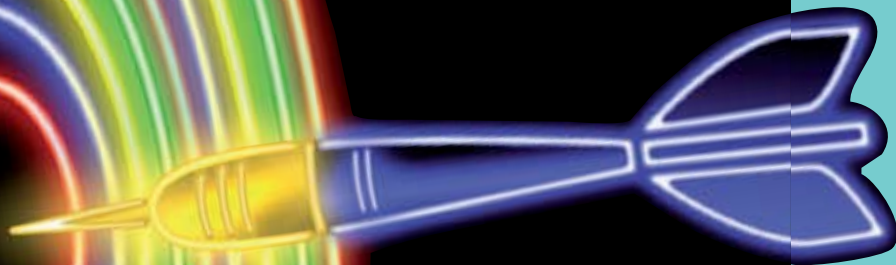


Zeit sparen im HPLC-Labor

[www.vwr.com](http://www.vwr.com)

**ChromSword®**  
**ChromSword Auto®**  
**AutoRobust**

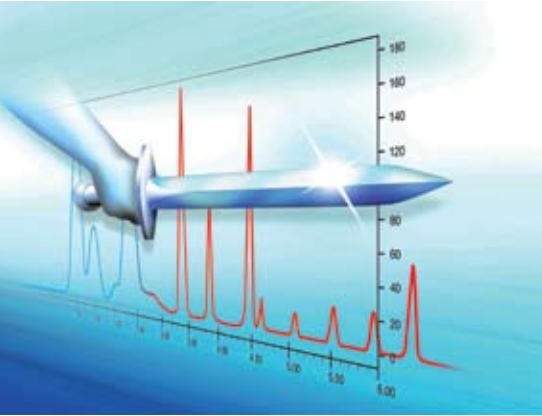
Intelligente Software-Werkzeuge  
für die automatisierte  
HPLC-Methodenentwicklung  
und Robustheitsprüfung



*software*

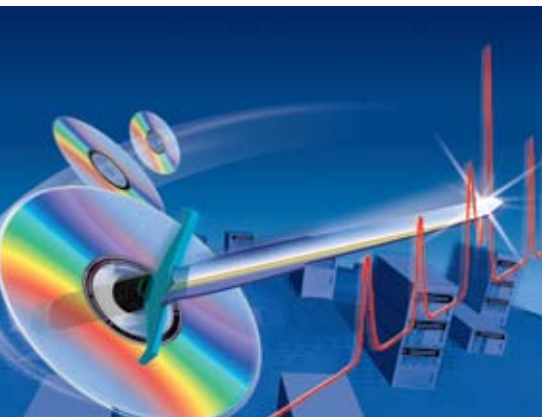
## zum Zeitsparen im Labor und zur Verbesserung Ihrer Analysenmethoden

### ChromSword® – Computer-unterstützte HPLC-Methodenoptimierung



ChromSword® ist eine einzigartige und bewährte Software für die computer-unterstützte HPLC-Methodenentwicklung und -optimierung. Chromatographische Trennungen werden **virtuell** mit Hilfe von physikalisch-chemischen Retentionsmodellen oder **empirisch** mit realen HPLC-Daten hinsichtlich Peak-Auflösung und Analysenzeit optimiert. Hierzu werden verschiedene Optimierungs- und Simulationsverfahren verwendet. Nach Eingabe der Strukturformeln der Analyte sagt ChromSword® die beste Säulen-/Lösungsmittel-Kombination und die optimalen Trennbedingungen vorher. Vorteil dieser Vorgehensweise ist, dass das anschließende experimentelle Methodenoptimierungsverfahren bereits bei dem durch die Theorie vorhergesagten Optimum beginnt und die Zahl der notwendigen Chromatographie-Experimente dadurch auf ein Minimum reduziert wird.

### ChromSword Auto® Vollautomatische HPLC-Methodenoptimierung



Die einzigartige ChromSword Auto® Software kann innerhalb weniger Stunden HPLC-Methoden vollautomatisch entwickeln und optimieren. Auch bereits vorhandene Methoden können optimiert und die Analysenzeiten deutlich reduziert werden.

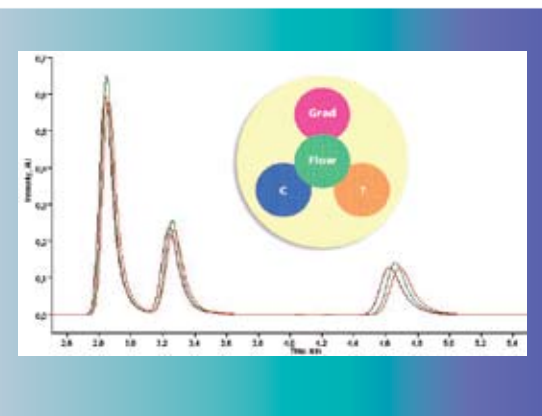
Sie stellen Ihre Probe in den Autosampler und nach wenigen Eingaben wird der Optimierungsprozess gestartet. ChromSword Auto® sagt die Methodenbedingungen vorher und steuert dann das angeschlossene HPLC-System bei der Aufnahme der erforderlichen Chromatogramme. Diese werden anschließend von der Software analysiert, um die endgültigen optimalen Bedingungen zu ermitteln.

Der **schnelle Optimierungsmodus** gibt einen Überblick über die chromatographische Leistung des eingesetzten Säulen/Lösungsmittel-Systems bzw. wird zum schnellen Screening von Säulen und Eluenten eingesetzt.

Der **Fein-Optimierungsmodus** erfasst und analysiert darüber hinaus weitere Daten und entwickelt dann bis zu 10 alternative optimale HPLC-Bedingungen.

Beide Arbeitsweisen können auch kombiniert mit Säulen- und Lösungsmittel-Schaltverfahren angewendet werden, um eine Vielzahl von Säulen/Lösungsmittel-Kombinationen vollautomatisch zu testen oder um eine pH-Wert-Optimierung durchzuführen.

### AutoRobust – Einfachste Programmierung und automatische Durchführung von HPLC Robustheitsstudien



Für neu entwickelte oder schon vorhandene Analysenmethoden sollten Robustheitsstudien durchgeführt werden, um die Toleranzgrenzen für kleine Abweichungen von den Methodenparametern zu ermitteln und diese dann in den Analysenvorschriften (Methoden-SOPs) anzugeben.

Mit der AutoRobust-Software programmieren Sie die Matrix der durchzuführenden Experimente in kürzester Zeit und die Software führt dann diese Robustheitstests von HPLC-Methoden vollautomatisch durch. Dazu steuert die Software das HPLC-System und erfasst die Chromatogramme mit den gewünschten kleinen Variationen der HPLC-Bedingungen. Die aufgenommenen Chromatogramme und die zugehörigen Peakparameter, wie z.B. die Peakauflösung, werden angezeigt. Mit Hilfe der Software wird ein übersichtlicher Robustheitstest-Report erstellt.

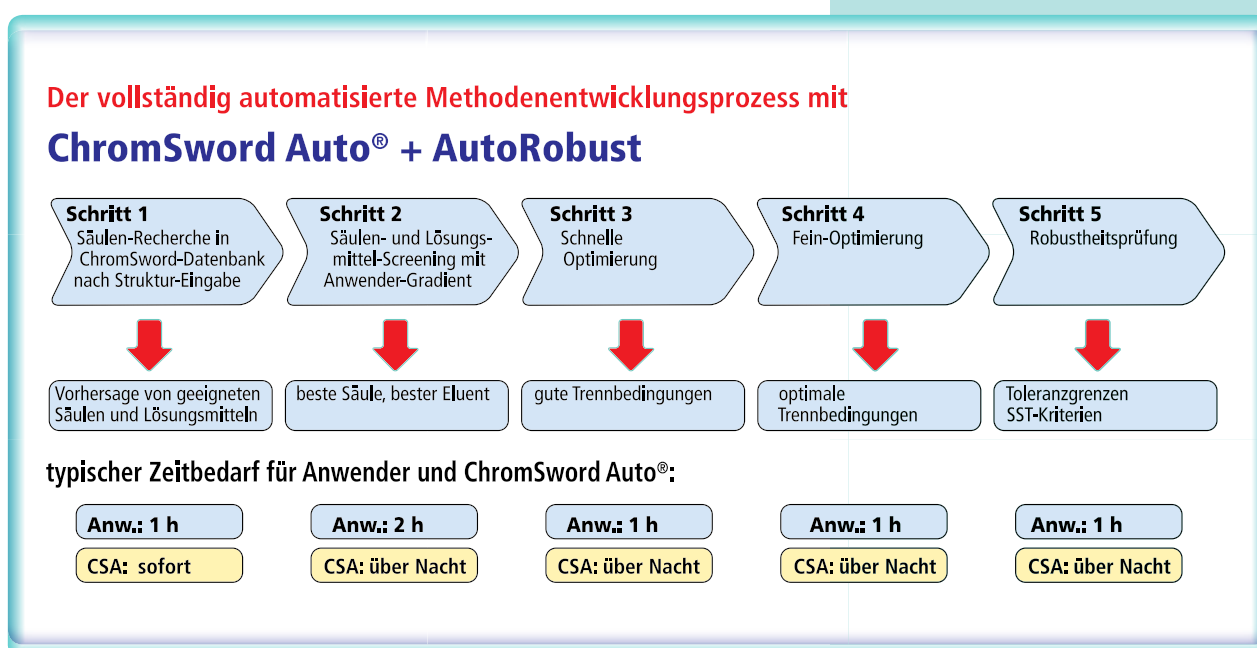
# Der komplett automatisierte HPLC-Methodenentwicklungsprozess

Durch Einsatz der Softwarefunktionen von ChromSword Auto® und AutoRobust lässt sich der HPLC-Methodenoptimierungsprozess, z.B. für die Trennung von neuen pharmazeutischen Substanzen, vollständig automatisieren.

In professionellen Methodenentwicklungslaboratorien großer pharmazeutischer und chemischer Unternehmen wird folgendermaßen vorgegangen:

## Schritt 1: Vorhersage von geeigneten Säulen und Lösungsmitteln

Nach Eingabe der Strukturenformeln der Analyte lässt sich mit ChromSword Auto® durch virtuelle Chromatographie eine Hit-Liste der z.B. 10 besten Säulen-Lösungsmittel-Kombinationen für diese Trennaufgabe erstellen.



## Schritt 2: Screening der Säulen und Lösungsmittel

Durch automatisches Säulen- und Lösungsmittel-Schalten und mit einem vom Anwender vorgegebenen Gradienten wird ein schnelles Screening der ausgewählten Säulen und Lösungsmittel durchgeführt. Daraus ergibt sich die beste Säulen-Lösungsmittel-Kombination, die dann für die Optimierung verwendet wird.

## Schritt 3: Schnelle Optimierung

Die schnelle Optimierung liefert brauchbare Trennbedingungen für erste Tests und vorläufige Anwendungen.

## Schritt 4: Feinoptimierung

Bei der automatischen Feinoptimierung werden bis zu 10 alternative optimale Trennbedingungen erhalten. Der Anwender wählt die für seine Zwecke geeignetsten Bedingungen z.B. für die Qualitätskontrolle aus.

## Schritt 5: Automatische Robustheitsstudie

Die Robustheitsprüfung mit AutoRobust ergibt die maximalen Toleranzgrenzen für kleine Variationen der Methodenparameter und Kriterien für den Systemeignungstest (System Suitability Test).

Diese optimierte HPLC-Methode kann nach der entsprechenden Methodvalidierung z.B. für die Qualitätskontrolle oder andere Anwendungen eingesetzt werden.

## ChromSword®

### Ihr virtueller Experte für die Computerunterstützte HPLC-Methodenoptimierung

#### Virtuelle Chromatographie

Durch virtuelle Chromatographie kann ChromSword® ohne vorherige Experimente die optimalen Trennbedingungen für Reversed-Phase-HPLC-Methoden vorhersagen. Virtuelle Chromatographie basiert auf einem physikalisch-chemischen Retentionsmodell, das aus den Eigenschaften der Analyte (z.B. ihren Strukturen) und den Säulen/Eluent-Eigenschaften abgeleitet wird.

Vorteil dieser Vorgehensweise ist, dass das anschließende experimentelle Methodenoptimierungsverfahren bereits bei dem durch die Theorie vorhergesagten Optimum beginnt und die Zahl der notwendigen Chromatographie-Experimente dadurch auf ein Minimum reduziert wird.

#### Empirische Optimierung

Bei der empirischen Vorgehensweise werden zunächst mit der Probe mindestens zwei reale chromatographische Läufe bei unterschiedlichen HPLC-Bedingungen durchgeführt. Aus den erhaltenen Retentionszeiten werden Retentionsmodelle (Abhängigkeit der Analyt-Retentionszeiten von dem Optimierungsparameter) berechnet, mit dem die optimalen HPLC-Bedingungen vorhergesagt werden können. Anhand der Resultate weiterer Experimente wird das Retentionsmodell schrittweise verfeinert, bis es genau genug ist, um die endgültigen optimalen Chromatographiebedingungen zu berechnen.

#### Automatische Gradientenoptimierung – super-schnell durch Virtuelle Chromatographie

Für die automatische Gradientenoptimierung sind keine weiteren Experimente notwendig! Nach der Berechnung der Retentionsmodelle optimiert ChromSword® lineare und Stufen-Gradienten in nur wenigen Sekunden durch Anwendung einer super-schnellen Monte-Carlo-Optimierungsmethode. ChromSword® berücksichtigt dabei mit Hilfe seiner Rechenverfahren und der Kapazität des Computers wesentlich mehr Möglichkeiten, als man jemals bei der manuellen Methodenentwicklung in Betracht ziehen kann.

#### Folgende Optimierungen können mit ChromSword® durchgeführt werden:

##### Reversed-Phase-Chromatographie

- Zusammensetzung der mobilen Phase: isokratisch
- Zusammensetzung der mobilen Phase: lineare und Stufengradienten
- Säulentemperatur
- pH-Wert der mobilen Phase (inklusive Berechnung von pK<sub>s</sub> Werten)
- 2-dimensionale Optimierungen
- ternäre Lösungsmittelmischungen
- Kombinationen von Säulen verschiedener Selektivität

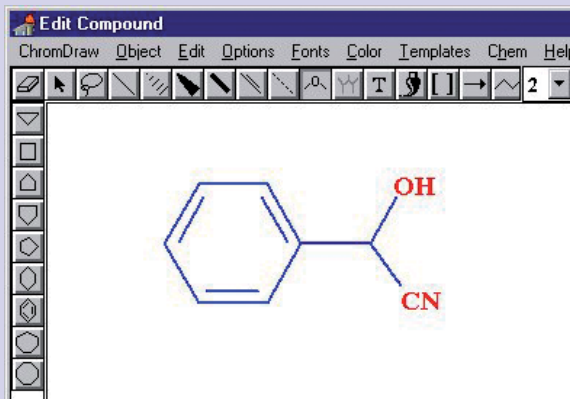
##### Normal-Phasen-Chromatographie

- Zusammensetzung der mobilen Phase
- Säulentemperatur

##### Ionenaustausch-Chromatographie

- Pufferkonzentration
- Säulentemperatur

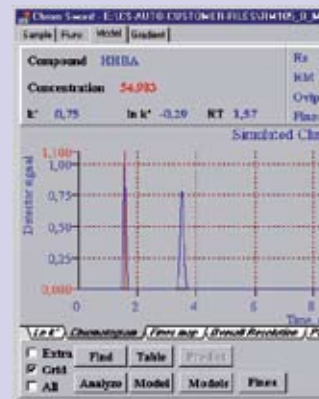
#### Virtuelle Chromatographie – Beispiel: Trennung von Komponenten eines Aromatengemisches



1. Eingabe der Strukturformeln mit dem ChromSword®-Formel-Editor. Der Import von ISIS-Daten ist ebenfalls möglich.



2. Berechnung des Theoretischen Retentionsmodells auf der Grundlage der eingegebenen Strukturformeln und von Säule/Eluent aus der Säulendatenbank.



3. Simulation des Chromatogramms bei vorhergesagten optimalen Bedingungen.

## Eingabe spezieller Vorgaben

Als Vorgaben können z.B. die gewünschten Retentionszeiten für den ersten und den letzten Peak und die gewünschten Abstände zwischen den Peaks eingegeben werden. Die Software sucht dann nach Bedingungen, die diese Vorgaben am besten erfüllen.

## Analyse der Peakauflösung

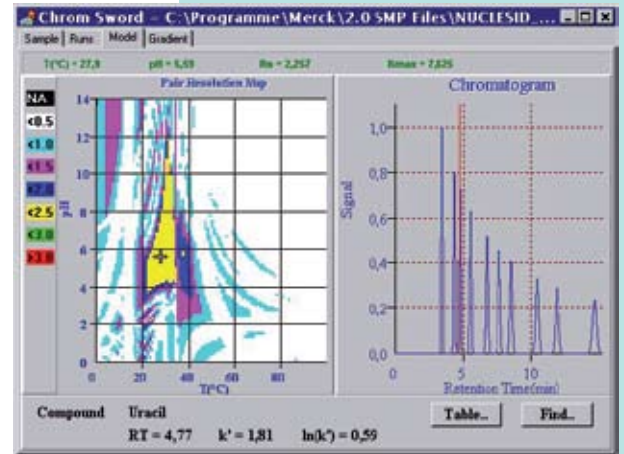
Chromsword® analysiert die Beiträge zur Peakauflösung nach der Formel:

$$R = \frac{1}{4} (\alpha - 1) \cdot \sqrt{N} \cdot \frac{k'}{1 + k'}$$

Hiermit lassen sich die Ursachen für eine schlechte Peakauflösung finden. Kritische Beiträge der Retention, Selektivität oder Effizienz werden rot markiert und stellen die Hauptursache für eine schlechte Peakauflösung dar. Die größte Chance, die Peakauflösung zu verbessern, besteht darin, die als kritisch markierten Beiträge zu erhöhen.

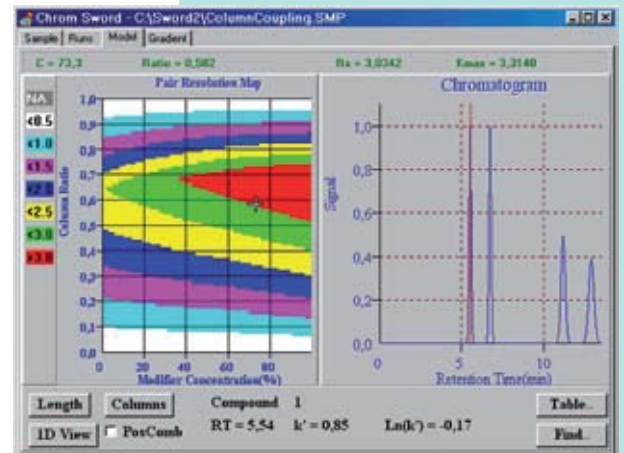
## Methodenübertragung auf ein anderes HPLC-System

Gradientenmethoden hängen sehr stark von dem Gradientenverzögerungsvolumen (dwell volume) des verwendeten HPLC-Systems ab. Daher ergeben sich oft Schwierigkeiten bei der Übertragung einer Gradientenmethode auf ein HPLC-System eines anderen Herstellers. Mit ChromSword® brauchen Sie nur das Gradientenverzögerungsvolumen des neuen HPLC-Systems einzugeben und die Software rekalkuliert die Gradientenbedingungen automatisch.



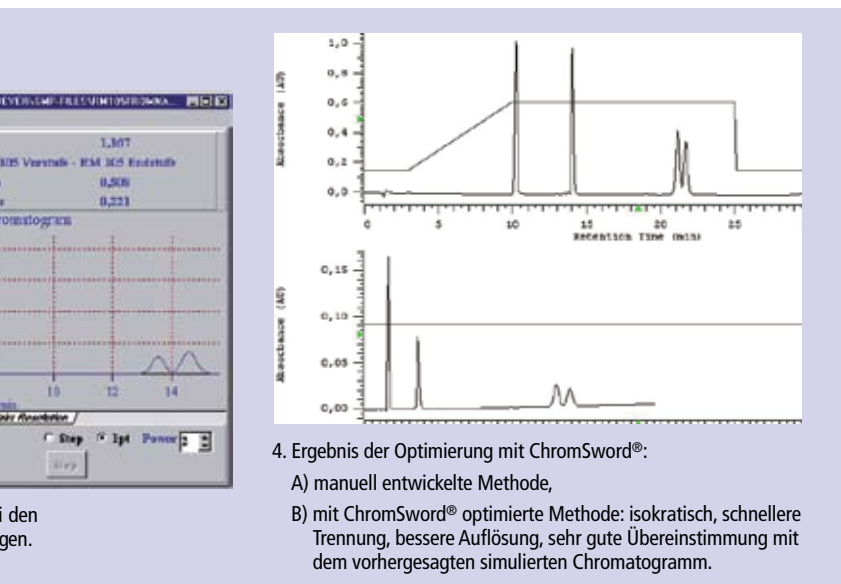
### 2-Dimensionale Methodenoptimierung

Hier als Beispiel die simultane Optimierung des pH-Wertes und der Temperatur für eine Reversed-Phase-Trennung von Nucleosiden. Links das Peak-Auflösungsdiagramm für die beiden Optimierungsparameter und rechts das für die Cursor-Position im Peak-Auflösungsdiagramm simulierte Chromatogramm.



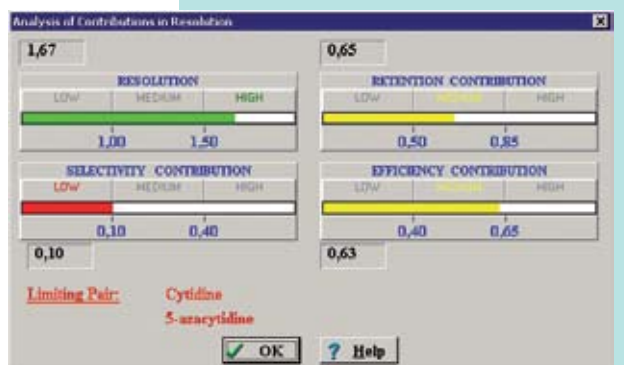
### Optimierung von Säulenkopplungen

Das Peak-Auflösungsdiagramm zeigt optimale Bereiche für das Längenverhältnis zweier Säulen unterschiedlicher Selektivität und der Konzentration des organischen Lösungsmittels. Rechts das bei der Cursor-Position im Peak-Auflösungsdiagramm simulierte Chromatogramm.



4. Ergebnis der Optimierung mit ChromSword®:

- A) manuell entwickelte Methode,
- B) mit ChromSword® optimierte Methode: isokratisch, schnellere Trennung, bessere Auflösung, sehr gute Übereinstimmung mit dem vorhergesagten simulierten Chromatogramm.



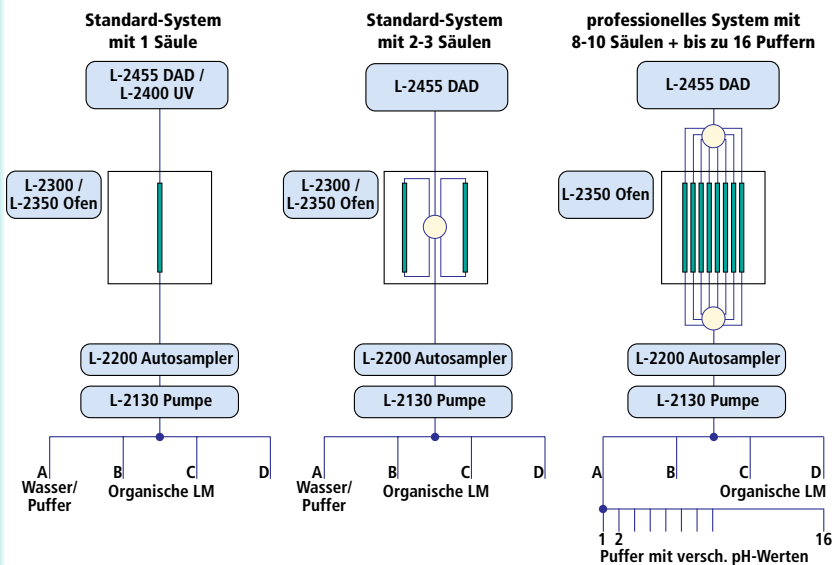
Analyse der Beiträge zur Peakauflösung

## ChromSword Auto® 4.0

### Ihr professioneller Experte für die automatische HPLC-Methodenoptimierung

Stellen Sie Ihre Proben in den Autosampler, geben Sie einige Daten ein und drücken Sie den Start-Knopf! Und schon werden Ihre Methoden über Nacht oder über das Wochenende automatisch entwickelt und optimiert. So einfach funktioniert die HPLC-Methodenentwicklung mit ChromSword Auto®, der anerkannt besten Software für die vollautomatische HPLC-Methodenentwicklung.

#### Automatische Methodenentwicklung mit ChromSword Auto® HPLC-System-Konfigurationen für Screening und Fein-Optimierung



Die intelligente ChromSword Auto®-Software wird an Ihr HPLC-System angeschlossen und ist dann in der Lage, Reversed-Phase-Chromatographie-Methoden hinsichtlich der Parameter

- Zusammensetzung und pH-Wert der mobilen Phase (isokratisch, lineare und Stufen-Gradienten)
- und Säulentemperatur vollautomatisch zu optimieren.

#### Die Ziele der automatischen Optimierung sind dabei

- die Trennung einer maximalen Anzahl von Peaks,
- die optimale Auflösung der Peaks und
- eine minimale Analysenzeit.

ChromSword Auto® berücksichtigt dabei mit seinen intelligenten und ausgeklügelten Rechenverfahren

und der Rechenkapazität des Computers wesentlich mehr Möglichkeiten, als man jemals bei der manuellen Methodenentwicklung in Betracht ziehen kann.

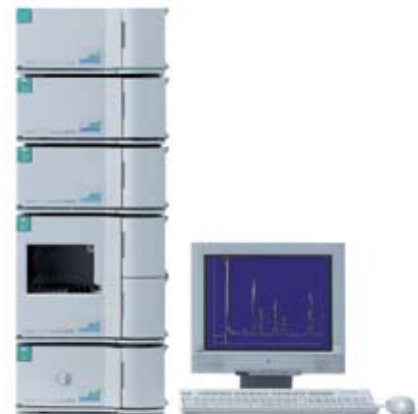
Nach Beendigung des Optimierungsprozesses präsentiert das System die Chromatogramme, die mit den berechneten optimalen Bedingungen erhalten wurden.

#### Kombiniert mit einem HPLC-System optimiert ChromSword Auto® Reversed-Phase-Chromatographie-Methoden automatisch



steuert  
das HPLC  
System

verarbeitet  
Retentions-  
zeiten,  
berechnet  
Retentions-  
modelle



## Screening, schnelle Optimierung, Fein-Optimierung

Diese drei Stufen im professionellen Methodenoptimierungsprozess lassen sich mit ChromSword Auto® vollautomatisch durchführen.

### Screening

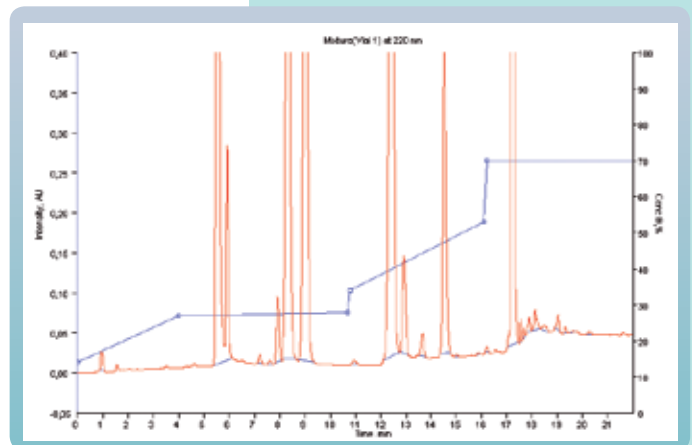
Zur schnellen Entwicklung einer neuen Trennmethode wird eine Auswahl von Säulen und Lösungsmitteln mit einem schnellen Lösungsmittel-Gradienten getestet. Das HPLC-System wird dazu mit entsprechenden Säulen- und Lösungsmittel-Schaltventilen ausgestattet und ChromSword Auto® führt nach Programmierung des gewünschten Gradienten den kompletten Screening-Prozess vollautomatisch und in kürzester Zeit durch. Mit dem Report Viewer lassen sich die erhaltenen Chromatogramme betrachten und auswählen, welche Säulen/Lösungsmittel-Kombination für das Trennproblem am besten geeignet ist.

### Schnelle Optimierung

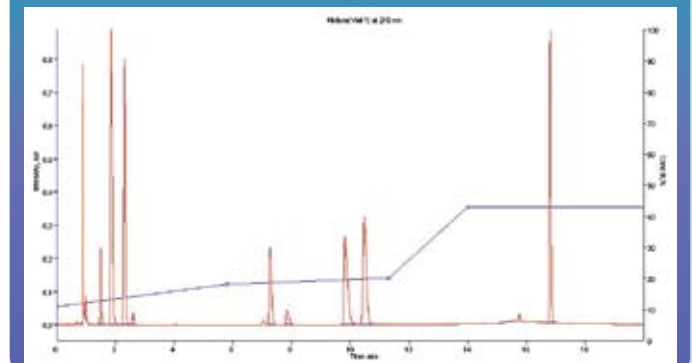
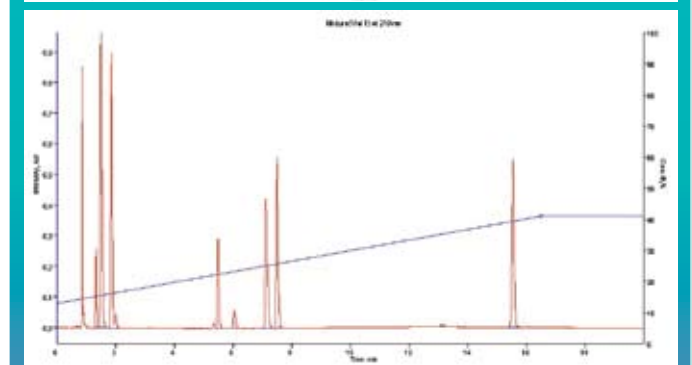
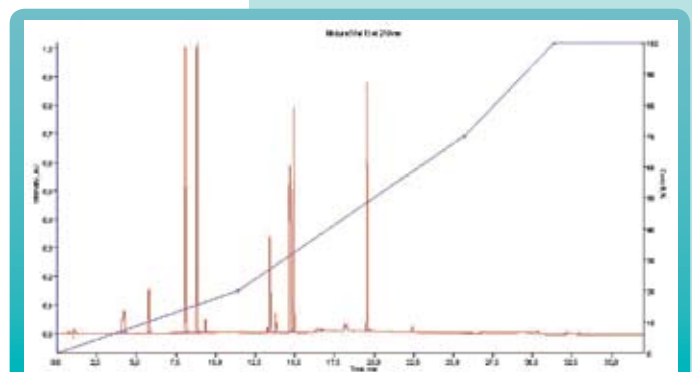
Mit dieser Arbeitsweise kann in kürzester Zeit eine brauchbare Methode entwickelt werden. Zunächst nimmt das System einen Übersichtsgradientenlauf auf, um Informationen über die Peaks und über den Bereich der Analyt-Retentionszeiten zu erhalten. Aus diesen Daten berechnet das System jeweils einen optimierten linearen Gradienten und einen optimierten Stufengradienten. Schon nach maximal 3 Stunden hat das System eine geeignete Trennmethode entwickelt. Die Dauer hängt ab von der verwendeten Säule (Länge, Sorbens), der verwendeten Fließgeschwindigkeit, der Polarität der Analyte sowie von der Anzahl der Peaks.

### Fein-Optimierung

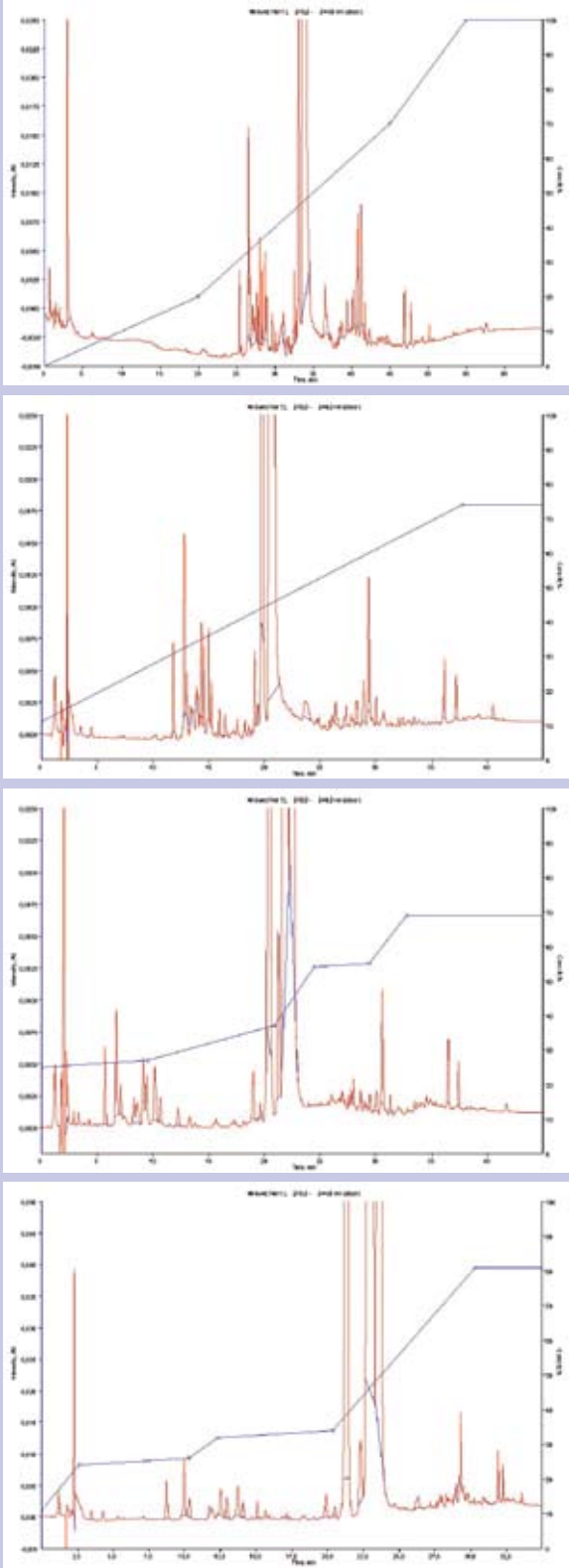
Der Fein-Optimierungsmodus erfasst und analysiert darüber hinaus weitere Daten, um die sog. Retentionsmodelle (Abhängigkeit der Analyt-Retentionszeiten von dem Optimierungsparameter) möglichst genau zu berechnen. Mit ihrer Hilfe werden mehrere alternative optimale HPLC-Bedingungen (isokratisch, lineare und Stufengradienten) entwickelt und durchgeführt.



Fein-Optimierung der HPLC-Trennung einer pharmazeutischen Probe unter Berücksichtigung von Verunreinigungen und Zersetzungsprodukten. Optimierter Stufengradient.



Schnelle Optimierung der Trennung von 11 Drogen-Standards:  
1. Übersichtsgradient,  
2. Optimaler linearer Gradient,  
3. Optimaler Stufengradient



Schelle und Fein-Optimierung der Trennung einer pharmazeutischen Probe mit Zersetzungsprodukten.

1. Übersichtsgradient, 2. Optimaler linearer Gradient,
3. Optimaler Stufengradient,
4. Optimaler Stufengradient nach Feinoptimierung

## Wie funktioniert das?

### Retentionsmodelle und Gradienten-optimierung

Je mehr Informationen die Software über Analyte und Trennsystem (Säule/ Lösungsmittel) bekommt, umso besser sind die vorhergesagten optimalen Trennbedingungen. Das System führt daher im Verlaufe des Optimierungsprozesses Chromatographieläufe bei verschiedenen Bedingungen durch und berechnet daraus die Retentionsmodelle. Diese dienen dann zur Vorhersage der optimalen Trennbedingungen.

Diese Funktionen sowie die super-schnelle Monte-Carlo-Gradientenoptimierung sind weitgehend schon in der nicht-automatisierten ChromSword®-Version der Software vorhanden (s. S. 4-5).

Durch folgende weitere Expertenfunktionen wird die vollständige Automatisierung des HPLC-Methodenentwicklungsprozesses möglich gemacht:

### Automatisierungsmodul

Ein spezielles Software-Interface verbindet die ChromSword Auto®-Software mit dem jeweiligen Chromatographie-Datensystem des HPLC-Systems.

### Künstliche Intelligenz

Ein Softwaremodul mit lernfähiger Künstlicher Intelligenz trifft die notwendigen Entscheidungen während des Methodenentwicklungsverfahrens und steuert den Optimierungsprozess.

### Peak-Zuordnung für die Trennoptimierung von Zielsubstanzen

Die oft nicht einfache Aufgabe der eindeutigen Peakzuordnung lässt sich am einfachsten lösen, indem man die experimentelle Methodenentwicklung mit möglichst reinen Einzelsubstanzen durchführt. Dieses Verfahren wendet ChromSword Auto® zur Trennoptimierung von Zielsubstanzen an, die als Einzelstandards verfügbar sind.

### Intelligente Peak-Zuordnung – für Substanzmischungen mit Verunreinigungen

Für Proben, für deren Komponenten keine Reinsubstanzen verfügbar sind, ist ChromSword Auto® mit einer vollkommen neuartigen Funktion zur intelligenten Peakzuordnung (Intelligent Peak Tracking) ausgestattet. Diese ermöglicht die zuverlässige Peakzuordnung und -verfolgung bei der Trennung von Substanzmischungen, auch ohne dass Spektraldaten herangezogen werden müssen. Falls verfügbar, können jedoch zusätzlich DAD- und MS-Daten für die Peakzuordnung verwendet werden. In den Autosampler wird lediglich das Gläschen mit der Probe gestellt. Durch Identifikation und Verfolgung der Peaks, die bei verschiedenen chromatographischen Bedingungen erscheinen, optimiert das System die Methode mit dem Ziel, eine maximale Anzahl von Peaks mit optimaler Peakauflösung in kürzester Zeit zu trennen.



## Säulen- und Lösungsmittel-Schalten

Wenn das HPLC-System mit einem Säulenselektionsventil ausgestattet wird, kann ChromSword Auto® Screening-Verfahren und HPLC-Optimierungen mit bis zu 10 Säulen und bis zu drei organischen Lösungsmitteln automatisch durchführen. Für die pH-Optimierung kann das Gradientensystem zusätzlich mit einem Lösungsmittel-Schaltventil mit bis zu 16-Kanälen erweitert werden, an das Puffer mit verschiedenen pH-Werten angeschlossen werden können. Damit lässt sich ein schnelles Screening der Säulen, Lösungsmittel und pH-Werte durchführen.

## Einfache Programmierung...

Über einen Programmierassistent werden auf wenigen Schirmbildern die notwendigen Eingaben abgefragt. Der Optimierungsprozess wird darauf durch Betätigung der GO-Taste gestartet. Nach Beendigung des Optimierungsprozesses kann das HPLC-System automatisch in einen programmierbaren Stand-by-Modus geschaltet werden.

## ...und Reporterstellung

ChromSword Auto® dokumentiert die eingegebenen Parameter und alle Optimierungsläufe und erhaltenen Chromatogramme. Mit dem Report Viewer können alle Chromatogramme und Daten angezeigt und ausgewertet werden. Mit Hilfe der Export-Funktion nach WORD kann ein maßgeschneiderter Methoden-Optimierungsreport mit Chromatogrammen, Gradientenprofilen usw. erstellt werden.

### ChromSword Auto® steuert folgende HPLC- und UHPLC-Systeme

- VWR-Hitachi
- Agilent
- Waters
- Dionex
- Knauer

### mit folgenden Chromatographie-Datensystemen (Einzelplatz und Client/Server)

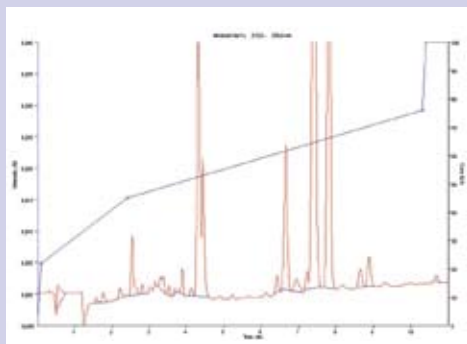
- EZChromElite™ und Agilent ChemStation®
- Waters Empower™
- Dionex Chromeleon®
- Knauer ChromGate®

### Typische Proben für die automatische HPLC-Methodenentwicklung mit ChromSword® Auto

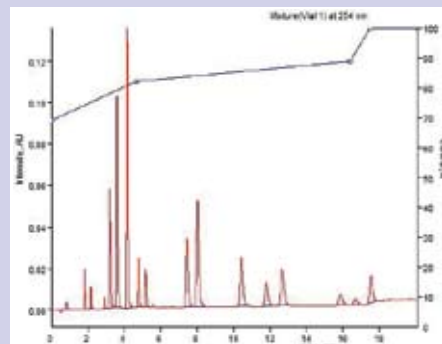
- Wirkstoffe, neue Verbindungen (auch chirale Trennungen)
- pharmazeutische Formulierungen
- Hauptprodukte und unbekannte Verunreinigungen, Nebenprodukte, Abbauprodukte
- Reaktionsmischungen
- biologische Extrakte

### Auch Trennungen schwieriger Proben können mit ChromSword Auto® entwickelt und optimiert werden:

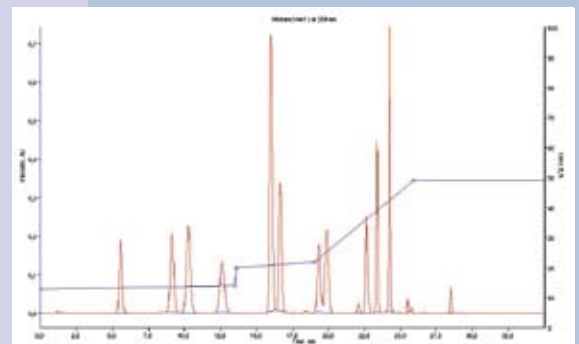
- chirale Substanzen / Enantiomere
- achirale Isomere und Diastereomere
- anorganische Ionen
- Proteine und Peptide
- Kohlehydrate
- extrem hydrophile Substanzen
- extrem hydrophobe Substanzen
- hoch geladene Substanzen
- extrem niedrige Substanzkonzentration (< 0.05 %)
- Proben mit mehr als 50 Peaks



Fein-Optimierung der Trennung einer pharmazeutischen Probe mit Verunreinigungen



Fein-Optimierung der Trennung von 16 Standards von Polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAH)

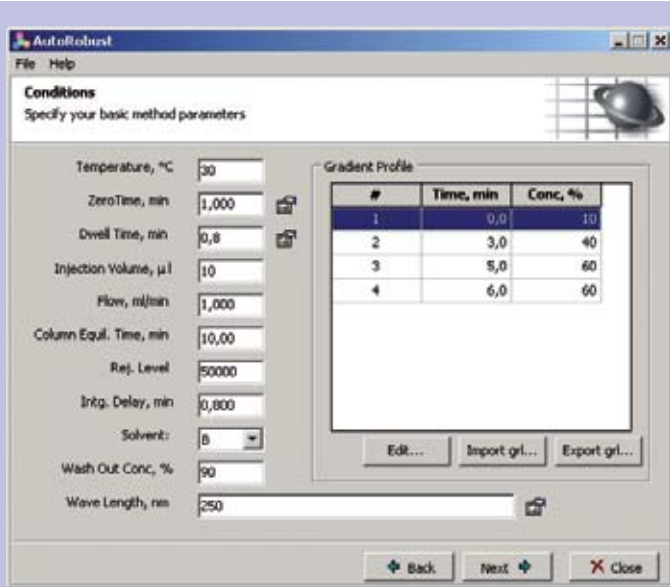


Fein-Optimierung der Trennung von Standards von pharmazeutischen Substanzen

## AutoRobust

### Ihr Experte für die automatische Durchführung von HPLC Robustheitsstudien

#### Was bedeutet Methoden-Robustheit?



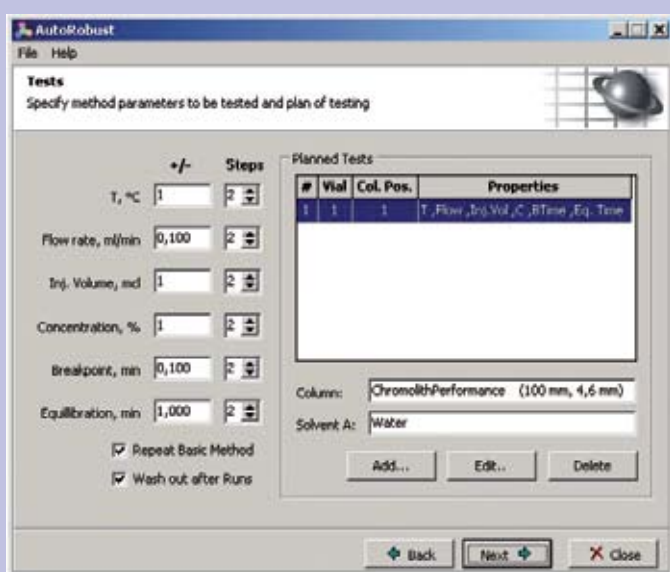
Eingabe der Methoden-Parameter der Originalmethode

Bei der Anwendung einer Analysenmethode im Routinelabor ist es unvermeidlich, dass kleine Abweichungen von den beschriebenen Verfahrensbedingungen auftreten. Gründe dafür sind z.B. die Verwendung unterschiedlicher Analysensysteme, anderer Reagenzien, neuer Ansätze von Eluentensystemen, einer anderen Säule oder anderer Labor-Umweltbedingungen.

Eine robuste Analysenmethode ist unempfindlich gegen solche kleinen Variationen der Methodenparameter. Bei Chromatographiemethoden heißt das, dass sich die Peak-Auflösung nicht oder nur geringfügig ändert, so dass auch unter leicht variierenden Bedingungen zuverlässige Analysenergebnisse erhalten werden.

Falls eine Analysenmethode jedoch empfindlich gegenüber kleinen Variationen der Methodenbedingungen ist, müssen die beschriebenen Methodenparameter sehr sorgfältig kontrolliert und eingehalten werden, um sicherzustellen, dass zuverlässige Analysenergebnisse erhalten werden.

Zur Prüfung, ob eine Methode robust ist oder nicht und zur Ermittlung der einzuhaltenden Toleranzgrenzen für die Variationen der Methodenparameter sollte eine Robustheitsstudie durchgeführt werden (s. ICH Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2 (R1), chapter 8: Robustness, [www.ich.org](http://www.ich.org)).



Einfachste Programmierung des Testplans für die Robustheitsstudie. Mit einem Chromatographie-Datensystem müsste dagegen für jede Parameter-Variation eine eigene Methode erstellt werden.

#### Wie führt man eine Robustheitsstudie durch?

Bei Chromatographiemethoden werden z.B. die Effekte von Änderungen der Lösungsmittelzusammensetzung, des pH-Wertes, der Temperatur, der Fließgeschwindigkeit usw. sowie des Einsatzes von Säulen unterschiedlicher Chargen auf die Präzision und Richtigkeit der Analysenergebnisse geprüft. Die Auswahl der zu prüfenden Parameter liegt im Verantwortungsbereich des Methodenentwicklers und ergibt sich meist aus den Erfahrungen bei der Methodenentwicklung.

Je nachdem, wie viele Methodenparameter geprüft werden sollen, sind für eine Robustheitsstudie mehr oder weniger umfangreiche experimentelle Arbeiten notwendig. 100 und mehr erforderliche Chromatographie-Läufe sind oft keine Seltenheit.

Zur Durchführung einer Robustheitsstudie mit einem HPLC-System muss im Chromatographie-Datensystem jede Variation der ursprünglichen Methode als neue Methode eingegeben werden.

Zusätzlich muss für jede Variation eines Parameters die entsprechende System-Äquilibrierung und Spülung der Säule vorgesehen werden. Daher ist die manuelle Programmierung der meist sehr umfangreichen experimentellen Matrix für eine Robustheitsstudie sehr aufwändig und fehleranfällig.

## Die AutoRobust-Software

wurde speziell für die einfache und automatisierte Durchführung von Robustheitsstudien entwickelt.

### Einfachste Programmierung

Die Programmierung der experimentellen Matrix für die Robustheitsstudie erfolgt mit Hilfe eines Programmierassistenten über nur zwei Schirmbilder:

1. die Eingabe der Parameter der ursprünglichen Methode (nach automatischer Methodenoptimierung mit ChromSword Auto® kann die Methode direkt importiert werden)
2. die Eingabe der gewünschten Variationen der Methodenparameter. Die gesamte Programmierung der Robustheitsstudie dauert damit nur wenige Minuten.

#### AutoRobust

Folgende Variationen der Methodenparameter sind programmierbar:

- Temperatur z.B.  $\pm 1^\circ\text{C}$
- Fließgeschwindigkeit z.B.  $\pm 0.1$  mL/min
- Lösungsmittelzusammensetzung z.B.  $\pm 1\%$  organisches Lösungsmittel
- Gradientenprofil z.B.  $\pm 0.1$  min der Gradientenstufen
- Puffer-Konzentration / pH-Wert z.B.  $\pm 0.1$  pH
- Injektionsvolumen z.B.  $\pm 1$   $\mu\text{L}$
- Äquilibrationszeit z.B.  $\pm 1$  min
- Detektionswellenlänge z.B.  $\pm 1$  nm
- Säulen-Charge z.B. 3 verschiedene Chargen unter Verwendung eines automatischen Säulenschaltventils

### Automatische Durchführung der Robustheitsstudie

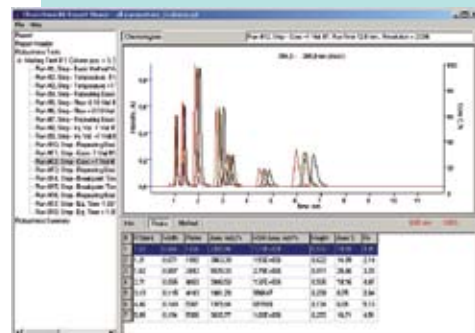
Nach Vorbereitung des HPLC-Systems mit Säule(n), Probe(n) und Eluenten wird die Aufnahme der Chromatographieläufe in der AutoRobust-Software gestartet. AutoRobust steuert das Gesamtsystem sowie den Ablauf der Analysensequenz mit den entsprechenden Variationen der Methoden-Parameter inklusive aller notwendigen Spül- und Äquilibrierungsschritte.

### Dokumentation, Report und Auswertung

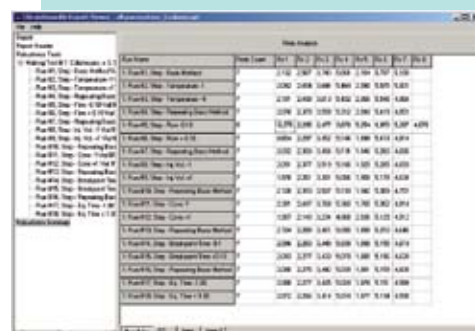
Während des Ablaufs der Analysensequenz werden alle Schritte des Verfahrens in einem Report automatisch dokumentiert. Alle bereits erfassten Chromatogramme können angezeigt und mit Hilfe der Tabelle der Peak-Parameter analysiert werden. Ein besonders wichtiger Parameter hierfür ist die Peak-Auflösung der kritischen Peak-Paare.

Nach Beendigung der Experimente für die Robustheitsstudie werden die Peak-Parameter aller erfassten Chromatogramme (z.B. die Werte der Peak-Auflösung) in Übersichtstabellen zusammengefasst. Alle Chromatogramme, Tabellen und Daten können in einem automatisch erstellten Report der Robustheitsstudie nach den Wünschen des Anwenders zusammengefasst werden.

Durch Auswertung dieser Chromatogramme und Daten ist ersichtlich, ob und ggf. hinsichtlich welcher Parameter-Variationen eine Methode empfindlich ist. Darüber hinaus können, insbesondere mit Hilfe der Übersichtstabellen zur Peak-Auflösung, die maximalen Toleranzgrenzen für die einzelnen Methodenparameter bestimmt werden.



Ergebnisanzeige der Robustheitsstudie mit dem Report-Viewer. Anzeige der Chromatographieläufe und jeweilige Parametervariation (links). Die Chromatogramme der verschiedenen Läufe können überlagert werden. Zu jedem Chromatogramm kann die Tabelle der zugehörigen Peakparameter aufgerufen werden.



Übersichtstabelle der Peakparameter (hier der Peak-Auflösungsfaktoren) aller Chromatographieläufe mit allen Parameter-Variationen.

AutoRobust und ChromSword Auto® steuern folgende HPLC- und UHPLC-Systeme

- VWR-Hitachi
- Agilent
- Waters
- Dionex
- Knauer

mit folgenden Chromatographie-Datensystemen (Einzelplatz und Client/Server)

- EZChromElite™ und Agilent ChemStation®
- Waters Empower™
- Dionex Chromeleon®
- Knauer ChromGate®



## 9 gute Gründe für die automatische Methodenentwicklung mit ChromSword Auto®

- Trennung von mehr Substanzen und auch geringster Verunreinigungen (> 50 Peaks, < 0.05 %)
- bessere Peak-Auflösung
- höhere Robustheit und damit Zuverlässigkeit der Methode
- schnellere Trennung, kürzere Analysenzeit
- Einsparung von Zeit und Aufwand bei der Methodenentwicklung (komplette Automatisierung, Optimierung über Nacht)
- Sparen von Lösungsmittel bei der Methodenentwicklung und in der Routine-Analytik (Kosten, Entsorgung, Schonung der Umwelt)
- einfache Umstellung von Methoden auf günstigere Lösungsmittel
- Steigerung der Produktivität und Zuverlässigkeit der HPLC-Analytik
- Amortisierung der Softwarekosten nach nur wenigen Methodenoptimierungen

### Bestellinformationen:

Beschreibung	Art.-Nr.
<b>ChromSword Auto® 4.0 Professional</b> mit Säulen- und Lösungsmittelschalten (bis zu 10 Säulen, bis zu 16 Lösungsmitteln) und vielen weiteren Funktionen	908-0055
<b>ChromSword Auto® 4.0 Standard</b> mit Säulen- und Lösungsmittelschalten (bis zu 3 Säulen, bis zu 4 Lösungsmitteln)	908-0056
<b>ChromSword Auto® 4.0 Basic</b> ohne Säulen- und Lösungsmittelschalten (mit 1 Säule und 2 Lösungsmitteln)	908-0057
<b>ChromSword Auto® 2.0 Off-line</b>	908-0058
<b>AutoRobust 1.1</b>	908-0017

Weitere Software-Produkte, Upgrades, Installation und Training auf Anfrage

## Ihre VWR-Partner in Europa

### Belgien

VWR International bvba  
Researchpark Haasrode 2020  
Geldenaaksebaan 464  
3001 Leuven  
Tel.: 016 385 011  
Fax: 016 385 385  
E-mail: customerservice@be.vwr.com

### Dänemark

VWR - Bie & Berntsen  
Transformervej 8  
2730 Herlev  
Tlf.: 43 86 87 88  
Fax: 43 86 87 90  
E-mail: info@dk.vwr.com

### Deutschland

VWR International GmbH  
Hilpertstraße 20a  
D - 64295 Darmstadt  
Tel.: 0180 570 20 00\*  
Fax: 0180 570 22 22\*  
E-Mail: info@de.vwr.com  
(\*0,14 €/Min. aus d. dt. Festnetz,  
Mobilfunk max. 0,42 €/Min.)

### Finland

VWR International Oy  
Pihatörmä 1 C 1  
02240 Espoo  
Tel.: 09 80 45 51  
Fax: 09 80 45 52 00  
E-mail: info@fi.vwr.com

### Frankreich

VWR International S.A.S.  
Le Périgares – Bâtiment B  
201, rue Carnot  
94126 Fontenay-sous-Bois cedex  
Tel.: 0 825 02 30 30 (0,15 € TTC/min)  
Fax: 0 825 02 30 35 (0,15 € TTC/min)  
E-mail: info@fr.vwr.com

### Großbritannien

VWR International Ltd  
Customer Service Centre  
Hunter Boulevard - Magna Park  
Lutterworth - Leicestershire  
LE17 4XN  
Tel.: 0800 22 33 44  
Fax: 01455 55 85 86  
E-mail: uksales@uk.vwr.com

### Irland / Nord-Irland

VWR International Ltd  
Orion Business Campus  
Northwest Business Park  
Ballycoolin  
Dublin 15  
Tel.: 01 88 22 222  
Fax: 01 88 22 333  
e-mail : sales@ie.vwr.com

### Italien

VWR International s.r.l.  
Via Stephenson 94  
20157 Milano (MI)  
Tel.: 02 332 03 11  
Fax: 800 152 999  
E-mail: info@it.vwr.com

### Niederlande

VWR International B.V.  
Postbus 8198  
1005 AD Amsterdam  
Tel.: 020 4808 400  
Fax: 020 4808 480  
E-mail: info@nl.vwr.com

### Nord-Irland

VWR International (Nord-Irland) Ltd  
Orion Business Campus  
Northwest Business Park  
Ballycoolin  
Dublin 15  
Tel.: 01 88 22 222  
Fax: 01 88 22 333  
e-mail : sales@ie.vwr.com

### Norwegen

VWR International AS  
Haavard Martinsensvei 30  
0978 Oslo  
Tel.: 0 2290  
Fax: 815 00 940  
E-mail: info@no.vwr.com

### Österreich

VWR International GmbH  
Graumanngasse 7  
1150 Wien  
Tel.: 01 97 002 0  
Fax: 01 97 002 600  
E-mail: info@at.vwr.com

### Portugal

VWR International - Material de  
Laboratório, Lda  
Edifício Neopark  
Rua Tomás Ribeiro, 43- 3 D  
2790-221 Carnaxide  
Tel.: 21 3600 770  
Fax: 21 3600 798/9  
E-mail: info@pt.vwr.com

### Spanien

VWR International Eurolab S.L.  
Ronda Can Fatjó, nº 11  
Edifici Tecnopark, 3  
Parc Tecnològic del Vallés  
08290 Cerdanyola del Vallés  
Barcelona  
Tel.: 902 222 897  
Fax: 902 430 657  
E-mail: info@es.vwr.com

### Schweden

VWR International AB  
Fagerstagatan 18a  
163 94 Stockholm  
Tel.: 08 621 34 00  
Fax: 08 621 34 66  
E-mail: info@se.vwr.com

### Schweiz

VWR International AG  
Lerzenstrasse 16/18  
8953 Dietikon  
Tel.: 044 745 13 13  
Fax: 044 745 13 10  
E-mail: info@ch.vwr.com