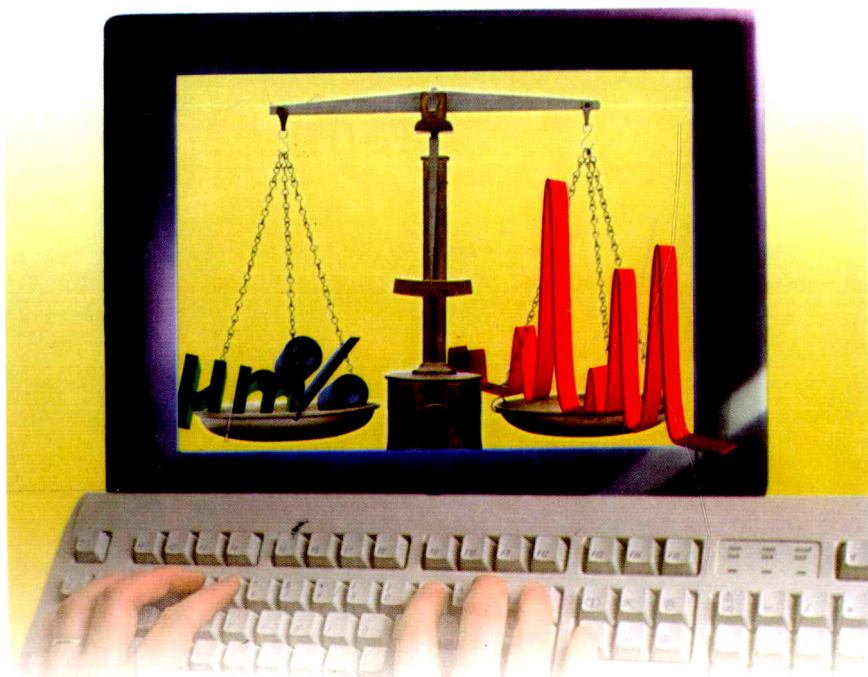


液相与气相色谱 定量分析使用指南

Quantification in LC and GC

原著 Hans-Joachim Kuss
Stavros Kromidas

译者 陈小明 唐雅妍



人民卫生出版社

液相与气相色谱 定量分析使用指南

Quantification in LC and GC

原著 Hans-Joachim Kuss
Stavros Kromidas

译者 陈小明 唐雅妍

 人民卫生出版社

Quantification in LC and GC: A Practical Guide to Good Chromatographic Data
Copyright © 2009 by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA
Originally Published in the English language by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstrasse 12, D-69469 Weinheim, Federal Republic of Germany.
Copies of this book sold without a WILEY sticker on the cover are unauthorized and illegal.

液相与气相色谱定量分析使用指南

陈小明, 唐雅妍译

中文版版权归人民卫生出版社所有。

图书在版编目 (CIP) 数据

液相与气相色谱定量分析使用指南/(英) 库斯 (Kuss, H.) 著; 陈小明等译. —北京: 人民卫生出版社, 2010. 12

ISBN 978-7-117-13370-8

I. ①液… II. ①库…②陈… III. ①液相色谱-定量分析②气相色谱-定量分析 IV. ①0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 175515 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

图字: 01-2010-1853

液相与气相色谱定量分析使用指南

译者: 陈小明 唐雅妍

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地址: 北京市朝阳区潘家园南里 1

邮编: 100021

E-mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印刷: 中国农业出版社印刷厂

经销: 新华书店

开本: 850×1168 1/32 印张: 13 插页: 4

字数: 374 千字

版次: 2010 年 12 月第 1 版 2010 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-13370 8/R · 13371

定价: 42.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

敬告：

本书的作者、译者及出版者已尽力使书中的知识符合出版当时国内普遍接受的标准。但医学在不断地发展,随着科学研究的不断探索,各种诊断分析程序和临床治疗方案以及药物使用方法都在不断更新。强烈建议读者在使用本书涉及的诊疗仪器或药物时,认真研读使用说明,尤其对于新的产品更应如此。出版者拒绝对因参照本书任何内容而直接或间接导致的事故与损失负责。

需要特别声明的是,本书中提及的一些产品名称(包括注册的专利产品)仅仅是叙述的需要,并不代表作者推荐或倾向于使用这些产品;而对于那些未提及的产品,也仅仅是因为限于篇幅不能一一列举。

本着忠实于原著的精神,译者在翻译时尽量不对原著内容做删节。然而由于著者所在国与我国的国情不同,因此一些问题的处理原则与方法,尤其是涉及宗教信仰、民族政策、伦理道德或法律法规时,仅供读者了解,不能作为法律依据。读者在遇到实际问题时应根据国内相关法律法规和医疗标准进行适当处理。

译者简介

陈小明 毕业于新疆医科大学中医学院,后赴英国 University of Strathclyde 攻读药物分析硕士学位,获得 Merit Degree,毕业论文入选第二届爱丁堡全英博士论坛优秀论文巡展,随后进入全球知名大学 University of Glasgow 攻读博士学位,并获得全额奖学金,目前攻读基因组、代谢组跨学科分析研究,熟知各种药物和生化分析技术。

联系方式:邮箱:dustinchen@gmail.com 联系电话:00447988969448

唐雅妍 毕业于广东药学院药学专业,后赴英国 University of Strathclyde 药物研究所攻读药物分析硕士学位,并获得 Distinction Degree。现于全球综合性生物制药企业阿斯利康(AstraZeneca)英国研发总部新药研发中心担任分析研究员。对如何应用各种分析手段辅助药物分子筛选,尤其对色谱学及液质联用等技术的应用具有深刻理解。

联系方式:邮箱:tangyayan@hotmail.com 联系电话:00447780769699

对书中内容有任何疑问,欢迎读者来信或致电。

前 言

色谱分析技术的发展使得越来越多的有机物质之间得到了满意的分离。劣质的分离效果最终是无法修复的,然而,由于日常工作的压力,我们并不总是对色谱分离结果的评估给予足够重视。一些人喜欢依赖的计算机程序——也就是经过确证的积分软件,确证的内容则包含在由设备供应商提供的合格证书里。尽管过去 30 年来积分算法没有长足的进步而我们也不认为这是一个很大的问题。然而,对于融合峰的积分,我们总是简单地通过垂线分割法来实现。色谱结果的评估中经常要考虑这样一个问题:“变异系数是否符合要求?”和“我测出的数据是否符合规格要求?”有时候只需要考虑这些问题已经足够了,然而在某些情况下我们还需要考虑其他方面的内容。

我们在本书中讨论了解决以下问题的方法:这个积分系统测出的积分面积和峰高准确度有多高?分析人员会检查所有这些积分结果吗?积分系统的参数有多重要,它们如何能影响到结果?我们也不能忽略这些问题,如:“我怎么才能正确地判断实验数据结果?”、“实际操作中的结果准确度有多高?”。最后别忘了提醒自己:“相关监测部门会怎么看待评估这个检测主题,我必须做哪些准备工作,又不需要进行哪些工作呢?”。因此我们邀请了富有经验的同事在这些不同的章节主题中贡献了他们的知识和经验,就此我们表示诚心的谢意。

出版这本书的目的也在于提醒读者,不要过于盲目相信你使用的积分系统计算的结果,稍微多花些时间来研究一下积分系统的利弊。我们希望这些问题的讨论能给关键性的分析色谱检测结果做出贡献,尤其是给定量检测结果提供基石。我们希望给读者提供很多的建议和思路

去找到适合他们自己的操作方法及评估方式。我们衷心感谢 WILEY-VCH 出版社,尤其是 Lesley Belfit 和 Frank Weinreich 以及其他同事的合作。

Saarbrücken 和 München

2009 年 8 月

Hans-Joachim Kuss

Stavros Kromidas

作者

Werner Engewald

University of Leipzig
Institute of Analytical Chemistry
Linnéstrasse 3
04103 Leipzig
Germany

Joachim Ermer

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
Frankfurt Chemistry Industriepark
Hoechst Building D710
Room 202
65926 Frankfurt am Main
Germany

Daniela Held

PSS Polymer Standards Service
GmbH
In der Dalheimer Wiese 5
55120 Mainz
Germany

Heiko Herrmann

Dionex GmbH
Am Wörtzgarten 10
65510 Idstein
Germany

Mike Hillebrand

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
Industriepark Höchst
65926 Frankfurt am Main
Germany

Peter Kilz

PSS Polymer Standards Service
GmbH
In der Dalheimer Wiese 5
55120 Mainz
Germany

Detlef Jensen

Dionex GmbH
Am Wörtzgarten 10
65510 Idstein
Germany

Hartmut Kirchherr

Medizinisches Labor Bremen
Haferwende 12
28357 Bremen
Germany

Stavros Kromidas

Rosenstrasse 16
66125 Saarbrücken
Germany

Hans-Joachim Kuss

Psychiatrische Klinik der
Ludwig-Maximilians-Universität
München
Nussbaumstrasse 7
80336 München
Germany

Uwe D. Neue

Waters Corporation
34 Maple Street
Milford, MA 01757
USA

Linda Ng

Center for Drug Evaluation and
Research
US Food and Drug Administration
Fishers Lane 5600
Rockville, MD 20857
USA

Ulrich Panne

Humboldt University &
BAM Federal Institute for
Materials Research and Testing &
Instrumental Analytical Chemistry
Richard-Willstaetter-Strasse 11
12489 Berlin
Germany

Ulrich Rose

15, Rue Himmerich
67000 Strasbourg
France

Daniel Stauffer

F. Hoffmann-La Roche AG
PSHW
Bau 93/1.18
4070 Basel
Switzerland

本书的结构

第 1 部分:色谱数据的评估与预测

这部分介绍了如何获取色谱数据以及如何对结果进行合理评估。

第 1 章(Hans-Joachim Kuss 和 Daniel Stauffer 执笔)描述了色谱技术的起源和哪些因素会影响到峰形、峰高和峰面积。介绍了最重要的高斯或者指数修正高斯峰的计算公式。

第 2 章(Daniel Stauffer 和 Hans-Joachim Kuss 执笔)解释了积分法涉及的参数:它们的含义是什么,在不同的积分系统中它们有何不同的称谓。

第 3 章(Hans-Joachim Kuss 执笔)集中地阐述积分法和积分法的常见错误。这里需要考虑的问题主要是商业积分系统的准确度。章节最后介绍了要核实这个问题可以利用文中提出的色谱模拟系统产生的高斯峰来印证实验结果。

第 4 章(Uwe Neue 执笔)介绍了如何实现指数修正高斯峰的色谱模拟,以及梯度高效液相色谱峰的理论背景知识。

第 5 章(Hans-Joachim Kuss 执笔)介绍了非对称性修正高斯峰积分法的特殊困难。

第 6 章(Mike Hillebrand 执笔)阐述了如何利用去卷积法“重新计算”融合峰的积分。

第 7 章(Hans-Joachim Kuss 执笔)介绍了评估和校准色谱数据的计算,包括加权校正计算。

第 8 章(Joachim Ermer 执笔)对分析数据的常用标准进行了系统和详细的阐述。

第 3~8 章中提及的大多数色谱图和图表拷贝在本书附有的 CD

中,实验案例讨论也按顺序附在表格内容后。读者每次在书中看到类似的标记如“Chromatogram. cdf”或者“Table. xls”都可以在附在书后的CD中找到这些相应的内容。

第1部分由第9章(Ulrich Panne 执笔)作为总结,涵盖了分析数据的度量衡知识点,也具体讨论了测量的不确定度。

第2部分:色谱法中不同模式的定义与界定

如何评估色谱结果取决于所采用的色谱技术。本节概括总结了不同条件下的色谱技术:第10章的气相色谱(Werner Engewald 执笔),第11章的液相色谱质谱联用(Hartmut Kirchherr 执笔),第12章的离子色谱(Heiko Herrmann 和 Detlef Jensen 执笔)和第13章的凝胶渗透色谱法(Daniela Held 和 Peter Kilz 执笔)。

第3部分:色谱数据分析的要求——从组织及官方的立场

制药行业是重点受到法律监控的行业之一。这些规定要求可以从三方面不同的角度来进行阐释:第14章的美国制药行业管理规范(Linda Ng 执笔),第15章的欧洲制药行业管理规范(Ulrich Rose 执笔)和第16章的制药行业概论(Joachim Ermer 执笔),本书最后以第17章总结了如何处理日常的分析试验数据(Stavros Kromidas 执笔)。

本书的每个章节都独立描述了一个主题,然而不同章节之间还是存在逻辑关系的,有待读者去阅读体会。我们编写此书的目的就是希望能给各位读者提供广泛的建议,以便读者在日常工作中能寻找到自己遇到工作困难时的解决办法。因此我们会鼓励不同的读者设想出甚至和作者截然不同的方法。当然一些重复描述的内容也会在本书里有所出现,我们希望这些内容不至于让原文看起来不够协调完整。读者可以从诸多不同主题的章节中获取广泛的知识点,也可以根据自己的喜好和需要重点选择一些章节阅读。

目 录

前言	xv
作者	xvii
本书的结构	xix

第 1 部分 色谱数据的评估与预测

第 1 章 色谱图的评估	3
1.1 柱效	4
1.2 EMG 模式	6
1.3 色谱图	7
1.4 选择性	8
参考文献	9
第 2 章 积分参数	10
2.1 峰识别方法	10
2.1.1 经典法	10
2.1.2 替代法	13
2.2 积分和积分参数	13
2.2.1 Empower 2 的数据获取和积分	13
2.2.2 Chromeleon 的数据获取和积分	15
2.2.3 EZChrom Elite 的数据获取和积分	17
2.2.4 ChemStation 的数据记录 and 积分	17

第3章 积分误差	19
3.1 文献中是如何描述积分误差的?	19
3.2 日常操作中的积分	22
3.2.1 积分, 简易和自动化是否可行?	22
3.2.2 以几个高峰来比较积分系统的异同	24
3.2.3 积分系统的比较—色谱图中含有许多较小的色谱峰	29
3.3 色谱图的模拟	31
3.3.1 数字色谱图的模拟	33
3.3.1.1 单峰	34
3.3.1.2 多个峰	36
3.3.1.3 噪声	37
3.3.1.4 漂移	38
3.3.1.5 峰面积	39
3.3.1.6 峰融合	42
3.3.1.7 不清楚的基线	42
3.3.1.8 拖尾	43
3.3.1.9 数据点的间隔	43
3.3.1.10 其他特征性的量	49
3.3.1.11 气相色谱	51
3.3.1.12 模拟色谱的应用	52
3.3.2 标准曲线的模拟	55
3.3.2.1 定量限处 10 倍的积分模拟	62
3.3.3 等度色谱的模拟	63
3.3.4 梯度色谱的模拟	74
3.3.5 副产品的分析	81
3.3.6 真实色谱模拟后的处理	90
参考文献	95
第4章 色谱图的模拟	96
4.1 引言	96

4.2 峰的模拟	97
4.2.1 对称峰	97
4.2.2 拖尾峰	99
4.3 基线	102
4.4 色谱图	102
4.5 简单的保留模拟和真实的色谱图	105
4.5.1 等度色谱法	105
4.5.2 梯度色谱法	110
4.6 观点展望	119
参考文献	119
 第5章 非对称峰的积分	120
5.1 融合峰之间的峰谷	124
5.2 大峰之间的小峰	126
5.3 色谱峰对	128
5.4 校准模拟	130
5.5 指数平滑法	135
5.6 融合峰的积分	138
5.7 日常的积分操作	140
参考文献	142
 第6章 去卷积法(反褶积法)	143
6.1 引言	143
6.1.1 去卷积法的软件应用	146
6.2 去卷积法的影响因素	148
6.2.1 基线路径	148
6.2.2 色谱峰的同质性—峰的数量	149
6.2.3 噪声	150
6.2.4 峰的对称性	150
6.3 高斯型色谱峰的去卷积积分	150

6.3.1 Westerberg 报告的模拟	154
6.4 拖尾峰的去卷积法应用	156
6.4.1 不同拖尾类型的峰	159
6.5 梯度色谱的去卷积法	163
6.5.1 复合基线	165
6.6 真实色谱图	169
6.7 观点展望	172
参考文献	174
第7章 色谱图解析	175
7.1 峰高的使用	176
7.2 估值	177
7.2.1 估值的方法	177
7.3 校正	179
7.3.1 线性回归	179
7.3.2 加权线性回归	185
参考文献	189
第8章 分析数据的常规解析	190
8.1 分析数据的(正态)分布	190
8.2 预测的问题	194
8.3 分析变异性	199
8.3.1 变异贡献和精确度水平	199
8.3.2 系统或进样精确度	201
8.3.3 重复性	203
8.3.4 重现性	205
8.3.4.1 系列数	205
8.3.4.2 方差分析	206
8.3.4.3 重现性的基准	208
8.3.5 设计一个色谱分析程序的后果	209

8.3.6 精确度的浓度依赖性	211
8.3.7 结论	213
8.4 关键点	214
参考文献	215

第9章 计量学在色谱数据评估中的应用	216
---------------------------------	------------

9.1 引言	216
9.2 测量不确定度	219
9.3 分析测量法的可追溯性	232
参考文献	234

第2部分 色谱法中不同模式的定义与界定

第10章 评价和估计气相色谱的数据	239
--------------------------------	------------

10.1 引言	239
10.2 GC 与 HPLC 的差异	240
10.2.1 这些差异造成的结果有何不同?	241
10.2.1.1 GC 的应用	241
10.2.1.2 样品进样	245
10.2.1.3 色谱柱	246
10.2.1.4 检测器	248
10.2.1.5 快速气相色谱	249
10.3 定性分析	250
10.3.1 引言	250
10.3.1.1 指纹分析	252
10.3.1.2 峰的纯度	252
10.3.2 保留时间的比较	252
10.3.3 相对保留时间	253
10.3.4 保留时间的锁定	254
10.4 质谱与气相的联用	255
10.4.1 质谱作为具有鉴定作用的检测器(扫描模式)	255

10.4.2 图谱库的应用	257
10.4.3 质谱的去卷积	260
10.4.4 质谱作为质量选择性的检测器	262
10.4.4.1 质量碎片谱(重构或提取的离子色谱图)	262
10.4.4.2 SIM(单个离子检测)或 MID(多个离子检测)	263
10.4.5 化学电离法	264
10.5 定量分析	265
10.5.1 分析序列的建立	266
10.6 IDA(同位素稀释分析)或 SIDA(稳定的同位素稀释 分析)	266
10.7 微量分析中的底物影响	268
10.8 顶空法-气相	268
10.9 利用氢焰离子化检测器(FID)来估测修正因子	269
参考文献	271
 第 11 章 LC-MS 中的数据评估	272
11.1 引言	272
11.2 底物对色谱的影响	273
11.3 内标物	282
11.4 质谱仪的调节	285
11.5 评估软件	289
参考文献	290
 第 12 章 离子色谱法的色谱数据评估	291
12.1 引言	291
12.2 洗脱液	292
12.2.1 纯度	292
12.3 水跃—离子色谱中的溶剂峰	294
12.4 污染物	297
12.5 校正	299