

Erfüllung von 2.2.40 Ph. Eur. 10.0 durch Apo-Ident



Stand: 2021-03-25

Version: 10.0_2.02.40.00_V1.5

HiperScan GmbH
Weißeritzstraße 3
01067 Dresden | Germany

+49 351 212 496 0
info@hiperscan.com



Inhaltsverzeichnis

Prinzip NIR	3
Anwendungsgebiet NIR.....	4
Anforderungen an die Apparatur (Gerät)	5
Messmethoden.....	6
Probenvorbereitung und Einbringen der Probe	8
Einflussfaktoren auf die Messung.....	10
Datenvorbehandlung	14
Überprüfung der Leistungsfähigkeit des Geräts.....	15
Anforderungen an die Referenzbibliothek.....	26
Grenzprüfung.....	38
Trendanalyse	38
Quantitative Analyse	39
Fortwährende Modellbewertung	40
Transfer einer Datenbasis	40
Literatur.....	41
Kundensupport.....	41

Zweck dieses Dokument

Dieses Dokument erklärt, wie das Analysesystem „Apo-Ident“ (bestehend aus dem Gerät „Apo-Ident“, der Steuersoftware „QuickStep“ und der hinterlegten Referenzdatenbank) die Anforderungen und Erläuterungen des Kapitels „2.2.40 NIR-Spektroskopie“ des Europäischen Arzneibuchs in der Version 10.0 umsetzt und erfüllt.

Zu diesem Zweck wurde das o.g. Kapitel in einzelne Textpassagen unterteilt und in **hellblauer** Schriftfarbe abgebildet.

Die jeweiligen Erläuterungen, inwiefern diese Angaben durch „Apo-Ident“ erfüllt werden, stehen in schwarzer Schriftfarbe unter der zugehörigen Textpassage.

Prinzip NIR

2.2.40 NIR-Spektroskopie

Die Nah-Infrarotspektroskopie (NIR-Spektroskopie) ist eine Technik, die in der pharmazeutischen Analytik häufig und vielfältig angewendet wird. Der NIR-Spektralbereich erstreckt sich von 780 bis 2500 nm (12800 bis 4000 cm^{-1}).

Das Europäische Arzneibuch verweist hier auf den Spektralbereich, den die Spektroskopie allgemein als NIR-Spektralbereich bezeichnet. Er sagt aus, dass eine spektroskopische Messmethode, die in den NIR-Spektralbereich fällt, als NIR-spektroskopische Methode anzusehen ist. Da der Messbereich von Apo-Ident (1.000 nm bis 1.900 nm) in den genannten NIR-Spektralbereich fällt, ist Apo-Ident eine NIR-Messmethode.

Durch verschiedenste Datenverarbeitungs- und Qualitätssicherungs-Maßnahmen wird sichergestellt, dass die Substanzen, die als eindeutig mit Apo-Ident prüfbar angeboten werden, im genannten Spektralbereich sicher voneinander getrennt werden. Substanzen, die im genutzten NIR-Spektralbereich sehr ähnliche oder stark streuende Spektren zeigen, werden zu einer Substanz-Gruppe zusammengefasst und müssen gesondert voneinander unterschieden werden.

NIR-Spektren werden durch C-H-, N-H-, O-H- und S-H-Obertonschwingungen sowie Kombinationen der Grundschwingungen im mittleren Infrarotbereich (MIR-Bereich) bestimmt.

Signale aller o.g. Schwingungen treten im Spektralbereich von Apo-Ident auf:

- C-H: um 1.200 nm, 1.400 nm und 1.700 nm
- N-H: um 1.500 nm
- O-H: um 1.450 nm
- S-H: um 1.750 nm

Jede Substanz, die zur Prüfung angeboten wird, muss Mindestanforderungen an die Spektrenqualität erfüllen. Treten im Messbereich von Apo-Ident keine Banden auf (wie z.B. bei NaCl), wird die Substanz nicht zur Prüfung angeboten, aber dennoch zur Validierung verwendet. Diese Spektren müssen folglich abgelehnt werden.

Die Spektren enthalten zusammengesetzte chemische und physikalische Informationen, die in den meisten Fällen durch geeignete mathematische Datenverarbeitung extrahiert werden können. NIR-Banden sind viel schwächer ausgeprägt als die Grundschrwingungen im MIR-Bereich, von denen sie hergeleitet werden. Da die Absorption im NIR-Bereich schwach ist, kann die Strahlung mehrere Millimeter tief in das Material, einschließlich Festkörper, eindringen. Darüber hinaus sind viele Materialien, zum Beispiel Glas, relativ transparent in diesem Wellenlängenbereich.

Die Messungen können direkt in situ, zusätzlich zu standardisierten Probenahme- und Prüfverfahren, durchgeführt werden. NIR-Messungen können bei PAT-Anwendungen off-line, at-line oder in-line sowie on-line durchgeführt werden.

Den Effekt der höheren Eindringtiefe im NIR-Bereich nutzt Apo-Ident aus. Man erhält ohne aufwendige Probenvorbereitung verwertbare Spektren, die einen gewissen Volumenbereich erfassen und deshalb auch inhomogene Proben charakterisieren.

Die Extraktion der relevanten Informationen wird ausführlich im Abschnitt „Datenvorbehandlung“ beschrieben.

Geeignete chemometrische Methoden können bei der Identifizierung erforderlich sein.

- siehe Abschnitt „Chemometrie“

Anwendungsgebiet NIR

In Fällen, bei denen die Kriterien für die Spezifität eines qualitativen Verfahrens eingehalten werden, ist eine Identifizierung der chemischen Eigenschaften oder eine Charakterisierung der Festkörpereigenschaften durch einen direkten Vergleich der unbehandelten oder der vorbehandelten Spektren einer zu untersuchenden chemischen Substanz mit den Spektren, die von einer Referenzsubstanz stammen, möglich.

Die NIR-Spektroskopie wird für sehr unterschiedliche Anwendungszwecke bei der chemischen oder physikalischen Analyse sowie bei prozessanalytischen Fragestellungen eingesetzt, zum Beispiel:

Chemische Analytik

- Identifizierung von Wirkstoffen, Hilfsstoffen, Darreichungsformen, von Zwischenprodukten im Herstellungsprozess, von sonstigen chemischen Materialien und Verpackungsmaterialien
- Qualifizierung von Wirkstoffen, Hilfsstoffen, Darreichungsformen, von Zwischenprodukten im Herstellungsprozess und von Verpackungsmaterialien, insbesondere im Rahmen eines spektralen Vergleichs unterschiedlicher Chargen sowie der Bewertung bei einem Lieferantenwechsel

- Quantifizierung von Wirkstoffen in einer Probenmatrix, Bestimmung von chemischen Kennzahlen, zum Beispiel der Hydroxylzahl, Bestimmung des absoluten Wassergehalts, Bestimmung des Grads der Hydroxylierung oder Kontrolle des Lösungsmittelgehalts

Physikalische Analytik

- kristalline Formen, Kristallinität, Polymorphie, Solvate, Partikelgröße
- Zerfallszeit, Bruchfestigkeit
- Eigenschaften eines Filmüberzugs

Prozessanalytik

- Überwachung von Teilschritten in der Verfahrenstechnik, zum Beispiel bei der Synthese, Kristallisation, beim Mischen, Trocknen, Granulieren oder Überziehen zum Zweck der Prozesskontrolle
- Überwachung oder Bestimmung eines Endpunkts

Die Messungen im Bereich der NIR-Strahlung werden durch zahlreiche chemische und physikalische Faktoren, die im Folgenden beschrieben werden, beeinflusst; die Reproduzierbarkeit und die Relevanz der Resultate hängen von der Überwachung dieser Faktoren ab. Die Messungen sind in der Regel nur für ein definiertes Kalibriermodell gültig.

Apo-Ident ist für die Identifizierung von Ausgangsstoffen (Wirkstoffe und Hilfsstoffe) für die Rezeptur und Defektur in der Apotheke ausgelegt.

Anforderungen an die Apparatur (Gerät)

Apparatur

Sämtliche NIR-Messungen basieren auf der Transmission des Lichts durch oder dem Eindringen von Licht in eine Probe und der Messung der Abschwächung des austretenden Strahls (entweder in Transmission oder Reflexion). Spektrometer, die für die Messung im NIR-Bereich geeignet sind, bestehen aus einer geeigneten Lichtquelle (zum Beispiel einer sehr stabilen Quarz-Wolfram-Lampe), einem Monochromator oder Interferometer und einem Detektor. Die üblicherweise verwendeten Monochromatoren sind akusto-optisch einstellbare Filter (AOTF), Gitter oder Prismen. Üblicherweise weisen viele NIR-Instrumente eine Bauart mit einem Einzelstrahl auf, obwohl einige Instrumente, die für die Prozesskontrolle verwendet werden, einen internen Referenzstrahl besitzen und deshalb als Zweistrahlinstrumente angesehen werden können (zum Beispiel Dioden-Array-Instrumente). Silicium, Bleisulfid und Indium-Gallium-Arsenit sind Beispiele für Detektormaterialien. Herkömmliche Küvettenhalter, fi-

beroptische Sonden, Dipzellen mit Transmissionsmessung, Vials aus neutralem Borosilicatglas und rotierende oder traversierte Probenhalter sind Beispiele für Probenmessanordnungen. Die Auswahl wird auf Grundlage der beabsichtigten Anwendung vorgenommen, wobei je nach Typ der zu analysierenden Probe besondere Aufmerksamkeit auf die Eignung der Anordnung zur Probennahme gelegt wird. Geeignete Datenverarbeitungs- und Auswerteeinheiten (zum Beispiel Software und Computer) sind normalerweise Teil des Systems. Normalerweise wird die Wellenlänge (λ) in Nanometern und die Wellenzahl (ν) in 1/Zentimeter (cm^{-1}) in Abhängigkeit von der Messtechnik und der Apparatur angegeben. Die Umwandlung zwischen nm und cm^{-1} erfolgt nach der folgenden Gleichung:

$$\nu_{\text{cm}^{-1}} = 10^7 \cdot \frac{1}{\lambda_{\text{nm}}}$$

Das Gerät „Apo-Ident“ ist durch die folgenden Komponenten und Merkmale charakterisiert:

- Lichtquelle (Quarz-Wolfram-Lampe)
- Monochromator (Gitter)
- Einzelstrahl
- Detektor (Indium-Gallium-Arsenit)
- Datenverarbeitungs- und Auswerteeinheit

Messmethoden

Messmethoden

Transmission: Die Transmission (T) ist ein Maß für die Abnahme der Strahlungsintensität bei einer bestimmten Wellenlänge, wenn die Strahlung durch eine Probe tritt. Die Probe wird in den optischen Strahl zwischen Strahlungsquelle und Detektor eingebracht. Die Anordnung ist analog zu der in vielen konventionellen Spektrometern. Das erhaltene Spektrum kann direkt als Transmission (T) und/oder Absorption (A) (y-Achse) gegen die Wellenlänge oder Wellenzahl (x-Achse) dargestellt werden.

$$T = \frac{I}{I_0}$$

I_0 = Intensität der eintretenden Strahlung

I = Intensität der austretenden Strahlung

$$A = -\log_{10} T = \log_{10} \left(\frac{1}{T} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

Diffuse Reflexion: Die Messung im Modus der diffusen Reflexion erzielt eine Bestimmung der Reflexion (R); diese ist als Verhältnis der Intensität des von der Probe reflektierten Lichts (I) zum reflektierten Licht, welches von einem Hintergrund oder einer reflektierenden Referenzoberfläche (I_r) erhalten wird, definiert. In Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung und den physikalischen Eigenschaften der Probe kann die NIR-Strahlung in eine mehr oder weniger große, für die Absorption bedeutende Schichtdicke in die Probe eindringen, wobei die Strahlung von den Obertönen und Kombinationen der Grundschrwingungen der zu analysierenden Verbindungen, die in der Probe vorhanden sind, absorbiert werden kann. Die nicht absorbierte Strahlung wird teilweise aus der Probe in Richtung Detektor reflektiert. Die NIR-Reflexionsspektren werden in der Regel durch die Berechnung und Darstellung des Zusammenhangs von $\log_{10} (1/R)$ (y-Achse) gegen die Wellenlänge oder Wellenzahl (x-Achse) erhalten.

$$R = \frac{I}{I_r}$$

I = Intensität des von der Probe diffus reflektierten Lichts

I_r = Intensität des vom reflektierenden Hintergrund oder von der Referenzoberfläche reflektierten Lichts

$$A_R = \log_{10} \left(\frac{1}{R} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_r}{I} \right)$$

Transflexion: Dieser Modus ist eine Kombination aus Transmission und Reflexion. Bei der Messung der Transflexion (T^*) wird ein Spiegel oder eine diffus reflektierende Oberfläche benutzt, um die transmittierte Strahlung zurück durch die Probe zu führen. Auf diese Weise wird eine Verdoppelung der Schichtdicke erzielt. Die nicht absorbierte Strahlung wird von der Probe zurück zum Detektor reflektiert. Das resultierende Spektrum kann direkt als Zusammenhang der Transflexion (T^*) und/oder Absorption (A^*) (y-Achse) gegen die Wellenlänge oder Wellenzahl (x-Achse) dargestellt werden.

$$T^* = \frac{I}{I_T}$$

I = Intensität der transflektierten Strahlung (mit der Probe gemessen)

I_T = Intensität der transflektierten Strahlung (mit einem Referenzmaterial für den spektroskopischen Hintergrund gemessen)

$$A^* = \log_{10} \left(\frac{1}{T^*} \right) = \log_{10} \left(\frac{I_T}{I} \right)$$

Apo-Ident nutzt zur Messung fester Proben die Messmethode „Messung in diffuser Reflexion“. Die Referenzoberfläche bildet bei Apo-Ident die sogenannte

„Weißreferenz“. Diese besteht aus PTFE in optischer Qualität (Zenith®). An ihr wird das Absorptionsspektrum der gemessenen Probe berechnet.

Zur Messung halbfester bzw. flüssiger Proben verwendet Apo-Ident die Messmethode „Transflexion“. Dabei wird als „diffus reflektierende Oberfläche“ ein Aluminiumstempel verwendet.

Probenvorbereitung und Einbringen der Probe

Probenvorbereitung und Einbringen der Probe

Die Probenvorbereitung und das Einbringen der Probe können je nach Messmodus unterschiedlich sein. Die folgenden Anforderungen gelten in jedem Fall:

- Die Messzeit und die Anzahl der Scans sind so festzulegen, dass das Signal-Rausch-Verhältnis optimiert wird.
- Der am besten geeignete Messmodus ist für die beabsichtigte Anwendung zu ermitteln (Transmission, diffuse Reflexion oder Transflexion).
- Die beste Ausrichtung der Probe ist zu ermitteln (zum Beispiel, um die Auswirkungen von Stempelprägungen auf das Messen von Tabletten zu minimieren).
- Die am besten geeignete Messanordnung (zum Beispiel Transmissionszelle oder Immersionssonde) ist auszuwählen.
- Die optimale Schichtdicke im Transmissions- und Transflexionsmodus ist auszuwählen.
- Das geeignete Referenzmaterial für den spektroskopischen Hintergrund ist auszuwählen.
- Das Referenzmaterial für den spektroskopischen Hintergrund ist so zu wählen, dass die Messungen des Hintergrunds über einen Zeitraum reproduzierbar und stabil sind.
- Falls sich bewegendes Material oder sich bewegende Proben gemessen werden sollen (für prozessbegleitende Messungen), ist die Messung eines repräsentativen Spektrums von Bedeutung (zum Beispiel durch die Anpassung der Messzeit, die Anpassung der Anzahl Scans, die Co-Addition von einzelnen Spektren, oder durch Erhöhung des Strahlungsquerschnitts).
- Eine Verschmutzung des Sensors zum Beispiel durch sich anlagerndes Material oder eine Kontamination ist auszuschließen.
- Die Messbedingungen (Messzeit, Strahlungsquerschnitt) sollten im Verhältnis zur kleinsten Probenmenge gerechtfertigt sein.

Bei der Entwicklung und Konstruktion von Apo-Ident wurden alle genannten Punkte beachtet und umgesetzt, um verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse sicherzustellen.

In einigen Fällen kann bei der Prozessanalyse eine Sonde nicht entfernt werden, um eine Datensammlung für den Referenzhintergrund zu erhalten; in diesem Zusammenhang können verschiedene Möglichkeiten in Betracht gezogen werden, unter anderem eine interne Referenz oder die Messung des Referenzhintergrunds mit Hilfe eines zweiten Detektors. Lediglich Spektren, die gegen einen Hintergrund mit den gleichen optischen Eigenschaften gemessen wurden, können direkt miteinander verglichen werden.

Prozessanalyse trifft nicht auf Apo-Ident zu.

Transmission: Die Messung der Transmission (T) ist abhängig vom Spektrum des Transmissionshintergrunds, das bei deren Berechnung verwendet wurde. Beispiele für Hintergrundreferenzen sind Luft, eine Scheibe aus Polymermaterial, eine leere Zelle, ein Lösungsmittel als Blindprobe oder in besonderen Fällen eine Referenzprobe. Die Methode wird in der Regel bei Flüssigkeiten (verdünnt oder unverdünnt), Dispersionen, Lösungen und Festkörpern (einschließlich Tabletten und Kapseln) angewendet. Für Transmissionsmessungen von Festkörpern wird ein geeigneter Halter verwendet. Flüssige Proben werden in Messzellen von geeigneter Schichtdicke (in der Regel 0,5 bis 4 mm), die transparent für die NIR-Strahlung sind, oder alternativ durch Immersion einer fiberoptischen Sonde mit geeigneter Konfiguration gemessen.

Apo-Ident verwendet keine Messung in Transmission. Für Flüssigkeiten wird der Messmodus Transflexion verwendet (siehe unten).

Diffuse Reflexion: Dieser Modus wird in der Regel für Festkörper angewendet. Die Probe wird direkt untersucht, in eine geeignete Vorrichtung (zum Beispiel ein besonderer Probenhalter) gegeben oder in direktem Kontakt mit einer fiberoptischen Sonde gemessen. Für die Prozessüberwachung kann das zu untersuchende Material durch ein poliertes Zwischenfenster (zum Beispiel Saphirglas) oder durch die Anwendung einer in-line angeordneten fiberoptischen Sonde gemessen werden. Sorgfältig ist darauf zu achten, dass die Messbedingungen von Probe zu Probe so reproduzierbar wie möglich sind. Die reflektierte Strahlung einer Hintergrundreferenz wird aufgenommen, um eine Basislinie zu erhalten. Anschließend wird die Reflexion von einer oder mehreren zu analysierenden Proben gemessen. Übliche Reflexionsreferenzen beinhalten keramische Materialien, thermoplastische Harze und Gold. Andere geeignete Materialien können ebenfalls eingesetzt werden.

Der Aufbau des Apo-Ident gibt eine feste Position der Probe vor (Messstelle/Probenfenster) und definiert den Abstand der Probe zum Spektrometer. Dadurch ist die gemessene Fläche der Probe (die Messstelle) immer gleich und wird auf die Größe des Probenglases begrenzt.

Transflexion: Dieser Modus wird in der Regel bei Flüssigkeiten, Suspensionen und transparenten Kunststoffmaterialien angewendet. Ein Reflektor wird hinter der Probe platziert, um die Schichtdicke zu verdoppeln. Diese Konfiguration kann so angepasst werden, dass in derselben geometrischen Instrumentanordnung gleichzeitig in Reflexion und mit Hilfe eines fiberoptischen Sondensystems gemessen werden kann. Hierbei sind die Strahlungsquelle und der Detektor auf der gleichen Seite der Probe angeordnet. Die Probe wird durch eine Messzelle mit einem Spiegel oder einem geeigneten diffusen Reflektor gemessen, der entweder aus Metall oder aus einer inerten, nicht in der NIR-Region absorbierenden Substanz (zum Beispiel getrocknetem Titandioxid) hergestellt ist. Flüssigkeiten können ebenfalls in-line mit Hilfe von Transflexionssonden gemessen werden.

Bei der Messung von halbfesten bzw. flüssigen Stoffen wird ein diffus reflektierender Aluminiumstempel als Reflektor verwendet. Dieser gewährleistet durch seine Geometrie (seine drei Standfüßchen) eine definierte und reproduzierbare Schichtdicke. Die Schichtdicke beträgt 0,4 mm und wird vom Licht zweimal durchlaufen.

Einflussfaktoren auf die Messung

Parameter, die die spektrale Antwort beeinflussen

Strategie bei der Erstellung der Apo-Ident-Datenbank ist es, durch einheitliche Geräte, Vorgaben zur Durchführung der Messung und durch eine (einheitliche) mathematische Vorbehandlung der Spektren einen ersten Teil der unerwünschten Einflüsse zu unterdrücken.

Zweitens liefert die große Anzahl in die Datenbank eingehender Substanzen und Referenzproben (Spektren des Typs A) eine Voraussetzung, um robuste Klassifizierungsmodelle (auch „Substanzdatenbanken“, „chemometrische Modelle“ oder „Klassifikatoren“) zu entwickeln, deren Ergebnisse durch die Störgrößen nur geringfügig beeinflusst werden.

Drittens wird neben dem unabhängigen Testsatz aus Spektren gesicherter Herkunft (Spektren des Typs B, Validierspektren) die Erkennung einer großen Anzahl von Spektren aus dem Feld (Spektren des Typs C) getestet. Diese bilden die Streubreite realer Einflussfaktoren ab und werden zur Optimierung der Klassifizierungsmodelle während der Entwicklung genutzt. Die Tatsache, dass die Spezifität unter dieser Streubreite nicht leidet, weist die Robustheit der Datenbank nach.

Umgebung: Die Temperatur und Luftfeuchtigkeit der Umgebung müssen berücksichtigt werden, bevor die Messungen ausgeführt werden.

Apo-Ident ist für den Betriebstemperaturbereich 15-35 °C ausgelegt. Funktion und Wellenlängenachse jedes Gerätes werden während der Fertigung über diesen Temperaturbereich überprüft.

Die Messungen an Proben für Spektren des Typs A und B erfolgen unter unserer Kontrolle in beheizten, nicht klimatisierten Räumen. Als Optimierspektren vom Typ C (Kundenspektren) lassen wir uns Routine-Messungen aus den Apotheken zur Verfügung stellen. Darin bildet sich folglich die gesamte Bandbreite der realen Bedingungen ab, unter denen die Prüfung auf Identität mittels NIR-Spektroskopie in Apotheken durchgeführt wird.

Zur Verfügung stehende Fläche bei der Probenmessung: Die Fläche, die für die Messung der Probe zur Verfügung steht, oder der Endbereich einer Sonde müssen sauber sein, so dass zu Beginn der Messung keine Rückstände vorhanden sind. Außerdem sollte das der Probe zugewandte in-line oder on-line Interface keine wesentlichen Produkt- oder Verunreinigungsanlagerungen aufweisen, die die Messung beeinflussen.

Apo-Ident ist für den Gebrauch in Apotheken konstruiert. Die Reinigung der Messstelle sowie die Reinigung des Zubehörs (Probenglas, Probeneinsatz, Aluminiumstempel, ...) ist unproblematisch und verständlich dokumentiert.

Temperatur der Probe: Dieser Parameter ist für die Messung von wässrigen Lösungen und vielen Flüssigkeiten von Bedeutung, da ein Unterschied von wenigen Grad messbare spektrale Abweichungen erzeugt, die deutlich messbare Auswirkungen auf die Analyse haben können. Die Temperatur ist bei Festkörpern und Pulvern, die Wasser enthalten, ebenfalls von Bedeutung.

Unsere Vorgabe lautet: Die sachgerecht gelagerte Probe ist zügig zu messen. Die meisten Proben haben also Raumtemperatur. Gekühlt zu lagernde Proben haben noch keine Raumtemperatur erreicht. Aufgrund der Nutzung der Typ C-Spektren kann nachgewiesen werden, dass die Spezifität nicht unter den (im Feld auftretenden) Temperaturschwankungen leidet.

Feuchtigkeit und Lösungsmittel-Rückstände: Feuchtigkeit und Lösungsmittel-Rückstände in den Proben ergeben deutlich messbare Absorptionsbanden im NIR-Bereich.

Da die Feuchte v.a. hygroskopischer Substanzen leicht durch die Luftfeuchte zu beeinflussen ist, besteht bei Apo-Ident die Möglichkeit, Wellenlängenbereiche auszublenden oder weniger stark zu gewichten. Das adäquate Vorgehen wird pro Modell durch unser geschultes Personal festgelegt. Spektrale Schwankungen durch Feuchtigkeit bei Festsubstanzen werden also durch die Datenvorbehandlung unterdrückt. Sind Feuchtigkeitsschwankungen einer Substanz immanent,

werden diese durch die repräsentative Auswahl und ausreichende Anzahl der Kalibrierproben abgedeckt.

Lösungsmittel besitzen sehr charakteristische NIR-Signaturen. Falls Lösungsmittel-Rückstände das Spektrum signifikant verändern, führt das bei Apo-Ident zu einer Ablehnung der Eingangsvermutung (Nicht-Identifikation). Dieses Vorgehen dient der Arzneimittelsicherheit. Bereits geringe Mengen an Lösungsmittel-Rückständen verhindern richtigerweise die Bestätigung einer Probe.

Da die Grenze zur Ablehnung nicht definiert ist, eignet sich Apo-Ident mit seiner Datenbank ausschließlich zur Durchführung von Identitätsprüfungen. Die Durchführung von Reinheitsprüfungen mit Apo-Ident, also Qualifizierung von Proben, ist demnach ausgeschlossen.

Schichtdicke der Probe: Die Schichtdicke der Probe ist als Ursache für spektrale Unterschiede bekannt. Sie muss bewertet und/oder kontrolliert werden, insbesondere bei der Analyse von Tabletten und Kapseln im Transmissionsmodus. Bei der Messung von komprimierten Pulvern wird eine unendliche Schichtdicke in der Regel nach 5 mm Eindringtiefe in die Probe erreicht (zum Beispiel in einem Probengefäß).

Grundsätzlich wird mit diffuser Reflexion gemessen, d.h. Feststoffe sind „unendlich dick“. Für Flüssigkeiten und Salben wird die Schichtdicke über den Aluminiumstempel definiert.

Wir sehen eine Schichtdicke/Füllhöhe von 2-4 mm für feste Stoffe vor. Weniger Substanz führt zu einer Veränderung des Spektrums und zu stärkerem Rauschen, was in einer Ablehnung des Spektrums resultiert. Zur Messung geringer Substanzmengen sehen wir die Verwendung des Probeneinsatzes vor.

Bei allen Messungen unter unserer Kontrolle (Typ A und Typ B) wurden diese Vorgaben eingehalten.

Zur Sicherstellung der Qualität der Typ C-Spektren stellen wir unseren Kunden ausführliche Nutzerdokumentationen zur Verfügung und bieten Kundens Schulungen an.

Optische Eigenschaften der Probe: Bei Festkörpern müssen sowohl die streuenden Eigenschaften der Oberfläche als auch die streuenden Eigenschaften eines Haufwerks beachtet werden. Spektren von physikalisch, chemisch oder optisch unterschiedlichen Proben können einen größeren Strahlungsquerschnitt, Messen von mehreren Proben oder Rotation der Probe erforderlich machen, um ein repräsentatives Probenspektrum zu erhalten. Bestimmte Parameter, wie ein unterschiedlicher Grad der Kompaktierung, die Partikelgröße in pulverisierten Materialien und die Endbehandlung der Oberfläche können Ursachen für deutlich messbare spektrale Unterschiede sein.

Die NIR-Spektroskopie hat geeignete Methoden entwickelt, um mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften der Probe umzugehen (Zusammenstellung der Kalibrier- und Validier-Proben, Datenvorbehandlung und v.a. das Erstellen von Klassifizierungs-Modellen).

Apo-Ident verwendet einen auf 23 mm geweiteten Messstrahl. Für die Datenbank werden von jeder Probe standardmäßig 40 Spektren aufgenommen. Dabei werden auf vier repräsentativen Apo-Ident-Geräten (Referenz-Geräten) jeweils 10 Spektren aufgenommen:

- Feststoff-Proben werden auf 2 Probengläser aufgeteilt. Von jeder der 2 Teilproben werden pro Gerät 5 Spektren aufgenommen.
- Halbfeste und flüssige Proben werden auf 4 Gläser aufgeteilt, von denen jeweils 10 Spektren auf jedem Gerät gemessen werden.

Zwischen den einzelnen Messungen wird jedes Probenglas gedreht, um Spektren von unterschiedlichen Lagen zu erhalten.

Der typische Einfluss von Verdichtungsgrad und Teilchengröße wird durch die Datenvorbehandlung (u.a. Korrektur der Basislinie) stark gedämpft, ohne dass dabei chemische Informationen verloren gehen.

Die Messstelle mit 23 mm Durchmesser ist mehr als ausreichend für die geringen Schwankungen pharmazeutischer Ausgangsstoffe.

Unterschiedliche Zustände von Festkörpern: Unterschiede zwischen den Zuständen eines Festkörpers (Polymorphie, Hydrate, Solvate und amorphe Zustände) beeinflussen Vibrationsspektren. Daher können unterschiedliche kristalline Zustände sowie auch der amorphe Zustand eines Festkörpers auf der Basis ihrer NIR-Spektren voneinander unterschieden werden. Falls mehrere kristalline Zustände vorliegen, muss sorgfältig darauf geachtet werden, dass die Kalibrierproben eine Verteilung der Zustände, die für die beabsichtigte Anwendung relevant sind, aufweisen.

Unterscheiden sich zwei oder mehr Modifikationen einer im Handel befindlichen Substanz in signifikanter Weise in ihren Spektren, wird die Substanz mehrmals (verschiedene Hersteller, Chargen) in die Datenbank aufgenommen. Sie werden intern getrennt behandelt, jedoch nach außen unter einheitlichem Substanznamen ausgewiesen.

Alter der Proben: Bestimmte Proben können Unterschiede in ihren chemischen, physikalischen und optischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Zeit aufweisen. In Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen können feste Proben Wasser absorbieren oder desorbieren, und Anteile eines amorphen

Materials können kristallisieren. Die Materialien, die für die NIR-Kalibrierung verwendet werden, sollten für die in Zukunft zu vermessenden Proben und deren Matrixunterschiede repräsentativ sein.

Apo-Ident ist auf die Identitätsprüfung an frisch angebrochenen Proben ausgelegt. Spektren gelagerter Proben werden nur gelegentlich und keinesfalls systematisch aufgenommen. Sie zeigen meist keine Veränderung.

Hat sich eine Probe durch Lagerung verändert, ist es Aufgabe des Pharmazeuten, mit anderen Methoden über die weitere Verwendbarkeit zu entscheiden.

Da es sich um definierte Ausgangsstoffe handelt, ist die Matrix konstant oder nicht vorhanden.

Datenvorbehandlung

Vorbehandlung der spektralen NIR-Daten

In vielen Fällen und insbesondere für Spektren, die im Reflexionsmodus aufgenommen wurden, kann eine mathematische Vorbehandlung eines Spektrums nützlich sein, bevor ein Klassifizierungs- oder Kalibriermodell entwickelt wird. Zielführend kann zum Beispiel eine Verringerung der Basislinienunterschiede, das Reduzieren von Auswirkungen bekannter Variationen, die mit den nachfolgenden mathematischen Datenmodellen interferieren, oder die Vereinfachung der Daten vor einem weitergehenden Einsatz sein.

In einigen Fällen können die Spektren normalisiert oder von Streueffekten korrigiert werden, zum Beispiel indem eine SNV (Standard Normal Variation) als Transformation der Spektrenschär angeordnet wird. Die Spektrenvorbehandlungstechniken können zum Beispiel die Auswahl eines Datenfensters, die Reduzierung des Rauschens und die numerische Berechnung der ersten oder zweiten Ableitung eines Spektrums beinhalten. Höhere Ordnungen der Ableitung sind nicht empfehlenswert, weil dadurch ein erhöhtes spektrales Rauschen auftritt.

Die Datenvorbehandlung bei Apo-Ident umfasst die folgenden Schritte:

1. Entfernen der Wasserbande bei festen Stoffen

Wasser absorbiert bestimmte Teile des nahinfraroten Lichts in starkem Maße (Wasserbanden). Das Spektrum einer Probe ändert sich an diesen Stellen deshalb in Abhängigkeit der ein- oder angelagerten Feuchte. Die Feuchte zum Zeitpunkt der Messung trägt aber nicht zur Identifikation bei.

Deshalb kann der Bereich der Wasserbande um 1.450 nm bei Apo-Ident unterdrückt oder vollständig ausgeblendet werden. Nur die unveränderlichen Teile des Spektrums werden dann für die Identifikation herangezogen.

2. Glättung der Spektren

Die FIR – Filterung wird genutzt, um Signalrauschen zu reduzieren und kleine Geräteunterschiede zu vereinheitlichen (z.B. leicht unterschiedliche spektrale Auflösungen). Die Filterung wird bei der Berechnung nur auf die Intensitätsspektren angewendet, die dann in Absorbanzspektren umgewandelt werden [Herter04].

3. Basislinienkorrektur

Optische Verluste (z.B. durch Streuung an Kratzern der Probengläser oder durch Reflexionen an der Glasoberfläche) äußern sich häufig durch eine Verschiebung und Verkipfung der Basislinie. Chemische Informationen gehen dabei nicht verloren. Bei Apo-Ident wird zur Basislinienkorrektur eine lineare Regression durchgeführt. Die ermittelte Ausgleichsgerade wird vom Absorbanzspektrum subtrahiert.

4. PEC (Probe Error Correction)

Die PEC ist eine Basislinienkorrektur höherer Ordnung und wurde von uns speziell für Flüssigkeitsmessungen in Transflexion entwickelt. Sie gleicht Unterschiede bei Flüssigkeitsmessungen in Transflexion aus. Diese Unterschiede resultieren aus abweichenden Polarisierungseffekten an Proben und Transflexionseinsatz.

5. SNV (Standard Normal Variate)-Normierung

Im Messmodus „diffuse Reflexion“ hängt der Lichtweg in der Probe auch von physikalischen Eigenschaften wie Körnigkeit, Verteilung der Streuzentren und der Oberflächenbeschaffenheit ab. Bei Apo-Ident wird die SNV-Normierung angewendet, weil diese physikalischen Probeneigenschaften damit von den chemischen Informationen im Spektrum sehr gut abgetrennt und entfernt werden können. Zudem werden Spektren unterschiedlicher Absorbanz (z.B. durch verschiedene Füllhöhen) auf ein einheitliches Maß skaliert.

Bei der SNV-Transformation wird der Mittelwert eines Absorptions-Spektrums berechnet, das Spektrum auf diesen Mittelwert verschoben und mittels seiner Standardabweichung normiert [Kessler07].

Überprüfung der Leistungsfähigkeit des Geräts

Prüfung der Leistungsfähigkeit des Geräts

Das Gerät wird entsprechend den Vorschriften des Herstellers angewendet und die vorgeschriebenen Überprüfungen werden in regelmäßigen Abständen, die von der Häufigkeit der Anwendung und dem Einsatz des Geräts abhängen, durchgeführt. Für In-line- und On-line-Anwendungen muss die Verwendung von alternativen Prüfmitteln der Leistungsfähigkeit wissenschaftlich begründet werden. Wenn

praktisch möglich, können beispielsweise die im Gerät integrierten Standards oder einzelne Kanäle/Sonden verwendet werden, um die Leistungsfähigkeit des Geräts zu zeigen.

Vor dem Scannen der Proben können Eignungsprüfungen erforderlich sein und Parameter, die möglicherweise einen Einfluss auf die Gültigkeit des Messresultats haben, müssen untersucht werden (typischerweise Spektrometerrauschen und Wellenlängengenauigkeit). Die Häufigkeit, mit der die verschiedenen Leistungsprüfungen durchgeführt werden, muss einem Risikobeurteilungsverfahren unterzogen werden und ist abhängig vom Gerätetyp und seiner Umgebung. Beispielsweise können Geräte bei sich ändernden Umweltbedingungen wie Temperatur und Feuchtigkeit häufigere Leistungsprüfungen erfordern. Ebenfalls müssen unbewegliche Systeme wie In-line-Sonden oder Durchflusszellen speziell berücksichtigt werden.

Einige Zubehörteile sind kundenspezifische Sonderanfertigungen und erfordern daher angepasste Leistungsprüfungen.

Die Herstellerempfehlung für das Intervall zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit beträgt 3 Jahre. Die Durchführung erfolgt als Serviceleistung durch uns, den Gerätehersteller HiperScan GmbH.

Die Überprüfung der Leistungsfähigkeit umfasst

- Überprüfung der Wellenlängenskala
- Überprüfung der Wiederholpräzision der Wellenlänge
- Überprüfung der Photometrischen Linearität und Systemstabilität
- Überprüfung des Spektrometerrauschens

Die jeweiligen Referenzen (siehe unten) werden im Messmodus „diffuse Reflexion“ vermessen.

Darüber hinaus wird die Funktion des Apo-Ident in regelmäßigen Abständen an internen Referenzstandards überprüft. Dabei wird die Wellenlängenskala anhand eines Gemisches von Seltenerdmetall-Oxiden und die Lichtquelle anhand von Reflexionsstandards aus PTFE überprüft.

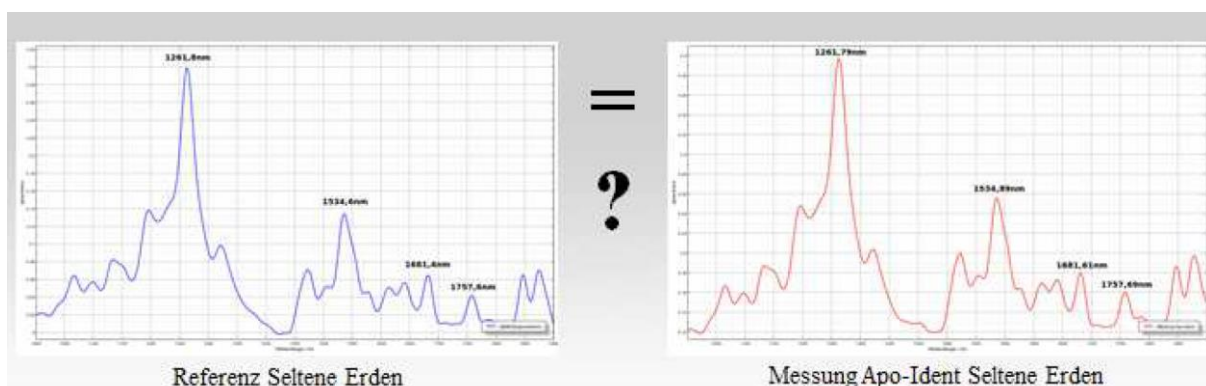
Überprüfung und Kalibrierung von Wellenlängenskala oder Wellenzahlenskala (ausgenommen für Geräte mit Filtern): Die verwendete Wellenlängenskala wird im Allgemeinen im Bereich zwischen 780 und 2500 nm (12800 bis 4000 cm^{-1}) oder im vorgesehenen Spektralbereich mit Hilfe einer oder mehrerer geeigneter Wellenlängen-Referenzsubstanzen, die charakteristische Maxima oder Minima innerhalb des gewählten Wellenlängenbereichs aufweisen, überprüft. Beispiele geeigneter Referenzmaterialien sind Dichlormethan R, Talkum R, Wellenlängen-Referenzlampen oder eine Mischung von Oxiden von Seltenerdmetallen. Weitere geeignete Standards können ebenfalls verwendet werden. Ein Spektrum wird aufgenommen und die Lage von mindestens 3 über den Messbereich verteilten Peaks gemessen.

Für die Oxide von Seltenerdmetallen stellt das National Institute of Standards and Technology (NIST) geeignetes Referenzmaterial zur Verfügung. Fourier-Transform-Geräte haben einen linearen Frequenzbereich, daher reicht eine Wellenlängenüberprüfung bei einer einzelnen Frequenz aus.

Die Überprüfung der Wellenlängenskala erfolgt an einem Gemisch der Seltenerdmetalle Dysprosium(III)-oxid, Erbium(III)-oxid und Holmium(III)-oxid im Verhältnis 1:1:1 (Massenanteile).

Es wird die Lage von vier Absorptionsmaxima, verteilt über den gesamten Messbereich, untersucht.

Die Lage der Absorptionsmaxima ist gemäß National Institute of Standards and Technology (NIST 1920(a)) festgelegt und langzeitstabil bei 1.261,8 nm, 1.534,6 nm, 1.681,4 nm und 1.757,6 nm. Die zulässige Toleranz beträgt 1 nm.



Überprüfung der Wellenlängenskala:

Lage Extrema gemäß NIST 1920(a) / nm	1261,8	1534,6	1681,4	1757,6
Messung Apo-Ident / nm	1261,79	1534,89	1681,61	1757,69
Abweichung / nm	-0,01	0,29	0,21	0,09
Zulässige Toleranz / nm	± 1	± 1	± 1	± 1
Bewertung	✓	✓	✓	✓

Überprüfung und Kalibrierung der photometrischen Linearität: Die photometrische Linearität wird mit einem Satz Substanzen zur Kalibrierung von Transmission oder Reflexion, deren prozentuale Werte der Transmission oder Reflexion bekannt sind, nachgewiesen. Für Reflexionsmessungen sind mit Kohlenstoff dotierte Polymer-Kalibriersubstanzen erhältlich. Die Absorption der verwendeten Standards muss mit dem in der Methode vorgesehenen Linearitätsbereich kompatibel sein. Zur anschließenden Bestätigung der photometrischen Linearität können die anfänglich erhaltenen Absorptionswerte als Referenzwerte verwendet werden. Nicht lineare Modelle, die deshalb auch keine linearen Messantworten ergeben, können verwendet werden, wenn der Anwender beweisen kann, dass er sie beherrscht.

Spektren von Standards zur Kalibrierung durch Reflexion und Transmission können variieren. Dies beruht auf unterschiedlichen experimentellen Bedingungen bei der Kalibrierung beim Hersteller und der Anwendung in der Praxis. Daher können die in Prozent angegebenen Reflexionswerte, die für einen Satz von Kalibrierstandards mitgeliefert werden, nicht verwendet werden, um eine „absolute“ Kalibrierung für ein gegebenes Gerät zu erstellen.

Solange sich die Kalibrierstandards nicht chemisch oder physikalisch verändern und dieselbe Untergrundreferenz wie zum Erhalt der zertifizierten Werte verwendet wird, liefern Folgemessungen derselben Standards unter identischen Bedingungen, einschließlich einer präzisen Probenpositionierung, Informationen zur Langzeitstabilität der photometrischen Antwort.

Für die Langzeitstabilität ist eine Toleranz von ± 2 Prozent des Absorptionswerts akzeptabel; diese Überprüfung ist nur erforderlich, wenn die Spektren ohne Vorbehandlung verwendet werden.

Empfehlungen zu den Bedingungen für die Prüfung der Leistungsfähigkeit des Geräts unter verschiedenen Messverfahren sind in Tab. 2.2.40-1 summarisch zusammengestellt.

Tab. 2.2.40-1: Prüfung der Leistungsfähigkeit des Geräts

Messverfahren	Reflexion	Transflexion	Transmission
Überprüfung der Wellenlängenskala (ausgenommen für Geräte mit Filtern)	<p>Typische Toleranzen zur Übereinstimmung mit den Standardwerten sind:</p> <p>$\pm 1,0$ nm bei 780 nm (± 16 cm⁻¹ bei 12 800 cm⁻¹)</p> <p>$\pm 1,0$ nm bei 1200 nm (± 8 cm⁻¹ bei 8300 cm⁻¹)</p> <p>$\pm 1,0$ nm bei 1600 nm (± 6 cm⁻¹ bei 6250 cm⁻¹)</p> <p>$\pm 1,5$ nm bei 2000 nm (± 4 cm⁻¹ bei 5000 cm⁻¹)</p> <p>$\pm 1,5$ nm bei 2500 nm (± 2 cm⁻¹ bei 4000 cm⁻¹)</p> <p>Für das eingesetzte Referenzmaterial wird für jeden verwendeten Peak die Toleranz der am nächsten liegenden Wellenlänge oder Wellenzahl angewendet. Für Dioden-Array-Geräte beträgt die Pixel-Auflösung (Wellenlänge zwischen den Pixeln) meistens bis zu 10 nm. Diese Auflösung muss angepasst werden, um der Spektralauflösung zu entsprechen. Die Algorithmen zur Peakermittlung sind entscheidend in Bezug auf die Richtigkeit der Wellenlänge. In der Praxis sind bei Verwendung solcher Geräte ± 2 nm für die Richtigkeit der Wellenlänge eines Peaks ausreichend. Alternativ werden die Akzeptanzspezifikationen des Herstellers angewendet.</p>		

Messverfahren	Reflexion	Transflexion	Transmission
Laborgeräte/mobile Geräte	<p>Talkum <i>R</i> wird mit einem geeigneten Medium oder mit der Glasfibersonde gemessen. Talkum <i>R</i> zeigt für eine Kalibrierung geeignete, charakteristische Peaks bei 948, 1391 und 2312 nm. Alternativ können andere geeignete Standards, die die Richtigkeit der Wellenlänge über den Arbeitsbereich der Methode sicherstellen, verwendet werden. Zum Beispiel wird ein interner Polystyrol-Standard, falls eingebaut, ein NIST-Standard oder ein anderes Tracer-Material gemessen. Drei über den Wellenlängenbereich verteilte Peaks werden zur Kalibrierung ausgewertet.</p>	<p>Eine Suspension von 1,2 g trockenem Titan(IV)-Oxid <i>R</i> in etwa 4 ml Dichlormethan <i>R</i> wird direkt mit einer Zelle oder Sonde verwendet. Titan(IV)-Oxid <i>R</i> absorbiert nicht im NIR-Bereich. Die Spektren werden mit einer maximalen nominalen spektralen Auflösung von 10 nm bei 2500 nm (16 cm^{-1} bei 4000 cm^{-1}) aufgezeichnet. Dichlormethan zeigt charakteristische, scharfe Banden bei 1155, 1366, 1417, 1690, 1838, 1894, 2068 und 2245 nm. Drei über den Wellenlängenbereich verteilte Peaks werden zur Kalibrierung ausgewählt. Außerdem können weitere Standards wie ein mit Titan(IV)-Oxid <i>R</i> gemischter flüssiger Transflexionsstandard oder andere reflektive Medien verwendet werden.</p>	<p>Dichlormethan <i>R</i> kann verwendet werden und zeigt charakteristische, scharfe Banden bei 1155, 1366, 1417, 1690, 1838, 1894, 2068 und 2245 nm. Drei über den Wellenlängenbereich verteilte Peaks werden zur Kalibrierung ausgewählt. Andere geeignete Standards können ebenfalls angewendet werden.</p>

Messverfahren	Reflexion	Transflexion	Transmission
Geräte zur In-line-Messung	Wenn zum Zeitpunkt der Probenmessung aus praktischen Gründen kein Tracer-Referenzmaterial gemessen werden kann, werden interne Materialien wie Polystyrol, Fiberglas oder Lösungsmittel und/oder Wasserdampf gemessen. Alternativ wird ein(e) zweite(r) externe(r) Kanal/Sonde verwendet. Für FT-Instrumente kann die Kalibrierung der Wellenzahlenskala mit einer scharfen, isolierten Wasserdampflinie, zum Beispiel der Linie bei $7306,74\text{ cm}^{-1}$, bei $7299,45\text{ cm}^{-1}$ oder bei $7299,81\text{ cm}^{-1}$, oder mit einer scharfen Linie eines zertifizierten Referenzmaterials durchgeführt werden.		

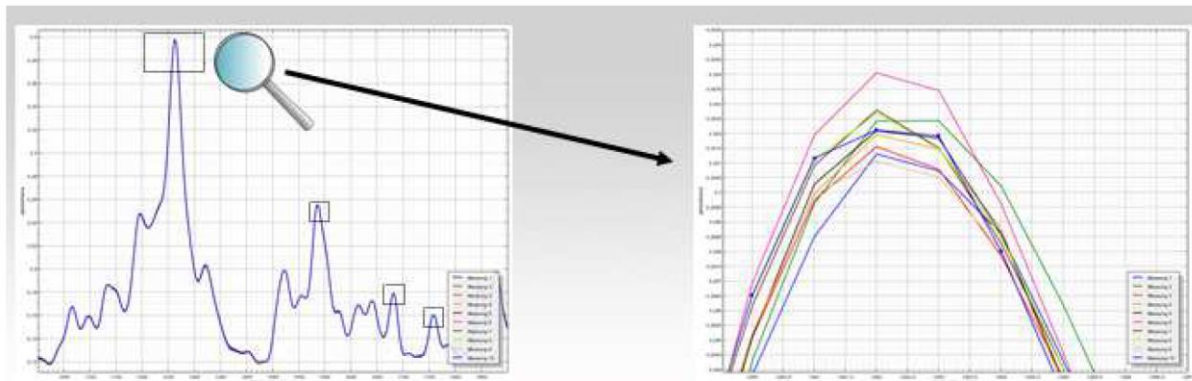
Überprüfung der Wiederholpräzision der Wellenlänge (ausgenommen für Geräte mit Filtern)	Die Standardabweichung der Wellenlänge muss mit den Spezifikationen des Geräteherstellers übereinstimmen; andernfalls muss sie wissenschaftlich begründet sein.
Laborgeräte/mobile Geräte	Die Wiederholpräzision der Wellenlänge wird mit einem geeigneten internen oder externen Standard überprüft.
Geräte zur In-line-Messung	Die Wiederholpräzision der Wellenlänge wird mit einem geeigneten internen oder externen Standard überprüft.

Die Wiederholpräzision der Wellenlänge wird anhand von 20 Messungen des Gemisches der Seltenerdoxide bestimmt, wobei die gleichen Absorptionsmaxima (1261,8 nm, 1534,6 nm, 1681,4 nm und 1757,6 nm) untersucht werden.

Die Streuung der Absorptionsmaxima muss kleiner sein als die Herstellervorgabe des NIST ($\pm 1\text{ nm}$).

Die Wiederholpräzision wird statistisch über die Standardabweichung der Änderung der Absorptionsmaxima ermittelt.

Die Standardabweichung ist ein Maß für die Streuung der Messwerte. Die zulässige Toleranz der Standardabweichung beträgt für Apo-Ident $\leq 0,30\text{ nm}$.



Wiederholpräzision der Wellenlänge:

Lage Extrema gemäß NIST / nm	1261,8	1534,6	1681,4	1757,6
Messung Apo-Ident				
Mittelwert 20 Messungen / nm	1261,63	1534,93	1681,53	1757,70
Standardabweichung / nm	0,12	0,06	0,08	0,07
Sollwert Standardabweichung / nm *	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,30
Bewertung	✓	✓	✓	✓

Messverfahren	Reflexion	Transflexion	Transmission
Überprüfung der photometrischen Linearität und der Systemstabilität ¹⁾	4 Photometerstandards werden über den Absorptionsbereich der Messmethode verteilt gemessen.		

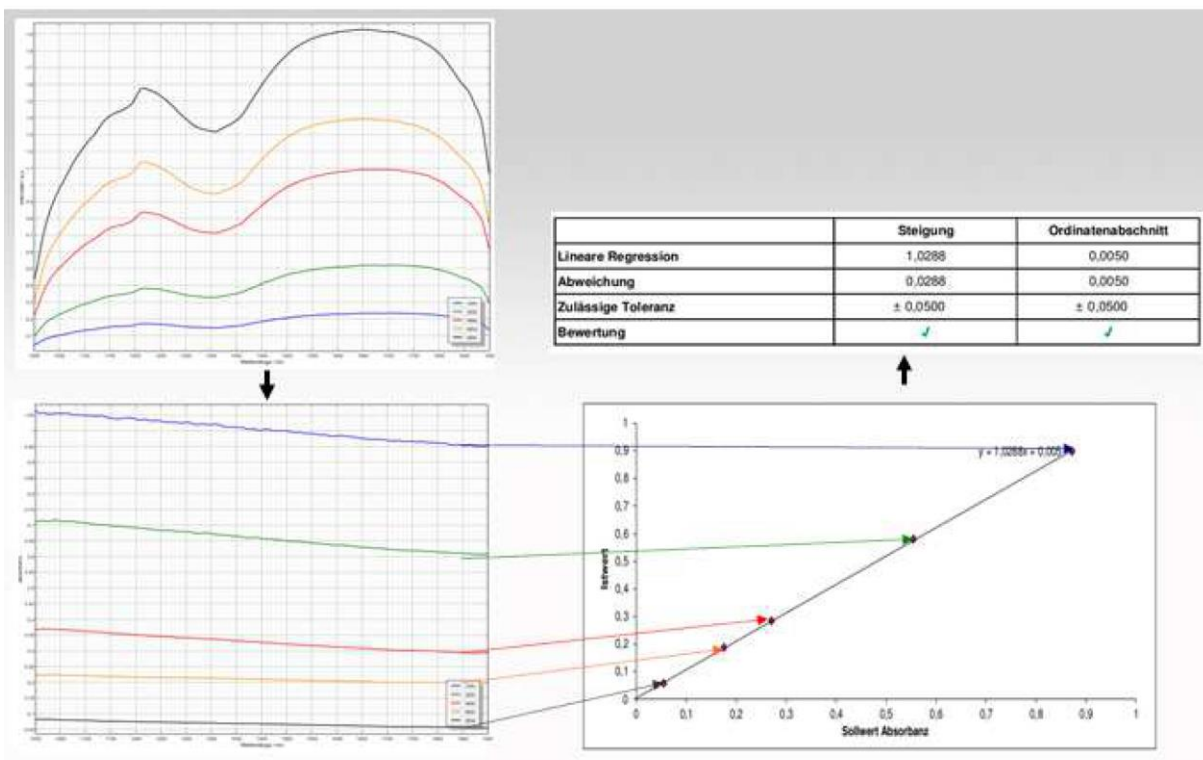
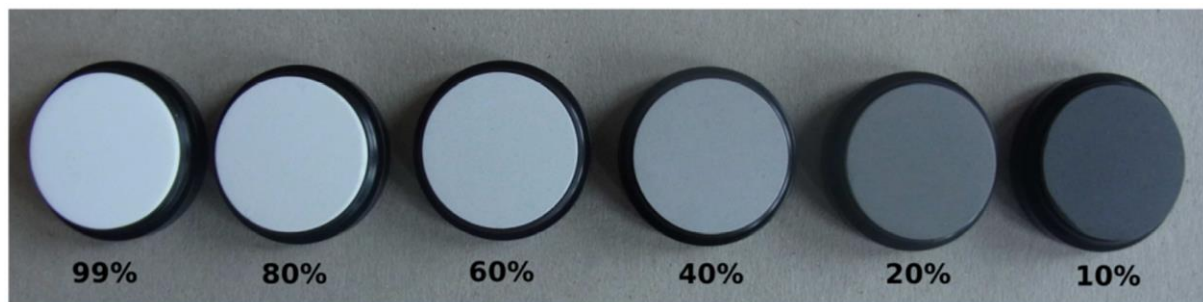
Messverfahren	Reflexion	Transflexion	Transmission
Laborgeräte/mobile Geräte	<p>4 Reflexionsstandards, beispielsweise im Bereich von 10 bis 99 Prozent, einschließlich 10, 20, 40 und 80 Prozent, werden gemessen. Unter Umständen können 2 Prozent ausreichend sein. Die abgelesenen Absorptionswerte werden in Bezug zu denjenigen der Standards gesetzt, beispielsweise durch lineare Regression. Akzeptierbare Toleranzen für die erste Überprüfung der photometrischen Linearität eines Geräts sind $1,00 \pm 0,05$ für die Steigung und $0,00 \pm 0,05$ für den Ordinatenabschnitt. Zur anschließenden Bestätigung der photometrischen Linearität können die anfänglich erhaltenen Absorptionswerte als Referenzwerte verwendet werden.</p>	<p>Für Messungen der Transflexion können geeignete Reflexions- oder Transmissionsstandards und geeignete Kriterien angewendet werden.</p>	<p>4 Transmissionsstandards werden über den gesamten bearbeiteten Absorptionsbereich der Datenmodellierung gemessen. Die abgelesenen Absorptionswerte werden in Bezug zu denjenigen der Standards gesetzt, beispielsweise durch lineare Regression. Akzeptierbare Toleranzen für die erste Überprüfung der photometrischen Linearität eines Geräts sind $1,00 \pm 0,05$ für die Steigung und $0,00 \pm 0,05$ für den Ordinatenabschnitt. Zur anschließenden Bestätigung der photometrischen Linearität können die anfänglich erhaltenen Absorptionswerte als Referenzwerte verwendet werden.</p>
Geräte zur In-line-Messung	<p>Wenn zum Zeitpunkt der Probenmessung weder photometrische Transmissions- noch Reflexionsstandards gemessen werden können, wird der im Gerät eingebaute photometrische Standard verwendet. Geräte zur In-line-Messung können zur Kontrolle der photometrischen Linearität interne photometrische Standards vorsehen. In diesem Fall werden die vom Hersteller etablierten Toleranzen angewendet.</p>		

Die photometrische Linearität und Systemstabilität werden mit einem Satz Grau-Referenzen bestimmt.

Die Referenzen aus PTFE in optischer Qualität sind einzeln vermessen, kalibriert und zertifiziert.

Die gemessenen Absorbanzen werden in einem XY-Diagramm den Sollwerten grafisch gegenübergestellt und eine Regressionsgerade dieser Darstellung berechnet.

Die Regressionsgerade muss eine Steigung von $1,00 \pm 0,05$ und einen Wert von $0,00 \pm 0,05$ für den Ordinatenabschnitt am Schnittpunkt aufweisen.

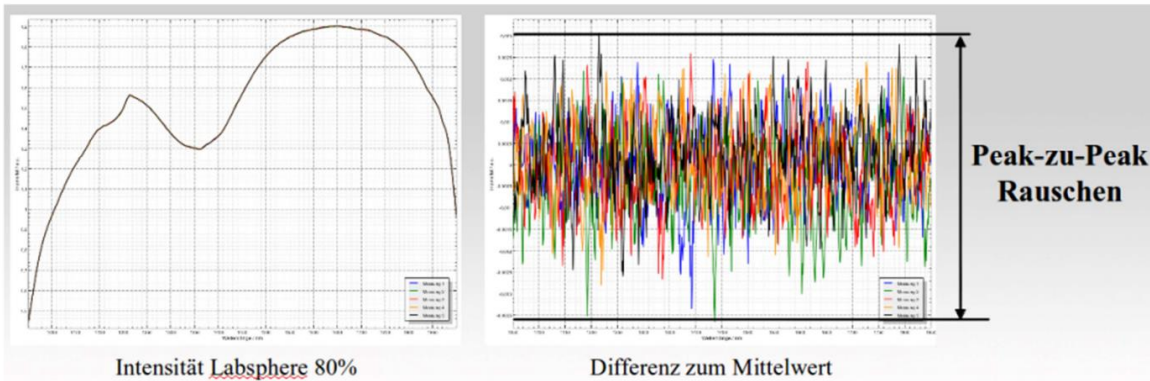


Messverfahren	Reflexion	Transflexion	Transmission
Überprüfung des Spektrometerrauschens ¹⁾	Das Spektrometerrauschen in einem relevanten Bereich des Spektrums wird mit einem geeigneten Material zur Kalibrierung von Reflexion, zum Beispiel mit weißen, reflektierenden Keramikplättchen oder mit Kohlenstoff dotierten Polymer-Kalibriersubstanzen bestimmt. Vorgehen und Spezifikationen des Herstellers werden befolgt.		
Laborgeräte/mobile Geräte	Ein schwach reflektierender Standard (zum Beispiel 5 oder 10 Prozent, Kohlenstoff dotiertes Polymer) wird über einen geeigneten Wellenlängenbereich gemäß den Angaben des Herstellers gescannt. Anschließend wird das photometrische Rauschen als Peak-zu-Peak-Rauschen berechnet.	Ein stark transmittierender Standard (zum Beispiel 90 oder 99 Prozent, Kohlenstoff dotiertes Polymer) wird über einen geeigneten Wellenlängen-/Wellenzahlenbereich gemäß den Angaben des Herstellers gescannt. Anschließend wird das photometrische Rauschen als Peak-zu-Peak-Rauschen berechnet.	
Geräte zur In-line-Messung	Wie vorstehend angegeben; falls dies aus praktischen Gründen nicht möglich ist, werden zur Kontrolle des Rauschens der im Gerät eingebaute Standard und die Herstellerspezifikationen verwendet.	Wie vorstehend angegeben; falls dies aus praktischen Gründen nicht möglich ist, werden zur Kontrolle des Rauschens der im Gerät eingebaute Standard und die Herstellerspezifikationen verwendet.	

¹⁾ Die Überprüfung von photometrischer Linearität und Spektrometerrauschen ist für Geräte zur einfachen Identitätsbestimmung, bei denen die photometrischen Absorptionen nicht Teil der Messstrategie sind (wie einfacher Wellenlängenvergleich der Absorptionen), nicht erforderlich.

Zur Bestimmung des Spektrometerrauschens werden 10 Messungen an einer Grau-Referenz mit 80 % Reflektivität vorgenommen. Zur Berechnung des Rauschens wird die Differenz der einzelnen Messungen zum Mittelwert aller Messungen ermittelt. Die maximale Differenz ist das Peak-zu-Peak-Rauschen.


Das Peak-zu-Peak-Rauschen muss kleiner sein als unsere Vorgabe (0,016 Anzeige-Einheiten im Messbereich 4,096).



Spektrometerrauschen:

Peak-zu-Peak-Rauschen	0,005
Sollwert Peak-zu-Peak-Rauschen*	≤ 0,016
Bewertung	✓

Alle für das jeweilige Gerät spezifischen Angaben werden in einem Protokoll zusammengefasst und bei der Auslieferung an den Kunden übergeben.



Kalibrierungsprotokoll/ Gerätequalifizierung/ Überprüfung der Funktionsfähigkeit Apo-Ident

gemäß Ph.-Eur. 7.0/2.2.40

Daten Apo-Ident:

Seriennummer:	H1302 406
Typ:	Apo-Ident V01
Spektrometer:	SGS1900 V 5.5 W1239408
Datum der Kalibrierung:	21.06.2013
Empfohlene nächste Kalibrierungsprüfung:	06/2015 - 06/2016


Überprüfung der Wellenlängenskala:

Lage Extrema gemäß NIST 1920(a) / nm	1261,8	1534,6	1681,4	1757,6
Messung Apo-Ident / nm	1261,73	1534,79	1681,13	1757,63
Abweichung / nm	-0,07	0,19	-0,27	0,03
Zulässige Toleranz / nm	± 1	± 1	± 1	± 1
Bewertung	✓	✓	✓	✓

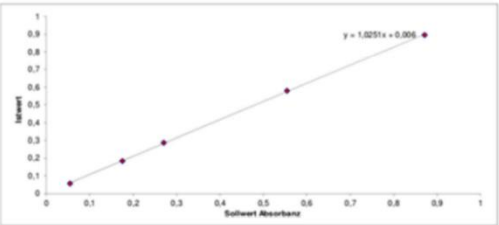
Wiederholpräzision der Wellenlänge:

Lage Extrema gemäß NIST / nm	1261,8	1534,6	1681,4	1757,6
Messung Apo-Ident Mittelwert 20 Messungen / nm	1261,77	1534,83	1681,13	1757,50
Standardabweichung / nm	0,14	0,10	0,10	0,11
Sollwert Standardabweichung / nm *	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,30	≤ 0,30
Bewertung	✓	✓	✓	✓

HiperScan GmbH
Wolfschloßstraße 5
40607 Düsseldorf
Germany



Photometrische Linearität und Systemstabilität:



	Steigung	Ordinatenabschnitt
Lineare Regression	1,0251	0,0060
Abweichung	0,0251	0,0060
Zulässige Toleranz	± 0,0500	± 0,0500
Bewertung	✓	✓

Spektrometerrauschen:

Peak-zu-Peak-Rauschen	0,005
Sollwert Peak-zu-Peak-Rauschen*	≤ 0,016
Bewertung	✓

Gesamtbewertung:	Gerät entspricht den Anforderungen Ph.-Eur. 7.0/2.2.40
Prüfer:	Max Mustermann
Datum:	21.06.2013
Unterschrift:	

*gemäß Herstellervorgabe HiperScan GmbH

HiperScan GmbH
Wolfschloßstraße 5
40607 Düsseldorf
Germany

Anforderungen an die Referenzbibliothek

Auf Grundlage der EMA-Guideline 17760 sowie der Anforderungen der Landesdirektionen der Bundesländer und des Europäischen Arzneibuchs wird aus einer ausreichend großen Zahl an Typ A-Spektren (Kalibrierprobe) ein Klassifizierungsmodell berechnet. Anschließend wird im Validierschritt anhand der Typ B-Spektren (Validierprobe) die Qualität abgeschätzt (hier: Spezifität und Robustheit, siehe weiter unten). In der Pharmazeutik soll der Validierschritt Beweiskraft erhalten (im Rahmen der Validierung im regulatorischen Sinne). Dafür muss vor allem die Validierprobe repräsentativ und vollständig sein, damit sie belegen kann, dass die Zahl an Chargen in der Kalibrierung ausreichend groß war.

Qualitative Analyse

(Identifizierung und Charakterisierung der Proben)

Erstellung einer spektralen Referenzbibliothek: Die Spektren einer geeigneten Anzahl repräsentativer Proben der Substanz mit bekannten rückverfolgbaren Identitäten, bei denen die typische Variation der Probe (unter anderem die Festkörperzustände und die Partikelgröße) ausgeprägt sind, werden aufgenommen.

Die Bibliotheken werden erstellt, indem repräsentative Proben unter geeigneten Umgebungsbedingungen eingesetzt werden. Der erhaltene Spektrensatz repräsentiert die Information, die zur Identifizierung der zu analysierenden Probe angewendet werden kann.

Um einen validen Datenbankeintrag zu erstellen, mit dem eine Substanz auf Identität geprüft werden kann, müssen Spektren von wenigstens drei unabhängigen Proben in der Referenzbibliothek vorliegen. Proben gelten als unabhängig, wenn sie aus unterschiedlichen Chargen stammen. Bei Substanzen mit definierter chemischer Zusammensetzung, einheitlicher physikalischer Form und geringem Veränderungspotenzial gegenüber Umwelteinflüssen ist oft die Verwendung weniger Referenzchargen ausreichend. Bei Substanzen, deren Herstellung größere Variationen erwarten lässt, können auch mehr Proben erforderlich sein. Dies ist insbesondere bei mikrobiologischer Herstellung, polymorphen Substanzen oder pflanzlicher Herkunft zu erwarten. Welche Anzahl an Chargen in der Kalibrierprobe ausreichend groß ist, kann daher abhängig von der Substanz sehr unterschiedlich sein.

Aus der Referenzbibliothek werden die Kalibrierproben (Typ A) ausgewählt, aus deren Spektren das Klassifizierungsmodell berechnet wird. Die restlichen Spektren werden zu Validierspektren (Typ B), mit denen das Modell überprüft wird und seine Eignung für die sichere Identitätsprüfung nachgewiesen wird. Dabei müssen für jeden Datenbankeintrag Kalibrier- (Typ A) und Validier-Spektren (Typ B) von unabhängigen Proben Anwendung finden.

Zusätzlich setzen wir Spektren aus dem Feld ein (Typ C), welche die tatsächlichen Variationen abbilden (viele Chargen, Einzelproben, Analysegeräte, Anwender, Wetterlagen, Umgebungsbedingungen). Sie dienen als Optimierspektren und weisen die Robustheit nach.

Die Zusammenstellung der Spektren in der Bibliothek kann in unterschiedlicher Weise repräsentiert werden, wobei das mathematische Verfahren, das für die Identifizierung benutzt wird, dies bestimmt.

Folgende Möglichkeiten bestehen:

- Sämtliche individuellen Spektren repräsentieren die Substanz.
- Ein Mittelwertspektrum der gemessenen Chargen von jeder chemischen Substanz ist vorhanden.
- Falls erforderlich erfolgt eine Beschreibung des Umfangs der Variabilität innerhalb der Substanzspektren.

Bei Apo-Ident werden die Mittelwertspektren jeder Probe für die Hauptkomponentenanalyse verwendet. Die Mittelwertspektren werden hinterlegt, um die Korrelation als zusätzliches Kriterium anzuwenden.

Die Anzahl der Substanzen in der Bibliothek hängt von der spezifischen Anwendung ab. Alle Spektren in der eingesetzten Bibliothek zeigen folgende Übereinstimmungen:

- Spektralbereich und Anzahl der Datenpunkte

Spektralbereich 1.000-1.900 nm, Anzahl der Datenpunkte = 901

- Messtechnik

Diffuse Reflektion von unten im Probenglas. Bei flüssigen und halbfesten Proben wird zusätzlich ein streuender Reflektor in die Probe eingebracht (Transflexion)

- Datenvorbehandlung.

siehe Abschnitt „Vorbehandlung der spektralen NIR-Daten“

Falls Untergruppen (Subbibliotheken) erstellt werden, werden die vorstehend genannten Kriterien unabhängig für jede Gruppe angewendet. Subbibliotheken werden unabhängig voneinander validiert.

Wegen der unterschiedlichen Messtechnik müssen für Feststoffe und für flüssige bzw. halbfeste Substanzen separate Subbibliotheken angelegt werden. Zusätzlich

bieten wir herstellerspezifische Substanzklassen an (z.B. granuliert Mikronährstoffe). Wo es sinnvoll ist, werden die Substanzklassen auch gegeneinander validiert.

Die ursprünglichen spektralen Daten zur Erstellung der Spektrenbibliothek müssen archiviert werden.

Bei Apo-Ident werden alle Einzelspektren (Typ A, B und C) revisionssicher archiviert. Veränderungen an der Spektrenbibliothek durch den Apotheker sind ausgeschlossen.

Folgende Punkte werden dabei von uns sichergestellt:

1. Datenverarbeitungsschritte werden immer nur an der Gesamtheit aller Spektren vorgenommen (keine manuellen Änderungen an Einzelspektren) und sind grundsätzlich nachvollziehbar. Sie lassen sich ohne zeitliche Beschränkung (ausschließlich durch uns) rückgängig machen. Alle Verarbeitungsschritte am Spektrum werden nachvollziehbar abgespeichert.
2. Die Erstellung der Klassifizierungsmodelle aus den Rohdaten ist nur durch unsere qualifizierten Mitarbeiter möglich. Dies betrifft genauso Änderungen an Modellparametern bzw. Modellerweiterungen.
3. Die Modelldaten werden verschlüsselt und mittels Prüfsummen gesichert an die Kunden übertragen. Eine nachträgliche Manipulation der Klassifizierungsmodelle durch die Übertragung oder durch Dritte wird so unmöglich.
4. Alle ausgelieferten Modelle werden unverschlüsselt im firmeninternen Archiv gespeichert. Die Sicherung dieses Archivs erfolgt in regelmäßigen Abständen durch uns.

Bei der Identitätsprüfung mit Apo-Ident in der Apotheke erfolgt die Archivierung des Prüfergebnisses zum einen elektronisch als PDF-Datei (durch die Software), zum anderen in Form eines ausgedruckten Prüfprotokolls, welches der Apotheker unterschreibt. Zusätzlich werden die Messdaten beim Apotheker elektronisch (durch die Software) abgelegt. Nachfolgend ist ein Beispiel für ein solches Prüfprotokoll abgebildet.

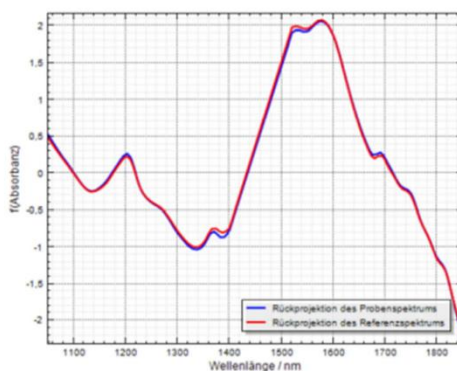
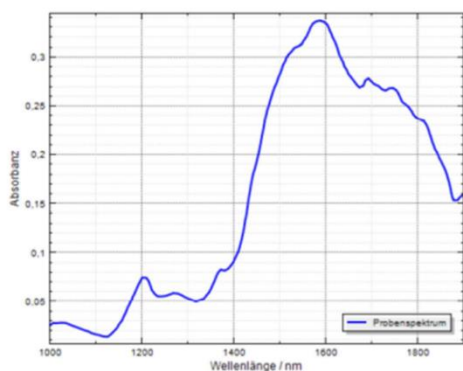
Prüfprotokoll
für Ausgangsstoffe und Drogen (§§6,11 ApBetrO)

Muster-Apotheke

Datum: 11.09.2013

Musterstr. 3, 12345 Musterstadt

Untersucht wurde: Sorbitol
Sorbitolum
Prüfergebnis: Entspricht
Prüfnummer: 149
Charge: 1234567
Hersteller/Lieferant: Musterlieferant
Verfallsdatum: September 2014
Name des Benutzers: Muster
Bemerkung:
Dateiname der Messung: sorbitol__1234567__2013-09-11_15-21-37.pdf
Seriennummer Spektrometer: W1227284
Version der Referenzdatei: Klassisch Pulver::20075 (09.08.2013 08:55:54)



Identifiziert wurde: **Sorbitol**
Sorbitolum
Bewertung: 99,3% (Sollwert 98% bis 100%)

Für den Freigabe-Entscheid verantwortliche(r) Apotheker(in):

Unterschrift

Erstellt mit QuickStep Apo-Ident 0.94.5, Ident Modul 0.94-2013-08-09, 2010-2013, HiperScan GmbH, <http://www.hiperscan.com>

Den Umgang und die Archivierung der unterschriebenen Prüfprotokolle innerhalb der Apotheke legt der Apotheker selbst fest.

Die Ausführung jeglicher mathematischen Transformation muss mit Vorsicht erfolgen, da Artefakte entstehen oder wesentliche Informationen (von Bedeutung bei Verfahren der Qualifikation) verloren gehen können. Die Eignung des eingesetzten Algorithmus sollte mit einer erfolgreichen Validierung des Verfahrens gezeigt werden. In allen Fällen muss die Begründung für den Einsatz einer Transformation dokumentiert werden.

siehe Abschnitt „Validierung des Modells“

Direkter Vergleich eines Substanz- und eines Referenzspektrums: Der direkte Vergleich eines repräsentativen Spektrums der zu untersuchenden Substanz mit dem einer Referenzsubstanz zur qualitativen chemischen oder physikalischen Identifizierung muss nicht notwendigerweise den Einsatz einer Referenzspektrenbibliothek erfordern, falls die Kriterien der Spezifität dies erlauben.

Datenauswertung: Der direkte Vergleich eines repräsentativen Spektrums der zu untersuchenden Substanz wird mit dem individuellen oder dem Mittelwertreferenzspektrum aller Substanzen in der Bibliothek auf der Basis der betreffenden mathematischen Korrelation oder eines anderen geeigneten Algorithmus durchgeführt. Ein Satz aus bekannten Referenzmittelwertspektren und die Variabilität um diesen Mittelwert können zusammen mit einem Algorithmus für die Klassifikation eingesetzt werden; alternativ kann dies durch visuelles Begutachten einer Überlagerung der spektralen Daten erfolgen, falls die Spezifität in dieser Prüfung gegeben ist.

Darüber hinaus gibt es verschiedene Techniken, wie zum Beispiel die Hauptkomponentenanalyse (PCA, Principle Component Analysis), die Clusteranalyse und die SIMCA (Soft Independent Modelling by Class Analogy). Die Verlässlichkeit des gewählten Verfahrens für die betreffende Anwendung muss, wie im folgenden Abschnitt beschrieben, gezeigt werden.

Die Datenauswertung erfolgt bei Apo-Ident in den folgenden Schritten:

1. Hauptkomponentenanalyse (PCA = principal component analysis)

Die PCA ist ein Verfahren der multivariaten Statistik. Sie dient dazu, umfangreiche Datensätze zu strukturieren, zu vereinfachen und zu veranschaulichen. Irrelevante Merkmale, beispielsweise verursacht durch Rauschen oder Umwelteinflüsse, sind in diesem Datensatz nicht mehr enthalten.

Die Idee hinter der PCA ist, jedes Spektrum durch die Linearkombination (Summe) von Hauptkomponenten zu rekonstruieren. Dabei haben die Hauptkomponenten die Form von Spektren, die durch sogenannte Loadings beschrieben werden. Die Scores, die durch die PCA berechnet werden, sind für jedes Spektrum individuell. Sie stellen die Gewichtung (den Vorfaktor) jeder Hauptkomponente zur Rekonstruktion des jeweiligen Spektrums dar.

Im Resultat ist also ein Spektrum, das zunächst durch 901 Datenpunkte definiert war, durch eine deutlich geringere Anzahl (i.d.R. 4-7) an Vorfaktoren der Hauptkomponenten (Scores) darstellbar.

Ein Score lässt sich also auch als Punkt (im 4-7-dimensionalen Raum) beschreiben. Die Vielzahl der Spektren pro Probe bildet demnach eine Punktwolke.

Zur Beschreibung der Punktwolke werden der Erwartungswert (Punkt im Raum, Mittelwert der Scores) und die Varianzmatrix (richtungsabhängige Streuung der Wolke) berechnet.

Es werden nur Substanzen als eindeutig identifizierbar deklariert, deren Punktwolke beim Mitte-zu-Mitte-Abstand zu den Wolken aller anderen Substanzen einen Mindestabstand (gemessen in Mahalanobis-Distanz) einhält. Dieser ist in der Validierungsdokumentation hinterlegt.

2. Die Bewertung einer Probe erfolgt, indem aus dem Spektrum der Probe die relevanten Scores bestimmt werden. Die Scores der Probe werden nach 3 Kriterien beurteilt, die alle erfüllt sein müssen:
 - a. Die **Mahalanobis-Distanz** ist ein Distanzmaß zwischen zwei Punkten in einem mehrdimensionalen Vektorraum, der auf die Varianzmatrix einer Punktwolke normiert ist [Maha36].

Bei Apo-Ident werden die Mahalanobis-Distanzen der Probe zu den Erwartungswerten aller Substanzen der Substanzgruppe berechnet. Das Bewertungskriterium ist erfüllt, wenn die Probe näher an der richtigen Referenzsubstanz liegt als an allen anderen Substanzen (= Fremdsubstanzen) und wenn die Mahalanobis-Distanz einen festgelegten Schwellwert nicht überschreitet.

→ Es wird die Frage beantwortet: Liegt das Ergebnis am nächsten an der Punktwolke der erwarteten Substanz und gehört es auch zu dieser Punktwolke?

- b. Die **Ausreißeranalyse** (Outlier Analysis) ist ein mathematisches Verfahren, welches den Umgang mit Ausreißern beurteilt [Reinbot06], [Ghola98].

Bei Apo-Ident wird der Abstand der Probe vom Erwartungswert im Vergleich zum Abstand des „schlechtesten“ Referenzwertes (der Scores) zum Erwartungswert betrachtet.

→ Es wird die Frage beantwortet: Liegt die Probe auch nah genug am Erwartungswert, also innerhalb der Punktwolke?

- c. Das mathematische Verfahren der **Korrelation** beschreibt die Beziehung zwischen zwei oder mehreren statistischen Variablen. Angewandt

auf eine beliebige Datenreihe mit einer gewünschten zweiten Datenreihe ist sie allgemein betrachtet stets ein Maß dafür, wie ähnlich sich die zu untersuchenden Datenreihen sind.

Bei Apo-Ident muss der Korrelationskoeffizient aus dem Vergleich der Rückprojektion der Hauptkomponenten des gemessenen Spektrums mit der Rückprojektion des in der Datenbank hinterlegten Erwartungswertes einen modellabhängigen Schwellwert überschreiten.

→ Es wird die Frage beantwortet: Wurden die chemisch relevanten Informationen im Spektrum der Probe richtig berücksichtigt?

Alle drei Kriterien werden anschließend auf eine Prozentzahl abgebildet. Alle drei müssen mindestens 98,0 % betragen. Der kleinste Wert wird angezeigt.

Validierung des Modells: Identifizierungsverfahren durch einen direkten Spektrenvergleich müssen in Übereinstimmung mit den Validierungsverfahren, die bei Identifizierungsprüfungen angewendet werden, validiert werden.

Der Begriff „Validierung“ bezeichnet den finalen Prüfschritt nach der Erstellung eines Klassifizierungsmodells.

Die entscheidenden Schritte der Validierung sind:

1. Für die Klassifizierungsmodelle der „Arzneistoffe Fest“, „BtM - Arzneistoffe Fest“ und „Arzneistoffe Halbfest/Flüssig (mit Prüfzertifikat)“ gehen nur Substanzen ein, deren Authentizität belegt ist, z.B. durch ein Prüfzertifikat eines zertifizierten Prüflabors.

Die Identitätsprüfung erfolgt nach den Prüfmethoden der ersten Reihe des Arzneibuchs. Bei Substanzen, für die es keine Monographie in einem anerkannten Arzneibuch oder im DAC gibt, erfolgt die Identitätsprüfung nach Herstellervorgabe.

2. Das berechnete Klassifizierungsmodell wird als erstes mit den Spektren überprüft, aus denen es generiert wurde (Typ A).

→ Es werden keine falsch-positiven Ergebnisse zugelassen, d.h. kein Spektrum darf als eine andere Substanz bestätigt werden. Eine geringe Robustheit bzw. Erkennungsrate würde auf grobe Fehler bei der Modellerstellung hindeuten.

3. Das berechnete Klassifizierungsmodell wird zusätzlich mit Spektren von unabhängigen Proben überprüft und optimiert, die uns von Kunden zur Verfügung gestellt worden sind. Auf diese Weise werden Schwankungen der Einflussparameter im Feld berücksichtigt.

→ Es werden keine falsch-positiven Ergebnisse zugelassen. Eine geringe Robustheit bzw. Erkennungsrate würde bedeuten, dass unsere Spektren des Typs A die Substanz noch nicht ausreichend gut repräsentieren.

4. Das berechnete Klassifizierungsmodell wird im letzten Schritt mit Spektren unabhängiger Proben überprüft, die sich in derselben Subbibliothek (Substanzklasse) befinden (Typ B).

→ Es werden keine falsch-positiven Ergebnisse zugelassen. Eine geringe Robustheit bzw. Erkennungsrate könnte auch hier bedeuten, dass unsere Spektren des Typs A die Substanzvariationen im Feld noch nicht ausreichend gut repräsentieren.

Die Validierungsparameter für ein qualitatives Verfahren sind Robustheit und Spezifität.

Spezifität

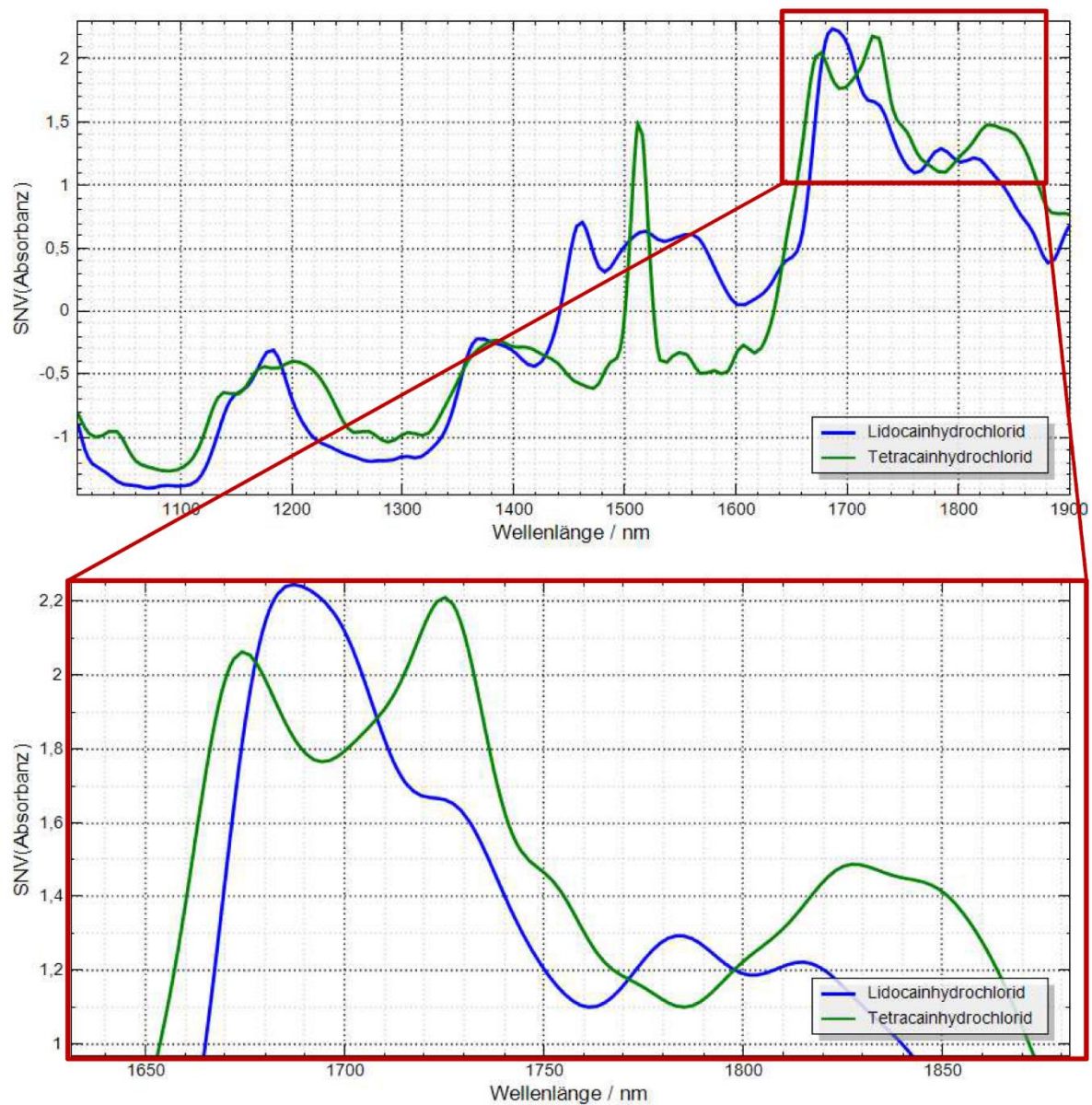
Die Kriterien, nach denen die Datenauswertung erfolgt, sind den Punkten 2. a) bis c) im Abschnitt „Datenauswertung“ zu entnehmen.

Für die Validierung der Klassifikationsmodelle werden keine falsch-positiven Ergebnisse zugelassen. Diese Angabe ist gleichbedeutend mit einer Spezifität (Richtig-Negativ-Rate einer Klassifikation) von 100 %.

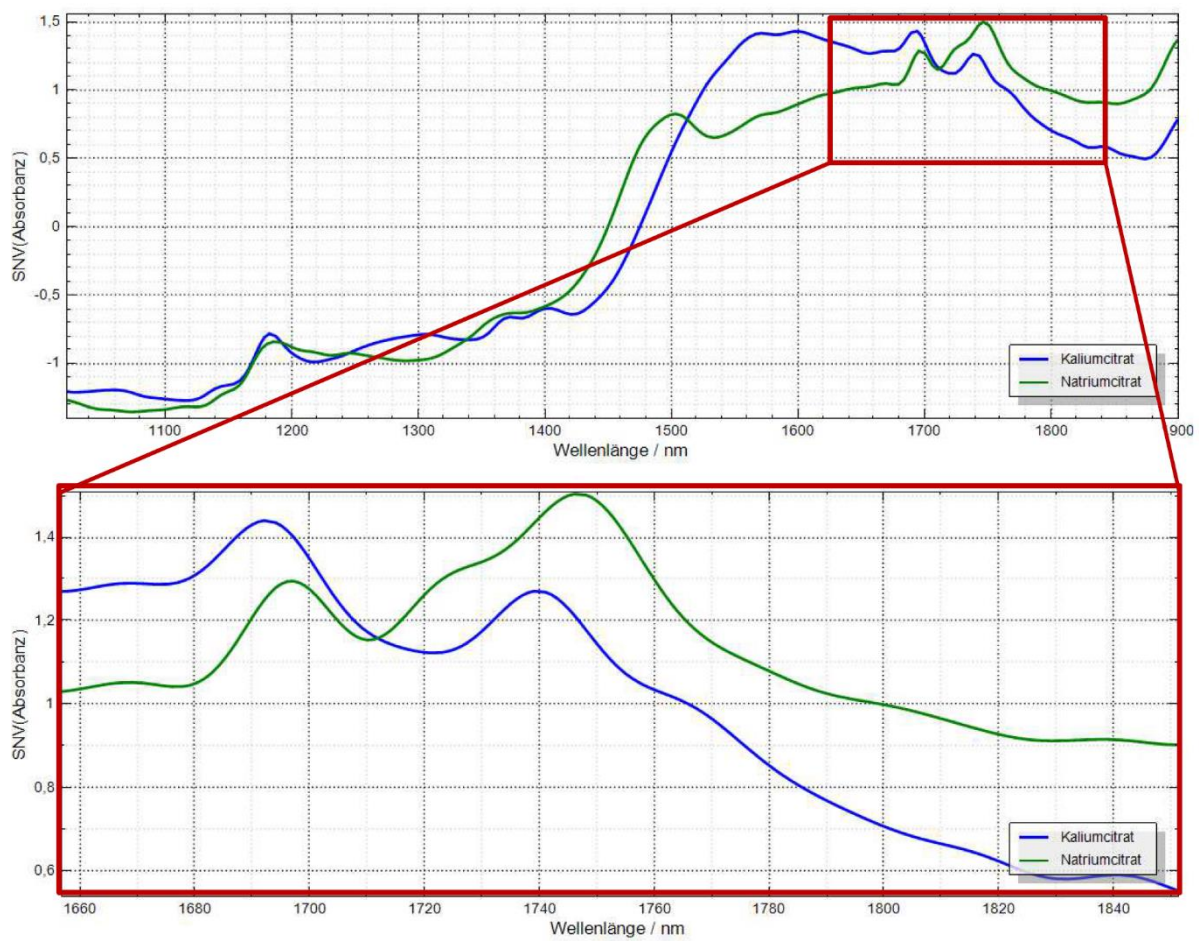
Die Bewertung der Spezifität erfolgt für alle Klassifikationsmodelle inklusive der zugehörigen Submodelle (Zweite-Stufe-Modelle) pro Subbibliothek (Substanzklasse).

Zur Veranschaulichung zeigen folgende Beispiele, wie sich Spektren unterscheiden können, auch wenn sich die Materialien in ihrer äußeren Erscheinung (1), chemischen Struktur (2) oder ihrem Namen (3) ähneln.

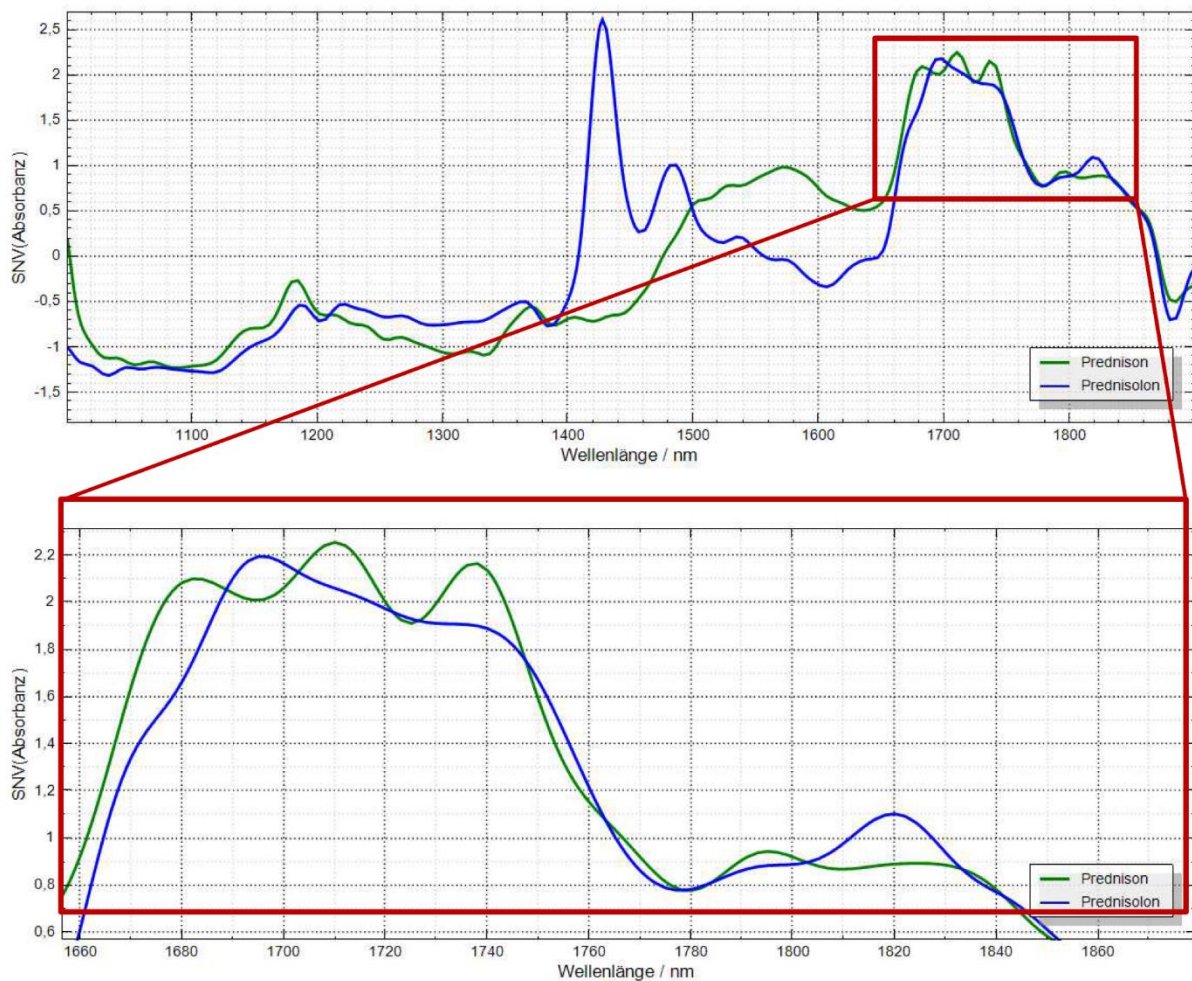
- (1) Beispiel für die Unterscheidung in der äußeren Erscheinung ähnlicher Substanzen: Lidocainhydrochlorid und Tetracainhydrochlorid



(2) Beispiel für die Unterscheidung in der chemischen Struktur ähnlicher Substanzen: Kaliumcitrat und Natriumcitrat



(3) Beispiel für die Unterscheidung im Namen ähnlicher Substanzen: Prednison und Prednisolon



Betrachtet man die Spektren in den Beispielen, sind die Unterschiede bereits auf dem ersten Blick ersichtlich. Die Hauptkomponentenanalyse ist jedoch in der Lage, auch viel kleinere Unterschiede in Spektren herauszuarbeiten.

Robustheit

Während eine hohe Spezifität falsch-positive Ergebnisse vermeidet und damit die Sicherheit des Klassifizierungsmodells erhöht, reduziert eine hohe Robustheit die Wahrscheinlichkeit falsch-negativer Ergebnisse.

Veränderliche Umweltbedingungen oder Eigenschaften gemessener Proben mit relevantem Einfluss auf die spektralen Eigenschaften im nahinfraroten Wellenlängenbereich können zu einem Nicht-Erkennen einer Substanz bei der Messung führen.

Der bei Apo-Ident verfolgte Ansatz besteht daher darin, durch ausgewählte und geeignete technische und mathematische Methoden die Empfindlichkeit gegenüber unvermeidlichen, zulässigen Schwankungen der spektralen Eigenschaften zu verringern. Dazu gehören unter anderem:

- Referenzierung mittels stabiler externer Standards zur Korrektur von kleinen Veränderungen der Lichtquelle, des Detektors oder der optischen Elemente
- feste Position zur Messung der Probe (Messstelle/Probenfenster) - Gewährleistung der sicheren und korrekten Positionierung des Probenglases durch den Anwender
- Aufnahme des Spektrums des Probenglases in einer Hintergrundmessung, um dessen Einfluss auf das Probenspektrum zu korrigieren (mittels einer Schwarzreferenz)
- Datenvorbehandlung mittels SNV-Normierung, um die Einflüsse physikalischer Eigenschaften der Probe auf das Spektrum zu reduzieren (z.B. Körnigkeit)
- ggf. Unterdrücken der Wasserbande, da die Feuchtigkeit fester Proben je nach Umgebungsklima schwankt und das Spektrum in definierter Weise verändert
- intern getrennte Verwaltung von Referenzproben derselben Substanz, wenn deren Spektren qualitativ unterschiedlich sind (z.B. bei Polymorphie)
- Berücksichtigung verschiedener Packungsdichten, Korngrößen und Lagen jeder Probe (Drehen, Schütteln, Wenden und erneutes Einfüllen der Pulver zwischen den 40 Einzelmessungen für die Spektrenbibliothek)
- Schritt-für-Schritt-Anleitung für Benutzer zum korrekten Umgang mit Apo-Ident
- Konsistenzprüfungen zwischen den Prüfschritten durch die Software, um Einflüsse durch Bedienfehler zu minimieren
- Korrektur der Wellenlängenchse und interne Weißreferenzierung durch Verwendung eines internen Referenzierungs-Rads

Grenzprüfung

Grenzprüfung

Relativer Vergleich von Spektren: Falls ein Satz von Spektren für eine Grenzprüfung verglichen wird, ist eine Kalibrierung nicht erforderlich. Dies ist zum Beispiel der Fall, wenn eine maximale oder minimale Absorption, mit der der Analyt absorbiert, von Bedeutung ist. Die Endpunktkontrolle in einem Trockner kann auch mit Hilfe eines qualitativen Ansatzes und einem Spektralbereich um eine spezifische Absorptionswellenlänge herum durchgeführt werden. Entsprechende Spektralbereiche und Vorbehandlungen der Spektren (falls eingesetzt) müssen erwiesenermaßen für diesen Zweck geeignet sein.

Spezifität: Die relativen diskriminatorischen Eigenschaften bei einer Grenzprüfung müssen gezeigt werden. Das Ausmaß der Überprüfung der Reproduzierbarkeit ist abhängig vom Einsatz und den möglichen Risiken, die kontrolliert werden sollen. Variationen in den Matrixkonzentrationen innerhalb eines Einsatzbereichs des Verfahrens dürfen die Messung nicht beeinflussen.

Wird bei Apo-Ident nicht angewendet.

Trendanalyse

Analyse eines Trends

Relativer Spektrenvergleich: Eine Kalibrierung ist nicht notwendigerweise erforderlich, wenn ein Satz von Spektren für eine Trendanalyse verglichen wird. Als Beispiel kann der sich bewegende Block herangezogen werden, um statistische Parameter wie den Mittelwert, den Median und die Standardabweichung abzuschätzen. Am Beispiel der Überwachung der Gleichförmigkeit eines Mischvorgangs mit Hilfe der NIR-Spektroskopie sind entsprechende Datenanalysen zugelassen worden. Geeignete Algorithmen für den Spektralbereich müssen bei der Trendanalyse eingesetzt werden.

Spezifität: Die relativen diskriminatorischen Eigenschaften einer Trendanalyse müssen gezeigt werden. Der Umfang, mit dem die Spezifität geprüft werden muss, ist von der Anwendung und den möglichen Risiken, die überwacht werden sollen, abhängig. Variationen in den Konzentrationen der Matrix, die innerhalb des Arbeitsbereichs des Verfahrens auftreten, dürfen eine Trendanalyse nicht beeinflussen.

Wird bei Apo-Ident nicht angewendet.

Quantitative Analyse

Quantitative Analyse

Der Anwendungsbereich von Apo-Ident beläuft sich nicht auf die Durchführung quantitativer Analysen, sondern nur auf die Identifizierung von Substanzen - also auf die Durchführung qualitativer Analysen. Daher werden Substanzen, die in unterschiedlichen Konzentrationen angeboten werden, als eigenständige Substanzen behandelt (z.B. Ethanol 90 % und Ethanol 96 %).

Die nachfolgenden Teilabschnitte sind somit für Apo-Ident nicht geltend.

Erstellung einer Spektrenreferenzbibliothek für ein Kalibriermodell: Die Kalibrierung ist ein Prozess, um ein mathematisches Modell zu erstellen, wobei die mit einem analytischen Instrument nach einem Scan erhaltenen Antworten der Proben zu den Eigenschaften der Proben in Beziehung gesetzt werden. Jedes Kalibriermodell, das als mathematischer Ausdruck klar definiert werden kann und geeignete Resultate ergibt, kann eingesetzt werden. Die Spektren einer geeigneten Anzahl von repräsentativen Proben, mit bekannten oder festgestellten – voraussichtlichen – Werten der zu bestimmenden Eigenschaft (zum Beispiel der Wassergehalt) werden über den Messbereich verteilt aufgenommen. Die Anzahl der Kalibrierproben hängt von der komplexen Zusammensetzung der Probenmatrix und möglichen Interferenzen (zum Beispiel Temperatur, Partikelgröße) ab. Alle verwendeten Proben müssen mit ihren quantitativen Ergebnissen innerhalb des Kalibrierbereichs, der für den beabsichtigten Zweck des Verfahrens definiert wurde, liegen. MLR (Multiple Linear Regression), PCR (Principal Component Regression) und PLS (Partial Least Squares Regression) sind die in der Regel angewendeten Algorithmen. Für Kalibrierungen mit Hilfe der PLS oder PCR sollten die Regressionskoeffizienten und/oder Loadings aufgezeichnet werden, wobei die Regionen von großen Koeffizienten oder Loadings mit dem Spektrum des Analyten verglichen werden.

Abbildungen der PRESS-Werte (Predicted Residual Error Sum of Squares) oder ähnliche Angaben sind nützlich, um die Anzahl der PCR- oder PLS-Faktoren zu optimieren.

Datenvorbehandlung: Eine Auswahl der Wellenlängen oder das Herausschneiden von bestimmten Wellenlängenbereichen kann die Richtigkeit und die Robustheit des Kalibriermodells erhöhen. Techniken zur Komprimierung der Wellenlängen (durchschnittliche Antwort bei nahe beieinanderliegenden Wellenlängen) können bei der Datenverarbeitung eingesetzt werden.

Parameter der Modellvalidierung: Die Anforderungen an die analytische Leistungsfähigkeit, die zum Aufzeigen der Validierung eines NIR-Verfahrens in Betracht gezogen werden, sind vergleichbar mit den Anforderungen, die für jedes andere analytische Verfahren gelten. Spezifische Akzeptanzkriterien für jeden Validierungsparameter müssen mit dem beabsichtigten Zweck des Verfahrens übereinstimmen.

Die Validierungsparameter für ein quantitatives Verfahren sind Richtigkeit, Linearität, Präzision (Wiederholpräzision und Vergleichspräzision), Robustheit und Spezifität.

Fortwährende Modellbewertung

Fortwährende Modellbewertung

Die für den praktischen Einsatz validierten NIR-Modelle werden einer fortwährenden Bewertung der Leistungsfähigkeit und einer Überwachung der Validierungsparameter unterzogen.

Nach der Aufnahme neuer Substanzen oder Chargen wird die gesamte Referenzdatenbank neu generiert und jedes Mal vollständig validiert und bewertet. Dieser Prozess findet in regelmäßigen Abständen statt und bewirkt, dass Apo-Ident mehrere Datenbank-Updates pro Jahr erhält.

Transfer einer Datenbasis

Transfer einer Datenbasis

Falls eine Datenbasis zu einem anderen Spektrometer transferiert wird, müssen der Spektralbereich, die Anzahl der Datenpunkte, die spektrale Auflösung und weitere Parameter beachtet werden. Zusätzliche Verfahren und Kriterien müssen eingesetzt werden, um nachzuweisen, dass das Modell mit der neuen Datenbasis oder dem neuen Spektrometer weiterhin gültig ist.

Die Klassifikatoren von Apo-Ident werden nur für den Betrieb auf Apo-Ident-Geräten erstellt. Alle Geräte genügen den gleichen Prüfkriterien, auf welche die Klassifikatoren abgestimmt sind. Die Überprüfung dieser Prüfkriterien erfolgt während der Fertigung der Apo-Ident-Geräte:

- Spektralbereich, Anzahl der Datenpunkte und Spektrenauflösung sind immer gleich
- Es werden Absorbanzspektren gemessen, die unabhängig von der Lichtquelle sind.
- Es wird sowohl bei der Aufnahme der Referenzspektren, als auch bei der Identitätsprüfung in den Apotheken immer gegen eine einheitliche Weißreferenz gemessen.

Literatur

- [Ghola98] Gholamreza Nakhaeizadeh, Data Mining, Theoretische Aspekte und Anwendungen, PhysicaVerlag, 1998
- [Herter04] E. Herter und W. Lörcher, Nachrichtentechnik: Übertragung, Vermittlung und Verarbeitung, München: Carl Hanser Verlag, 2004
- [Kessler07] Waltraud Kessler, Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik, Verlag Wiley-VCH, 2007
- [Hartung99] J. Hartung, B. Elpelt: Multivariate Statistik. München/Wien, 1999
- [Fahrmeir96] L. Fahrmeir, A. Hamerle, G. Tutz (Hrsg.): Multivariate statistische Verfahren. New York, 1996
- [Duntem89] G. H. Dunteman: Principal Component Analysis. Sage Publications, 1989
- [Maha36] P.C. Mahalanobis, On the generalised distance in statistics, Proceedings of the National Institute of Science of India 12 (1936)
- [Reinboth06] C. Reinboth: Multivariate Analyseverfahren in der Marktforschung, LuLu-Verlagsgruppe, Morrisville, 2006.

Kundensupport

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an unseren Kundensupport unter:

HiperScan GmbH	Telefon	+49-351-212-496-0
Weißeritzstr. 3	Telefax	+49-351-212-496-99
01067 Dresden	E-mail	info@apo-ident.de
Germany		www.apo-ident.de