

### 3. i-PDeA功能适用要点

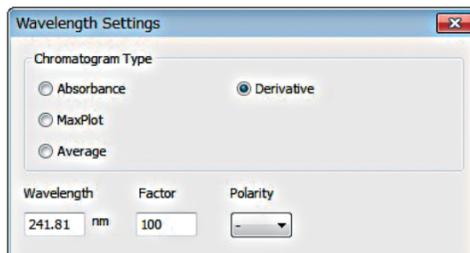
i-PDeA功能为光电二极管阵列检测器的数据分析方法之一。若分析方法确定，可适用于常规分析。i-PDeA功能的要点如下。

1. 检测目标峰光谱的一阶导数为零波长的光谱微分通过Savitzky-Golay法进行，搜索微分值为0的波长。

Detect 1st Derivative Zero			
	Wavelength	Spectrum#1 1st Derivative	Spectrum#2 1st Derivative
1	216.93	-5.394	0
2	228.92	0	14.771
3	242.18	4.656	0
4	255.93	0	-17.954

进行峰分离时，一种组分的一阶导数为零的波长处的其他组分一阶导数绝对值要足够大。组分间的光谱形状互相类似时，i-PDeA功能不适用。

2. 为了提取出微分光谱色谱图（一阶导数为零波长的微分光谱的值按照时间方向绘制的色谱图），在多色谱图的设定中选择“微分”，将一阶导数为零的波长设定为保留到小数点后第2位的值。



微分光谱色谱图在光谱上升侧为正值、下降侧为负值，因此可通过设定极性和系数对峰的方向和大小进行调整。

3. 设定微分光谱色谱图的波形处理和定量参数

因可对微分光谱色谱图进行和其他多色谱图同样的处理，所以普通的定量计算功能可直接适用于分离后的色谱图数据。也可通过简单的方法设定进行定量计算。

### 4. 结论

改进的光电二极管阵列检测器SPD-M30A与性能稳定的Nexera X2合璧使用，实现了通过色谱柱以外的方法进行峰分离的分析方法。

i-PDeA功能可在加快分析速度和提高实验室效率方面发挥作用。要点如下：

- 灵活运用微分光谱色谱图法，分离共同析出峰
- 即使没有通过色谱柱进行完全分离也可实现高速正确的定量
- 检测目标组分峰中潜藏的杂质峰
- 对未分离峰或分离不完全的峰进行实时处理并进行可视化显示
- 可通过简单的设定方法进行定量计算

i-PDeA提供了一种新的、在以往方法中未有过的峰分离及杂质检测的解决方法。通过灵活运用这些特点，有望在分析效率以及数据可靠性得到进一步的提高。

#### 参考文献

- 1) A. Lober, Anal.Chim.Acta, 164, 293-297 (1984)
- 2) B. Kowalski et al., Anal. Chem., 58, 496-499 (1986)
- 3) T. Ryan et al. J.Liq.Chromatogr., 16(7), 1545-1560 (1993)
- 4) B. Vandeginse et al., Anal. Chim. Acta, 173, 153-164 (1985)
- 5) M. Maeder et al., Chemom. Intell. Lab. Sys., 3, 205-213 (1988)
- 6) I. Sakuma et al. J. Of Chromatog., 506, 223-243 (1990)
- 7) A. Yamamoto et al., Analyst, 120, 377-380 (1995)
- 8) T. Hakuta et al., ANALYTICAL SCIENCE, 25, 1149-1153 (2009)
- 9) K. Uchiyama et al., J. Sep. Sci., 34, 1525-1530 (2011)
- 10) 葛原茂广、农林水产消费技术中心调查研究报告, 23, 77-86 (1999)
- 11) K. Uchiyama et al., BUNSEKI KAGAKU, 60(2), 171-174 (2011)
- 12) S. Kodama et al., BUNSEKI KAGAKU, 45 (3), 259-263 (1996)

## Technical Report

# 光电二极管阵列检测器新型分析方法i-PDeA (Intelligent Peak Deconvolution Analysis)的原理和概要

柳泽年伸

### 摘要：

即使是未分离的峰，若使用光电二极管阵列检测器的新型数据解析方法i-PDeA(Intelligent Peak Deconvolution Analysis)，也可利用光谱差异提取目标峰。i-PDeA通过利用微分光谱色谱图法(即对测量的各时间点的UV-VIS吸收光谱进行微分处理，所得的微分光谱的特定波长的值按时间方向标绘的方法)，对共同析出峰进行分离。本文对通过i-PDeA功能，使用微分光谱色谱图法具备的高度选择性，检测出未预料到的杂质混入，去除同时洗脱出的干扰成分的影响、仅对目标成分进行定量的应用事例进行介绍。

关键词: PDA数据处理、峰解卷积、微分光谱色谱图法、Nexera X2、UHPLC

### 1. 微分光谱色谱图法的基础理论

#### 1-1. 双组分的共同析出峰的分离

Fig.1表示双组分(目标组分x和y)的吸收光谱、Fig.2表示这些组分按波长方向进行微分的微分光谱。在Fig.2中设组分x的微分光谱中微分值为0的波长为 $\lambda_x$ 、组分y的微分光谱中微分值为0的波长为 $\lambda_y$ 。

若设目标组分x的光谱为 $S_x(\lambda)$ 、峰轮廓曲线为 $P_x(t)$ ，同样设组分y的光谱为 $S_y(\lambda)$ 、洗脱轮廓曲线为 $P_y(t)$ ，组分x和y共同析出的双组分中的三维色谱图 $S(t, \lambda)$ 可用以下公式表示：

$$S(t, \lambda) = p_x(t)s_x(\lambda) + p_y(t)s_y(\lambda)$$

若使用波长 $\lambda$ 对其进行偏微分，则波长 $\lambda_d$ 的微分光谱色谱图为

$$\frac{\partial S}{\partial \lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_d}(t) = p_x(t)s_x'(\lambda_d) + p_y(t)s_y'(\lambda_d)$$

组分x的微分值为0的波长 $\lambda_x$ 的微分光谱色谱图根据

$$s_y'(\lambda_x) = 0 \text{ 变为 } \frac{\partial S}{\partial \lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_x}(t) = p_x(t)s_x'(\lambda_x) \text{ 公式①。}$$

同样，组分y的微分值为0的波长 $\lambda_y$ 的微分光谱色谱图根据

$$s_x'(\lambda_y) = 0 \text{ 变为 } \frac{\partial S}{\partial \lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_y}(t) = p_y(t)s_y'(\lambda_y) \text{ 公式②。}$$

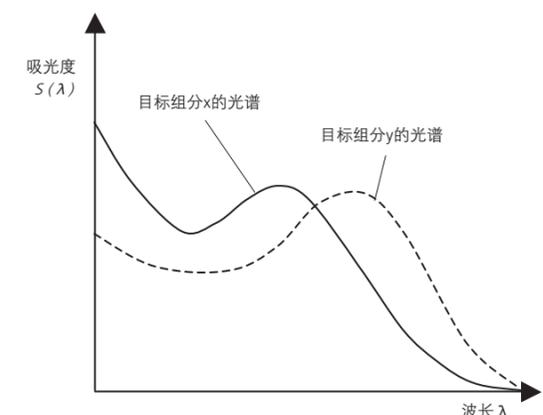


Fig.1 双组分光谱

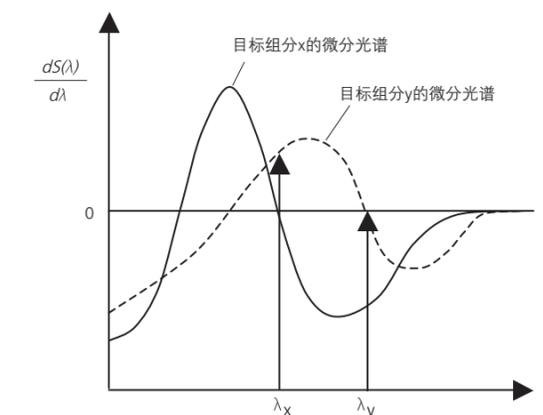


Fig.2 双组分的微分光谱

北京  
电话: (010) 8525-2310/2312  
上海  
电话: (021) 2201-3888  
沈阳  
电话: (024) 2383-6735  
河南  
电话: (0371) 8663-2981/2983

乌鲁木齐  
电话: (0991) 230-6271/6272  
昆明  
电话: (0871) 315-2987  
南京  
电话: (025) 8689-0278  
<http://www.shimadzu.com.cn>  
用户服务热线电话: 800-8100439 400-6500439

四川  
电话: (028) 8619-8421/8422  
广州  
电话: (020) 8710-8603  
西安  
电话: (029) 8838-6016

深圳  
电话: (0755) 8340-2852  
重庆  
电话: (023) 6380-6057/6058  
武汉  
电话: (027) 8555-7910

印刷日期: 2013.10

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知

在公式①、公式②中， $S_x'(\lambda_y)$ 、 $S_y'(\lambda_x)$  是不为0的定数，因此可知波长 $\lambda_x$ 的微分光谱色谱图仅表示组分y的洗脱轮廓曲线，波长 $\lambda_y$ 的微分光谱色谱图仅表示组分x的洗脱轮廓曲线。

这样，可通过波长 $\lambda_x$ 的微分光谱色谱图仅对y组分进行分离，通过波长 $\lambda_y$ 的微分光谱色谱图仅对x组分进行分离。

## 1-2. 杂质检测

通过使用i-PDeA，可检测出是否存在主要成分之外的杂质。该方法以主要成分为一种，其他成分均为杂质的样品为对象。此时，若设主要组分的洗脱轮廓曲线为 $P_x(t)$ 、各种杂质的洗脱轮廓曲线为 $P_y(t)$ 、 $P_z(t)$ ...，主要成分的光谱为 $S_x(\lambda)$ ，各种杂质的光谱为 $S_y(\lambda)$ 、 $S_z(\lambda)$ ...，则三维色谱图 $S(t, \lambda)$ 可通过以下公式表示：

$$S(t, \lambda) = p_x(t)s_x(\lambda) + p_y(t)s_y(\lambda) + p_z(t)s_z(\lambda) \dots$$

主要成分的微分光谱 $S_x'(\lambda)$ 的值为0的波长 $\lambda_x$ 的微分光谱色谱图为

$$\left. \frac{\partial S}{\partial \lambda} \right|_{\lambda=\lambda_x} (t) = p_y(t)s_y'(\lambda_x) + p_z(t)s_z'(\lambda_x) + \dots$$

在波长 $\lambda_x$ 的微分光谱色谱图中，主要成分的洗脱轮廓曲线被去除，显现出主要成分以外的杂质的洗脱轮廓曲线。

## 2. i-PDeA功能的解析事例

### 2-1. 标准样本中的杂质检测

甲基萘（以下用MN表示）的标准样本所含的杂质通过微分光谱色谱图法进行检测的事例如下：

分析条件	
液相泵	: LC-30ADx2
检测器	: SPD-M30A
柱温箱	: CTO-20AC
控制器	: CBM-20A
自动进样器	: SIL-30ACMP
色谱柱	: Shim-pack XR-ODS (30mmL x 3.0mmi.d., 2.2 $\mu$ m)
流速	: 1mL/min
柱温箱温度	: 40°C
采样	: 80msec
狭缝宽度	: 1nm
时间常数	: 240msec
采样波长范围	: 190nm ~ 700nm
样品注入量	: 1 $\mu$ L

Fig.3绘制出了在多个流动相条件下进行分析的、波长为235nm时的MN峰附近的吸收色谱图和MN的一阶导数零波长的微分光谱色谱图。

图(a)显示即使MN与杂质峰重叠，也通过i-PDeA检测出了杂质。

图(b)显示杂质以与MN的峰稍许分离的状态出现。通过比较两个峰顶点的光谱形状，可确认MN与杂质是不同的物质。

图(c)显示杂质以与MN完全分离的状态出现。因在MN峰附近的微分光谱色谱图中，未检测出噪音以上的信号，可知该MN的峰中不含杂质。这样，即使对于主要成分与杂质峰完全重合、在普通色谱图中难以确认是否含有杂质的数据，也可通过i-PDeA检测出杂质。

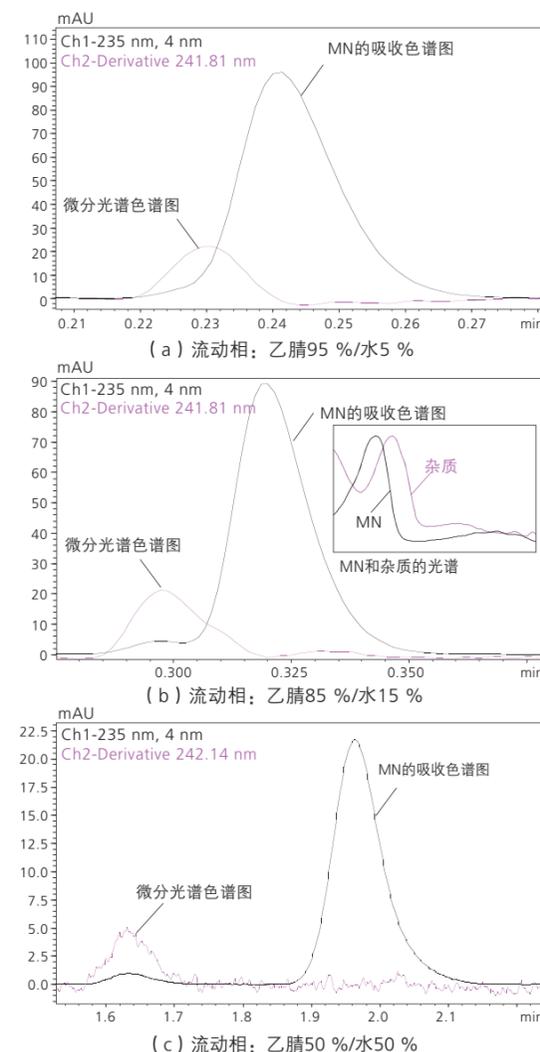


Fig. 3 吸收色谱图和去除MN的微分光谱色谱图

### 2-2. 双组分混合物的定量

展示通过微分光谱色谱图法对双组分混合样品在峰未分离的条件下获取的数据进行峰分离并定量的事例。准备二氟二苯甲酮（以下用DFBP表示）的标本、苯戊酮（以下用VP表示）的标本以及DFBP与VP的相对浓度分别为100/1、100/10、100/50、100/100、100/200的5种混合样品，求取DFBP和VP的微分光谱色谱图，按照标本制作出标准曲线（Table 1），对混合样品进行定量（Table 2、Table 3）。

分析条件	
液相泵	: LC-30ADx2
检测器	: SPD-M30A
柱温箱	: CTO-20AC
控制器	: CBM-20A
自动进样器	: SIL-30ACMP
流动相	: 乙腈45%/水55%
色谱柱	: Shim-pack XR-C8 (50mm L x 3.0 mm i.d., 2.2 $\mu$ m)
流速	: 2mL/min
柱温箱温度	: 40°C
采样	: 80msec
狭缝宽度	: 1nm
时间常数	: 240msec
采样波长范围	: 190nm ~ 700nm
样品注入量	: 1 $\mu$ L

Fig.5绘制出了混合样品（DFBP/VP=100/200）的波长为210 nm时的吸收色谱图、波长为255.93 nm（DFBP的一阶导数零波长）和波长216.93 nm（VP的一阶导数零波长）时的微分光谱色谱图。

Fig.6绘制出了混合样品（DFBP/VP=100/1）的波长为210nm时的吸收色谱图。在普通的吸收色谱图中，VP的浓度较低，因此会被隐藏在DFBP峰中，无法确认VP峰。Fig.6的椭圆内显示了使用i-PDeA功能分离出的DFBP和VP的微分光谱色谱图重叠的波形。

在混合样品（DFBP/VP=100/1）的VP定量结果中，从通过VP标本的微分光谱色谱图制作的标准曲线得到的VP的浓度为1.023（误差为2.30%）。

同样，通过利用DFBP标本的微分光谱色谱图制作的标准曲线求取的各混合样品的DFBP定量结果如Table3所示。从该结果可得样品注入量为1 $\mu$ L时的DFBP的面积重现性<1%RSD、浓度误差<3%。

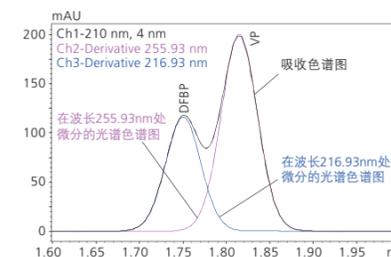


Fig. 5混合样品（DFBP/VP=100/200）数据的峰分离

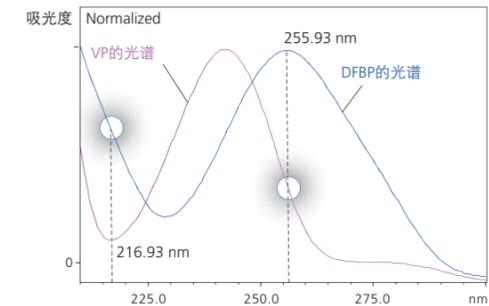


Fig. 4 DFBP和VP的光谱比较

Table 1 根据VP标本样品的微分光谱色谱图制作的标准曲线 (R<sup>2</sup>=0.9999309)

样品的相对浓度 (VP)	保留时间 (min)	面积	浓度	误差%
1	1.804	2,984	0.964	-3.62
10	1.801	30,368	9.876	-1.24
50	1.804	151,922	49.439	-1.12
100	1.802	310,801	101.149	1.15
200	1.802	613,207	199.572	-0.21

Table 2 DFBP/VP混合样品的VP定量结果

样品的相对浓度 (DFBP/VP)	保留时间 (min)	面积	浓度	误差%
100/1	1.808	3,167	1.023	2.30
100/10	1.807	30,372	9.878	-1.22
100/50	1.802	153,206	49.856	-0.29
100/100	1.806	309,596	100.757	0.76
100/200	1.815	620,556	201.964	0.98

Table 3 DFBP/VP混合样品的DFBP定量结果

样品的相对浓度 (DFBP/VP)	保留时间 (min)	面积	浓度	误差%
100/1	1.746	359,670	102.225	2.23
100/10	1.742	357,969	101.741	1.74
100/50	1.737	357,497	101.607	1.61
100/100	1.742	357,891	101.719	1.72
100/200	1.751	351,528	99.911	-0.09

面积 %RSD=0.87 (样品注入量1 $\mu$ L)

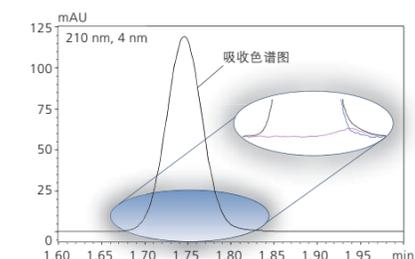


Fig.6 混合样品（DFBP/VP=100/1）数据的吸收色谱图