

OpenLab CDS

Data Analysis - 参考指南

声明

文档信息

文档编号：D0013815zh Rev. A
版本：04/2022

版权所有

© Agilent Technologies, Inc.
2012-2022

根据美国和国际版权法，未经 Agilent Technologies, Inc. 事先同意和书面许可，不得以任何形式、任何方式（包括存储为电子版、修改或翻译成外文）复制本手册的任何部分。

Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051,
USA

软件版本

本指南适用于 Agilent OpenLab CDS
2.7 版本。

担保说明

本文档内容按“原样”提供，在将来的版本中如有更改，恕不另行通知。此外，在适用法律允许的最大范围内，Agilent 对本手册以及此处包含的任何信息不作任何明示或暗示担保，包括但不限于适销性和针对某一特殊用途的适用性的暗示担保。对于因提供、使用或执行本手册或此处包含的任何信息而产生的错误，或造成的偶然或必然的损失，Agilent 不承担任何责任。如果 Agilent 与用户签订了单独的书面协议，其中涉及本文档内容的担保条款与这些条款冲突，则以协议中的担保条款为准。

技术许可

本文档中所述的硬件和 / 或软件是根据许可提供的，只能根据此类许可的条款进行使用或复制。

权力限制说明

美国政府受限权利。授予联邦政府的软件和技术数据权利仅包括通常提供给最终用户的那些权利。Agilent 根据 FAR12.211（技术数据）和 12.212（计算机软件）和（对于国防部）DFARS252.227-7015（技术数据一商品）以及 DFARS 227.7202-3（商业计算机软件或计算机软件文档中的权利）来提供软件和技术数据方面的此常规商业许可。

安全声明

小心

小心提示表示危险。提醒您注意某个操作步骤、某项操作或类似问题，如果执行不当或未遵照提示操作，可能会损坏产品或丢失重要数据。不要忽视**小心**提示，直到完全理解和符合所指出的条件。

警告

“警告”声明表示存在危险。提醒您注意某个操作步骤、某项操作或类似问题，如果执行不当或未遵照提示操作，可能会导致人身伤害或死亡。除非已完全理解并符合所指出的条件，否则请不要忽视**“警告”**声明而继续进行操作。

内容提要...

本指南面向高级用户、系统管理员以及负责验证 Agilent OpenLab CDS 的人员。包含有关计算和数据分析算法原理的参考信息。

使用本指南可根据用户要求验证系统功能，并且可定义和执行在验证计划中定义的系统验证任务。以下资源中包含附加信息。

- 关于特定于上下文的任务（“操作方法”）信息、用户界面参考以及故障排除帮助：OpenLab Help and Learning。
- 有关系统安装和现场准备的详细信息：《OpenLab CDS 工作站、客户端和仪器控制器要求和支持的仪器》、《OpenLab CDS 工作站安装和配置》或《OpenLab CDS 客户端和仪器控制器安装和配置》。

1 信号准备

本章介绍了如何准备信号，例如在积分前通过空白扣除。

2 使用 ChemStation 积分器积分

本章介绍 OpenLab CDS 中 ChemStation 积分器的概念和积分器算法。

3 使用 EZChrom 积分器积分

本章包含对 EZChrom 积分事件的说明。

4 峰识别

本章介绍了峰识别的概念。

5 校正

本章详细介绍校正过程中使用的计算方法。

6 定量

本章介绍如何定量化合物，并介绍定量中使用的计算。

7 UV 光谱分析

本章介绍了基于 UV 光谱分析的杂质检查和化合物成分确认的概念。

8 质谱

本章介绍基于质谱的样品纯度计算。

9 系统适用性

本章介绍 OpenLab CDS 如何评估分析仪器和分析方法的性能。

目录

1	信号准备	7
	信号平滑	8
	空白扣除	10
2	使用 ChemStation 积分器积分	11
	什么是积分?	12
	积分器算法	14
	操作原理	19
	峰识别	20
	峰面积测量	31
	基线定位	34
	积分事件	43
3	使用 EZChrom 积分器积分	61
	积分事件	62
	基线代码说明	78
4	峰识别	80
	什么是峰识别?	81
	冲突解决	83
	相对保留时间	84
	时间参比化合物	86
	更新处理方法	88
5	校正	93
	什么是校正?	94
	校正曲线	95
	校正曲线计算	108
	评估校正曲线	116

6	定量	121
	什么是定量？	122
	校正因子	123
	浓度和质量百分比	124
	峰面积百分比法和峰高百分比法	125
	校正化合物的定量	126
	未校正化合物的定量	131
	未标识峰的定量	133
	归一化	134
	组的定量	137
7	UV 光谱分析	144
	什么是 UV 光谱分析？	145
	UV 杂质检查	146
	UV 确认	157
8	质谱	158
	MS 样品纯度	159
	MS 峰纯度	161
9	系统适用性	163
	评估系统适用性	164
	噪音测定	166
	计算峰的不对称性和对称性	176
	系统适用性公式和计算	178
	性能测试定义	179

1

信号准备

信号平滑 8

常规方法 8

算法详细信息 9

空白扣除 10

本章介绍了如何准备信号，例如在积分前通过空白扣除。

本章介绍了如何在积分前准备信号。

注意

将空白扣除和平滑设置用于处理数据时，系统会先进行平滑，然后再使用平滑的信号进行空白扣除。

信号平滑

常规方法

假设

平滑算法假设数据是等距数据。通过进行锯齿内插，并使用非等距数据的最小时间差异重新采集数据，以便将非等距数据转换为等距数据。

平滑 - 基础算法

所有平滑算法均应用填充了平滑系数的 **2m+1** 窗口，使用方法如下：

$$x'(i) = \sum_{j=-m}^{j=m} x(i+j) \cdot a(j)$$

其中：

a	平滑系数数组
x'	平滑的信号
m	偶数表示平滑窗口的一半宽度

这个方法会导致窗口总大小产生奇数 **2m+1**。

处理边缘

由于平滑系数是归一化的，所以要特别注意边缘。

对于**移动平均**和**高斯**筛选，将会修整窗口的左侧或右侧边缘，并且要重新计算系数，使其总和为1（归一化）。

对于 **Savitzky-Golay**，处理更加复杂。这种方法保持 Savitzky-Golay 的属性，同时接近信号的边缘。请参见第 9 页的 [算法详细信息](#)。

算法详细信息

移动平均

移动平均是最简单的平滑算法。所有系数计算方法如下：

$$a(i) = \frac{1}{2m+1}; i = [-m, m]$$

其中：

a	平滑系数数组
m	偶数表示平滑窗口的一半宽度

这意味着平滑函数的形状是矩形。此类平滑也称作车厢平均数。

高斯

高斯平滑使用的是从高斯正态分布中采集的系数。如果窗口大小是 **2m+1**，则正态分布的标准偏差 σ 的计算方法如下：

$$\sigma = \frac{2m+1}{6} - 1$$

之后计算单个系数：

$$a'(i) = e^{-\frac{i^2}{2\sigma^2}}; i = [-m, m]$$

在第二步中，系数进行了归一化，即总和为 1：

$$a(i) = \frac{a'(i)}{\sum_{i=-m}^m a'(i)}$$

Savitzky-Golay

计算 Savitzky-Golay 平滑的系数时，采用的方法要确保函数下的面积保持不变。系数计算基于以下论文：《General Least-Squares Smoothing and Differentiation by the Convolution (Savitzky-Golay) Method》，作者：Gorry (1990)¹。

该计算可确保 Savitzky-Golay 平滑的保持面积属性在信号的边界仍然有效。

¹ Gorry, P.A., 1990. General Least-Squares Smoothing and Differentiation by the Convolution (Savitzky-Golay) Method. Analytical Chemistry 62, 570-573.

空白扣除

分析样品时，获得的信号可能因分析物以及稀释溶剂、流动相、添加剂而触发。使用空白扣除可接收仅包含分析物的干净的色谱图。

空白信号可以源自：

- 序列中的空白样品
- 序列外（例如单个运行）的空白样品

新信号是通过扣除空白信号得出的：

$$\text{新信号} = \text{样品信号} - \text{空白信号}$$

对于使用特定波长提取的色谱图：

$$\text{新信号} = \text{波长的样品信号} - \text{波长的空白信号}$$

如果空白与样品的数据采集频率不同，则会调整空白的数据采集频率。由锯齿内插移除或创建数据点。

如果样品的运行时间比空白样品的运行时间长，则新信号将包含已修正和未修正的数据点。

2

使用 ChemStation 积分器积分

什么是积分?	12
积分的功能是什么?	12
积分器功能	13
积分器算法	14
概述	14
定义初始基线	15
基线跟踪	16
定位基线	17
术语定义	18
操作原理	19
峰识别	20
峰宽	21
峰识别过滤器	22
集束	23
峰识别算法	23
合并峰	25
肩峰	26
默认基线的建立	27
基线代码	28
峰面积测量	31
峰面积的确定	32
单位和转换因子	33
基线定位	34
基线校正模式	34
峰谷比	36
切线撇去	37
切线撇去模式	40
积分事件	43
标准积分事件: 初始事件	43
标准积分事件: 定时事件	48
高级积分事件	58

本章介绍 OpenLab CDS 中 ChemStation 积分器的概念和积分器算法。

什么是积分？

积分用于在信号中定位峰并计算其大小。

积分对以下操作来说是必不可少的步骤：

- 识别
- 校正
- 定量

积分的功能是什么？

当对某个信号进行积分时，软件将：

- 识别每个峰的开始和结束时间
- 找到每个峰的顶点；即保留时间/迁移时间，
- 建立基线，以及
- 计算每个峰的面积、峰高、峰宽和对称因子。

该过程由称为积分事件的参数控制。

积分器功能

积分器算法具有以下主要功能：

- 如果使用多个信号或多个检测器，能够定义每个色谱信号的各积分事件表
- 对需要人工解释的色谱图进行图形化手动积分
- 标注积分结果
- 定义积分器参数，以设置或修改针对最小峰面积、最小峰高、峰宽、斜率灵敏度、肩峰检测、基线校正以及前部/拖尾峰撇去检测的基本积分器设置
- 基线控制参数，如强制划基线、基线维持、划基线至所有峰谷，划基线至下一峰谷，从当前峰尾部反向拟合基线，最可能是一个时间范围中的基线点
- 峰面积加和控制
- 负峰识别
- 溶剂峰定义检测
- 用于定义积分器操作保留时间范围的积分器控制命令
- 通过使用二阶导数计算定位肩峰

积分器算法

概述

要对色谱图进行积分，积分器应...

- 1 定义初始基线，
- 2 连续跟踪和更新基线，
- 3 确认峰的开始时间，
- 4 找到每个峰的顶点，
- 5 确认峰的结束时间，
- 6 建立基线，以及
- 7 计算每个峰的面积、峰高、峰宽和对称因子。

该过程由**积分事件**控制。最重要的事件包括初始斜率灵敏度、峰宽、肩峰模式、最小峰面积和最小峰高。软件允许您设置这些事件以及其他事件的初始值。这些初始值将在色谱图的开始时生效。

多数情况下，初始事件可以为整个色谱图提供良好的积分结果，但有时候您也许希望对积分的进度进行更多的控制。

软件允许您在合适的时间在色谱图中安排新的积分事件，以此来控制积分的执行过程。

定义初始基线

特征点

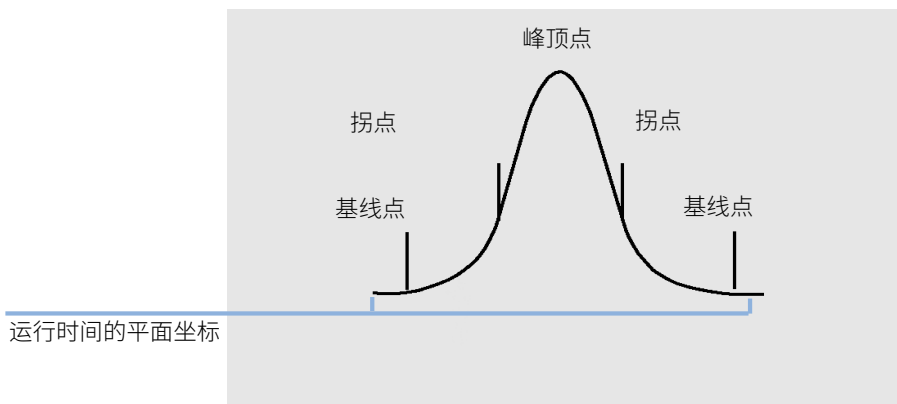


图 1 特征点

定义初始基线

由于基线条件随应用程序和检测器硬件而变化，因此积分器使用来自积分事件和数据文件的参数来优化基线。

在积分器可以对峰进行积分之前，积分器必须先建立一个**基线点**。分析开始时，积分器将第一个数据点作为假设的基线点确立一个初始基线级别。然后，它根据输入信号的平均值尝试重新定义此初始基线点。如果积分器未获得重新定义的初始基线点，则将保留第一个数据点作为可能的初始基线点。

识别峰的特征点

当可能的基线点位于基线范围之外、并且基线曲率超出由积分器斜率灵敏度参数确定的某一特定值时，积分器将认为可能有一个峰将要开始。如果这种状况持续下去，积分器将识别出它位于峰的上升区，并对峰进行处理。

开始

- 1 斜率和曲率均在极限值内：继续跟踪基线。
- 2 斜率和曲率超出极限值：可能是峰。
- 3 斜率持续超出极限值：识别到峰，已定义峰开始点。
- 4 曲率变为负值：已定义前拐点。

顶点

- 1 斜率经过零并变为负值：峰顶点，已定义顶点。
- 2 曲率变为正值：已定义后拐点。

结束

- 1 斜率和曲率均在极限值内：峰将结束。
- 2 斜率和曲率均保持在限定值内：已定义峰终点。
- 3 积分器返回到基线跟踪模式。

基线跟踪

在运行过程中，积分器将按照由初始峰宽或计算峰宽所确定的速率对数字数据进行取样。它将每个数据点都当作潜在的基线点。

积分器使用基线跟踪算法，根据基线的斜率确定一个**基线范围**，其中斜率由一阶导数确定，曲率由二阶导数确定。可以将基线范围显示为圆锥图，其顶点位于当前的数据点处。圆锥的上下验收水平分别为：

- + 上升区 + 曲率 + 基线偏移必须低于阈值级别，
- - 上升区 - 曲率 + 基线偏移的正极性必须高于（即负极性必须低于）阈值级别。

接受新数据点时，圆锥图将向前移动直至被打断。

成为基线点的数据点必须满足以下条件：

- 必须位于定义的基线范围内，
- 数据点处的基线曲率（由导数过滤器确定），必须低于由当前斜率灵敏度设置确定的临界值。

然后，分析开始时建立的初始基线点将按照峰宽确定的速率不断进行重置，重置为峰宽确定的一段时间内处于基线范围内的数据点的移动平均值。积分器将跟踪并定期重新设置基线以补偿漂移，直到检测到峰的上升区。

定位基线

在分析过程中，积分器将按照由峰宽值确定的频率来定位色谱图基线。当积分器对一定数目的数据点进样后，它将重置初始基线点到当前基线点的基线。积分器继续针对下一组数据点跟踪基线，并再次重置基线。该过程将一直进行，直到积分器确定峰的开始为止。

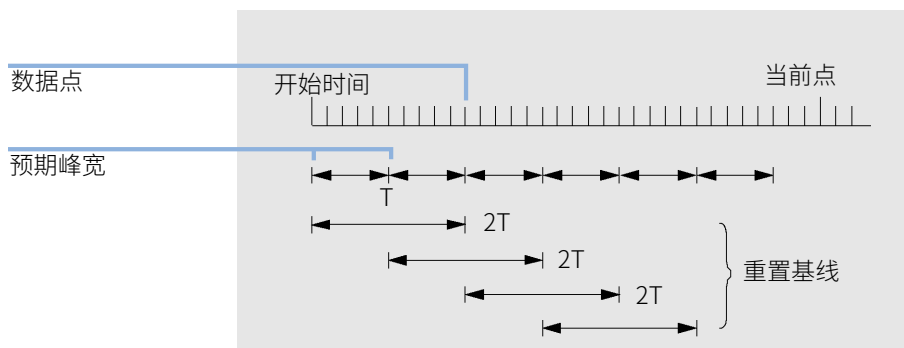


图 2 基线

在积分过程开始时，使用第一个数据点。然后系统将根据图中所示定期重置此基线点（请参见第 17 页的图 2）。

对时间 T （预期峰宽）上的峰面积进行加和。此时间永远大于一个数据点。只要基线条件存在，就会继续进行加和。系统还将计算斜率和曲率。如果斜率和曲率均小于阈值，则将两个加和面积相加，并与前一个基线进行比较。如果新值小于上一个基线，则新值将立即替换旧值。如果新值大于上一个值，则将其作为假定的新基线值保存并在另一个值满足斜率和曲率平滑度标准时对其进行确认。如果允许负峰，则后一个限制条件无效。在基线过程中，还必须检查快速上升的溶剂。溶剂可能会上升得太快，以至于无法检测到上升区。（确认上升区后，溶剂标准将可能不再有效。）第一时间通过第一个数据点的就是基线。如果基线上有信号，则此基线将被 $2T$ 平均值替换。将在每个 T 上重置基线（请参见第 17 页的图 2）。

术语定义

溶剂峰

溶剂峰通常是非常大的峰，没有必要对其进行分析，因此一般不对其进行积分。但是，当具有分析价值的小峰洗脱到接近溶剂峰时（例如，在溶剂峰的拖尾峰上），可以设置特殊的积分条件来计算这些小峰的面积，这些面积根据溶剂峰的拖尾峰进行修正。

肩峰（前峰、后峰）

当两个峰洗脱到非常接近以至于两峰之间没有峰谷时，将出现肩峰。肩峰是未分开的峰。肩峰可能出现在峰的上升沿（前伸峰），也可能出现在峰的下降沿（拖尾峰）。当检测到肩峰时，可以通过切线撇去或垂线对其进行积分。

斜率

峰的斜率，表示化合物的浓度随时间的变化情况，用于确定峰起点、峰顶点和峰止点。

操作原理

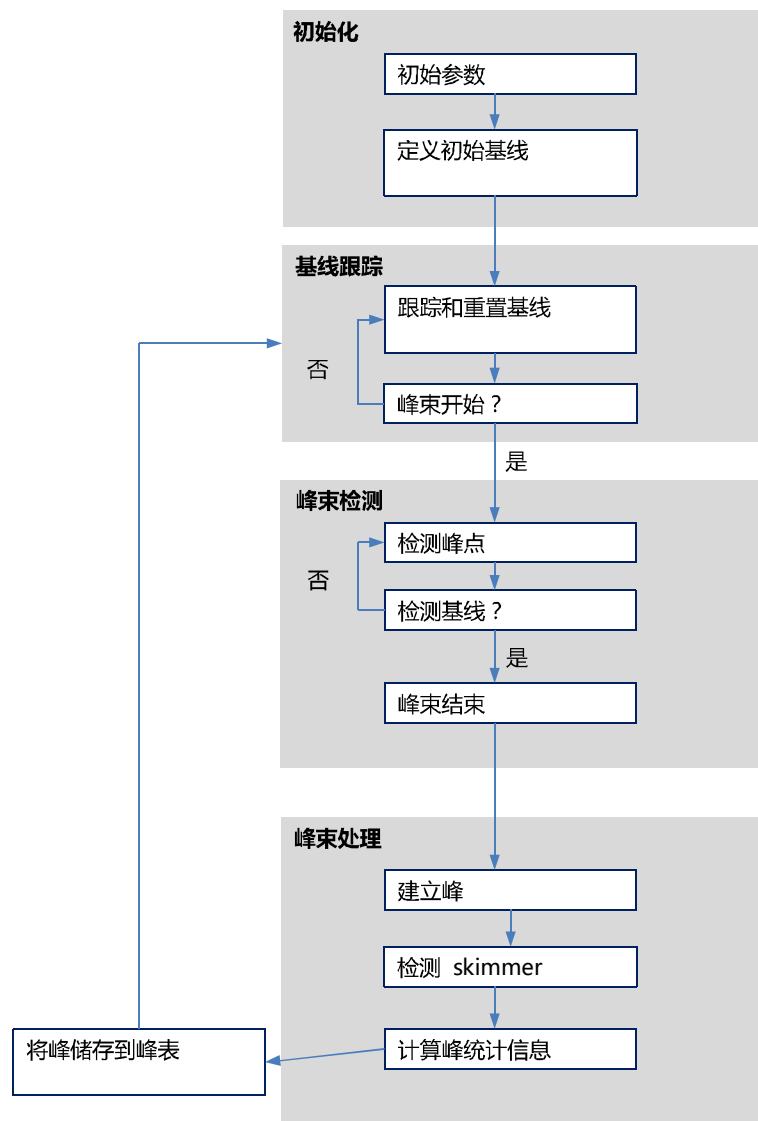


图 3 积分仪流程图

峰识别

积分器使用多种工具来识别和描述峰：

- 第 21 页的 峰宽
- 第 22 页的 峰识别过滤器
- 第 23 页的 集束
- 第 23 页的 峰识别算法
- 第 25 页的 合并峰
- 第 26 页的 肩峰
- 第 27 页的 默认基线的建立
- 第 28 页的 基线代码

峰宽

在积分过程中，将根据调整后的峰面积和峰高来计算峰宽：

峰宽 = 调整后的峰面积/调整后的峰高

或者，如果存在拐点，则根据拐点之间的宽度来计算峰宽。

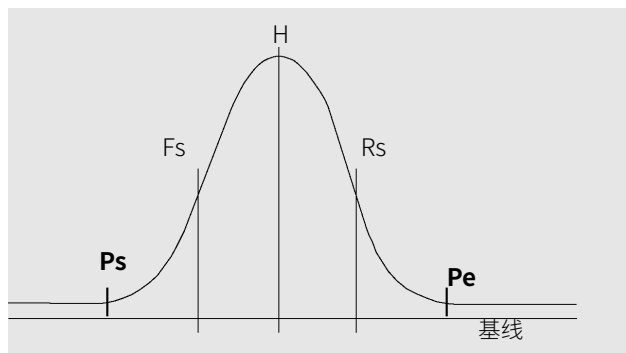


图 4 峰宽计算

在上图中，总面积 A 是针对基线调整的从峰开始 (Ps) 到峰结束 (Pe) 的面积的和。Fs 为拐点处的峰前斜率，Rs 为拐点处的峰尾斜率。

峰宽的设置控制了积分器区分峰和基线噪音的能力。要获得良好性能，必须将峰宽设置为与实际色谱峰的峰宽接近的值。

可以通过三种方式改变峰宽：

- 积分过程之前，您可以设定初始峰宽，
- 积分过程中，积分器将根据需要自动更新峰宽，以便与峰识别过滤器保持一致性，
- 积分过程中，您可以使用时间安排事件来重置或修改峰宽。

峰识别过滤器

积分器具有三种峰识别过滤器，这些过滤器通过检测一组连续数据点内的斜率和曲率的变化来识别峰。这些过滤器包含积分器检测的数据点的一阶导数（用于测量斜率）和二阶导数（用于测量曲率）。

注意

为了给出可靠的结果，峰中必须包含至少十个数据点。

这些识别过滤器分别为：

- 过滤器 1** 两个（三个）连续数据点的斜率（曲率）
- 过滤器 2** 四个连续数据点的斜率和三个非连续数据点的曲率
- 过滤器 3** 八个连续数据点的斜率和三个非连续数据点的曲率

实际使用的过滤器由峰宽设置决定。例如，在分析开始时，可能使用过滤器 1。如果在分析过程中峰宽增加，过滤器将首先更改为过滤器 2，然后更改为过滤器 3。要获得识别过滤器的良好性能，必须将峰宽设置为与实际色谱的峰宽接近的值。在运行过程中，积分器将根据需要更新峰宽以优化积分。

积分器将以不同的方式计算更新后的峰宽，具体取决于仪器技术。

对于 LC 数据，默认峰宽计算使用合成算法：

$$0.3 * (\text{右侧拐点} - \text{左侧拐点}) + 0.7 * \text{峰面积} / \text{峰高}$$

对于 GC 数据，默认峰宽计算使用峰面积/峰高。该计算方法可保证当峰在半峰高点以上合并时不会过高地估计峰宽。

在某些类型的分析中，例如恒温 GC 分析和等度 LC 分析，峰的宽度将随着分析的进行而显著增加。为补偿这一点，当分析过程中峰加宽时，积分器将自动更新峰宽。除非已通过固定峰宽定时事件禁用更新，否则将自动执行此操作。

更新峰宽时按照以下方式进行加权计算：

$$0.75 * (\text{现有峰宽}) + 0.25 * (\text{当前峰的峰宽})$$

集束

集束是积分器在峰识别过滤器的有效范围内增大峰宽以保持良好选择性的方式。

积分器无法一直无限增加峰宽以加宽峰。最终峰将变得非常宽以致无法被峰识别过滤器发现。要克服这个限制，积分器将对所有数据点进行集束，在保持相同峰面积的同时有效地将峰变窄。

集束数据时，数据点将集束为集束权的两倍，即，未集束数据 = 1x，集束一次 = 2x，集束两次 = 4x 等。

集束是根据数据采集频率和峰宽进行的。积分器使用这些参数设置集束因子，以设置合适数量的数据点（请参见第 23 页的 [表 1](#)）。

集束是将预期或据经验得知的峰宽变为两倍。集束算法概述请见第 23 页的 [表 1](#)。

表 1 集束条件

预期峰宽	使用的过滤器	集束完成
0 - 10 个数据点	第一个	无
8 - 16 个数据点	第二个	无
12 - 24 个数据点	第三个	无
16 - 32 个数据点	第二个	一次
24 - 48 个数据点	第三个	一次
32 - 96 个数据点	第三个，第二个	两次
64 - 192 个数据点	第三个，第二个	三倍

峰识别算法

积分器使用峰识别算法所确定的基线点来识别峰的开始。峰识别算法首先将峰识别过滤器的输出值与初始斜率灵敏度的值进行比较，以增加或减少上升区累加器。积分器将声明上升区累加器的值 ≥ 15 的点，该点表示峰的开始。

峰开始

在第 24 页的 [表 2](#) 中，预期峰宽决定哪个过滤器的斜率与曲率值将和斜率灵敏度值作比较。例如，如果预期峰宽较小，则将过滤器 1 的数目添加到上升区累加器中。如果预期峰宽增加，则将使用过滤器 2 的数目，最后使用过滤器 3 的数目。

当上升区累加器的值 ≥ 15 时，算法将认为某个峰可能要开始。

表 2 上升区累加器的增量值

导数过滤器 1 到 3 的输出值与斜率灵敏度的比较	过滤器 1	过滤器 2	过滤器 3
斜率 > 斜率灵敏度	+8	+5	+3
曲率 > 斜率灵敏度	+0	+2	+1
斜率 < (-) 斜率灵敏度	-8	-5	-3
斜率 < 斜率灵敏度	-4	-2	-1
曲率 < (-) 斜率灵敏度	-0	-2	-1

峰结束

在第 24 页的 表 3 中，预期峰宽决定哪个过滤器的斜率与曲率值将和斜率灵敏度值作比较。例如，如果预期峰宽较小，则将过滤器 1 的数目添加到下降区累加器中。如果预期峰宽增加，则将使用过滤器 2 的数目，最后使用过滤器 3 的数目。

当下降区累加器的值 ≥ 15 时，算法将认为某个峰可能要结束。

表 3 下降斜累加器的增量值

导数过滤器 1 到 3 的输出值与斜率灵敏度的比较	过滤器 1	过滤器 2	过滤器 3
斜率 < (-) 斜率灵敏度	+8	+5	+3
曲率 < (-) 斜率灵敏度	+0	+2	+1
斜率 > 斜率灵敏度	-11	-7	-4
斜率 > 斜率灵敏度	-28	-18	-11
曲率 > 斜率灵敏度	-0	-2	-1

峰顶点算法

峰顶点被认为是色谱图中的最高点，由通过最高数据点的抛物线拟合而产生。

合并峰

如果在发现峰结束之前发现新峰开始，则会出现合并峰。下图说明了积分器如何处理合并峰。

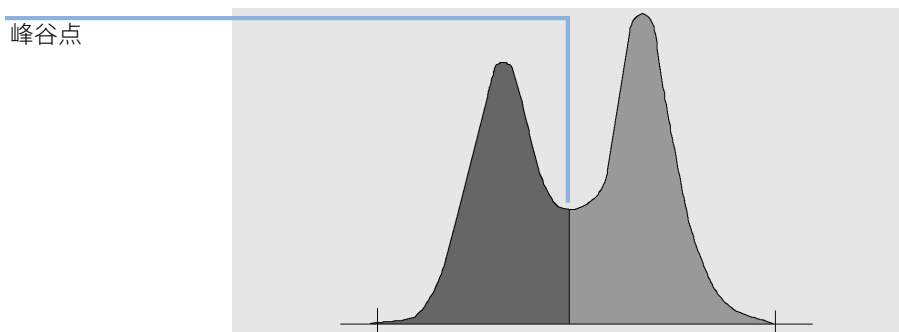


图5 合并峰

积分器使用以下方式处理合并峰：

- 1 积分器加和峰谷点之前的第一个峰的面积。
- 2 在峰谷点，第一个峰的面积加和结束，第二个峰的面积加和开始。
- 3 当积分器找到第二个峰的结束点时，面积加和将停止。此过程用图形表示就是通过在两峰之间的峰谷点画一条垂直线来分离合并峰。

肩峰

肩峰是一个大峰的上升沿或下降沿上的未成形峰。当存在肩峰时，负斜率后跟着正斜率的情况下，并没有真正的峰谷。一个峰可能有任意数目的前肩峰和/或后肩峰。

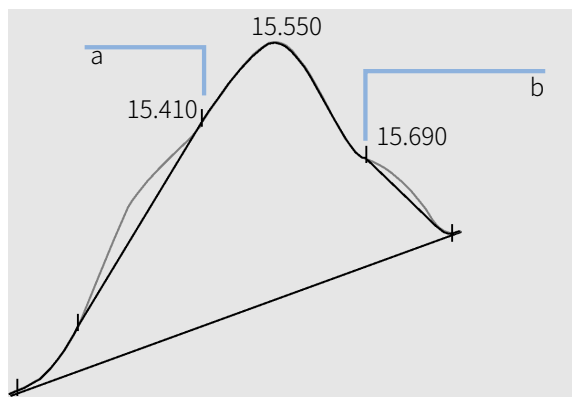


图 6 肩峰

肩峰是通过二阶导数给出的峰的曲率来检测的。曲率变为零时，积分器将识别出拐点，例如第 26 页的图 6 中的点 a 和 b。

- 如果在峰顶点之前检测到第二个拐点，则有可能存在一个前肩峰。如果确实存在肩峰，则肩峰的开始点设定在拐点之前的最大正曲率点。
- 如果在峰的结束点或峰谷之前检测到第二个拐点，则有可能存在一个后肩峰。如果确实存在肩峰，则肩峰的开始点设定在峰顶点之后第一个最小斜率的点。

保留时间通过最大负曲率的肩峰点确定。使用编程积分事件，积分器也可以像计算常规峰的面积那样通过在肩峰拐点处画垂线来计算肩峰的面积。

肩峰面积会从主峰面积中扣除。

肩峰可通过积分器定时事件，像常规峰一样进行处理。

默认基线的建立

完成任何峰束后，且找到基线时，积分器请求基线定位算法使用柱一纹技术。它使用梯形区域和比例高度校正归一化和维持尽量低的基线。基线定位算法的输入也包括方法中的参数和识别检测器和应用程序的数据文件，积分器将用其优化计算。

在最简单的情况下，积分器用以下元素之间的连线来建立基线：

- 基线起始点，
- 峰开始、峰谷、终点
- 峰基线

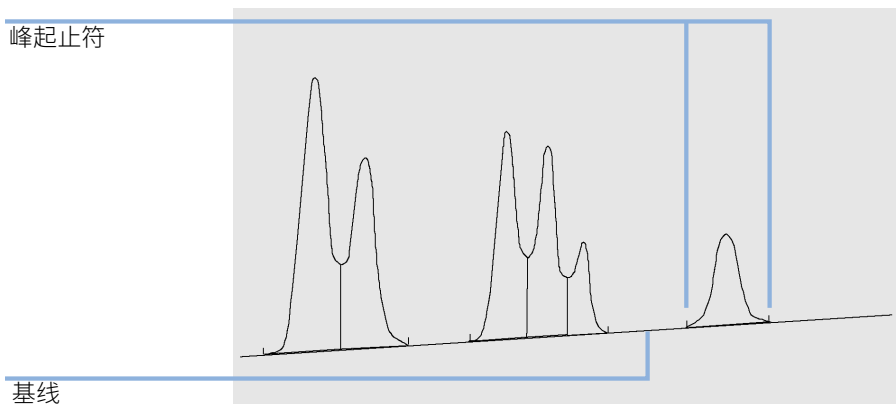


图 7 默认基线的建立

基线代码

在报告的积分结果中，每个峰都分配有两个、三个或四个字符的代码，描述信号基线的绘制方法。

表 4 四字符代码

第一个字符	第二个字符	第三个字符	第四个字符
起始基线	结束基线	错误/峰标记	峰类型

基线代码包含在**进样结果**表中和所有默认报告模板中。

进样结果							
峰 汇总							
#	名称	基线代码	信号说明	RT (min)	峰面积	峰面积 %	峰高
1		BV	MS1 +TIC ESI Frag=110V	1.616	3194502.847	15.168	582895.067
2		BV	MS1 +EIC(270.7-271.7) ESI Fra...	1.617	2644796.742	100.000	492597.391
3		VB	DAD1A,Sig=272.0,16.0 Ref=38...	1.940	356.576	27.285	65.775
4		VB	MS1 +TIC ESI Frag=110V	2.123	3718435.285	17.656	576374.808

图 8 进样结果

信号: DAD1A, Sig=272.0, 16.0 Ref=380.0, 20.0					
保留时间 [min]	类型	峰宽 [min]	峰面积	高度	峰面积%
1.940	VB	0.08	356.58	65.78	27.28
2.578	BB	0.10	314.31	49.12	24.05
3.022	BB	0.09	333.32	59.03	25.51
4.517	BV	0.10	302.65	49.42	23.16
-- --					

图 9 示例：Short_Area 报告的表格

字符 1 和 2

第一个字符表示峰起点的基线，第二个字符表示峰终点的基线。

- B** 峰在基线上开始或停止。
- P** 峰在基线被穿透时开始或停止。
- V** 峰在开始或停止时有峰谷垂线。
- H** 峰在强制水平基线上开始或停止。
- F** 峰在强制点上开始或停止。
- M** 峰是手动积分的。
- U** 未指定峰。

也可再添加其他标记（按优先级的顺序）。

字符 3

第三个字符描述错误或峰标记：

- A** 积分已中断。例如，因为积分事件开/关，或因为信号运行时间结束。
- D** 峰被扭曲（峰形状差）。
- 空格** 峰为常规峰。

字符 4

第四个字符表示峰类型。仅强制积分事件或触发手动积分时显示。例如，您使用积分事件定义溶剂峰，或使用手动积分纠正基线或删除峰。

- S** 峰为溶剂峰。
- N** 峰为负峰。
- +** 峰为面积加和峰。
- T** 切线撇去峰（标准撇去）。
- X** 切线撇去峰（指数撇去模式）。
- E** 切线撇去峰（新指数撇去模式）。
- m** 由手动基线定义的峰。
- n** 由手动基线定义的负峰。
- t** 由手动基线定义的切线撇去峰。
- x** 由手动基线定义的切线撇去峰（成份撇去）。
- R** 峰为重新计算的峰。
- f** 由前肩峰切线定义的峰。
- b** 由尾肩峰切线定义的峰。
- F** 由前肩峰垂线定义的峰。
- B** 由尾肩峰垂线定义的峰。
- U** 未指定峰。

峰面积测量

峰积分的最后一步是确定峰的最终面积。

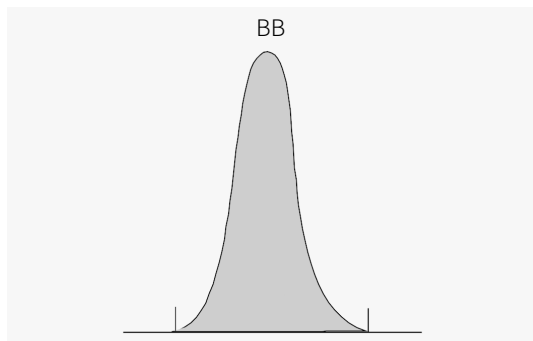


图 10 基线到基线峰的面积测量

对于简单的孤立峰，峰面积由峰的开始点与结束点之间的基线以上的累加峰面积确定。

峰面积的确定

在积分过程中，积分器计算面积的方法如下：

- 对于基线到基线 (BB) 峰，面积为峰开始点与结束点之间的基线以上的面积，如第 31 页的图 10 中所示。
- 对于峰谷到峰谷 (VV) 峰，面积为从峰谷点处用垂线分成片段的基线以上面积，如第 32 页的图 11 中所示。

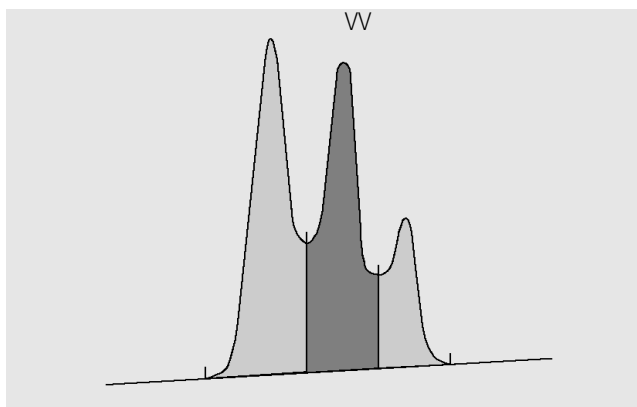


图 11 峰谷到峰谷峰的面积测量

- 对于切线 (T) 峰，其面积为重置的基线以上的面积，
- 对于溶剂 (S) 峰，其面积为最后确立的基线点处的水平延伸线以上的面积，及切线 (T) 峰的重置的基线以下部分的面积。溶剂峰可能上升得太慢而难以确认，或者在运行中有一组较好的峰，您认为应该作为带骑峰的溶剂峰来处理。这通常包括一组合并峰，其中的第一个峰要比其他峰大得多。因为其他

峰通常位于第一个峰的尾部，所以简单的垂线处理可能会夸大这些峰。通过强制将第一个峰识别为溶剂峰，该组中其他的峰将从尾部被撇去。

- 基线以下的负峰具有正面积，如第 33 页的图 12 中所示。

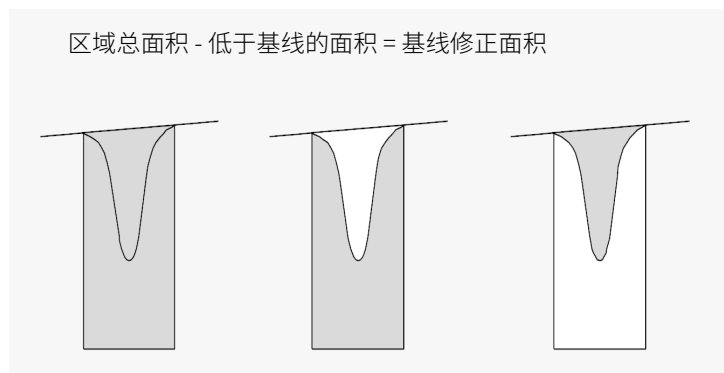


图 12 负峰的面积测量

单位和转换因子

表面上看，数据包含一组数据点；它们可以是取样数据，也可以是积分数据。如果是积分数据，则每个数据点对应一个面积，表示为**峰高 × 时间**。如果为取样数据，则每个数据点对应一个峰高。

因而，如果为积分数据，峰高为已计算出的实体（用面积除以开始处理数据点后经历的时间）。如果为取样数据，则通过用开始处理数据点后经历的时间乘以数据来计算面积。

积分计算使用这两种实体。积分器内部的携带单位为：面积的**检测器响应 × 秒**，并且**检测器响应**作为高度。必要时，这样做可以为整数截尾提供公共基数。无论在软件中如何检测、计算和保存时间、面积和峰高的检测值，在报告中均以实际物理单位表示。

基线定位

基线校正模式

OpenLab CDS 中有多个可用的基线校正模式。这些将在下面的章节中介绍。

基线校正模式：经典

信号低于绘制的基线时即发生穿透（第 34 页的图 13 中点 a）。

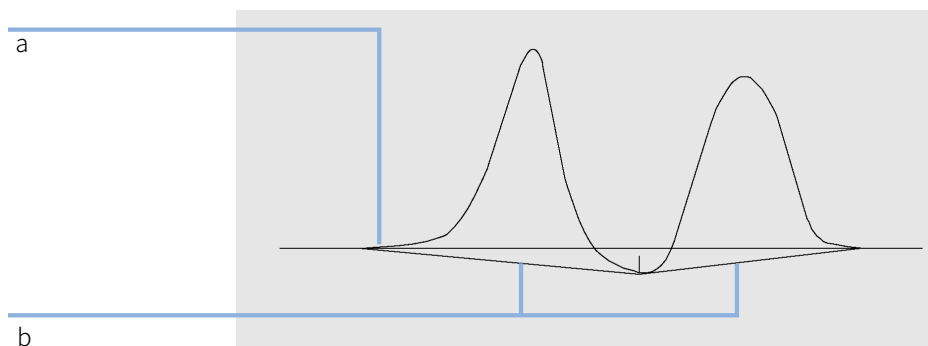


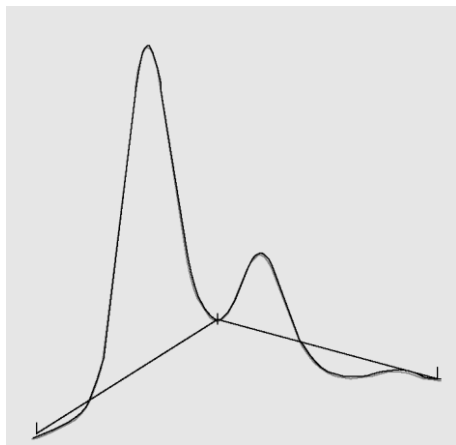
图 13 基线穿透

如果发生基线穿透，则该部分基线可能会被重建，如第 34 页的图 13 中点 b。您可使用以下校正模式删除所有基线穿透：

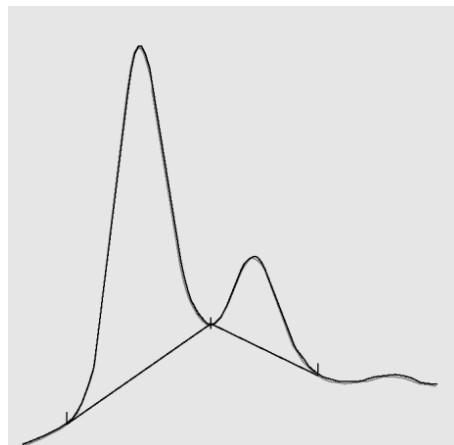
- 无穿透
- 高级

基线校正模式：无穿透

选择此选项后，将在每个峰束中搜索基线穿透。如果发现穿透，峰的起点和/或终点将会被更改直到不存在穿透。



基线校正模式 **经典**



基线校正模式 **无穿透**

注意

具有子峰和肩峰的溶剂峰不能使用基线校正模式**无穿透**。

基线校正模式：高级

在高级基线校正模式下，积分器尝试最优化峰的起始和结束位置，为一簇峰重建基线并且移去基线穿透（见第 35 页的 [基线校正模式：无穿透](#)）。在许多情况下，高级基线校正可提供更稳定的基线，对斜率灵敏度依赖程度较低。

峰谷比

峰谷比是一种质量测定手段，表明峰与其他物质对应的峰的分离程度。此用户指定的参数为高级基线跟踪模式的要素。它将被用于决定是否使用画垂线或峰谷基线分离两个未显示基线分离的峰。积分器计算较小峰的基线修正高度与峰谷的基线修正高度之间的比率。如果峰谷比小于用户指定的值，则使用画下拉线方式；否则，将从第一个峰的开始处的基线到峰谷并从峰谷到第二个峰的结束处的基线画一条基线（第 35 页的 [基线校正模式：无穿透](#)与第 36 页的图 14相比）。

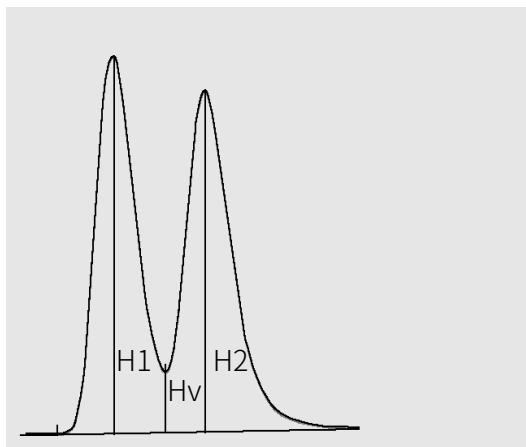


图 14 峰谷比

使用以下公式计算峰谷比：

$H1 \geq H2$ ，峰谷比 = $H2/Hv$

和

$H1 < H2$ ，峰谷比 = $H1/Hv$

第 37 页的图 15 显示用户定义的峰谷比的值对基线的影响。

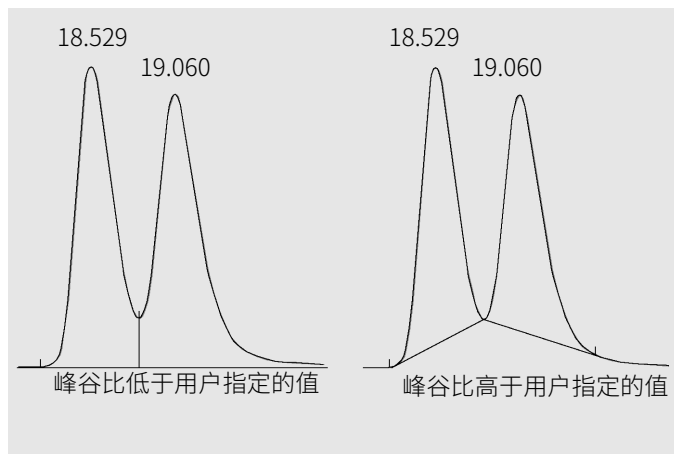


图 15 基线上的峰谷比的影响

切线撇去

切线撇去是针对峰的上升斜率或下降斜率上的峰的一种基线建立形式。前提是这两个峰没有被基线分隔。

下图显示了切线撇去的原理：

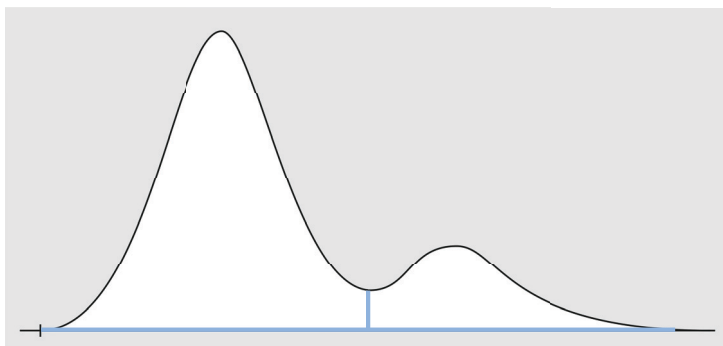


图 16 无撇去的峰，由下拉线分隔

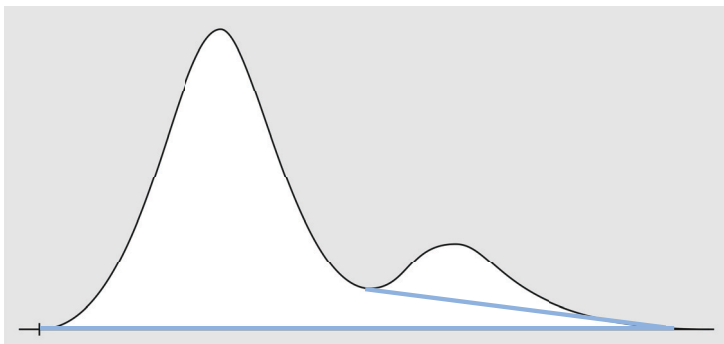


图 17 拖尾撤去

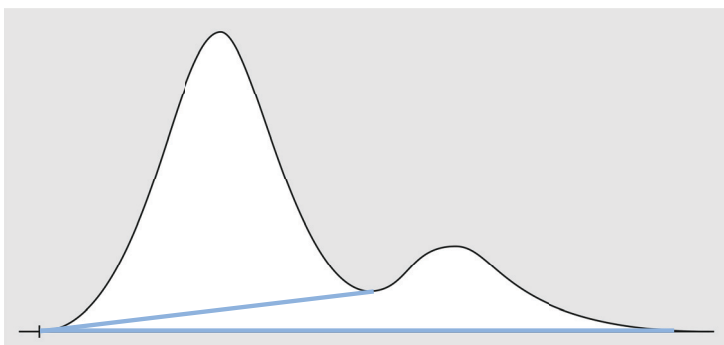


图 18 前伸撤去

撤去标准

以下标准可用于确定是否使用撤去线计算母峰上升或拖尾沿上的子峰洗脱面积：

- 撤去峰高比（前伸峰撤去峰高比或拖尾峰撤去峰高比）
- 撤去峰谷比

撤去峰高比是基线修正父峰高度（下图中的 H_p ）与基线修正子峰高度 (H_c) 之间的比率。要撤去子峰，请使用低于此比率的值。要禁用整个运行中的指数撤去，您可将该参数设置为较高的值或零。

撤去峰谷比是基线上方子峰高度（下图中的 H_c ）与基线上方峰谷高度 (H_v) 之比。要撤去子峰，请使用高于此比率的值。

注意

如果父峰拖尾处的一系列子峰未满足这些条件中的一个，则最后一个满足所有条件的子峰后的所有子峰均不再撤去，仅使用下拉线。

注意

如果有作用中的指数定时事件，或父峰本身就是一个子峰，则不使用这些条件。父峰和子峰之间的基线代码必须为类型**峰谷**（见第 28 页的**基线代码**）。

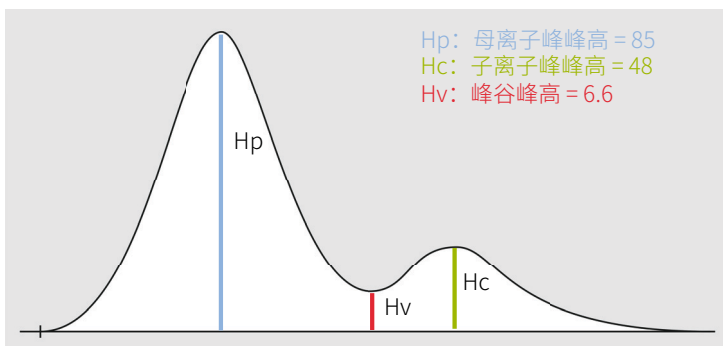


图 19 撇去条件值计算示例

$$\text{撇去峰高比} = H_p / H_c$$

$$\text{撇去峰谷比} = H_c / H_v$$

其中：

H_p	父峰的基线修正高
H_v	峰谷高度在基线之上
H_c	子峰的基线修正高度

拖尾撇去 要使用拖尾撇去，您必须如下设置参数：

- 拖尾峰撇去峰高比 = $85 / 48 = 1.77$
在积分事件中，使用 < 1.77 的值。
- 撇去峰谷比 = $48 / 6.6 = 7.3$
在积分事件中，使用 > 7.3 的值。

前伸撇去 使用前伸撇去时，第一个峰是子峰，第二个峰是父峰。因此，要使用前伸撇去，您应如下设置参数：

- 前伸峰撇去峰高比 = $48 / 85 = 0.56$
在积分事件中，使用 < 0.56 的值。
- 撇去峰谷比 = $85 / 6.6 = 12.9$
在积分事件中，使用 > 12.9 的值。

切线撇去模式

启用切线撇去之后，可使用四种模型计算适当的峰面积：

- 指数曲线
- 新指数撇去
- 直线撇去
- 结合指数计算和直线计算以获得最佳拟合（标准撇去）

指数曲线

此撇去模型使用指数公式通过子峰的开始点和结束点绘制曲线。此曲线从每个跟随父峰的子峰下面穿过；撇去曲线以下的面积将从子峰中减去并添加到父峰。

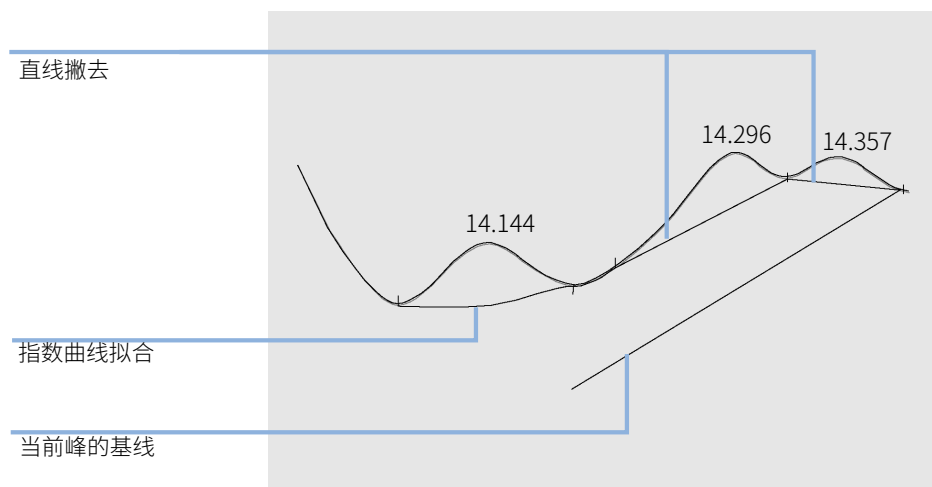


图 20 指数撇去

新指数曲线

使用指数公式绘制的撇去模型曲线，以估计父峰的上升沿或下降沿。此曲线从一个或多个父峰后面的峰（子峰）下穿过。撇去曲线以下的面积将从子峰中减去并添加到主峰。使用同一指数模型可以撇去多个子峰；通过画垂线从第一子峰的结束点开始分离第一个子峰以后的所有峰，垂线只画至撇去曲线处。

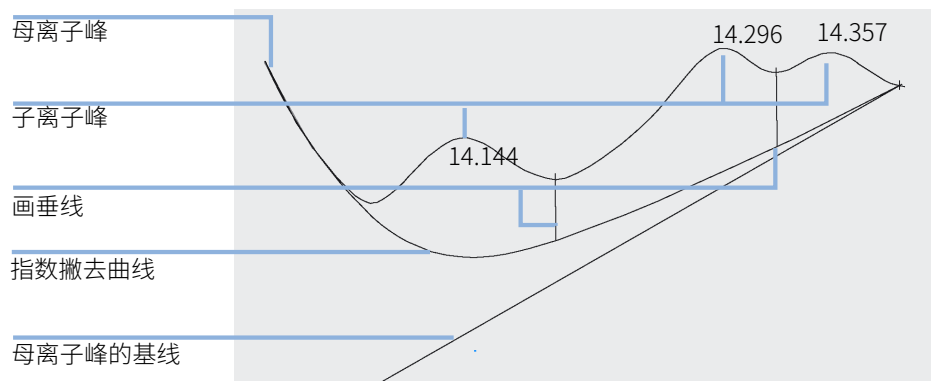


图 21 新指数撇去

直线撇去

撇去模型通过子峰的开始和结束点画直线。用父峰斜率修正子峰开始点的峰高。直线以下的面积将从子峰中减去并添加到父峰。

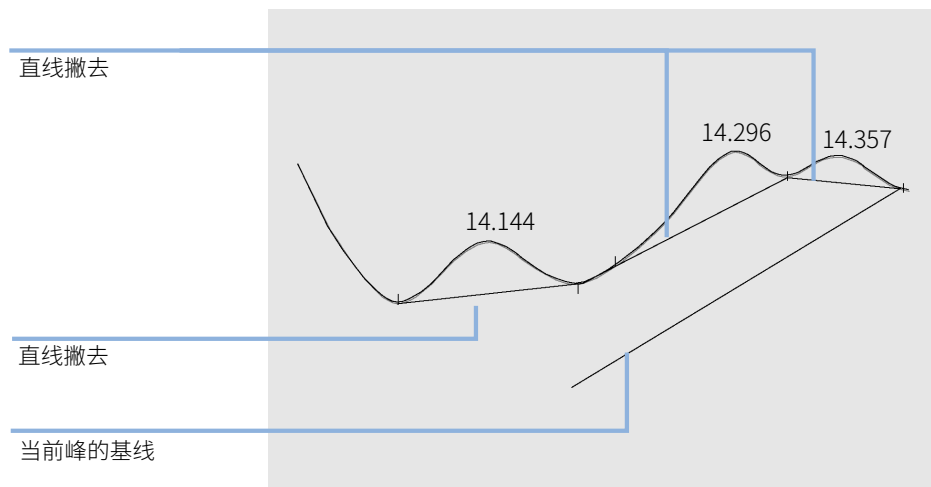


图 22 直线撇去

标准撇去

缺省方法是将指数计算和直线计算进行组合以达到最佳拟和。

通过消除峰高或面积的突然的不连续，从指数计算切换到线性计算。

- 当信号高出基线很多时，尾部拟合计算为指数计算。
- 当信号在基线范围内时，尾部拟合计算为直线计算。

两种计算的结合称为指数撇去或切线撇去。

计算用于撇去的指数曲线

使用以下公式计算指数撇去：

$$H_b(t_R) = H_0 * \exp(-B * (t_R - t_0)) + A * t_R + C$$

其中：

H_b	t_R 时的指数撇去的峰高
H_0	指数撇去开始点的峰高（基线以上）
B	指数函数的衰变因子
t_0	对应于指数撇去开始点的时间
t_R	保留时间
A	父峰的基线的斜率
C	父峰的基线的偏移

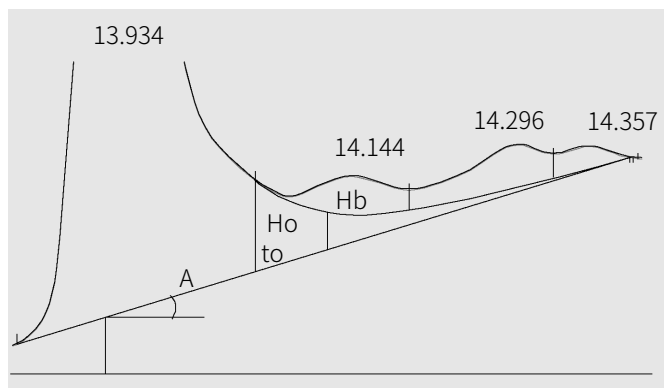


图 23 用于计算指数撇去的值

积分事件

可用的积分事件分为以下组：

- 初始积分事件是从积分起始点应用的事件。您可在处理方法的**积分事件**部分的**标准**节点找到初始积分事件及其默认值。这些事件无法删除，但可以对值进行更改。
- 定时事件发生于积分开始后。定时事件可能会改变初始事件的值，或可能打开或关闭其他积分参数。它们可在处理方法的**积分事件**部分的**标准**节点中添加。
- 可在**积分事件**部分的**高级**节点中配置总是对所有信号有效的积分事件。

标准积分事件：初始事件

斜率灵敏度

设置信号斜率的值，该斜率用于识别积分过程中峰的起点和终点。

您可设置给定信号的值，也可设定所有信号的全局参数。

如果信号斜率大于**斜率灵敏度**值，将建立峰起点；如果信号斜率降到**斜率灵敏度**值以下，将建立峰止点。

峰宽

控制积分器的选择性以区分峰与基线噪声。根据第一个预期峰（溶剂峰除外）的半高处的峰宽来指定以时间为单位的峰宽。

在运行过程中，积分器将在必要时更新峰宽以优化积分：

如果选择的初始峰宽太小，则可能会将噪声当作峰。如果宽峰和窄峰混在一起，则可以选择运行时间编程事件为特定的峰调整峰宽。有时候，峰将随着分析的进行而明显变宽，例如在恒温 GC 分析和等度 LC 分析中。为补偿这一点，积分器将在分析过程中峰变宽时自动更新峰宽，除非使用定时事件进行禁用。

更新峰宽时按照以下方式进行加权计算：

$$0.75 \times (\text{现有峰宽}) + 0.25 \times (\text{当前峰的峰宽})$$

最小峰面积

设置最小目标峰的面积。

任何面积小于最小面积的峰都不会进行报告。基线校正后，积分器会排除任何面积小于**最小峰面积**值的峰。**最小峰面积**值必须大于或等于零。

注意

手动积分期间会忽略**最小峰面积**。

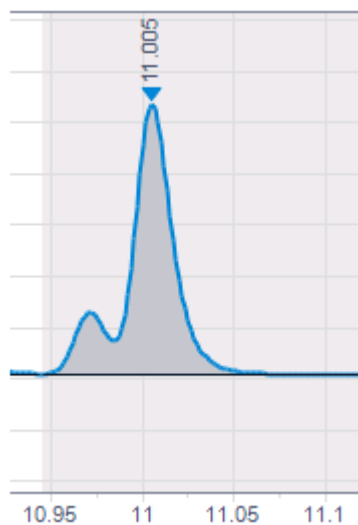
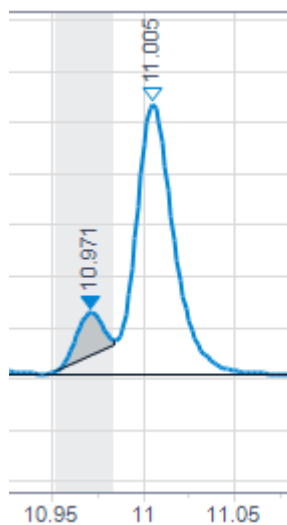
最小峰面积百分比

设置最小目标峰的面积百分比。

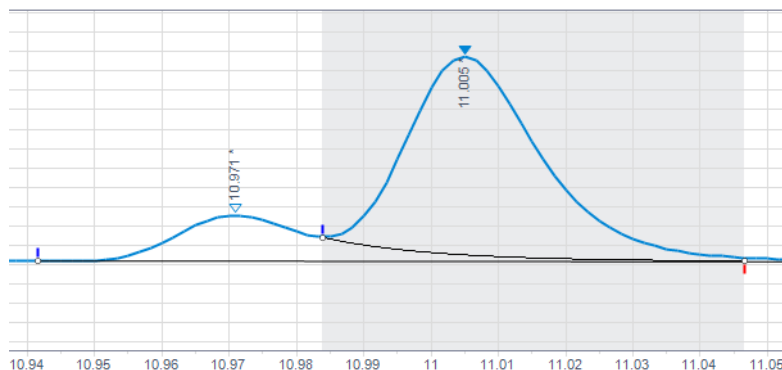
不会报告任何面积小于最小面积百分比的峰。基线校正后，积分器会排除任何面积百分比小于给定值的峰。

输入最小预期峰的面积百分比。您可以通过第一次积分数据文件时设置最小峰面积和最小峰高值为零 (0) 来获得这个信息。在峰积分结果表中使用**峰面积百分比**列来选择合适的最小峰面积百分比值。

如果驼峰由于低峰面积百分比而导致峰未积分，将合并为主峰。



如果主峰低于峰面积百分比阈值，但是驼峰高于该阈值，则保留主峰，否则由于驼峰的计算，基线的建立将基于排除的峰。



最小峰高

设置最小目标峰的高度。

任何小于最小峰高的峰都不会进行报告。基线校正后，积分器会排除任何高度小于**最小峰高**值的峰。

注意

手动积分期间会忽略**最小峰高**。

肩峰模式

设置在峰上检测肩峰的初始方法。

您可以从以下选项中进行选择：

关闭	不检测肩峰。
下拉基线	肩峰是使用下拉线积分的。
切线基线	肩峰是使用切线基线积分的。

该设置定义了应用程序处理未被基线分隔的峰的方式。有关切线撇去的更多详细信息，请参见第 37 页的 [切线撇去](#)。如果您使用切线基线，您可选择多种模式（见第 40 页的 [切线撇去模式](#)）。

选择峰宽

选择刚好能将噪音过滤掉（以避免将噪音解释为峰），而又不会破坏信号中的信息的设置。

- 要为单个目标峰选择合适的初始峰宽，请使用峰的时间宽作为峰的基本参数。
- 为了选择用于多个目的峰的合适初始峰宽，设定初始峰宽等于或小于最窄峰宽，以选择最佳峰。

最小峰高和最小峰宽

峰宽和**最小峰高**在积分过程中都是很重要的。可以通过更改这些值来获得不同的结果。

- 在高噪声环境下，需要对相对占多数的组分进行检测和定量时，可增加最小峰高和峰宽。增加峰宽可提高噪声过滤，增加最小峰高可保证忽略随机噪声。
- 在检测和定量高度接近噪声的痕量组分时，要降低最小峰高和峰宽。减少峰宽将降低信号的过滤，而降低最小峰高可保证高度不够的小峰不会被排除。
- 当分析中含有各种峰宽的峰时，应将峰宽设置为较窄峰的峰宽并降低最小峰高，以确保宽峰不会因为高度降低而被忽略。

调谐积分

通常，更改斜率灵敏度值，峰宽，最小峰高和最小峰面积来自定义积分是很有用的。下图显示了这些参数对一个信号中的五个峰的积分的影响。

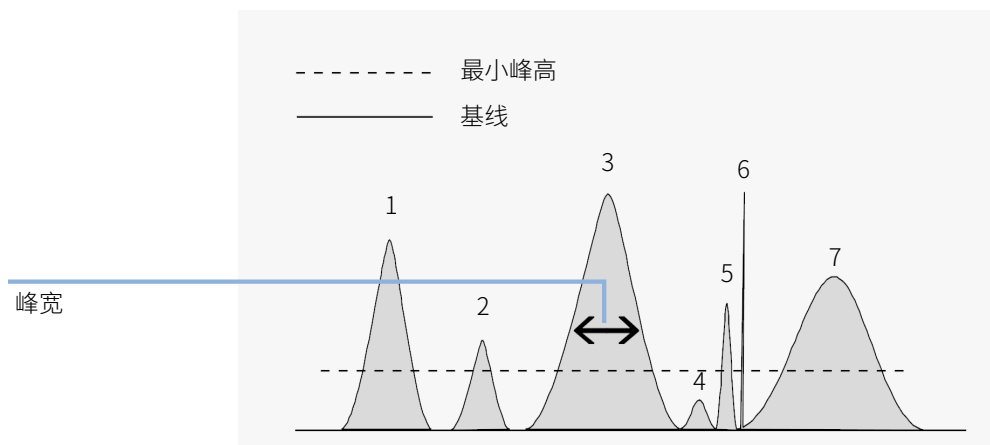


图 24 使用初始事件

只有当满足所有四个积分参数时，才会对峰进行积分。如果使用峰 3 的峰宽以及所示的最小峰面积和斜率灵敏度，则仅对峰 1、峰 3 和峰 7 进行积分。

峰 1 由于满足所有四个积分参数，因此将对其进行积分。

峰 2 由于其面积小于设置的最小峰面积，因此被排除。

峰 3 由于满足所有四个积分参数，因此将对其进行积分。

峰 4 由于峰高低于最小峰高，因此不对其进行积分。

峰 5 由于其面积小于设置的最小峰面积，因此被排除。

峰 6 不对其进行积分；过滤和集束使此峰不可见。

峰 7 对其积分。

表 5 最小峰高值和最小峰面积值

积分参数	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 7
最小峰高	高于	高于	高于	低于	高于	高于
最小峰面积	高于	低于	高于	低于	低于	高于
积分峰	是	否	是	否	否	是

标准积分事件：定时事件

OpenLab CDS 提供了一组定时事件，这些事件允许您选择内部算法基线定义或用户定义的积分器模式。在默认基线建立不合适时，这些定时事件可用于自定义信号基线的建立。例如，用户可以创建新的峰面积加和事件类型（请参见**峰面积加和片段**），这不会改变默认峰面积加和的结果。在计算最终峰面积的总和以及修正短期和长期的基线偏差时，这些事件可能会有用。

您可设置给定信号的值，也可设定所有信号的全局参数。

最小峰面积

见初始事件。(第 43 页的 [标准积分事件：初始事件](#))

峰面积加和

设置积分器加和面积的端点（开/关）。

使用面积加和各创建的峰的保留/迁移时间是开始和结束时间的平均。如果在一个峰开始后但顶点前发生**面积加和打开**事件，则整个峰均计入加和。如果发生在峰顶点之后，但在峰结束之前，则峰被截断并立即开始面积加和。

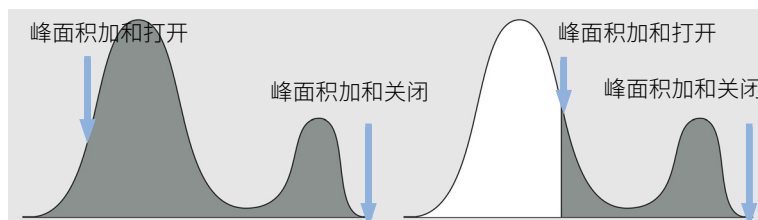


图 25 峰顶点之后峰结束之前的峰面积加和打开事件

如果在一个峰开始后但顶点前发生**面积加和关闭**事件，则加和立即结束。信号上发生此事件的点成为“峰谷点”。如果**面积加和关闭**事件发生在顶点之后，则事件被延迟到峰结束之后。

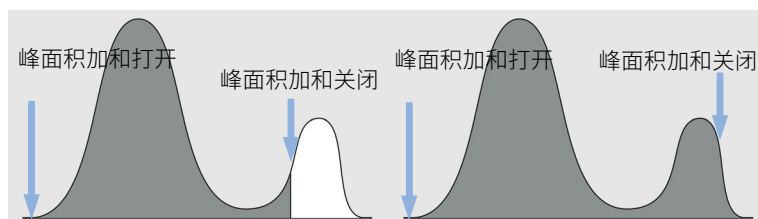


图 26 峰开始之后峰顶点之前的峰面积加和关闭事件

峰面积加和片段

此事件可无面积或时间间隔损失地定义连续峰面积加和间隔。

该事件与**峰面积加和**事件类似。但您可用此事件定义连续面积加和间隔且不会有时间间隔和积分峰面积损失。峰在您设置事件的点拆分，面积加和严格在设置的**峰面积加和片段**间隔上开始和结束。

面积加和片段峰的保留时间在片段时间间隔的中间。保留时间不随识别或重新校正而变化。可能只做轻微更改，这是因为积分器可能会在面积加和片段开始事件开始采集数据点，并在面积加和片段结束事件时结束。因此，保留时间的变化最多就是两个数据点之间的时间。

使用**开始**参数设置各个峰加和片段的开始时间。下一开始时间用作之前的时间片段的结束时间，因此您可在相互之间使用多个开始事件。

开始负峰面积参数定义了从时间片段面积中扣除任何负面积（在设定基线以下）时的积分起始点。

结束参数定义最后一个时间片段的终点。计算时间片段的面积时忽略任何在设定基线以下的面积。如果后面没有其他面积加和片段，则积分器恢复正常的峰检测模式。

在从**开始**事件到下一**结束**事件的范围内，基线总是一条直线，在方向上没有任何变化。仅在结束点之后（至少 0.001 min 后），可再次使用事件**根据范围设置基线**、**根据范围设置低基线**或**根据范围使用基线**设置长期基线变化。

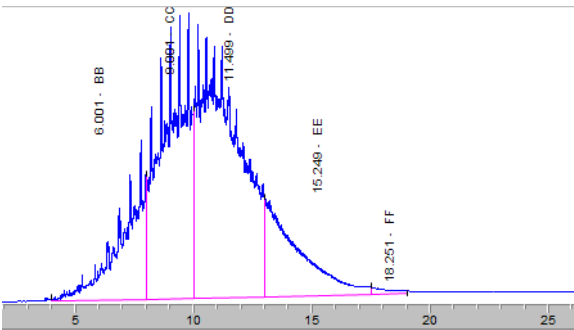


图 27 例如：峰面积加和片段

上图显示了包含以下定时事件的示例：

表 6 基线构造

时间	事件	参数
4 min	根据范围设置基线	+2 min
22 min	根据范围设置基线	+4 min

表 7 峰面积加和片段

时间	事件	参数
4 min	峰面积加和片段	开始
8 min	峰面积加和片段	开始
10 min	峰面积加和片段	开始
13 min	峰面积加和片段	开始
17.5 min	峰面积加和片段	开始
19 min	峰面积加和片段	结束

自动调节峰宽

启用自动更新下一个峰的峰宽。这会恢复该时间点的任何峰宽，同时根据之前找到的峰宽恢复峰宽跟踪。

峰谷处的基线

设置积分器在峰之间的每个峰谷处重置基线的端点（开/关）。

重复重新设置基线会切掉峰角。这种角成为负面积，会减少测量的峰的总面积。

当峰的背景为一个很宽的低峰，且您希望将基线重置到所有峰谷点时，可使用该功能。

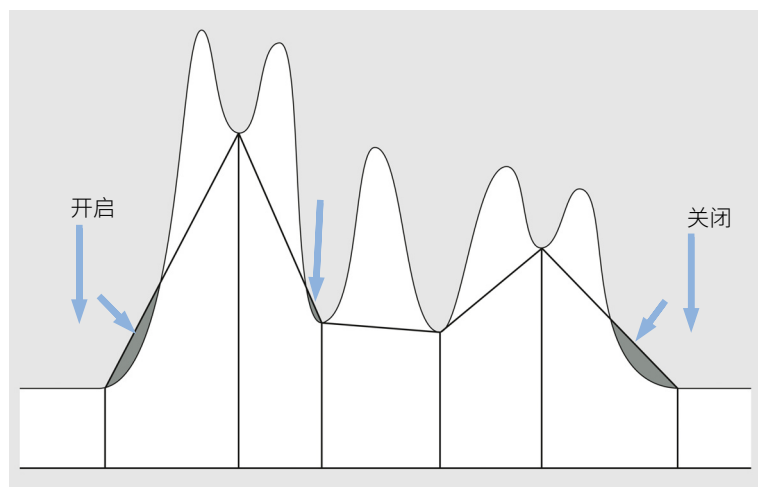


图 28 峰谷处的基线事件

反向基线 设置标准积分器扩展基线的点，在水平方向上，从已存在的基线点反向延伸至此点。

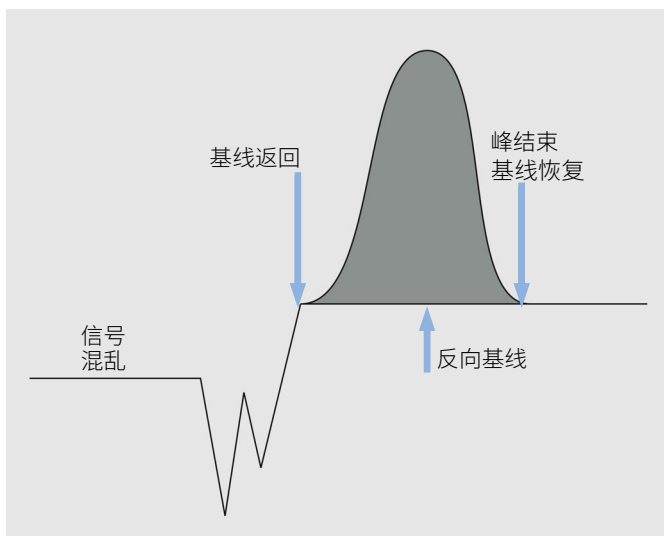


图 29 基线返回事件

基线保持 在已建立的基线高度处会绘制一条从基线保持事件开启处直到基线保持事件关闭处的水平基线。

基线连到下一峰谷 设置一个点，在该点积分器将在峰之间的下一个峰谷处重新设置基线，然后自动取消该功能。

该功能用于一组合并的峰，即您认为有重叠或多个簇峰紧密连的时候。面积加和期间会忽略该功能。

开始基线 若信号处于峰值时，设置积分器将基线重置为数据点当前高度的时间点。

如果信号位于基线上，则会忽略此功能，并使用检测到的基线。

检测肩峰 设置积分器开始和停止检测峰肩的端点（开/关）。

肩峰是根据设置的**肩峰模式**进行检测的。请参见第 43 页的 [标准积分事件：初始事件](#)。

固定峰宽 设置峰宽并禁用下一峰的峰宽的自动更新。要获得良好性能，请将峰宽设置为与实际半峰高处的峰宽接近的值。

最小峰高 见初始事件。(第 43 页的 [标准积分事件：初始事件](#))

积分 设置积分器停止和开始积分的端点（开/关）。

积分器关闭与打开时的时间之间的峰将被忽略。

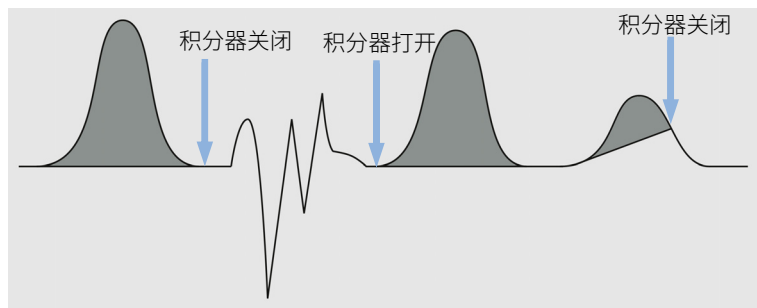


图 30 积分事件

基线是从最后一个声明的点开始绘制的，包括所有穿透重置。积分器关闭时会忽略所有其他积分器功能和设置的峰宽、阈值和最小面积更改。在**开**和**关**点，基线点重建。

积分器设置为重新开始时，新基线点会在当前信号水平上重置。

此功能适用于忽略色谱图/电泳图谱中的部分或消除基线干扰。

最大峰面积 设置最大目标峰的面积。

任何面积大于最大面积的峰都不会进行报告。基线校正后，积分器会排除任何面积大于最大峰面积值的峰。

您可对此事件进行调整，如从积分结果中排除 GC 色谱图的溶剂峰，但包含驼峰。

最大峰高 设置最大目标峰的高度。

任何高度大于最大高度的峰都不会进行报告。基线校正后，积分器会排除任何高度大于最大峰高度值的峰。

您可对此事件进行调整，如从积分结果中排除 GC 色谱图的溶剂峰，但包含驼峰。

负峰 设置积分器识别负峰的端点（开/关）。

识别到负峰时，积分器不会在穿透后自动重置基线。自此之后所有基线穿透均将使用绘制的零基线积分。面积是相当对该基线计算的绝对值。

负峰功能只能在基线偏移与峰大小相比很小时使用，因为基线是从峰簇开始处声明的基线点绘制到峰结束处已建立的基线。

注意

激活**负峰打开**事件后，“峰面积加和”将自动取消。

负峰检测时将自动取消切线撇去；此类峰由下拉线分隔。

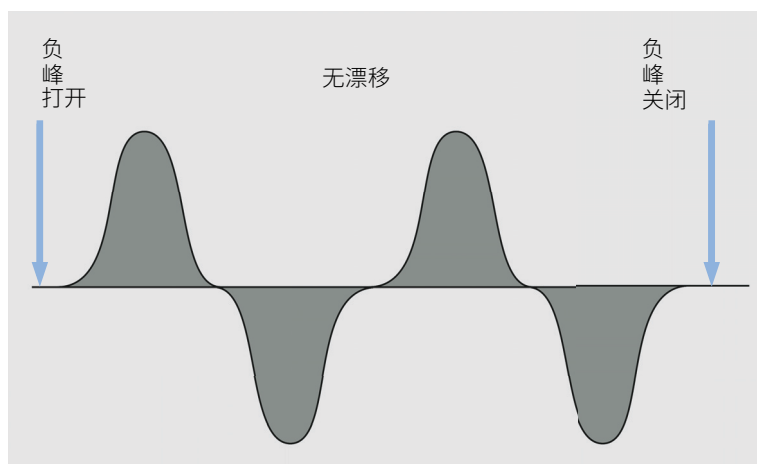


图 31 负峰事件

设置范围内基线

使用一系列点在时间范围的中点计算统计数据上有意义的基线点。

您提供的值是指定时间点附近的时间间隔。它用来定义用于确定基线点的范围。有关基线的统计计算详情，请参见第 34 页的 [基线校正模式](#)。

如果设置值 =0，使用最近的色谱图数据作为基线点；不作任何统计。如果设置负值，设置与[根据范围使用基线=清除](#)相同：它会停止使用统计基线算法。

您可在色谱图中指定任何用于基线计算的面积。在理想情况下，该面积应没有化学背景，仅包含噪声。

如果您指定了两个[从范围设置基线点](#)（例如色谱图的起点和终点），那么两点间的基线将以一条直线连接。

设置范围内低基线 与**设置范围内基线**类似，但使用最低可能的基线点，允许上方有 30 % 多个噪声数据点。这样，基线穿透就会被最小化。

当色谱图面积用于包含大量化学噪声或电子噪声尖峰时，使用**从范围设置低基线**代替**从范围设置基线**。

根据范围设置低基线通过将**根据范围设置基线** y 值减去 1σ （噪声标准偏差）计算而得。

肩峰模式 见初始事件。(第 43 页的 [标准积分事件：初始事件](#))

斜率灵敏度 见初始事件。(第 43 页的 [标准积分事件：初始事件](#))

溶剂峰 超出特定斜率（以 mV/s 为单位）的峰会当作溶剂峰检测，溶剂峰在模数转换的范围之外。

将自动对拖尾峰进行切线撇去，不必打开切线撇去事件。

如果溶剂峰检测已关闭，那么将从拖尾峰开始划垂线，而非切线。

分裂峰 指定利用垂线来分裂峰的点。

注意

当启用**峰面积加和**时，您无法使用**分裂峰**。如要在**峰面积加和**启用时分裂峰，请使用相应的手动积分事件。

您无法使用**分裂峰**事件分裂撇去的峰。

拖尾切线撇去 设置从哪里开始或结束切线撇去。

开启

设置一个点，积分器在该点设置下一个峰的峰后缘的切线撇去。高于切线的所有峰被积分以重新设置基线。从小峰前的峰谷到小峰后的点之间划一条切线，在此处，检测器信号梯度与切线梯度相等。在峰期间，任何时候都可以输入切线撇去事件时间。将峰也指定为溶剂峰。

关闭

在当前峰结束之后，或者如果在指定的间隔未找到峰（且在下一个峰束中未指定溶剂峰），将结束切线撇去。

切线撇去模式 下列模型可用于计算合适的峰面积：

- 指数曲线(第 40 页的[图 20](#))
- 新指数(第 41 页的[图 21](#))
- 标准(第 42 页的[图](#))
- 直线(第 41 页的[图 22](#))

未指定峰 对于部分基线建立，有些小区域在基线之上和信号之下，但不属于任何已识别的峰。通常这些区域既不测定也不报告。如果开启未指定峰，则这些区域会被测定并报告为未指定峰。此类区域的保留时间/迁移时间为该区域的开始和结束的中点。

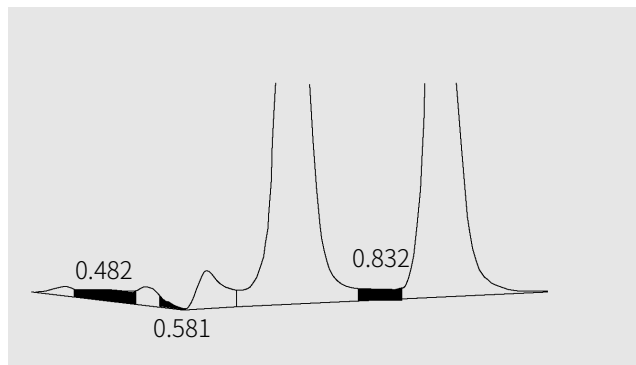


图 32 未指定峰

更新峰高

此事件强制积分器使用最高数据点的绝对峰高作为峰高。如果没有此事件，就会使用插值曲线的最大值。**更新峰高**事件尤其适用于具有极其陡峭和带角度的峰的信号，或者峰值之前有一个向下的倾斜。像这样的峰是 MSD 信号的典型。

不计算**更新峰高**的开始时间。此事件总是影响到整个色谱图。

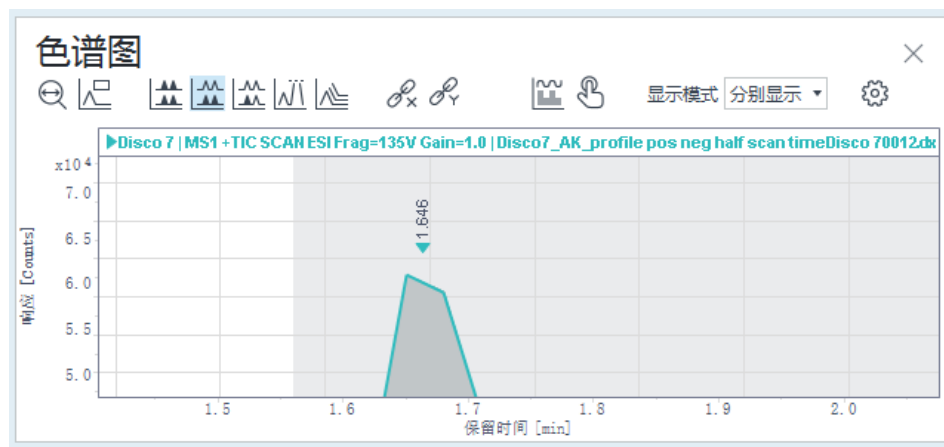


图 33 缺省积分

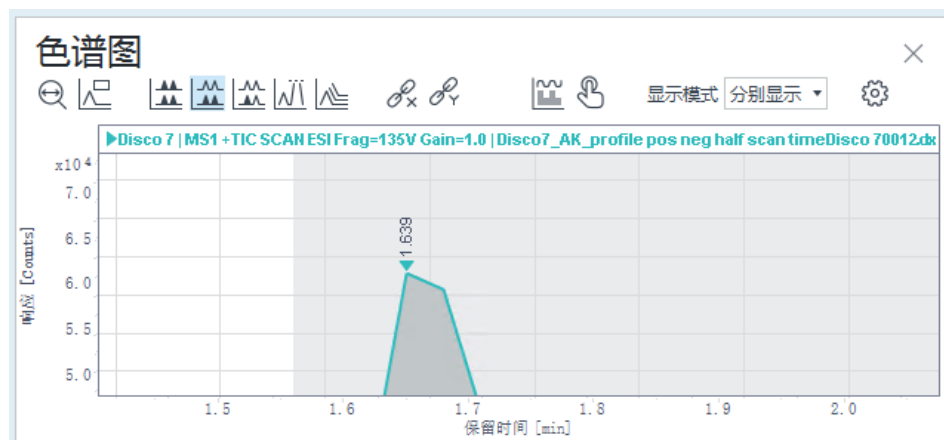


图 34 使用更新峰高事件积分

使用范围内基线

可以将基线值延伸至之前或之后的时间以最小化基线穿透。

如果在没有色谱峰的区域计算**从范围设置基线**或**从范围设置低基线值**，那么将计算所得的基线投影到第一个目标洗脱物的峰即将出现（或是最后目标峰被洗脱之后）的时间将非常有利。**从范围使用基线**使您可以向任意方向进行最多三个此类投影。

建立上升或下降基线时，该事件会很有效，因为直基线可能会意外穿过色谱图曲线。该参数告诉积分器从哪个基线范围拾取基线点并将基线投影到给定时间范围的基线点。

可以使用以下参数：

- **清除**：清除新建基线行为并从此点返回传统算法。
- **左**：使用离该时间点左侧最近的基线范围中的基线值。
- **右**：使用离该时间点右侧最近的基线范围中的基线值。
- **范围 1—范围 9**：使用给定的基线范围内的基线值。基线范围是从色谱图开始计数的。

另请见**面积加和片断** (第 49 页的图 27) 中的示例。

高级积分事件

为所有信号提供高级积分事件：

切线撇去模式 定义针对峰的上升斜率或下降斜率上的峰的基线建立形式。请参见第 40 页的 [切线撇去模式](#)。

指数 通过子峰的高度校正开始和结束点画指数曲线。

新建指数 绘制一条指数曲线以估计父峰下降沿。

标准 结合指数计算和直线计算以获得最佳拟合。

直线 通过子峰的高度校正开始和结束点画直线。

拖尾峰撇去峰高比 此选项与**撇去峰谷比**一起用于设置在溶剂或其他大型峰的拖尾处切线撇去小峰的条件。请参见第 38 页的 [撇去标准](#)。

它是基线修正父峰高度 (H_p) 与基线修正子峰高度 (H_c) 之间的比率。高于指定值的比率将启动撇去。

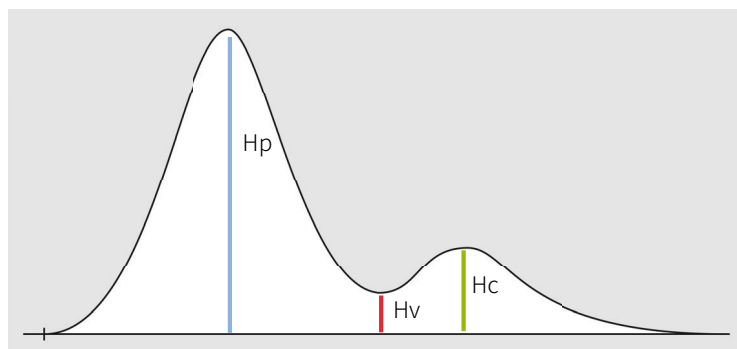


图 35 例如：带拖尾撇去的峰

前伸峰撤去峰高比

此选项与**撤去峰谷比**一起用于设置在溶剂或其他大型峰的前伸峰处切线撤去小峰的条件。请参见第 38 页的**撤去标准**。

它是基线修正父峰高度 (Hp) 与基线修正子峰高度 (Hc) 之间的比率。高于指定值的比率将启动撤去。

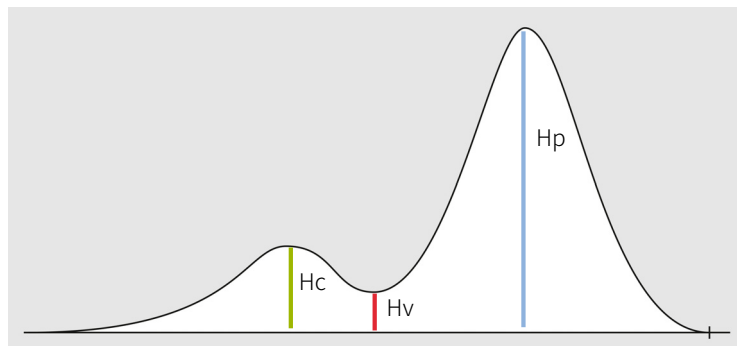


图 36 例如：带前伸撤去的峰

撤去峰谷比

此选项与**拖尾峰撤去峰高比**或**前伸峰撤去峰高比**一起用于设置在溶剂或其他大型峰的拖尾或前伸峰处切线撤去小峰的条件。请参见第 38 页的**撤去标准**。

它是基线修正子峰高度 (Hc) 与基线修正峰谷高度 (Hv) 之间的比率。低于指定值的比率将启动撤去。

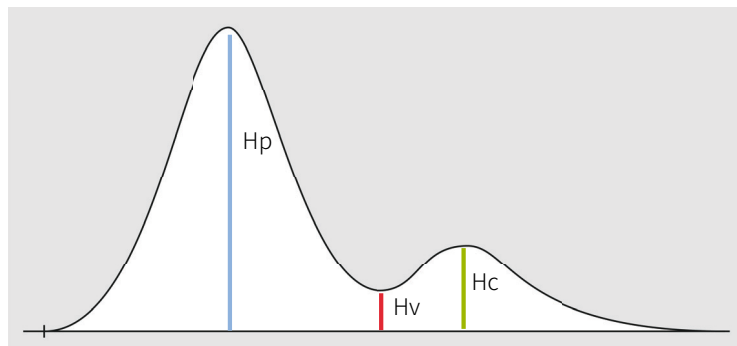


图 37 例如：带拖尾撤去的峰

基线校正模式 设置基线校正的类型。请参见第 34 页的 [基线校正模式](#)。

可以选用以下参数：

经典	接受基线穿透。
无穿透	通过重建基线移除基线穿透。
高级	积分器尝试最优化峰的起始和结束位置，为一簇峰重建基线并且移去基线穿透。

峰谷比 用于确定不显示基线分离的两个峰是否使用引入线或峰谷基线进行分离，这是小峰的基线修正高度与峰谷的基线修正高度的比率。请参见第 36 页的 [峰谷比](#)。

如果峰谷比小于指定的值，则使用画下拉线方式 (A)；否则，将从第一个峰的开始处的基线到峰谷并从峰谷到第二个峰的结束处的基线画一条基线 (B)。

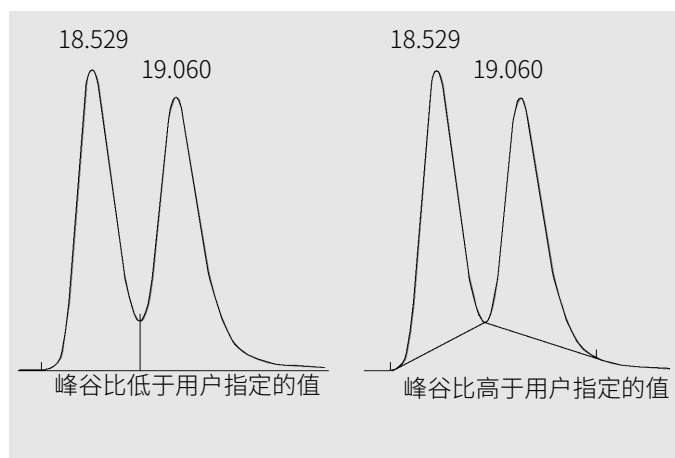


图 38 基线上的峰谷比的影响



3 使用 EZChrom 积分器积分

积分事件 62

基线代码说明 78

本章包含对 EZChrom 积分事件的说明。

积分事件

您可设置给定信号的值，也可设定所有信号的全局参数。可右键单击参数表来添加定时事件。

存在多种不同的积分事件类型：对于其中的一部分，您可用开始和停止时间设置参数激活的时间范围。对于其他部分，您可设置从开始时间或在一个时间范围内使用的特定值。**时间停止 [min]** 和**值**列将根据事件类型启用或置灰。

注意

除 OpenLab EZChrom 外，OpenLab CDS 中的以下积分事件的停止时间将置灰。

- 峰宽
- 阈值
- 肩峰灵敏度
- 最小峰面积
- 重置基线
- 在峰谷重置基线

峰宽 用于在噪声中识别实际峰。系统使用默认峰宽值 = 0.2 min。

峰宽事件用于计算集束或平滑值，使用积分算法前的数据点。一个峰上有 20 个点时积分效果最佳。如果峰采样过度（即采样频率过高），将使用**峰宽**参数取平均值，使积分算法仅使用峰上的 20 个点。

只要给定的峰出现在峰顶点之前或顶点上，即应用**峰宽**事件。

峰宽参数仅用于校正过度采样。它不能用于采样过少（即采样频率过低导致最窄的峰上少于 20 个点）。

下面的图中显示了不正确的值对峰基线的影响。

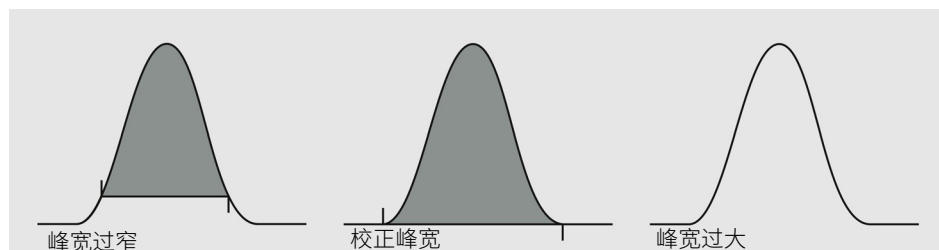


图 39 峰宽

注意

在大部分情况下，根据色谱图中最窄峰确定的初始峰宽值即可用于正确地积分所有峰。但每次峰宽加倍时都应输入新峰宽定时事件。

注意

峰宽和阈值的极端值（过大或过小）会导致发生未检测到峰。

阈值

该参数是一阶导数，用于使积分算法从基线噪声和偏移中区分峰的开始和停止。**阈值**的值是根据色谱图的一部分中最高的第一个导数值生成的。

下面的图中显示了不正确的值对峰基线的影响。

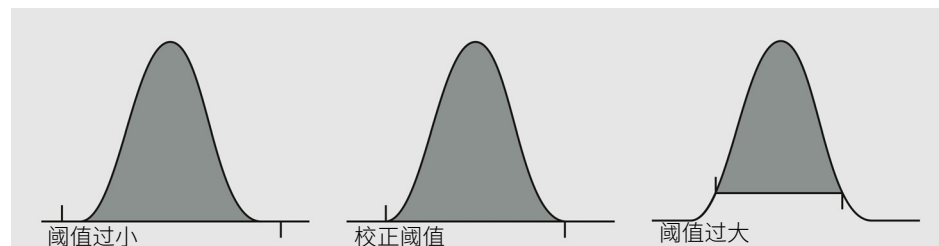


图 40 阈值

注意

峰宽和阈值的极端值（过大或过小）会导致发生未检测到峰。

肩峰灵敏度

该参数用于在较大的峰上启用检测肩峰。较大的值将降低肩峰灵敏度，而较小的值将提高肩峰灵敏度。**肩峰灵敏度**的值是根据色谱图的一部分中最高的第二个导数值生成的。

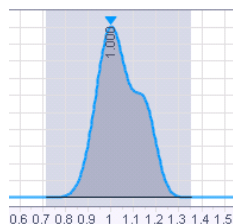


图 41 肩峰灵敏度值设置过高

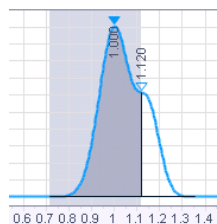


图 42 肩峰灵敏度值设置正确

积分关闭 该事件用于在指定范围关闭色谱图的积分。如果您对色谱图中的特定区域不感兴趣，且不希望看到该部分的峰报告时，则可使用该功能。

当使用**积分关闭**禁用峰后，噪音计算时将仍包括这些区域。请对所有峰进行积分以得到正确的噪音值。

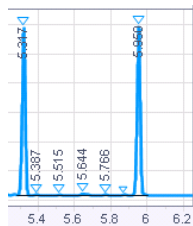


图 43 缺省积分

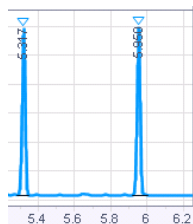


图 44 从 5.35 至 5.85 min 积分关闭

峰谷到峰谷 该事件将为未完全解析的峰（即未返回基线）在峰彼此间的最低点上绘制基线。

如果不使用此事件，一条基线会延伸到色谱图返回基线的下一个点，且未到达基线的峰会有一条垂直线。

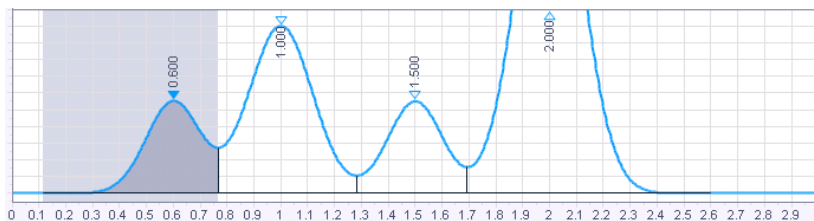


图 45 缺省积分

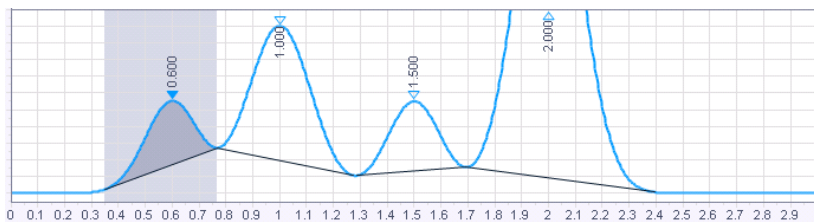
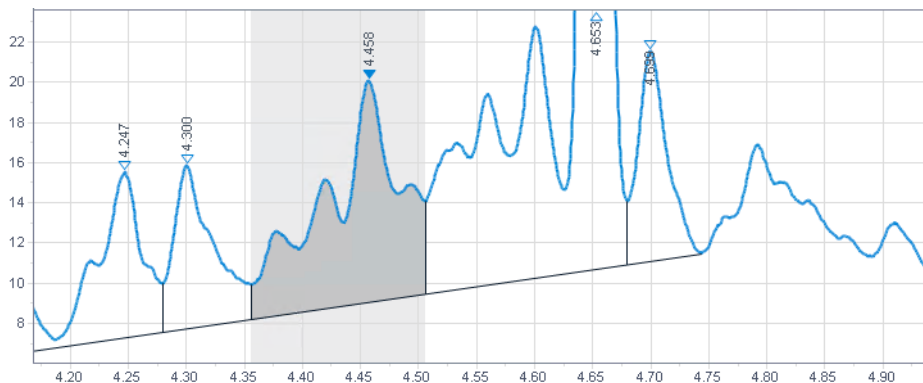
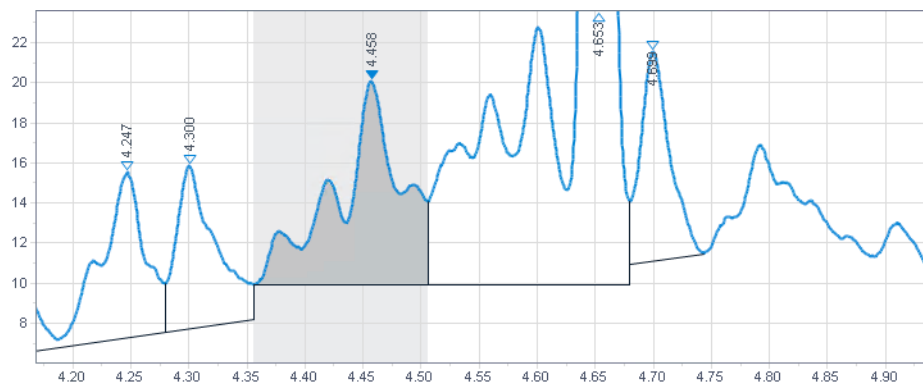


图 46 使用峰谷到峰谷事件积分

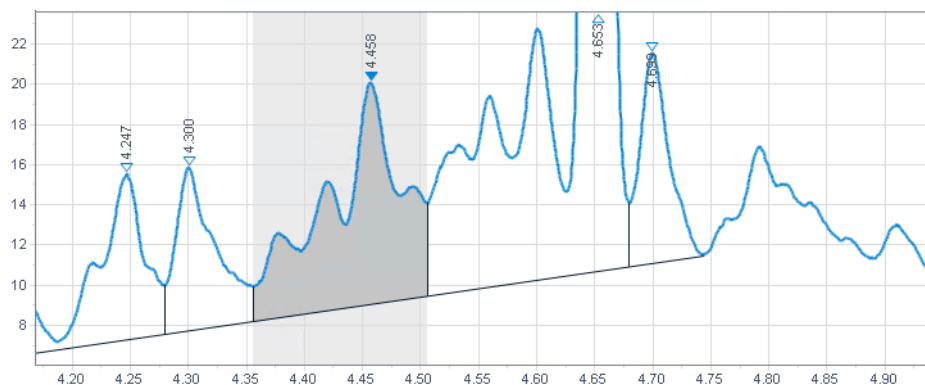
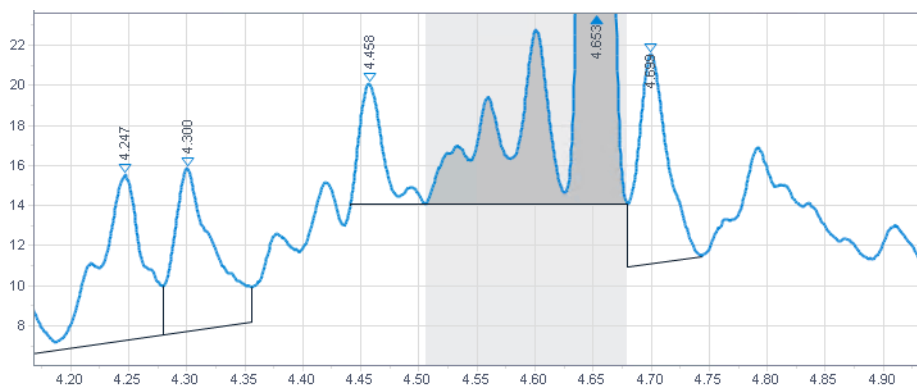
水平基线

此事件允许您在指定时间范围内的峰将基线水平向前延伸。基线从定义的时间范围开始时的第一个峰处开始。基线的结束位置是与信号相交的位置，或最后一个峰结束的位置。

**图 47 缺省积分****图 48 使用 4.4 和 4.69 min 之间的水平基线事件积分**

反向水平基线

此事件用于强制在色谱图开始的方向的水平基线。将会为指定时间范围内的峰创建反向水平基线。基线是由定义的时间范围内最后一个峰结束来定义的。其会重新延伸到与信号相交的位置或第一个峰开始的位置。

**图 49 缺省积分****图 50 使用 4.4 和 4.69 min 之间的反向水平基线事件积分**

最低点水平基线

该事件适用于保留时间在**时间 (min)** 和 **时间停止 (min)** 定义的时间范围内的所有峰。

该**值**定义了积分器开始搜索最低基线点的时间。

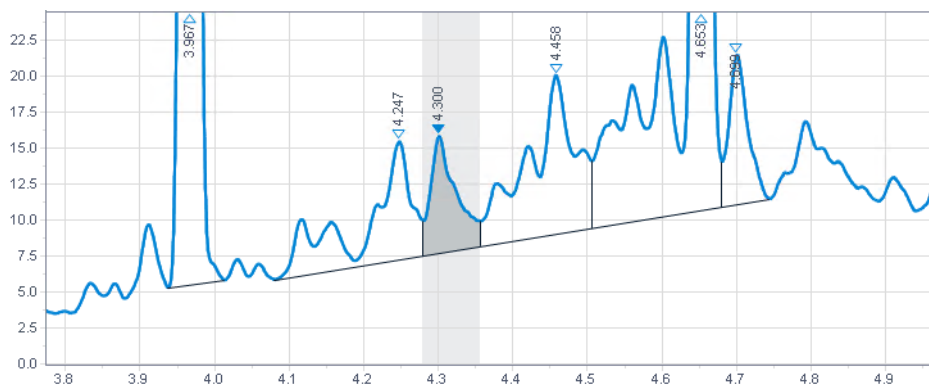


图 51 缺省积分

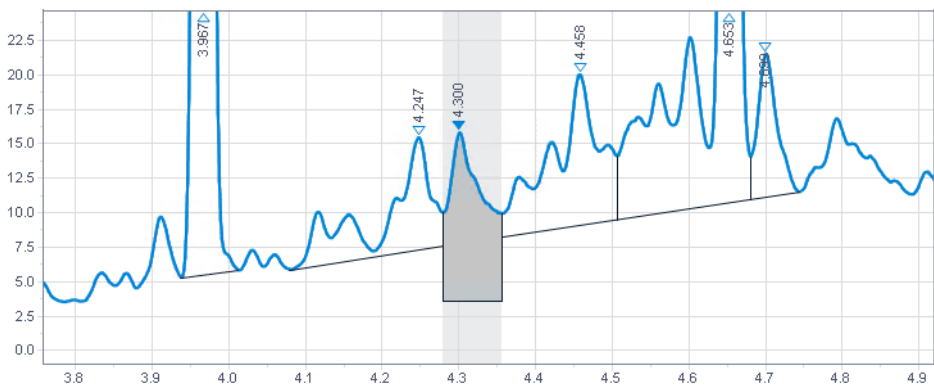


图 52 最低点水平基线事件在 4.25 和 4.35 min 之间，且将值设置为 3.8 min 的积分

切线撇去 此事件用于积分位于较大的峰尾端上的小峰。小峰的基线成为色谱图上从较大峰的峰谷向切点绘制的切线。

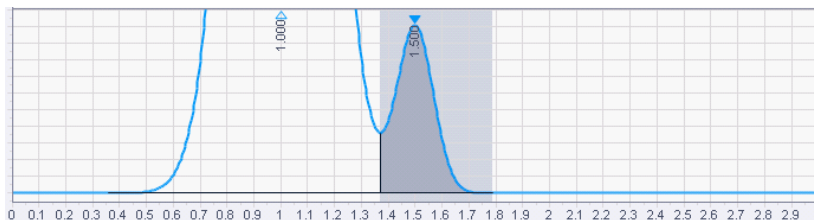


图 53 缺省积分

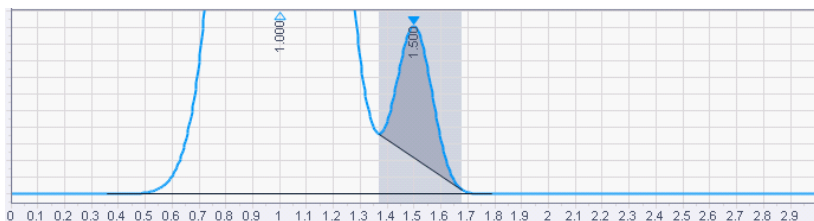


图 54 使用切线撇去事件积分

前切线撇去 此事件用于为母峰上前端的子峰强制生成一个切线基线。

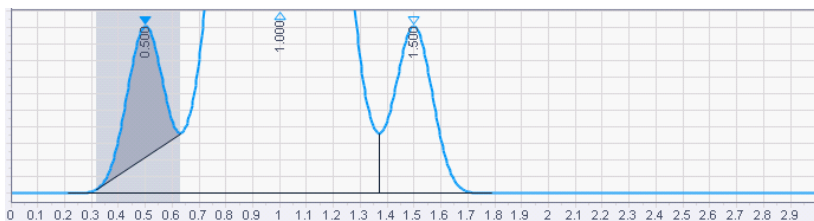
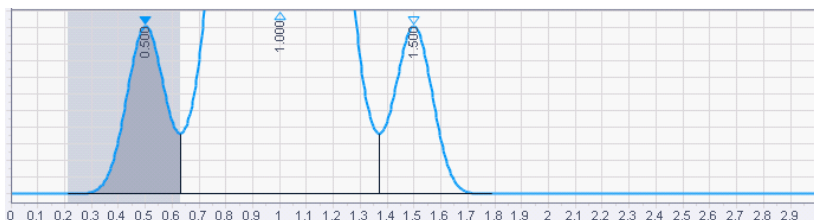


图 55 使用前伸切线撇去事件积分

指数撇去 此事件用于积分位于较大峰尾端上的小峰。小峰的基线成为色谱图上从较大峰的峰谷向切点绘制的指数线。

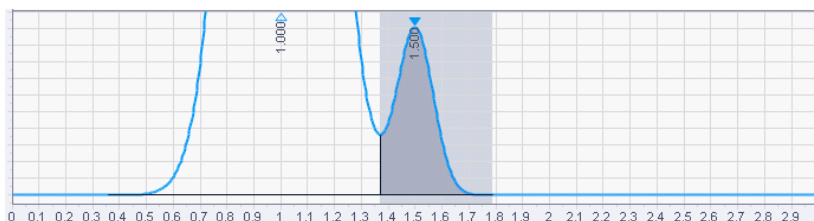


图 56 缺省积分

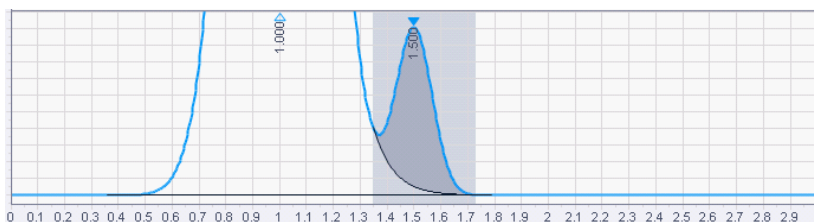


图 57 使用指数撇去事件积分

前指数型撇去 此事件用于为母峰上前端的子峰强制生成一个指数基线。

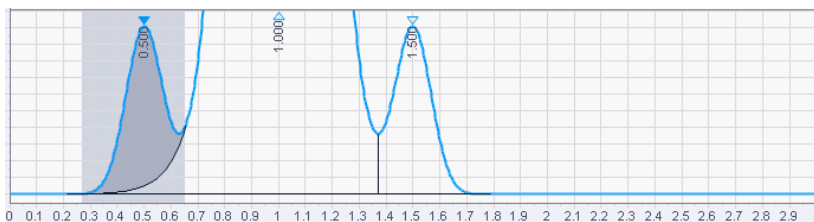
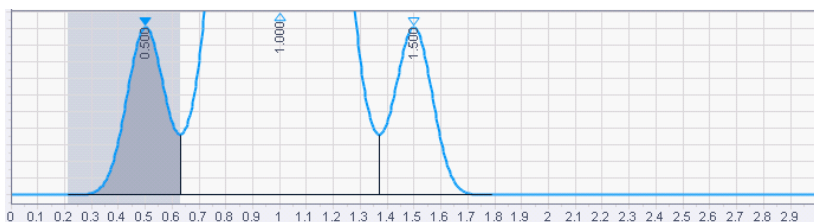


图 58 使用前指数撇去事件积分

最小峰面积

此事件用于为峰检测输入一个面积限制。低于峰面积最小值的峰不能被积分和报告。此事件可用于消除报告中的噪声或污染峰。

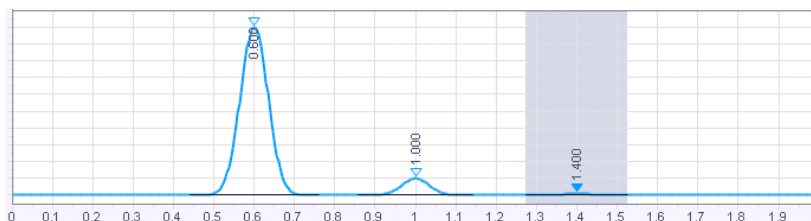


图 59 缺省积分

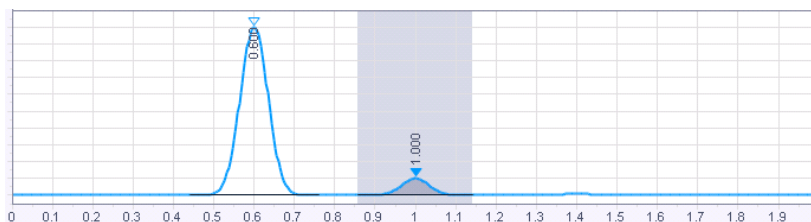


图 60 使用最小面积事件积分

负峰

此事件将使基线以下的色谱图部分基于正常峰积分逻辑被积分且被报告为真实峰。使用“折射率”类型等针对特定化合物给出负响应的检测器时可使用此事件。

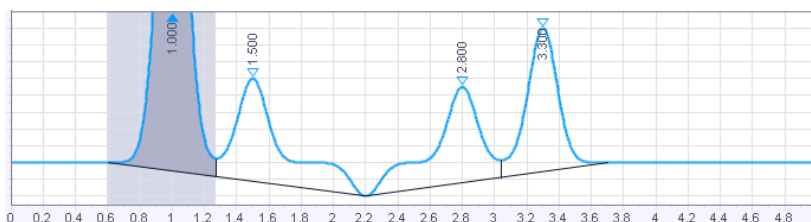


图 61 缺省积分

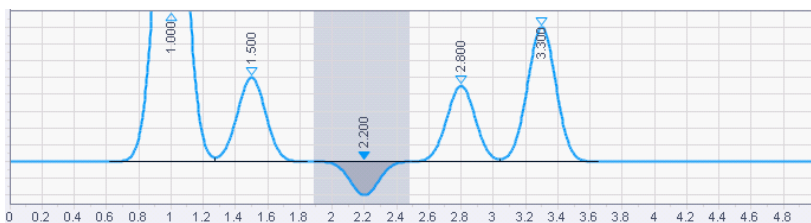
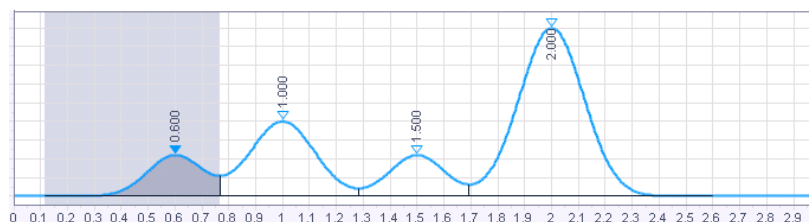
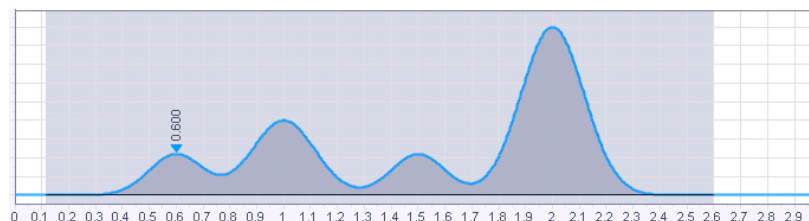


图 62 使用负峰事件积分

禁用终点峰检测

此事件用于关闭指定时间内的峰终点检测，强制软件将这个事件范围内的峰作为一个峰处理。此事件用于将一系列连续峰的面积整合为一个面积。因为这些峰均被视为单个峰的一部分，保留时间将分配给**禁用终点峰检测**事件后的第一个顶点。

**图 63 缺省积分****图 64 0.4 和 2.3 min 之间禁用峰终点检测**

手动基线 此事件用于在不更改积分参数的情况下改变峰的基线绘制方式。该基线将从开始时间绘制信号直到停止时间。

当您需要更改色谱图中一个峰的基线绘制，但不更改其他峰的基线绘制时，可使用此事件。

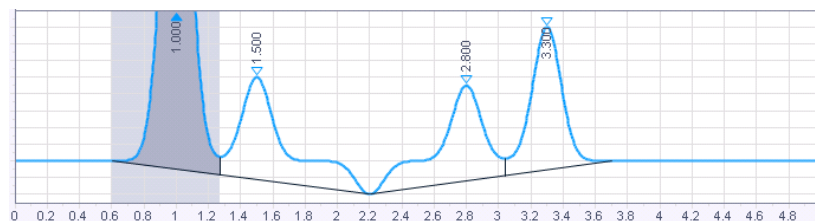


图 65 缺省积分



图 66 使用 2.3 和 3.6 min 间的手动基线积分

手动峰 此命令用于定义之前未检测到的峰的开始和停止时间。当您要强制积分一个峰，但不希望更改整体积分参数时，可使用此事件。

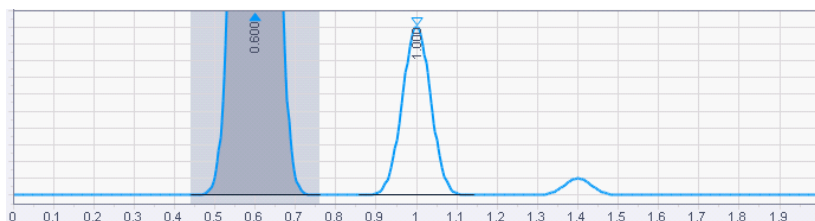


图 67 缺省积分

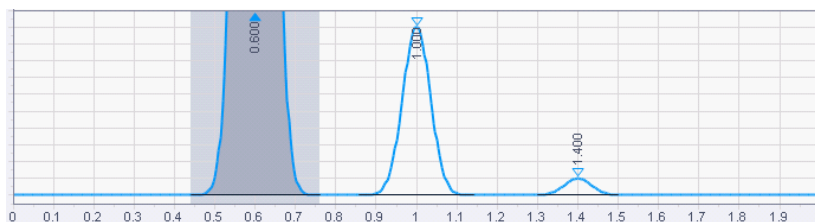


图 68 使用 1.3 和 1.5 min 之间的手动峰事件强制小峰积分

分裂峰 此事件用于在峰中强制垂直下拉线积分。垂线将在事件插入的时间上添加。

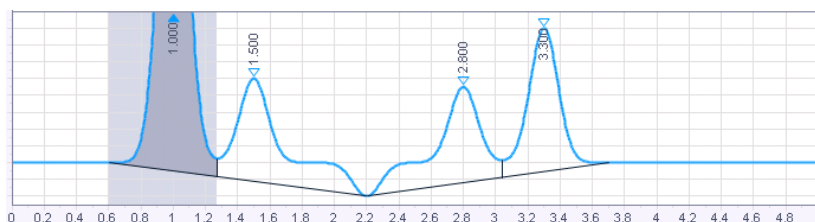


图 69 缺省积分

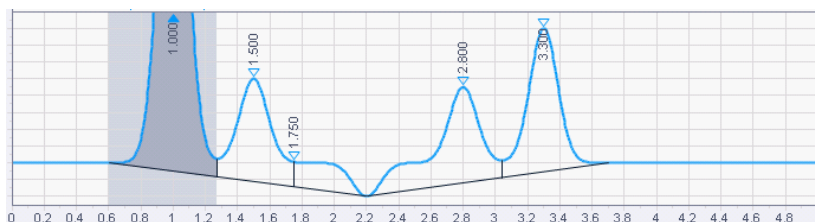


图 70 使用 1.75 min 的分裂峰积分

**强制峰开始/
强制峰结束**

这些事件用于将峰积分的开始或停止强制为一个特定点。

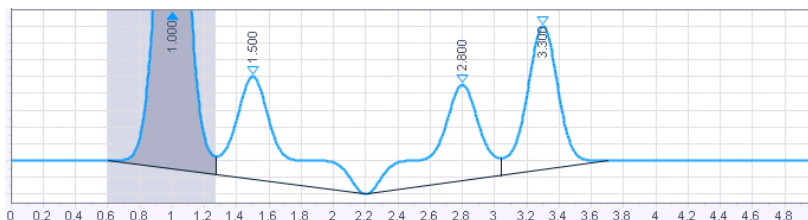


图 71 缺省积分

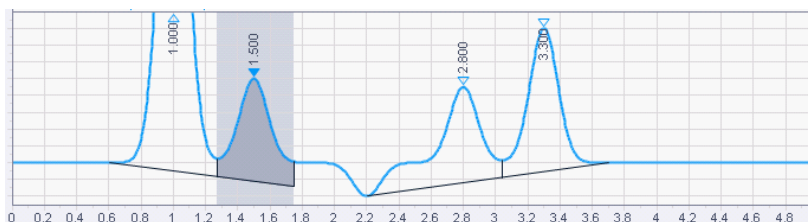


图 72 使用 1.75 min 的强制峰结束积分

重置基线

此事件用于在色谱图的指定点上设置基线。

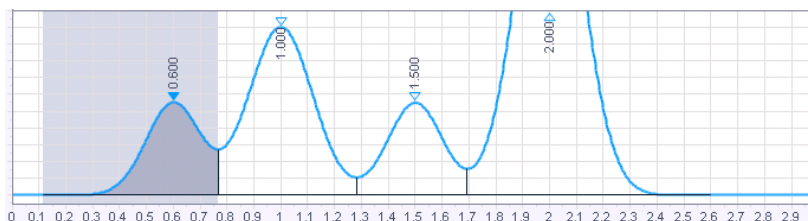


图 73 缺省积分

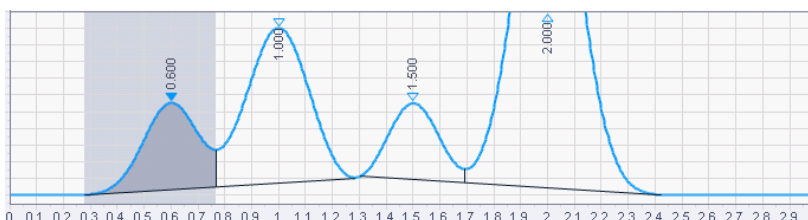


图 74 使用 1.3 min 的重置基线积分

在峰谷重置基线**注意**

此事件将导致在事件后的下一个检测到的峰谷上重置基线。

事件应放到簇中第一个峰开始之后；否则峰开始会被识别为峰谷。

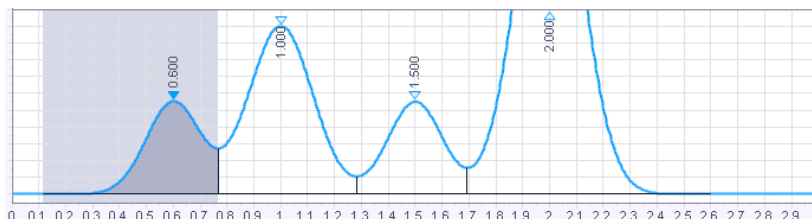


图 75 缺省积分

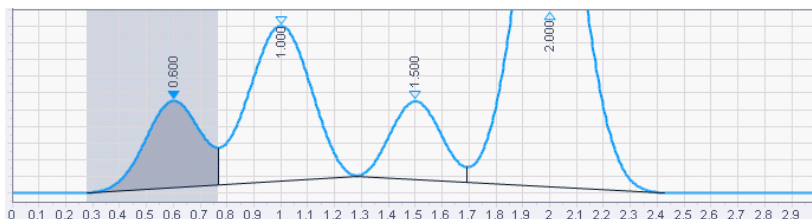


图 76 使用 1.2 min 的重置峰谷基线积分

最大峰面积

设置最大目标峰的面积。

任何面积大于最大面积的峰都不会进行报告。基线校正后，积分器会排除任何面积大于最大峰面积值的峰。

您可对此事件进行调整，如从积分结果中排除 GC 色谱图的溶剂峰，但包含驼峰。

最大峰高

设置最大目标峰的高度。

任何高度大于最大高度的峰都不会进行报告。基线校正后，积分器会排除任何高度大于最大峰高度值的峰。

您可对此事件进行调整，如从积分结果中排除 GC 色谱图的溶剂峰，但包含驼峰。

基线代码说明

基线代码说明

基线代码包含两个字母。第一个字母表示峰开始基线类型，第二个字母表示峰结束基线类型。基线代码包含在**进样结果**表中和所有默认报告模板中。

进样结果							
峰 汇总							
#	名称	基线代码	信号说明	RT (min)	峰面积	峰面积 %	峰高
1		BV	MS1 +TIC ESI Frag=110V	1.616	3194502.847	15.168	582895.067
2		BV	MS1 +EIC(270.7-271.7) ESI Fra...	1.617	2644796.742	100.000	492597.391
3		VB	DAD1A,Sig=272.0,16.0 Ref=38...	1.940	356.576	27.285	65.775
4		VB	MS1 +TIC ESI Frag=110V	2.123	3718435.285	17.656	576374.808

图 77 进样结果

信号: DAD1A, Sig=272.0, 16.0 Ref=380.0, 20.0					
保留时间 [min]	类型	峰宽 [min]	峰面积	高度	峰面积%
1.940	VB	0.08	356.58	65.78	27.28
2.578	BB	0.10	314.31	49.12	24.05
3.022	BB	0.09	333.32	59.03	25.51
4.517	BV	0.10	302.65	49.42	23.16

图 78 示例: Short_Area 报告的表格

B	基线
C	指数
f	强制峰开始或停止（用户定义）
I	峰由积分关闭事件结束
N	开始负峰
P	结束负峰
H	前向水平
h	反向水平
M	手动基线或手动峰
m	移动基线开始/停止
S	肩峰
T	切线撤去
V	峰谷
v	强制峰谷点
x	分裂峰
E	找到峰结束前发生色谱图结束。 色谱图结束用作峰结束。
R	重置基线
L	水平最低点

什么是峰识别?	81
保留时间窗口的计算	82
冲突解决	83
相对保留时间	84
相对保留时间 (RRT) 的计算	85
时间参比化合物	86
关于时间参比化合物	86
时间参比化合物的计算	87
更新处理方法	88
保留时间更新	88
更新的保留时间的计算	88
例如: 使用 RRT 时的保留时间更新	90
全局保留时间漂移的计算	92

本章介绍了峰识别的概念。

什么是峰识别？

峰识别即根据未知样品中的色谱图识别其中的化合物。

如果分析方法需要定量，则识别这些化合物将是定量时的必需步骤。即使不定量也可通过识别创建一个有效的处理方法。每种化合物的信号特征将保存到方法的化合物表中。

峰识别过程的作用就是比较信号中的各个峰并将峰保存到化合物表中。

识别窗口是根据预期保留时间、绝对保留时间窗口和相对保留时间窗口的百分比进行的。最终保留时间窗口是对称地应用到预期保留时间的相对和绝对窗口的和。

预期保留时间是在方法中作为绝对时间值设置的，也可能是使用相对保留时间计算得到的。时间参比化合物可用于根据特定参比化合物上观察到的可能漂移校正预期保留时间。

$$Wnd\ Width = Abs\ RT\ Wnd + \frac{Exp\ RT * Rel\ RT\ Wnd}{100}$$

其中：

Abs RT Wnd	绝对保留时间窗口
Exp RT	预期保留时间
Rel RT Wnd	相对保留时间窗口
Wnd Width	窗宽

$$RT\ Wnd = [Exp\ RT - Wnd\ Width; Exp\ RT + Wnd\ Width]$$

其中：

Exp RT	预期保留时间
RT Wnd	保留时间窗口
Wnd Width	窗宽

保留时间窗口的计算

识别窗口是对称地应用到预期保留时间的相对和绝对窗口的和。例如：

预期保留时间 = 1 min

绝对保留时间范围窗口 = 0.2 min

相对保留时间窗口 = 10 % = 1 min * 10/100 = 0.1 min

识别窗口 = $[1 - 0.2 - 0.1; 1 + 0.2 + 0.1] = [0.7; 1.3]$

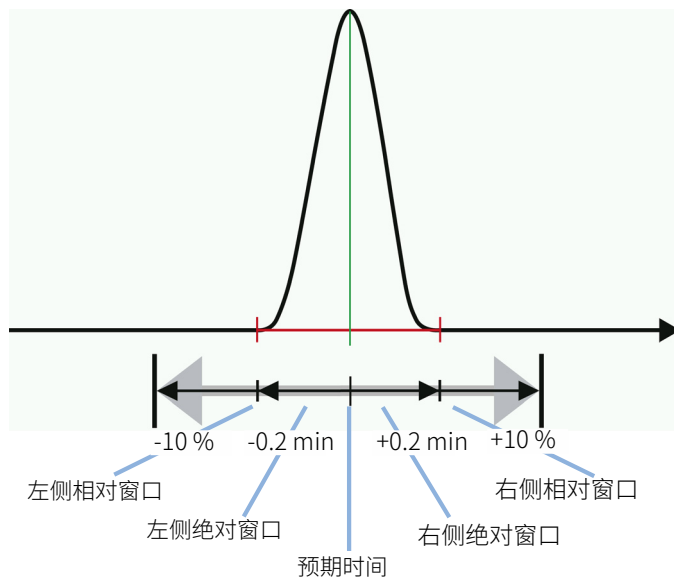


图 79 识别窗口

冲突解决

如果保留时间窗口中有多个峰，则有多种识别具体峰的方法。您可在化合物识别参数中为峰匹配选择以下值之一：

- **第一个**：使用保留时间窗口中的第一个峰。
- **最后一个**：使用保留时间窗口中的最后一个峰。
- **最接近**（默认设置）：使用最接近预期保留时间的峰。
- **最大峰面积**：使用保留时间窗口中有最大面积的一个峰。
- **最大峰高**：使用保留时间窗口中有最大峰高的一个峰。

如果无法解决冲突，则不会识别任何峰且会在处理日志中填写一条警告。

相对保留时间

您可使用相对保留时间检查化合物的识别是否正确。将化合物的保留时间与另一个给定的具体化合物的保留时间（也称作 RRT 参比）进行比较。两个保留时间的比，即相对保留时间 RRT，通常是可在应用程序中提供的已知值。

RRT 值本身对化合物识别没有任何影响。仅绝对预期保留时间会用于此目的。它们是在处理方法中作为绝对时间值设置的，也可能是使用相对保留时间计算得到的。时间参比化合物或方法更新可用于根据可能的漂移校正这些绝对保留时间窗口。

以下示例说明了有关联化合物的 RRT 参比化合物的识别参数。

化合物表		设置定性离子		常规				
#	类型	名称	信号	是否为 RRT 参比	关联 RRT 参比	预期 RT (min)	RRT	
2		Ref #1	DAD1A	☒		2.000	1.000	
3		化合物编号1	DAD1A	☐	Ref #1 (DAD1A)	3.000	1.500	

相应化合物

RRT 参比化合物

如果您更改了关联化合物的预期 RT，则其 RRT 值将自动重新计算。反之亦然，如果您更改了其 RRT 值，则预期 RT 将重新计算。

如果您更改了 RRT 关联化合物的预期 RT，则系统会重新计算关联化合物的预期 RT。

如果与 RRT 参比化合物一起使用**时间参比化合物**，则保留时间漂移会应用到 RRT 参比化合物（请参见第 87 页的**时间参比化合物的计算**）。系统重新计算关联化合物的预期 RT，因此 RRT 值不变。

化合物表		设置定性离子		常规				
#	类型	名称	信号	是否为时间参比	关联时间参比	预期 RT (min)	RRT	是否为 RRT 参比
2		Ref #1	DAD1A	☐		2.000	1.000	☒
3		化合物编号1	DAD1A	☐	Time Ref (DAD1A)	3.000	1.500	☐
4		Time Ref	DAD1A	☒		3.500		☐

RT: 若有需要可调整

RRT: 保持不变

您也可对 RRT 参比化合物使用 **更新 RT** 功能。但是您只能配置 RRT 参比化合物的更新参数。关联化合物将强制使用与参比相同的值，因此 RRT 值不变。

化合物表		设置定性离子 常规					
#	类型	名称	信号	是否为 RRT 参比	关联 RRT 参比	RT 更新	RT 更新因子 (%)
2		RRT Ref	DAD1A	☒		每次运行后	50.000
3		化合物编号1	DAD1A	☐	RRT Ref (DAD1A)	每次运行后	

关联化合物使用与 RRT 参比相同的 RT 更新值

RRT 参比化合物使用 RT 更新功能

对于**未识别峰**，没有相关联的化合物。在这种情况下，第一个 RRT 参比化合物用于计算 RRT 值。

相对保留时间 (RRT) 的计算

使用预期保留时间计算相对保留时间 (RRT)：

$$RRT = \text{预期保留时间}_{\text{化合物}} / \text{预期保留时间}_{\text{参比}}$$

如果您更改了关联化合物的 RRT 值，则其预期 RT 将如下重新计算：

$$\text{预期 RT}_{\text{化合物}} = RRT * \text{预期 RT}_{\text{参比}}$$

时间参比化合物

关于时间参比化合物

如果您使用时间参比化合物，则应用程序会根据在特定参比化合物上观察到的可能漂移校正绝对保留时间窗口。

您可将处理方法中的一个或多个化合物标记为时间参比化合物。每个化合物或定制时间组可选择一個时间参比化合物来校正预期保留时间。可使用一个校正因子调整校正的程度，可为每个化合物选择该校正因子来校正预期保留时间（列因子，默认 = 1）。

如果化合物有分配的时间参比化合物，则预期保留时间将通过分配的时间参比化合物的漂移进行校正。化合物识别算法将使用校正的预期保留时间来识别色谱中的峰。若为定制时间组，则时间范围可通过漂移进行校正。通常情况下，漂移是通过输入的校正因子进行校正的。如果未在色谱图中发现关联的参比化合物，则不会识别关联的峰和时间组。

如果使用内标并选择了使用时间参比化合物，则内标默认将设置为时间参比化合物。

如果使用时间参比化合物和 RRT 参比化合物，则预期 $RT_{参比}$ 和预期 $RT_{化合物}$ 均将调整，RRT 保持不变。

注意

使用时间参比化合物时，所有化合物和定制时间组必须具有一个分配给它们的时间参比化合物。否则，方法会不一致且无法用于重新处理。

时间参比化合物的计算

如果您使用时间参比化合物，则应用程序会根据在所选时间参比化合物上观察到的可能漂移校正绝对保留时间窗口。

时间参比化合物的漂移

$$\text{Shift}_{\text{Ref}} = \text{ActualRT}_{\text{Ref}} - \text{ExpRT}_{\text{Ref}}$$

其中：

$\text{Shift}_{\text{Ref}}$	参比化合物的时间漂移
$\text{ActualRT}_{\text{Ref}}$	参比化合物的实际保留时间
$\text{ExpRT}_{\text{Ref}}$	参比化合物的预期保留时间

关联化合物的保留时间

对于使用时间参比的化合物，将使用一个额外因子计算预期保留时间。

$$\text{CorrectedExpRT} = \text{ExpRT} + (\text{Shift}_{\text{Ref}} * \text{Factor})$$

其中：

CorrectedExpRT	校正的预期保留时间
ExpRT	预期保留时间
$\text{Shift}_{\text{Ref}}$	时间参比化合物的时间漂移
Factor	有关联的时间参比化合物的化合物的因子

关联的定制时间组的开始和停止时间

对于定制时间组，预期开始和停止时间是分别计算的：

$$\text{Corrected Range Start} = \text{Range Start} + (\text{Shift}_{\text{Ref}} * \text{Factor})$$

$$\text{Corrected Range End} = \text{Range End} + (\text{Shift}_{\text{Ref}} * \text{Factor})$$

其中：

$\text{Corrected Range Start}$	定制时间组的校正开始时间
Range Start	定制时间组的开始时间
$\text{Corrected Range End}$	定制时间组的校正停止时间
RangeEnd	定制时间组的停止时间
$\text{Shift}_{\text{Ref}}$	时间参比化合物的时间漂移
Factor	有关联的时间参比化合物的定制时间组的因子

更新处理方法

保留时间更新

在计算校正预期保留时间后，所有识别的化合物或定制时间组的预期保留时间处理方法将根据保留时间更新类型**决不，每次运行后，或校正标样后**自动更新。如果能够根据校正值找到化合物，则校正的值成为方法中的新预期值。

应用保留时间时可使用也可不使用时间参比。

注意

如果保留时间升级被设置为**每次运行后**或**校正标样后**，则所有进样都将按顺序处理。更改的方法将应用到下一进样且将无法再对未校正进样平行处理。

除在运行时更新保留时间，您也可手动将所有保留时间漂移一定值。

更新的保留时间的计算

为校正预期保留时间，应用程序要读取当前的保留时间并计算对预期保留时间的偏移。这个偏移，乘上化合物特定的权重因子，将加到预期保留时间上。

$$\text{Shift} = \text{ActualRT} - \text{ExpRT}$$

其中：

Shift	化合物的时间漂移
ActualRT	化合物的实际保留时间
ExpRT	化合物的预期保留时间

$$\text{NewExpRT} = \text{ExpRT} + \left(\text{Shift} * \frac{\text{RTUpdate}}{100} \right)$$

其中：

NewExpRT	化合物的校正预期保留时间
ExpRT	化合物的预期保留时间
Shift	化合物的时间漂移
RTUpdate	化合物的加权因子（RT 更新因子 (%)）。

更新的保留时间（具有时间参比化合物）

使用保留时间更新时可使用也可不使用**时间参比**。时间参比化合物本身的漂移和校正保留时间的计算方式和所有化合物相同，使用**更新保留时间**功能：

$$\text{NewExpRT}_{\text{Ref}} = \text{ExpRT}_{\text{Ref}} + \left(\text{Shift}_{\text{Ref}} * \frac{\text{RTUpdate}_{\text{Ref}}}{100} \right)$$

其中：

$\text{NewExpRT}_{\text{Ref}}$	参比化合物的校正预期保留时间
$\text{ExpRT}_{\text{Ref}}$	参比化合物的预期保留时间
$\text{Shift}_{\text{Ref}}$	参比化合物的时间漂移
$\text{RTUpdate}_{\text{Ref}}$	参比化合物的加权因子（ RT 更新因子 [%] ）。

关联时间参比化合物的校正保留时间是用一个额外的因子来计算的。

$$\text{NewExpRT} = \text{ExpRT} + \left(\text{Shift}_{\text{Ref}} * \frac{\text{RTUpdate}}{100} * \text{Factor} \right)$$

其中：

NewExpRT	化合物的校正预期保留时间
ExpRT	化合物的预期保留时间
$\text{Shift}_{\text{Ref}}$	参比化合物的时间漂移
RTUpdate	化合物的加权因子（ RT 更新因子 [%] ）
Factor	有关联的时间参比化合物的化合物的因子

对于**定制时间组**，预期保留时间、范围开始时间或范围结束时间仅在使用了时间参比或相对保留时间时更新。

例如：使用 RRT 时的保留时间更新

如果您自动更新保留时间，并使用了相对保留时间，则值的更新方式如下：

- RRT 参比化合物的预期保留时间如 NewExpRT 方程（见第 88 页的 [更新的保留时间的计算](#)）中所示进行计算
- 关联化合物的预期 RT 将进行调整以保持 RRT 值不变，如预期 RT_{化合物}（见第 85 页的 [相对保留时间 \(RRT\) 的计算](#)）中所示进行计算
- 定制时间组的 RT 开始和 RT 停止时间将通过调整以保持 RRT 值不变（使用与预期 RT_{化合物}相同的方程）。

例如，一个有 3 个化合物和一个定制时间组并使用了 RT 更新和 RRT 的处理方法：

化合物表		设置定性离子 常规							
#	类型	名称	信号	是否为 RRT 参比	关联 RRT 参比	RT 更新	RT 更新因子 (%)	预期 RT (min)	RRT
2		组编号1	DAD1A	☐	RRT Ref (DAD1A)	每次运行后		0.000	
4		RRT Ref	DAD1A	☒		每次运行后	50.000	3.000	1.000
5		化合物编号2	DAD1A	☐	RRT Ref (DAD1A)	每次运行后		6.000	2.000
3		化合物编号3	DAD1A	☐	RRT Ref (DAD1A)	每次运行后		1.500	0.500

图 80 化合物参数

定制时间组参数

☐ 包含识别的峰

☐ 分别定量每个峰

RT 开始	RRT 开始	RT 停止	RRT 停止
3.000	1.00	6.000	2.00

图 81 定制时间组参数

处理进样后，发现这 3 种化合物的保留时间如下：

- RRT 参比：4.000 min
- C2: 8.000 min
- C3: 2.000 min

这样，RRT 参比化合物的预期 RT 时间的校正如下：

$$\begin{aligned}\text{NewExpRT} &= \text{ExpRT} + \left(\text{Shift} * \frac{\text{RTUpdate}}{100} \right) \\ \text{NewExpRT} &= 3.000 \text{ min} + \left((4.000 \text{ min} - 3.000 \text{ min}) * \frac{50}{100} \right) \\ &= 3.500 \text{ min}\end{aligned}$$

其他化合物的预期保留时间和定制时间组的开始和停止时间被调整，使 RRT 保持不变。

$$\text{预期 RT}_{\text{化合物}} = \text{RRT} * \text{预期 RT}_{\text{参比}}$$

$$\text{预期 RT}_{\text{C2}} = 2.000 * 3.500 \text{ min} = 7.000 \text{ min}$$

$$\text{预期 RT}_{\text{C3}} = 0.500 * 3.500 \text{ min} = 1.750 \text{ min}$$

$$\text{RTStart}_{\text{TimedG}} = 1.000 * 3.500 \text{ min} = 3.500 \text{ min}$$

$$\text{RTStop}_{\text{TimedG}} = 2.000 * 3.500 \text{ min} = 7.000 \text{ min}$$

全局保留时间漂移的计算

作为方法编辑的一部分，您同时性偏移定制时间组的所有预期保留时间和时间范围。则新保留时间计算方式如下。

绝对偏移：

$$\text{NewExpRT} = \text{ExpRT} + \text{Shift}$$

其中：

NewExpRT	化合物的校正预期保留时间
ExpRT	化合物的预期保留时间
Shift	用户输入的绝对值

相对偏移：

$$\text{NewExpRT} = \text{ExpRT} + \left(\text{ExpRT} * \frac{\text{Shift}}{100} \right)$$

其中：

NewExpRT	化合物的校正预期保留时间
ExpRT	化合物的预期保留时间
Shift	用户输入的相对值

什么是校正？	94
校正曲线	95
什么是校正曲线？	95
响应类型和响应因子	96
校正级别	101
校正点加权	103
校正曲线模型	106
校正曲线计算	108
曲线计算参数	109
线性拟合	110
二次拟合	111
对数和指数拟合	114
平均 RF 拟合	115
评估校正曲线	116
校正曲线的验证	116
相对残差	116
校正曲线统计	117

本章详细介绍校正过程中使用的计算方法。

什么是校正？

积分和识别峰后，定量分析的下一步即校正。含量与响应很少直接与所分析的样品的实际质量成比例。这就需要通过所需参考材料进行校正。定量通过峰面积或峰高来计算样品中化合物的含量。

定量分析包含许多步骤，主要如下：

- 知道您分析的是哪种化合物。
- 确定分析包含此已知含量化合物的样品（即校正样品或标样）的方法。
- 分析校正样品得到与该含量相应的响应。

如果您的检测器有非线性响应，您还可对多个不同化合物含量的标样进行分析。此过程称为**多级校正**。

通过以下校正方法您可执行定量：

- 化合物特定校正 (ESTD, ISTD)
- 使用其他化合物或组的校正或响应因子间接定量
- 固定的响应因子（**手动因子**）

ESTD 校正曲线和计算是根据测量的给定含量的响应（峰面积或峰高）得到的。ISTD 校正曲线和计算是根据相对响应和相对含量得出的（请参见第 98 页的 [ISTD 相对响应](#)）。

校正曲线

什么是校正曲线？

校正曲线是从一个或多个校正样品中获取的一种化合物的含量和响应数据的图形表示法。

通常情况下，通过进一针标样、获取相应信号，通过计算峰面积或峰高来确定响应，与下图类似。

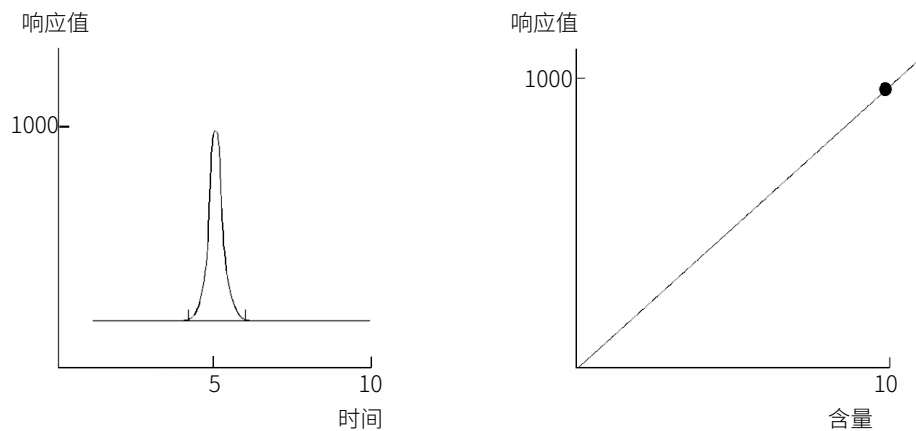


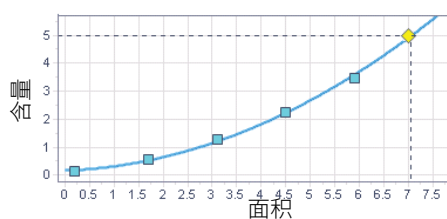
图 82 校正样品、信号和校正曲线

响应类型和响应因子

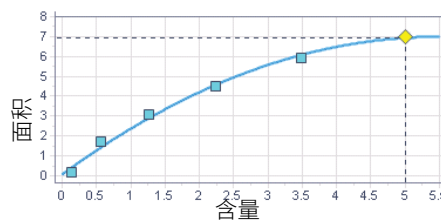
有多种不同的设置允许您选择在校正曲线的 x 轴和 y 轴上绘制的值：

RF 定义

响应因子 (RF) 是表示检测到化合物时信号变化程度的量。它的定义是响应与化合物含量之比，或相反。在 **RF 定义** 下的一般方法中，您可切换**响应值/含量**（默认）或**含量/响应值**。若您更改了此设置，则等于翻转了校正曲线的 x 和 y 轴。



含量/响应值



响应值/含量（默认）

图 83 不同的 RF 定义，响应值设置为面积

RF 计算：

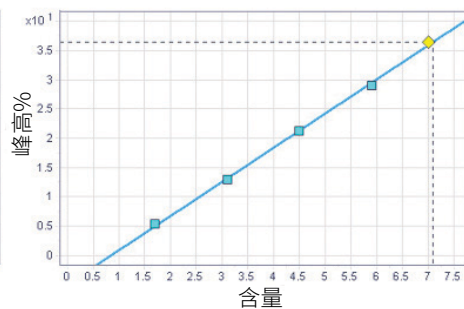
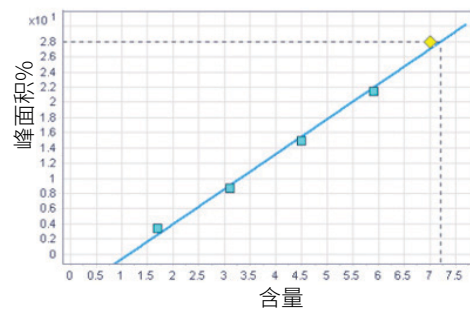
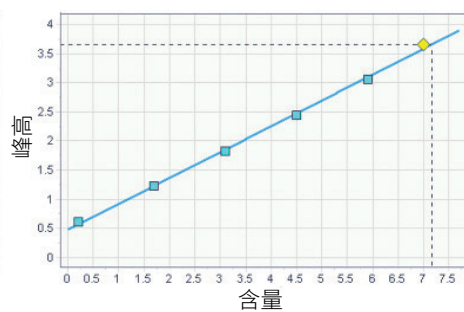
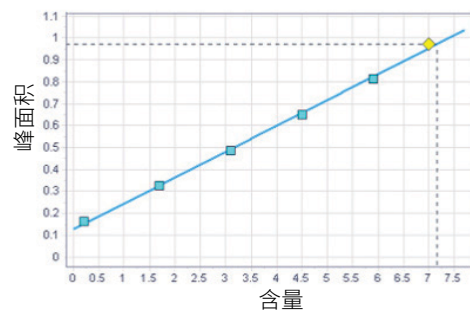
$$\text{RF} = \text{响应值} / \text{含量}$$

或者

$$\text{RF} = \text{含量} / \text{响应值}$$

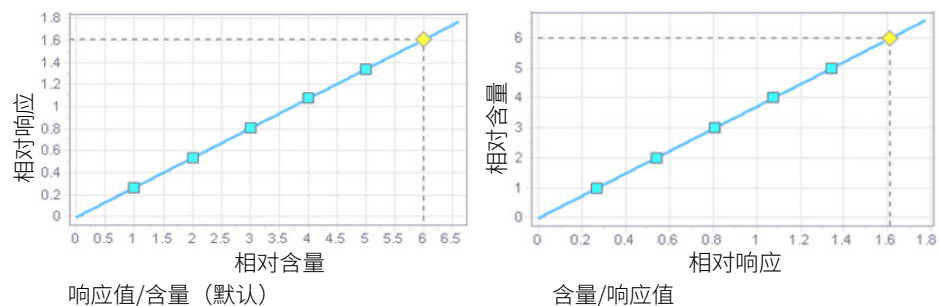
响应类型

响应本身可以定义为是**面积**、**面积%**、**高度**或**高度%**。您可分别为各个化合物选择响应类型。



ISTD 相对响应

如果样品使用内标 (ISTD)，则相对响应值和相对含量将显示在校正曲线上。计算取决于 RF 定义。



RF 计算：

$$RF = (\text{响应值} / \text{ISTD 响应值}) / (\text{含量} / \text{ISTD 含量})$$

或者

$$RF = (\text{含量} / \text{ISTD 量}) / (\text{响应} / \text{ISTD 响应})$$

Log/Log 曲线模型

如果您为一种化合物选择 $\log/\log$ ，则响应值和含量均使用对数值绘制。

可以将 $\log/\log$ 模型与两种 RF 定义、与所有响应类型、与内部或外部标准结合使用。

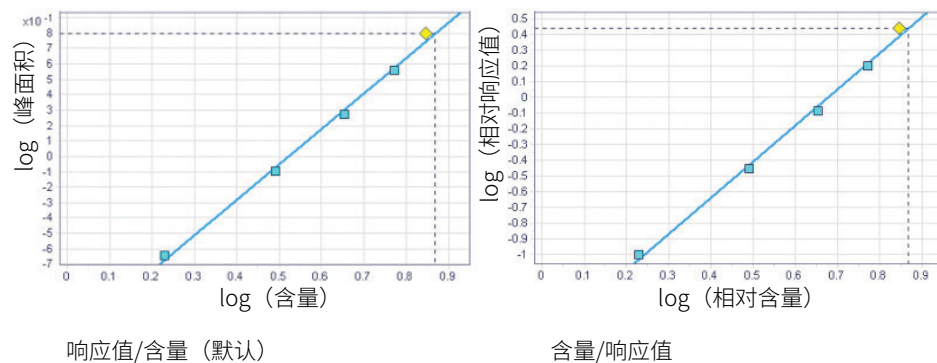


图 84 带外部或内部标准的 $\log/\log$ 模型示例

上述示例的 RF 计算：

$$\text{RF} = \log(\text{响应值}) / \log(\text{含量})$$

$$\text{RF} = \log(\text{响应值}/\text{ISTD 响应值}) / \log(\text{含量}/\text{ISTD 含量})$$

缩放响应值

如果您选择了缩放响应值，响应值被绘制成一个计算值，而含量则被绘制成未经过修改的值。

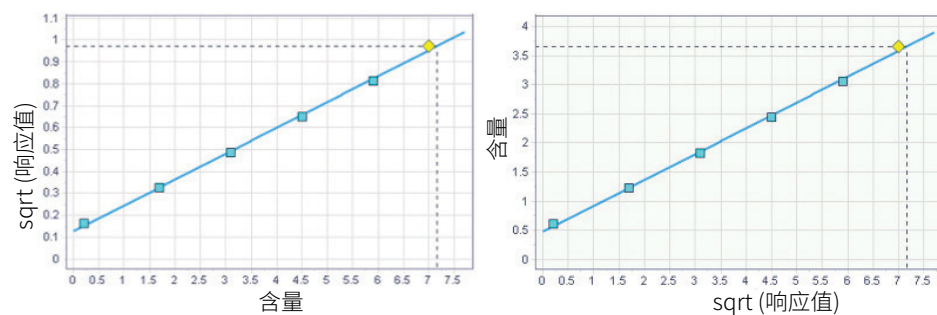


图 85 使用 sqrt 函数对响应值进行缩放的示例

上述示例的 RF 计算：

$$RF = \sqrt{\text{响应值}} / \text{含量}$$

或者

$$RF = \text{含量} / \sqrt{\text{响应值}}$$

校正级别

所有化合物的每个处理方法都有一个全局校正级别数量。校正级别的数量定义了使用多少个点（含量、响应）计算校正曲线。可通过处理相应校正标样来定义各个级别。对于每个化合物，校正曲线均可显示用于计算平均值的校正点。

重新运行校正标样或进一步处理给定校正级别的校正标样时，可以更新该级别的校正点。如果您在**曲线计算**设置中选择使用平均值，则会使用新测量点的平均值和所有已经存在的值更新校正点（请见第 101 页的 [使用单个点的模式](#)）。

校正点的收集可通过运行类型进行控制，具体如下：

- **未选择：**将在校正曲线上添加一个新点。
- **清除所有校正：**保存新校正点之前，将先删除所有校正级别的所有校正点。
- **清除该级别的校正：**保存新校正点之前，将先删除指定校正级别的所有校正点。

多次重新处理同一个校正标样进样将更新曲线上的同一个校正点而不会添加新点。

使用单个点的模式

您可为每个处理方法选择如何使用校正点计算校正曲线。有以下可用模式：

- **起始每级别平均值：**对一个级别中的所有校正点的含量和响应取平均值并用在计算最佳校正曲线的算法中。
- **起始各自校正点：**直接使用各校正点的所有含量和响应计算校正曲线。

平均值

使用以下公式计算所有校正运行的平均值：

$$\text{Response} = \frac{((n-1) * \text{Response}) + \text{MeasResponse}}{n}$$

其中：

n	校正点数量
MeasResponse	测量响应

区间循环校正

使用区间循环校正时，样品通过“样品前”和“样品后”校正的方式进行区间循环校正。会首先处理开区间和闭区间之间的校正标样，之后计算校正曲线。然后，该曲线将用于计算该区间循环校正中的样品。

对于除**自定义**以外的所有区间循环校正模式，将会针对所有开放的区间循环校正自动执行**清除所有校正**操作。对于**自定义**区间循环校正模式，您可以根据需要将运行类型设置为**清除所有校正**。

区间循环校正是在**进样列表**窗口中配置的。有不同的区间循环校正模式：

- **全部**

校正曲线是通过序列中的所有校正标样（从第一个开始，一直到最后一个）得出的。所有样品的重新处理均是在已经得出校正曲线**后**进行的。

- **非重叠**

序列中必须至少包含三组标样，且中间部分必须至少有两个标样。序列中间部分的标样每次仅用于一个区间循环校正。

如果中间部分有两个以上标样，则会将其分开并分配给前一个和后续区间循环校正。如果中间部分存在奇数个标样，则会将多余的标样分配给前一个区间循环校正。

- **重叠**

序列中必须至少包含三组标样。序列中间部分的标样用于两个区间循环校正（前一个和后续区间循环校正）。

- **自定义**

如果需要，请创建区间循环校正。在**运行类型**列中，可分别为每个校正标样进行选择，应当清除其中的校正级别。如果您未选择运行类型，将会使用先前的区间循环校正进行平均。

校正点加权

为补偿不同校正含量的响应差异，您可为用于生成曲线的各个校正点指定一个相对加权（或重要性）。

控制此加权的参数即**加权方法**。默认加权是所有级别相等且各曲线的最大加权归一化为 1。

有以下可用加权因子：

无

所有校正点使用相等加权值。

$wt = 1$

其中：

wt 校正级别加权因子

1/含量

校正点使用 1/含量的加权，归一化到最小含量以使最大加权因子为 1。如果包含原点，则为其分配其他校正点加权的平均。

$wt = \frac{\text{Minimum(Amounts)}}{\text{CurrentAmount}}$

其中：

Current Amount	级别含量
Minimum (Amounts)	校正曲线中使用的所有点（级别）的最低含量
wt	校正级别加权因子

1/含量平方

校正点使用 1/含量² 的加权，归一化到最小含量以使最大加权因子为 1。可使用平方校正点加权，例如，用以适应校正点的散布。它可保证靠近原点（这样点的测量结果通常会更准确）的校正点会有比远离原点的分散校正点有更高的加权。

$$wt = \frac{Minimum(Amounts)^2}{CurrentAmount^2}$$

其中：

Current Amount	级别含量
Minimum (Amounts)	校正曲线中使用的所有点（级别）的最低含量
wt	校正级别加权因子

1/响应

校正点使用 1/响应的加权，归一化到最小响应以使最大加权因子为 1。如果包含原点，则为其分配其他校正点加权的平均。

$$wt = \frac{Minimum(Responses)}{CurrentResponse}$$

其中：

Current Response	级别响应
Minimum (Responses)	校正曲线中使用的所有点（级别）的最低响应
wt	校正级别加权因子

1/响应平方

校正点使用 1/响应² 的加权，归一化到最小响应以使最大加权因子为 1。可使用平方校正点加权，例如，用以适应校正点的散布。它可保证靠近原点（这样点的测量结果通常会更准确）的校正点会有比远离原点的分散校正点有更高的加权。

$$wt = \frac{Minimum(Responses)^2}{CurrentResponse^2}$$

其中：

Current Response	级别响应
Minimum (Amounts)	校正曲线中使用的所有点（级别）的最低响应
wt	校正级别加权因子

校正曲线模型

OpenLab CDS 可根据不同的模型计算校正。支持以下模型（见第 108 页的 [校正曲线计算](#)）：

- 线性拟合（见第 110 页的 [线性拟合](#)）
- 二次拟合（见第 111 页的 [二次拟合](#)）
- 对数和指数拟合（见第 114 页的 [对数和指数拟合](#)）
- 平均 RF 拟合（见第 115 页的 [平均 RF 拟合](#)）

您可为各校正的化合物单独设置校正曲线模型。

原点处理

应用程序在计算校正曲线时可以多种方式处理图像原点。您可分别为各个化合物设置此参数。根据曲线类型，仅特定的原始处理选项可用（例如您不能强制对数校正曲线通过原点）。

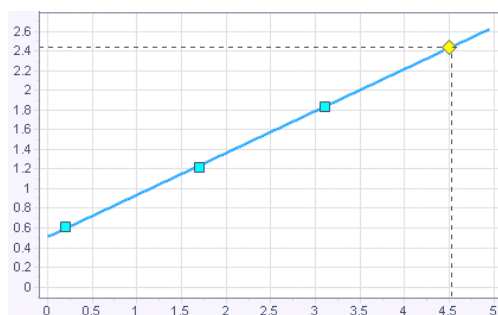


图 86 忽略原点

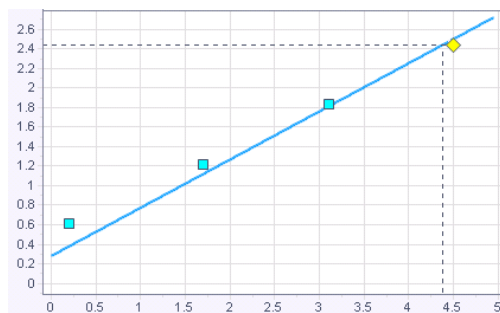


图 87 计算中包含原点

通过**包含**选项，可将含量=0 且响应值=0 的点加入校正级别。

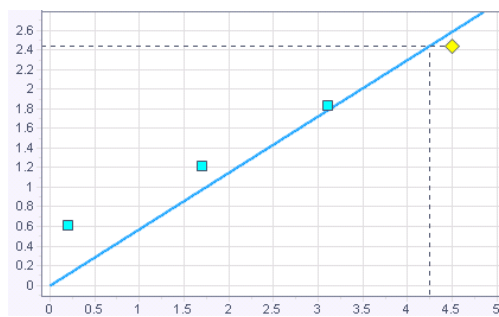


图 88 强制校正曲线通过原点

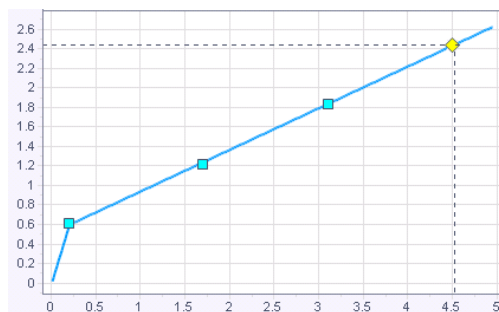


图 89 连接原点（未包含在计算中）

校正曲线计算

最佳校正曲线通过曲线与校正点匹配来进行计算的。曲线计算是根据使残差平方和最小化的最小二乘法 (LSQ) 进行的。曲线类型将应用到加权的校正点上。计算取决于响应因子的定义（RF 定义请见第 96 页的 [响应类型和响应因子](#)）。

RF 定义为**响应值/含量**：

$$\Sigma(wt * (CalPointArea - CalculatedArea)^2) = \min$$

其中：

Σ	校正点（级别）加和
CalculatedArea	从校正级别含量曲线上读取的峰面积
CalPointArea	校正级别峰面积
wt	校正点加权因子

$$\Sigma(wt * (CalPointHeight - CalculatedHeight)^2) = \min$$

其中：

Σ	校正点（级别）加和
CalculatedHeight	从校正级别含量曲线上读取的峰高度
CalPointHeight	校正级别峰高度
wt	校正点加权因子

RF 定义为**含量/响应值**：

$$\Sigma(wt * (CalPointAmount - CalculatedAmount)^2) = \min$$

其中：

Σ	校正点（级别）加和
CalculatedAmount	从校正级别峰面积或峰高度曲线上读取的含量
CalPointAmount	校正级别含量
wt	校正点加权因子

曲线计算参数

曲线计算均使用以下参数：

a, b,	曲线系数
c	
x	使用 响应值/含量 ： 含量（ESTD）或含量比（ISTD） 使用 含量/响应 ： 峰面积、峰面积百分比、峰高或峰高百分比 (ESTD) 峰面积比或峰高比 (ISTD)
y	使用 响应值/含量 ： 峰面积、峰面积百分比、峰高或峰高百分比 (ESTD) 峰面积比或峰高比 (ISTD) 使用 含量/响应 ： 含量（ESTD）或含量比（ISTD）
wt	校正级别加权因子

线性拟合

曲线计算使用最小二乘法（见第 108 页的 [校正曲线计算](#)）。

曲线公式：

$$y = a * x + b$$

其中：

a 斜率

b Y-截距

曲线系数的计算：

$$b = \frac{\sum(x^2 * wt) * \sum(y * wt) - \sum(x * y * wt) * \sum(x * wt)}{\sum(wt) * \sum(x^2 * wt) - \sum(x * wt)^2}$$

$$a = \frac{\sum(wt) * \sum(x * y * wt) - \sum(x * wt) * \sum(y * wt)}{\sum(wt) * \sum(x^2 * wt) - \sum(x * wt)^2}$$

线性拟合至少需要两个校正点。

包含原点

若包含原点，则将把点(0,0)添加到其他点并使用其他点的加权平均值进行加权，即使 $\sum(wt)$ 项增加了其他点加权的平均值。

强制过原点

若选择强制过原点，则曲线公式如下：

$$y = a * x$$

其中：

a 斜率

曲线系数的计算：

$$a = \frac{\sum(x * y * wt)}{\sum(x^2 * wt)}$$

包含或强制过原点时只需一个校正级别。

二次拟合

二次曲线公式：

$$y = (a * x^2) + (b * x) + c$$

二次拟合至少需要三个校正点。如果包含原点或强制使用原点，则需要两个点。

计算二次拟合的系数

系统是从下面的模拟线性方程得到的。使用克劳特算法计算相应的标准方程 ($A^T Ax = A^T y$)。在给定的公式中，和简化为：

$$\begin{aligned} W &= \sum(wt) \\ XW &= \sum(x * wt) \\ X2W &= \sum(x^2 * wt) \\ X3W &= \sum(x^3 * wt) \\ X4W &= \sum(x^4 * wt) \\ YW &= \sum(y * wt) \\ XYW &= \sum(x * y * wt) \\ X2YW &= \sum(x^2 * y * wt) \end{aligned}$$

为避免溢出，x 值在开始计算前先归一化：

$$Norm = \sum(x)$$

$$x = x / Norm$$

二次曲线的标准方程：

$$\begin{aligned} \sum(wt) * c + \sum(x * wt) * b + \sum(x^2 * wt) * a &= \sum(y * wt) \\ \sum(x * wt) * c + \sum(x^2 * wt) * b + \sum(x^3 * wt) * a &= \sum(x * y * wt) \\ \sum(x^2 * wt) * c + \sum(x^3 * wt) * b + \sum(x^4 * wt) * a &= \sum(x^2 * y * wt) \end{aligned}$$

或写作矩阵方程：

$$\begin{bmatrix} W & XW & X2W \\ XW & X2W & X3W \\ X2W & X3W & X4W \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c \\ b \\ a \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} YW \\ XYW \\ X2YW \end{bmatrix}$$

克劳特分解：

$$\begin{bmatrix} W & XW & X2W \\ XW & X2W & X3W \\ X2W & X3W & X4W \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} L11 & & \\ L21 & L22 & \\ L31 & L32 & L33 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & U12 & U13 \\ & 1 & U23 \\ & & 1 \end{bmatrix}$$

使用值简化：

$$L_{11} = W$$

$$U_{12} = \frac{XW}{L_{11}}$$

$$L_{21} = XW$$

$$U_{13} = \frac{X^2W}{L_{11}}$$

$$L_{31} = X^2W$$

$$L_{22} = X^2W - L_{21} * U_{12}$$

$$U_{23} = \frac{X^3W - L_{21} * U_{13}}{L_{22}}$$

$$L_{32} = X^3W - L_{31} * U_{12}$$

$$L_{33} = X^4W - (L_{31} * U_{13}) - (L_{32} * U_{23})$$

$$z_0 = \frac{YW}{L_{11}}$$

$$z_1 = \frac{XYW - (L_{21} * z_0)}{L_{22}}$$

$$z_2 = \frac{X^2YW - (L_{31} * z_0) - (L_{32} * z_1)}{L_{33}}$$

$$a' = z_2$$

$$b' = z_1 - (U_{23} * a')$$

$$c' = z_0 - (U_{12} * b') - (U_{13} * a')$$

最后必须反向归一化：

$$c = c'$$

$$b = \frac{b'}{\text{Norm}}$$

$$a = \frac{a'}{\text{Norm}^2}$$

强制过原点

如果选择强制过原点选项，则计算标准方程时偏移项 **a** 将设置为零。

$$\begin{vmatrix} X2W & X3W \\ X3W & X4W \end{vmatrix} * \begin{vmatrix} b \\ a \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} XYW \\ X2YW \end{vmatrix}$$

$$L11 = X2W$$

$$U12 = \frac{X3W}{L11}$$

$$L21 = X3W$$

$$L22 = X4W - (L21 * U12)$$

$$z0 = \frac{XYW}{L11}$$

$$z1 = \frac{X2YW - (L21 * z0)}{L22}$$

$$a' = z1$$

$$b' = z0 - (U12 * a')$$

$$b = \frac{b'}{\text{Norm}}$$

$$a = \frac{a'}{\text{Norm}^2}$$

包含原点

若包含原点，则将把点(0,0)添加到其他点并使用其他点的加权平均值进行加权，即使 $\Sigma(wt)$ 项增加了其他点加权的平均值。

对数和指数拟合

对数和指数拟合

要计算指数和对数拟合，需使用 $\ln$ 函数转换含量或响应缩放比例。转换数据时将使用线性曲线拟合和权重因子，然后根据转换的数据计算曲线。

由于 $\ln$ 函数在零点处的奇异性，**包含原点**和**强制使用原点**选项将无效。

对数

曲线公式：

$$y = a * \ln(x) + b$$

转换：转换 **x** 缩放比例。

$$x' = \ln(x); y' = y$$

$$y' = a * x' + b$$

指数

曲线公式：

$$y = b * e^{a * x}$$

转换：转换 **y** 缩放比例。

$$x' = x; y' = \ln(y)$$

$$y' = \ln(b) + a * x'$$

Log/log 拟合

要计算对数和对数拟合，需使用 log 函数转换含量或响应缩放比例。转换数据时将使用线性曲线拟合和权重因子，然后根据转换的数据计算曲线。

由于 log 函数在零点处的奇异性，**包含原点**和**强制经过原点**选项将无效。

曲线公式：

$$\log(y) = a * \log(x) + b$$

转换：转换 **x** 和 **y** 刻度。

$$x' = \log(x); y' = \log(y)$$

$$y' = a * x' + b$$

平均 RF 拟合

平均 RF 公式：

$$y = a * x$$

其中：

$$a \quad \text{斜率}$$

应用程序首先计算每个校正样品的响应因子 (RF)。然后计算所有响应因子的平均值。平均 RF 显示在校正曲线图例中，并与线的斜率相对应。(第 96 页的 [响应类型和响应因子](#))

Y-截距始终为 0，因为会自动使用强制经过原点选项。加权方法自动设置为**无**。

平均 RF 拟合、r 和 R^2 不相关且不能计算。

评估校正曲线

可使用统计计算来评估校正级别的校正曲线拟合质量和离群值（离曲线有很大距离的测量结果）。校正曲线计算为各个曲线提供了一个相关系数和相对标准偏差，并为每个校正级别提供了一个相对残差值。

校正曲线的验证

计算后将对校正曲线进行验证，若有以下情况则发出警告：

- 没有完成曲线计算所需的足够校正点
- 曲线斜率为零或负
- 曲线是无限的
- 无法计算校正曲线（例如，数值溢出）

相对残差

残差是校正点到计算的曲线之间的测量距离：

$$\text{残差} = y_i - Y_i$$

其中：

y_i	测量的响应（峰面积或峰高）或含量，取决于校正模式。
Y_i	级别 i 的预测响应值或含量（使用曲线计算）

每个校正级别的相对残差是使用以下公式计算的：

$$\text{Rel Residual} = \frac{\text{Residual}}{Y_i} = \frac{(y_i - \bar{Y}_i)}{Y_i}$$

其中：

- y_i 测量的响应值（峰面积或峰高）或含量
- Y_i 级别 i 的预测响应值或含量（使用曲线计算）

相对残差经常以 % 单位进行报告 (RelResidual%)。这种情况下，RelResidual 要乘以 100。

校正曲线统计

校正曲线计算为各个曲线提供了相关系数、确定系数和残余标准差。

相关系数

相关系数 (r) 是对不同数据点之间校正曲线的拟和实测。其计算公式如下：

$$r = \frac{\sum [(y_i - \bar{y}) * (Y_i - \bar{Y}) * wt_i]}{(\sum [(y_i - \bar{y})^2 * wt_i] * \sum [(Y_i - \bar{Y})^2 * wt_i])^{\frac{1}{2}}}$$

其中

- r 相关系数
- wt_i 数据点的加权
- $\bar{y}$ 测量的响应值或含量的平均值
如果校正曲线强制通过原点（处理方法中的原点=强制），则 OpenLab CDS 会计算未居中的确定系数。在这种情况下，将会忽略 $\bar{y}$ 。
- y_i 测量的响应值（峰面积、峰面积比率（内标方法）、峰高或峰高比率（内标方法））或含量，取决于校正模式
- $\bar{Y}$ 预测的响应值或含量的平均值
- Y_i 预测响应值或含量（使用校正曲线）

$\bar{y}$ 和 $\bar{Y}$ 是测量和预测的响应值或含量的平均值，计算方法如下：

$$\bar{y} = \frac{\sum(y_i * wt_i)}{\sum(wt_i)}$$

其中

wt_i	数据点的加权
$\bar{y}$	测量的响应值或含量的平均值
y_i	测量的响应值（峰面积、峰面积比率（内标方法）、峰高或峰高比率（内标方法））或含量，取决于校正模式

和

$$\bar{Y} = \frac{\sum(Y_i * wt_i)}{\sum(wt_i)}$$

其中

wt_i	数据点的加权
$\bar{Y}$	预测的响应值或含量的平均值
Y_i	预测响应值或含量（使用校正曲线）

强制原点是假设点以零为中心（相对第三象限对称）且平均值可替换为零。第三方计算程序可能使用其他方法，结果可能会略有差异。

完全拟合的相关系数为 1。当单个或平均校正点偏离回归曲线时，其会减小。通常值在 0.99 和 1 之间。相关系数不是分析方法精度的直接衡量标准，但是值越低表明精度越低。

确定系数

确定系数 (R^2) 计算方法如下：

$$R^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - Y_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}$$

其中

R^2	确定系数
$\bar{y}$	测量的响应值或含量的平均值 如果校正曲线强制通过原点（处理方法中的 原点=强制 ），则 OpenLab CDS 会计算未居中的确定系数。在这种情况下，将会忽略 $\bar{y}$ 。
y_i	测量的响应值或含量。响应值可以是峰面积（峰面积、峰面积% 或面积比率（内标方法））或峰高（峰高、峰高%或峰高比率（内标方法））。含量可以是绝对含量或含量比率（内标方法）。值的类型取决于校正模式。
Y_i	预测响应值或含量（使用校正曲线）

残留标准偏差

残留标准偏差（有时候称为均方差）计算公式如下：

$$\text{ResidualStdDev} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - Y_i)^2}{(n - d)}}$$

其中：

- $d = 3$ 二次曲线的自由度，不强制过原点
- $d = 2$ 二次曲线的自由度，强制过原点，或
线性曲线的自由度，不强制过原点
- $d = 1$ 线性曲线的自由度，强制过原点

ResidualStdDev	残留标准偏差
y_i	测量的响应值（峰面积、峰面积比率（内标方法）、峰高或峰高比率（内标方法））或含量，取决于校正模式
Y_i	预测响应值或含量（使用校正曲线）
n	校正点数量

对于**包含原点**的校正曲线类型，原点 (0,0) 作为计算中使用的常规点并计入 n。
y 值不加权。

与相关系数相比，残余标准偏差对曲线质量更为敏感。完全拟合的残留标准偏差为零。残留标准偏差越高校正点离曲线越远。

标准偏差

标准偏差用**群体标准偏差**的公式计算：

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}$$

其中：

σ	标准偏差
N	样品数目
x_i	测量响应值或含量。对于曲线模型 平均 RF ，它是单个样品中化合物的响应因子 RF。
μ	平均值。对于曲线模型 平均 RF ，它是所有样品中化合物的平均响应因子。

注意

对于曲线模型**平均 RF**：由于正常情况下群体（校正点数）相当小，因此使用此公式来替代样品群体标准偏差（使用 N-1 作为分母）。

相对标准偏差

相对标准偏差的计算方式如下：

$$RSD = 100 \cdot \frac{\sigma}{\mu}$$

其中：

RSD	相对标准偏差
σ	标准偏差
μ	平均值

什么是定量？	122
定量计算	122
校正因子	123
乘积因子	123
稀释因子	123
浓度和质量百分比	124
峰面积百分比法和峰高百分比法	125
校正化合物的定量	126
ESTD 计算	126
ISTD 计算	128
未校正化合物的定量	131
使用校正的化合物进行间接定量	131
使用手动因子定量	131
未标识峰的定量	133
使用固定响应因子对未标识峰进行定量	133
使用校正的化合物对未标识峰进行定量	133
归一化	134
计算归一化浓度	135
计算归一化含量	136
组的定量	137
定制时间组的定义	137
定量定制时间组	139
已命名组的定义	142
定量已命名组	142

本章介绍如何定量化合物，并介绍定量中使用的计算。

什么是定量？

积分和识别峰后，分析的下一步即校正。定量通过峰面积或峰高来计算样品中化合物的含量。

定量分析包含许多步骤，主要如下：

- 分析包含未知量化合物的样品以获取由于含量未知造成的响应。
- 将未知含量的响应与已知含量的响应对比以确定化合物含量。

为与已知样品进行有效对比，您必须在相同的条件下获取数据。

定量计算

OpenLab CDS 提供了以下用于计算混合物中各组分浓度的计算流程：

- 峰面积或峰高百分比（峰面积% 或峰高%）
- 使用手动因子定量
- 外标 (ESTD)
- 内标 (ISTD)
- 使用校正的化合物进行间接定量

用于确定未知样品中化合物浓度的计算方法取决于定量类型。每种计算过程都使用峰面积或峰高进行计算并生成不同的分析类型。

校正因子

定量计算中使用不同的校正因子，即**乘积因子**（化合物或进样乘积因子）和**稀释因子**。这些因子在校正过程中用于补偿检测器对不同样品组件、浓度、样品稀释、样品含量、化合物纯度的变化和补偿转换单位。

乘积因子

各个计算公式使用乘积因子乘各个化合物的结果。乘积因子可用于转换单位以表达浓度，或校正浓度以补偿不同的标准化合物的纯度。

乘积因子是在进样级别（进样列表或序列列表）和化合物级别（校正表，处理方法的一部分）上设置的。在 OpenLab CDS 中，您可配置最多 5 个进样乘积因子和 1 个化合物乘积因子。

已知化合物的乘积因子为：

$$\text{乘积因子} = \text{化合物乘积因子} * \text{进样乘积因子 1} * \text{进样乘积因子 2} * \dots$$

稀释因子

稀释因子是含量通过乘或除该因子计算浓度的数值（见浓度）。稀释因子是在进样级别（进样列表中的**稀释因子**列）上设置的。在预分析工作中，您可以使用稀释因子来改变结果范围或修正样品组份的变化。您也可以将稀释因子用于需要使用常量因子的任何其他用途。

样品稀释可包含最多 5 个稀释因子：

$$\text{样品稀释因子} = \text{稀释因子 1} * \text{稀释因子 2} * \dots$$

浓度和质量百分比

浓度显示在进样结果的**浓度**列中。

计算取决于以下设置（所有设置都出现在**化合物 > 校准**节点的**常规**选项卡中）：

- **浓度计算**：通过此设置，您可以选择使用稀释因子作为除数还是另一个乘积因子。
- **计算质量 %**：以质量百分比形式计算浓度（相对于样品含量的化合物含量）。

在清除**计算质量 %**（这是默认设置）的情况下：

$$\text{浓度} = \text{含量} * \text{乘积因子} * \text{稀释因子}$$

或者

$$\text{浓度} = \text{含量} * \frac{\text{乘积因子}}{\text{稀释因子}}$$

在选中**计算质量 %**的情况下：

以质量百分比形式计算浓度（相对于样品含量的化合物含量）。

$$\text{浓度} = \left(\frac{\text{含量}}{\text{样品含量}} * 100 \right) * \text{乘积因子} * \text{稀释因子}$$

或者

$$\text{浓度} = \left(\frac{\text{含量}}{\text{样品含量}} * 100 \right) * \frac{\text{乘积因子}}{\text{稀释因子}}$$

更多有关计算乘积因子和稀释因子的信息，请参见第 123 页的 [校正因子](#)。

峰面积百分比法和峰高百分比法

峰面积百分比计算过程将信号中每个峰的面积报告为占信号中所有峰的总面积的百分比。**峰面积百分比**不需要预校正，也不依赖于检测器限制内的样品进样量。不使用任何响应因子。如果检测器中所有组分的响应相等，则**峰面积百分比**将得出各组分相对含量的近似值。

峰面积百分比通常用于目标定性结果中，并且生成信息以创建其他校正过程所需的化合物表。

峰高百分比计算过程将信号中每个峰的高度报告为占信号中所有峰的总高度的百分比。

面积% 或高度% 计算中不使用校正因子。

校正化合物的定量

外标 (ESTD)、归一化和内标 (ISTD) 计算流程需要校正，因此要使用化合表。依据您所选择的过程，化合物表指定将响应转换为您所选择的单位。

ESTD 计算

ESTD 过程是基本的定量过程，在该过程中，校正样品和未知样品均在相同的条件下进行分析。然后，将未知样品的结果与校正样品的结果相比较，来计算出未知样品的含量。

ESTD 过程使用绝对响应因子，这一点与 ISTD 过程不同。通过校正获得响应因子，然后将其保存。在接下来的样品运行中，通过将这些响应因子应用到实测样品响应中来计算化合物含量。请确保几次运行的样品进样量可以重复，因为在样品中没有用来修正进样量或样品制备差异的标准。

在准备 ESTD 分析时，未知样品中特定化合物的含量的计算分为两个步骤：

- 1 使用化合物表中的**模式**和**原点**设置中指定的拟合类型来计算通过这种化合物校正点的曲线公式。
- 2 未知样品中化合物的含量通过上述公式来计算。这个含量可能会出现在报告中，或在报告之前，用于由样品乘积因子、化合物乘积因子或稀释因子所调用的其他计算。

单级校正

在单级校正中，响应因子只是校正点响应和含量的比率。如果关闭**包含原点**和**强制过原点**，则会发出警告。

响应因子 RF 的定义为响应和含量之比或相反（请参见第 96 页的 [RF 定义](#)）。要计算 RF，应用程序使用校正样品的化合物含量和相应的校正样品的响应值。

ESTD 结果的单级校正计算公式取决于您在处理方法中设置的响应类型：

$$\text{含量} = \text{峰面积} / \text{RF}$$

或：

$$\text{含量} = \text{峰高} / \text{RF}$$

其中：

含量	化合物含量
RF	响应因子

关于浓度计算的详细信息，请参见第 124 页的 [浓度和质量百分比](#)。

多级校正

对于多级别校正，响应因子是根据校正曲线评估的。

ISTD 计算

ISTD 过程通过添加作为归一化因子的已知含量化合物消除了 ESTD 方法的缺点。此化合物，即**内标**，要同时添加到校正和未知样品中。

用作内标的化合物在化学特性上和保留/迁移时间上应与校正化合物类似，但在色谱上必须可区分。

表 8 ISTD 过程

优点	缺点
样品大小的偏差并不严重。	内标必须添加到每个样品。
仪器漂移会由内标进行补偿。	
如果 ISTD 的化学行为和未知状态相似，则样品制备的影响会降到最低。	

如果使用 ISTD 过程执行非线性特性的校正，则必须注意不会因计算原理的错误导致系统误差。在多级别校正中，ISTD 化合物的含量应保持一致，例如，所有级别内标均相同。

在内标分析中，化合物含量与内标含量的关系即两个峰的响应比率。

OpenLab CDS 最多可使用 5 个 ISTD 化合物。

ISTD 计算中使用相对响应和相对含量代替原始响应和含量。其计算方式是用峰的响应含量除以相应 ISTD 化合物的响应和含量：

相对响应 = 响应值/响应值_{ISTD}

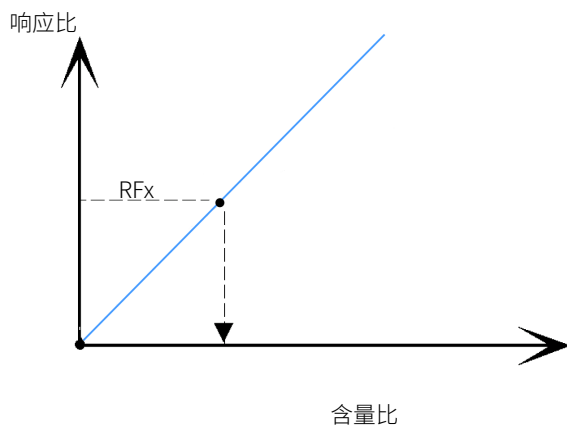
相对含量 = 含量/含量_{ISTD}

响应可以是峰面积、峰面积%、峰高、峰高%（请见第 96 页的 [响应类型和响应因子](#)）。

在 ISTD 校正时，未知样品中特定化合物的校正含量比的计算分为多个步骤。这些步骤将在下面的章节中介绍。

校正样品

- 1 校正点是通过计算化合物表中特定化合物各级别的含量比和响应比来确定的。
含量比即化合物含量除此级别的内标含量。
响应比即化合物响应值（峰面积或峰高度）除此级别的内标响应值。
- 2 使用处理方法化合物表中指定的曲线模型类型来计算通过这些校正点的曲线公式。



未知样品

- 1 未知样品中的化合物响应值除以内标的相应值可以得出未知样品的响应比。
- 2 未知样品的含量比是通过 第 129 页的 [校正样品](#) 中得出的曲线模型方程和样品中 ISTD 的实际含量计算出来的。

单级 ISTD 校正

在单级校正中，相对响应因子 (RRF) 是使用校正样品的响应和含量值计算的。根据全局校正设置中的 RF 定义，可使用以下公式之一：

RF 定义为响应值/含量：

$$RRF = \frac{\text{Rel Response}}{\text{Rel Amount}}$$

RF 定义为含量/响应值：

$$RRF = \frac{\text{Rel Amount}}{\text{Rel Response}}$$

其中：

RRF	相对响应因子
Rel Response	相对响应值
Rel Amount	相对含量

含量和浓度的计算公式如下，使用样品测量中的响应值：

RF 定义为响应值/含量：

$$\text{Amount} = \left(\frac{\text{Rel Response}}{RRF} \right) * \text{Amount}_{\text{ISTD}}$$

RF 定义为含量/响应值：

$$\text{Amount} = RRF * \text{Rel Response} * \text{Amount}_{\text{ISTD}}$$

其中：

Amount	化合物含量
Rel Response	相对响应值
RRF	相对响应因子
Amount _{ISTD}	内标含量

对于多级别校正，相对响应因子是根据校正曲线估计的。

关于浓度计算的详细信息，请见第 124 页的 [浓度和质量百分比](#)。

未校正化合物的定量

未校正化合物可通过固定响应因子或使用一种已校正化合物的校正数据进行定量。使用固定响应因子或校正的化合物数据进行的定量是信号特定的。对于后者，若校正的化合物是通过内标法定量的，则未标识峰使用内标的方式和校正化合物的使用方式相同。

使用校正的化合物进行间接定量

若使用一种已校正的化合物校正数据定量未校正的化合物，则校正的化合物将显示在处理方法中（**校正节点**、**化合物表**选项卡：在**模式**下，选择**参比**）。计算方法和校正的化合物相同。若参比化合物是通过内标法定量的，则未知化合物使用内标的方式和参比化合物的使用方式相同。

参比峰缺失会使未校正化合物的含量结果为零。

另外，利用参比化合物的响应因子计算含量之前也可输入一个校正因子（**参比校正**）来乘峰的响应值。

使用手动因子定量

软件允许用户选择使用固定响应因子（**手动因子**列）对已识别的化合物进行定量。在这种情况下化合物的含量是使用固定响应因子计算的：

$$\text{含量} = \text{响应值} * \text{手动因子}$$

其中：

手动因子

固定响应因子

响应值

响应可以是面积、面积%、高度、高度%、相对面积或相对含量（见第 96 页的 [响应类型和响应因子](#)）

关于浓度计算的详细信息，请见第 124 页的 [浓度和质量百分比](#)。

在 ISTD 方法中使用手动因子

如果化合物的含量是使用固定响应因子和内标进行定量的，公式如下：

$$\text{相对峰面积} = \text{峰面积} / \text{ISTD 峰面积}$$

或：

$$\text{相对峰高} = \text{峰高} / \text{ISTD 峰高}$$

然后如下计算含量：

$$\text{含量} = \text{相对面积} * \text{手动因子} * \text{ISTD 含量}$$

或：

$$\text{含量} = \text{相对高度} * \text{手动因子} * \text{ISTD 含量}$$

关于浓度计算的详细信息，请见第 124 页的 [浓度和质量百分比](#)。

手动因子和响应因子 (RF) 的依赖性

RF 定义为 **响应值/含量**（默认设置）：

$$\text{RF} = 1 / \text{手动因子}$$

RF 定义为 **含量/响应值**：

$$\text{RF} = \text{手动因子}$$

关于响应因子的更多信息，请见第 96 页的 [响应类型和响应因子](#)。

未标识峰的定量

未标识峰可使用定制时间组通过固定响应因子或使用一种已校正化合物的校正数据进行定量。使用固定响应因子或校正的化合物数据进行的定量是信号特定的。对于后者，若校正的化合物是通过内标法定量的，则未标识峰使用内标的方式和校正化合物的使用方式相同。

有关定制时间组的详细信息，请参见第 137 页的 [定制时间组的定义](#)。

使用固定响应因子对未标识峰进行定量

在这种情况下，您可使用定量模式**手动因子**创建一个定制时间组。定制时间组的指定时间范围包含相关的未标识峰。

此外，必须排除定量的峰。设置**分别定量各个峰**选项后，所有未标识峰的含量和浓度均将使用固定响应因子进行计算。

关于计算的详细信息，请见第 139 页的 [根据手动因子定量定制时间组](#)。

使用校正的化合物对未标识峰进行定量

在这种情况下，您可使用定量模式**参比**创建一个定制时间组。定制时间组的指定时间范围包含相关的未标识峰。另外，利用参比化合物的响应因子计算含量之前也可输入一个校正因子（**参比校正**）来乘峰的响应值。

此外，必须排除定量的峰。指定**分别定量各个峰**选项后，所有未标识峰的含量和浓度均将使用曲线参比进行计算。

归一化

您可在处理方法的常规校正设置中选择归一化含量。

归一化分析与峰面积百分比和峰高百分比计算具有相同的缺点。任何影响总的峰面积的变化都将影响每个单峰的浓度计算。只有当所有目标组分都被洗脱和积分时才应使用归一化分析。从归一化分析中去掉选定的峰将改变样品报告结果。

关于定制时间组的详细信息，请见第 137 页的 [定制时间组的定义](#)。

若在定制时间组中计算单个峰，则这些单个的峰不会重复包含在总含量中；它们已经计入定制时间组含量中。

创建归一化法结果的默认归一化因子为 100.00。但是，您可以在方法中设置一个不同的值和单位。总含量为所有计算的化合物和定制时间组含量的总和，与化合物主峰信号无关。

用户可选择计算中是否包括 ISTD 化合物。如果不包括（默认设置），则总含量中不包括 ISTD 含量且不为内标计算化合物归一化含量。

对于**已命名组**，总含量中不包括组含量。但是，如果 ISTD 已经明确添加到该已命名组，则会将其添加到组含量，即使已经将 ISTD 从归一化中排除。这可能会导致已命名组的归一化含量大于 100%。

计算归一化浓度

化合物的归一化浓度指的是化合物相对于所有检测到的化合物总和的浓度。

该计算取决于**将校正因子应用于归一化浓度**复选框的状态。该复选框是处理方法中校正设置的组成部分。

如果应用了校正因子，则会按照以下方式计算化合物的**归一化浓度**，具体取决于浓度计算：

$$C_N = \frac{M_{\text{comp}} \cdot A}{\sum (M_{\text{comp}} \cdot A)} \cdot M_{\text{sample}} \cdot D_{\text{sample}} \cdot f$$

或者

$$C_N = \frac{M_{\text{comp}} \cdot A}{\sum (M_{\text{comp}} \cdot A)} \cdot \frac{M_{\text{sample}}}{D_{\text{sample}}} \cdot f$$

如果未应用校正因子，则归一化浓度计算方法如下：

$$C_N = \frac{M_{\text{comp}} \cdot A}{\sum (M_{\text{comp}} \cdot A)} \cdot f$$

其中：

C_N	归一化浓度
M_{comp}	化合物特定乘积因子，在处理方法中设置
A	含量
M_{sample}	样品特定乘积因子，在进样列表或序列表中设置
D_{sample}	样品特定稀释因子，在进样列表或序列表中设置
f	归一化因子，处理方法中定义

计算归一化含量

用于计算化合物的归一化含量的公式为：

$$\text{Compound Norm Amount} = \text{Compound Amount} * \frac{\text{Normalization}}{\text{Total Amount}}$$

其中：

化合物含量	化合物含量
化合物归一化含量	归一化化合物含量
Normalization	归一化因子，处理方法中定义
Total Amount	所有化合物含量和定制时间组含量之和 总含量中不包括已命名组的含量。如果您针对定制时间组启用了 包含识别的峰 ，定制时间组中的已识别化合物的含量将被计算两次。

$$\text{Group Norm Amount} = \text{Group Amount} * \frac{\text{Normalization}}{\text{Total Amount}}$$

其中：

组含量	组含量
Group Norm Amount	归一化组含量
Normalization	归一化因子，处理方法中定义

$$\text{Peak Norm Amount} = \text{Peak Amount} * \frac{\text{Normalization}}{\text{Total Amount}}$$

其中：

Normalization	归一化因子，处理方法中定义
Peak Amount	峰的含量
Peak Norm Amount	归一化峰的含量

组的定量

定制时间组的定义

定制时间组中包含一个或多个时间区域且是在特定信号上定义的。组的预期保留时间仅用于排序，而且可手动输入。

定制时间组对应于 OpenLab EZChrom 的《未校正范围》或《已校正范围》。

以下示例为三个定制时间组，其中组 2 和组 3 重叠。C1 和 C2 是已识别的化合物。位于 5.689 min 处的未识别的峰在两个组中都进行了评估。仅当相应设置组参数时才会评估已识别峰。

组	时间范围	包含已识别的峰？
组 1	0.8 min - 1.4 min 2.8 min - 3.4 min	否
组 2	3.8 min - 5.9 min	是
组 3	5.4 min - 7.2 min	否

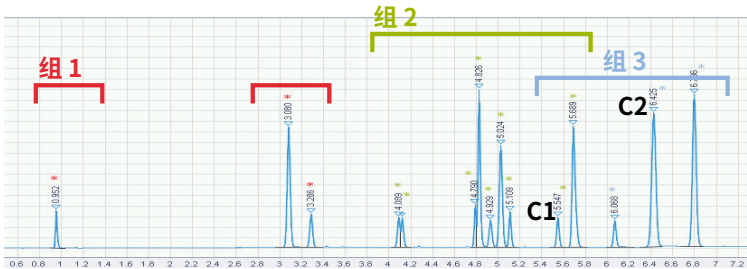


图 90 例如：定制时间组

注意

如果某个定制时间组没有定义的时间区域，则不计算其峰面积、峰高和含量。如果某个定制时间组定义了区域，但在区域中未找到峰，则其峰面积和峰高均等于零。

如果通过使用时间参比化合物更正保留时间，则定制时间组的开始时间和停止时间也会通过相应的偏移进行更正（请参见第 87 页的 [时间参比化合物的计算](#)）。

对于定量，组的峰面积、峰高和缩放响应值是通过时间范围内单个峰的对应值之和进行计算的（根据组参数包括或排除已识别的峰）。

然后使用组的校正参数校正和定量定制时间组。定制时间组支持常规化合物的所有校正和定量模式（[曲线](#)、[手动因子](#)和[参比](#)）。在组参数中，可选择分别定量所有峰。在这种情况下，组的每个峰均使用组响应因子 (RF) 分别定量。

注意：由于定制时间组使用整个组的校正参数，所以在使用偏移量大的非线性和/或校正曲线时应特别注意。

建议不要使用带有非线性校正曲线的定制时间组，因为该计算具有非交换性，所以计算出的结果可能不精确。

如果组校正曲线有重大偏移（即比较大的截距 (b) 值），该偏移会均匀分布在定制时间组窗口内发现的所有峰上。均匀分布可能不会充分描述各个化合物。

如果一个峰属于多个组，或识别的峰被定量为组的一部分，则可能发生冲突。关于冲突解决的详细信息，请参见第 140 页的 [定制时间组参数的计算](#)。

定量定制时间组

根据手动因子定量定制时间组

在这种情况下，组的含量是根据手动输入的固定响应因子进行计算的。

外标：

$$\text{Group Amount} = \text{Group Response} * \text{Manual Factor}$$

其中：

Manual Factor	固定响应因子
Group Response	所有（缩放）响应值之和

或 ISTD：

$$\text{Group Amount} = \frac{\text{Group Response}}{\text{Response}_{\text{ISTD}}} * \text{Manual Factor} * \text{Amount}_{\text{ISTD}}$$

其中：

Amount _{ISTD}	内标含量
Manual Factor	固定响应因子
Response _{ISTD}	内标的（缩放）响应值

$$\text{Group Concentration} = \text{Group Amount} * \text{Multipliers} * \text{Dilution Factors}$$

或者

$$\text{Group Concentration} = \text{Group Amount} * \text{Multipliers} / \text{Dilution Factors}$$

更多有关如何计算乘积因子和稀释因子的信息，请参见第 123 页的 [校正因子](#)。
更多有关如何计算浓度的信息，请参见第 124 页的 [浓度和质量百分比](#)。

根据组本身的校正曲线定量定制时间组

定制时间组可根据组自己的校正曲线进行定量。支持所有校正选项或级别，除了响应值缩放**响应值/RT**。在内标模式下，您必须选择一个要使用的内标。

如果您选择了一个缩放响应值，则缩放响应值为各个缩放响应值的总和。

根据参比化合物的曲线定量定制时间组

定制时间组可根据另一个化合物的校正曲线进行定量。软件允许使用参比化合物（校正曲线）的响应因子。在这种情况下，利用参比化合物响应因子计算含量之前也可输入一个校正因子（**参比校正**）来乘响应值。若使用内标，则所用内标与参比化合物所用内标相同。

定量定制时间组中的单个峰

如果选择分别定量各个峰，则如下计算单个峰的含量：

$$\text{峰含量} = \text{组含量} * \frac{\text{峰响应}}{\text{组响应}}$$

$$\text{峰浓度} = \text{峰含量} * \text{乘积因子} * \text{稀释因子}$$

或者

$$\text{峰浓度} = \text{峰含量} * \text{乘积因子} / \text{稀释因子}$$

更多有关如何计算乘积因子和稀释因子的信息，请参见第 123 页的 [校正因子](#)。
更多有关如何计算浓度的信息，请参见第 124 页的 [浓度和质量百分比](#)。

定制时间组参数的计算

处理方法

高级

化合物

校正

系统适用性

属性

化合物表

常规

#	类型	名称	信号
1		化合物编号1	Channel A
2		化合物编号2	Channel A
3		组编号1	Channel A

定制时间组参数

☐ 包含识别的峰

☐ 分别定量每个峰

RT 开始

RT 停止

0.000

0.000

如果在定制时间组定义中未选择**包含识别的峰**复选框，则组结果仅包含在一个或多个时间范围内找到的未知峰的结果。如果已选择，则已识别峰的结果也将被考虑在内。

如果在定制时间组定义中未选择**分别定量每个峰**复选框，则属于该组的单个峰不会被定量。只有峰面积、峰高和缩放响应值可作为单个峰的结果，但含量或浓度不可用。如果已选择，给定时间范围内的每个峰可使用组的校正参数进行定量。选择或清除该复选框不会更改组结果。

冲突解决 如果一个峰属于多个组，或识别的峰被定量为组的一部分，则可能发生冲突。这种情况下应采用以下规则：

- 如果未知峰值属于多个组，并且为两个组定义了包含校正级别在内的校正参数：峰报告了好几次，但总是具有相同的含量。只会对其进行一次定量。
使用预期保留时间最小的组的参数对峰进行定量。如果两个组拥有相同的预期保留时间，则使用最后创建的组。
- 如果已识别峰已作为组的一部分进行了定量，但该峰具有自己的校正参数，则将使用其自己的参数而非组的参数进行定量。
- 如果已识别峰已作为组的一部分进行了定量且未定义特定校正参数，则将使用组的参数对化合物进行定量。使用组的响应类型（峰面积或峰高）。
- 如果已识别峰为该组的**内标 (ISTD)**，且已设置组参数**包含识别的峰**，那么会从定制时间组响应值中扣除该峰的响应值。

使用缩放响应值进行定量 在**进样结果**窗口中，**缩放响应值**列显示的是每个已定量峰的响应值。如果组的校正曲线未换算，则缩放响应值等于峰面积或峰高。

组的缩放响应值计算为定制时间组中包含的各个峰的缩放响应值**之和**。组校正和定量基于缩放响应值之和

定制时间组的峰面积和峰高也是总和值，但只有在未将缩放应用于响应值时才会进行计算。

已命名组的定义

已命名组由用户选择的化合物和定制时间组构成。每各化合物或定制时间组均已识别且独立定量。外标和内标计算使用的是单个化合物的校准数据。计算的组面积、峰高、组含量和浓度是单个面积、峰高、含量和浓度之和。已命名组本身是不可校正的。一个化合物可存在于多个已命名组中。

组的预期保留时间仅用于排序，而且可手动输入。

已命名组对应于 OpenLab EZChrom 中的《已命名峰组》。

以下示例显示了两个已命名组，且两个组中有一个共同的化合物：

组	组 1	组 2
包含的化合物	C1	
	C2	
		C3
	C4	C4
		C5
		C6

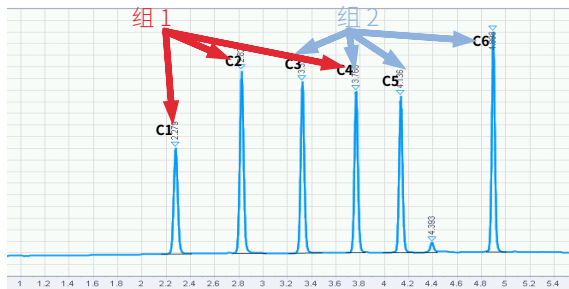


图 91 例如：已命名组

定量已命名组

已命名组表中的结果为：

$$\text{组面积} = \sum \text{化合物峰面积} + \sum \text{定制时间组面积}$$

组高度 = Σ 化合物峰高度 + Σ 定制时间组高度

组含量 = Σ 化合物峰含量 + Σ 定制时间组含量

组浓度 = Σ 化合物峰浓度 + Σ 定制时间组浓度

如果已命名组中未识别任何化合物或定制时间组，则已命名组在分析中将显示为“未识别”。

什么是 UV 光谱分析？	145
UV 杂质检查	146
噪声计算	146
确认有效光谱	147
背景校正	147
相似度计算	148
阈值计算	148
杂质评估	150
关于阈值、相似性曲线和灵敏度	151
与传统纯度图比较	154
UV 确认	157

本章介绍了基于 UV 光谱分析的杂质检查和化合物成分确认的概念。

什么是 UV 光谱分析？

专门用于 UV 光谱分析的窗口和功能有很多。如要查看这些窗口并访问这些功能，则选定进样必须包含光谱数据（例如，使用 3D UV 系统采集的数据）。

UV 光谱分析为常规分析提供了额外的质量标准：

- **确认化合物特征**

应用程序将 UV 光谱与特定的 UV 参比光谱进行对比。高匹配因子表示这两个化合物可能是相同的。

关于计算的详细信息，请见 UV 确认。(第 157 页的 [UV 确认](#))

- **检查 UV 杂质**

应用程序会比较带有顶点光谱的峰的所有 UV 光谱。比较过程会得出一个整体匹配因子，即 UV 纯度值。UV 纯度值低表示共同洗脱峰中包含了具有明显差异的 UV 光谱。

关于计算的详细信息，请见 UV 杂质检查。(第 146 页的 [UV 杂质检查](#))

UV 光谱分析会处理从 UV 可见光二极管阵列检测器或荧光检测器采集的光谱数据。配合使用分析数据和色谱图数据时，会为分析数据添加三维属性（请见第 145 页的[图 92](#)）。

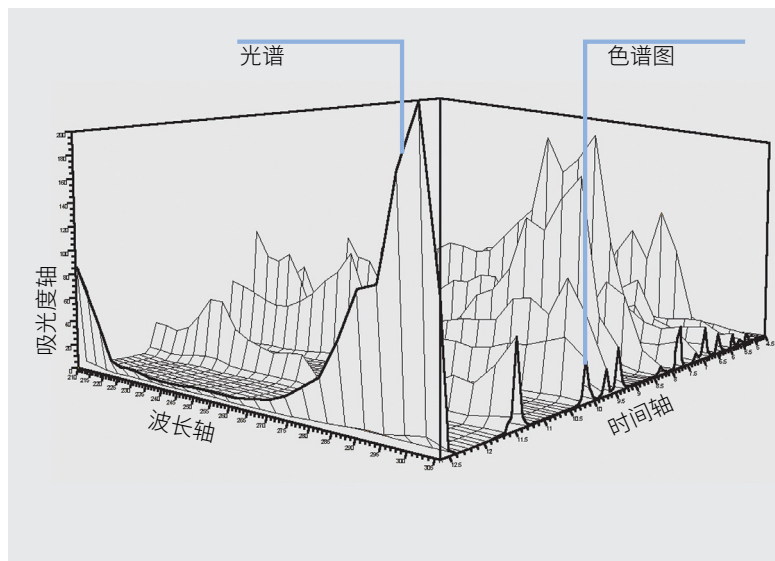


图 92 光谱信息

UV 杂质检查

杂质检查评估的是该峰是纯峰，还是含有杂质。该评估基于对峰洗脱期间所记录的光谱的对比。应用基线校正后，会将峰顶点的光谱与峰中记录的所有有效光谱进行对比。应用程序将计算体现光谱相似度的匹配因子。

应用程序评估 UV 杂质时，会执行以下步骤：

- 1 根据峰
 - a 第 146 页的 [噪声计算](#)
 - b 确认有效光谱(第 147 页的 [确认有效光谱](#))
- 2 根据光谱：
 - a 第 147 页的 [背景校正](#)
 - b 第 148 页的 [相似度计算](#)
 - c 第 148 页的 [阈值计算](#)
- 3 第 150 页的 [杂质评估](#)

噪声计算

作为进一步评估的准备工作，应用程序会通过基线开始和基线结束时的光谱为每个峰计算下列数值：

- 噪声变化
- 噪声标准偏差 σ

基线的开始和结束时间取决于积分。如果多个峰只是通过一条下拉线隔开，则所有峰都将使用同一噪声计算光谱。

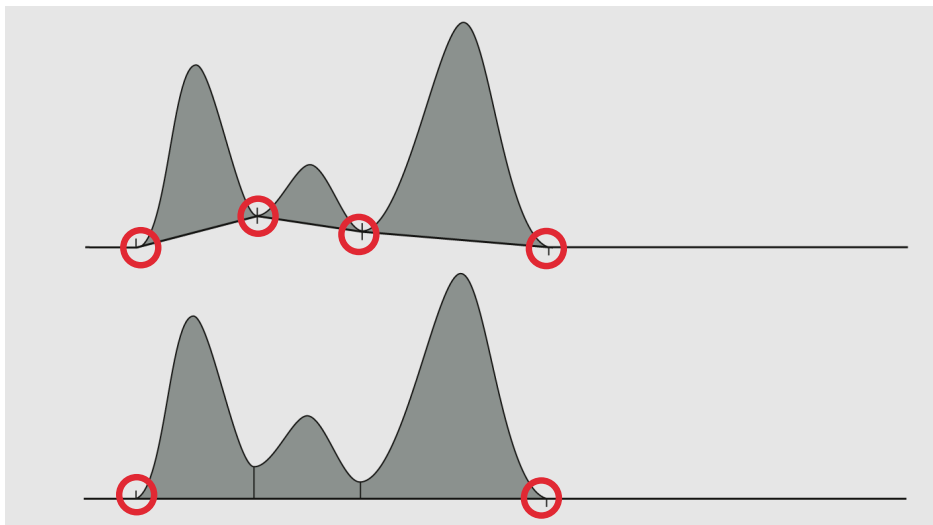


图 93 基线的开始和结束取决于积分

确认有效光谱

为了确保只评估使用有效信号的光谱，应用程序会过滤响应范围过小的光谱。如果满足以下条件，光谱会被用于进一步计算：

- 响应值范围大于 3σ
- 响应值范围大于或等于顶点光谱响应值范围的 10 %。每个光谱的响应值范围计算为最大 - 最小响应值。

背景校正

对于基线校正，应用程序会评估下列光谱：

- 峰基线开始处的光谱
- 峰基线结束处的光谱

基线的开始和结束时间取决于积分。如果多个峰只是用下拉线隔开，则所有峰将使用相同的背景校正光谱（请参见第 147 页的图 93）。

会计算两个基线光谱的线性内插。如要校正个别峰的光谱，应用程序会在对应保留时间扣除内插光谱。

相似度计算

应用程序会比较每个剩余的背景校正峰的光谱和背景校正顶点光谱。匹配因子是 0（不一样）和 1000（相同的光谱）之间的值。

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - x_{av}) \cdot (y_i - y_{av})]}{\sqrt{\left[\sum_{i=1}^n (x_i - x_{av})^2 \cdot \sum_{i=1}^n (y_i - y_{av})^2 \right]}}$$

其中：

r	相关性
x _i , y _i	从考虑的数据点和峰顶点分别测量相同波长下的吸光度
n	某一时间每个数据点采集的波长数（取决于处理方法波长带宽以及采集光谱收集步进值）
x _{av} , y _{av}	考虑的数据点和峰顶点光谱各自的平均吸光度

匹配因子（各数据点处）= r² * 1000

阈值计算

使用以下公式计算 50% 灵敏度的参比阈值：

$$T = 1000 * \left(1 - 0,5 * \left(\frac{VAR_{noise}}{VAR_{peak}} + \frac{VAR_{noise}}{VAR_{target}} \right) \right)$$

其中：

VAR _{noise}	计算的噪音光谱的方差阈值
VAR _{peak}	峰值光谱的方差
VAR _{target}	用于比较的光谱的方差（对于顶点前的数据点纯度计算为峰开始，对于顶点后的数据点纯度计算则为峰结束）

软件中使用的阈值 (T) 取决于灵敏度值。它使用下列公式计算：

如果灵敏度大于 50%：

$$T_s = T + \frac{(1000 - T) \cdot (S - 50)}{50}$$

如果灵敏度低于或等于 50%：

$$T_s = T \cdot \frac{\log(S)}{\log(50)}$$

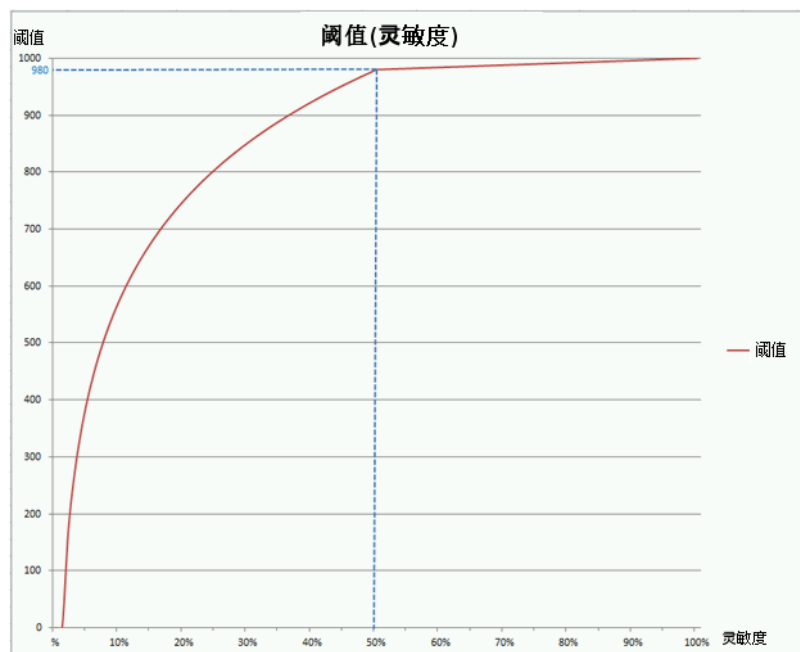
其中：

T_s 选择的灵敏度 S 的阈值 [0 - 1000]

T 50% 灵敏度的参比阈值

S 灵敏度 [0 - 100] %

对于各个阈值，在每个原始数据点处，应用其中一个公式。



红色曲线是自动计算的阈值曲线。此曲线示例自动计算的阈值是 980（即灵敏度值 50%）。

杂质评估

相似性曲线的单个值是根据灵敏度修正阈值和匹配因子计算的。(第 148 页的 [阈值计算](#), 第 148 页的 [相似度计算](#))

$$\text{比率} = \log((1000 - \text{阈值}) / (1000 - \text{匹配因子}))$$

峰的所有值都显示在**相似性曲线**中。您可以在**峰详细信息**窗口中查看。该相似性曲线显示正值（纯数据点）和负值（不纯数据点）在整个峰上的分布，其中 0 表示阈值限值。

关于阈值、相似性曲线和灵敏度

在 OpenLab CDS v2.x 中，会自动为每个数据点计算阈值。分析的清晰度使用灵敏度百分比进行调节。

因此灵敏度并非固定阈值。修改灵敏度不会让阈值发生线性变化，因为并非每个原始数据点处的阈值都完全相同。举例来说，在下图中，如果 1.950 min 处的阈值为 998，则不一定意味着 1.960 min 处的阈值保持不变。每个数据点都会计算自己的阈值，从而形成覆盖整个峰的阈值曲线。

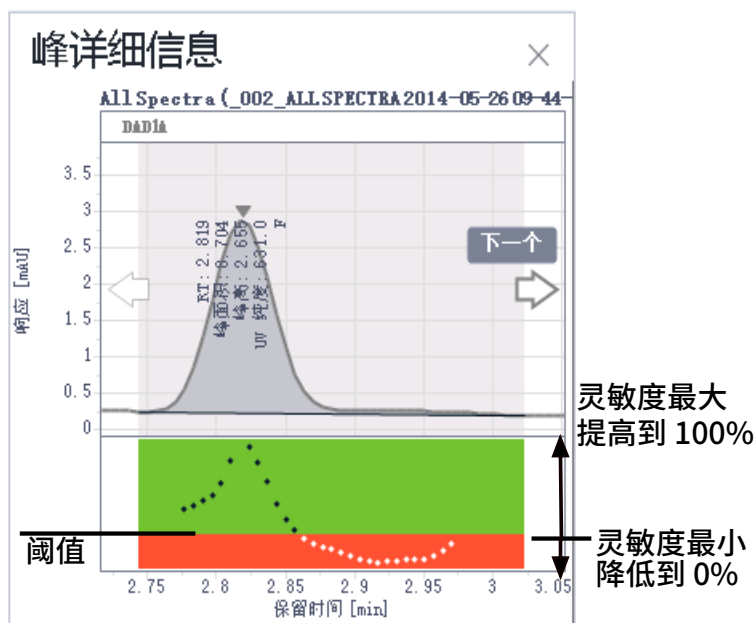


图 94 相似性曲线

然后对阈值曲线应用峰纯度灵敏度。在 Data Analysis 中，会在峰下方绘制阈值和相似性曲线的对数转换。阈值曲线随即成为纯与不纯区域之间的一条平整线。相似性曲线（如“峰详细信息”所示）使用第 150 页的 [杂质评估](#) 中所述的公式绘制。该相似性曲线随即显示正值（纯数据点）和负值（不纯数据点）在整个峰上的分布，其中 0 表示阈值限值。

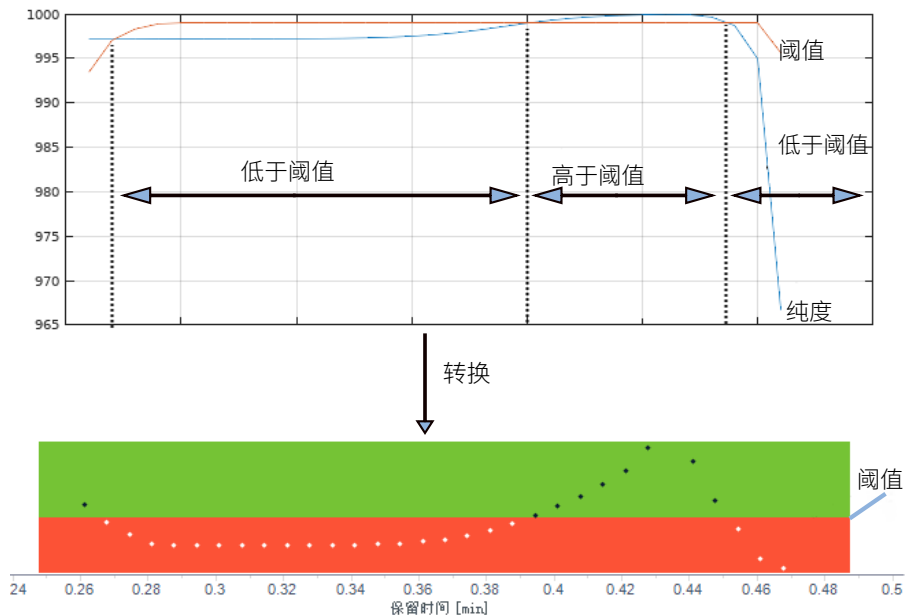


图 95 转换前后

例如：

- 匹配因子为 990、阈值为 980 的数据点：

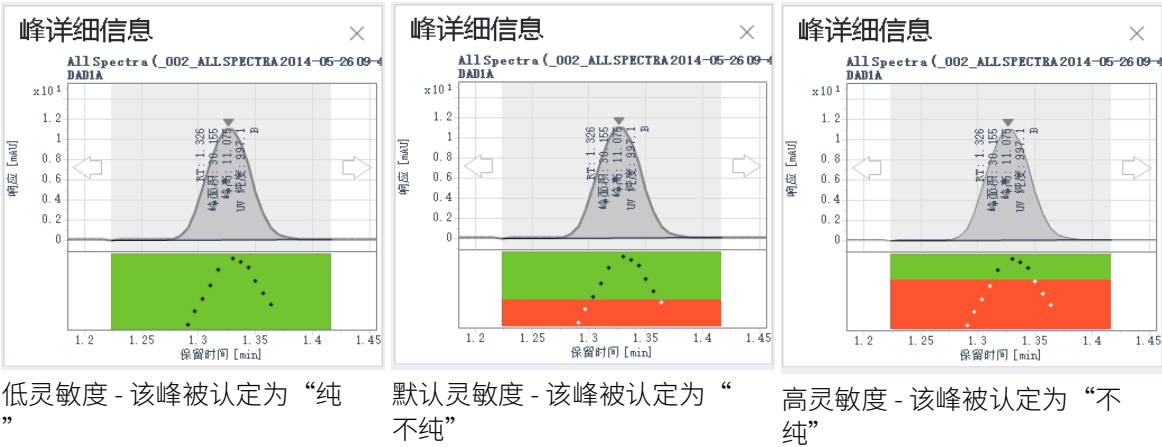
$$\text{比率} = \log((1000 - 980) / (1000 - 990)) = \log(2) = +0.3$$
 该原始数据点符合纯度标准。
- 匹配因子为 970、阈值为 990 的数据点：

$$\text{比率} = \log((1000 - 990) / (1000 - 970)) = \log(0.33) = -0.48$$
 该原始数据点不符合纯度标准。

降低或增加灵敏度意味着计算的阈值曲线的轮廓图正在改变。灵敏度的完整范围是从 0 到 100 %，其中默认计算的阈值在 50 %。

因为相似度曲线是以非线性方式（对数）显示，所以不会按一对一关系映射到匹配因子。如果灵敏度增加/减少 20 %，阈值曲线上移或下移，其振幅也会发生变化。原始数据点阈值不会发生 +/- 20 % 的波动。

灵敏度	阈值
0 %	可能的最低值 = 0
0 <= s <= 100	计算的阈值曲线（参考曲线为 50%）
100 %	可能的最高值 = 1000



当一个数据点低于其阈值时，即使总体 UV 峰纯度因子接近 1000，也会将峰标记为不纯峰。

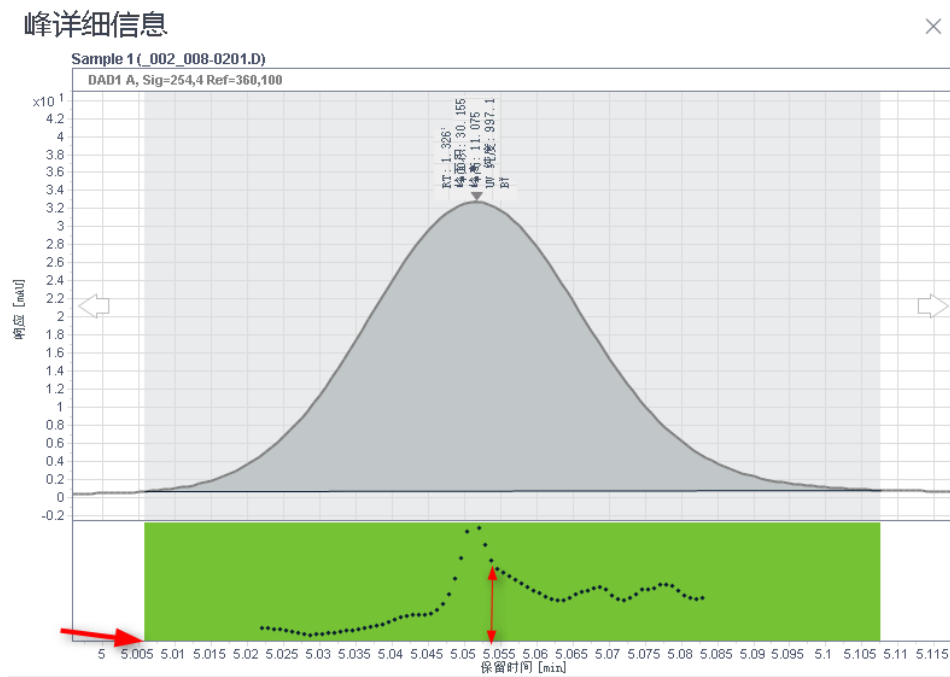
与传统纯度图比较

在 OpenLab CDS ChemStation Edition 中，有各种不同的阈值计算类型，所以阈值可以是固定值或阈值曲线类型。固定阈值不会考虑整个峰的噪声组成部分的变化。因此，在 OpenLab CDS v2.x 中，会自动计算每个数据点的该阈值，以此生成阈值曲线。之后，将使用灵敏度百分比调整分析的锐利度。

新图显示的信息与 ChemStation 相同，但显示方式更方便。它不是显示经典阈值曲线，而是显示阈值与经典阈值曲线差（增量）的对数值。这会生成一条平整线，即图形红色和绿色部分之间的边界。高于阈值的所有点都在绿色区域（黑点），低于阈值的所有点都在红色区域（白点）。

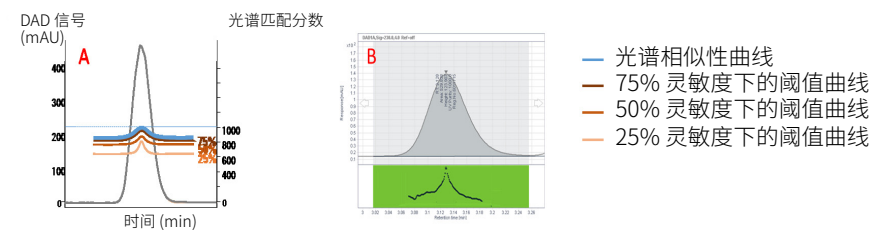
与 ChemStation 相比，好的和坏的部分被互换：好的（绿色）在上面，坏的（红色）在下面。绿色区域距离阈值线的距离越大，值就越好。曲线下方红色区域距离越大，就越差。

如果所有的都在阈值上方，则阈值线在图形底部：



以下示例显示了传统纯度图（与 OpenLab CDS ChemStation Edition 相似度曲线类似，以反向显示）与 OpenLab CDS v2.x 相似度曲线之间的差异：

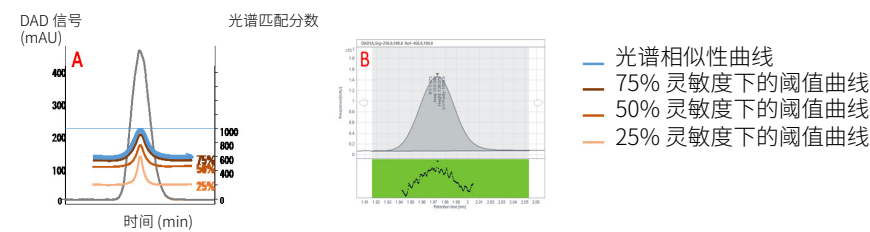
纯峰



1A 相似性曲线及其不同灵敏度下计算的阈值曲线的示意图

2B Data Analysis 相似性曲线视图

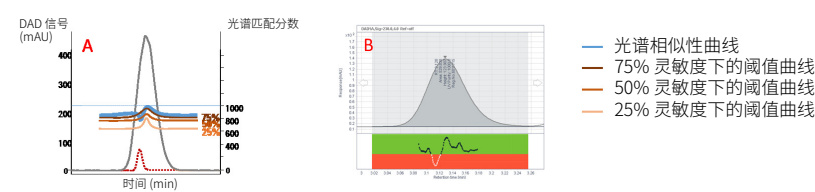
具有高噪音值的纯峰



1A 相似性曲线及其不同灵敏度下计算的阈值曲线的示意图

2B Data Analysis 相似性曲线视图

不纯峰



1A 相似性曲线及其不同灵敏度下计算的阈值曲线的示意图

2B Data Analysis 相似性曲线及其 50% 灵敏度下对数阈值线视图

摘要

只有阈值曲线类型方法可以在 OpenLAB CDS v2.x 与 OpenLAB CDS ChemStation Edition 之间进行比较，其余差异是：在 OpenLAB CDS v2.x 中，在峰开始和峰结束时会自动选择参考背景噪音，而灵敏度是 OpenLAB CDS ChemStation Edition 中未提供的额外因子。

使用默认灵敏度 50% 时，两个色谱数据系统中的算法是相同的，但结果将因不同的噪音参考而产生差异。如果增加或减小灵敏度，与 OpenLAB CDS ChemStation Edition 阈值曲线相比，阈值曲线轮廓图将发生变化。

UV 确认

UV 参比光谱是在已确定色谱图的情况下在参比样品中采集的。将峰顶点的当前光谱与 UV 参比光谱进行比较后，即可确认化合物的特征。应用程序会计算两个光谱的匹配因子。

比较算法与 UV 杂质检查时所用的算法相同（请参见第 148 页的 [相似度计算](#)）。背景校正可选的，可在处理方法中进行选择。

对于 UV 确认，如要在进样结果中显示绿色，则匹配因子必须大于给定的限值。您可以在处理方法中设置匹配因子限值。生成的 UV 确认匹配因子显示在进样结果中。

进样结果					
峰		汇总			
	#	名称	信号说明	RT (min):▲	UV 确认匹配因子
	4	A	DAD1A	0.895	1000
	15	B	DAD1A	1.330	1000
	18	C	DAD1A	1.789	1000
	23	D	DAD1A	2.272	693
	30	E	DAD1A	2.441	1000
	35	F	DAD1A	2.823	999

图 96 进样结果中的 UV 确认匹配因子

8

质谱

MS 样品纯度 159

MS 峰纯度 161

本章介绍基于质谱的样品纯度计算。

MS 样品纯度

MS 样品纯度计算评估的是该样品是否是纯样品，还是含有杂质。该评估基于对响应值的比较。一方面，样品中的所有化合物和碎片都有一个响应值。另一方面，还有特定目标离子产生的响应值。样品纯度是通过计算两个响应值的比率而得出的。

应用程序会执行不同的步骤来计算 MS 样品纯度，具体取决于选定的基准信号和计算：

发现目标？

- 1 获取**进样列表**的**目标**列中的目标质量（例如 270）。输入公式后，按照该公式计算分子量。
- 2 应用处理方法中指定的加合物（例如，+H、+Na 和目标质量 270，则目标为 271 和 293）。
- 3 为所有目标提取 EIC，然后将这些 EIC 汇总到一个 EIC。
- 4 在这个汇总的 EIC 中确定峰的保留时间。
- 5 在基准信号的色谱图中寻找匹配峰。

如有能找到匹配峰，则会将目标标记为**已发现**。

MS 检测器中的基准信号

计算 TIC %

$$\text{MS 样品纯度} = \frac{\text{匹配峰的面积 (TIC)}}{\text{所有积分峰的面积 (TIC)}} \times 100$$

计算 EIC/TIC %：

$$\text{MS 样品纯度} = \frac{\text{单个峰的面积 (汇总的 EIC)}}{\text{所有积分峰的面积 (TIC)}} \times 100$$

注意

将 **MS** 选作基准信号（在 **MS 样品纯度 > 属性** 下的处理方法中）且存在多个 TIC 信号时，每个 TIC 信号都将会在**样品纯度结果**窗口中左侧的表格上显示为基准信号。

其他检测器（非 MS）中的基准信号

$$\text{MS 样品纯度} = \frac{\text{匹配峰的面积（基准信号）}}{\text{所有积分峰的面积（基准信号）}} \times 100$$

假设

MS 样品纯度是根据下列假设计算得出的：

- MS 样品纯度计算仅用于大概估计。
- 关于 **EIC/TIC %** 计算：会采集分子离子组中离子丰度最大的 MS 数据。来源内解离程度很低。
- 关于非 MS 检测器的基准信号：其他检测器的响应值比 MS 检测器更一致且通用。
- 样品中的所有化合物都有唯一的响应因子。

MS 峰纯度

MS 峰纯度计算基于光谱中组分离子的百分比，这些离子会归为一组并构成相对于其他存在组分的目标。

应用程序会执行以下步骤来计算 MS 峰纯度：

- 1 对整个色谱范围运行解卷积。
 - a 对于前 n 个检测到的 m/z 值，创建提取离子色谱图 (EIC)。您可以在**化合物 > 光谱，MS 峰纯度**选项卡下的处理方法中设置数量。
 - b 在每个 EIC 中查找峰保留时间。
 - c 根据在相同保留时间洗脱的 EIC 峰定义组分。
- 2 确定与目标化合物相匹配的目标组分。
 - a 获取基本参数，以便进行进一步计算：
 - 内部默认设置中的 m/z 增量范围 (m/z -0.3 至 +0.7)
 - 目标定量因子 m/z ，扣除 TIC 峰顶点处的 MS 质谱图并找到最高丰度的 m/z
 - 目标化合物（当前化合物）的保留时间窗口，来自**化合物 > 识别**下的处理方法
 - b 对于每个通过解卷积发现的组分，请找出所有在目标定量因子 m/z 的 m/z 增量范围内的 m/z 值。
 - c 对于每个此类 m/z 值，请检查 EIC 在目标定量因子 EIC 峰的保留时间窗口中是否有顶点。
 - d 获取拥有最大此类峰的组分，并将其用作目标化合物。
- 3 如果系统找不到目标化合物，则会通过使用系数减小到 2 的 RT 窗口，以**高分辨率**模式运行全样品解卷积来进行重新尝试。高分辨率结果已存入缓存，并会搜索无法在正常分辨率组分列表中的目标化合物。自动生成高分辨率结果可以识别出许多之前错过的目标化合物。
- 4 系统会尝试检测**双重组分**，此类组分会共享相同的 RT 和基峰 m/z 。此类组分对的存在会明显低估纯度。如果 RT 窗口大小系数过小，则可能出现组分对。因此，系统会通过使用系数增大到 2 的 RT 窗口，以低分辨率模式运行全样品解卷积，以此尝试自动恢复。低分辨率结果已存入缓存，并会搜索与组分相匹配的目标。
- 5 获取所有产生影响的组分，即目标定量因子 m/z 的 m/z 增量范围内的光谱峰与保留时间内的目标峰相重叠的组分。

6 使用以下公式计算纯度：

$$\text{纯度(目标化合物)} = \frac{\text{面积(目标组分形状)}}{\sum(\text{面积(参与组分形状)})}$$

评估系统适用性	164
噪音测定	166
用 6 倍标准偏差计算噪音	167
用峰-峰公式计算噪音	168
采用 ASTM 方法进行噪音计算	169
使用均方根 (RMS) 计算噪音	171
信噪比的计算	172
漂移和偏移	174
计算峰的不对称性和对称性	176
系统适用性公式和计算	178
性能测试定义	179
注意：用于性能测试的保留时间	179
性能测试概述	180
真实峰宽 W_x [min]	181
容量因子 (USP)，容量比率 (ASTM) k'	181
对称因子、拖尾因子 (USP) t	182
每个色谱柱的理论塔板数 (USP)	183
每米的理论塔板数 N [1-m]	183
相对保留，选择性	184
分离度 (USP、ASTM) R	184
分离度 (EP/JP) R_s	185
峰谷比 (EP/JP)	185

本章介绍 OpenLab CDS 如何评估分析仪器和分析方法的性能。

评估系统适用性

在分析仪器及分析方法使用前对其性能进行评估，是一种很好的分析做法。在常规分析前及分析过程中，也最好检查分析系统的性能。OpenLab 提供了自动执行这三种测试的工具。**仪器测试**包括检测器灵敏度、峰保留时间的精度和峰面积的精度。**方法测试**包括保留时间及含量的精度、选择性以及方法对操作中的日常变化的耐用性。**系统测试**可包括含量精度、两个特定峰之间的分离度和峰拖尾情况。

实验室必须符合：

- 优良实验室规范条例 (GLP)，
- 优良生产规范条例 (GMP) 和现行优良生产规范条例 (cGMP)，及
- 优良自动化实验室规范 (GALP)。

实验室应执行这些测试并完整记录结果。作为质量控制体系的一部分的实验室（例如遵守 ISO 9000 认证条例），必须验证其仪器性能良好。

OpenLab CDS 比较数次运行的结果，并在结果集总结报告中统计评估。这些摘要可使用不同的报告模板（例如，SequenceSummary_Extended.rdl）。可根据需要调整。

测试结果以监管机构和独立审核员通常认可的格式记录。统计包括：

- 峰保留时间，
- 峰面积，
- 含量；
- 峰高，
- 特定峰高的峰宽，
- 峰对称性，
- 峰拖尾，
- 容量因子 (k')，
- 塔板数，
- 峰之间的分离度和
- 与前一峰的相对选择性。

扩展性能结果的计算只适用于校正化合物，以保证保留时间和化合物名称的特性。

标准的系统性能测试报告包括下列性能结果：

- 色谱柱详细情况，
- 处理方法，
- 样品信息，
- 采集信息，
- 信号描述及基线噪音测定，以及
- 标有保留时间或化合物名称的信号。

此外，针对色谱图中的每个校正过的化合物，还将生成以下信息：

- 保留/迁移时间；
- k' ，
- 对称性，
- 峰宽，
- 塔板数，
- 分离度，
- 信噪比，以及
- 化合物名称。

噪音测定

噪音可通过当前信号时间范围内的数据点值来测定。噪音有以下处理方式：

- 作为漂移的线性回归标准偏差 (sd) 的六倍
- 作为峰-峰（已修正漂移）噪音
- 用 ASTM 方法 (ASTM E 685-93) 测定的噪音
- 作为漂移的线性回归均方根 (RMS)

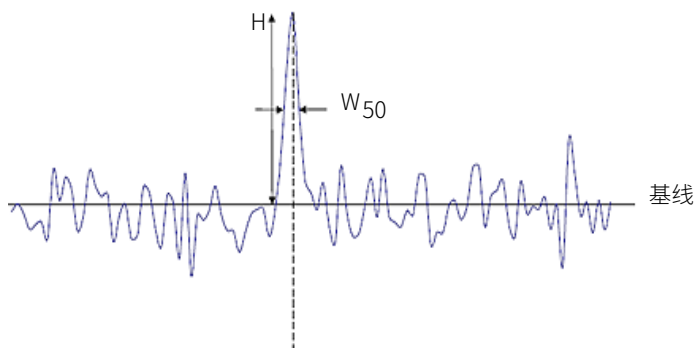


图 97 带峰信号和噪音的色谱图

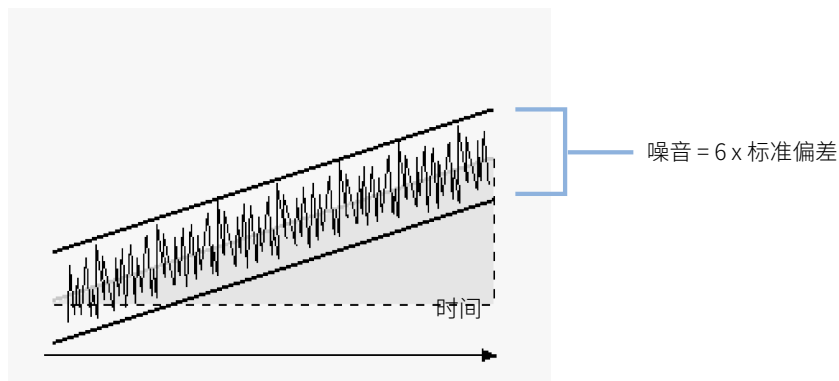
H 从峰顶至基线（可穿越噪音的最佳直线）的峰高

W_{50} 半峰高处的峰宽

注意

对于极小的峰，应用程序可能会查找峰结束后的保留时间，这会导致负峰宽。在这种极端情况下，不会计算噪声值。

用 6 倍标准偏差计算噪音



使用当前信号时间范围内的所有数据点来计算线性回归。按以下公式计算噪音：

$$N = 6 \times \text{Std}$$

其中：

N	基于六倍标准偏差方法的噪音
Std	选定的时间范围内所有数据点的线性回归的标准偏差

用峰-峰公式计算噪音

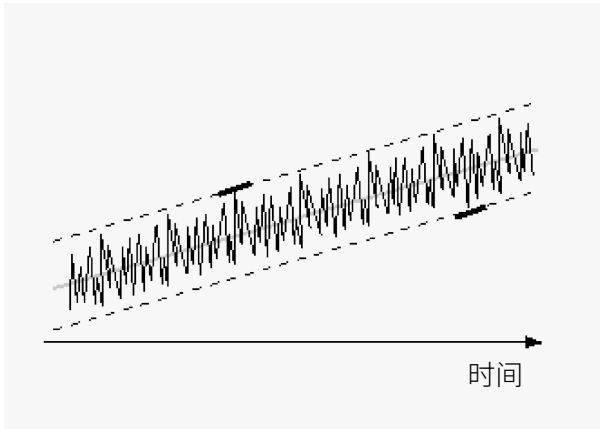


图 98 带漂移的峰-峰噪声的图解

首先通过使用峰的时间范围内的所有数据点确定线性回归来计算漂移。从该时间范围内的所有数据点减去线性回归线，以提供已修正漂移的信号。

然后使用以下公式计算峰-峰噪音：

$$N = I_{\max} - I_{\min}$$

其中：

- | | |
|------------|---------------------------|
| N | 峰-峰噪音 |
| $I_{\max}$ | 该时间范围内的最高（最大） I_x 值 |
| $I_{\min}$ | 该时间范围内的最低（最小） I_x 值 |
| I_x | 通过漂移纠正信号强度（使用 LSQ 公式计算漂移） |

欧洲药典中，峰-峰噪音使用一个以峰为中心， ± 10 倍 W_{50} 范围的空白参比信号进行计算。该区域可与目标信号相对称，若存在基质信号时，也可以不对称。

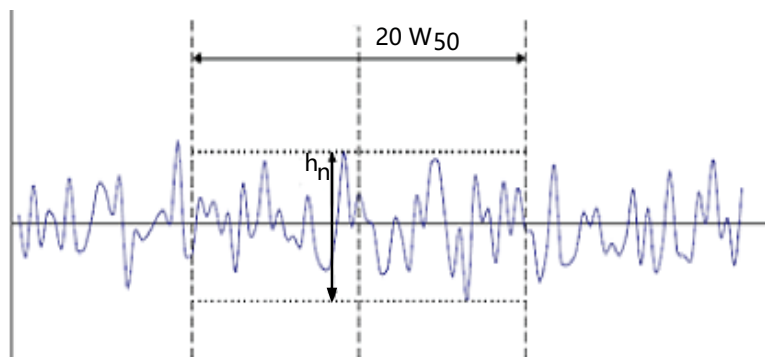


图 99 根据空白样品的色谱图进行噪声测定

其中

$20 W_{50}$ 指的是对应 20 倍 W_{50} 的区域。

h_n 指的是在 20 倍 W_{50} 区域内，基线噪音的最大高度。

采用 ASTM 方法进行噪音计算

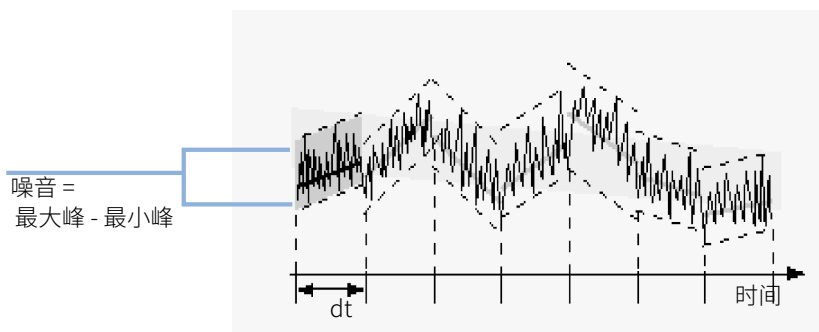


图 100 采用 ASTM 方法进行音测定

ASTM 噪音测定 (ASTM E 685-93) 依据的是用于对液相色谱中所用的可变波长光度检测器进行测试的标准做法，该标准做法由美国材料试验协会 (American Society for Testing and Materials, ASTM) 制定。根据时间范围的大小，可区分三种不同类型的噪音。噪音测定依据的是在定义的时间范围内的峰-峰测量。

- 循环时间, t

长期噪音, 即每小时频率介于 6 到 60 次循环的检测器信号所有随机偏差的最大振幅。长期噪音可在选定的时间范围超过一小时的情况下加以确定。每次循环 (dt) 的时间范围设置为 10 分钟, 这样会在选定的时间范围内至少实现六次循环。

短期噪音, 即每分钟频率大于一次循环的检测器信号所有随机偏差的最大振幅。可确定介于 10 到 60 分钟的选定时间范围内的短期噪音。每次循环 (dt) 的时间范围设置为一分钟, 这样会在选定的时间范围内至少实现 10 次循环。

极短期噪音 (并非 ASTM E 685-93 的一部分), 引入此术语之目的在于描述大于每 0.1 分钟一次循环的检测器信号所有随机偏差的最大振幅。

可确定介于 1 到 10 分钟的选定时间范围内的极短期噪音。每次循环 (dt) 的时间范围设置为 0.1 分钟, 这样会在选定的时间范围内至少实现 10 次循环。

- 循环次数, n

循环次数计算方法:

$$n = \frac{t_{\text{tot}}}{t}$$

其中, t 为循环时间, 而 t_{tot} 为总时间, 在该总时间内计算噪音。

- 每次循环的峰-峰噪音

首先通过使用时间范围内的所有数据点确定线性回归来计算漂移。从该时间范围内的所有数据点减去线性回归线, 以提供已修正漂移的信号。然后使用以下公式计算峰-峰噪音:

$$N = I_{\text{max}} - I_{\text{min}}$$

其中, N 为峰-峰噪音, I_{max} 为相应时间范围内最高 (最大) 强度的峰, 而 I_{min} 为相应时间范围内最低 (最小) 强度的峰。

- ASTM 噪音

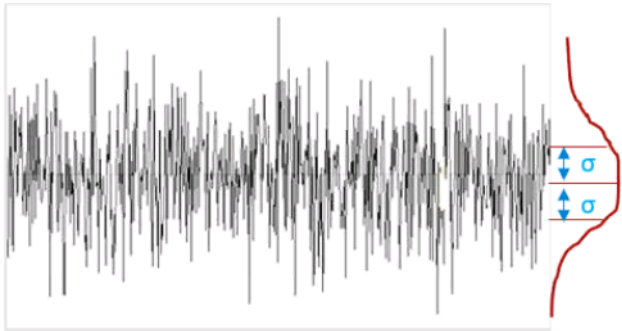
ASTM 噪音计算方法:

$$N_{\text{ASTM}} = \frac{\sum_{i=1}^n N}{n}$$

其中, N_{ASTM} 为基于 ASTM 方法的噪音。

如果选定的时间范围低于一分钟, 则 ASTM 噪声测定未完成。根据相应范围的不同, 如果选定的时间范围大于或等于一分钟, 则使用上述 ASTM 方法之一来测定噪声。在计算过程中, 至少使用每次循环的七个数据点。自动噪音测定中的循环重叠 10 %。

使用均方根 (RMS) 计算噪音



使用当前信号时间范围内的所有数据点来计算线性回归。

按以下公式计算噪音：

$$RMS = S$$

其中：

RMS	基于标准偏差方法的噪音
S	标准偏差

选定的时间范围内所有数据点的线性回归的标准偏差，线性函数为 $y(X) = a + bX$ ：

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - a - bX_i)^2}{N - 2}}$$

其中：

a	Y 截距
b	斜率
N	不连续观察的数量
X_i	自变量，第 i 个观察

信噪比的计算

OpenLab CDS 有各种信噪比计算选项。您可以选择算法和噪声范围。

6σ 或 RMS 方法

使用以下公式计算信噪比：

$$\text{信噪比} = \frac{\text{峰高}}{\text{指定范围的噪音}}$$

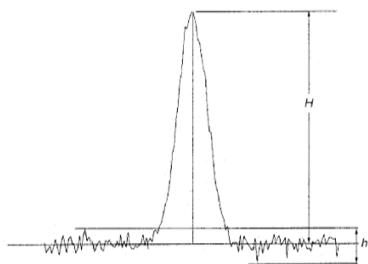


图 101 信噪比

峰-峰或 ASTM 方法

使用以下公式计算信噪比：

$$S/N = 2H/h$$

其中：

H

使用规定的参比溶液得到的色谱图中对应组分的峰高。

h

在进样或空白的色谱图中，观察等同于 20 倍的半峰高（使用规定的参比溶液得到的色谱图）距离的时间内相对于基线的最大噪声波动绝对值。根据欧洲药典的定义，根据空白参比信号和在待计算 S/N 信噪比的峰的时间范围内算得的噪音来计算信噪比。

噪音范围 可针对以下时间范围和信号计算噪音：

- 固定的时间范围，在同一信号或空白参比信号中
- 时间范围相对于峰开始或结束而言，在同一信号或空白参比信号中
- 自动确定时间区域，在空白参比信号中。

可根据以下算法之一计算自动确定的时间范围：

- 如果参比信号不够长
 $(EndTime - StartTime < 20 * W_{50})$
 - $StartTime = \text{开始时间 (参比信号)}$ ，和
 - $EndTime = \text{结束时间 (参比信号)}$
- 如果参比信号足够长，但是峰位置距开始时间太近
 $(t_R - 10 * W_{50} < \text{参比信号的开始时间})$
 - $StartTime = \text{开始时间 (参比信号)}$ ，和
 - $EndTime = StartTime + 20 * W_{50}$
- 如果参比信号足够长，但是峰位置距结束时间太近
 $(t_R + 10 * W_{50} > \text{参比信号的结束时间})$
 - $EndTime = \text{结束时间 (参比信号)}$ ，而
 - $StartTime = EndTime - 20 * W_{50}$
- 如果参比信号足够长，但是峰位置距参比信号的开始时间和结束时间过远
 $(t_R - 10 * W_{50} > starttime, t_R + 10 * W_{50} < endtime)$
 - $StartTime = t_R - 10 * W_{50}$ ，而
 - $EndTime = t_R + 10 * W_{50}$

其中

t_R 为保留时间，而

W_{50} 为半峰高的峰宽。

漂移和偏移

如果在处理方法中选择了**信噪比**，则计算漂移和偏移。无论选择何种噪音计算类型都要计算。

漂移 根据线性回归的斜率给定的漂移。首先通过使用时间范围内的所有数据点确定线性回归来计算漂移。从该时间范围内的所有数据点减去线性回归线，以提供已修正漂移的信号。

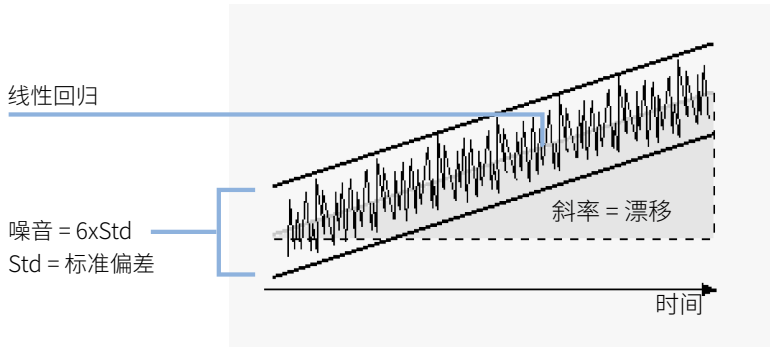


图 102 六倍标准偏差的噪声漂移

曲线公式：

$$y(x) = a + bX$$

其中：

- N 不连续观察的数量
- X_i 自变量，第 i 个观察
- Y_i 因变量，第 i 个观察

系数：

$$a = \frac{1}{\Delta X} \left(\sum_{i=1}^N X_i^2 * \sum_{i=1}^N Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i * \sum_{i=1}^N X_i Y_i \right) \right)$$
$$b = \frac{1}{\Delta X} \left(N * \sum_{i=1}^N X_i Y_i - \left(\sum_{i=1}^N X_i * \sum_{i=1}^N Y_i \right) \right)$$
$$\Delta X = N * \sum_{i=1}^N X_i^2 - \left(\sum_{i=1}^N X_i \right)^2$$

偏移 偏移根据 ASTM 噪音循环中的中间数据值的峰-峰噪声来确定，请参见第 167 页的 [用 6 倍标准偏差计算噪音](#)。

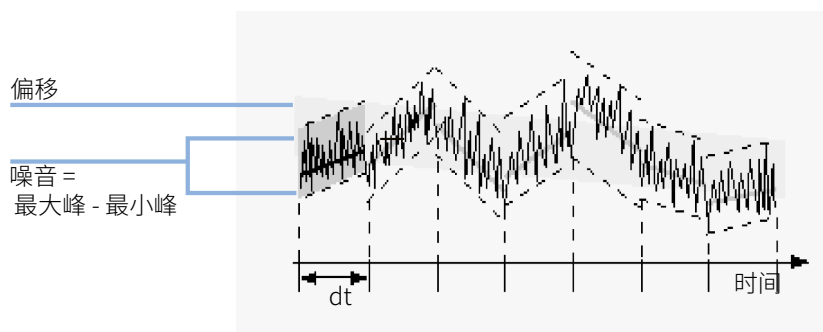


图 103 通过 ASTM 测得的噪声波动

计算峰的不对称性和对称性

不对称性 峰的不对称性是通过比较 10% 峰高处的半峰宽得出的：

$$A_s = \frac{W_{10}}{2W_{f,10}}$$

其中：

A_s 不对称性 10%

W_{10} 10% 峰高处的峰宽

$W_{f,10}$ 10% 峰高处的前半峰宽

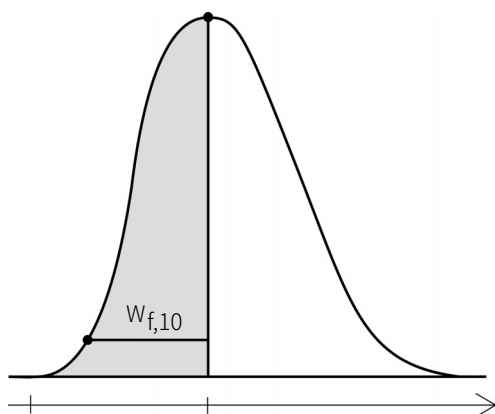


图 104 计算峰不对称性

对称性 在大多数药典中，峰的对称因子是通过比较 5% 处的半峰高得出的。在 OpenLab 中，该因子是作为拖尾因子计算和存储的（请见第 182 页的 [对称因子、拖尾因子 \(USP\) t](#)）。在 OpenLab 中，对称性是作为伪距，由积分器使用下列距式计算的：

$$m_1 = a_1 \left(t_2 + \frac{a_1}{1.5 H_f} \right)$$

$$m_2 = \frac{a_2^2}{0.5 H_f + 1.5 H_r}$$

$$m_3 = \frac{a_3^2}{0.5 H_r + 1.5 H_f}$$

$$m_4 = a_4 \left(t_3 + \frac{a_4}{1.5H_r} \right)$$
$$\text{Peak symmetry} = \sqrt{\frac{m_1 + m_2}{m_3 + m_4}}$$

如果未发现拐点，或只有一个拐点，则会以以下方式计算峰对称性：

$$\text{Peak symmetry} = \frac{a_1 + a_2}{a_3 + a_4}$$

其中：

- a_i 片段的面积
- t_i 片段的时间
- H_f 前拐点的高度
- H_r 后拐点的高度
- H 顶点处的峰高

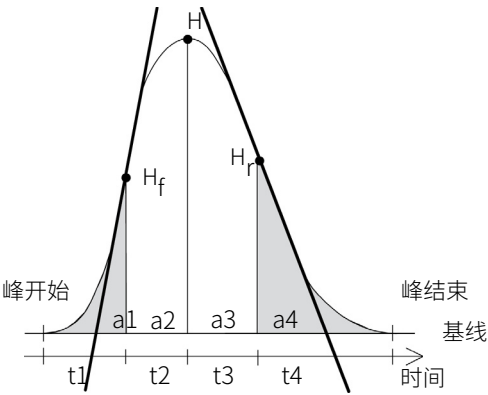


图 105 峰对称因子计算

系统适用性公式和计算

以下公式用于获取各种系统适应性测试的结果。结果是使用**性能+噪音**和**扩展性能**报告来报告的。

如果为某一给定的定义指定了 ASTM 或 USP，则该定义与相应的参比中给定的定义相符。但是，此处所用的符号可能不同于参比中所用的符号。

本文中所用的参考资料为：

- ASTM：《ASTM 标准年度丛书》第 14.01 卷第 E 685 – 93 部分
- USP：美国药典，XX.，第 943 - 946 页
- EP：欧洲药典，第 7 版
- JP：日本药典，第 16 版

性能测试定义

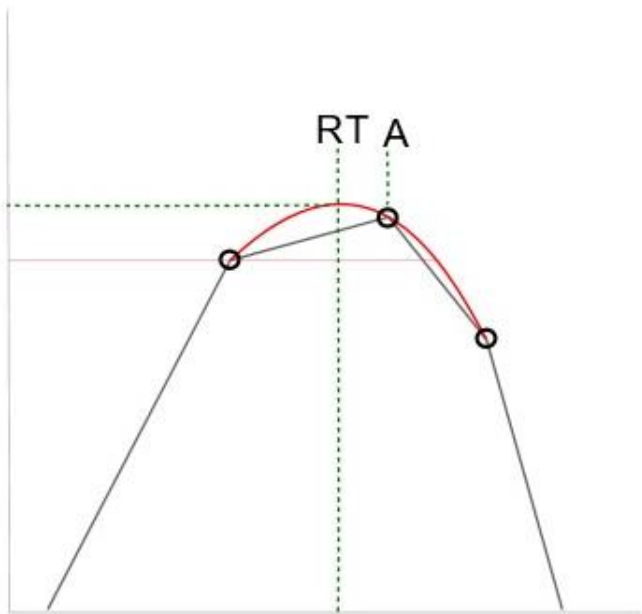
注意：用于性能测试的保留时间

可以为调用数据中任意已积分的峰或新增的手动积分峰计算其峰性能。应用程序利用内部计算的峰模型保留时间计算峰特征和色谱柱性能。可能会因进样结果、色谱图或报告中显示的保留时间不同而略有不同。可以报告峰模型保留时间（请参阅报告帮助中的系统适用性使用的数据字段，或搜索**峰模型保留时间**）。

注意

请注意，下图中描绘的通过峰积分器确定的保留时间 (RT) 不一定与最高数据点有关联。保留时间通常使用抛物线插值模型计算。这意味着，保留时间 RT 可能小于或大于最高数据点的保留时间，并且高度也可能高于或低于最高数据点。

峰模型保留时间是通过信号平滑来计算的，目的是避免噪音干扰。在此之后，会确定距离峰的 RT 最近的最高数据点。该数据点的 RT 将用作峰模型保留时间。



其中：

- RT 进样结果中显示的保留时间
- A 用于性能计算的峰模型保留时间

性能测试概述

表 9 OpenLab CDS 药典值

USP	EP	JP	定义	进样结果中 的列名称	报告中使用的字段的 列名称
对称因子或 拖尾因子	对称因子	对称因子	$S = \frac{W_5}{2f}$	拖尾	峰_拖尾因子
分离因子	-	分离因子	$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{t_{R2}-t_0}{t_{R1}-t_0}$	选择性	峰_选择性
相对保留	相对保留	-	使用 RRT 化合物： $\frac{RT_{peak}-t_0}{RT_{ref}-t_0}$	RRT EP	峰_相对保留时间_EP
相对保留时 间 (RRT)	未调整的相 对保留时间	未调整的 相对保留 时间	使用 RRT 化合物 $\frac{RT_{peak}}{RT_{ref}}$	RRT	峰_相对保留时间
-	分离度	分离度	$Rs = 1.18 \cdot \frac{t_{R2}-t_{R1}}{W_{50(1)}+W_{50(2)}}$	EP 分离度 JP 分离度	峰_分离度_EP 峰_分离度_JP
分离度	-	-	$R = 2 \cdot \frac{t_{R2}-t_{R1}}{W_{t(2)}+W_{t(1)}}$	USP 分离度	峰_分离度_USP
理论塔板数 (效率)	-	-	$n = 16 \left(\frac{t_R}{W_t} \right)^2$	USP 塔板数	峰_理论塔板数_USP
-	塔板数 (效率)	塔板数 (效率)	$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{50}} \right)^2$	EP 塔板数 JP 塔板数	峰_理论塔板数_EP 峰_理论塔板数_JP
信噪比	信噪比	信噪比	使用 P2P 或 ASTM 噪音 计算： $\frac{S}{N} = \frac{2H}{h}$ 使用 6SD 或 RMS 噪音计 算： $\frac{S}{N} = \frac{H}{h}$	S/N	峰_信噪比
峰谷比	峰谷比	峰谷比	$\frac{p}{v} = \frac{H_p}{H_v}$	p/v 比	峰_峰谷比

真实峰宽 W_x [min]

W_x = 总 $x\%$ 峰高处的峰宽

其中：

W_t	切线峰宽， 4δ ，通过切线与基线的拐点相交而得出
$W_{4.4}$	4.4% 峰高处的峰宽（ 5δ 峰宽）
W_5	5% 峰高处的峰宽（拖尾峰宽），用于 USP 拖尾因子
W_{10}	10% 峰高处的峰宽
W_{50}	50% 峰高处的峰宽（真实半峰高峰宽或 2.35δ ）

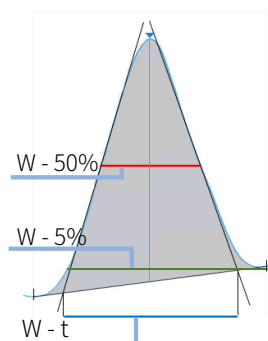


图 106 $x\%$ 峰高处的峰宽

容量因子 (USP)，容量比率 (ASTM) k'

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

其中：

t_R	峰的保留时间 [min]
t_0	死时间 [min]（与在处理方法中提供的一样）

对称因子、拖尾因子 (USP) t

注意

对称因子 (USP, EP, JP) 与拖尾因子 (USP) 相同。在智能报告中都可用，表示为“峰_拖尾因子”。另请参见第 180 页的表 9。

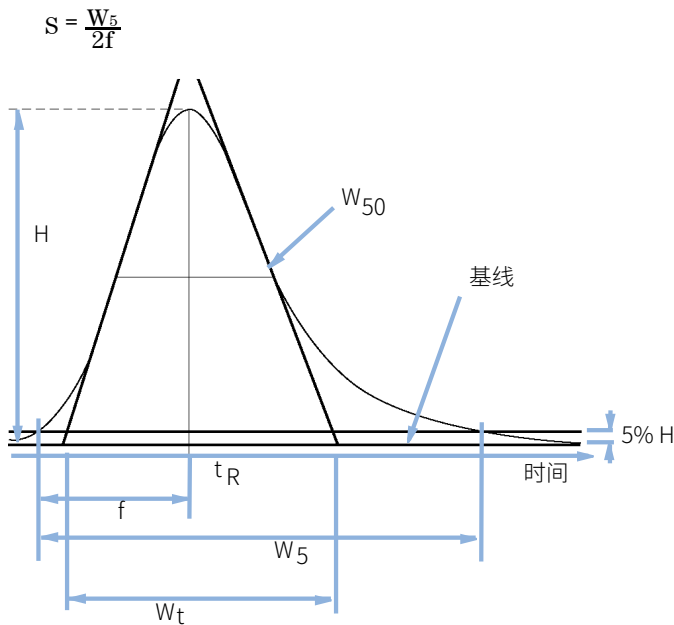


图 107 性能参数

S	对称因子、拖尾因子 (USP)
H	峰高
t _R	保留时间
f	前伸峰和 t _R 之间的最短距离（测量值为峰高的 5%）
W ₅₀	50% 峰高处的峰宽 [min]
W ₅	5% 峰高处的峰宽 [min]
W _t	切线峰宽

每个色谱柱的理论塔板数 (USP)

切线法 (USP、ASTM) :

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{W_t} \right)^2$$

其中:

t_R 保留时间

W_t 切线宽度 (min)

半峰宽法 (ASTM、EP、JP):

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{50}} \right)^2$$

其中:

t_R 保留时间

W_{50} 半峰高处的峰宽 [min]

每米的理论塔板数 N [1-m]

$$N = 100 \cdot \frac{n}{l}$$

其中:

n 理论塔板数

l 色谱柱长度 [cm] (与在处理方法中提供的一样)

相对保留，选择性

选择性 选择性计算除第一个信号峰外的所有信号峰的 alpha 值。对于每对相邻的峰（峰 1 和 2，峰 1 的 t_R<峰 2 的 t_R，选择性的计算如下：

$$\alpha = \frac{k'_{\prime 2}}{k'_{\prime 1}} = \frac{t_{R2}-t_0}{t_{R1}-t_0}, \alpha > 1$$

其中：

$$k'_{(x)} \hspace{10em} \text{峰 x 的容量因子: } (t_{Rx}-t_0)/t_0$$

相对保留 (EP) 仅在定义和识别了 RRT 参比峰的情况下，才能计算 RRT (EP)。如果峰值位于 RRT 参比的左侧，则 **Alpha** 值小于 1；如果峰值位于 RRT 参比的右侧，则 alpha 值大于 1。

$$\frac{RT_{peak}-t_0}{RT_{ref}-t_0}$$

分离度（USP、ASTM） R

切线方法（与峰 1 和 峰 2 有关，峰 1 的 t_R<峰 2 的 t_R； t_R 以 min 为单位）

$$R = 2 \cdot \frac{t_{R2}-t_{R1}}{W_{t(2)}+W_{t(1)}}$$

其中：

$$t_R \hspace{10em} \text{保留时间}$$

$$W_t \hspace{10em} \text{切线宽度 (min)}$$

分离度 (EP/JP) R_s

分离度 (JP) 和分离度 (EP) 是使用半峰高方法得出的（性能报告中使用的分离度）：

$$R_s = 1.18 \cdot \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{50(1)} + W_{50(2)}}$$

其中：

t_R 保留时间

W_{50} 半峰高处的峰宽 [min]

峰谷比 (EP/JP)

计算的峰谷比（进样结果中的 **p/v 比**）表示峰分离的质量。该数值使用欧洲药典和日本药典（EP、JP）计算得出。

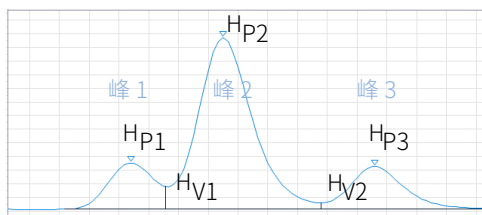
注意

该数值与您在高级积分参数中设置的峰谷比不同！

该峰谷比计算的是由峰谷分离的峰：

$PV = \text{峰高} / \text{峰谷峰高}$

如果是峰的左侧和右侧峰谷，则峰谷比计算的是前伸峰和拖尾峰的值。将显示最小峰谷比。



对于峰 1：

$$PV = \frac{H_{P1}}{H_{V1}}$$

对于峰 2：

$$PV_F = \frac{H_{P2}}{H_{V1}}$$
$$PV_T = \frac{H_{P2}}{H_{V2}}$$
$$PV = \text{Min}(PV_F, PV_T)$$

对于峰 3：

$$PV = \frac{H_{P3}}{H_{V2}}$$

其中：

PV	峰谷比
PV _F	峰谷比，前伸峰
PV _T	峰谷比，拖尾峰
H _{Px}	峰 x 的高度
H _{Vx}	峰谷 x 的高度

如果一个峰有多个被峰谷分割的肩峰，则峰谷比计算的是每个肩峰。

峰谷的定义：

- 其高度和时间在两个连续的峰之间共享
- 其基线在两个连续的峰之间共享
- 绝对基线高度大于 10⁻⁵。

峰谷比计算通常使用绝对值。因此，即使一个或多个峰是负的，峰谷比也通常显示为正值。

注意

含有数据点过少的信号不计算峰谷比。

内容提要

本指南包含 Agilent OpenLab CDS 中使用的操作原理、计算和数据分析算法相关参考信息。此处包含的信息可供验证专业人员对系统验证任务进行计划和执行。

- 使用 ChemStation 算法积分
- 使用 EZChrom 算法积分
- 峰识别
- 校正
- 定量
- UV 光谱分析
- 质谱
- 系统适用性