

归一法定量的原理和注意事项

谯应召

(山东化工研究院, 山东 济南 250014)

摘要: 归一化法是为常用的色谱定量方法, 因其操作方法简便、获得数据报告速度较快的优点, 在石油化工、普通化工、医药生产等行业的过程产物监测和产品分析等场合下得到广泛的应用。但是采用归一法定量(包括面积归一化法和校正面积归一化法)时, 需要对谱图的分离情况和相应强度进行整体综合考量, 否则不容易获得准确度和精密度良好的分析结果。

关键词: 归一化法; 色谱

1 归一法定量的基本原理

色谱法定量的基本原理——在一定范围内, 待测物质的质量与该物质色谱峰的峰面积(或者峰高)成正比, 如式 1-1 所示(以待测物质质量为例):

$$m = f * A \quad (1-1)$$

式中 m —— 样品质量;

f —— 校正因子;

A —— 峰面积。

例如某待测样品中总共含有四种物质(物质 a、b、c、d), 在某色谱分析条件下获得色谱数据, 如图 1 所示:

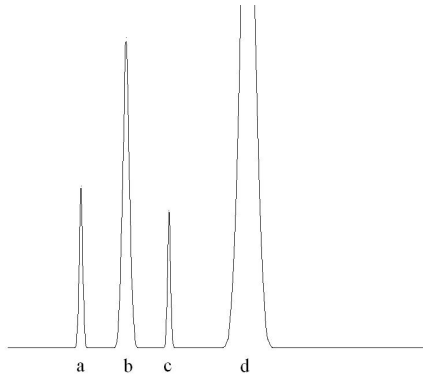


图 1 某样品色谱图

那么某种物质在该样品中的质量百分比含量即为：

$$W_i = \frac{f_i * A_i}{\sum f_i * A_i} \quad (1-2)$$

式 (1.2) 即为校正面积归一化法的定量公式。

当采用校正面积归一化法定量时，需要事先获得样品中所有组分的校正因子 f_i ——一般需要通过实验测定或者通过文献检索获得。

基于色谱定量的基本原理式 (1-1)，可以得知校正因子（以质量校正因子为例）为样品质量与峰面积的比值，如式 (1-3)。色谱工作者需要使用标准样品进样测定之后，根据标准样品的质量与峰面积的比值计算目标物质的绝对校正因子 f 。

$$f = \frac{m}{A} \quad (1-3)$$

显然在处理复杂样品分析时，实验员的工作量会比较大。另外部分情况下无法获得全部出峰组分的标准样品——某些组分甚至可能是未知物质。

某些化学结构类似的物质具有数值接近的校正因子，当色谱工作者采用归一化法进行此类样品定量时，可以假定所有组分的校正因子均相同（例如令所有组分的校正因子 $f_i = 1$ ），那么某组分在样品中的质量分数可以表示为式 1-4.

$$W_i = \frac{A_i}{\sum A_i} \quad (1-4)$$

此即为面积归一化法，是校正归一化法的特例。

实际的分析工作中，较难满足所有组分校正因子均相同这一条件。所以面积归一化法的分析准确度不太高，但操作简易、定量结果对进样体积重复性要求较低、对实验室的仪器硬件和操作人员水平要求不高。面积归一化法在化工分析中较为常见，例如石化行业采用 fid 检测器定量烃类的面积归一计算结果，比较接近质量百分比浓度。

2 归一化法定量对样品的要求

可以采用归一化法的待测样品中的全部组分应当在检测器上均可出峰，或者除去溶剂或者已知含量的组分之外的物质均可出峰。

例如需要测定某固体样品的纯度，需要使用溶剂溶解样品，归一化定量时需要扣除溶剂峰面积。使用 FID 检测含水有机物时，因为水一般情况下在 FID 检测器上不能出峰，定量时需要扣除水含量再进行归一化计算。

归一化法常用于常量分析，气相色谱的 FID 和 TCD 检测器是较为常见，其定量上限可以达到 100%。ECD、FTD、FPD 等选择性检测器，一般不会使用归一化法定量。

3 归一化法定量的准确性和重复性

3.1 线性范围

采用归一化法定量时，首先需要考虑的是分析方法的线性范围。

归一化法常用于化工产品的纯度分析，要求对于接近 100%含量的主成分和百万分之一左右的杂质同样可以准确定量，那么就要求分析方法需要有较大的线性范围。

如果样品进样量过低，可能会造成杂质峰强度过低而难以检出，从而造成主峰归一化定量结果偏高，如图 2 所示。

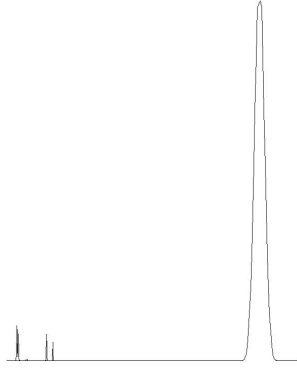


图2 进样量过低

如果样品进样量过大，可能会造成主峰超载——色谱峰往往表现为平顶或者圆顶，或者说色谱峰高超出检测器的线性响应范围，此时归一化定量结果主峰含量会偏低，如图3所示。

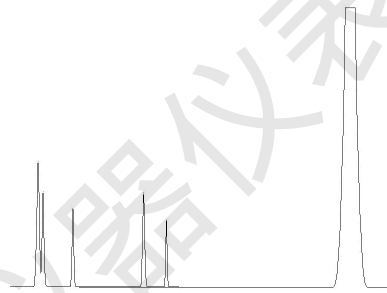


图3 进样量过高

当使用线性范围较窄的模拟信号工作站时，获得平顶峰是超载的标志。但是现今实验室常见的色谱仪，较多使用了宽量程检测器和辅助的数学处理技术，不容易观察到平顶峰，即使检测器已经出现过载。

这种情况下需要对色谱图中的每个色谱峰进行仔细比对，考察是否存在线性范围问题。

下面举例说明：某样品两次进样的面积归一含量差距较大。考察两色谱图时，以某杂质峰的强度为基准，将两次进样的谱图进行缩放比较，考察发现两数据主峰强度不同，虽然主峰并没有出现平顶或者圆顶的现象，怀疑存在主峰超出线性范围问题。

降低进样量再次进行实验，结果重复性良好。

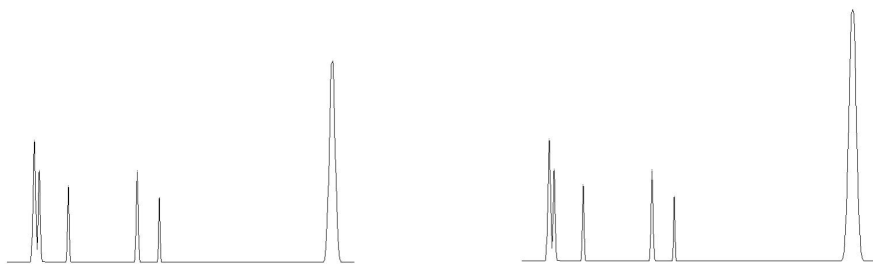


图 4 两次进样谱图的比较

3.2 积分准确性

此外需要注意色谱图的积分问题，采用归一法定量时，色谱图的总峰面积的积分需要准确。

色谱工作者在化工分析中经常会获得较为复杂的色谱图，分析的目的往往是某种或者某几种组分的含量，只要保证目标组分色谱峰积分正确，同时杂质色谱峰总面积和全体色谱峰总面积正确即可。如图 5 所示，2.5min 左右的杂质峰积分只需要总体面积准确即可。

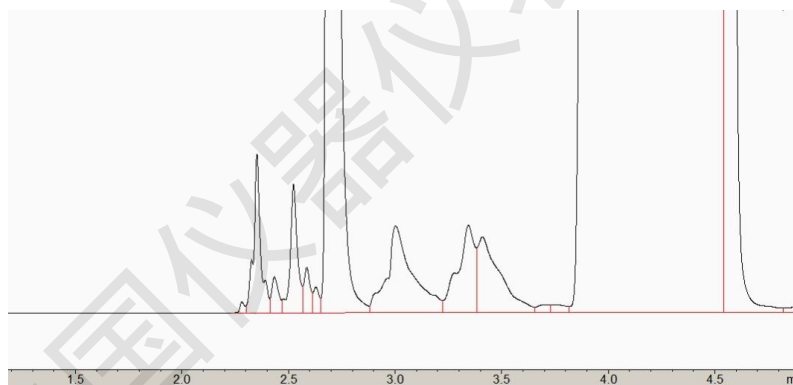


图 5 范例色谱图

尽量避免采用峰谷连线方式积分，此方式会导致总峰面积偏低，从而影响归一化结果的准确，如图 6 所示。

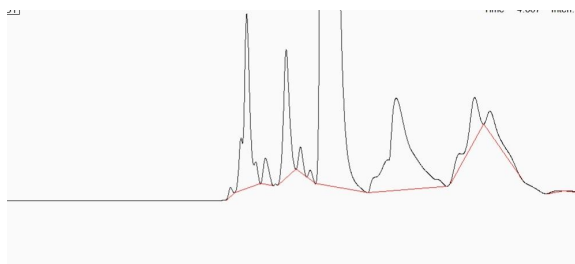


图 6 峰谷联系方式积分

3.3 谱图失真问题

气相色谱方法使用归一化法，一般用于分流方式下采集数据，如果样品组成复杂，各组分沸点分布范围较宽，那么较为容易产生分流歧视问题，即样品失真。

此外由进样方式或者进样技术问题，也会导致样品歧视的问题。

3.4 定量结果的精密度

与常规的分析方法不同，面积归一的定量结果精密度要求较高。

例如常规的外标或者内标定量方法，连续测定中峰面积或者定量结果数值的相对标准偏差在 1%附近，一般认为定量精密度尚可。

但是面积归一定量结果实际评价的是各个色谱峰之间的总体对应关系，并不关注组分峰面积的重复性，在化工分析的实际工作中，结果精密度的控制往往会远小于 1%。

尤其是精细化工产品成品的分析，归一化含量 99.6%的和含量 99.3%的产品售价会相差较大，如果成品的连续两次分析出现上述的结果，此结果是会被认为有问题的。