

由图可见,本文提出的色谱条件,适合于分离 LH-RH 及其类似物,并具有良好的分辨率。

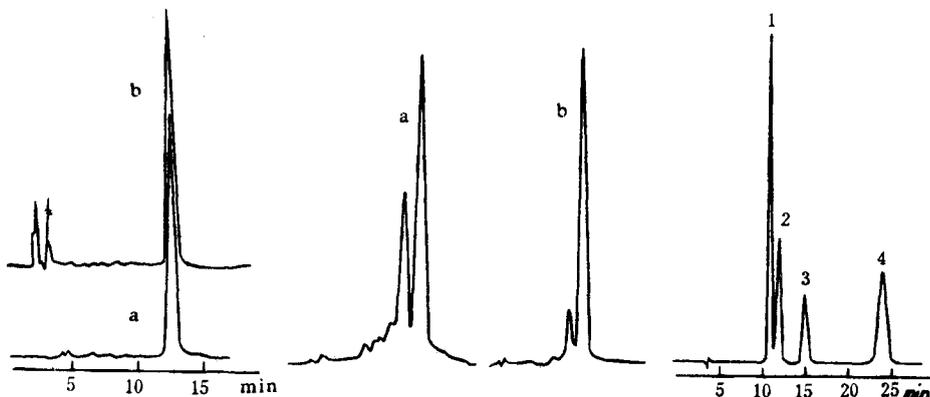


图3 LH-RH 纯品的色谱图 图4 纯化前(a)、后(b)的色谱图(流动相1,分析柱) 图5 LH-RH 及其类似物的色谱图  
a. 标准品, b. LH-RH 纯品, (流动相1).

本文报道的方法,快速,分离效率高,既可定量,又能纯化,与国外报道方法比较<sup>[6]</sup>,不需要经过脱盐步骤。因此,对生产的质量控制和研究 LH-RH 的类似物均有重要用途。

参 考 文 献

[1] 龚岳亭,生物化学与生物物理学报,9(1),1(1977).  
 [2] 葛麟俊等,生理科学进展,12(2),113(1981).  
 [3] W. S. Hancock et al., Science, 200(9),1168(1978).  
 [4] 华家桢,色谱,9(1),34(1991).  
 [5] J. River, J. Liq. Chromatogr., 1, 343(1978).  
 [6] J. River et al., J. Chromatogr., 288,303(1984).  
 (收稿日期:1991年8月18日,修回日期:1992年3月16日)

Xiaofen, Wei Yuanan\*, Jin Chengde and Fang Jinian\*  
 Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, 200031; \* Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica, 200031

A convenient method for the rapid and reproducible analysis as well as for the purification of LH-RH using reversed-phase HPLC has been established. A  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> or a semi-preparative column was used and detection was performed under UV at 214nm. Triethylamine phosphate-acetonitrile (83 : 17) for analytical purpose and 0.05% trifluoroacetic acid (TFA) aqueous solution-acetonitrile (82 : 18) for preparative purpose were employed as the mobile phases. The chromatographic behaviors of several analogs of LH-RH were also described.

The Analysis and Purification of Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LH-RH) by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Chen

## 卡尔曼滤波法分辨呋喃妥因和呋喃唑酮未分离液相色谱峰

张贞良 张智耀 张书润 邹其雄 陶伟

(广州四二一医院,510318)

高效液相色谱法对色谱峰进行定量分析时,通常需要测量峰高和峰面积,但有时由于未分离色谱峰(如重叠峰、肩峰等)的存在,使测得的数据产生较大偏差。卡尔曼滤波理论是解决这一难题的可靠方

法<sup>[1]</sup>,它是一种最佳滤波法,能滤除噪声与干扰,获得真实信号与参数估计值<sup>[2]</sup>,本文选取呋喃妥因和呋喃唑酮进行实验,结果表明用卡尔曼滤波法能定量分析未分离高效液相色谱峰,其分辨结果明显优

于色谱数据处理机。

### 实验与结果

#### (一) 样本的采集与处理

液相系统采用 YSB-2 型平流泵, K401 型 254 紫外检测器, 150mm × 56mm. d. 不锈钢色谱柱, 填料为十八烷基键合相, 流动相为甲醇-0.01mol/L 醋酸钠 (30:70), 流速为 1.1ml/min, 室温恒定在 25℃。

从高效液相色谱仪中输出的信号先经放大器进行放大, 放大器用 LM741 制成, 采用二级反相放大。放大后的信号经 12 位数/模、模/数转换卡进行模/数转换后输入计算机内存, 转换分辨率为 2.2 毫伏<sup>(3)</sup>。所用计算机为 IBM PC-XT 兼容机。

程序采用 BASIC 语言编制, 并经编译以提高运算速度, 由采样、平滑处理、出峰时间校正及卡尔曼滤波等子程序组成。卡尔曼滤波程序按参考文献[4]编成, 系数矩阵由浓度为 0.25mg/ml 的咪喃妥因和咪喃唑酮单独进样而获得。

#### (二) 实验结果

图 1 为咪喃妥因和咪喃唑酮及其混合液相图谱, 2a 和 2b 分别是咪喃妥因和咪喃唑酮的色谱图, 保留时间分别为 133s 和 142s, 2c 为 1:1 混合样品的色谱图, 其相交峰峰谷部分的高度为平均峰高的 60%, 2d 和 2e 分别为 0.2:1 和 1:0.2 混合样的色谱图, 其中 1:0.2 混合样两个峰完全重叠, 用色谱数据处理机处理时只能得到一个峰的数据。

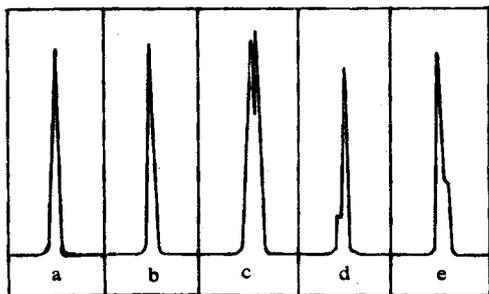


图 1 液相色谱图

a. 0.25mg/ml 咪喃妥因, b. 0.25mg/ml 咪喃唑酮, c. 1:1 混合液, d. 0.2:1 混合液, e. 1:0.2 混合液。

用卡尔曼滤波法与 CDMC-2A 数据处理机进行比较实验, 混合液的比例分别为 1:1, 1:0.8, 1:0.6, 1:0.4, 1:0.2 和 1:1, 0.8:1, 0.6:1, 0.4:1, 0.2:1, 用卡尔曼滤波法获得的咪喃妥因标准曲线 ( $Y = 0.0130 + 0.9770X, y = 0.9998$ ) 明显优于用数据处理机获得的标准曲线 ( $Y = -0.0148 + 0.6724X, y = 0.9981$ ); 用卡尔曼滤波法获得的咪喃唑酮标准曲线也很满意 ( $Y = 0.0810 + 0.9852X, y = 0.9976$ ), 而

用数据处理机分辨时, 由于 1:0.2 混合样的咪喃唑酮峰与咪喃妥因峰完全重叠, 故而无法得到标准曲线。

表 1 回收率结果

浓度 * (%)	卡尔曼滤波法		CDMC-2A 数据处理机		
	平均回收率	标准差	平均回收率	标准差	
咪喃	80	79.85	0.525	77.21	0.570
妥因	40	40.10	0.436	38.31	0.669
	20	19.34	0.505	18.42	0.748
	10	10.52	0.577	8.62	0.792
咪喃	80	79.64	0.608	78.23	0.741
唑酮	40	40.32	0.475	37.10	0.688
	20	20.01	0.524	n. d.	n. d.
	10	9.88	0.693	n. d.	n. d.

\* 测定时另一组分的含量保持恒定 (0.25mg/ml), n. d. = 不能检出, 测定次数  $n = 3$ 。

表 1 为回收率结果, 实验条件与上述相同, 可见虽然用数据处理机获得的标准曲线线性好, 但其测得值与实验结果有相当大的偏差, 尤其在低浓度时。

### 讨 论

(一) CDMC-2A 数据处理机在峰形对称时分辨率很好, 当色谱峰拖尾严重时, 则产生较大误差; 当出现重叠峰和肩峰时, 数据处理机就往往失效。本文表明, 用卡尔曼滤波法进行色谱峰的分辨, 不需获得分离的色谱峰, 结果稳定可靠, 且能做到实时分析。由于占用很少计算机内存, 因此适用于普通 PC 计算机联机自动分析。

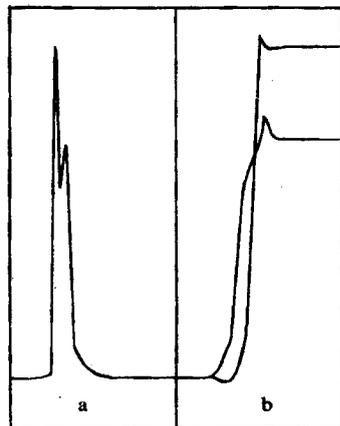


图 2 1:0.6 混合液色谱图 (a) 和卡尔曼滤波法滤波趋势图 (b)

(二) 为消除进样与计算机采样之间的时间差, 我们采用咪喃妥因出峰时间作为使二者同步的标准, 从而使进样和采样开始时间对实验结果基本无

影响。图2为卡尔曼滤波趋势图,由图中可见,至咪唑啉酮出峰时,滤波值已趋于恒定。

参 考 文 献

- (1) Y. Hayashi et al., J. Chromatogr. 407,65(1987).
- (2) 王士元,吴芝芳,《IBM PC-XT(长城0520)接口技术及其应用》,南开大学出版社,天津,P. 572,1990.
- (3) 李连良等,分析化学,18(6),588(1990).
- (4) 罗国安、王义明,药物分析杂志,6(5),316(1986).

(收稿日期:1991年6月18日,修回日期:10月30日)

**Resolution of Unresolved Liquid Chromatographic Peaks of Nitrofurantoin and Furaltadone by the Kalman Filter** Zhang Zhenliang, Zhang Zhuyao, Zhang Shurun, Zhou

Qixiong and Tao Wei, Guangzhou 421 Hospital, 510318

This paper presents the resolution of unresolved liquid chromatographic peaks of nitrofurantoin and furaltadone by Kalman filter. The calibration curve of nitrofurantoin obtained by the Kalman filter (the slope,  $A = 0.0130$ ; the intercept,  $B = 0.9770$  and  $\gamma = 0.9998$ ) is much better than that from CDMC-2A recorder ( $A = 0.0148, B = 0.6724, \gamma = 0.9981$ ). The calibration curve of furaltadone obtained by the Kalman filter is also satisfactory ( $A = 0.0810, B = 0.9852, \gamma = 0.9976$ ), but that could not be obtained by the CDMC-2A recorder because of the disappearance of the valley at low concentration.

## HP 1090M 在蛋白质纯度分析中的应用

何光耀 徐志文

(中山医科大学中心实验室,广州,510089)

众所周知,采用电泳法对蛋白质的纯化组分作纯度分析既费时又费力,而采用高效液相色谱法较为方便<sup>[1]</sup>。现将我们采用(HP 1090M)高效液相色谱仪,对我校研究的K-银环蛇毒素进行的纯度分析作一简要介绍。

### 实验部分

#### (一) 仪 器

HP 1090M 高效液相色谱仪。

#### (二) 试 样

K-银环蛇毒素。蛇毒组分分离采用常压阳离子交换柱层析,经两次柱层析分离,获得具有神经节阻

断作用的活性 $\alpha$ -毒素组分(Fra. VII-3),按80 $\mu$ g/ml的浓度在HP 1090M 高效液相色谱仪上作纯度分析,进样量为20 $\mu$ l。

#### (三) 方 法

(1)选择合适的色谱分离条件,将样品组分分离。根据预实验的结果,采用 ODS 4.6mm i. d.  $\times$  100mm, 5 $\mu$ , C<sub>18</sub>快速分析柱(填料为美国 HYPERSIL 公司产),用超纯水作流动相,流速0.5ml/min<sup>[2]</sup>,试样在HP 1090M 上能得到满意的分离效果。通过最佳检测波长的选择,在紫外200nm 处可得到理想的色谱图(见图1)。

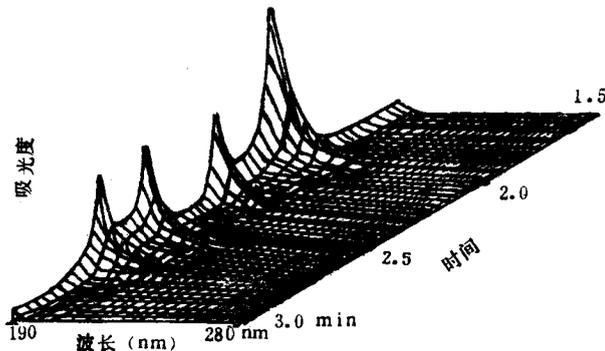


图1 预实验的试样三维谱图