

VARIANTEN DER S/N-BERECHNUNG

CDS THERMO SCIENTIFIC™

CHROMELEON™ 7.2



Nachfolgend werden die Möglichkeiten zu der Berechnung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses in dem Chromatographie-Datensystem Thermo Scientific™ Chromeleon™ 7.2 aufgezeigt.

Das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wird häufig aus dem Chromatogramm einer Blindprobe und einer Probe zur Retentionszeit des zu bestimmenden Analyten bestimmt. Je nach Anforderung kann der Zeitabschnitt unterschiedlich groß sein, in dem das Signalrauschen (Differenz zwischen dem größten und kleinsten Messpunkt im betrachteten Chromatogrammabschnitt) ermittelt wird. Ein häufig verwendeter Wert ist die 20-fache Halbwertsbreite des zu untersuchenden Peaks (Halbwertsbreite = Peakbreite bei 50% Peakhöhe, 10-fach nach links und 10-fach nach rechts, ausgehend von der Retentionszeit des Analyten).

Die Formel für das Signal-zu-Rausch-Verhältnis lautet:

$$S/N = \frac{H}{\frac{h_n}{2}} = \frac{2 * H}{h_n}$$

Formel 01: Signal-zu-Rausch-Verhältnis (Peak to Peak).

Mit S/N = Signal-zu-Rausch-Verhältnis, H = Signalthöhe, h_n = Rauschen

1. VARIANTE:

Berechnung des S/N-Verhältnisses mit der Thermo Scientific™ Chromeleon™ Report-Variablen „Signal-to-Noise Ratio“. Mittels der voreingestellten Parameter (siehe **Abbildung 01 bis 03**) wird in unserem Beispiel zunächst der Wert „**251,0397**“ (siehe **Abbildung 04**) ausgegeben.

Signal-to-Noise Ratio

Injection for noise calculation

<Current injection> Browse...

Method of noise calculation

Peak to peak

Time range for noise calculation

Multiple of time span

Factor: 20

Time span: peak.width(50)

Reset to Defaults OK Cancel

Abbildung 01: Default Value - Report-Variablen „Injection“.

Signal-to-Noise Ratio

Injection for noise calculation

<Current injection> Browse...

Method of noise calculation

Peak to peak

Time range for noise calculation

Multiple of time span

Factor: 20

Time span: peak.width(50)

Reset to Defaults OK Cancel

Abbildung 02: Default Value - Report-Variablen „Method“.

Signal-to-Noise Ratio

Injection for noise calculation

<Current injection> Browse...

Method of noise calculation

Peak to peak

Time range for noise calculation

Multiple of time span

Multiple of time span

Fixed interval

Number of points at time

Minimum noise for number of points

Reset to Defaults OK Cancel

Abbildung 03: Default Value - Report-Variablen „Time Range“.

Injection Number:	2
Peak Name:	Main
Peak Height:	6,108
Signal Noise:	0,035
S/N CM Variable:	251,0397
S/N CM Formula One:	346,9331
S/N CM Custom Formula:	346,9331

Abbildung 04: Result Value - Report-Variablen „Signal-to-Noise Ratio“.

In den vorangegangenen Abbildungen 01 bis 03 ist erkennbar, dass die Thermo Scientific™ Chromeleon™ Report-Variable „Signal-to-Noise Ratio“ aus drei Gruppen mit insgesamt neun Parametern zusammengesetzt ist.

In der ersten Gruppe „**Injection for noise calculation**“ wird die Injektion bestimmt, in der die Rauschberechnung stattfinden soll.

Folgende Parameter stehen hierfür zur Verfügung:

- CURRENT INJECTION (VOREINGESTELLTER WERT)

In der aktuell ausgewählten Injektion wird das Signalrauschen berechnet. Thermo Scientific™ Chromeleon™ bestimmt automatisch einen peakfreien Zeitbereich, welcher so nahe wie möglich links und/oder rechts des ausgewählten Peaks liegt. Sollte Thermo Scientific™ Chromeleon™ weder links noch rechts des Peaks einen peakfreien Zeitbereich finden, wird im Report Template als Wert „n.a.“ ausgegeben, da das Signalrauschen nicht berechnet werden kann. Werden zwei geeignete Zeitbereiche von Thermo Scientific™ Chromeleon™ gefunden, wird der Bereich ausgewählt, in dem der größere Signal-Rausch-Wert gefunden wurde.

- BLANK RUN OF CORRESPONDING PROCESSING METHOD

Als Limitierung für die Rauschberechnung werden die Einstellungen für den Blank Run der „Processing Method“ in der Registerkarte „Chromatogram Substraction“ verwendet. Der Zeitbereich wird links und rechts gleichmäßig um die Retentionszeit herum angeordnet, wo der ausgewählte Peak gefunden werden würde.

- RECENT BLANK RUN

Wird in der Sequenz mehr als ein Blank Run verwendet, wird mit diesem Parameter jeweils der letzte Blank Run der aktuellen Sequenz zur Berechnung des Signal-Rauschens genutzt. Der Zeitbereich wird links und rechts gleichmäßig um die Retentionszeit herum angeordnet, zu der der ausgewählte Peak gefunden werden würde.

Häufig wird der Injection Type „Blank“ genutzt, um lediglich die Data Acquisition aufzuzeichnen. Als Default Einstellung wurde der Wert „Skip“ für das Inject Command festgelegt.

In der Instrument Method muss in dem Fall, in dem der Injection Type „Blank“ tatsächlich injiziert werden soll, der Wert „Inject“ aus dem Listenfeld für das Inject Command ausgewählt werden (**siehe Abbildung 05**).

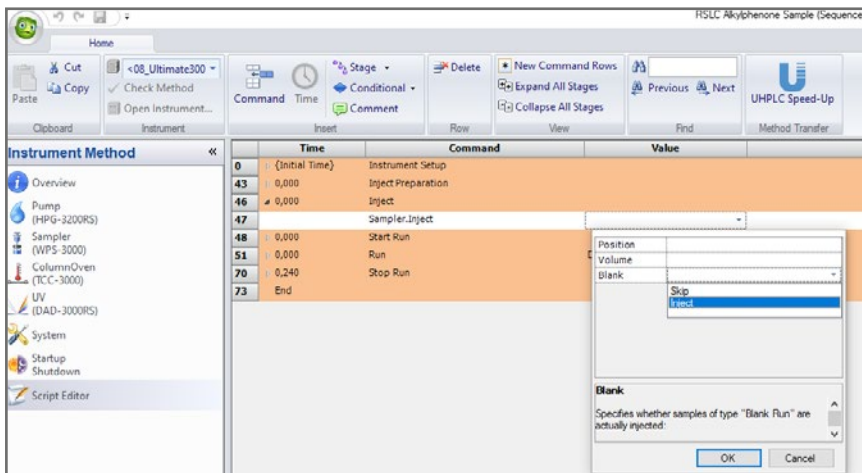


Abbildung 05: Auswahl des Inject Commands für den Injection Typ „Blank“.

Nachdem die Injektion festgelegt worden ist, muss in der zweiten Gruppe „**Method for Noise Calculation**“ eben diese Methode zur Berechnung des Signalrauschens ausgewählt werden:

- PEAK TO PEAK (VOREINGESTELLTER WERT)

Der Parameter „Peak to Peak“ bestimmt das Signalrauschen entsprechend des Testverfahrens der American Society for Testing and Materials (ASTM), siehe auch Formel 01 auf Seite 1.

- ROOT OF MEAN SQUARES (RMS)

Die zweite Methode der Berechnung des Signalrauschens basiert auf der Wurzel der mittleren Quadrate. Gemäß dieser Methode wird das Signal-zu-Rausch-Verhältnis wie folgt berechnet:

Gegeben ist ein Zeitbereich $[t_s, t_e]$, der die n Signalpunkte $(t_i; w_i)$ enthält, wobei t_i die Zeit des i -ten Datenpunkts und w_i sein Signalwert ist. Hieraus werden die folgenden Werte berechnet:

- **Geradengleichung mit $a =$ Steigung und $b =$ y-Schnittpunkt: $y = ax + b$.**
- **Der RMS wird als Wurzel des mittleren quadratischen Fehlers zwischen der angepassten Linie und den Signalpunkten berechnet:**

$$S/N = \frac{H}{\frac{h_n}{2}} = \frac{2 * H}{h_n}$$

Formel 02: Allgemeine Formel zur Berechnung des mittleren quadratischen Fehlers.

$$S_{RMS} = \sqrt{\frac{x_1^2 + x_2^2 + \dots + x_n^2}{n}}$$

Formel 03: Darstellung der Formel in Einzelschreibweise.

$$S_{RMS} = \sqrt{\frac{1}{\max(1, n - 2)} \sum_{i=1}^n (at_i + b - w_i)^2}$$

Formel 04: Darstellung der Formel des mittleren quadratischen Fehlers für Thermo Scientific™ Chromeleon™ 7.2.

- **Diese Werte werden verwendet, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis für einen Peak zu berechnen:**

$$S/N = \frac{\text{Peak Height}}{S_{RMS}}$$

Formel 05: Berechnung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses mit dem Parameter „Root of Mean Squares“.

In der dritten und letzten Gruppe „**Time Range for Noise Calculation**“ muss ein Parameter aus vier möglichen zur Definierung des Zeitbereiches ausgewählt werden, in dem die Berechnung des Signalrauschens stattfindet:

- MULTIPLE OF TIME SPAN

Unter diesem Parameter werden zwei Editierfelder („Factor“ und „Time span“) dargestellt. Im numerischen Editierfeld „Factor“ muss der ganzzahlige Wert für die Multiplikation der Peakbreite des nachfolgenden Editierfeldes „Time span“ eingegeben werden. Unter dem Editierfeld „Time span“ kann aus zwei Report-Formeln, „peak.width“ und „peak.width(50)“, ausgewählt werden. In der Report-Formel „peak.width“ wird die Peak-Breite auf der Basislinie des ausgewählten Peaks zur Berechnung des Zeitbereiches herangezogen, während die Report Formel „peak.width(50)“ die Peak-Breite bei 50% der Peak-Höhe des ausgewählten Peaks zur Berechnung des Zeitbereiches verwendet.

- FIXED INTERVAL

In diesen beiden Editierfeldern „Start Time“ und „Stop Time“ muss die Startzeit bzw. Stopzeit des Zeitbereiches eingetragen werden, in dem die Berechnung des Signalrauschens durchgeführt wird.

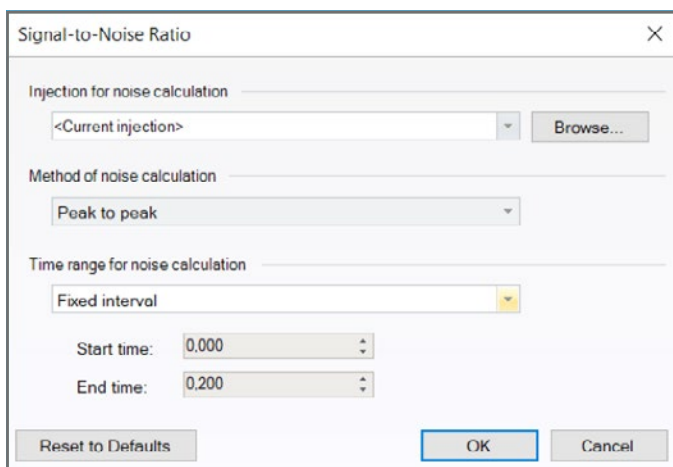
- NUMBER OF POINTS AT TIME

Nach Auswahl dieses Parameters werden die Editierfelder „Time“ und „Number of Points“ zum Bearbeiten angezeigt. Unter dieser Funktion wird der Zeitbereich mittels der Anzahl der Punkte zu einer bestimmten Zeit berechnet. Zunächst muss die Startzeit im Editierfeld „Time“ definiert werden. Im zweiten Editierfeld „Number of Points“ muss die Anzahl der Punkte als ganze Zahl eingetragen werden. Wird ein negatives Vorzeichen verwendet, wird der Zeitbereich von der Startzeit aus nach links gebildet. Wird die Anzahl der Punkte als positive ganze Zahl verwendet, wird der Zeitbereich von der Startzeit aus nach rechts erstellt.

- MINIMUM NOISE FOR NUMBER OF POINTS

Dieser letzte Parameter in der Gruppe „**Time range for Noise Calculation**“ wird verwendet, um das kleinste Signalrauschen in allen möglichen Zeitbereichen des Chromatogramms zu berechnen. Das Signalrauschen wird über die im Editierfeld „Number of points“ definierte Anzahl an Punkten erfasst.

Wird das Zeitintervall beispielsweise (siehe **Abbildung 05**) auf Fixed Interval mit Start Time: 0.000 und End Time: 0.200 geändert, ändert sich das Ergebnis auf den Wert „**346,9331**“ (siehe **Abbildung 06**).



The dialog box 'Signal-to-Noise Ratio' contains the following settings:

- Injection for noise calculation: <Current injection>
- Method of noise calculation: Peak to peak
- Time range for noise calculation: Fixed interval
- Start time: 0.000
- End time: 0.200

Abbildung 05: Änderung der Time Range auf „Fixed interval“ mit den Werten von 0.000 bis 0.200.

Injection Number:	2
Peak Name:	Main
Peak Height:	6,108
Signal Noise:	0,035
S/N CM Variable:	346,9331
S/N CM Formula One:	346,9331
S/N CM Custom Formula:	346,9331

Abbildung 06: New Result Value - Report Variable „Signal-to-Noise Ratio“.

2. VARIANTE:

In dieser Variante wird das Signal-zu-Rausch-Verhältnis mittels der Formula One-Funktionalität von Thermo Scientific™ Chromeleon™ berechnet (siehe **Abbildung 07**). Dazu wird zunächst die Peak-Höhe und das Signalrauschen mit Thermo Scientific™ Chromeleon™ Report-Variablen ausgelesen (siehe **Abbildung 07**).

Injection Number:	injection.number
Peak Name:	component.name
Peak Height:	peak.height
Signal Noise:	chm.noise
S/N CM Variable:	peak.sn("Current")
S/N CM Formula One:	=2*C4/C5
S/N CM Custom Formula:	cf.S_N_Ratio_CF

Abbildung 07: Berechnung des S/N-Verhältnisses über Formula One.

Der Default-Parameter für die Report-Variable „Signal Noise“ steht auf „time range used during peak detection“ (siehe **Abbildung 08**).

Injection Number:	2
Peak Name:	Main
Peak Height:	6,108
Signal Noise:	0,035
S/N CM Variable:	346,9331
S/N CM Formula One:	346,9331
S/N CM Custom Formula:	346,9331

Properties Report Formula

Formula

Formula
chm.noise

Parameters...

Signal Noise

Compute noise in...

time range used during peak detection

custom time range

from 0,000 min. to 10,500 min.

Reset to Defaults OK Cancel

Close

Abbildung 08: Default Parameter der Variablen „Signal Noise“.

Der aus diesen Variablen resultierende Wert lautet „**346,9331**“ (siehe **Abbildung 09**).

Injection Number:	2
Peak Name:	Main
Peak Height:	6,108
Signal Noise:	0,035
S/N CM Variable:	346,9331
S/N CM Formula One:	346,9331
S/N CM Custom Formula:	346,9331

Abbildung 09: Result Value - Berechnung via Formula One.

3. VARIANTE:

Anstelle der Nutzung von Formula One-Funktionalitäten ist es auch möglich, Custom Formulas zu erstellen. In dem folgenden Beispiel (siehe **Abbildung 10**) ist die Formel bereits erstellt. Es werden die Variable „Height“ aus der Kategorie „Peak Results“ und die Variable „Signal Noise“ aus der Kategorie „Chromatogram“ nach oben genannter Formel miteinander verrechnet. Auch hier ist wichtig, dass der Parameter der Variablen „Signal Noise“ korrekt ausgewählt wird. Wie schon in Variante 2 beschrieben, ist der voreingestellte Wert „time range used during peak detection“ (siehe **Abbildung 10**).

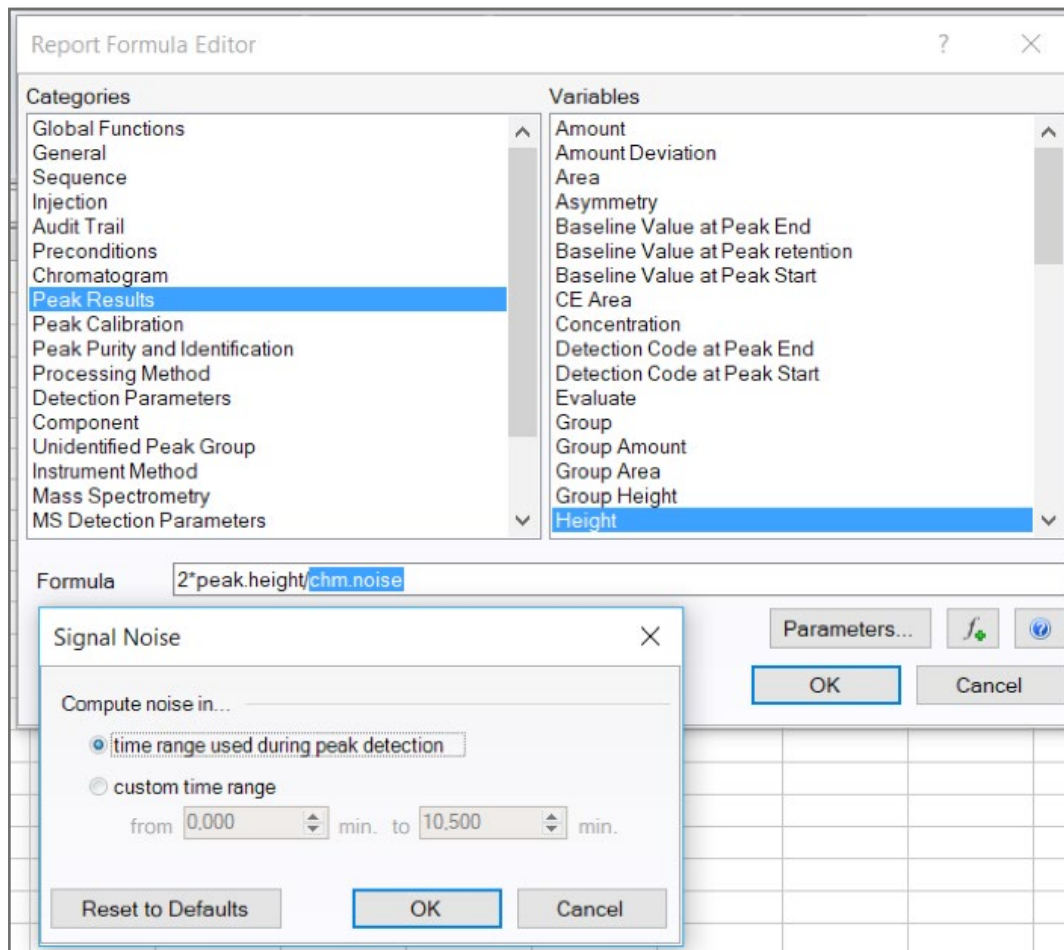


Abbildung 10: Custom Formula-Funktion.

Der aus diesen Variablen resultierende Wert lautet „**346,9331**“ (siehe **Abbildung 11**).

Injection Number:	2
Peak Name:	Main
Peak Height:	6,108
Signal Noise:	0,035
S/N CM Variable:	346,9331
S/N CM Formula One:	346,9331
S/N CM Custom Formula:	346,9331

Abbildung 11: Berechnung via Custom Formula Funktion.

ZUSAMMENFASSUNG

Alle drei Varianten liefern bei korrekter Parameterkonfiguration das gleiche, korrekte Ergebnis.

Entsprechend der regulatorischen Anforderungen muss sich für eine Variante entschieden werden. Sollte die Methode der Signal Noise-Berechnung z.B. in einem Blank-Chromatogramm gewählt werden, dann ist es sinnvoll, die Thermo Scientific™ Chromeleon™ Variable „Signal-to-Noise Ratio“ zu verwenden und die Parameter entsprechend anzupassen.

Soll ein Fixed Interval verwendet werden, welches z.B. während der Peak Detection in der Processing Method definiert wurde, dann empfiehlt sich die Verwendung der 3. Variante. Unter regulierten Bedingungen wird seitens Qpliance von der Verwendung der Formula One-Funktionalitäten abgeraten, sofern die Lösung mittels der Custom Formula-Funktion abgedeckt werden kann.



MARTIN ALT

Director of Operations, Qpliance GmbH

Seit 2002 ist Martin Alt in der Pharma-Industrie tätig. Er befasste sich in den ersten Jahren mit dem Thema Stabilitätsanalytik, bevor er 2009 in die statistische Datenauswertung wechselte. In diesen ersten Jahren wurde er zum GMP-Berater und Experte für Dokumentation qualifiziert. Seit Mitte 2013 ist Martin Alt als Consultant für die Pharma- und Life Science Industrie tätig. Hier erwarb er die Trainer-Zertifizierung für das ThermoFisher Scientific Chromatographie-Daten-System Thermo Scientific™ Chromeleon™ 6 und 7. Er ist einer der drei geschäftsführenden Gesellschafter der im August 2018 gegründeten Qpliance GmbH. Sein Haupttätigkeitsfeld neben Thermo Scientific™ Chromeleon™ Trainings ist die kundenseitige Validierungsdokumentation bei der Einführung computergestützter Systeme.

E-Mail: martin.alt@qpliance.com

www.qpliance.com



Qpliance GmbH

Marie-Curie-Str. 3 | 14656 Brieselang

Tel.: +49 (0) 3 32 32 46 47 43

Mobil: +49 (0) 163 2 04 49 22

info@qpliance.com

[**www.qpliance.com**](http://www.qpliance.com)