

Praxishilfe: NIR-Spektroskopie in der Apotheke

Die Nahinfrarotspektroskopie (NIR-Spektroskopie, NIRS) ist im Europäischen Arzneibuch (Ph. Eur.) im Kapitel 2.2.40 als offizielle Methode aufgenommen. Das bereitet die Grundlage für den Einzug von immer mehr NIRS-Geräte in das Apothekenlabor als schnelle und einfache Methode zur Identitätsprüfung von Ausgangsstoffen. Gemäß einer Resolution der Arbeitsgemeinschaft Pharmazierate aus dem Jahr 2014 darf NIR-Technik als alternative Methode bei nachgewiesener und ausreichender Validierung zur Ausgangsstoffprüfung eingesetzt werden. Dazu muss vor der Verwendung die Eignung für die jeweilige Substanz bewertet werden. Bei einigen Substanzen ist die alleinige NIRS-Prüfung nicht ausreichend und es bedarf weiterer Prüfungen.

Grundlagen der NIR-Spektroskopie

Nahes Infrarot erstreckt sich über einer Wellenlänge von 780 bis 2500 nm bzw. einer Wellenzahl von 12800 bis 4000 cm^{-1} und weist energiereicheres Licht als mittleres Infrarot (MIR) auf. Die derzeit verfügbaren NIRS-Geräte arbeiten bei einer Wellenlänge zwischen 900 und 1900 nm. Die Messung basiert auf Transmission des Lichts durch eine Probe oder Reflexion. Bei der Messung der Reflexion dringt der Lichtstrahl in die Probe ein und der abgeschwächte wieder austretende Lichtstrahl wird gemessen.

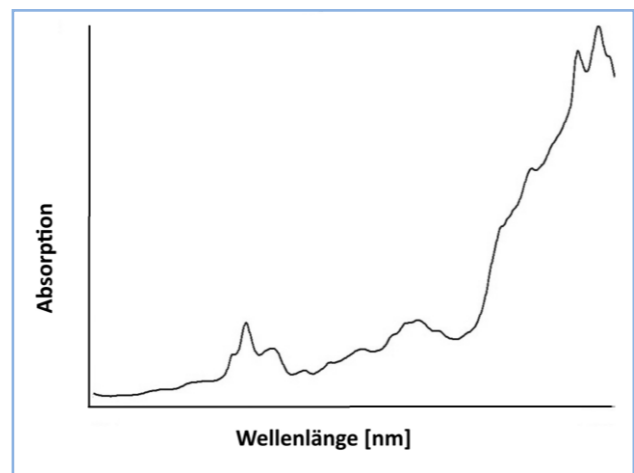


Abbildung 1: Beispielhaftes NIR-Spektrum von Paracetamol

Sowohl bei der NIR- als auch bei IR-Spektroskopie werden durch das eingesetzte Licht Schwingungen innerhalb der funktionellen Gruppen der untersuchten Moleküle ausgelöst. Bei der NIR-Spektroskopie werden die Absorptionen von Oberschwingungen verschiedener CH-, NH-, SH-, und OH-Vibrationen erfasst. Diese Oberschwingungen sind Schwingungen höherer Ordnung und damit weniger häufig vorhanden als die Grundschnwingungen, die durch mittleres Infrarot angeregt werden. Daher haben die Absorptionsbanden bei der NIR-Spektroskopie eine geringere Intensität als bei IR-Spektren, da insgesamt weniger Energie absorbiert wird. Das NIR-Licht dringt daher wesentlich tiefer in die Probe ein (wenige mm gegenüber μm bei mittlerem IR-Licht), weshalb die Aufnahme von NIR-Spektren ohne weitere Probenvorbereitung möglich ist. Glas ist zudem weitgehend transparent in diesem Wellenlängenbereich, sodass eine Probenmessung auch direkt im oder durch das Glasgefäß erfolgen kann. Abbildung 1 zeigt am Beispiel Paracetamol das Aussehen von NIR-Spektren. NIR-Spektren haben durch die Überlagerung verschiedener Schwingungen einen höheren Informationsgehalt und sind daher deutlich komplexer als IR-Spektren. Aufgrund dessen ist eine visuelle Auswertung nur in Ausnahmefällen möglich. Für die Auswertung und Identifizierung von Ausgangsstoffen in der Apotheke ist ein chemometrisches Modell in der Gerätesoftware nötig.

Chemometrische Modelle

Unter Chemometrie versteht man die Nutzung von Techniken der Mathematik und Statistik, um aus Daten von chemischen Systemen wie der Spektroskopie ein Maximum an Informationen zu erhalten. Durch multivariate Datenanalyse werden Informationen aus den Spektren extrahiert, um ein chemometrisches Modell zu entwickeln. Statistische Verfahren wie die Hauptkomponentenanalyse (PCA) oder die multiple lineare

Praxishilfe: NIR-Spektroskopie in der Apotheke

Regression (PLSR) identifizieren Gemeinsamkeiten in den aufgenommenen Spektren, die zur Erkennung der Ausgangsstoffe dienen. Dazu muss gemäß Ph. Eur. 5.21 (Chemometrische Methoden zur Auswertung analytischer Daten) das erstellte Modell ausreichend validiert sein. Die Entwicklung des Modells erfolgt mit einem Kalibrierdatensatz (Trainingsdatensatz), der mit einem Validierdatensatz (interner Prüfdatensatz) abgeglichen wird. Zu diesem Zweck wird durch statische Methoden

ein Teil der Daten zur Kalibrierung zurückgehalten und zum Zwecke der Validierung eingesetzt. Ist das Modell erstellt, muss es noch mit einem unabhängigen Testdatensatz geprüft werden. Diese werden auch als externer Prüfdatensatz oder externer Validierungsdatensatz bezeichnet.

Der Hersteller muss zudem sicherstellen, dass der Abstand des chemometrischen Modells zur nächsten strukturähnlichen Substanz ausreichend groß ist, um verwandte Ausgangsstoffe von der zu prüfenden Substanz zu unterscheiden.

Entwicklung eines chemometrischen Modells:

1. **Kalibrierdatensatz:** Spektren zur Entwicklung des Modells
2. **Validierdatensatz:** Abgleich des Modells mit internem Datensatz
3. **Testdatensatz:** Unabhängiger Datensatz zur Überprüfung der Leistungsfähigkeit

Einflussfaktoren auf die NIR-Messung

Die NIR-Messtechnik ist stark feuchtigkeits- und temperaturabhängig. So hat neben der Luftfeuchtigkeit sowohl die Umgebungstemperatur als auch die Temperatur der Probe einen Einfluss auf die Messung. Feuchtigkeit und Lösemittel-Rückstände ergeben messbare Absorptionsbanden in den Spektren. Zusätzlich können Feststoffe in unterschiedlichen Zuständen aufgrund ihrer Polymorphie, oder in Form von Hydraten oder Solvaten auftreten, deren NIR-Spektren sich unterscheiden. Auch amorphe Zustände können unterschiedliche Gestalt annehmen. Dies spielt insbesondere bei dem Alter einer Probe eine Rolle, da sich Moleküle durch Lagerung ändern oder Wasser absorbiert werden kann. Gemäß Ph. Eur. müssen NIRS-Modelle daher permanent überprüft und weiterentwickelt werden.

Validierungsunterlagen der Hersteller

Für die Durchführung der NIR-Spektroskopie fordert das Europäische Arzneibuch (Ph. Eur. 2.2.40 NIR-Spektroskopie) eine validierte Referenzbibliothek mit ausreichend Aufnahmen von Vergleichssubstanzen. Die Referenzbibliothek muss kontinuierlich hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit überwacht und aktualisiert werden, um der Vielzahl an chemischen und physikalischen Einflussfaktoren Rechnung zu tragen.

Validierungselemente:

- **Spezifität:** Das zugrundeliegende Modell kann sicher eine Verwechslung ausschließen und liefert keine falsch-positiven Ergebnisse
- **Robustheit:** Analyten können auch bei Veränderung der Umgebungsbedingungen gleichbleibend bestimmt werden

Die Validierung eines chemometrischen Modells zur Identifizierung umfasst die Überprüfung der Spezifität und der Robustheit. Unter Spezifität versteht man, dass das Modell eine ausreichende Fähigkeit besitzt, zwischen dem Probenmaterial und einer Auswahl an Substanzen, die mit der Probe verwechselt werden können, zu unterscheiden. Die Prüfung der Robustheit bildet die Fähigkeit einer Methode trotz Veränderung von Umgebungsbedingungen wie Temperatur und Feuchtigkeit gleichbleibende

Praxishilfe: NIR-Spektroskopie in der Apotheke

Ergebnisse zu liefern ab. Falsch-positive Ergebnisse müssen sicher ausgeschlossen werden und falsch-negative Ergebnisse minimiert werden, damit kein falscher Wirkstoff in der Apotheke verarbeitet wird.

Um NIRS in der Ausgangsstoffprüfung nutzen zu können, muss unter Verantwortung des Apothekenleiters geprüft werden, ob die Validierungsunterlagen des Herstellers ausreichend sind. Die Kalibrierproben sollten verschiedene Chargen von unterschiedlichen Herstellern umfassen. Es sollten ein Validier- und Testdatensatz eingesetzt und keine falsch-positiven Ergebnisse erhalten worden sein.

Ist die Datenbank aktuell?

Apotheken, die NIR-Spektroskopie zur Identifizierung der Ausgangsstoffe einsetzen, sollten stets mit der aktuellen Version der Referenzbibliothek arbeiten, um die Verwendung eines ausreichend validierten Modells sicherzustellen. Firmen-Updates sollten daher stets unverzüglich auf das Gerät aufgespielt oder heruntergeladen werden. Nur so wird die Gefahr von falsch-positiven Ergebnissen ausgeschlossen. Im Zuge der Updates werden zudem durch die Herstellerfirmen neue Substanzen in die Referenzbibliotheken aufgenommen, sodass die eindeutige Identifizierung auch von neuen Produktchargen mit anderen Einflussfaktoren in der Apotheke möglich wird.

Nachweis des gültigen Validierungsberichts zum jeweiligen Prüfzeitpunkt

Teilweise fordern Überwachungsbehörden, dass der zum Zeitpunkt der Durchführung der Prüfung gültige Validierungsbericht vorgelegt werden kann. Entweder ist dies auf dem Protokoll der Messung ersichtlich oder man sollte vor dem Update der Datenbank die vorherige Version separat abspeichern.

NIR-Prüfung möglicherweise ungeeignet:

- Anorganische Salze
- Komplexe Gemische
- Salbengrundlagen
- Lösungen
- Geringe Konzentrationen

Grenzen der NIR-Spektroskopie - wann sind ergänzende Prüfungen nötig?

Derzeit sind mit den verfügbaren Geräten ca. 700 bis 1100 Ausgangsstoffe sicher identifizierbar. Die NIR-Technik kommt aber bei komplexen Gemischen, geringen Konzentrationen, Lösungen und Salbengrundlagen oder bei der Identifizierung von anorganischen Salzen an ihre Grenzen. Anorganische Salze wie Natrium- oder Kaliumchlorid werden aufgrund ihrer starren Kristallstruktur nicht

zur Schwingung angeregt und können daher nicht im NIR-Spektrum unterschieden werden. Bei einigen Salbengrundlagen, Wachsen, Fetten oder Feststoffgruppen wie die unterschiedlichen Stärkearten werden diese Substanzen bei der Ausgangsstoffprüfung nur einer Gruppe zugeteilt und eine eindeutige Identifizierung ist nicht möglich. Es müssen weitere Prüfungen zur exakten Identifizierung vorgenommen werden.

Sind im Falle der Nichteignung der NIRS die Prüfungen, die die Arzneibücher wie das Ph. Eur. oder das Deutsche Arzneibuch (DAB) vorschreiben nicht in der Apotheke umsetzbar, weil beispielsweise eine HPLC-Anlage nötig wäre, helfen die Alternativen Identifizierungen des Deutschen Arzneimittel Codex (DAC) weiter. Hier finden sich leichter durchführbare Prüfungen, die in der Apotheke möglich sind.

Praxishilfe: NIR-Spektroskopie in der Apotheke

Kontrolle des Prüfzertifikats

Eine weitere Voraussetzung um mittels NIRS-Messung in der Apotheke die Identität eines Ausgangsstoffs zu bestätigen, ist ein valides Prüfzertifikat des Herstellers. Die Anforderungen an ein Prüfzertifikat, das diesen Kriterien entspricht, ist im Kommentar der Leitlinie der Bundesapothekerkammer zur Prüfung und Lagerung von Ausgangsstoffen (BAK-Leitlinie) aufgeführt. Vor der Durchführung der Messung sollte das Prüfzertifikat auf Vollständigkeit geprüft werden.

Welche Angaben ein valides Prüfzertifikat enthalten muss, beschreibt außerdem die ZL-Praxishilfe „Prüfzertifikat von Ausgangsstoffen“ unter <https://zentrallabor.com/apothekenpraxis/praxishilfen/>.

Messung in der Apotheke

Für die Durchführung der Messung in der Apotheke sollte eine Standardarbeitsanweisung (SOP) anhand der Vorgaben der Bedienungsanleitung erstellt werden. Seitens der Herstellerfirmen stehen hierfür Vordrucke zur Verfügung. Die SOP sollte das Vorgehen in der Apotheke beschreiben und so geschrieben sein, dass sie für alle mit dem Gerät arbeitenden Personen verständlich ist und gelebt werden kann. Hier sollte außerdem die Reinigung des Messsystems beschrieben werden. Auch das Vorgehen, wenn Substanzen nicht ausreichend mit dem NIR-Gerät identifiziert werden können, sollte in der SOP erwähnt werden.

Die NIR-Geräte müssen in regelmäßigen Abständen und mindestens täglich oder nach Neustart des Gerätes einen Selbsttest durchlaufen. Dazu ist je nach Hersteller ein Schwarz-Weiß-Referenzstandard oder ein sogenannter WC1920-Standard aus einer Mischung aus Oxiden Seltener Erden vorgesehen. Dabei wird die Wellenlängengenauigkeit geprüft.

Es empfiehlt sich, die Durchführung der Selbsttests und die Verwendung des Geräts in einem Logbuch zu dokumentieren, um die Rückverfolgbarkeit der Prüfungen zu gewährleisten. Seitens der Hersteller stehen hierfür Vorlagen zur Verfügung. Alternativ ist eine Mustervorlage für ein Logbuch auf der ZL-Homepage unter <https://zentrallabor.com/apothekenpraxis/mustervorlagen/> abrufbar.

Richtige Durchführung durch Schulung der Mitarbeiter

Nur wenn die Prinzipien der NIRS-Messung von allen damit betrauten Mitarbeitern in der Apotheke verstanden wurden, können die Ergebnisse richtig beurteilt werden. Daher empfiehlt es sich, alle Mitarbeiter ausreichend zu schulen und die vom Hersteller bereitgestellten Dokumente zur Validierung leicht auffindbar zu verwalten. Hierzu eignen sich Geräteordner, die in der Nähe des Gerätes verbleiben und alle wichtigen Dokumente wie Bedienungsanleitungen, Logbücher und SOPs enthalten.

Überprüfung der Leistungsfähigkeit und Wartung

Zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der NIRS-Geräte schreibt das Ph. Eur. verschiedene Prüfpunkte vor. Dazu zählen die Überprüfung der Wellenlängengenauigkeit, der Wiederholpräzision der Wellenlänge, die photometrische Linearität bzw. Systemstabilität und das Spektrometer-Rauschen. Seitens der Hersteller ist eine Wartung und die damit verbundene Prüfung der Leistungsfähigkeit alle drei Jahre empfohlen.



Praxishilfe: NIR-Spektroskopie in der Apotheke

Verwendung von einem Gerät durch mehrere Apotheken

Prinzipiell ist das Teilen eines Gerätes innerhalb eines Verbundes von Apotheken möglich. Wichtig ist hierbei, dass die Verantwortung für die jeweilige Prüfung bei dem Apothekenleiter der durchführenden Apotheke liegt und vom dortigen Personal durchgeführt werden sollte. Die nötigen Dokumente zur Validierung oder der Durchführung müssen ebenfalls in allen Apotheken vorhanden sein.

Fazit

NIR-Spektroskopie zur Identifizierung von Ausgangsstoffen ist unter Berücksichtigung einiger Vorgaben eine sichere und schnelle Methode. Dabei sollte das Messprinzip und die Validierung der Hersteller verstanden und die Datenbank der Referenzbibliothek immer auf dem neuesten Stand sein.

Quellen

Europäisches Arzneibuch, Ph. Eur. 2.2.40 NIR-Spektroskopie

Bracher, F. et. al; Arzneibuch-Kommentar zu Ph. Eur 8.0/. 2.2.40, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 50. Lieferung, 2015.

Link, Wätzig; Gute NIR-Praxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 1. Auflage, 2016.

Rücker, Neugebauer, Willems; Instrumentelle pharmazeutische Analytik, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 4. Auflage, 2008.

Grillenberger, Den Schwingungen auf der Spur, Deutscher Apotheker Zeitung 17 (2020), S. 66.

Landesamt für Arbeitsschutz, Soziales und Gesundheit Schleswig-Holstein, Merkblatt: Einsatz von NIR-Spektroskopie bei der Prüfung von Arzneistoffen in öffentlichen Apotheken, Stand 08/2021, https://www.schleswig-holstein.de/DE/landesregierung/ministerien-behoerden/LASG/Aufgaben/Arzneimittelueberwachung/Download/data/Info/3011_Merkblatt_NIR_Apotheke.pdf?__blob=publicationFile&v=3, Lesedatum 18.07.2025

Apothekerkammer Sachsen, SLAK-Informationsblatt 3/2020, S. 17

Kommentar zur BAK-LL Prüfung und Lagerung der Ausgangsstoffe,

https://www.abda.de/fileadmin/user_upload/assets/Praktische_Hilfen/Leitlinien/Pruefung_Ausgangsstoffe_Primaerpackmittel/LL_Pruefung_Ausgangsstoffe_Kommentar.pdf, Lesedatum 14.07.2025