiformate

Jeder Report kann in verschiedenen Formaten gespeichert werden. Jedes Format weist eine eigene Dateinamenerweiterung auf. Es ist möglich, mehrere Formate für einen Report zu wählen.

- .TXT** Der Text des Reports wird als Unicode-Textdatei gedruckt.
- .WMF** Jede Grafik eines Reports (Signal oder Kalibrierkurve) wird als Microsoft Windows Metadatei (WMF) gesichert. Es können mehrere Metadateien für einen Report gespeichert werden. Dieses Dateiformat entspricht dem Microsoft-Standard für das Metadateiformat gemäß der Dokumentation zur Windows Softwareentwicklung. Diese Dateien sind mit dem Format der Aldus Placeable Metafiles (APM) kompatibel, das von einer Reihe von Softwarepaketen unterstützt wird.
- .DIF** Tabellarische Reportdaten werden im Data Interchange Format (DIF) gespeichert. Dieses Format wird von Tabellenkalkulationsprogrammen wie Microsoft Excel unterstützt. Unabhängig vom gewählten Reportformat werden nur die Informationen der Reportvorlage „Kurz“ gespeichert.

**.CSV** Dieses Format heißt Comma Separated Values (CSV, kommasetrennte Werte). Es ist ein sehr einfaches Format für tabellarische Daten und wird von vielen Tabellenkalkulationsprogrammen und Datenbanken akzeptiert. Unabhängig vom gewählten Reportformat werden nur die Informationen der Reportvorlage „Kurz“ gespeichert.

Für einen Report können mehrere .DIF- und .CSV-Dateien verwendet werden. Für jeden Reportblock enthält die erste Datei, z. B. REPORT00.CSV, die Informationen der Reportkopfzeile. Die nachfolgenden Dateien enthalten die tabellarischen Ergebnisse.

Wenn die Ergebnisse nach Retentions- bzw. Migrationszeit sortiert werden, ist nur eine Datei für die vollständige Tabelle erforderlich, zum Beispiel REPORT01.CSV.

Wenn die Ergebnisse nach dem Signal sortiert werden, ist für jedes Signal eine getrennte Tabelle erforderlich. In diesem Fall lautet die Namensgebung Report01.CSV bis ReportNN.CSV, wobei NN die Nummer des Signals ist.

**.XLS** Der Report wird in das XLS-Format der Tabellen von Microsoft Excel exportiert. Die Daten müssen im Allgemeinen nachbearbeitet werden.

**.PDF** Der Report wird in einer .pdf-Datei gespeichert. Beim Setup von ChemStation wird ein PDF-Drucker namens „PDF-XChange 4.0“ installiert. Dieser Drucker wird nur solange unter **Start/Einstellungen/Drucker und Faxgeräte** angezeigt, bis der Computer neu gestartet wird. Beim Start von ChemStation wird ein weiterer temporärer Drucker namens „ChemStation PDF“ gestartet, der auf dem PDF-XChange-Drucker basiert. Wenn eine ChemStation-Sitzung ausgeführt wird, ist ChemStation PDF in der Liste unter **Start/Einstellungen/Drucker und Faxgeräte** enthalten. Die Option **Unique pdf file name** ermöglicht das Speichern der .pdf-Reports unter dem Dateinamen <sequence\_container\_name>\_<data\_file\_name>.pdf unabhängig von den Reports.

## Sequenzübersichtsreport

### Überblick

Die ChemStation kann verschiedene Standardreporte für einzelne Analysenläufe ausgeben. Der Übersichtsreport einer Sequenz ist eine weitere Möglichkeit der Reporterstellung und ermöglicht Ihnen, Berechnungen und Parameterausgaben über mehrere Analysen zu erstellen. Das ist zum Beispiel als Beleg der Stabilität des Instruments oder einer neuen Methode erforderlich.

Ein Übersichtsreport kann Folgendes enthalten:

- Eine Titelseite
- Instrumentenkonfiguration einschließlich der Revisionsnummer des Instruments und Einzelheiten zur verwendeten analytischen Säule/Kapillare
- Eine Sequenztabelle mit einer Beschreibung des vorgesehenen Ablaufs der automatischen Analysen
- Logbucheinträge mit einer Beschreibung des Ablaufs der Sequenz mit unerwarteten Ereignissen, die während des Ablaufs auftraten
- Eine Methodenliste
- Einzelreporte für jede Probe
- Eine statistische Auswertung der Analysen mit auszuwählenden Kriterien – *Statistische Daten werden nur für kalibrierte Substanzen errechnet*
- Ein Inhaltsverzeichnis mit Querverweisen auf die Seitennummern der Abschnitte mit detaillierten Informationen

### Erstellung eines zusammenfassenden Reports für Sequenzen

Bei der Erstellung eines zusammenfassenden Reports für Sequenzen können Sie beliebige Kombinationen der folgenden neun Kategorien wählen, indem Sie die entsprechenden Kästchen aktivieren und, wo möglich, eine Reportvorlage mit der Auswahl „Template“ auswählen. Jede Vorlage spezifiziert Inhalt und Layout des spezifischen Abschnitts des zusammenfassenden Reports.

Sie können unter folgenden Reportvorlagen für zusammenfassende Reports wählen:

### **One Page Header**

Die Vorlage GLP druckt GLP mit großen Buchstaben als Titelseite für den folgenden Report. Datum und Platz für eine Unterschrift sind vorgesehen.

### **Configuration**

Bei Auswahl von **Configuration** können Sie die Gerätekonfiguration und die Daten der analytischen Säule/Kapillare in den Report einbeziehen.

### **Sequence Table**

Bei Auswahl von **Sequence Table** können Sie eine Probenliste, Parameter zur Quantifizierung und Methodennamen in den Report einbeziehen. Diese Liste umfasst die vorgesehenen Aufgaben des Systems.

### **Logbook**

Bei Auswahl von **Logbook** können Sie eine Liste der Analysenläufe einschließlich der Gerätebedingungen und aller unerwarteten Ereignissen während der Analysen der Proben erstellen.

### **Methods**

Bei Auswahl von **Methods** können Sie eine Liste aller Methoden erstellen, die in einer Reihe automatischer Analysen verwendet wurden.

### **Analysis Reports**

Bei Auswahl von **Analysis Reports** erhalten Sie Reports der einzelnen Analysen gemäß der in der Methode gewählten Vorlage.

Einzelne Analysenreports können nach jeder Analyse mit der gewählten Reportvorlage der Methode ausgedruckt werden. Dies erfolgt zusätzlich zu den Reportabschnitten, die im **Sequence Summary Reporting** angegeben sind. Weitere Informationen hierzu finden Sie in „Sequenzausgabe“ weiter unten.

## SUILabel Type = Application > Statistics for Calibrated and Sample Runs

Bei Auswahl von „Statistics cal. runs“ werden statistische Trendanalysen der Kalibrierproben erzeugt. Bei Auswahl von **Statistics** über Analysenläufe werden statistische Trendanalysen für unbekannte Proben erstellt. Beide Wahlmöglichkeiten bieten die Gestaltungsvorlagen „Standard-Statistic“ und „Extended Statistic“. **Extended Statistics** gibt die statistischen Trends der Analysen in Form von Diagrammen aus, während **Standard Statistics** nur Text ausgibt. Die Auswahl im Dialogfeld **Items and Limits for Extended Statistics** werden nur bei Auswahl der Option **Extended Statistic** im Dialogfeld **Sequence Summary Parameters** verwendet.

Bei Auswahl der Option **Standard Statistic** im Dialogfeld **Sequence Summary Parameters** werden folgende statistische Auswertungen angeboten:

- Retentions-/Migrationszeit
- Fläche
- Höhe
- Menge
- Peakbreite (basierend auf der Reportvorlage, siehe [“Reportvorlagen”](#) auf Seite 236)
- Symmetrie

Die statistische Auswertung unterscheidet nicht zwischen verschiedenen Kalibrierpunkten in einer Sequenz mit Mehrpunktkalibrierung. Das bedeutet, dass konzentrationsabhängige Angaben (Fläche, Höhe, Menge, siehe Dialogfeld „Elemente und Grenzwerte für die erweiterte Statistik“) unabhängig von der Kalibrierungsstufe zusammengefasst werden. Die Werte von **Statistics for Calibration Runs** sind bei Mehrpunktkalibrierungen in Sequenzen daher nicht anwendbar.

## Übersicht

Bei Auswahl von **Summary** wird eine Übersicht über die analysierte Probenreihe und die verwendeten Methoden gedruckt. Wenn „Übersicht“ zusammen mit anderen Optionen aus „Sequenzübersicht“ gewählt wird, werden Verweise mit Seitenzahlen auf andere Teile in die Übersicht eingefügt. Es sind zwei Vorlagen für „Übersicht“ verfügbar:

Die **Sample Summary** präsentiert die Analysenläufe der Sequenz tabellarisch mit Probeninformationen, wie Probenname, Name der Datendatei, Methode und Nummer des Probenfläschchens.

Die **Compound Summary** fasst die Ergebnisse tabellarisch zusammen und nennt Ergebnisse der Quantifizierung für jede kalibrierte Komponente oder für jeden Peak. Dies hängt von dem in der Methode festgelegten Report ab.

## Sequenzausgabe

Im Dialogfeld **Sequence Output** können Sie festlegen, wohin der Übersichtsreport der Sequenz gedruckt werden soll.

Wählen Sie **Report to file** und geben Sie einen Dateinamen an, damit der Report in diese Datei ausgegeben wird. Die Standardeinstellung ist die Ausgabe in die Datei GLPrprt.txt. Bei GC-Systemen mit Doppelinjektion werden die Dateien GLPrprtF.txt und GLPrprtB.txt für den vorderen bzw. hinteren Injektor angelegt.

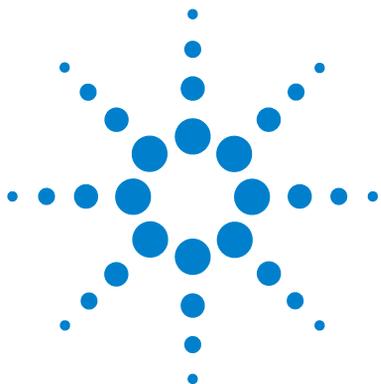
Wählen Sie **Report to PDF**, um den Report als PDF-Dokument zu speichern. Der Report wird im Sequenzordner unter dem Namen „CLPrprt.PDF“ gespeichert.

Wählen Sie **Report to HTM**, um den Report im HTML-Format zu speichern. Der Report wird in einem HTM-Verzeichnis in dem unter **Sequence Parameters** angegebenen Verzeichnis gespeichert. Der HTM-Report besteht aus einer Indexdatei (index.htm) und mindestens zwei weiteren Dateien, einer Inhaltsdatei (contents.htm) und einer GIF-Datei (Graphics Interchange Format) für jede Reportseite (z. B. page1.gif). Öffnen Sie zum Anzeigen des HTML-Reports die Indexdatei in Ihrem Browser.

Wählen Sie **Report to printer**, um den Report über den Systemdrucker auszugeben. „Ein Report pro Analysenlauf“ aktiviert auch das Drucken von Probenreports nach jeder Analyse. Diese Reports werden zusätzlich zu den zusammenfassenden Reports am Ende der Sequenz ausgegeben. Sie können für diesen Ausdruck ein neues Ausgabeziel im Dialogfeld **Sequence Output** angeben oder das Ausgabeziel verwenden, das in der einzelnen Methode festgelegt wurde.

## **10 Verwendung der ChemStation-Reports**

### **Sequenzübersichtsreport**



# 11 Systemeignungsevaluierung

Rauschbestimmung	251
Bestimmung des Rauschens als sechsfache Standardabweichung	251
Bestimmung des Rauschens nach der Peak-zu-Peak-Berechnung	252
Bestimmung des Rauschens mit der ASTM-Methode	253
Berechnung des Signal-Rausch-Verhältnisses	255
Drift und Wanderung	255
Berechnung der Peaksymmetrie	256
Formeln und Rechenmethoden zur Beurteilung der Systemeignung	258
Allgemeine Definitionen	259
Totvolumen	259
Retentionszeit einer nicht retardierten Substanz T (m) [min]	259
Leistungstest-Definitionen	260
Statistische Momente	260
Statistische Momente, Schräge und Exzess	261
Tatsächliche Peakbreite $W_x$ [min]	262
Kapazitätsfaktor (USP), Kapazitätsverhältnis (ASTM) $k'$	262
Peaktailing nach USP $t$	262
Anzahl der theoretischen Trennböden der Säule (USP, ASTM) $n$	263
Anzahl theoretischer Trennstufen pro Meter $N$ [1/m]	264
Relative Retention (USP, ASTM), Selektivität Alpha	264
wobei Auflösung (USP, ASTM) $R$	265
Definitionen der Reproduzierbarkeit	266
Probenmittelwert $M$	266
Proben-Standardabweichung $S$	266
Relative Standardabweichung RSD[%] (USP)	267
Standardabweichung des Mittelwerts $SM$	267



Konfidenzintervall CI 268  
Regressionsanalyse 269  
Regressionskoeffizient 269  
Standardabweichung (S) 270

Interner gespeicherter Doppelpräzisions-Zahlenzugriff 271

In diesem Kapitel wird beschrieben, welche Funktionen die ChemStation ausführen kann, um die Leistung des Analysengeräts vor seiner Verwendung für die Probenanalyse sowie der Analysenmethode vor ihrer routinemäßigen Verwendung auszuwerten. Außerdem wird beschrieben, wie die Leistung der Analysensysteme vor und während der routinemäßigen Analyse überprüft werden kann.

Die Evaluierung der Leistungsfähigkeit sowohl von Analysengeräten vor deren Einsatz für die Probenanalyse als auch von Analysenmethoden vor deren routinemäßigem Einsatz sind Bestandteil der guten Analysenpraxis. Es empfiehlt sich auch, die Leistungsfähigkeit von Analysensystemen vor und während Routineanalysen zu überprüfen. Die ChemStation-Software bietet Werkzeuge an, welche eine automatische Durchführung dieser drei Arten von Tests ermöglichen. Ein Gerätetest kann die Detektorempfindlichkeit, die Präzision der Retentionszeit bzw. Migrationszeit der Peaks sowie die Präzision von Peakflächen umfassen. Ein Methodentest kann die Präzision der Retentionszeit bzw. Migrationszeit sowie Menge, Selektivität und Robustheit der Methode bezüglich täglicher Abweichung während des Betriebs umfassen. Ein Systemtest kann die Präzision von Mengen, die Auflösung zwischen zwei spezifischen Peaks und das Peak-Tailing umfassen.

Labors, für die folgende Bestimmungen gelten:

- Bestimmungen zur Guten Laborpraxis (GLP)
- Bestimmungen zur Guten Herstellungspraxis (GMP) und derzeit geltende Bestimmungen zur Guten Herstellungspraxis (cGMP)
- Bestimmungen zur Guten Analysen- und Laborpraxis (GLP)

Labors wird empfohlen, diese Tests durchzuführen und sorgfältig zu dokumentieren. Labors, die Teil eines Qualitätskontrollsystems sind und z. B. die Norm ISO 9000 einzuhalten haben, müssen die einwandfreie Leistungsfähigkeit ihrer Geräte nachweisen.

Die ChemStation vergleicht Ergebnisse aus unterschiedlichen Läufen und evaluiert diese statistisch im Sequenzübersichtsreport.

Die Tests werden in einem Format dokumentiert, das von Aufsichtsbehörden und unabhängigen Prüfern allgemein akzeptiert werden. Die Statistiken umfassen:

- Retentions-/Migrationszeit der Peaks
- Peakfläche
- Menge
- Peakhöhe
- Halbwertbreite des Peaks
- Peak-Symmetrie
- Peaktailing
- Kapazitätsfaktor ( $k'$ )
- Bodenzahlen
- Auflösung zwischen Peaks
- Selektivität gegenüber vorangehenden Peaks
- Schräge
- Überschuss

Der Mittelwert, die Standardabweichung, die relative Standardabweichung und das Konfidenzintervall werden berechnet. Sie können wahlweise Grenzen für die Standardabweichung, die relative Standardabweichung oder das Konfidenzintervall für jeden dieser Parameter einstellen. Sollten die Werte die von Ihnen festgelegten Grenzen überschreiten, wird der Bericht markiert, um Sie darauf aufmerksam zu machen.

Die Qualität der Analysendaten kann gestützt werden, indem Berichte zu den Bedingungen zum Zeitpunkt der Messung geführt werden. Das Logbuch der ChemStation verzeichnet die Gerätebedingungen vor und nach dem Lauf. Diese Information wird mit den Daten gespeichert und mit den Probandaten gemeldet. Geräteleistungskurven werden während der gesamten Analyse als Signale aufgezeichnet und in der Datendatei gespeichert. Sofern die Geräte diese Funktion unterstützen, können diese Berichte zum Chromatogramm einblendet, auf Wunsch während eines Audits abgerufen werden.

Basislinienrauschen und Drift können automatisch gemessen werden. Eine untere Detektionsgrenze kann ausgehend von den Daten zur Peakhöhe für jede kalibrierte Verbindung in der Methode berechnet werden.

Die Gerätekonfiguration, die Geräte-Seriennummer, die Säulen-/Kapillaridentifikation und Anmerkungen des Benutzers können in jeden gedruckten Bericht mit einbezogen werden.

Erweiterte Ergebnisse zur Leistungsfähigkeit werden nur für kalibrierte Verbindungen innerhalb der Methode berechnet; dadurch wird sichergestellt, dass die Charakterisierung über Retentions-/Migrationszeiten und Namen der Verbindungen erfolgt.

Ein typischer Testbericht zur Systemleistung enthält die folgenden Ergebnisse bezüglich der Leistungsfähigkeit:

- Angaben zum Gerät
- Angaben zu Säulen/Kapillaren
- Analysenmethode
- Information zur Probe
- Information zur Datenerfassung
- Signalbeschreibung und Bestimmung des Basislinienrauschens
- Signal, gekennzeichnet entweder mit Retentions-/Migrationszeiten oder mit Namen der Verbindung

Zusätzlich wird folgende Information für jede kalibrierte Verbindung im Chromatogramm generiert:

- Retentions-/Migrationszeit
- $k'$
- Symmetrie
- Peakbreite
- Bodenzahlen
- Auflösung
- Signal/Rausch-Verhältnis
- Name der Verbindung

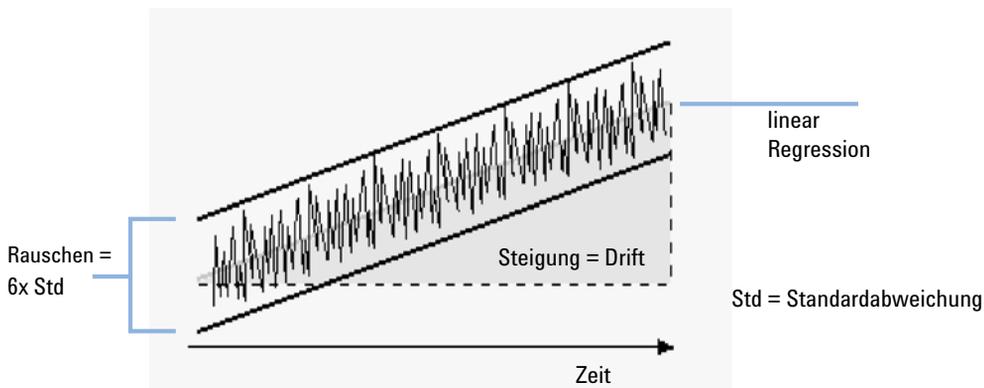
## Rauschbestimmung

Das Rauschen kann anhand der Datenpunktwerte eines ausgewählten Zeitbereichs eines Signals bestimmt werden. Rauschen kann auf drei Arten beschrieben werden:

- als die sechsfache Standardabweichung (SD) der linearen Regression der Drift,
- als Peak-zu-Peak (Drift-korrigiert) und
- als gemäß der ASTM-Methode ermittelt (ASTM E 685-93).

Das Rauschen kann für bis zu sieben Bereiche des Signals berechnet werden. Die Bereiche werden als Teil der Einstellungen zur Systemeignung bei den Reportparametern festgelegt.

### Bestimmung des Rauschens als sechsfache Standardabweichung



**Abbildung 42** Rauschen als das Sechsfache der Standardabweichung

Die lineare Regression wird unter Verwendung aller Datenpunkte innerhalb eines bestimmten Zeitbereichs berechnet (siehe [“Regressionsanalyse”](#) auf Seite 269). Das Rauschen ergibt sich nach folgender Formel:

$$N = 6 \times Std$$

## 11 Systemeignungsevaluierung

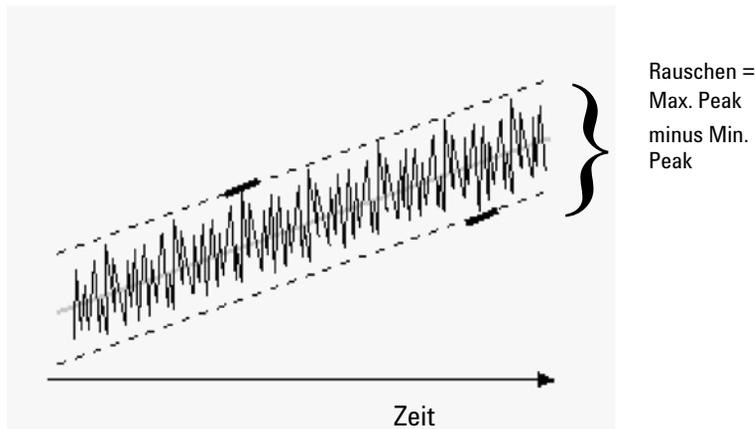
### Rauschbestimmung

wobei

N das Rauschen gemäß der sechsfachen Standardabweichung und

Std die Standardabweichung der linearen Regression aller Datenpunkte in dem Zeitbereich ist.

## Bestimmung des Rauschens nach der Peak-zu-Peak-Berechnung



**Abbildung 43** Rauschen als Abstand zwischen maximalem Peak und minimalem Peak

Zunächst wird der Drift durch Bestimmung der linearen Regression aller Datenpunkte in dem Zeitbereich ermittelt (siehe [“Regressionsanalyse”](#) auf Seite 269). Zur Ermittlung des Drift-korrigierten Signals wird die lineare Regressionslinie von allen Datenpunkten des Zeitbereichs abgezogen. Das Peak-zu-Peak-Rauschen wird dann nach folgender Formel berechnet:

$$N = I_{\max} - I_{\min}$$

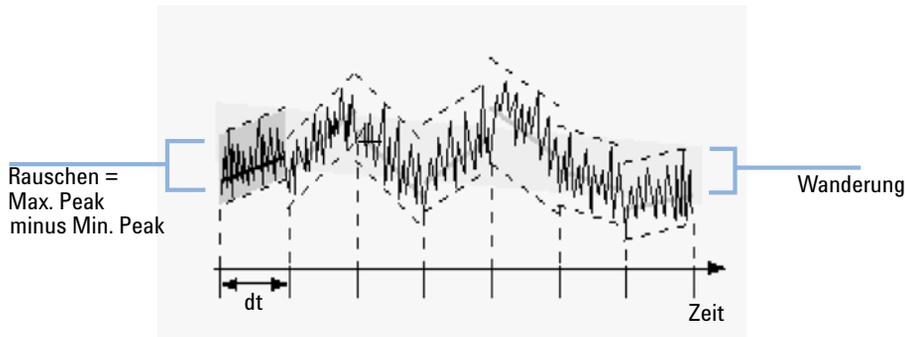
wobei

N das Peak-zu-Peak-Rauschen ist,

$I_{\max}$  der größte Peak ist und

$I_{\min}$  der kleinste Peak in dem Zeitbereich ist.

## Bestimmung des Rauschens mit der ASTM-Methode



**Abbildung 44** Mit ASTM-Methode ermitteltes Rauschen

Die ASTM-Rauschbestimmung (ASTM E 685-93) basiert laut Definition der American Society for Testing and Materials auf der Standardpraxis für das Testen von photometrischen Detektoren für variable Wellenlängen, wie sie bei der Flüssigkeitschromatographie verwendet werden. Basierend auf der Größe des Zeitraums können drei verschiedene Rauschtypen unterschieden werden. Die Rauschbestimmung basiert auf der Peak-zu-Peak-Messung innerhalb definierter Zeiträume.

### Zykluszeit, $t$

*Langzeitrauschen:* die maximale Amplitude für alle zufälligen Variationen des Detektorsignals bei Frequenzen zwischen 6 und 60 Zyklen pro Stunde. Das Langzeitrauschen wird ermittelt, wenn der ausgewählte Zeitraum eine Stunde überschreitet. Der Zeitbereich für die einzelnen Zyklen ( $dt$ ) wird auf 10 Minuten gesetzt. Dies ermöglicht mindestens sechs Zyklen innerhalb des ausgewählten Zeitbereichs.

*Kurzzeitrauschen:* die maximale Amplitude für alle zufälligen Variationen des Detektorsignals bei einer Frequenz, die größer als ein Zyklus pro Minute ist. Das Kurzzeitrauschen wird für einen ausgewählten Zeitbereich zwischen 10 und 60 Minuten ermittelt. Der Zeitbereich für die einzelnen Zyklen ( $dt$ ) wird auf eine Minute gesetzt. Dies ermöglicht mindestens 10 Zyklen innerhalb des ausgewählten Zeitbereichs.

*Sehr kurzfristiges Rauschen (nicht Bestandteil von ASTM E 685-93):* Die maximale Amplitude aller zufälligen Schwankungen des Detektorsignals mit einer Frequenz von mehr als einem Zyklus pro 0,1 Minute.

## 11 Systemeignungsevaluierung

### Rauschbestimmung

Sehr kurzfristiges Rauschen wird in einem Zeitintervall zwischen 1 und 10 Minuten bestimmt. Als Zeitintervall eines Zyklus ( $dt$ ) wird 0,1 Minute gewählt, sodass im gewählten Zeitbereich mindestens 10 Zyklen erfasst werden.

#### Bestimmung der Zyklenzahl, $n$

$$n = \frac{t_{tot}}{t}$$

wobei  $t$  die Zykluszeit und  $t_{tot}$  die Gesamtzeit ist, über die das Rauschen ermittelt wird.

#### Berechnung des Peak-zu-Peak-Rauschens in jedem Zyklus

Zunächst wird der Drift durch Bestimmung der linearen Regression aller Datenpunkte in dem Zeitbereich ermittelt (siehe ["Regressionsanalyse"](#) auf Seite 269). Zur Ermittlung des Drift-korrigierten Signals wird die lineare Regressionslinie von allen Datenpunkten des Zeitbereichs abgezogen. Das Peak-zu-Peak-Rauschen wird dann nach folgender Formel berechnet:

$$N = \frac{I_{max}}{I_{min}}$$

wobei  $N$  das Peak-zu-Peak-Rauschen,  $I_{max}$  der höchste Peak (Maximum) und  $I_{min}$  der niedrigste Peak (Minimum) in dem Zeitbereich ist.

#### Berechnung des ASTM-Rauschens

$$N_{ASTM} = \frac{\sum_{i=1}^n N}{n}$$

wobei  $N_{ASTM}$  das Rauschen nach der ASTM-Methode ist.

Eine Bestimmung des Rauschens nach ASTM wird nicht durchgeführt, wenn der gewählte Zeitbereich kürzer als eine Minute ist. Wenn der ausgewählte Zeitbereich größer oder gleich einer Minute ist, wird das Rauschen unter Verwendung einer der zuvor beschriebenen ASTM-Methoden ermittelt. Bei der Berechnung werden mindestens sieben Datenpunkte pro Zyklus verwendet. Die Zyklen bei der automatischen Bestimmung der Rauschhöhe überlappen um 10 %.

## Berechnung des Signal-Rausch-Verhältnisses

Für die Berechnung des Signal-Rausch-Verhältnisses verwendet die ChemStation für das Rauschen das Sechsfache der Standardabweichung (sd) der linearen Regression der Drift. Der dem Peak nächste Bereich wird aus den Bereichen gewählt, die in den Einstellungen für die Systemeignung vorgegeben sind. Das Signal-Rausch-Verhältnis wird dann nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Signal-to-Noise} = \frac{\text{Height of the peak}}{\text{Noise of closest range}}$$

Das Signal-Rausch-Verhältnis wird für jeden Peak im Signalverlauf berechnet. Wenn die ChemStation keinen Rauschwert ermitteln kann, wird das Signal-Rausch-Verhältnis mit "-" gekennzeichnet.

## Drift und Wanderung

Die Drift wird als Steigung der Regressionsgeraden gemäß Abbildung „Rauschen als das Sechsfache der Standardabweichung“ definiert und Wanderung wird als Peak-zu-Peak-Rauschen der Mittelwerte in den ASTM-Rauschzyklen bestimmt, siehe Abbildung „Mit ASTM-Methode ermitteltes Rauschen“.

## Berechnung der Peaksymmetrie

Die ChemStation führt keine Bestimmung der Peakasymmetrie durch Vergleich der halben Peakbreiten in 10 %, oder wie von der FDA empfohlen, in 5 % der Peakhöhe durch.

Die Peaksymmetrie wird vom Integrator als Pseudomoment mit folgenden Gleichungen berechnet:

$$m_1 = a_1 \left( t_2 + \frac{a_1}{1.5H_f} \right)$$

$$m_2 = \frac{a_2^2}{0.5H_f + 1.5H}$$

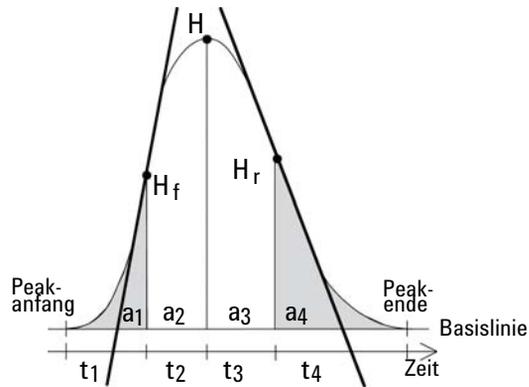
$$m_3 = \frac{a_3^2}{0.5H_r + 1.5H}$$

$$m_4 = a_4 \left( t_3 + \frac{a_4}{1.5H_r} \right)$$

$$\text{Peak symmetry} = \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_3 + m_4}}$$

Wenn nur ein Wendepunkt oder keine Wendepunkte gefunden werden, dient folgende Formel zur Berechnung der Peaksymmetrie:

$$\text{Peak symmetry} = \frac{a_1 + a_2}{a_3 + a_4}$$



**Abbildung 45** Berechnung des Peaksymmetriefaktors

wobei

$a_i$  = Flächenwert des Abschnitts

$t_i$  = Zeit des Abschnitts

$H_f$  = Höhe des vorderen Wendepunkts

$H_r$  = Höhe des hinteren Wendepunkts

$H$  = Höhe im Maximum

# Formeln und Rechenmethoden zur Beurteilung der Systemeignung

Die ChemStation verwendet die folgenden Formeln zur Berechnung der Systemleistung in den verschiedenen Tests. Die Ergebnisse werden in den Reportvorlagen "Performance" (Leistung), "Performance + Noise" (Leistung + Rauschen) und "Performance + Extended" (Leistung + Erweitert) eingebunden.

Wenn in einer gegebenen Definition ASTM oder USP angegeben wird, entsprechen die Definitionen der Referenz. Es ist jedoch zu beachten, dass die hier verwendeten Symbole von jenen der Referenzen abweichen können.

Die beiden Referenzen in diesem Zusammenhang sind:

- *ASTM: Abschnitt E 682 - 93, Annual Book of ASTM Standards, Vol. 14.01*
- *USP: The United States Pharmacopeia, XX. Revision, pp. 943 - 946*

## Allgemeine Definitionen

### Totvolumen

$$V = d^2 \pi l (f/4)$$

wobei

d = Durchmesser der Säule [cm]

$\pi$  = Konstante, Verhältnis von Umfang zu Durchmesser eines Kreises

l = Säulenlänge [cm]

f = Anteil am Säulenvolumen, das nicht durch die stationäre Phase ausgefüllt wird und mobile Phase aufnehmen kann; Standardwert beträgt: f = 0,68 (für Hypersil)

### Retentionszeit einer nicht retardierten Substanz T (m) [min]

(Andere Bezeichnung Totzeit oder Nullzeit)

$$T_m = V/F$$

wobei

F = LC-Flussrate [ml/min]

## Leistungstest-Definitionen

### Statistische Momente

$$M0 = d_t \cdot X$$

$$M1 = t_0 + d_t \cdot \frac{X}{Y}$$

$$M2 = \frac{d_t^2}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left( \left( i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^2 \cdot A_i \right)$$

$$M3 = \frac{d_t^3}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left( \left( i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^3 \cdot A_i \right)$$

$$M4 = \frac{d_t^4}{X} \cdot \sum_{i=1}^N \left( \left( i - 1 - \frac{Y}{X} \right)^4 \cdot A_i \right)$$

wobei

N

Anzahl der Flächenabschnitte

$A_i$

Wert des Flächenabschnitts indiziert durch i

$d_t$

Intervall zwischen benachbarten Flächenabschnitten

$t_0$

Zeit des ersten Flächenabschnitts der Peakfläche

$\sum$

Summenbildung über die Einzelbeobachtungen mit dem Index 1 bis zum letzten Index N

$\sum_{i=1}^N$

$$X = \sum_{i=1}^N (A_i)$$

$$Y = \sum_{i=1}^N ((i-1)A_i)$$

## Statistische Momente, Schräge und Exzess

Die statistischen Momente werden alternativ zur Beschreibung asymmetrischer Peakformen verwendet. Es existiert eine unendliche Anzahl statistischer Momente zu einem Peak, es werden jedoch nur die ersten fünf zur Beschreibung chromatographischer Peaks verwendet. Diese werden „0. Moment“, „1. Moment“, ... „4. Moment“ genannt.

Das 0. Moment stellt die Peakfläche dar.

Das 1. Moment stellt die mittlere Retentionszeit gemessen am Peak Schwerpunkt dar. Diese unterscheidet sich von der chromatographischen Retentionszeit, die am Peakmaximum gemessen wird, vorausgesetzt es handelt sich um einen symmetrischen Peak.

Das 2. Moment stellt die Peakvarianz dar, die ein Maß für die Peakverbreiterung ist. Es ist eine Summe der Varianzen aus verschiedenen Beiträgen des Gerätesystems.

Das 3. Moment beschreibt die vertikale Symmetrie oder Schräge. Es ist ein Maß für die Abweichung der Peakform von der idealen Gaußform. Die Schräge wird im Report „Leistung + Erweitert“ zusätzlich dimensionslos angegeben. Ein symmetrischer Peak hat eine Schräge von Null. Peaks mit Tailing haben eine positive Schräge mit einem 1. Moment, das größer als die Retentionszeit ist. Peaks mit Fronting haben eine negative Schräge und ihr 1. Moment ist kleiner als die Retentionszeit.

Das 4. Moment oder der Exzess ist ein Maß für die Stauchung oder Zerrung eines Peaks längs einer vertikalen Achse als Vergleich zur idealen Gaußform, die ein 4. Moment von Null aufweist. Eine visuelle Vergleichsdarstellung wäre das Verschieben der Seiten eines Gaußpeaks bei konstanter Fläche. Wenn ein Peak in diesem Vergleich „komprimiert“ wird, weist er einen negativen Exzess auf. Wenn er höher und schmaler wird, ist der Exzess positiv. Der Wert des Exzesses wird im Report „Leistung + Erweitert“ als dimensionsloser Wert präsentiert.

## Tatsächliche Peakbreite $W_x$ [min]

$W_x$  = width of peak at height x % of total height

$W_B$  Basisbreite, 4 Sigma, wird erhalten, indem Tangenten durch die Wendepunkte gelegt werden, die die Basislinie schneiden (Tangentenpeakbreite).

$W_{4,4}$  Breite bei 4,4 % der Höhe (Sigmabreite 5)

$W_{5,0}$  Breite bei 5 % der Höhe (Tailing-Peakbreite), wird für den USP-Tailingfaktor verwendet

$W_{50,0}$  Breite bei 50 % der Höhe (wahre Peakbreite bei halber Höhe oder 2,35 Sigma).

## Kapazitätsfaktor (USP), Kapazitätsverhältnis (ASTM) $k'$

$$k' = \frac{T_R - T_0}{T_0}$$

wobei

$T_R$  = Retentionszeit des Peaks [min]

$T_0$  = Totzeit [min]

## Peaktailing nach USP $t$

$$t = \frac{W_{5,0}}{t_w \cdot 2}$$

wobei

$t_w$  = Abstand in Minuten zwischen der Peakvorderseite und  $T_R$ , gemessen bei 5 % der Peakhöhe

$W_{5,0}$  = Peakbreite bei 5 % der Peakhöhe [min]



### **5 Sigma-Methode**

$$n = 25 \left( \frac{T_R}{W_{4,4}} \right)^2$$

wobei

$W_{4,4}$  = Peakbreite bei 4,4 % der Peakhöhe [min]

### **Methode unter Verwendung der Varianz:**

$$n = \frac{M1^2}{M2}$$

wobei

$Mx$  = x. statistisches Moment (siehe auch "Statistische Momente" auf Seite 260)

## **Anzahl theoretischer Trennstufen pro Meter N [1/m]**

$$N = 100 \times \frac{n}{l}$$

wobei

n = Anzahl theoretischer Trennböden

l = Säulenlänge [cm]

## **Relative Retention (USP, ASTM), Selektivität Alpha**

(Bezogen auf zwei Peaks a und b,  $T_R$  des Peaks a <  $T_R$  des Peaks b)

$$\alpha = \frac{k'_{(b)}}{k'_{(a)}}, \alpha \geq 1$$

wobei

$k'_{(x)}$  = Kapazitätsfaktor für Peak x

## wobei Auflösung (USP, ASTM) R

(Bezogen auf Peaks a und b,  $T_R$  des Peaks a <  $T_R$  des Peaks b;  $T_R$  in min)

### Tangentenmethode (USP, ASTM):

$$R = \frac{2(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{B(b)} + W_{B(a)}}$$

### 5 Sigma-Methode

$$R = \frac{2.5(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{4.4(b)} + W_{4.4(a)}}$$

### Methode der Halbwertsbreite (Auflösung wird in Leistungsreport verwendet)

$$R = \frac{(2.35/2)(T_{R(b)} - T_{R(a)})}{W_{50(b)} + W_{50(a)}}$$

### Statistische Methode:

$$R = \frac{M1_{(b)} - M1_{(a)}}{W_{S(b)} + W_{S(a)}}$$

wobei

$M1_{(x)}$  = Mittlere Retentionszeit für Peak x (1. statistisches Moment) [min]

$W_{B(x)}$  = Basisbreite für Peak x [min]

$W_{4.4(x)}$  = Breite bei 4,4 % der Peakhöhe x [min]

$W_{50(x)}$  = Breite bei 50 % der Peakhöhe x [min]

$W_S(x)$  = Breite abgeleitet von statistischen Momenten =  $\sqrt{(M2)}$  für Peak x [min] (siehe auch "Statistische Momente" auf Seite 260)

## Definitionen der Reproduzierbarkeit

Für die statistische Betrachtung der Analysendaten mit Blick auf die Reproduzierbarkeit wird die Sequenz als eine kleine, zufällig aus einer unendlichen Anzahl möglicher experimenteller Ergebnisse ausgewählte Probe betrachtet. Um einen vollständigen Ergebnissatz zu erhalten, bräuchte man eine unbegrenzte Menge Probenmaterial und Zeit. Genaue statistische Daten beziehen sich ausschließlich auf einen kompletten, in sich selbst geschlossenen Satz oder eine Datenpopulation. Aus diesem Grund ist die Voraussetzung für solch eine Datenbehandlung, dass die ausgewählte Probe als repräsentativ für alle Daten betrachtet werden kann.

### Probenmittelwert M

Der Mittelwert M einer zufällig ausgewählten Probe, die N mal gemessen wurde, wird aus diesem begrenzten Satz von N einzeln ermittelten Werten  $X_i$  (mit dem Index i als fortlaufendem Zähler) anhand folgender Formel berechnet:

$$M = \frac{\sum_{i=1}^N X_i}{N}$$

wobei

N = Anzahl der Einzelbeobachtungen

$X_i$  = Wert der Einzelbeobachtungen mit dem Index i

### Proben-Standardabweichung S

Eine zufällige Probe der Größe N wird angenommen. Die Proben-Standardabweichung S für die ausgewählte begrenzte Probe aus der großen Datenpopulation wird ermittelt durch

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - M)^2}{N - 1}}$$

Die Proben-Standardabweichung S unterscheidet sich in zwei Punkten von der Standardabweichung s für die gesamte Population:

- Anstelle des wirklichen Mittelwertes wird nur der Proben-Mittelwert M verwendet und
- die Division erfolgt durch N-1 anstelle von N.

## Relative Standardabweichung RSD[%] (USP)

Die relative Standardabweichung ist definiert als

$$RSD = 100 \frac{S}{M}$$

## Standardabweichung des Mittelwerts $S_M$

M stellt den Probenmittelwert dar und S die Proben-[oder (N-1)]-Standardabweichung. Die Standardabweichung  $S_M$  vom Probenmittelwert M wird folgendermaßen ermittelt

$$S_M = \frac{S}{\sqrt{N}}$$

Dies kann durch ein Beispiel verdeutlicht werden:

Während die Retentionszeit einer bestimmten Substanz in einer Sequenz leicht vom berechneten Mittelwert abweichen kann, können sich die Daten aus einer anderen Sequenz, z. B. durch Änderungen in der Umgebungstemperatur, Degradation des Säulenmaterials mit der Zeit usw., deutlich unterscheiden. Um diese Abweichung zu ermitteln, kann die Standardabweichung des Probenmittelwerts  $S_M$  gemäß der obigen Formel berechnet werden.

## Konfidenzintervall CI

Das Konfidenzintervall wird berechnet, um Informationen über die Güte der Schätzung des Mittelwerts zu erhalten, wenn dieser auf die ganze Population und nicht nur auf eine Probe angewandt wird.

Das  $100 \times (1 - \alpha) \%$  Konfidenzintervall für den Gesamtmittelwert ist gegeben durch

$$CI = t_{(\alpha/2);N-1} \cdot S_M$$

wobei

$$t_{(\alpha/2);N-1}$$

Prozentpunkt der t-Verteilungstabelle bei einer Risikowahrscheinlichkeit von  $\alpha$ )

Für die erweiterte Statistik im Sequenzübersichtsreport kann das 95%-Konfidenzintervall verwendet werden ( $\alpha = 0.05$ ).

Die t-Verteilung (oder „Student-Verteilung“) muss bei kleinen Probenvolumina verwendet werden. Im Falle großer Probenvolumina differieren die Ergebnisse für die t-Verteilung und die Normalverteilung (Gauß) nicht mehr. Deshalb kann bei 30 oder mehr Proben stattdessen die Normalverteilung verwendet werden. (Es wäre sehr schwierig, die t-Verteilung für eine große Probenanzahl zu berechnen; die Normalverteilung ist die beste Annäherung.)

95%-Konfidenzintervall für 6 Proben:

$$1 - \alpha = 0.95$$

$$N = 6$$

Der korrekte Wert für t muss aus der t-Verteilungstabelle für 5 (N-1) Freiheitsgrade und für den Wert  $\alpha/2$ , d. h. 0,025, genommen werden. Daraus ergibt sich die folgende Berechnungsformel für CI:

$$CI = 2.571 \cdot \frac{1}{\sqrt{6}} \cdot S_M$$

## Regressionsanalyse

Mit:

Koeffizienten:

$$y_{(X)} = a + bX$$

Koeffizienten:

$$a = \frac{1}{\Delta_X} \left( \sum_{i=1}^N X_i^2 \cdot \sum_{i=1}^N Y_i - \left( \sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i \right) \right)$$

$$b = \frac{1}{\Delta_X} \left( N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \left( \sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right) \right)$$

wobei

$$\Delta_X = N \cdot \sum_{i=1}^N X_i^2 - \left( \sum_{i=1}^N X_i \right)^2$$

## Regressionskoeffizient

$$r = \frac{\left( N \cdot \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \sum_{i=1}^N X_i \cdot \sum_{i=1}^N Y_i \right)}{\sqrt{\Delta_X \cdot \Delta_Y}}$$

wobei

$$\Delta_Y = N \cdot \sum_{i=1}^N Y_i^2 - \left( \sum_{i=1}^N Y_i \right)^2$$

**11 Systemeignungsevaluierung**  
Definitionen der Reproduzierbarkeit

**Standardabweichung (S)**

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - a - bX_i)^2}{N - 2}}$$

## Interner gespeicherter Doppelpräzisions-Zahlenzugriff

Für Validierungszwecke kann eine manuelle Neuberechnung der ChemStation-Ergebnisse wie Kalibrierkurven, Korrelationskoeffizienten, theoretische Trennböden usw. notwendig sein. Dabei muss das in der ChemStation verwendete Zahlenformat berücksichtigt werden.

Für alle in der ChemStation intern gespeicherte Zahlen wird der „C“ Datentyp DOUBLE verwendet. Dies bedeutet, dass für jede Zahl 14 signifikante Stellen gespeichert werden. Die Implementierung dieses Datentyps folgt der Microsoft-Implementierung des IEEE-Standards für den Datentyp „C“ und die damit verbundenen Rundungsregeln (siehe Microsoft-Dokumentationen Q42980, Q145889 und Q125056).

Entsprechend der unbegrenzten Zahl von Parametern, die für die Berechnung der Kalibriertabelle verwendet werden können, ist es nicht möglich, den exakten Fehler zu berechnen, der sich durch die Fortpflanzung und Aufaddierung von Rundungsfehlern ergibt. Gründliches Testen mit verschiedenen Kalibrierkurven-Konstruktionen hat jedoch gezeigt, dass eine Genauigkeit auf bis zu 10 Stellen garantiert werden kann. Da die Wiederholbarkeit von chromatographischen Analysen die Fläche, Höhe und Retentionszeit betreffend 3 signifikante Stellen besitzt, ist die Verwendung von 10 signifikanten Stellen während der Berechnung ausreichend. Aus diesem Grund werden bei der Kalibrierung und anderen Tabellen maximal 10 signifikante Stellen angegeben.

Wird für die Validierung eine externe (manuelle) Berechnung benötigt, so wird empfohlen, alle für die interne Berechnung verwendeten Stellen zu benutzen. Die Verwendung der angezeigten und/oder gerundeten Daten bei der externen Berechnung kann durch Rundungsfehler zu anderen Ergebnissen führen, als die ChemStation ermittelt hat.

Im folgenden Abschnitt wird beschrieben, wie alle intern gespeicherten Stellen für Zahlen, die typischerweise für manuelle Berechnungen benötigt werden, erreicht werden können. In allen Fällen muss vor der Eingabe der aufgelisteten Befehle eine Datendatei geladen und ein Report mit der geeigneten Reportvorlage erstellt werden. Alle Befehle werden in der ChemStation-Befehlszeile eingegeben, die vom Menü View aus verfügbar gemacht werden kann. Die Angaben in der Datei „C:\CHEM32\TEMP.TXT“ können mit NOTEPAD oder einem geeigneten Texteditor angezeigt werden.

## 11 Systemeignungsevaluierung

### Interner gespeicherter Doppelpräzisions-Zahlenzugriff

#### **Rohpeakinformation:**

- Retentionszeit
- Fläche
- Höhe
- Breite (Integrator)
- Symmetrie
- Peak Startzeit
- Peak Endzeit

Verwenden Sie den Befehlszeileneintrag:

```
DUMPTABLE CHROMREG, INTRESULTS, "C:\CHEM32\1\TEMP\INT-RES.TXT"
```

#### **Verarbeitete Peakinformation:**

- Gemessene Retentionszeit
- Erwartete Retentionszeit
- Fläche
- Höhe
- Breite (Integrator)
- Symmetrie
- Halbe Breite - Halbe Peakhöhe (Leistung & Erweiterte Leistung)
- Tailingfaktor (Leistungstest & Erweiterter Leistungstest)
- Selektivität (Leistungstest & Erweiterter Leistungstest)
- $K'$  (Erweiterter Leistungstest)
- Tangenten-Peakbreite (Erweiterter Leistungstest)
- Schräge (Erweiterter Leistungstest)
- Theoretische Trennböden - Halbe Breite (Leistungstest & Erweiterter Leistungstest)
- Theoretische Trennböden - Tangente (Erweiterter Leistungstest)
- Theoretische Trennböden - 5-Sigma (Erweiterter Leistungstest)
- Theoretische Trennböden - Statistisch (Erweiterter Leistungstest)
- Auflösung - Halbe Breite (Leistungstest & Erweiterter Leistungstest)

- Auflösung - Tangente (Erweiterter Leistungstest)
- Auflösung – 5-Sigma (Erweiterter Leistungstest)
- Auflösung - Statistisch (Erweiterter Leistungstest)

Verwenden Sie den Befehlszeileneintrag:

```
DUMPTABLE CHROMRES, PEAK, "C:\CHEM32\1\TEMP\PEAK.TXT"
```

### **Verarbeitete Substanzinformation:**

- Berechnete Menge

Verwenden Sie den Befehlszeileneintrag:

```
DUMPTABLE CHROMRES, COMPOUND, "C:\CHEM32\1\TEMP\COM-  
POUND.TXT"
```

### **Kalibriertabelleninformation:**

- Stufenzahl
- Menge
- Fläche
- Höhe

Verwenden Sie den Befehlszeileneintrag:

```
DUMPTABLE _DAMETHOD, CALPOINT, "C:\CHEM32\1\TEMP\CALIB.TXT"
```

### **Lineare Regressionsinformationen:**

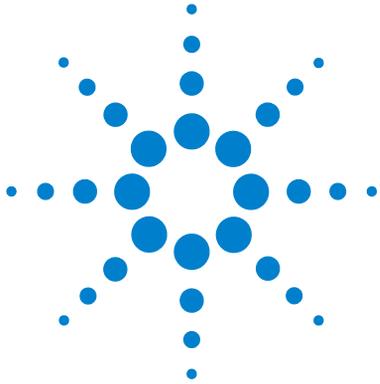
- Y-Achsenabschnitt (CurveParm1)
- Steigung (CurveParm2)
- Korrelationskoeffizient

Verwenden Sie den Befehlszeileneintrag:

```
DUMPTABLE _DAMETHOD, PEAK, "C:\CHEM32\1\TEMP\REGRESS.TXT"
```

## **11 Systemeignungsevaluierung**

### **Interner gespeicherter Doppelpräzisions-Zahlenzugriff**



## 12 Überprüfung des Systems

Ansichten für Überprüfung und Fehlerdiagnose 276

Überprüfung des Systems 276

Das Register "GLPsave" 279

Funktion "DAD Test" (DAD-Test) 281

Funktion „DAD-Test prüfen“ 281

In diesem Kapitel werden die Verifizierungsfunktionen und die GLP-Verifizierungsfunktionen der ChemStation beschrieben.



# Ansichten für Überprüfung und Fehlerdiagnose

Die ChemStation bietet, wenn dies die konfigurierten Instrumente ermöglichen, z. B. die Module der Agilent-Serie 1100/1200, zwei zusätzliche Ansichten für die Überprüfung und Diagnose. Weitere Informationen finden Sie in der Online-Hilfe.

## Überprüfung des Systems

Die Systemüberprüfung ist ein Schlüsselbaustein in der Qualitätssicherung des Routinebetriebs eines analytischen Labors. Die Möglichkeiten der ChemStation zur Überprüfung nach GLP sind so ausgelegt, dass Ihnen folgende Hilfen zur Verfügung stehen: Überprüfung der korrekten Funktionsweise der Software oder wichtiger Softwarekomponenten zum jetzigen Zeitpunkt oder zum Zeitpunkt einer bestimmten Analyse.

Die Funktion zur Überprüfung der ChemStation ermöglicht Ihnen die Überprüfung der korrekten Funktion Ihrer ChemStation-Software. Sie können dies durch erneute Verarbeitung Ihrer Datensätze mit speziellen Methoden erreichen und durch Vergleichen der Ergebnisse mit definierten Standards. Die Überprüfung ist besonders wichtig zur Sicherstellung der Zuverlässigkeit der Daten aus Integration und Quantifizierung.

Sie können den Standardtest zur Überprüfung verwenden oder Ihre eigenen Tests mit unterschiedlichen Methoden und Datendateien definieren, um die Kombinationen der bei Ihrer Methode verwendeten Rechensoftware zu prüfen. Der Überprüfungstest ist eine geschützte Datei, die nicht geändert oder gelöscht werden kann.

Mit dem Befehl "Verification" (Überprüfung) unter "Data Analysis" (Datenanalyse) können Sie eine der folgenden Optionen auswählen:

- Durchführung einer Überprüfung der Datenbank
- Definition eines neuen Verfahrens für eine Überprüfung und Hinzufügen zur Datenbank
- Löschen eines Überprüfungstests aus der Datenbank

Im Abschnitt "How To" des Online-Hilfesystems wird beschrieben, wie diese Aufgaben durchgeführt werden können. Während einer Überprüfung der ChemStation können Sie wählen, ob der gesamte Test oder nur Teile des Test durchlaufen werden sollen.

Die Ergebnisse der Überprüfung werden zusammen mit der Methode und den Datendateien im Binärformat im Standardverzeichnis gespeichert: "C:\CHEM32\1\Verify". Das Unterverzeichnis "Verify" (Überprüfung) steht auf derselben Ebene wie die Verzeichnisse der Sequenzen, Methoden und Datensätze. Sie können die Ergebnisse in eine Datei oder auf einem Drucker ausgeben. Die Testergebnisse einschließlich der Testergebnisse für kombinierte Überprüfungen werden mit "Test bestanden" bzw. "Test nicht bestanden" bewertet.

Für die Überprüfungstests stehen folgende Komponenten zur Verfügung:

### **Digital Electronics (nur Agilent DAD der Serie 1100/1200)**

Im Diodenarray-Detektor ist ein Testchromatogramm gespeichert. Dieses Chromatogramm wird zur ChemStation geschickt, nachdem es dieselben Bearbeitungsschritte durchlaufen hat wie normale Rohdatensätze von den Photodioden. Die daraus resultierenden Daten werden mit den Ursprungsdaten verglichen, die für dieses Testchromatogramm in der ChemStation abgelegt sind. Wenn die Werte nicht übereinstimmen, gilt der Test als nicht bestanden. Dieser Test stellt sicher, dass die Elektronik des DAD, die die Daten bearbeitet, richtig funktioniert. Es wird ein gespeichertes Testchromatogramm verwendet, d. h. die Lampe und der Diodenarray sind nicht an diesem Test beteiligt. Sie können wie in ["Funktion "DAD Test" \(DAD-Test\)"](#) auf Seite 281 beschrieben überprüft werden.

### **Peakintegration**

Die Datendatei wird nochmals mit der Originalmethode integriert. Die Ergebnisse werden mit den Original-Integrationsergebnissen verglichen, die im Register "Verification" (Überprüfung) gespeichert sind. Wenn die Werte nicht übereinstimmen, gilt der Test als nicht bestanden.

### **Quantifizierung der Substanzen**

Die Substanzen der Datendatei werden nochmals quantifiziert. Die Ergebnisse werden mit den Original-Integrationsergebnissen verglichen, die im Register "Verification" (Überprüfung) gespeichert sind. Wenn die Werte nicht übereinstimmen, gilt der Test als nicht bestanden.

## 12 Überprüfung des Systems

### Ansichten für Überprüfung und Fehlerdiagnose

#### Drucken der Reporte

Der Originalreport wird noch einmal gedruckt.

Folgende Seite zeigt ein Beispiel für einen erfolgreich durchgeführten Verifikationstest.

```
=====
ChemStation Verification Test Report
=====
```

**Tested Configuration:**

```
Component                      Revision
-----
ChemStation for LC 3D ChemStation  B.01.01
Microsoft Windows                Microsoft Windows XP
Processor                        Processor_Architecture_Intel
CoProcessor                       yes
```

ChemStation Verification Test Details:

```
Test Name : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL
Data File : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.D
Method    : C:\CHEM32\1\VERIFY\DEFAULT.VAL\VERIFY.M
Original Datafile           : VERIFY.D
Original Acquisition Method  : VERIFY.M
Original Operator           : Hewlett-Packard
Original Injection Date     : 4/16/93 11:56:07 AM
Original Sample Name        : Isocratic Std.
```

Signals Tested:

```
Signal 1: DAD1 A, Sig=254,4 Ref=450,80 of VERIFY.D
```

ChemStation Verification Test Results:

```
Test Module          Selected For Test    Test Result
-----
Digital electronics test  No                    N/A
Integration test        yes                   Pass
Quantification test     yes                   Pass
Print Analytical Report  No                    N/A
```

ChemStation Verification Test Overall Results: Pass

## Das Register "GLPsave"

Das Register "GLPsave" wird am Ende jeder Analyse gespeichert, wenn diese Option in der Runtime-Checkliste ausgewählt ist. Es enthält folgende Informationen:

- Signale
- Logbuch
- Tabelle mit den Integrationsergebnissen
- Tabelle mit den Quantifizierungsergebnissen
- Daten zur Instrumentenleistung
- Datenanalysemethode

Dieses Register ist ein vollständig geschützter Datensatz, der beim Analysenlauf erstellt wird. Sie können es jederzeit aufrufen, wenn Sie Ihre Analysenmethode überprüfen möchten.

Die Option "GLPsave Register" unter "Data Analysis" (Datenanalyse) ermöglicht es Ihnen, die Daten im Register "GLPsave" jederzeit einzusehen. Die entsprechende Datei ist durch eine Prüfsumme geschützt und als Binärcode verschlüsselt, damit sie nicht geändert werden kann.

Im Dialogfeld zur Ansicht des Registers "GLPsave" können Sie folgende Optionen auswählen:

- Laden der Ursprungsmethode
- Laden der Ursprungssignale
- Laden der Daten zur Instrumentenleistung
- Ausdruck der Ursprungsmethode
- Ausdruck der ursprünglichen Integrationsergebnisse
- Ausdruck der ursprünglichen Quantifizierungsergebnisse
- Erstellen eines Originalreports aus Ursprungsmethode und -signalen.

Mithilfe der Funktion zur GLP-Überprüfung können Sie zeigen, dass es sich bei Ihren Chromatogrammen um Originaldaten handelt. Weiterhin lässt sich anhand der Daten zur Instrumentenleistung die Qualität der Analyse unter Beweis stellen und die Berechtigung der Datenbewertung demonstrieren.

## 12 Überprüfung des Systems

### Das Register "GLPsave"

Sie können zum Beispiel:

- den Datenanalyseteil der Methode, die zum Zeitpunkt der Probenanalyse verwendet wurde, neu laden und ausdrucken, um nachzuweisen, dass die in den Ergebnissen dargestellte Datenanalyse für die Analyse in keiner Weise verändert wurde;
- die Integrations- und Quantifizierungsergebnisse ohne erneute Berechnung aufrufen, um die Echtheit des Reports unter Beweis zu stellen.

## Funktion "DAD Test" (DAD-Test)

In einem Labor mit GLP-Standard können Detektortests dazu verwendet werden, routinemäßig Systemüberprüfungen für ein Analyseninstrument durchzuführen.

Der DAD-Test prüft die Funktionen Ihres Diodenarray-Detektors. Wenn Sie im Menü "Instrument" (nur für LC3D und CE) den DAD-Test auswählen, wird das Instrument auf seine Intensität und Wellenlängenkalibrierung geprüft. Wenn Sie "Save" (Speichern) wählen, werden die Testergebnisse automatisch in der DADTest-Datenbank gespeichert. Dabei handelt es sich um ein Datenregister, das mit DADTest.Reg benannt und im Standardverzeichnis für das Instrument gespeichert ist.

### Funktion „DAD-Test prüfen“

Die Funktion **Review DAD Test** im Menü **View** der Datenanalyse ermöglicht es Ihnen, die Datei DADTest.Reg jederzeit anzuzeigen. Die Datei wird durch eine Prüfsumme geschützt und als Binärcode verschlüsselt, damit sie nicht geändert werden kann.

Sie können folgende Teile des DAD-Tests zur Ansicht auswählen:

- |                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Holmiumspektren anzeigen</b>      | Stellt alle in der Anzeigetabelle des DAD-Tests angeführten Holmiumspektren dar. Das aktive Spektrum ist markiert.  |
| <b>Intensitätsspektren anzeigen</b>  | Stellt alle in der Anzeigetabelle des DAD-Tests aufgeführten Intensitätsspektren dar. Das aktive Spektrum ist markiert.   |
| <b>Als neue Datenbank speichern</b>  | Wenn Sie die Lampe Ihres DAD auswechseln, können Sie den DAD-Test zurücksetzen, um unerwünschte Testergebnisse aus der Tabelle zu löschen. Anschließend können Sie die Funktion <b>Save as New Database</b> wählen. |
| <b>Ausgewählte Spektren anzeigen</b> | Stellt nur die in der Tabelle ausgewählten Spektren dar.  |

## 12 Überprüfung des Systems

### Funktion "DAD Test" (DAD-Test)

#### **Intensitätsdiagramm anzeigen**

Sie können ein Intensitätsdiagramm auf dem Bildschirm anzeigen, um die Lebensdauer der Lampe Ihres Diodenarray-Detektors abschätzen zu können. Das Diagramm liefert eine Funktion der maximalen Lampenintensität gemessen gegen die Zeit.

## Begiffserklärung

### A

- access level
  - Zugriffsebene
- Analysis Reports
  - Analysenreports
- Apply Manual Events from Method
  - Verwenden der manuellen Ereignisse aus der Methode
- Area reject
  - Schwellenwert für die Fläche
- Autointegrate
  - Automatische Integration

### B

- Batch
  - Batchverfahren

### C

- Calibration Settings
  - Kalibrierungseinstellungen
- Character
  - Zeichen
- Compound Summary
  - Substanzübersicht
- Configuration
  - Konfiguration
- Contents
  - Inhalt
- Control Chart
  - Kontrollkarte
- current method
  - Aktuelle Methode
- Current Method
  - Aktuelle Methode

### D

- Data Analysis
  - Datenanalyse
- Data Analysis Navigation table
  - Datenanalyse
- Data File
  - Sequenzparameter
- Delete Peak(s)
  - Peak(s) löschen
- Description
  - Beschreibung
- Detail
  - Details
- Draw Baseline
  - Basislinie zeichnen

### E

- Extended
  - Erweitert
- Extended Performance
  - Erweiterte Leistung
- Extended Statistic
  - Erweiterte Statistik
- Extended Statistic Parameters
  - Erweiterte Statistikparameter
- Extended Statistics
  - Erweiterte Statistik

### F

- Full
  - Vollständig

### H

- Header
  - Kopfteil
- height reject
  - Schwellenwert für die Höhe
- Height reject
  - Schwellenwert für die Höhe

### I

- Individual Method from Data File (DA.M)
  - Einzelne Methode aus Datendatei (DA.M)
- Initial peak width
  - Anfangspeakbreite
- Integration Events Table
  - Tabelle der Integrationsereignisse
- Items and Limits for Extended Statistics
  - Elemente und Grenzwerte für die erweiterte Statistik

### L

- Library Search
  - Bibliothekssuche
- load DA method from data file
  - DA-Methode aus Datendatei laden
- Load DA method from data file
  - DA-Methode aus der Datendatei laden
- Logbook
  - Logbuch

### M

- Manual Events
  - Manuelle Ereignisse

## Begiffserklärung

Manual Integration  
manuelle Integration  
Method and Run Control  
Methoden- und Analysensteuerung  
Methods  
Methoden

## N

Navigation Table  
Navigationstabelle  
Noise  
Rauschen  
None  
Keine

## O

One Page Header  
Kopfzeilen auf einer Seite

## P

page x of y  
Seite x von y  
Partial Sequence  
Teilsequenz  
parts of method to run  
Auszuführende Methodenteile  
Path  
Pfad  
Paths  
Pfade  
peak width  
Peakbreite  
Performance  
Leistung  
Performance and Noise  
Leistung und Rauschen  
Preference  
Voreinstellungen

Preferences  
Voreinstellungen  
Preferences / Signal/Review  
Voreinstellungen/Signal-/Überprüfungsoptionen  
Preferences / Signal/Review Option  
Voreinstellungen/Signal-/Überprüfungsoptionen  
Preferences / Signal/Review Options  
Voreinstellungen/Signal-/Überprüfungsoptionen  
Print  
Drucken  
Print Current Sequence  
Aktuelle Sequenz drucken

## Q

Quantification Parameters  
Quantification Parameters

## R

Remove Manual Events from Method  
Entfernen der manuellen Ereignisse aus der Methode  
Report to file  
Report in Datei  
Report to HTM  
Report in HTM  
Report to PDF  
Report in PDF  
Report to printer  
Report auf Drucker  
reprocess  
Erneut verarbeiten  
Reprocessing only  
Nur erneute Verarbeitung  
Review DAD Test  
DAD-Test prüfen  
Run Time Checklist  
Runtime-Checkliste

## S

Sample Information  
Probeninformationen  
Sample Summary  
Probenübersicht  
save as  
Speichern unter  
Save as New Database  
Als neue Datenbank speichern  
Save Current Sequence  
Aktuelle Sequenz speichern  
Sequence  
Sequenz  
Sequence Method  
Sequenzmethode  
Sequence Output  
Sequenzausgabe  
Sequence Parameters  
Sequenzparameter  
Sequence Summary Parameters  
Sequenzübersichtparameter  
Sequence Summary Reporting  
Sequenzübersichtsreport  
Sequence Table  
Sequenztafel  
Short  
Kurz  
shoulder detection  
Schulterererkennung  
shutdown  
Herunterfahren  
Signal Options  
Signaloptionen  
Slope sensitivity  
Steigungsempfindlichkeit  
Spectrum  
Spektrum  
Split Peak  
Peak teilen

## Begiffserklärung

Standard Data Analysis  
Standarddatenanalyse

Standard Statistic  
Standardstatistik

Standard Statistics  
Standardstatistik

Statistics  
Statistik

Statistics for Calibration Runs  
Statistik für Kalibrierläufe

SUILabel Type = Application > Statistics for  
Calibrated and Sample Runs

SUILabel Type = Applikation > Statistiken für kalibrierte Analysenläufe und Probenläufe

Summary  
Übersicht

## T

Tail Skim Height Ratio  
Verhältnis der angepassten Höhen

Tangent Skim  
Tangentiale Anpassung

## U

Unique Folder Creation  
Erstellung eindeutiger Ordner EIN

Unique folder Creation OFF  
Erstellung eindeutiger Ordner AUS

Unique Folder Creation OFF  
Erstellung eindeutiger Ordner AUS

Unique Folder Creation ON  
Erstellung eindeutiger Ordner EIN

Unique pdf file name  
Eindeutiger PDF-Dateiname

Update ... Method  
Aktualisieren ... Methode

Update Manual Events of Method  
Aktualisierung der manuellen Ereignisse in der Methode

Update Master Method  
Mustermethode aktualisieren

Update Sequence Method  
Sequenz aktualisieren

Use Sequence Table information  
Sequenztafel verwenden

Use Sequence Table Information  
Informationen aus Sequenztafel verwenden

## V

Valley  
Tal

Valley Height Ratio  
Tal-zu-Höhe-Verhältnis

View  
Ansicht

# Index

## A

- Ableitung 86
- Absolute
  - Retentionszeit 142, 142
- Analoges Signal 64
- Analyse
  - Genauigkeit 168
- Analysenbeginn 77
- Anfängliche Basislinie 77, 78
- Anfangspeakbreite 110
- Anpassen
  - Kurve 161
- Anzahl Trennböden 263
- Area%
  - Berechnung 126
- ASTM-Rauschbestimmung 253
- Auflösung 265
- Automatisierung 171

## B

- Basislinienbestimmung 79, 94
- Basislinienkonstruktion 94
- Basislinienunterschreitung 96
- Batch-Reporterstellung
  - Ausgabeformate 228
- Batch-Tabelle
  - Konfiguration 224
  - Probentyp "Removed" (Entfernt) 224
  - Reporterstellung 228
- Benutzerdefiniert
  - Reports 26
- Berechnung
  - ESTD 128

- Norm% 131
- Peaksymmetrie 256

Bündelung 88

## C

- ChemStation
  - Allgemeine Beschreibung 11
  - Anpassung 27
- CI 268

## D

- DA.M 61
- Dateiformate
  - Batch-Report 228
  - Ergebnisreport 240
- Datei
  - Methode 55
- Datenanalyse 46
  - Spezielle Reports 24
- Datenauswertungsmodule 12
- Datenerfassung
  - Was ist das? 64
- Detektorresponse 157
- Digitales Signal 64

## E

- Endzeit 77
- ESTD
  - Berechnung 128
  - Verfahren 128
- Externer Standard 128

## F

Filter

Peakerkennung 86

- Formel für Systemeignung
  - Auflösung 265
  - Kapazitätsfaktor 262
  - Mittelwert 266
  - Relative Retention 264
  - RSD 267
  - Standardabweichung 266
  - Totvolumen 259

- Formeln für die Systemeignung
  - Anzahl Trennböden 263
  - Peakbreite 262
  - USP-Tailingfaktor 262

- Formeln
  - Allgemeine Definitionen 259
  - Leistungstestdefinitionen 260

## G

- Genauigkeit
  - Analyse 168
- Gerätemodule 12
- Gerätesteuerung 46
  - Netzwerk 33
- Gute Laborpraxis 29

## H

- Height%
  - Berechnung 126

## I

- Integrationsereignisse 77, 110
- Integration
  - Strichmarken 74

## Index

### K

- Kalibrierkurve
  - anpassen 161
  - Beschreibung der 154
  - einstufige 157
  - mehrstufige 158
  - Verlauf durch Koordinatenursprung erzwingen 161
  - Was ist das? 154
  - Wichtung der Kalibrierpunkte 162
- Kalibriertabelle
  - Definition 153
- Kalibrierung
  - Einstellungen 135
  - Kurve 154
  - Kurvenanpassung 161
  - mehrstufig 158
  - Probe 152
  - Punkt 152
  - Stufe 152
  - Substanz 152
  - Zyklische, mehrstufige 200
- Kapazitätsfaktor 262
- Kapazitätsverhältnis 262
- Konfidenzintervall 268
- Konfiguration 15
- Kontrollkarten-Reports 26
- Koordinatenursprung
  - Behandlung 161
  - einschließen 161
  - erzwingen 161
  - ignorieren 161
  - verbinden 161
- Kurve
  - anpassen 161
  - Kalibrierung 154

### L

- Leistung
  - Testdefinitionen 260

Lösungsmittelpeak 108

### M

- Manuelle Integration 116
- Maximum 77
- Mehrere
  - Referenzpeaks 146
- Mehrstufige Kalibrierung 158
- Mehrstufig
  - Kalibrierung 158
  - Zyklische Sequenzen 200
- Mengenbegrenzungen 158
- Methode
  - Ablauf 56
  - bearbeiten 53
- Methodendatei
  - Geräteparameter 55
- Methoden
  - Gespeicherte 49
- Methodeninformationen 46
- Methode
  - Verzeichnis 55
- Mit Daten speichern
  - Kopie der Methode 61
- Multiplikator 129

### N

- Negativer Peak 80
- Nicht zugeordnete Peaks 104
- Norm%
  - Berechnung 131
  - Report 131

### O

Optimierung der Integration 112

### P

Peakanfang 90

- Peakbreite
  - bei Höhe x% 262
  - Tangente 262
- Peakende 91
- Peakerkennung
  - Filter 86
- Peakfläche 107
- Peak
  - Höhe 126
- Peakmaximum 92
- Peak
  - Qualifier 146
  - Quantifizierung 122
  - Response 146
  - Retentionszeitfenster 143
  - Symmetrie 256
- Präzision
  - Zahlenformat 271
- Probe
  - Kalibrierung 152
  - unbekannte 156
- Prozentuale Berechnung 126

### Q

- Qualifier 146
- Quantifizierung
  - ESTD-Verfahren 128
  - Was ist das? 122

### R

- Rauschbestimmung 253
- Referenzfenster 143
- Referenzpeaks
  - mehrere 146
- Rekalibrierung
  - Warum? 168
  - Was ist das? 168
- Relative Retention 264
- Report zur Systemeignung

## Index

- Erweiterte Systemleistung 25
- Leistung und Rauschen 24
- Report zur Systemleistung 24
- Report
  - Benutzerdefiniert 26
  - Dateiformate 240
  - Kontrollkarte 26
- Reports zur Systemeignung 24
- Report
  - Sequenzübersicht 25
- Reports
  - Systemeignung 24
- Report
  - Unkalibriert 231
  - Vorlagen 236
- Residualwert
  - relativer 154
  - Standardabweichung 155
- Response
  - Detektor 157
  - Verhältnis 146
- Retentionszeitfenster 143
- Runtime-Checkliste 48
- S**
- Schräge, 261
- Schulterererkennung 110
- Schulter 93
- Schwellenwert für die Fläche 110
- Schwellenwert für die Höhe 110, 111
- Sequenz
  - bearbeiten 181
  - erstellen 181
  - speichern 181
- Sequenzübersichtsreport
  - Analysenreports 243
  - Ausgabespezifikation 245
  - Konfiguration 243
  - Kopfzeile 243
- Logbuch 243
- Methoden 243
- Probentabelle 243
- Sequenztafel 243
- Statistik 244
- Übersichtsseite 244
- Sequenzvorlage 174
- Sequenz
  - Zyklische Kalibrierung 200
- Signal
  - analoges 64
  - Details 47
  - digitales 64
- Softwareübersicht
  - Betriebssystem 15
  - Methoden und Sequenzen 15
  - Systemkonfiguration 15
- Standardabweichung
  - des Mittelwerts 267
  - Probe 266
  - Relative 267
- Standard
  - externer 128
- Statistische Momente 261
- Steigungsempfindlichkeit 110
- Strichmarken 74
- Substanz 152
- Systemeignung
  - einschließlich Statistiken 248
  - Grenzen 249
- T**
- Tailingfaktor 262
- Tangentiale Anpassung 99
- Totvolumen 259
- t-Verteilung 268
- U**
- Umschließende
  - zyklische Kalibrierung 206
- Unbekannte Probe 156
- USP-Tailingfaktor 262
- V**
- Verdünnungsfaktor 129
- Verzeichnis
  - Methode 55
  - Struktur 37
- Voreinstellungen 37
- W**
- Wichtung
  - gleiche 162
  - Kalibrierpunkte 162
  - lineare 162
  - quadratisch 162
- Z**
- Zeitfenster
  - Retention/Migration 142
- Zyklische Kalibrierung
  - umschließende 206



[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

## Inhaltsangabe

In diesem Handbuch werden die verschiedenen Konzepte der Agilent ChemStation beschrieben. Anhand des Handbuchs können Sie sich Einblick in die Funktionsweise der ChemStation verschaffen.

Informationen zur Bedienung der ChemStation finden Sie im Hilfesystem oder in der Online-Hilfe „Erste Schritte“.

© Agilent Technologies 2004, 2005-2009

Printed in Germany  
07/09



G2070-92126



**Agilent Technologies**