

Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition

Konzepte des
Spektrenmoduls



Agilent Technologies

Hinweise

© Agilent Technologies, Inc. 1994-2012, 2013

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

Microsoft® ist eine in den USA eingetragene Marke der Microsoft Corporation.

Handbuch-Teilenummer

M8301-92170

Ausgabe

01/13

Gedruckt in Deutschland

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

Softwareversion

Dieses Handbuch ist gültig für alle C.01.xx-Versionen der Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition, wobei xx geringfügige Versionsänderungen der Software kennzeichnet, die keinen Einfluss auf die technische Genauigkeit des Handbuchs haben.

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.

Technologielizenzen

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.

Nutzungsbeschränkungen

Wenn Software für den Gebrauch durch die US-Regierung bestimmt ist, wird sie als „kommerzielle Computer-Software“ gemäß der Definition in DFAR 252.227-7014 (Juni 1955), als „kommerzielle Komponente“ gemäß der Definition in FAR 2.101(a), als „nutzungsbeschränkte Computer-Software“ gemäß der Definition in FAR 52.227-19 (Juni 1987) (oder einer vergleichbaren Agentur- oder Vertragsregelung) ausgeliefert und lizenziert. Nutzung, Vervielfältigung oder Weitergabe von Software unterliegt den standardmäßigen Bestimmungen für kommerzielle Lizenzen von Agilent Technologies.

US-Regierung und -Behörden (außer Verteidigungsministerium) erhalten keine Rechte, die über die Rechte an „nutzungsbeschränkter Computer-Software“ gemäß FAR 52.227-19(c)(1-2) (Juni 1987) hinausgehen. Zur US-Regierung zählende Benutzer erhalten keine Rechte, die über die Rechte an „nutzungsbeschränkter Computer-Software“ gemäß FAR 52.227-14 (Juni 1987) oder DFAR 252.227-7015 (b)(2) (November 1995) hinausgehen, soweit in irgendwelchen technischen Daten anwendbar.

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.

In diesem Buch...

In diesem Handbuch werden die Konzepte beschrieben, auf denen das Spektrenmodul der Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition aufbaut. Es ergänzt die Informationen aus dem Handbuch *Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition Konzepte und Arbeitsabläufe* mit spezifischen Konzepten für die Spektrenanalyse, die für die Agilent ChemStation für LC 3D- und CE-Systeme sowie die UV-VIS-Komponente der Agilent ChemStation für MSD verwendet werden können.

Weitere Informationen zur Installation und Konfiguration des Spektrenmoduls mit einer Agilent ChemStation für LC 2D-Systeme finden Sie im Handbuch *Installation Ihrer ChemStation*.

1 Grundlagen der Spektralanalyse

In diesem Kapitel werden folgende Themen behandelt:

- Was ist eine Spektralanalyse?
- Optimale Detektionswellenlänge bestimmen
- Formatvorlagen für spektrale Reports.

2 Spektrenbibliotheken

Herkömmliche Datenanalysesysteme quantifizieren gefundene Substanzen basierend auf Retentionszeiten. Dies kann in folgenden Fällen zu fehlerhaften Ergebnissen führen:

- Neben den kalibrierten Substanzen erscheinen andere Substanzen im angegebenen Retentionszeitfenster.
- Im angegebenen Retentionszeitfenster erscheinen mehrere Peaks.
- Aufgrund veränderter Säuleneigenschaften oder Flussraten wird die Substanz auf der Säule länger retardiert und damit im vorgegebenen Zeitfenster nicht mehr erfasst.

Eine Möglichkeit zur Vermeidung solcher Fehler ist die Verwendung von Qualifier-Peaks, wie im *OpenLAB CDS ChemStation Edition Referenz Handbuch* beschrieben.

Bei Verwendung eines Diodenarray-Detektors können solche Fehler vermieden werden, weil UV-Spektren zur Identifizierung eines Peaks zur Verfügung stehen. Standardspektren werden mit einer Referenzprobe unter wohldefinierten chromatographischen Bedingungen gewonnen und in einer Datenbank abgelegt (Spektrenbibliothek). Sie können Peakspektren jeder unbekannten Substanz mit Spektren aus einer oder mehreren Spektrenbibliotheken vergleichen. Spektren können zum visuellen Vergleich übereinander gelegt werden und die Ähnlichkeit zwischen Standardspektrum und Probenspektrum kann berechnet werden.

OpenLAB CDS ChemStation Edition kann diesen Prozess für alle Peaks in einem Chromatogramm und für alle Chromatogramme einer Sequenz automatisieren. Zusätzlich zur Identifizierung einer Substanz kann die Software eine Peakreinheitskontrolle durchführen, wobei die Einstellungen des Dialogfelds „Purity Preferences“ (Voreinstellungen für die Reinheit) benutzt werden.

Diese qualitativen Ergebnisse können zusammen mit den quantitativen Ergebnissen in einem Report zusammengefasst werden. Dieser Report enthält alle Information, die über einen Peak benötigt wird:

- Substanzname
- Menge
- Retentionszeit
- Übereinstimmungsfaktor für die Identifizierung
- Übereinstimmungsfaktor für die Reinheit

In diesem Kapitel werden die verschiedenen Konzepte für eine Bibliothekssuche beschrieben. Informationen zur Durchführung einer Bibliothekssuche finden Sie in der Online-Hilfe und im integrierten Lernprogramm.

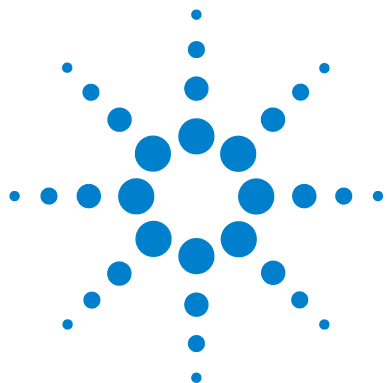
3 Peakreinheit auswerten

Dieses Kapitel beschreibt die Überprüfung der Peakreinheit.

Inhalt

1	Grundlagen der Spektralanalyse	7
	Was ist eine Spektralanalyse?	8
	Optimale Detektionswellenlänge bestimmen	10
	Formatvorlagen für spektrale Reports	12
2	Spektrenbibliotheken	13
	Suchmodi	14
	Reportbeschreibung	17
	Reinheitsmarkierung	17
	Markierung für Übereinstimmung mit Bibliothek	18
	Markierung für Substanznamen	18
	Mengenmarkierung	18
3	Peakreinheit auswerten	19
	Peakreinheit überprüfen	20
	Was ist die Peakreinheitskontrolle?	20
	Der Übereinstimmungsfaktor	21
	Untergrundkorrektur mit Referenzspektren	23
	Methoden zur Bestimmung der Peakreinheit	24
	Darstellung der Peakreinheit	25
	Spektrenfenster	25
	Spektrennormalisierung	25
	Reinheitsfenster	27
	Spektrale Ähnlichkeitskurven	28
	Grenzwertkurve	29
	Vorgegebene Zielspektren verwenden	31

Reinheitsberechnung und -darstellung	32
Peak als rein oder verunreinigt klassifizieren	34
Peakreinheitsinformationen	34
Erweiterte Optionen für die Peakreinheit	37
Peakreinheitsanalyse verwenden	39
Spektrenerfassung	39
Optionen für die Peakreinheit festlegen	40
Massenspektrometrische Peakreinheit	42
Massenspektrometrische Reinheitsberechnungen	43
Anzeige der massenspektrometrischen Reinheit	44
Index	45



1

Grundlagen der Spektralanalyse

Was ist eine Spektralanalyse? 8

Optimale Detektionswellenlänge bestimmen 10

Formatvorlagen für spektrale Reports 12



Was ist eine Spektralanalyse?

Die Spektralanalyse erlaubt Ihnen die Auswertung von Spektrendaten, die mit einem UV-VIS-Diodenarray- oder einem Fluoreszenz-Detektor erfasst wurden.

Durch die Auswertung von Spektrendaten erweitern Sie Ihre Analysedaten bei Verwendung chromatographischer Daten um eine dritte Dimension (siehe [Abbildung 1](#)).

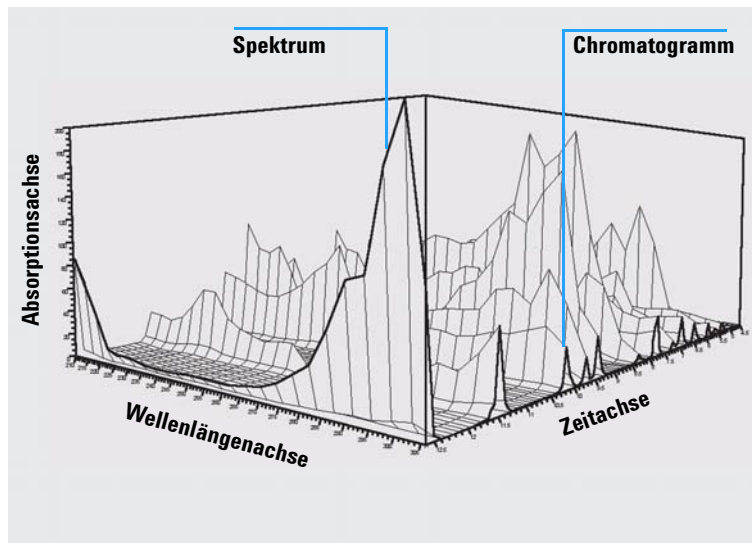


Abbildung 1 Spektrendaten

UV-VIS-Diodenarray-Detektor

Der Diodenarray-Detektor ermöglicht Ihnen eine kontinuierliche Spektren-erfassung im UV-Bereich des Spektrums. Da der Diodenarray-Detektor alle Wellenlängen gleichzeitig erfasst, kommt es bei der Spektren-erfassung nicht zu einem Empfindlichkeitsverlust.

Fluoreszenz-Detektor

Der Fluoreszenz-Detektor ermöglicht es Ihnen, Spektrendaten auf drei verschiedene Arten zu sammeln:

- Sie können die Anregungswellenlänge festsetzen und Emissionsspektren erfassen.
- Sie können die Emissionswellenlänge festsetzen und Anregungsspektren erfassen.
- Sie können einen Fluoreszenz-Scan durchführen, bei dem sowohl die Anregungswellenlänge als auch die Emissionswellenlänge variiert werden. Dabei werden die Proben dreidimensional charakterisiert.

Anregungs- und Emissionsspektren können im Chromatographen erfasst werden. Allerdings sinkt mit steigender Zahl erfasster Wellenlängen (breiter Scanbereich) die Empfindlichkeit der Analyse, da der Fluoreszenz-Detektor die Daten als Scan erfasst. Der dreidimensionale Fluoreszenz-Scan muss entweder bei abgeschaltetem Fluss oder offline erfasst werden, da in der Messzelle während der Analyse eine konstante Probenkonzentration vorliegen muss.

Spektrometrische Verarbeitung

Sie können Ihre Spektrendaten auf verschiedene Arten verarbeiten. Sie können zum Beispiel:

- Aus den Spektrendaten ein Chromatogramm extrahieren und die optimale Detektionswellenlänge für jeden einzelnen Peak bestimmen.
- Eine Bibliothekssuche zur qualitativen Bestimmung durchführen.
- Aus verschiedenen chromatographischen Daten Verhältniswerte bilden und damit die Peakreinheit bestimmen.
- Mit Hilfe der Peakreinheitskontrolle (versteckte) Verunreinigungen auffinden.

Optimale Detektionswellenlänge bestimmen

In der Methodenentwicklung werden zunächst geeignete Bedingungen zur Peaktrennung und dann die optimale Detektionswellenlänge für jeden Peak ermittelt.

Eine Möglichkeit besteht darin, die Peakintensität (Absorption oder Lumineszenz), die Wellenlänge und die Zeit als Umrissplan, d. h. als Isoabsorptionsplot, darzustellen. Bei dieser Methode werden die Spektrendaten als Serie konzentrischer Linien in einer Ebene aus Wellenlänge und Zeit gezeichnet, wobei jede Linie einen Wert gleicher Absorption darstellt. Dadurch können alle Spektrendaten gleichzeitig dargestellt und begutachtet werden. Siehe [Abbildung 2](#) (Mitte).

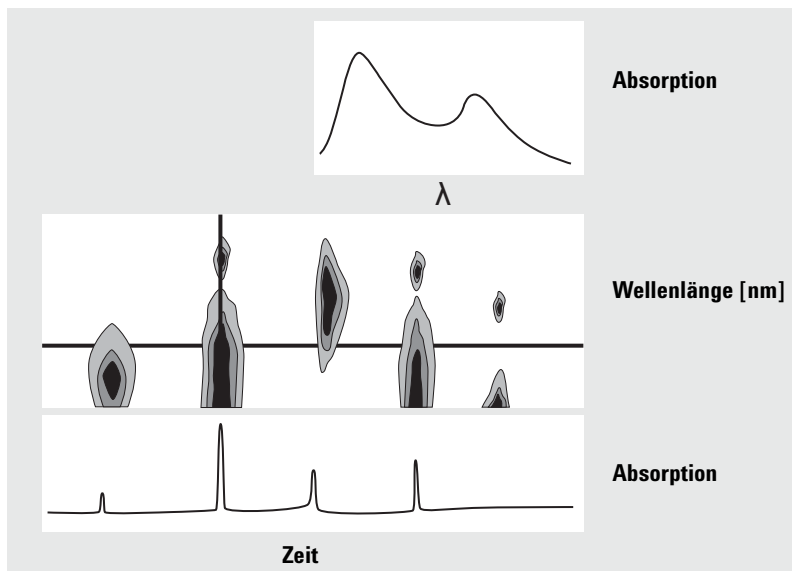


Abbildung 2 Isoabsorptionsplot

Diese Technik dient in der Methodenentwicklung zur Ermittlung der optimalen Wellenlänge für jeden Peak. Die horizontale Cursorposition entspricht der Wellenlänge im Isoabsorptionsplot. Wenn der Cursor entlang der Wellenlängenachse bewegt wird, wird im unteren Fenster das entsprechende Chromatogramm rekonstruiert (siehe [Abbildung 2](#) auf Seite 10).

Die optimale Detektionswellenlänge für einen Peak wird auf folgende Weise ermittelt:

- Verschieben Sie im Modus „Quick View“ (Schnellansicht) in der mittleren Darstellung den horizontalen Cursor, so dass die Absorption des gewünschten Peaks einen Maximalwert erreicht und in der unteren Darstellung eine gute chromatographische Trennung zu sehen ist.
- Wählen Sie den Modus „Signal View“ (Signalansicht) und optimieren Sie die Bandbreite, so dass das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert wird und Sie eine optimale Detektionswellenlänge erhalten. Das erhaltene Signal und die Bandbreite können in das Signalfenster in der Ansicht „Data Analysis“ (Datenanalyse) übertragen werden, indem die Schaltfläche „Copy“ (Kopieren) aktiviert wird. Die Werte für Signal und Bandbreite können zur Integration, Identifizierung und Quantifizierung herangezogen werden.

Zur Wellenlängenoptimierung für den Fluoreszenz-Detektor benötigen Sie gewöhnlich zwei Analysenläufe:

- Stellen Sie eine Anregungswellenlänge im unteren UV-Bereich (230 bis 250 nm) ein und nehmen Sie Emissionsspektren auf. Bestimmen Sie mit Hilfe des Isoabsorptionsplots für jeden Peak im Chromatogramm die optimale Emissionswellenlänge.
- Erstellen Sie eine Zeittabelle, um die optimale Emissionswellenlänge für jeden eluierenden Peak einzustellen und nehmen Sie die Anregungsspektren auf.

Fluoreszenz-Spektrum

Der dreidimensionale Iso-Plot wird nur für die Spektrendarstellung von Fluoreszenz-Scans verwendet. In diesem Fall werden die Spektrendaten in die Ebene aus Anregungswellenlänge und Emissionswellenlänge eingezeichnet. Es gibt keine Zeitachse, da der Fluoreszenz-Scan entweder bei abgeschaltetem Fluss oder offline aufgenommen wird. Aus dem Iso-Plot können Sie bei jeder beliebigen Wellenlänge Anregungs- oder Emissionsspektren ablesen. Die Anregungsspektren werden auf der y-Achse, die Emissionsspektren auf der x-Achse dargestellt.

Formatvorlagen für spektrale Reporte

Im Spektrenmodul sind folgende Formatvorlagen verfügbar:

- Library Search (Bibliothekssuche)

Erstellt einen Kalibrierungsreport einschließlich der Ergebnisse der Bibliothekssuche. Peaknummern, Retentionzeiten, Übereinstimmungsfaktoren für die Bibliothekssuche, Mengen und Substanznamen Komponenten werden gemäß der im Dialogfeld „Automated Library Search“ (Automatische Bibliothekssuche) gewählten Parameter ausgedruckt. Weitere Informationen hierzu finden Sie unter [„Reportbeschreibung“](#) auf Seite 17.

- Short + Spectrum (Kurz + Spektrum)

Erzeugt einen Report mit den Instrumentenbedingungen, dem Chromatogramm, den quantitativen Ergebnissen und den Peakreinheitsdaten.

- Detail + Spectrum (Detail + Spektrum)

Besteht aus einem Kopfteil, den Instrumentenbedingungen, dem Chromatogramm, quantitativen Ergebnissen, Kalibrierkurven und Peakreinheitsdaten. Der Kopfteil wird in einer Datei mit dem Namen RPHEAD.TXT im Methodenverzeichnis gespeichert. Sie können den Kopfteil mit einem Texteditor bearbeiten, um einen für die Methode spezifischen Text hinzuzufügen.

- Performance + Lib. Search (Leistung + Bibliothekssuche)

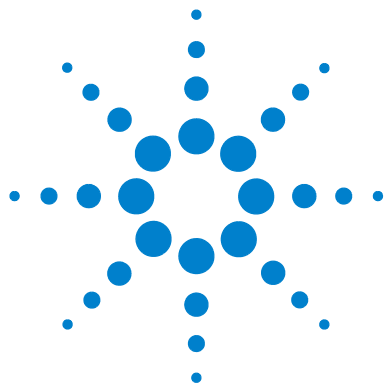
Kombiniert die Formatvorlagen für Leistung und Bibliothekssuche.

Peakreinheitsdaten

Die Peakreinheitsdaten beziehen sich auf die Auswertung von Spektren über alle Peaks hinweg, wobei Reinheitsdiagramme für jede Substanz erstellt werden. Diese Plots beinhalten überlagerte und normalisierte Spektren sowie einzelne und überlagerte Signale. Die Reinheitsdiagramme können außerdem Grenzwert- und Ähnlichkeitskurven enthalten, abhängig von den unter „Purity Preferences“ (Voreinstellungen für die Reinheit) vorgenommenen Einstellungen für die Methode.

Teil der numerischen Berechnungen ist der Reinheitsfaktor, ein Maß für die Übereinstimmung in der Spektrenform. Weitere Informationen zur Peakrein-

heit finden Sie in [Kapitel 3](#), „Peakreinheit auswerten“.



2 Spektrenbibliotheken

- Suchmodi 14
- Reportbeschreibung 17
- Reinheitsmarkierung 17
- Markierung für Übereinstimmung mit Bibliothek 18
- Markierung für Substanznamen 18
- Mengenmarkierung 18



Suchmodi

Bei der Bibliothekssuche kann unter drei Suchmodi gewählt werden. Eine Spektrenbibliothek *und* eine Kalibriertabelle sind Voraussetzung für alle drei Modi. Die Peakreinheitskontrolle kann optional genutzt werden.

- Identifizierung durch Bibliothekssuche.

Dieser Modus ist der allgemeinste Suchmodus. ChemStation Edition verwendet das Chromatogramm als Basis für die Bibliothekssuche. Sie vergleicht die Peakspektren *aller Peaks, die vom Integrator erkannt* und durch ihre Retentionszeiten charakterisiert wurden, mit den Spektren aus zu bis vier Bibliotheken. Um den Prozess zu beschleunigen oder die Zuverlässigkeit zu erhöhen, können Sie die Suche auf Peaks eingrenzen, die in einem bestimmten Retentionszeitfenster liegen. Verwenden Sie dazu die Vorlage für die Bibliothekssuche ([Abbildung 3](#)).

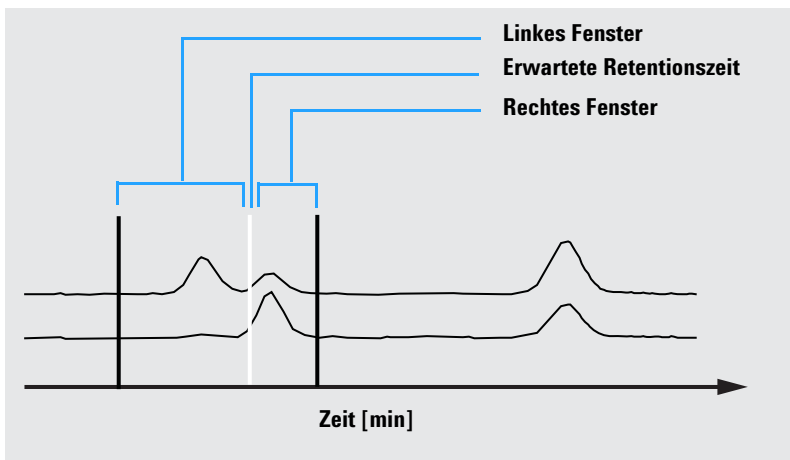


Abbildung 3 Retentionszeitfenster

Der Name der Substanz, deren Spektrum am besten mit dem des Peaks übereinstimmt, wird dem Peak zugeordnet. Sie können einen eigenen Grenzwert für die minimale Übereinstimmung festlegen. Falls eine gefundene Übereinstimmung besser als der angegebene Grenzwert ist, wird der Peak als *identified* erfasst. ChemStation Edition verwendet dann die Kalibriertabelle und sucht nach einem Eintrag mit demselben Namen. Falls ein Eintrag gefunden werden kann, wird mit den vorhandenen Daten die gefundene Menge berechnet und ausgegeben.

Falls in der Kalibriertabelle kein passender Name gefunden werden kann, wird die Peakidentität angegeben. Da die Methode für die Substanz nicht kalibriert wurde, kann jedoch keine Menge berechnet werden.

Dieser Modus wird zur Suche nach unbekannten Substanzen eingesetzt. Er ist besonders effizient, wenn die Anzahl der Substanzen im Chromatogramm klein im Vergleich zur Zahl der Einträge in der Bibliothek ist.

- Zielsubstanzsuche mit einer Kalibriertabelle.

Dieser Suchmodus ist für Substanzen gedacht, für die die Methode kalibriert wurde. ChemStation Edition vergleicht *nur die Spektren kalibrierter Substanzen* mit Spektren aus bis zu vier Bibliotheken. Peaks werden nur bei positivem Spektrenvergleich als identifiziert gemeldet. Die Substanznamen in der Kalibriertabelle müssen mit den Substanznamen in der Bibliothek übereinstimmen.

Ein Zielfenster für die Retentionszeiten kann als Teil der Suchmethode angegeben werden. Nur die Peaks, deren Retentionszeiten im Zielfenster liegen, werden identifiziert. Die beste Übereinstimmung wird nur dann als Identifikation gewertet, wenn ein eingegebener Mindestwert für die Übereinstimmung erreicht wird.

Dieser Modus eignet sich zur Suche nach bestimmten kalibrierten Substanzen in einem Chromatogramm. Dies ist die bevorzugte Suchmethode für Chromatogramme mit sehr vielen Substanzen, von denen aber nur wenige, relevante Peaks kalibriert sind.

- Zielsubstanzsuche mit Spektrenbibliothek.

Bei dieser Methode wird die gesamte Spektrenbibliothek zur Suche herangezogen und nicht nur die Einträge, die auch in der Kalibriertabelle stehen. ChemStation Edition verwendet die Spektrenbibliothek als Basis. Sie vergleicht *alle Bibliotheksspektren* mit den Spektren des Chromatogramms und versucht, alle vom Integrator gefundenen Peaks zu identifizieren, die in das für die Bibliothekseinträge spezifizierte Retentionszeitfenster fallen und die in der Bibliotheksvorlage spezifiziert sind. Nur die Peaks, deren Retentionszeit mit dem definierten Retentionszeitfenster übereinstimmen, werden zur Identifizierung herangezogen. Falls eine Übereinstimmung gefunden wird, die einen vorgegebenen Grenzwert überschreitet, wird der Peak als identifiziert gemeldet. Es erfolgt dann die Quantifizierung auf der Grundlage des Substanznamens in der Kalibriertabelle. Wenn die Substanz sowohl in der Bibliothek als auch in der Kalibriertabelle existiert, wird sie als identifiziert mit vorhandener Kalibrierung gemeldet. Wenn die Substanz nicht in der Kalibriertabelle vorliegt, wird sie als unkalibriert gemeldet.

Dieser Modus ist dann empfehlenswert, wenn Sie Bibliotheken mit speziellen Gruppen von Substanzen erstellt haben. Sie können zum Beispiel eine Bibliothek mit wasserlöslichen und eine mit fettlöslichen Vitaminen anlegen. Dann können Sie das Chromatogramm nach diesen Substanzen gezielt absuchen. Wenn ein Chromatogramm über viele Peaks verfügt, in der Bibliothek aber nur wenige Substanzen enthalten sind, empfiehlt es sich, diese Methode als ersten Suchmodus zu wählen.

- Peakreinheitskontrolle

Die Peakreinheitskontrolle kann optional durchgeführt werden. Es wird empfohlen, die Peakreinheitskontrolle vor einer Bibliothekssuche auszuführen, da eventuelle Übereinstimmungen nur so gut sein können wie die Qualität der Trennung. ChemStation Edition vergleicht die Übereinstimmung von Spektren in verschiedenen Teilen des Peaks. Sie berechnet einen Reinheitsfaktor. Für die Reinheit kann ein Grenzwert definiert werden, unterhalb dessen Ergebnisse im Report mit einem x markiert werden. Weitere Informationen zur Peakreinheit finden Sie in [Kapitel 3](#), „Peakreinheit auswerten“.

Reportbeschreibung

Ein typischer, bei der Spektrenbibliothekssuche generierter Report umfasst folgende Informationen:

- Chromatogramm/Elektropherogramm mit eingetragenen Retentions-/Migrationszeiten
- Kopfteil mit Informationen zu Dateinamen und Suchparametern
- Beschreibung des Detektorsignals und zwei Analysentabellen
- Retentionszeiten aller gefundenen Peaks des Analysenlaufs
- Retentionszeiten von passenden Standards aus der Bibliothek
- Retentionszeiten der Kalibriertabelle
- Gefundene Substanzmengen und deren Reinheitsfaktoren (falls gewünscht), zusammen mit:

Nummer des Bibliothekseintrags

Faktor für Übereinstimmung mit Bibliothek

Substanzname

In den Spalten des Reports der Bibliothekssuche werden verschiedene Markierungen eingesetzt, um die Reinheit der Substanz, den Übereinstimmungsfaktor und den Namen der Substanz zu kennzeichnen.

Diese Markierungen können wie in den folgenden Schritten beschrieben interpretiert werden.

Reinheitsmarkierung

Bei verunreinigten Substanzen unterscheiden sich die Spektren auf der Vorder- und der Rückseite des Peaks voneinander, beide werden für eine Bibliothekssuche herangezogen.

- u:** Substanz ist verunreinigt. Spektrum auf der Peakvorderseite wurde zur Identifizierung benutzt.
- d:** Substanzspektrum von der Peakrückseite wurde zur Identifizierung benutzt.

Markierung für Übereinstimmung mit Bibliothek

- x:** Übereinstimmungsfaktor liegt unterhalb des vorgegebenen Grenzwerts.

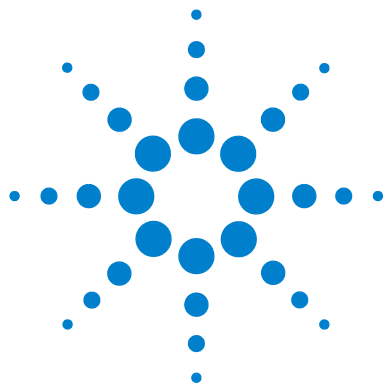
Markierung für Substanznamen

- ?:** Die Substanz wurde mit einem Übereinstimmungsfaktor unterhalb des vorgegebenen Grenzwerts identifiziert.
- ??:** Die Substanz wurde mit einem Namen identifiziert, der bereits einer anderen Substanz mit besserer Übereinstimmung zugeordnet wurde. Es konnte für diese Substanz keine bessere Zuordnung mit einem eindeutigen Namen gefunden werden.

Mengenmarkierung

- +:** Einzelmenge zu hoch – Unter „Compound Details“ (Substanzdetails) festgelegter Grenzwert wird überschritten.
- :** Einzelmenge zu niedrig – Unter „Compound Details“ (Substanzdetails) festgelegter Grenzwert wird unterschritten.

Peaks, die mit keinem Eintrag in der Kalibriertabelle übereinstimmen, werden in einer getrennten Tabelle zusammengefasst, die den Titel „Uncalibrated Compounds“ (Unkalibrierte Substanzen) trägt.



3 Peakreinheit auswerten

Peakreinheit überprüfen	20
Was ist die Peakreinheitskontrolle?	20
Der Übereinstimmungsfaktor	21
Untergrundkorrektur mit Referenzspektren	23
Methoden zur Bestimmung der Peakreinheit	25
Darstellung der Peakreinheit	26
Spektrenfenster	26
Spektrennormalisierung	26
Reinheitsfenster	28
Spektrale Ähnlichkeitskurven	29
Grenzwertkurve	30
Vorgegebene Zielspektren verwenden	32
Reinheitsberechnung und -darstellung	33
Peak als rein oder verunreinigt klassifizieren	35
Peakreinheitsinformationen	35
Erweiterte Optionen für die Peakreinheit	38
Peakreinheitsanalyse verwenden	40
Spektrenerfassung	40
Optionen für die Peakreinheit festlegen	41
Massenspektrometrische Peakreinheit	43
Massenspektrometrische Reinheitsberechnungen	44
Anzeige der massenspektrometrischen Reinheit	45

In diesem Abschnitt werden die verschiedenen Methoden zur Auswertung der Peakreinheit beschrieben:



Peakreinheit überprüfen

Bei jeder chromatographischen Analyse ist es wichtig zu wissen, ob ein Peak aus einer oder aus mehreren Komponenten besteht. In der Qualitätssicherung können hinter dem relevanten Peak verborgene Verunreinigungen die Ergebnisse verfälschen. Bei Forschungsaufgaben kann eine verborgene und unerkannte Komponente den Verlust wertvoller Informationen bedeuten.

Was ist die Peakreinheitskontrolle?

Bei der Peakreinheitskontrolle wird festgestellt, ob ein Peak zu einer reinen Substanz gehört oder Verunreinigungen enthält. Diese Bewertung basiert auf dem Vergleich von Spektren, die während der Elution des Peaks aufgenommen werden. Pro Peak werden dafür 5 Spektren verwendet: jeweils zwei Spektren auf der Vorder- und der Rückseite des Peaks und ein Spektrum im Peakmaximum (Scheitelspektrum). Die fünf Spektren werden gemittelt und mit allen Spektren verglichen, die für diesen Peak aufgenommen wurden.

Wenn diese Spektren nicht identisch mit dem gemittelten Spektrum sind, enthält der Peak theoretisch eine spektrale Verunreinigung. Die spektrale Verunreinigung kann von einer oder von mehreren Komponenten stammen, von Peaks, die nicht basisliniengetrennt sind oder von der Untergrundabsorption.

HINWEIS

Auch wenn identische Spektren gefunden werden, kann der Peak Verunreinigungen enthalten. Dies ist der Fall, wenn die spektrale Absorption im Vergleich zu der Hauptsubstanz klein ist oder wenn die Verunreinigung und die Hauptkomponente gleiche oder sehr ähnliche Spektren bei ähnlicher Elutionszeit aufweisen.

Im Fenster „Spectra“ (Spektren) wird eine normalisierte und überlagerte Darstellung der Peakspektren angezeigt, aus denen sich das Vergleichsspektrum (gemitteltes Spektrum) zusammensetzt. Das Fenster „Purity“

(Reinheit) enthält die Signale mit den Überlagerungsdaten für den Reinheitsgrad. Der Reinheitsfaktor ist ein Maß für die Ähnlichkeit der Spektren in Bezug auf die Form.

Eine Verunreinigung in einem Peak kann auch dann entdeckt werden, wenn eine korrigierbare Untergrundabsorption vorliegt. Normalerweise stört eine Untergrundabsorption die Quantifizierung des Peaks nicht, weil sich auch auf die Höhe von Peakanfang und -ende auswirkt und durch Basislinienkorrektur entfernt werden kann. Die Untergrundabsorption kann bei einer Analyse jedoch durch Variation des Lösungsmittels oder der Lösungsmittelzusammensetzung verändern.

Der Übereinstimmungsfaktor

Eine Aufdeckung von Verunreinigungen in einem Peak durch visuellen Spektrenvergleich ist zeitraubend und eignet sich nicht zur Automatisierung. Daher stehen verschiedene statistische Verfahren für den automatischen Spektrenvergleich zur Verfügung. Mit einem mathematischen Verfahren wird die Ähnlichkeit zwischen den Spektren numerisch verglichen. Es wird ein Übereinstimmungsfaktor berechnet, der den Ähnlichkeitsgrad zwischen den Spektren beschreibt.

Aus der Ähnlichkeit folgt der Übereinstimmungsfaktor (Match Factor) mit folgender Definition:

$$\text{Match Factor} = \frac{10^3 \times \left\{ \sum x \times y - \left(\frac{\sum x \times \sum y}{n} \right) \right\}^2}{\left\{ \sum x^2 - \left(\frac{\sum x \times \sum x}{n} \right) \right\} \times \left\{ \sum y^2 - \left(\frac{\sum y \times \sum y}{n} \right) \right\}}$$

Die Werte x und y stehen für die gemessenen Absorptionswerte bei derselben Wellenlänge für die beiden Spektren. n ist die Anzahl der Datenpunkte und Σ die Summe der Datenpunkte. Der Wertebereich beginnt mit 0 bei keiner Übereinstimmung und reicht bis 1000 bei identischen Spektren. Allgemein bedeuten größere Werte als 990, dass die Spektren ähnlich sind. Werte zwischen 900 und 990 deuten auf Ähnlichkeiten in den Spektren hin, wobei die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren sind. Alle kleineren Werte als 900 bedeuten, dass die Spektren unterschiedlich sind.

Der Übereinstimmungsfaktor hängt von verschiedenen Parametern ab, die durch die Probe und die Trennmethode vorgegeben sind. Dazu gehören: Substanzspezifität, Absorptionsbeiträge der Matrix und das spektrale Rauschen sowie Untergrundabsorptionen und Verschiebungen der Spektren, die durch Lösungsmitteländerungen oder ausgetauschte Instrumente hervorgerufen werden (unterschiedliche Wellenlängenkalibrierungen).

Spektrenglättung

Die Reinheitskontrolle ist unzuverlässig, wenn das Rauschen des Spektrums genauso groß ist, wie die Absorption selbst. Die Spektrenglättung funktioniert folgendermaßen.

- 1 Für eine definierte Anzahl von Datenpunkten, zum Beispiel 5, auch als Filter bezeichnet, wird eine kubische Regression durchgeführt, um daraus einen neuen Datenpunkt zu ermitteln.
- 2 Der Filter wird dann einen Datenpunkt weiter gerückt. Dabei werden vier der bei der letzten Regression verwendeten Datenpunkte und ein zusätzlicher Datenpunkt für die Ermittlung des nächsten Punkts verwendet.

Durch die Verwendung des Glättungsalgorithmus, kann Untergrundrauschen statistisch verringert werden, wodurch die Identifizierung von Peaks im Spektrum zuverlässiger wird.

HINWEIS

Der Glättungsalgorithmus kann jedoch, abhängig von der Länge des Filters, d. h. der im Glättungsalgorithmus verwendeten Anzahl Datenpunkte, das Profil des Spektrums verändern. Empfehlenswert ist die Glättung aller Spektren mit demselben Filter, bevor Vergleiche der Spektren durchgeführt werden.

Interpolation von Spektren

Wenn Sie Spektren mit niedriger Auflösung aufgenommen haben, können Sie die Funktion „Splining“ (Interpolation) verwenden, um Ihrem Spektrum mehr das Aussehen eines Kurvenlaufs als das eines Polygons zu geben. Hierbei werden mittels trigonometrischer Funktionen zusätzliche Datenpunkte zwischen den tatsächlichen Datenpunkten des Spektrums berechnet. Bei Verwendung dieser Funktion bleiben die Originaldatenpunkte des Spektrums erhalten.

Logarithmische Spektren

Bei logarithmischen Spektren ist die Absorptionsskala komprimiert. Sie können sehr nützlich sein, wenn die Absorption über einen großen Bereich geht.

Abgeleitete Spektren

Beim Vergleich unterschiedlicher Substanzen sind in abgeleiteten Spektren bestimmte Details deutlicher sichtbar als in den Originalspektren. Kleine Unterschiede treten deutlicher hervor und sind visuell leichter zu erkennen. Allerdings nimmt das Rauschen zu, was den Einsatzbereich abgeleiteter Spektren begrenzt.

Untergrundkorrektur mit Referenzspektren

Um Peakspektren für die Untergrundkorrektur aus einem Datensatz zu extrahieren, stehen verschiedene Korrekturmöglichkeiten zur Verfügung:

Manuelle Auswahl des Referenzspektrums

Wenn ein Referenzspektrum ausgewählt worden ist, wird das gewählte Spektrum zur festgelegten Zeit aus dem Datensatz genommen und von jedem Spektrum des Peaks abgezogen. Diese Korrektur eignet sich nicht bei variierender Untergrundabsorption.

Wenn zwei Basislinienspektren ausgewählt sind, wird zwischen den zwei Spektren linear interpoliert. Das aus den zwei Spektren interpolierte Spektrum wird von den Peakspektren abgezogen. Diese Korrektur eignet sich zur Kompensation einer sich langsam ändernden Untergrundabsorption.

Automatische Auswahl des Referenzspektrums

Bei der automatischen Auswahl des Referenzspektrums hängen die gewählten Referenzspektren vom Speichermodus der Spektren im Datensatz ab.

All Spectra (Alle Spektren): Die integrierten Spektren am Anfang und Ende des ausgewählten Peaks werden als Referenzspektren genommen und linear interpoliert, wie bei der manuellen Auswahl von zwei Referenzspektren.

Peak-controlled Spectra (peakgesteuerte Spektren): Das nächstgelegene Basislinienspektrum wird als Referenzspektrum gewählt und subtrahiert,

3 Peakreinheit auswerten

Peakreinheit überprüfen

wie bei der manuellen Referenzauswahl mit einem Referenzspektrum.

Methoden zur Bestimmung der Peakreinheit

Methoden zur Bestimmung der Peakreinheit können nur für Peaks mit Basislinientrennung verwendet werden. Bei Peaks ohne Basislinientrennung ist die Bestimmung der Peakreinheit komplizierter, da jeder Peak einen Anteil des benachbarten Peaks als Verunreinigung enthält.

Die Ermittlung der Peakreinheit erfolgt interaktiv von Peak zu Peak für alle Peaks eines Datensatzes oder automatisch im Anschluss an einen Analysenlauf als Teil einer Methode, bei der beispielsweise die Formatvorlage „Detail+Spektrum“ (Detail + Spektrum) für den Spektrenreport gewählt wurde.

Sie können die Ermittlung der Peakreinheit hinsichtlich Genauigkeit oder Durchsatz durch Anpassung folgender Vorgaben optimieren:

- Wellenlängenbereich, der zur Berechnung verwendet wird
- Referenzspektren
- Grenzwert für die Reinheit
- Bearbeitung der Spektren einschließlich Logarithmierung, Glättung, Interpolation und Bildung von Ableitungen verschiedener Ordnung,
- Berechnung und Anzeige der Reinheitskomponenten (dies umfasst die Spektren, Spektrenunterschiede, Signale, Ähnlichkeit- und Grenzwertkurven).

Die Methoden zur Bestimmung der Peakreinheit werden in den folgenden Abschnitten besprochen. Sie umfassen:

- Spektrennormalisierung

Vergleich von normalisierten Spektren aus verschiedenen Bereichen des Peaks

- Ähnlichkeitskurve

Vergleich eines gemittelten oder eines ausgewählten Spektrums mit allen anderen Spektren, die während der Elution des Peaks aufgenommen wurden.

Darstellung der Peakreinheit

Spektrenfenster

Im Spektrenfenster werden die fünf Spektren angezeigt, mit denen das gemittelte Spektrum für die Reinheitsberechnung berechnet wird. Um die Peakspektren detaillierter zu untersuchen, können Sie die grafischen Funktionen der Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition verwenden.

Spektrennormalisierung

Eine bekannte Methode zur Beurteilung der Peakreinheit bedient sich der Normalisierung mit anschließendem Vergleich der Peakspektren. Die Normalisierung kompensiert Konzentrationsänderungen in der Detektorzelle während der Elution des Peaks. Diese Funktion kann in der Agilent ChemStation Edition für die Spektrenanzeige ausgewählt werden.

Die Spektren werden zum Beispiel auf der Vorder- und der Rückseite des Peaks und im Maximum erfasst. Die Spektren werden normalisiert und zur grafischen Darstellung übereinander gelegt. Diese Methode eignet sich gut für eine interaktive Datenauswertung und kann für die automatische Routineanalyse angepasst werden.

Wenn die Angabe eines numerischen Faktors gewünscht wird, können auch die Spektren von der Vorder- und der Rückseite des Peaks miteinander mathematisch verglichen und die Reinheitsfaktoren werden zusammen mit der Retentionszeit ausgedruckt.

Abbildung 4 zeigt ein Beispiel, bei dem die Spektren an der Vorder- und der Rückseite sowie im Maximum erfasst und normalisiert wurden. Sowohl der Sichtvergleich als auch der von der Software berechnete Reinheitsfaktor zeigen deutlich den Unterschied zwischen reinen und verunreinigten Peaks.

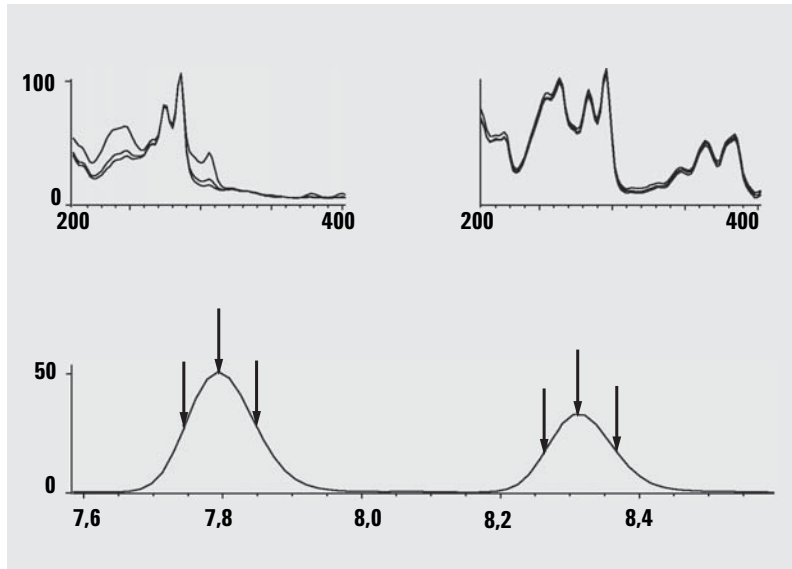


Abbildung 4 Peakreinheitskontrolle durch Überlagerung von Spektren

Reinheitsfenster

Der Inhalt des Fensters „Purity“ (Reinheit) richtet sich nach den ausgewählten Reinheitsparametern. Standardmäßig wird das Reinheitsverhältnis (Purity Ratio) angezeigt, das die Signale mit überlagerten Ähnlichkeits- sowie Grenzwertkurven zeigt (siehe [Abbildung 5](#)). Der grüne und der rote Streifen am unteren Rand kennzeichnen den benutzerdefinierten Reinheitsgrenzwert. Der berechnete Reinheitswert für jedes Spektrum im Peak wird als schwarzer Punkt angegeben. Wenn sich der Punkt innerhalb des grünen Streifens befindet, liegt die Reinheit des Spektrums innerhalb der akzeptablen Reinheitswerte.

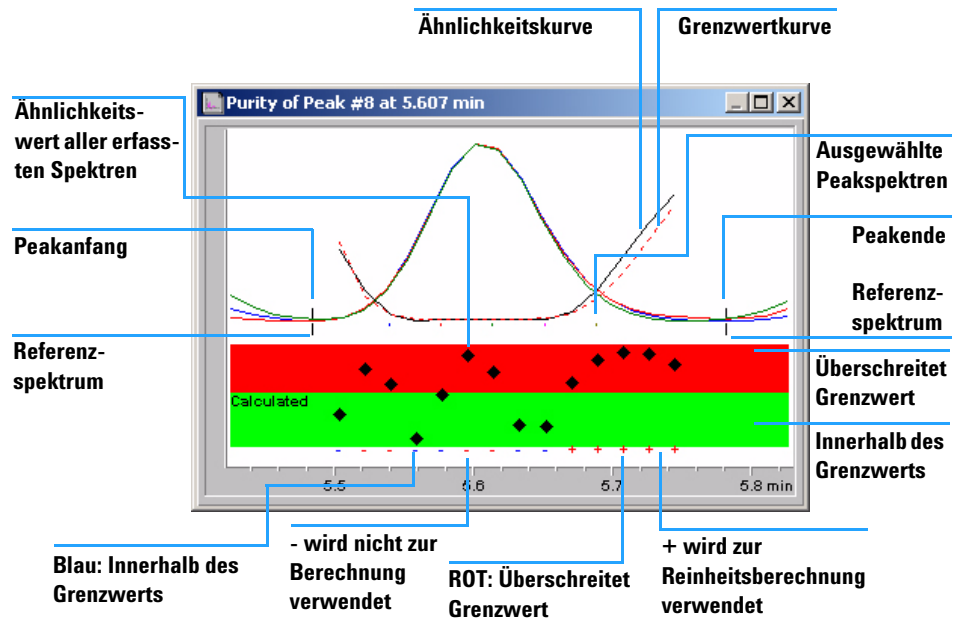


Abbildung 5 Reinheitsfenster

Spektrale Ähnlichkeitskurven

Die spektralen Ähnlichkeitskurven werden im Fenster „Purity“ (Reinheit) der Spektrenanzeige angezeigt (siehe [Abbildung 5](#) auf Seite 28).

Wenn Einzelheiten der Darstellung nicht klar zu erkennen sind, dann können Sie das Fenster vergrößern, indem Sie die linke Maustaste gedrückt halten und diese ziehen. Auf dem Bildschirm wird beim Ziehen der Maus ein Rechteck angezeigt, das den zu vergrößernden Ausschnitt markiert. Doppelklicken mit der linken Maustaste stellt die Originalgröße wieder her.

Spektrale Ähnlichkeitskurven bieten die detailliertesten Informationen zur Reinheit eines Peaks. Alle Spektren eines Peaks werden wahlweise mit einem oder mehreren Spektren verglichen, standardmäßig mit einem gemittelten Spektrum. Der Grad der Übereinstimmung, d. h. die *spektrale Ähnlichkeit*, wird gegen die Elutionszeit aufgetragen. Das ideale Profil ist eine flache Linie bei 1000, wie in [Abbildung 6](#) (a) gezeigt.

Zu Beginn und Ende eines Peaks nimmt das Signal-Rausch-Verhältnis ab und der Beitrag des spektralen Untergrundrauschens zum Peakspektrum wird stärker. Der Beitrag des Rauschens zur Ähnlichkeitskurve wird in [Abbildung 6](#) (b) gezeigt.

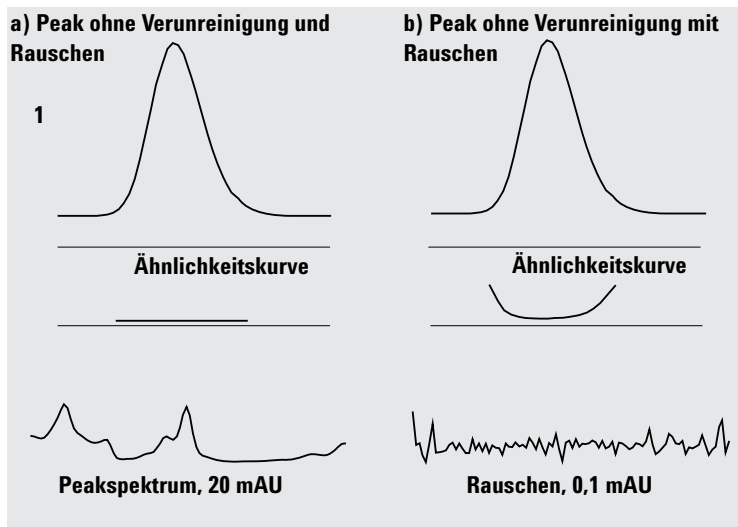


Abbildung 6 Ähnlichkeitskurven für einen reinen Peak mit und ohne Rauschen. Abgebildet im Verhältnis zum idealen Ähnlichkeitsfaktor (1000) und zum benutzerdefinierten Grenzwert (980)

Grenzwertkurve

Die Grenzwertkurve zeigt den Einfluss des Rauschens auf eine gegebene Ähnlichkeitskurve. Die Auswirkungen sind an Peakanfang und Peakende deutlich stärker. Eine Grenzwertkurve ist eine Ähnlichkeitskurve eines reinen Peaks mit einem Rauschanteil.

Der Einfluss des Rauschens wird in [Abbildung 7](#) gezeigt. Der Ähnlichkeitsfaktor nimmt mit abnehmendem Signal-Rausch-Verhältnis ab oder, bei konstantem Rauschen, mit abnehmendem Absorptionsbereich.

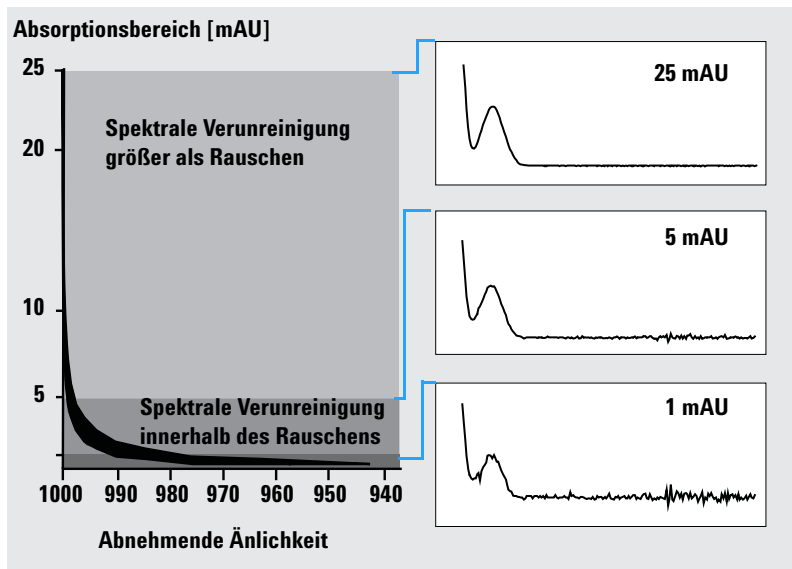


Abbildung 7 Ähnlichkeitsfaktor als Funktion der Rauschintensität

Abbildung 8 (a) zeigt sowohl die Ähnlichkeitskurve als auch die Grenzwertkurve für einen reinen Peak mit Rauschen, Abbildung 8 (b) für einen verunreinigten Peak.

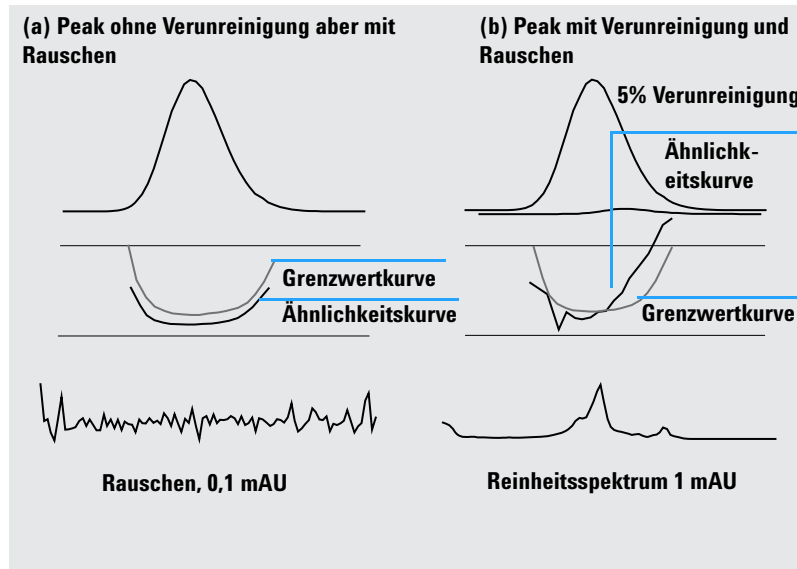


Abbildung 8 Einfluss von Verunreinigung und Rauschen auf Ähnlichkeits- und Grenzwertkurven

Der Grenzwert für das Rauschen wird basierend auf der Standardabweichung aus Spektren mit reinem Rauschen zu einer definierten Zeit automatisch bestimmt. Standardmäßig werden 14 Spektren zu Beginn des Analysenlaufs gewählt (z. B. bei 0 Minuten).

Die Grenzwertkurve, durch die gestrichelte Linie dargestellt, bezeichnet den Bereich, in dem die spektrale Verunreinigung unterhalb des Grenzwerts für das Rauschen liegt. Über diesem Grenzwert ist die spektrale Verunreinigung größer als das Untergrundrauschen und die Ähnlichkeitskurve schneidet die Grenzwertkurve, was auf eine spektrale Verunreinigung hindeutet (vorausgesetzt, die Referenz- und Rauschparameter wurden geeignet gewählt).

Vorgegebene Zielspektren verwenden

Die Agilent ChemStation erlaubt die Berechnung eines Reinheitsfaktors und von Ähnlichkeitskurven relativ zu verschiedenen Zielspektren, wie in [Abbildung 9](#) gezeigt. Im Allgemeinen liefert der standardmäßige Vergleich mit dem gemittelten Spektrum die besten Informationen bei den meisten unbekannten Verunreinigungen. Die Flexibilität, ein bestimmtes Zielspektrum selbst wählen zu können, zählt sich dann aus, wenn in der Auswertung eine Annahme über die Lage der Verunreinigung gemacht werden muss oder wenn es gilt, die Empfindlichkeit für die Bestimmung der Reinheit zu erhöhen. Ein Beispiel soll die Anwendungsmöglichkeiten verdeutlichen: Falls eine Verunreinigung am Peakende vermutet wird, kann die Wahl des Spektrums vom Maximum oder Peakende zum Vergleich mit allen anderen Spektren die besten Informationen liefern.

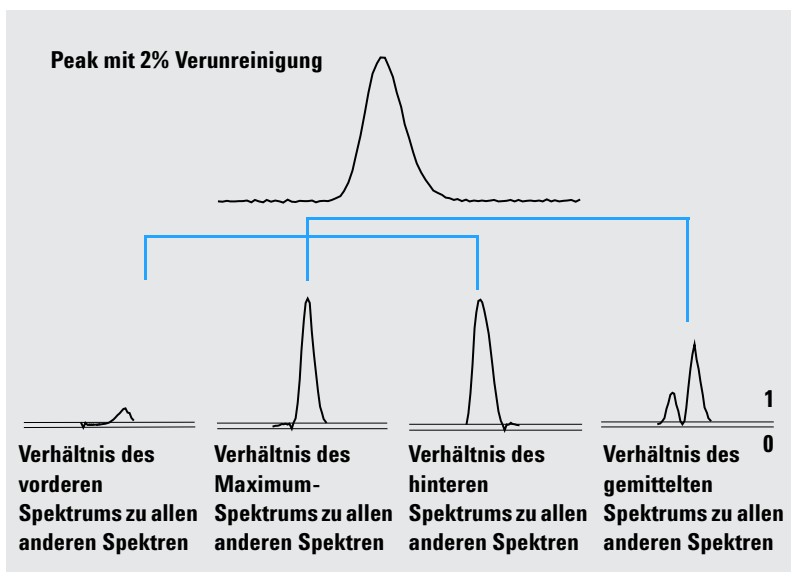


Abbildung 9 Verhältniskurven mit verschiedenen Zielspektren aus einem Peak

[Abbildung 9](#) zeigt die Verhältniskurven für die Spektren an der Vorder- und der Rückseite, im Maximum und für das gemittelte Spektrum eines Peaks mit Verunreinigung hinter dem Responsemaximum (Scheitelpunkt).

Das **Spektrum an der Vorderseite** zeigt eine geringfügige spektrale Verunreinigung am Peakende. Die Abweichung in dieser ersten Verhältniskurve ist klein, weil das Spektrum an der Vorderseite eine geringe Absorption aufweist (mit der Folge einer relativ hohen Grenzwertkurve).

Das **Spektrum im Maximum** zeigt eine geringfügige Verunreinigung am Peakanfang (das Scheitelspektrum enthält nur eine sehr kleine Menge der Verunreinigung) und eine starke Verunreinigung am Peakende.

Das **Spektrum des Peakendes** (mit einer hohen Verunreinigung) zeigt eine spektrale Verunreinigung am Peakanfang.

Das **gemittelte Spektrum** (Mittelwert der fünf ausgewählten Spektren eines Peaks) zeigt die spektrale Verunreinigung im gesamten Peak. Das Mittelwertspektrum zeigt eine größere Verunreinigung als das Spektrum des Maximums. Verglichen mit der Verhältniskurve des Scheitelspektrums hat es einen größeren Anteil an der Verunreinigung als das Scheitelspektrum. Es zeigt eine größere Verunreinigung am Peakanfang (Elutions- oder Migrationsbeginn) und geringere Verunreinigung am Peakende.

Die Form der Ähnlichkeits-, Grenzwert- und Verhältniskurve hängt von Lage, Stärke und spektralen Besonderheiten der Verunreinigung ab, so dass keine allgemeine Beschreibung erfolgen kann. Die Form kann sich von Fall zu Fall ändern.

Reinheitsberechnung und -darstellung

Der Reinheitsfaktor ist kein absolutes Maß für die Peakreinheit. Er ist eine Funktion der Parameter, die in den Berechnungen verwendet wurden und dabei besonders abhängig vom Grenzwert für die Reinheit. Aus diesem Grund müssen die Ergebnisse zusammen mit dem Grenzwert interpretiert werden. Für reine Peaks werden auch bei verschiedenen Parametervorgaben vergleichbare Ergebnisse erzielt. Dies gilt nicht für verunreinigte Peaks, für die eine Worst-Case-Analyse durchgeführt wird. Nur Datenpunkte, die zu einer Verunreinigung gehören, zum Beispiel Spektren, die unterhalb des Grenzwerts liegen, werden in der Berechnung berücksichtigt. Daher kann eine Änderung des Grenzwerts den Reinheitsfaktor für einen verunreinigten Peak drastisch beeinflussen. Im folgenden Abschnitt finden Sie detailliertere Informationen zu diesen Berechnungen. Eine genaue Beschreibung der Ähnlichkeitskurven der Agilent ChemStation Editon finden Sie unter „[Spektrale Ähnlichkeitskurven](#)“ auf Seite 29.

Alle Spektren

- 1** Alle referenzkorrigierten Spektren eines Peaks, die über dem benutzerdefinierten Grenzwert liegen, werden für die Berechnung der Reinheit und der Grenzwertkurven verwendet. Fünf dieser Spektren werden im Fenster „Spectra“ (Spektren) angezeigt.
- 2** Die Übereinstimmungsfaktoren werden zwischen jedem Spektrum und dem Mittel der fünf im Fenster „Spectra“ (Spektren) angezeigten Spektren berechnet. Sie werden als einzelne Punkte im Reinheitsdiagramm eingezeichnet. Für den benutzerdefinierten Grenzwert wird die Ähnlichkeitskurve über das Reinheitsdiagramm gelegt.

Für den berechneten Grenzwert wird der Grenzwert für jedes Spektrum berechnet: Die Reinheitswerte der Spektren werden als das Verhältnis zwischen dem Grenzwert und dem Ähnlichkeitswert definiert, was eine gerade Linie ergibt. Dies zeigt die reinen und verunreinigten Datenpunkte deutlicher. Die Ähnlichkeits- und Grenzwertkurven über das Reinheitsdiagramm gelegt.

Peakgesteuerte Spektren

- 1** Alle referenzkorrigierten Spektren eines Peaks, die über dem benutzerdefinierten Grenzwert liegen, werden für die Berechnung verwendet und im Fenster „Spectra“ (Spektren) angezeigt.
- 2** Die Übereinstimmungsfaktoren werden zwischen jedem Spektrum, das im Fenster „Spectra“ (Spektren) angezeigt wird, und dem Mittel dieser Spektren berechnet. Sie werden als einzelne Punkte im Reinheitsdiagramm eingezeichnet.
- 3** Der Reinheitswert ist der Mittelwert aller berechneten Übereinstimmungsfaktoren.

Peak als rein oder verunreinigt klassifizieren

Der berechnete Reinheitsfaktor wird zur Erzeugung der Reinheitsübersicht verwendet, die auf dem Bildschirm angezeigt wird. Wenn der Reinheitsfaktor innerhalb des Grenzwerts liegt (der manuell gewählt oder aus der Grenzwertkurve berechnet werden kann), wird der Peak als rein klassifiziert. Wenn der Reinheitsfaktor den Grenzwert überschreitet, wird der Peak als verunreinigt klassifiziert.

HINWEIS

Die entdeckte Verunreinigung ist eine *spektrale* Verunreinigung, was nicht unbedingt bedeutet, dass die eluierte Substanz unrein ist. Verunreinigungen im Spektrum können durch Veränderungen des Lösungsmittels (Gradienten) verursacht werden oder bei Peaks auftreten, die nicht basisliniengetrennt sind.

Peakreinheitsinformationen

Purity Factor (Reinheitsfaktor)

Der Reinheitsfaktor ist ein numerischer Wert für die Reinheit des Peaks.

- Wenn der Peak als rein klassifiziert worden ist, ist der Reinheitsfaktor der Mittelwert aller Spektren, die *innerhalb* des Grenzwerts liegen.
- Wenn der Peak als verunreinigt klassifiziert worden ist, ist der Reinheitsfaktor der Mittelwert aller Spektren, die den Grenzwert *überschreiten*.

In jedem Fall sind die Anzahl der Spektren, die für die Berechnung des Reinheitsfaktors verwendet werden, und die Basis für die Berechnung festgelegt.

Threshold (Grenzwert)

Für einen berechneten Grenzwert ist dies der Mittelwert aller Spektren, die für die Berechnung des Reinheitsfaktors verwendet wurden. Für einen benutzerdefinierten Grenzwert ist dies der Wert, den Sie in den Reinheitsoptionen festgelegt haben.

Peak Spectra (Peakspektren)

Unter „Peak Spectra“ (Peakspektren) werden Details der fünf Spektren angezeigt, die für die Berechnung der Reinheit ausgewählt wurden. Sie können sich außerdem Folgendes anzeigen lassen:

- **Difference spectra (Differenzspektren)**
Spektren, die als die Differenz zwischen dem gemittelten Spektrum und dem individuell ausgewählten Spektrum berechnet wurden. Reine Peaks zeigen im Differenzspektrum nur Rauschen.
- **Compared spectrum (Vergleichsspektrum)**
Das gemittelte Spektrum, das für die Reinheitsberechnung verwendet wird.
- **All recorded spectra (Alle aufgenommenen Spektren)**
Alle Spektren, die über einen Peak hinweg aufgenommen wurden.
- **Reference spectra (Referenzspektren)**
Das Spektrum oder die Spektren, die für die Untergrundkorrektur verwendet wurden.

Berechnung der Reinheit und des Rauschens

Die Informationen über die Reinheitsberechnung enthalten die Anzahl der aufgenommenen Spektren und die Anzahl der Spektren, die innerhalb des Grenzwerts liegen bzw. den Grenzwert überschreiten und die für die Berechnung des Reinheitsfaktors verwendet wurden.

Die Informationen über die Berechnung des Rauschens enthalten die Anzahl der Spektren, die für die Berechnung des Grenzwerts für das Rauschen verwendet wurden sowie die Ergebnisse der Berechnung. Sie können das Rauschspektrum sowie die Rauschstatistik grafisch darstellen lassen. Weiterhin können Sie die Parameter für die Berechnung des Rauschens verändern.

HINWEIS

Das Verändern der Parameter für die Berechnung des Untergrundrauschens kann einen großen Einfluss auf die Ergebnisse der Reinheitsberechnung haben. Lesen Sie zunächst die Informationen unter „[Erweiterte Optionen für die Peakreinheit](#)“ auf Seite 38, bevor Sie Änderungen vornehmen.

Purity Curve (Reinheitskurve)

Die Reinheitskurve zeigt die Ergebnisse des Vergleichs von jedem Spektrum eines Peaks mit dem gemittelten Spektrum. Die Werte in der Spalte „Difference“ (Differenz) stellen die arithmetische Differenz zwischen den Werten in der Spalte „Purity“ (Reinheit) und der Spalte „Threshold“ (Grenzwert) dar. Mit dem Differenzwert wird festgelegt, welche Spektren in der Berechnung der Reinheitsfaktors und für den Grenzwert des Peaks verwendet werden.

More Purity Curves (Weitere Reinheitskurven)

Unter „More Purity Curves“ (Weitere Reinheitskurven) werden die Ergebnisse der Reinheitsberechnungen für die Spektren an der Vorder- und der Rückseite sowie das Spektrum im Maximum und das gemittelte Spektrum gezeigt (siehe [„Vorgegebene Zielspektren verwenden“](#) auf Seite 32). Sie können sich wahlweise die Ähnlichkeitskurven jeder einzelnen oder aller Berechnungen anzeigen lassen. Sie können außerdem die Parameter der Reinheitsberechnung verändern sowie die Art und Weise der Darstellung.

HINWEIS

Das Verändern der Parameter für die Reinheitsberechnung kann einen großen Einfluss auf die Ergebnisse der Berechnung haben. Lesen Sie zunächst die Informationen unter [„Erweiterte Optionen für die Peakreinheit“](#) auf Seite 38, bevor Sie Änderungen vornehmen.

Erweiterte Optionen für die Peakreinheit

Änderungen, die in den Optionen unter „Advanced Peak Purity“ (Erweiterte Peakreinheit) vorgenommen werden, können einen großen Einfluss auf die Ergebnisse der Reinheitsberechnung haben. Es wird empfohlen, dass keine Änderungen durchzuführen, wenn Ihnen nicht vollständig klar ist, welchen Effekt Ihre Änderungen auf die Ergebnisse haben werden.

Purity Calculation (Berechnung der Reinheit)

Bei der Reinheitsberechnung wird standardmäßig der Mittelwert von fünf über den Peak verteilten Spektren verwendet (siehe „Was ist die Peakreinheitskontrolle?“ auf Seite 20). Als Grundlage für die Berechnung können aber auch andere Spektren verwendet werden:

All peak spectra (Alle Peakspektren) verwendet alle fünf ausgewählten Spektren, um fünf Ergebnisse zu berechnen, die im gleichem Fenster dargestellt werden.

Apex spectrum (Scheitelspektrum), **Front spectrum** (Spektrum an der Vorderseite) und **Tail spectrum** (Spektrum des Peakendes) verwenden spezifische Spektren, die es Ihnen ggf. ermöglichen, die Empfindlichkeit der Reinheitsanalyse zu verbessern (siehe „Vorgegebene Zielspektren verwenden“ auf Seite 32).

Front & Tail spectrum (Spektren von Peakanfang und -ende) liefert zwei Ergebnissätze, die mit dem Spektrum vom Peakanfang und dem Spektrum vom Peakende als Basis für die Reinheitsberechnung ermittelt wurden.

Standardmäßig wird die Peakreinheit als Reinheitsverhältnis angegeben, wie in **Abbildung 5** auf Seite 28 abgebildet. Es ist aber auch möglich, die Ergebnisse als Ähnlichkeits- und Grenzwertkurven anzuzeigen.

Die Agilent ChemStation Edition kann Ähnlichkeits- und Grenzwertkurven in drei Modi darstellen:

- 1 Ohne jegliche Veränderung, siehe **Abbildung 10** auf Seite 39 (a).
- 2 Als natürlicher Logarithmus $\ln$, siehe **Abbildung 10** auf Seite 39 (b). Durch diese Darstellung werden im Peakmaximum mehr Details sichtbar (unterer Teil der Abbildung).
- 3 Als Verhältnis: $\text{ratio} = \frac{1000 - \text{similarity}}{1000 - \text{threshold}}$, siehe **Abbildung 10** auf Seite 39 (c).

Bei einem spektral reinem Peak sind die Verhältniswerte kleiner 1, bei spektral verunreinigten Peaks größer als 1. Der Vorteil dieser Verhältnisbildung liegt in der Darstellung nur einer Linie mit leichter Interpretationsmöglichkeit.

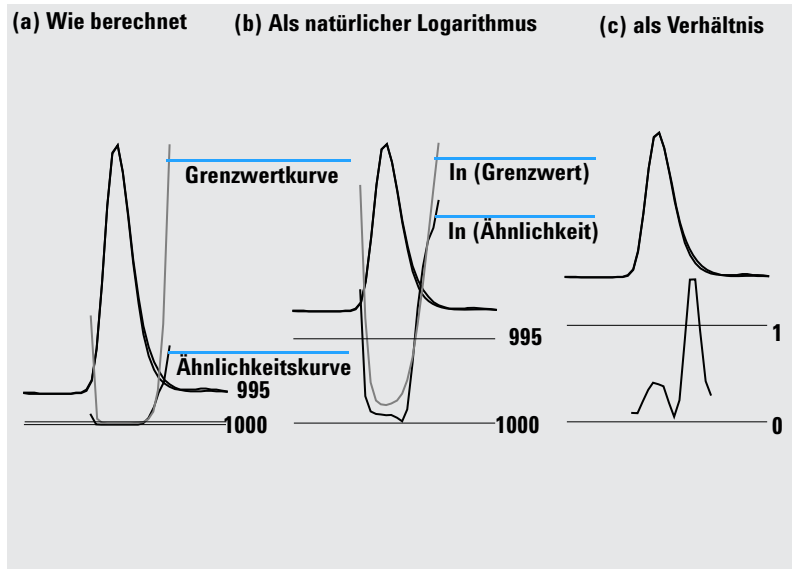


Abbildung 10 Grenzwert- und Ähnlichkeitskurven
(a) wie berechnet
(b) I_n (Grenzwert) und I_n (Ähnlichkeit)
(c) als Verhältnis

Grenzwert für das Rauschen

Standardmäßig wird der Grenzwert für das Rauschen automatisch über die Standardabweichung von 14 reinen Rauschspektren zu Beginn eines Analysenlaufs (0 Minuten) bestimmt. Sie können die Zeit und die Anzahl der Spektren verändern, von denen die Standardabweichung des Rauschens berechnet wird, oder Sie können einen festgelegten Wert für die Standardabweichung eingeben (Standardwert 0,1). Die größte Genauigkeit wird erzielt, wenn die Standardabweichung auf Basis einer bestimmten Anzahl von Scans berechnet wird.

Peakreinheitsanalyse verwenden

Dieser Abschnitt beinhaltet praktische Ratschläge zur Datenaufnahme, die sich für die Analyse der Peakreinheit und zur Einstellung der Peak-Reinheits-Optionen eignet.

Spektrenerfassung

Das Überprüfen der Peakreinheit basiert auf dem Vergleich mehrerer Spektren für einen Peak. Stellen Sie sicher, dass genügend Spektren für den Vergleich zur Verfügung stehen und dass die Qualität der Spektren hoch ist. Stellen Sie sicher, dass der Detektor gut gewartet ist, die Detektorlampe ordnungsgemäß leuchtet und Sie eine geeignete Flusszelle und einen angemessenen Spalt gewählt haben. Grundsätzlich ist die Optimierung in Hinsicht auf die Empfindlichkeit wichtiger als auf Auflösung. Kleine Spektrenverschiebungen erstrecken sich über breite Wellenlängenbereiche, so dass die Auflösung nicht so ausschlaggebend ist.

Verwenden Sie den Modus „Store All Spectra“ (Alle Spektren speichern), um kontinuierlich Spektren aufzunehmen. Neuere Detektoren unterstützen den Modus „All in Peak“ (Alle im Peak), wobei kontinuierlich Spektren aufgenommen werden, wenn ein Peak detektiert wurde. Zusätzlich werden 20 Spektren am Anfang des Analysenlaufs gespeichert, um das Basislinienrauschen für die Reinheitsanalyse zu bestimmen.

Setzen Sie die Peakbreite in den Einstellungen für den Diodenarray-Detektor auf die Breite des schmalsten relevanten Peaks im Analysenlauf.

Stellen Sie sicher, dass sich die Probenkonzentration im linearen Messbereich des Detektors befindet. Ist eine Substanz zu hoch konzentriert, misst der Detektor im Wellenlängenbereich höchster Absorption außerhalb seines linearen Bereiches, wohingegen er bei den anderen Wellenlängen immer noch im linearen Bereich bleibt. Daraus resultieren bei unterschiedlichen Konzentrationen Spektren mit veränderter Form, so dass die Substanz unter Umständen als verunreinigt erkannt wird. Ist die Konzentration der Substanz zu gering, sind die Signal-Rausch-Verhältnisse für die Spektren niedrig. Somit nimmt die Empfindlichkeit der Reinheitsanalyse ab. Die genaueste und empfindlichste Reinheitsanalyse erhalten Sie für Peaks mit einer Höhe

von 250 bis 800 mAU.

Verwenden Sie die empfohlenen Einstellungen zur Überprüfung der Peakreinheit. Wird eine mögliche Verunreinigung detektiert, können Sie die Ergebnisse genauer prüfen, um die Verunreinigung zu bestätigen und weiter zu charakterisieren.

Optionen für die Peakreinheit festlegen

Wählen Sie die folgenden Einstellungen in den entsprechenden Feldern des Dialogfelds „Spectral Options“ (Spektrooptionen).

Wavelength Range (Wellenlängenbereich)

Verwenden Sie diese Einstellung, um den Wellenlängenbereich, der für die Reinheitsüberprüfung verwendet werden soll, festzulegen. Sie können z. B. eine untere Grenze, um Wellenlängen auszuschließen, bei denen die Absorption in der mobilen Phase ein hohes Rauschen verursacht. Sie können auch eine obere Grenze setzen, um Wellenlängen auszuschließen, bei denen keine Absorption der relevanten Substanzen stattfindet.

Spectra Processing (Spektrometrische Verarbeitung)

Verwenden Sie „Spectral processing“ (Spektrometrische Verarbeitung) für mathematische Berechnungen wie Transformation, Glättung und Interpolation von Spektren. In der Praxis vergrößert alles, das kleine Unterschiede in Spektren vergrößert (Ableitungen) auch das Rauschen, während alles, das das Rauschen vermindert (Glättung) die Empfindlichkeit für kleine Veränderungen in den Spektren vermindert.

Absorbance Threshold (Absorptionsgrenzwert)

Der Absorptionsgrenzwert legt die niedrigste Intensität für ein Spektrum fest, das in die Analyse mit einbezogen werden kann. Normalerweise wird der Grenzwert auf 1-2 mAU festgelegt, um sicherzustellen, dass die Spektren am Rand des Peaks in die Überprüfung der Reinheit mit einbezogen werden.

Reference Spectrum (Referenzspektrum)

Referenzspektren sind Basislinienspektren, die zur Korrektur der Untergrundabsorption verwendet werden. Es wird empfohlen, immer ein Referenzspektrum zu verwenden. Die empfohlene Einstellung ist „Automatic“ (Automatisch). In diesem Modus wird je ein Spektrum der Basislinie in der Nähe des Start- und Endpunkts der Integration genommen. Eine lineare Extrapolation dieser beiden Spektren wird verwendet, um alle Spektren des Peaks zu korrigieren. Durch diese 2-Punkt-Referenz können Detektordrift und Veränderungen der mobilen Phase bei Verwendung von Gradienten kompensiert werden. Die anderen Referenzmodi sind abwärtskompatibel zu vorhergehenden Softwareversionen, so dass manche Informationen zur Peakreinheit auch ermittelt werden können, wenn nur wenige Spektren aufgenommen wurden.

Sind zwei Peaks nicht vollständig basisliniengetrennt, kann die automatische Auswahl eines Referenzspektrums dazu führen, dass das Referenzspektrum im Tal zwischen den beiden Peaks gewählt wird. Ein nicht aufgelöster Peak kann nicht rein sein. In diesem Fall kann der Reinheitstest verwendet werden, um nach anderen versteckten Substanzen zu suchen. Verwenden Sie die manuelle Referenzauswahl, um ein Referenzspektrum vor oder hinter der Gruppe von Peaks auszuwählen.

Purity Threshold (Reinheitsgrenzwert)

Wenn Ihre Daten aus der Erfassung peakgesteuerter Spektren stammen, müssen Sie einen Wert für den Reinheitsgrenzwert eingeben. In der Regel liefert der Standardwert 990 sinnvolle Ergebnisse.

Wenn Ihre Daten aus einer Erfassung mit „All Spectra“ (Alle Spektren) oder „All in peak“ (Alle im Peak) stammen, erhalten Sie die besten Ergebnisse, wenn die Agilent ChemStation Edition einen Grenzwert für jedes Spektrum basierend auf dem jeweiligen Signal-Rausch-Verhältnis berechnet. Alternativ können Sie einen festen Grenzwert für alle Scans im Peak definieren, was allerdings nicht empfohlen wird. Wenn Sie einen festen Grenzwert verwenden, wählen Sie einen Wert, der deutlich höher ist als bei peakgesteuerten Spektren, z. B. zwischen 995 und 998.

Massenspektrometrische Peakreinheit

In der LC/MS erreicht die Intensität der Ionen, die eine Substanz charakterisieren, zu einer bestimmten Retentionszeit ein Maximum, wenn die Konzentration dieser Substanz im MSD maximal ist. Abhängig von den chromatographischen Bedingungen und der Scan-Zyklus-Zeit, können die Retentionszeiten von dicht hintereinander eluierenden Verbindungen sehr eng beieinander liegen, so dass mehrere Komponenten im Gesamt-Ionenchromatogramm (TIC) als ein Peak oder als Peak mit Verzerrung (z. B. Schultern) erscheinen können. Beim Untersuchen der Retentionszeiten, bei denen einzelne Ionen ihre maximale Intensität erreichen, kann es möglich sein, Cluster von Ionen zu bilden, die zu den gleichen Zeiten maximale Intensität erreichen. Es wird angenommen, dass alle diese Ionen zur selben Komponente gehören. Wenn mehrere Ionencluster zu verschiedenen Retentionszeiten unter demselben chromatographischen Peak maximale Intensität erreichen, kann der Peak als verunreinigt angesehen und die individuellen Ionencluster bestimmt werden.

Bei dieser Analyse werden mehrere Annahmen gemacht:

- Die Komponenten einer Mehrkomponentenmischung können entweder über ihre Massenspektren oder ihre Retentionszeiten getrennt werden. Entweder hat jede Komponente der Mischung ein markantes Massenspektrum mit eindeutigen m/z -Werten, oder die Komponenten werden ausreichend gut getrennt, damit mehrfache Maxima bestimmt werden können.
- Das Signal-Rausch-Verhältnis ist hoch genug, um wahre Maxima eindeutig zu identifizieren.
- Die Retentionszeiten der Ionen, die als Basis für die Berechnung der Retentionszeiten der Komponenten genommen werden, sind präzise und repräsentativ.

Meistens erzeugt die Electrospray Ionisation (ESI) nur Molekularionen, es sei denn, es wird die Collision-Induced Dissociation (CID) verwendet, um Fragmente zu produzieren. Dies bedeutet, dass es möglich ist, zwei scharf getrennte, einfach geladenen Ionen in einer Spektrenserie zu identifizieren und zu quantifizieren (selbst wenn diese koeluieren). Dabei sollte man vorsichtig sein, da Kationen- und Anionen-Addukte neben den erwarteten $[M+H]^+$ - oder $[M-H]^-$ -Ionen noch weitere Ionen erzeugen können. Atmospheric pressure

chemical ionization (APCI, Chemische Ionisation bei Atmosphärendruck) produziert ebenso Molekularionen, aber thermische Fragmentierung ist bei APCI häufiger als bei Electrospray.

Außerdem enthält ein Massenspektrum Informationen über Isotope, die bei der Identifizierung und bei der Bestimmung der Reinheit helfen können.

Der Algorithmus zur Peakreinheit wird einen verunreinigten Peak nur dann identifizieren, wenn spektrale und zeitliche Unterschiede bestehen. Manuelle Interpretation kann Ihnen weiter helfen. Im Gegensatz zu UV-Daten können MS-Daten verwendet werden, um verunreinigte Peaks zu quantifizieren, solange die „Substanzen“ unterschiedliche Ionen haben. Die Peakreinheit erfordert im Allgemeinen Scan-Daten, nicht SIM-Daten, um sinnvoll zu sein.

Massenspektrometrische Reinheitsberechnungen

Ein Bereich des TICs, der die integrierte Fläche des Peaks abdeckt, wird mit einem bestimmten Satz von m/z -Werten abgesucht und die maximale Intensität für jeden m/z -Wert wird bestimmt. Für jedes gefundene Maximum wird eine interpolierte Retentionszeit über eine parabolische Anpassung berechnet (Scanzahl). Die Retentionszeiten der größten Maxima werden in Clustern zusammengefasst, die dann mit den Substanzen identifiziert werden, die in diesem Bereich enthalten sind. Informationen über die Anzahl der Komponenten, die Retentionszeiten (Scanzahl) jeder Komponente und die größten m/z -Werte im Cluster werden im Report ausgegeben.

Den ausgewählten Satz von m/z -Werten erhält man durch die Untersuchung der Scans bei 25, 50 und 75 % des Zeitbereichs der integrierten Peaks. Dabei werden alle m/z -Werte verwendet, deren Intensität größer ist als 1 % der maximalen Intensität im Scan (Basispeak). Für jeden ausgewählten m/z -Wert wird die mittlere Intensität des ersten und letzten Scans im Zeitbereich für die Untergrundkorrektur verwendet, bevor die Cluster bestimmt werden.

Jeder m/z -Wert eines Satzes wird in jedem Scan des zeitlichen Bereichs überprüft und die maximale Intensität wird, zusammen mit den Intensitäten der beiden Seiten des Maximums, gespeichert. Es wird nur ein Maximum pro m/z -Wert gespeichert. Jedes gespeicherte Maximum wird daraufhin überprüft, dass es im ersten oder letzten Scan nicht erscheint und auf keiner Seite eine Intensität von Null hat.

Nachdem eine interpolierte Scanzahl für den m/z -Wert berechnet und die Untergrundkorrektur durchgeführt worden ist, wird eine Tabelle erstellt, die die m/z -Werte, die Intensität und die interpolierten Scanzahlen geordnet nach den interpolierten Scanzahlen enthält.

Cluster werden bestimmt, indem die größten Intensitäten in der Liste in aufsteigender Reihenfolge in Bezug auf die Scananzahl untersucht werden. Sobald ein Cluster registriert ist, wird die mittlere interpolierte Scanzahl der m/z -Werte im Cluster berechnet. Wenn der nächste Punkt, der in Erwägung gezogen wird, mehr als einen halben Scan vom Mittelwert entfernt ist, wird ein neuer Cluster begonnen.

Die Anzahl der gefundenen Cluster wird im Report als die Zahl der Komponenten angegeben. Die mittlere interpolierte Scananzahl ist die angegebene Scanzahl und die m/z -Werte mit den zwei größten Häufigkeiten im Cluster entsprechen den Ionen.

Ein integrierter Peak, der mehr als einen Cluster enthält, gilt als verunreinigt.

Anzeige der massenspektrometrischen Reinheit

Ions for Peak Window (Ionen für Peak)

Das Fenster „Ions for Peak“ (Ionen für Peak) zeigt die zwei m/z -Werte mit den größten Intensitäten in jedem Cluster an. „Single Component Peaks“ (Einzelkomponenten-Peaks) zeigt zwei Ionen, die ihre maximale Intensität zur gleichen Retentionszeit erreichen: „Multi-Component Peaks“ (Multi-Komponenten-Peaks) zeigt Ionenpaare, die zur gleichen Zeit die maximalen Intensitäten erreichen. Jedes Ionenpaar zeigt eine Komponente in dem verunreinigten Peak an. Um die Ionen detaillierter zu untersuchen, können Sie die grafischen Funktionen der Agilent ChemStation Edition verwenden.

Das Fenster „MS Peak Purity Results“ (MS-Peakreinheitsergebnisse)

Das Fenster „MS Peak Purity Results“ (MS-Peakreinheitsergebnisse) enthält die tabellarischen Ergebnisse der Peakreinheitsanalyse. Jede Zeile in der Tabelle enthält die Informationen für eine Komponente: die mittlere interpolierte Scanzahl und die zwei Ionen mit der größten Intensität.

Index

A

Abgeleitete Spektren, 23
Automatische Spektrenbibliothekssuche
 Allgemeiner Suchmodus, 14
 Peakreinheit, 16
 Suchmodi, 14
 Überblick, 3
 Zielsubstanzanalyse, 15

B

Basislinie
 Korrektur, 23

C

COMPARE-Befehl, 21

D

Dritte Dimension, 8

F

Festlegen
 Optimale Detektionswellenlänge, 10
Fluoreszenz-Spektrum, 11

G

Gemittelttes Spektrum, 32
Grenzwertkurve, 29, 33, 37
 Anzeigemodus, 30

I

Isoabsorptionsplot, 10

L

Linearer Bereich, 39
Logarithmische Spektren, 23

M

Markierung für Substanznamen, 18
Markierung für Übereinstimmung mit
 Bibliothek, 17, 18
Massenspektrale Peakreinheit, 42

N

Normalisieren
 Spektren, 25

O

Optimale Detektionswellenlänge, 10

P

Peak
 Reinheit, 20
 Verunreinigung, 20
Peak Signals (Fenster), 28
Peakreinheit
 Grenzwertkurve, 29, 37
 Massenspektrometrisch, 42
 Spektrale Ähnlichkeitskurven, 28
 Vorgegebene Zielspektren
 verwenden, 31
 Was ist das?, 20

R

Referenzspektrum, 40
 Untergrundkorrektur, 23

Reinheit
 Massenspektrometrisch, 44
 Peak, 20
Reinheitsberechnung
 Grenzwertkurve, 29, 33
 Massenspektrometrisch, 43
Report
 Bibliothekssuche, 12
 Peakreinheit, 12
 Spektral, 12

S

Scheitelspektrum, 32
Spektralanalyse
 Was ist das?, 8
Spektrale Ähnlichkeitskurven, 28
Spektren
 Ableitung, 23
 Glätten, 22
 Logarithmisch, 23
 Normalisieren, 25
Spektrenbearbeitung
 Normalisieren, 25
 Vergleichen, 25
Spektrenerfassung, 39
Spektrenglättung, 22
Spektrum
 Fluoreszenz, 11
 Korrektur, 23
 Referenz, 40
Spektrum an der Vorderseite, 32
Spektrum des Peakendes, 32

T

Tipps, 39

Index

U

Übereinstimmungsfaktor, 21

Umriss

Linien, 10

Plan, 10

Untergrund

Absorption, 20

Untergrundkorrektur, 23

V

Vergleichen

Spektren, 25

Verunreinigung, 20

W

Wellenlänge

Optimierung, 10

Z

Zielspektrum, 31

In diesem Handbuch

In diesem Handbuch werden die Konzepte beschrieben, auf denen das Spektrenmodul der Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition beruht. Es zeigt die spezifischen Konzepte für die Spektrenanalyse auf, die für die Agilent OpenLAB CDS ChemStation Edition verwendet werden können.

© Agilent Technologies 1994-2012, 2013

Gedruckt in Deutschland
01/13



M8301-92170



Agilent Technologies