

NMR-Spektroskopie mit MATLAB auf dem Weg in die Routineanalytik

Thomas Hausler
CVUA-Karlsruhe

MATLAB EXPO München, 27. Juni 2017

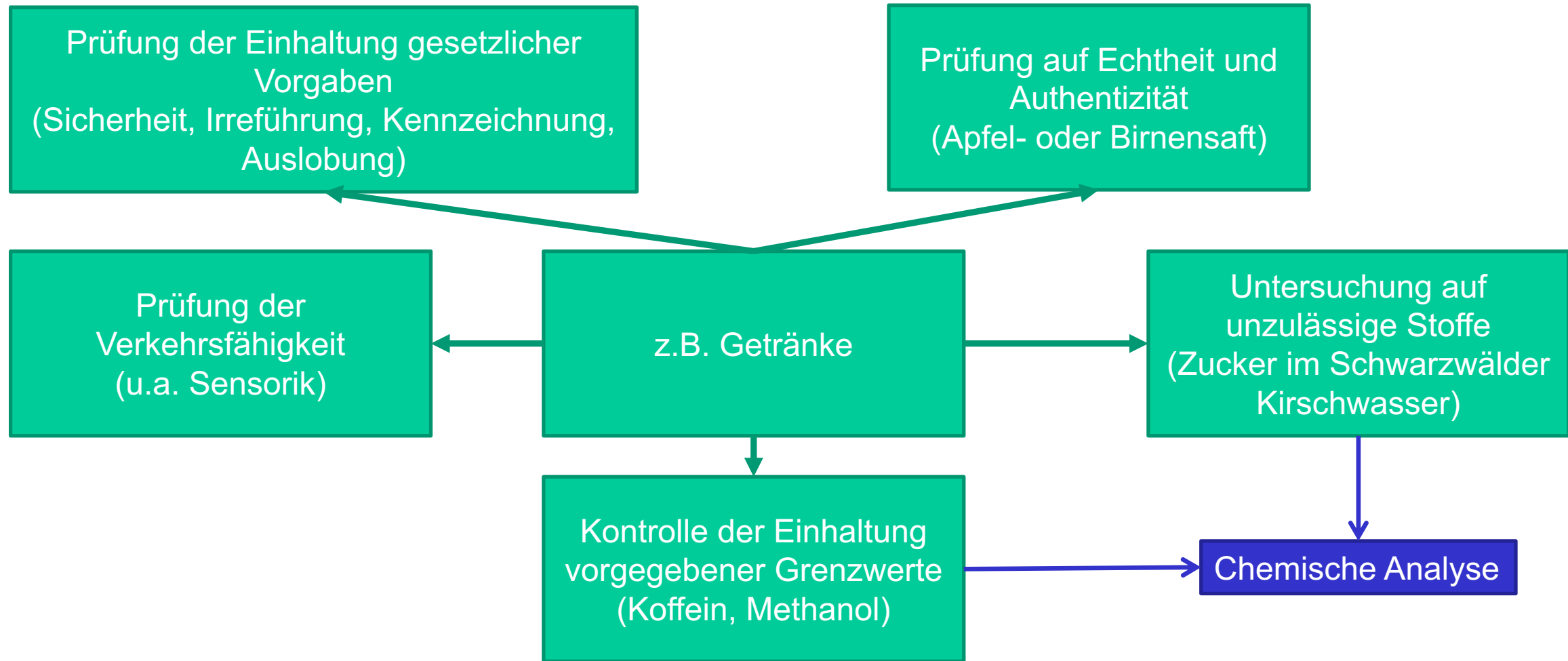


Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe



BOSCH
Technik fürs Leben

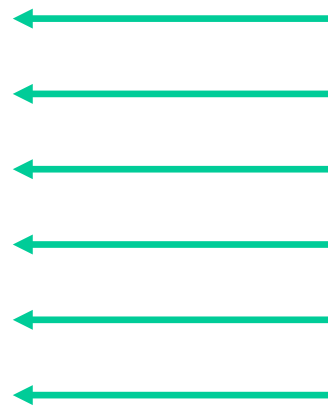
Aufgaben der amtlichen Überwachung



Untersuchung einer Probe

Hauptkomponenten

Glucose
Saccharose
Fructose
Milchsäure
Ethanol
Methanol



Koffein
Taurin
Zitronensäure
Vitamin C
Äpfelsäure
Essigsäure

Methoden

Gaschromatographie

Hochleistungs-Flüssigchromatographie

Infrarotspektroskopie

Enzymatik

UV/Vis-Spektroskopie

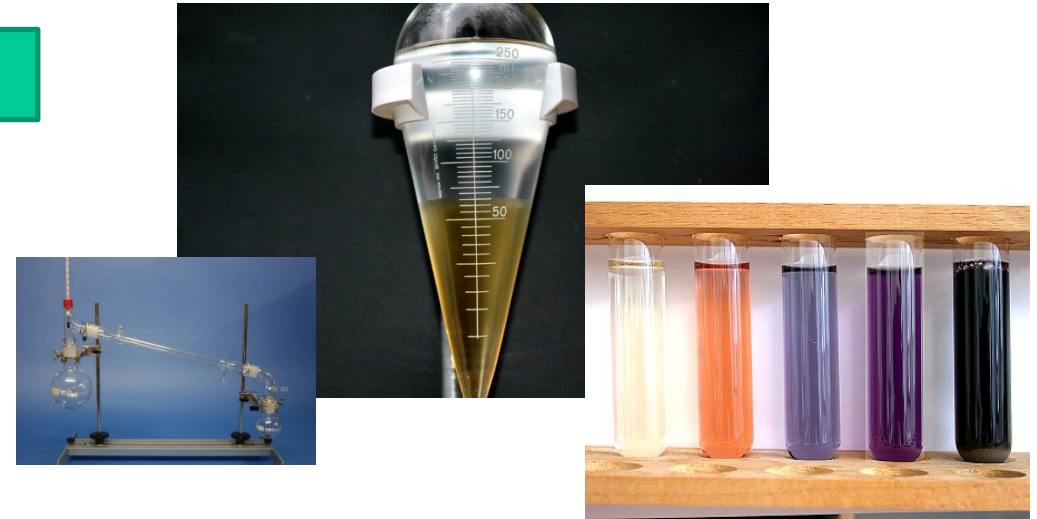


Untersuchung einer Probe

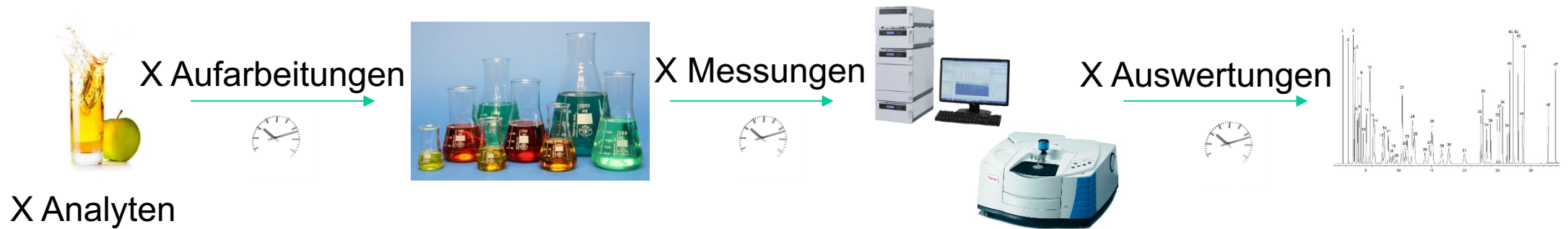
Problem:

Viele unterschiedliche Methoden bedeuten hohen präparativen Aufwand (Extraktion, Filtration...)

Hohe Probenanzahl bei Routineuntersuchungen



Keine der genannten Analysemethoden erfasst eine Vielzahl an Analyten mit einer einzigen Messung



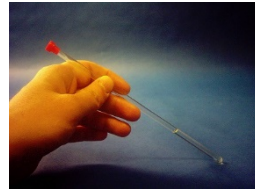
Kernresonanzspektroskopie

Die Lösung?
Kernresonanzspektroskopie (NMR)



X Analyten

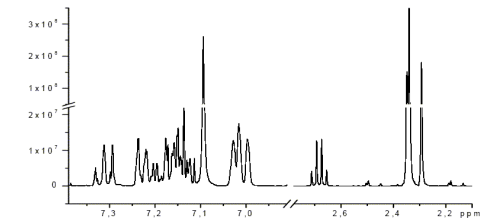
1 Aufarbeitung



1 Messung



1 Auswertung



Kernresonanzspektroskopie

Warum NMR für Routineuntersuchungen?

Anforderung: Untersuchung einer hohen Menge an Proben bei verhältnismäßigem Aufwand

Einfache Aufarbeitung?

nach optionaler Filtration, nur Zugabe eines Puffers nötig



Parallele Erfassung vieler Analyten?

Radiofrequenzpuls wirkt auf alle NMR aktiven Kerne

→ Antwort ist charakteristische Frequenz für jeden Analyt



Automatisierte Messung mehrerer Proben?

Durch Probengeber Vorbereitung von bis zu 60 Proben möglich



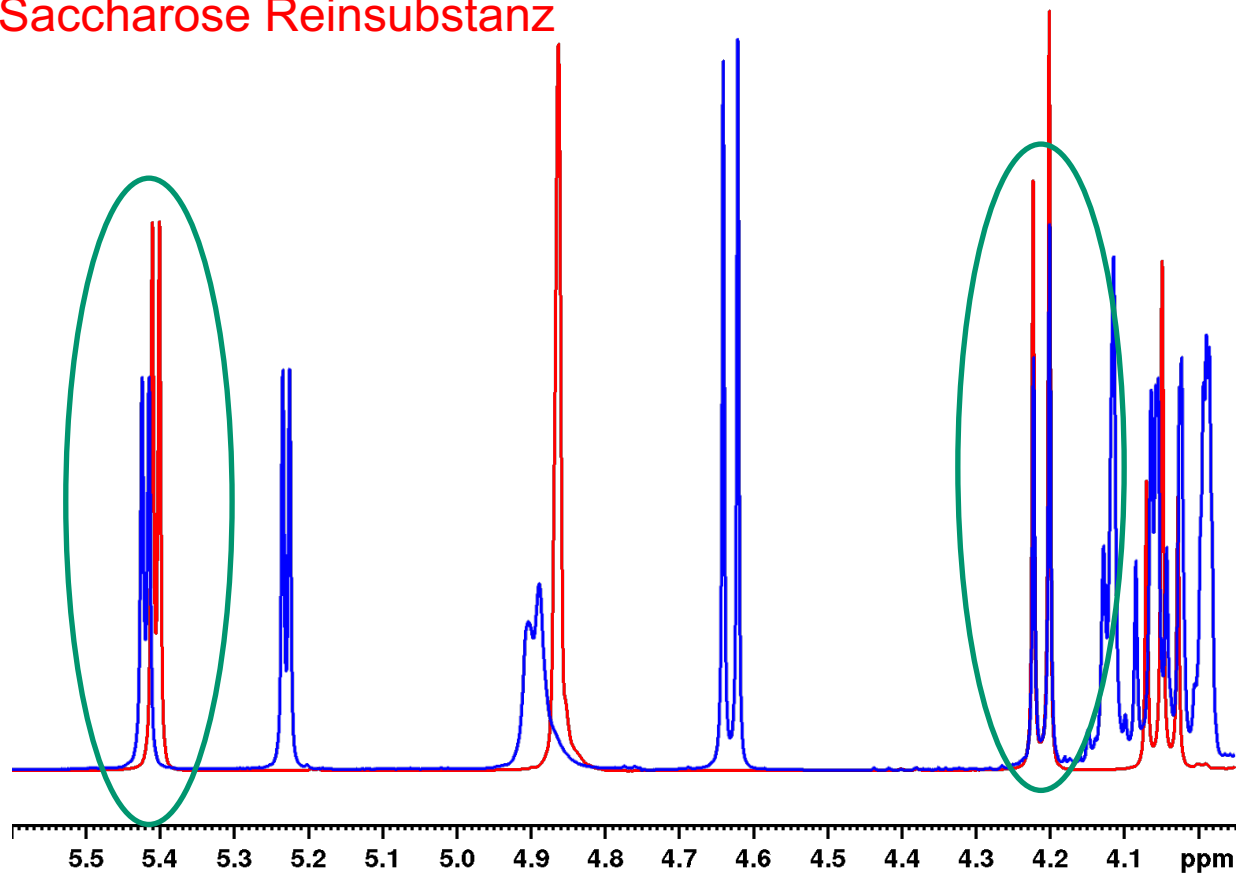
→ Auswertung : Standardisierung und valide Ergebnisse notwendig ←



Das NMR-Spektrum

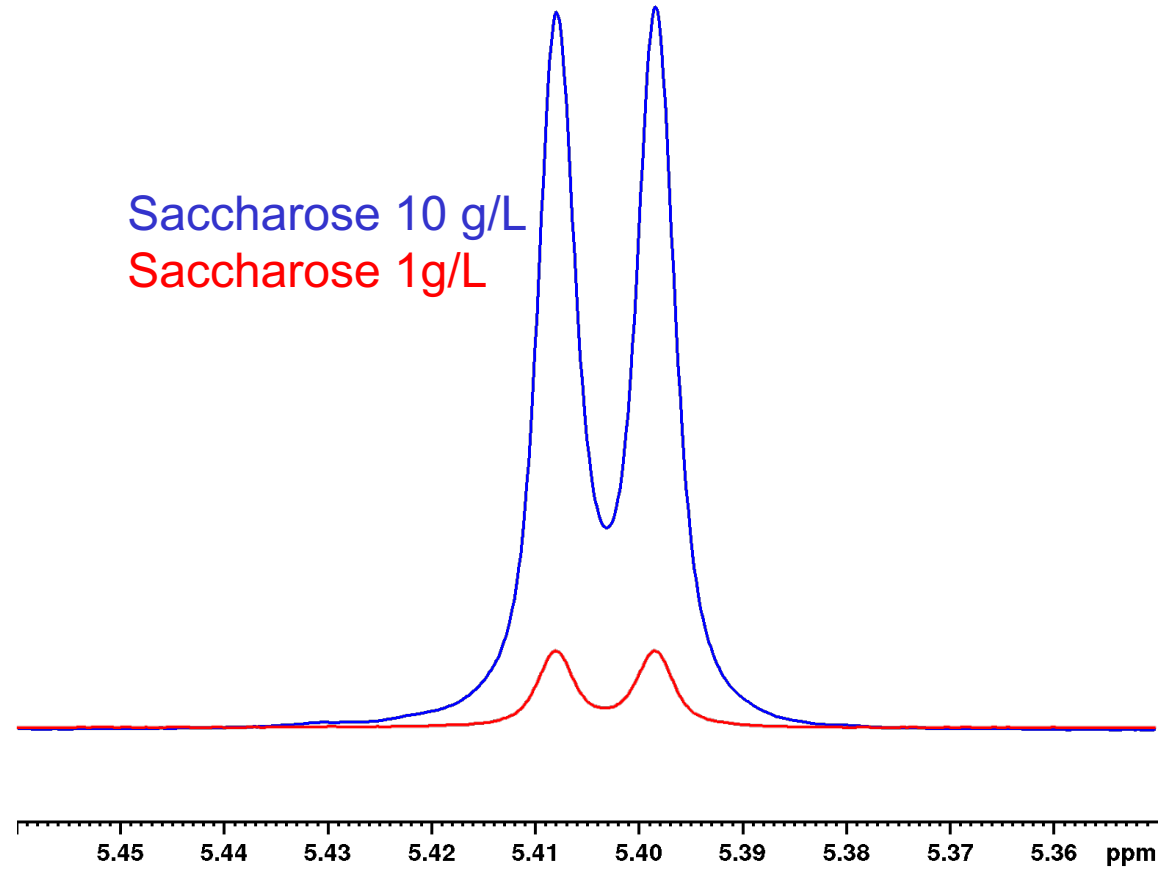
Saccharose in Probengetränk
Saccharose Reinsubstanz

Qualität und Quantität



Identifizierung

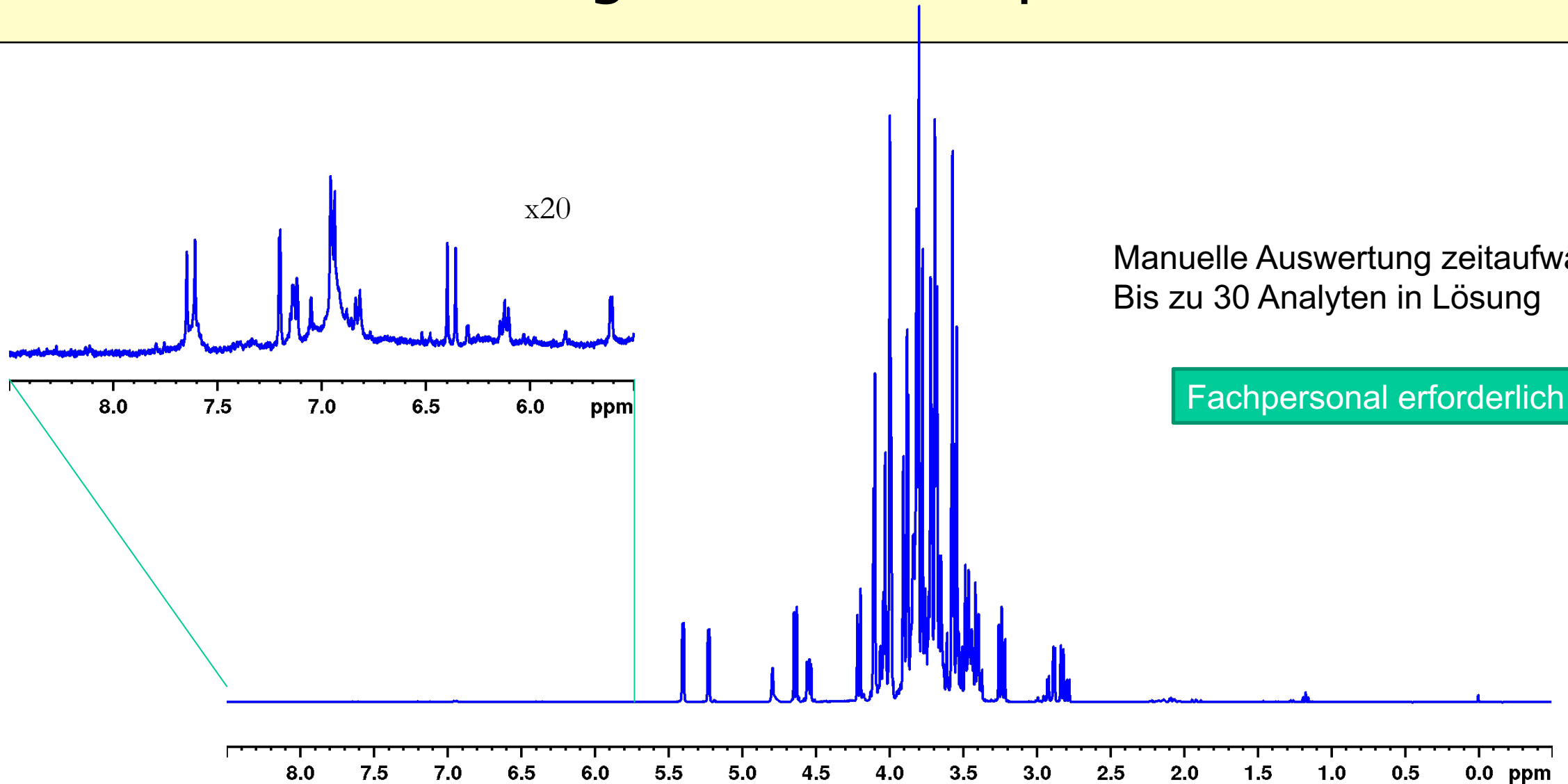
Saccharose 10 g/L
Saccharose 1g/L



Quantifizierung



Auswertung eines NMR Spektrums



Manuelle Auswertung zeitaufwändig
Bis zu 30 Analyten in Lösung

Fachpersonal erforderlich



Automatisierung mit MATLAB

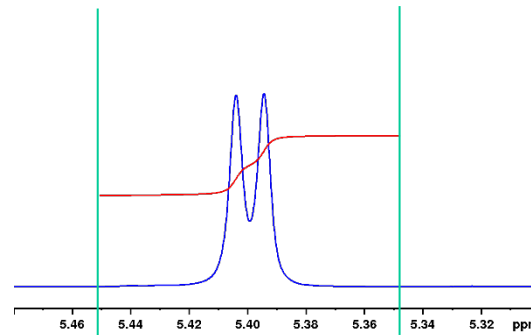
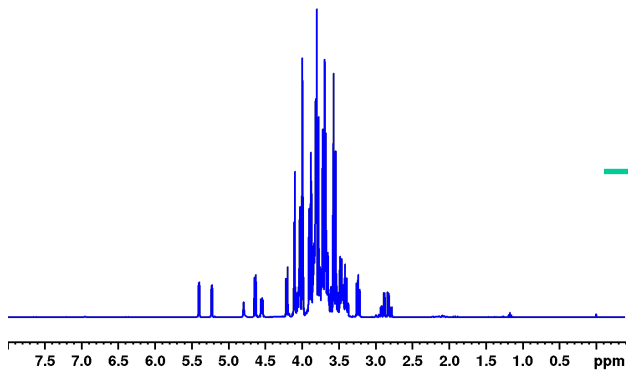
NMR-Spektrum

Informationen zu Analyten:
Anzahl an Signalen
Integrationsbereiche



Signalflächen

Gefundener Gehalt
des Analyten in der
Probe



AFG	HMF mg/L	Ethanol mg/L	Fructose mg/L	Glucose mg/L	Saccharose mg/L	Milchsäure mg/L
150581009	8	257	28147	24075	7702	16
150581022	6	6	109	136	0	5
150581143	10	26	98	178	0	4
150593495	11	7	54	130	0	5
150593598	8	20	96	158	0	4
150593937	5	487	26	54	0	3
150594290	11	41	28937	23715	7055	8
150594291	8	22	95	179	0	4
150595496	6	36	2504	2066	217	6
150595498	7	25	117	182	0	5
150596423	7	653	31	108	0	4
fG_151009	5	2	21	64	0	971



Von der Integralfläche zum Gehalt

Tägliche Messung einer Referenzprobe:

Bekannte Substanzen in genau definierten Konzentrationen

→
Integration

Signalflächen der Referenzprobe

↓
Bekannt:
Anzahl der Kernen die das Signal erzeugen
(chemische Struktur und Konzentration)

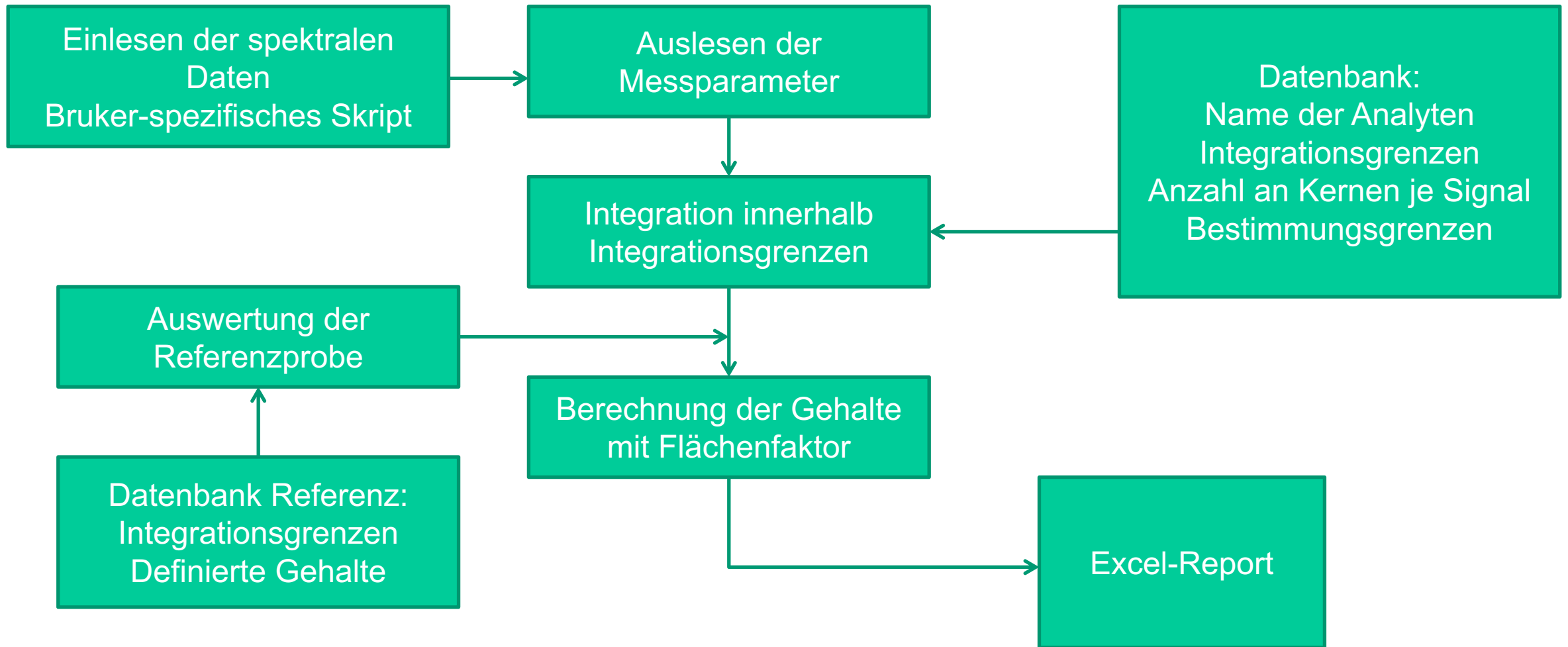
Signalfläche des Analyten in der Probe

→
Flächenfaktor

Gehalt des Analyten in der Probe in mg/L



Schritte im MATLAB-Skript



Vorteile durch Automation

Analyse von mehreren Proben gleichzeitig

Überprüfung von Qualitätsparameter:

- Linienbreite

Standardisierte Auswertung

- stets identische Integrationsparameter

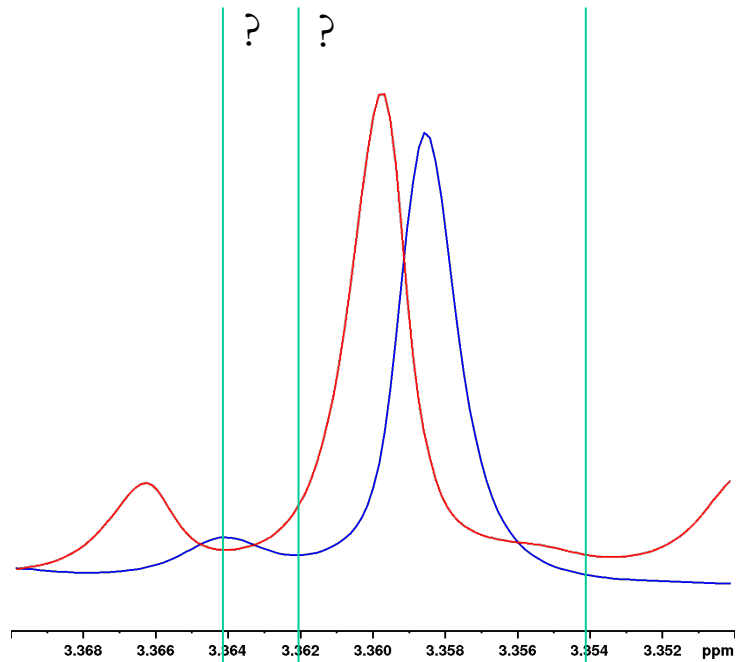
Vermeidung von Übertragungsfehler

- Automatischer Übertrag von Probennummern und Gehalte in LIMS System

Strukturierte Datenablage

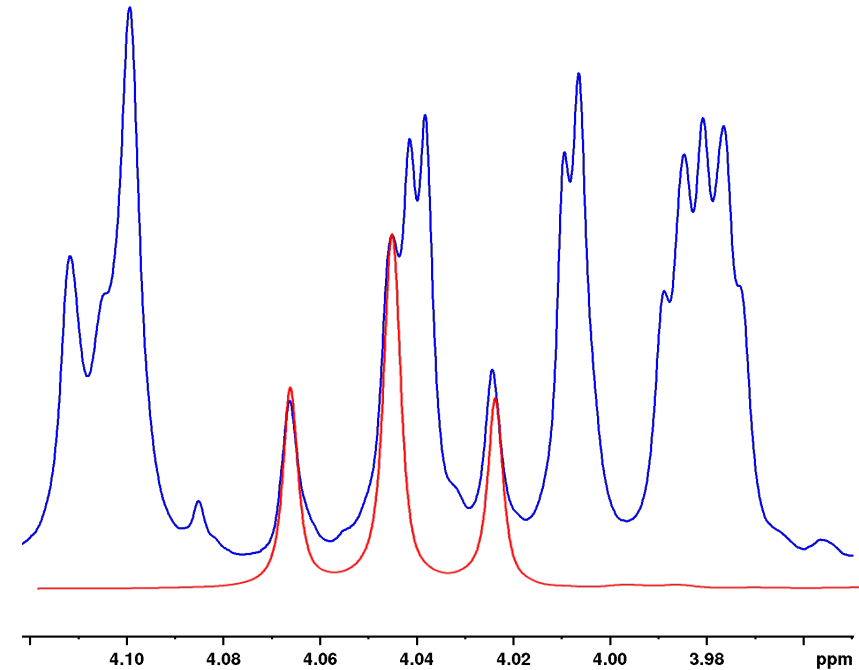


Probleme durch starre Integration



Leicht unterschiedliche Signallagen
aufgrund Matrixeffekte

→ Korrektur durch manuelle Anpassung möglich



Überlagerung mit weiteren Analyten in der Probe möglich

→ Korrektur NICHT durch manuelle Anpassung möglich



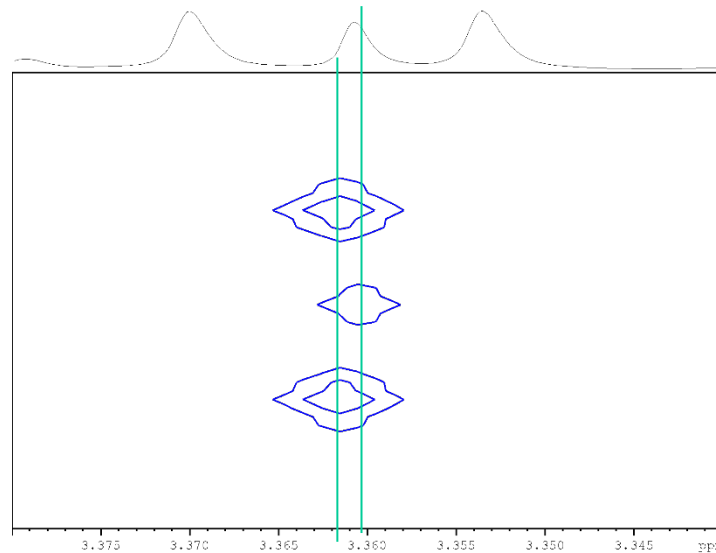
Informationsgewinn durch 2D-Spektroskopie

Problem der leichten Verschiebungsänderung

Informationen:

Ungefährer Bereich des Signals

Multiplicität (Singulett, Duplett...)



Exakte
Position

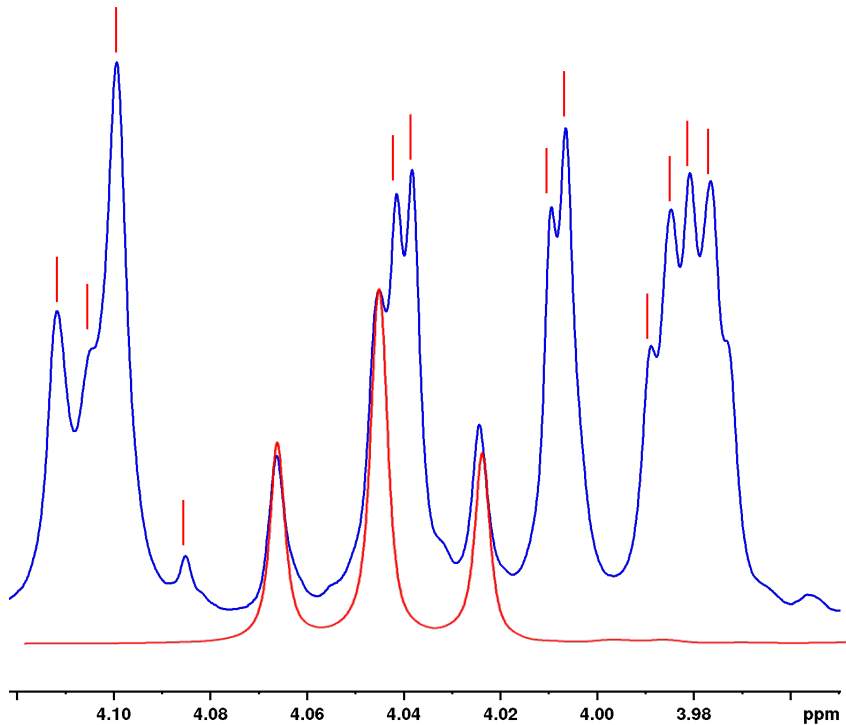


Integration

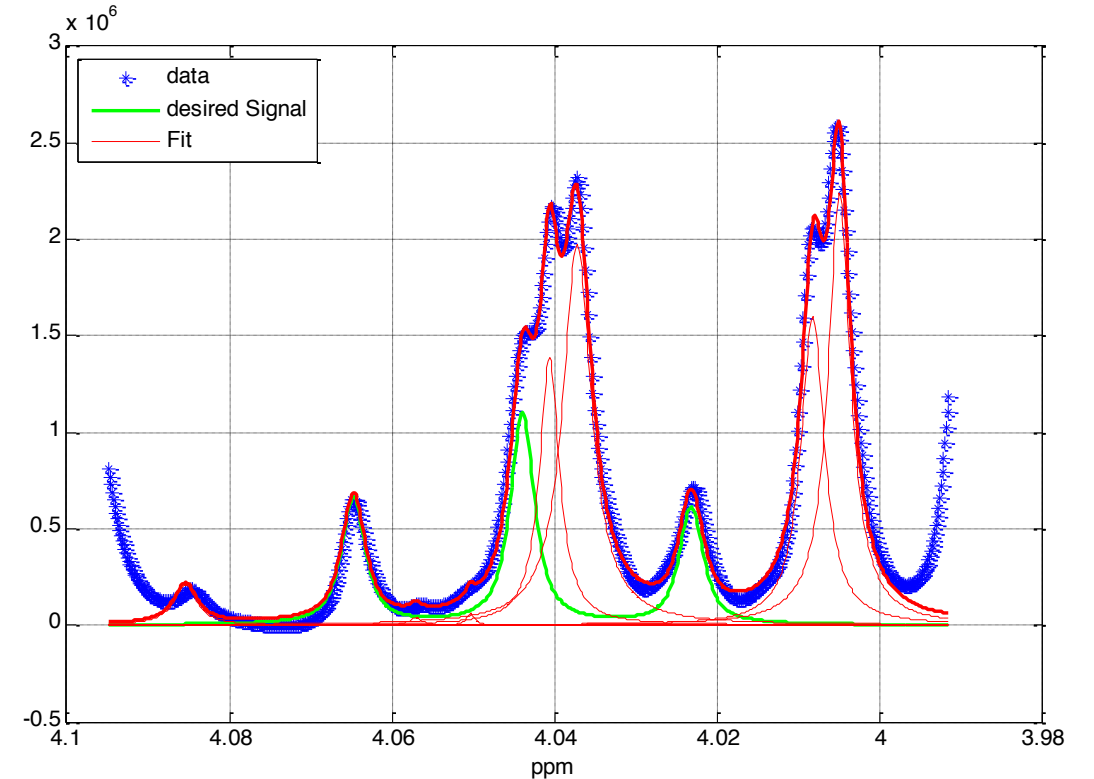


Linefitting für robuste Analysen

Problem bei Überlagerung von Signalen



Informationen
des gesuchten
Signals



Was können wir mit MATLAB

Einlesen der spektralen Daten → Bruker-spezifisches Script

Bearbeitung der Daten → Basislinienkorrektur, Auswahl bestimmter Bereiche

Einlesen von wichtigen Messparametern und deren Weiterverarbeitung

Informationsfusion unterschiedlicher NMR-Spektroskopiedaten

Line-Fitting Algorithmus durch Minimierung der Fehlerquadratsumme

Integration über trapezoidal Methode

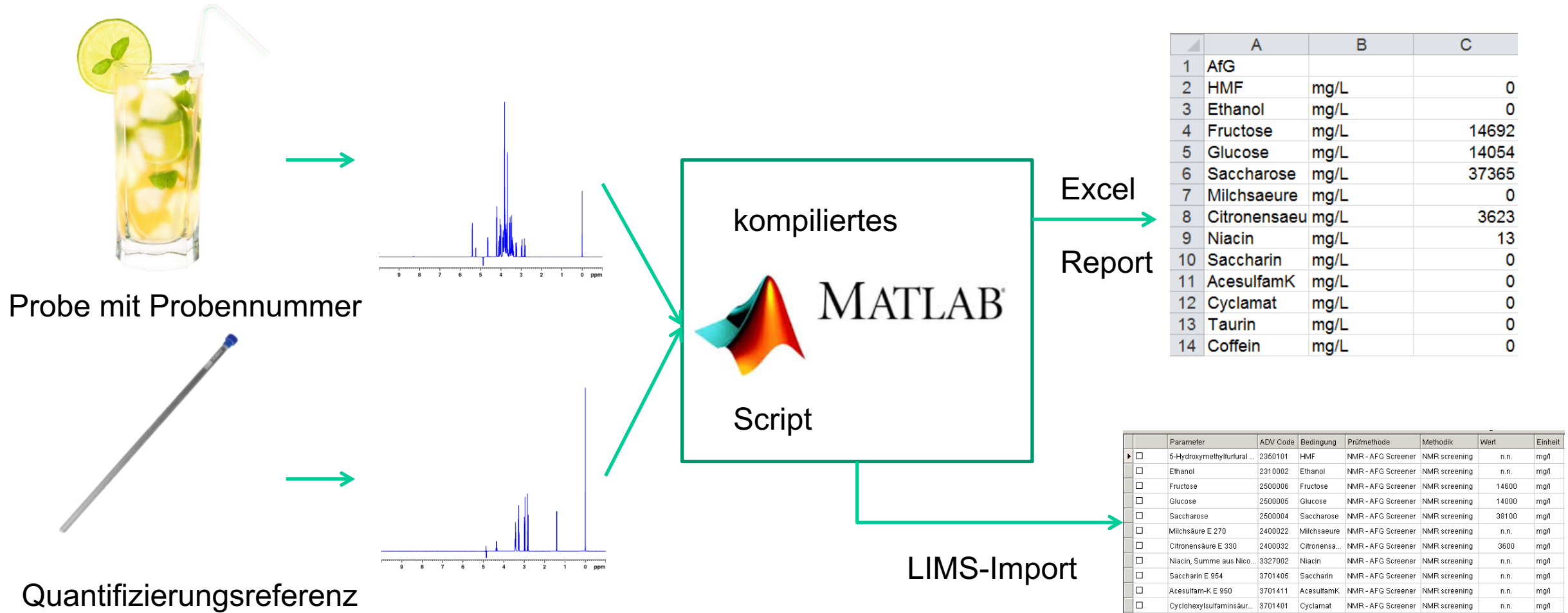
Quantifizierung durch Einbezug der Referenzprobe und dessen Parametern

Flexibles Modell → Integration weiterer Analyten, Anwendung auf unterschiedliche Matrices möglich

Kompilierung des Scriptes → keine Veränderung durch Benutzer möglich → QM relevant



Beispiel aus dem Alltag



Zusammenfassung

Automatische Quantifizierung mehrerer Analyten in unterschiedlichen Matrizes möglich

Auswertung mehrerer Datensätze mit einer Ausführung möglich

Einfache Ausführung durch Kompilierung finaler Versionen (erfüllt QM-Anforderung)

Implementierung neuer Analyten durch Erweiterung der Datenbank möglich

Gesicherte Ergebnisse durch Überprüfung von Qualitätskriterien und Verifizierung über zweidimensionale spektroskopische Methoden

Optimales Einfügen in den Laboralltag durch flexible Anpassung einzelner Skripte (Importfunktion in **LaborInforMationsSystem**)

Automatische Auswertung mit MATLAB erfüllt die Anforderungen für Routinebetrieb



**Vielen Dank für
Ihre
Aufmerksamkeit**

