

# 岛津液相色谱操作培训

## ---定量基础知识

岛津国际贸易（上海）有限公司

分析中心

# 第一部分

## 定量基础知识

# 定量分析的基本要求

- ➡ 需要有纯物质作标准
- ➡ 被定量组分峰要与其它峰达到基线分离
- ➡ 符合定性参数要求
- ➡ 选择合适的定量方法

# 定性方法

## ➡ 色谱峰的定性鉴别

- ☞ 通过保留值 (通常是保留时间) 进行定性
- ☞ 需要指定保留时间误差范围 (时间窗、时间带)

## ➡ 在相同的分析条件下

- ☞ 保留时间相同并不肯定是同样的组份
- ☞ 保留时间不同肯定不是同样的组份

# 定性确证

☞ 仅仅通过保留时间并不能完全确证该物质

☞ 通过加入标准物确认

☞ 通过改变色谱条件确认

☞ 光谱和质谱信息也可以作为进一步确证手段

☞ 其他仪器方法确证

# 定量分析基本公式

在某些条件限定下，被测组分的浓度与检测器的响应值成正比的关系。

$$C_i = f_i A_i$$

$$C_i = f_i H_i$$

$C_i$ : 组分浓度,

$f_i$ : 响应因子, 与组分的物理化学性质和检测器的性质有关

$A_i$ : 组分响应面积

$H_i$ : 组分响应高度

实际修饰公式:  $Y = aX + b$

# 常用定量方法

- ➡ 面积归一化
- ➡ 外标法
- ➡ 内标法

# 面积归一化法

不能作为准确定量的方法，仅在特定情况下使用

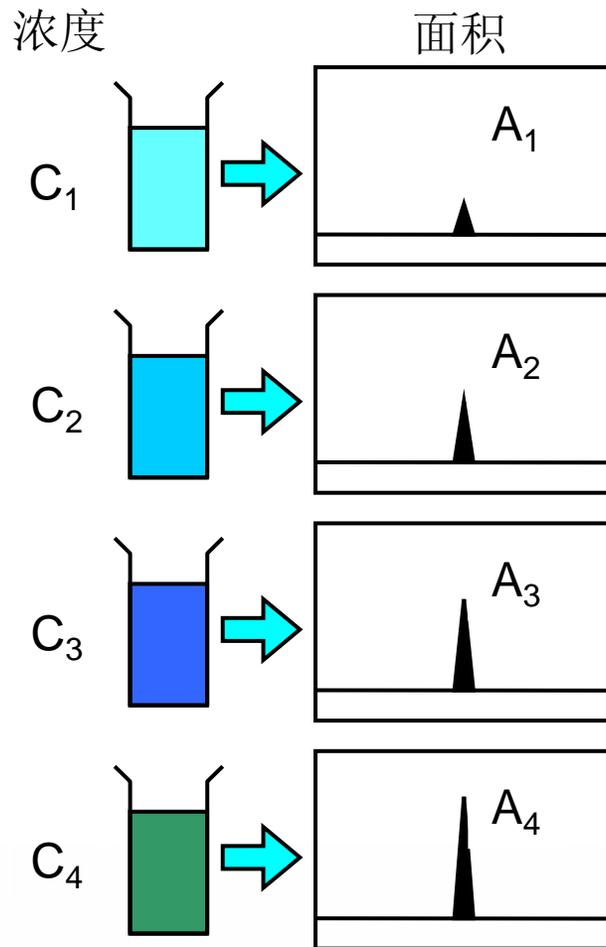
公式：

$$C_i \% = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100 \%$$

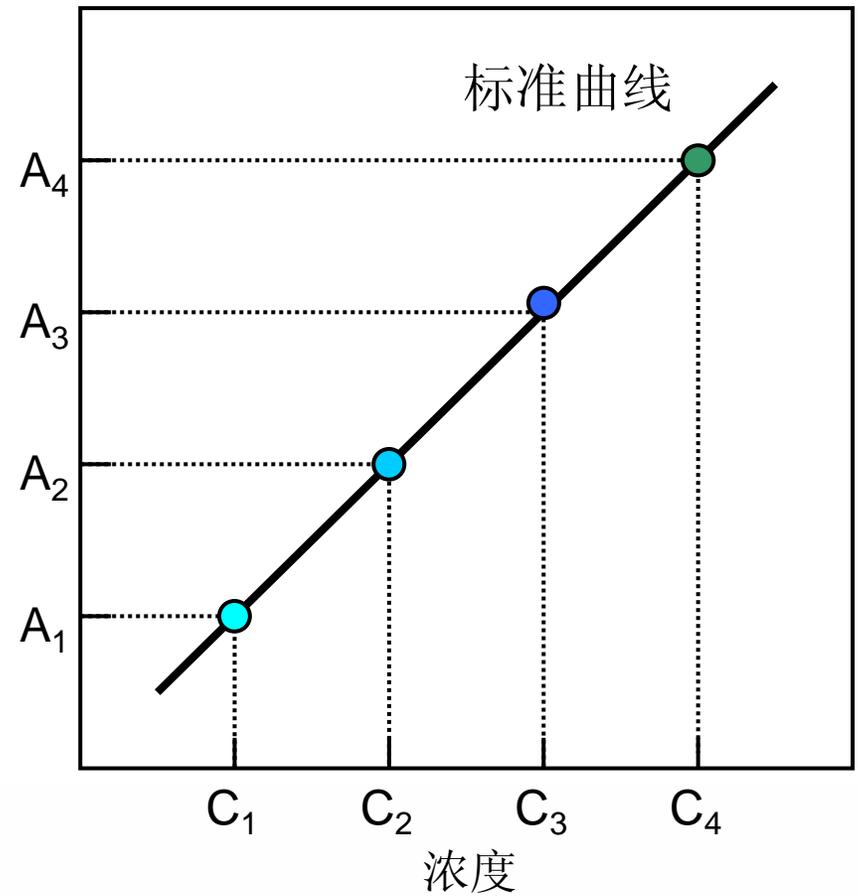
特点：

- 1) 无需做校正，简便，快速
- 2) 进样量不严格要求
- 3) 要求所有组分都流出并且被检测到
- 4) 要求所有组分的响应因子相当

# 外标法



峰面积



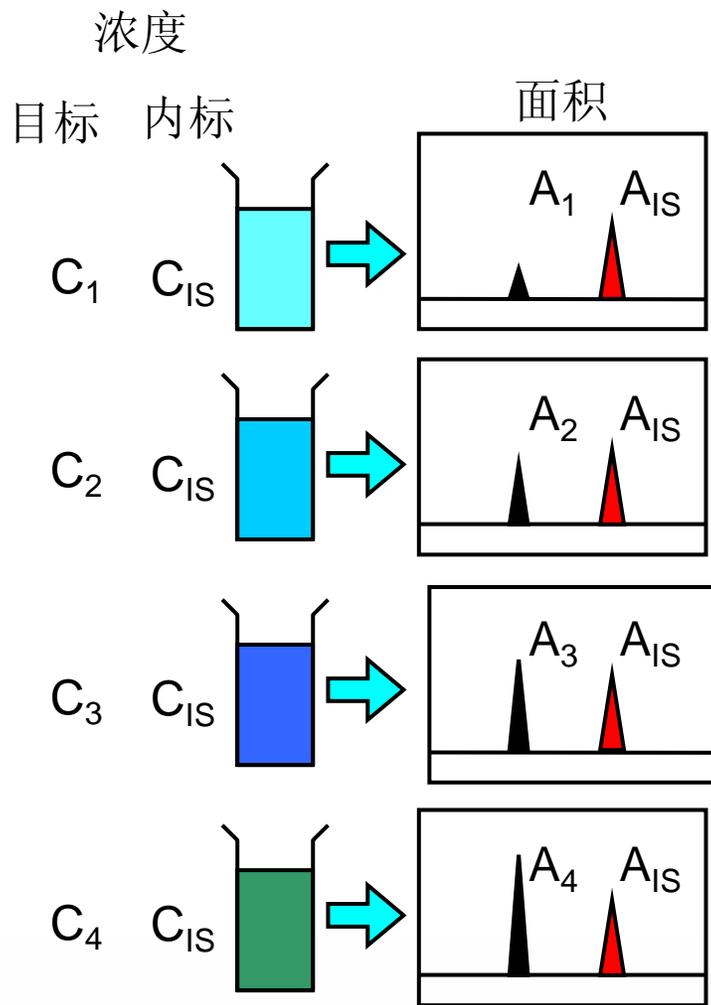
# 外标法特点

是实验室最常用的定量方法，定量结果准确

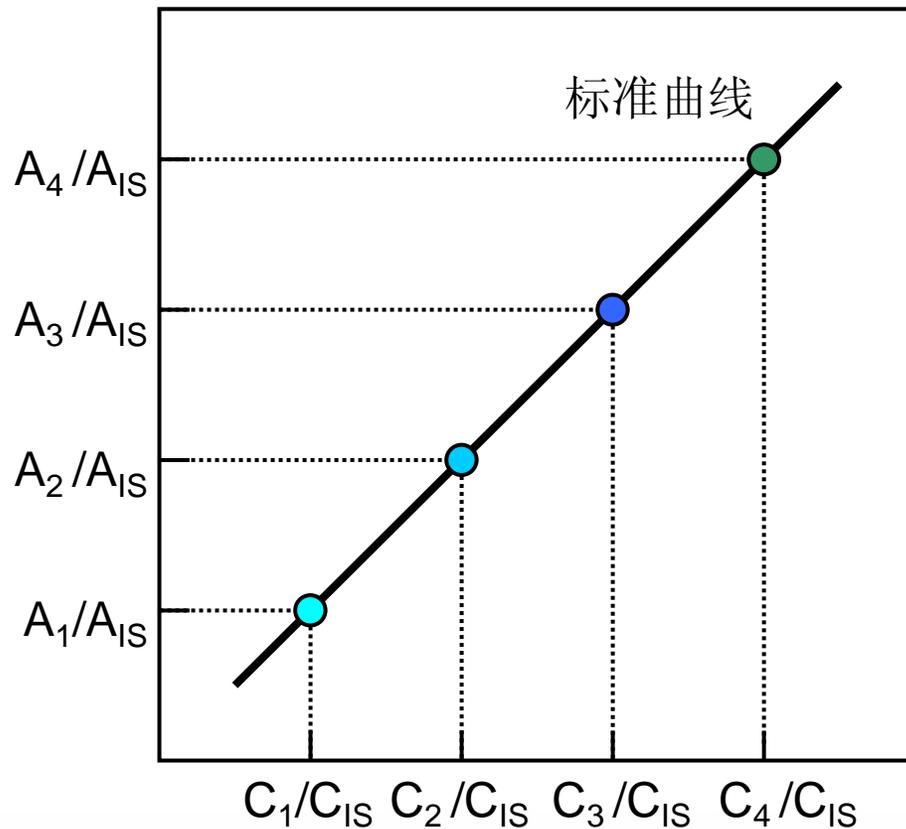
特点：

- 1) 不需所有峰都流出或被检测到，只对目标组分作校正
- 2) 需要标准样品
- 3) 进样量必须准确
- 4) 仪器必须有良好的稳定性

# 内标法



面积比: 目标 / 内标



浓度比: 目标 / 内标

# 内标法特点

多用在国际标准和规定比较严格的方法中

特点：

- 1) 进样量不严格要求
- 2) 只对所测组分作校正
- 3) 必须在样品中加一内标组分
- 4) 操作较为繁琐
- 5) 选择内标物比较困难

# 选择内标物应注意

- 理化性质与待测物相近
- 在样品中不存在且不与样品中组分发生化学反应
- 内标物与待测物响应相近
- 与待测物有良好的分离，但又不能相距太远
- 与待测物的峰面积比为0.7-1.3最好，因此要根据待测物的浓度确定内标物的添加量

## 第二部分

# 工作站相关知识

# 定量计算常用术语

- ➡ Integration parameters : 积分参数, 规定计算出峰面积的方法。
- ➡ Channel : 通道, 指检测波长或选定要定量计算的波长
- ➡ Quantification method: 定量方法, 选择定量方法(外标法,内标法等)
- ➡ Curve fit Type: 曲线拟合类型, 包括线性、二次方程等
- ➡ Compound table: 化合物表, 定义要进行定量计算的组分, 其中包括定性和定量参数。
  - ☞ Type: 组分类型, 指组分的分析类别
    - Target: 要计算的目标组分
    - ISTD: 指该组分为添加的内标组分
    - Reference: 指该组分为参比组分, 用来对目标组分进行确认
    - ISTD&Ref.: 指该组分既是内标组分, 又是参比组分
  - ☞ Conc.: 浓度, 指目标组分的计算结果

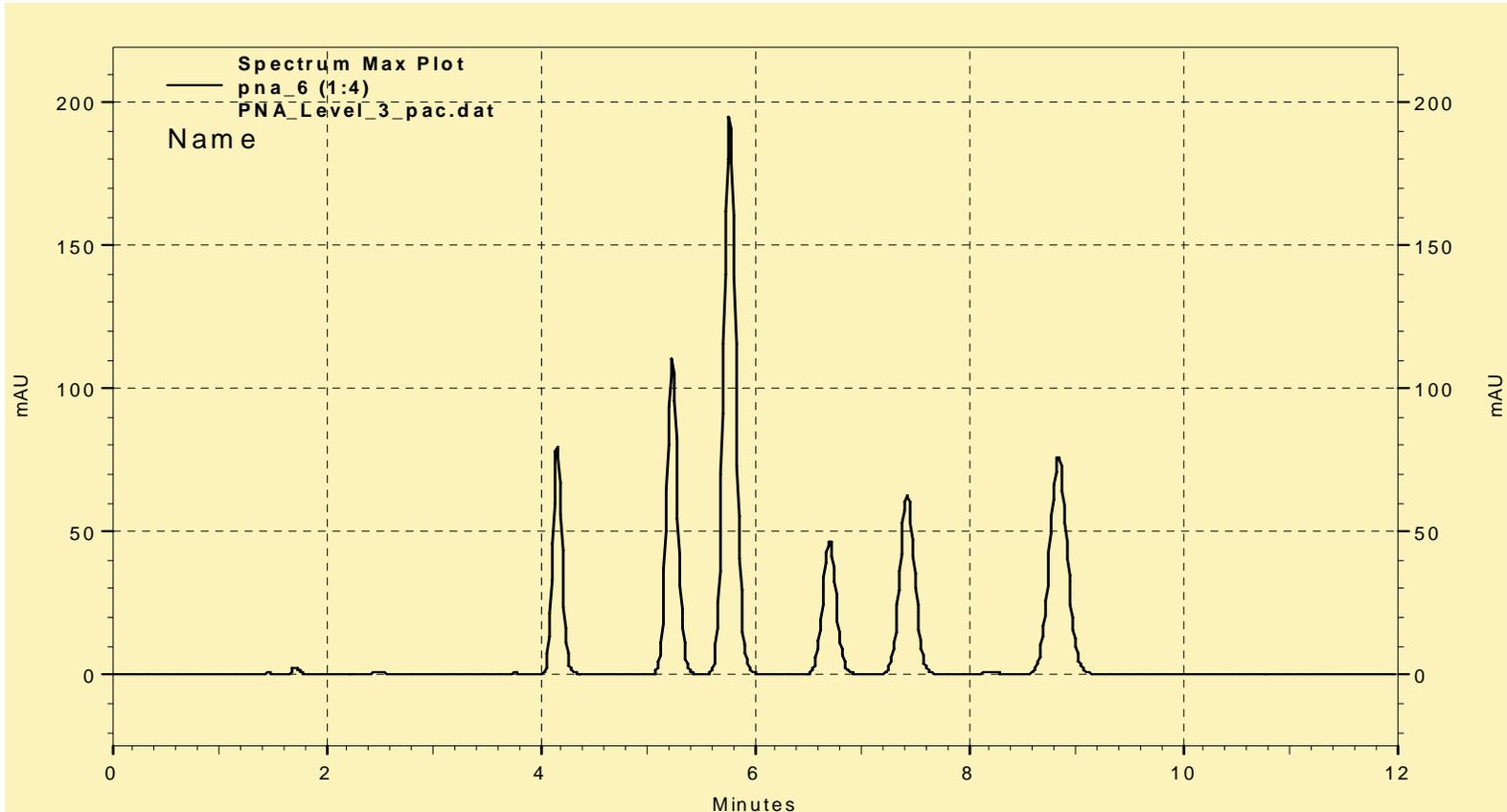
# 定量计算常用术语

- ➡ **Sample Type:** 样品类型，规定该数据的计算类别
  - ☞ **Standard:** 标样，浓度已知的标准品，用来制作标准曲线
  - ☞ **Unknown:** 未知样，浓度待测的目标组分，
- ➡ **Sample Amt.:** 样品量，待测样品的原始称样量，在计算结果中会除以该数值
- ➡ **Dil. Factor:** 稀释因子,待测样品的稀释倍数，在计算结果中会乘以该数值
- ➡ **ISTD Amt.:** 内标量，内标组分的添加量
- ➡ **Level:** 样品浓度水平，规定数据的浓度级别，Unknown为0，  
Standard为整数，浓度由低到高依次为1、2、3、4、5... ..
- ➡ **Peak Table:** 峰表，所有积分结果的列表

# 数据处理参数

- ➡ 积分参数：（Width, Slope, Drift, T.DBL等）
- ➡ 定性参数：保留时间及允许误差（时间窗，时间带）
- ➡ 定量参数：
  - ☞ 定量方法：外标法、内标法、面积归一法等
  - ☞ 曲线点数：一点或多点
  - ☞ 曲线拟合：线性、折线、曲线

# 积分参数



# 积分参数

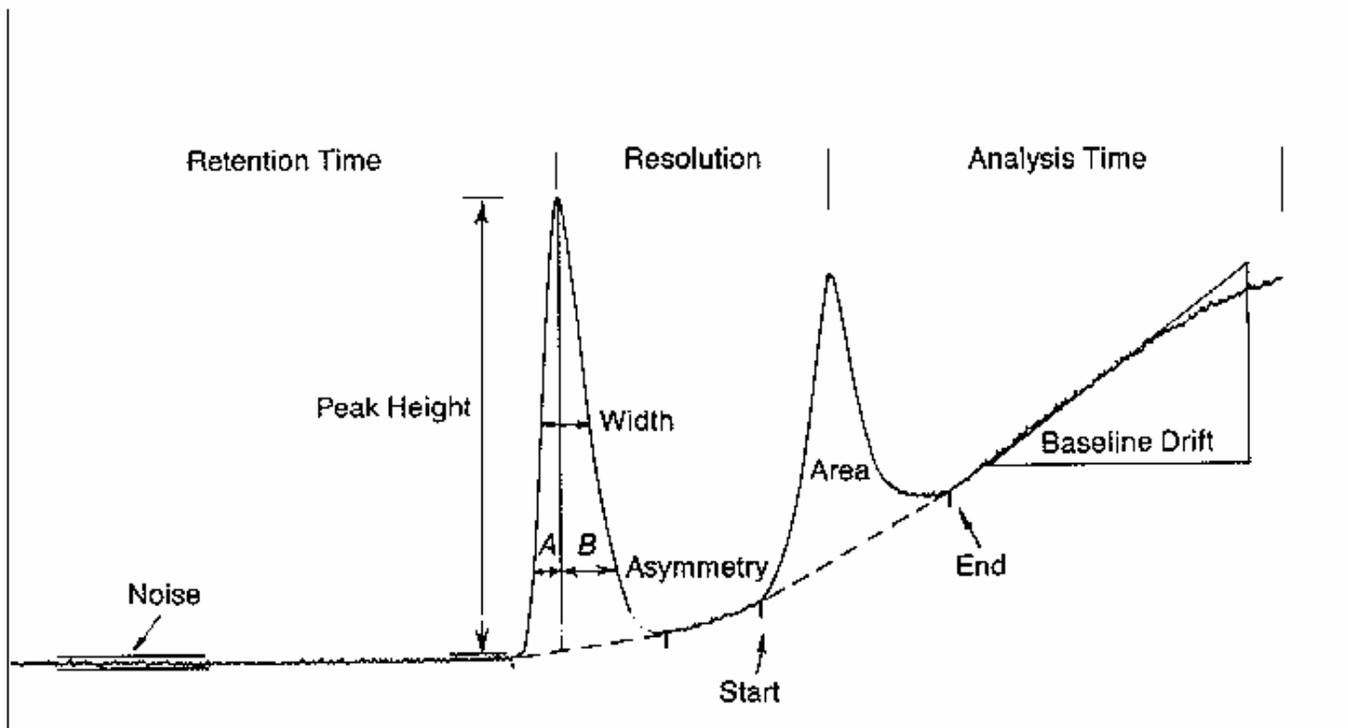
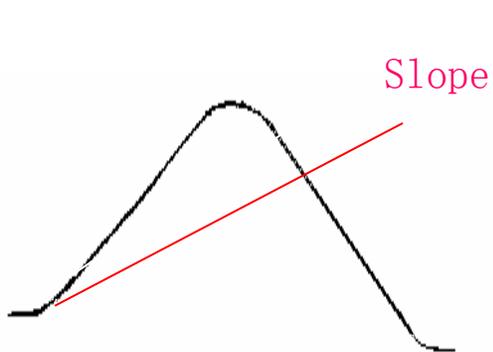


Figure 1.1 The basic measurements

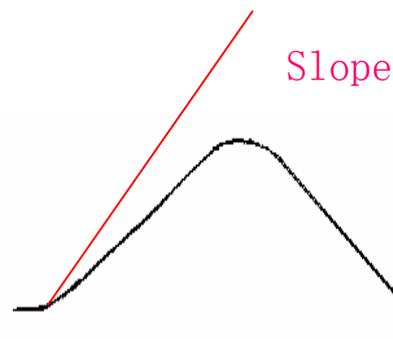
# 基本积分参数

- ➡ Slope: 斜率, 用来判断出峰起点、终点以及滤除低平噪声
- ➡ Drift: 漂移, 判断相邻峰的积分方式
  - ☞ 设定值为0时, 积分仪将自动判断
  - ☞ 如Drift与基线至峰谷连线较接近时, 积分面积值可能变化较大
- ➡ Width: 半峰宽, 峰的半高宽, 排除峰宽小于最小峰宽的峰
- ➡ T. DBL: 时间变参, 根据时间自动改变峰宽和斜率
- ➡ Minimum area: 最小峰面积, 排除面积小于该值的峰

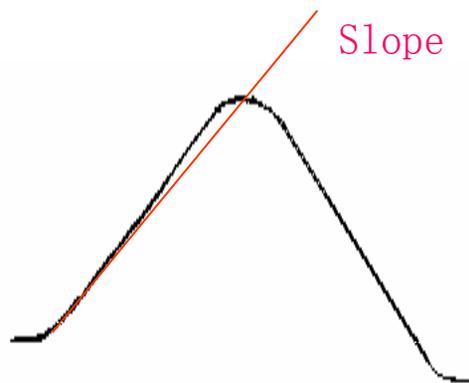
# Slope的设置



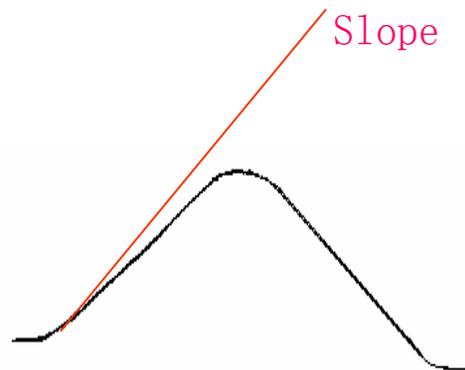
Slope < 峰斜率, 作为峰计算



Slope > 峰斜率, 作为噪声滤除

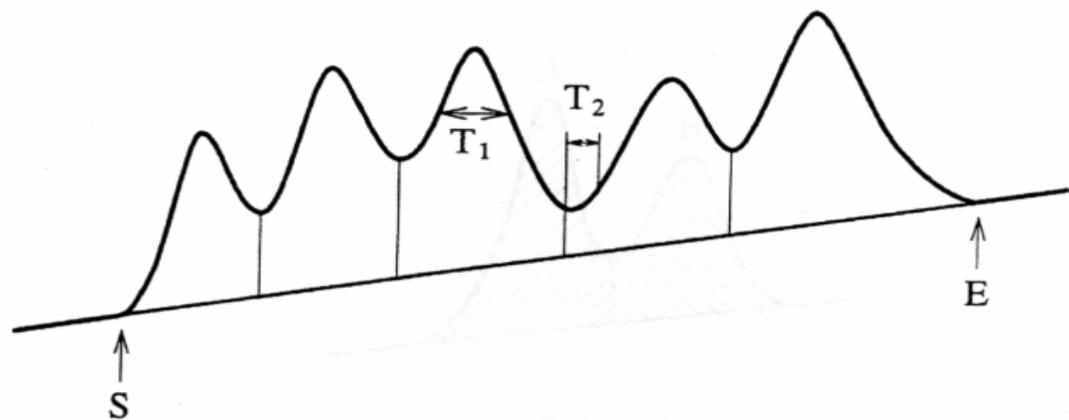


Slope  $\approx$  峰斜率, 积分不稳定, 须手动设定

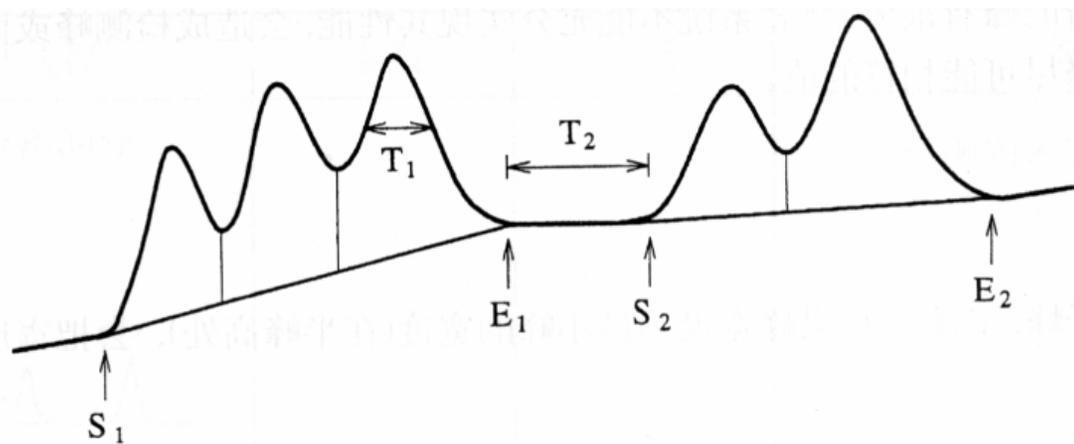


# Drift值的设定(自动校正)

谷宽 < 半峰高宽度  
 $T_2 < T_1$



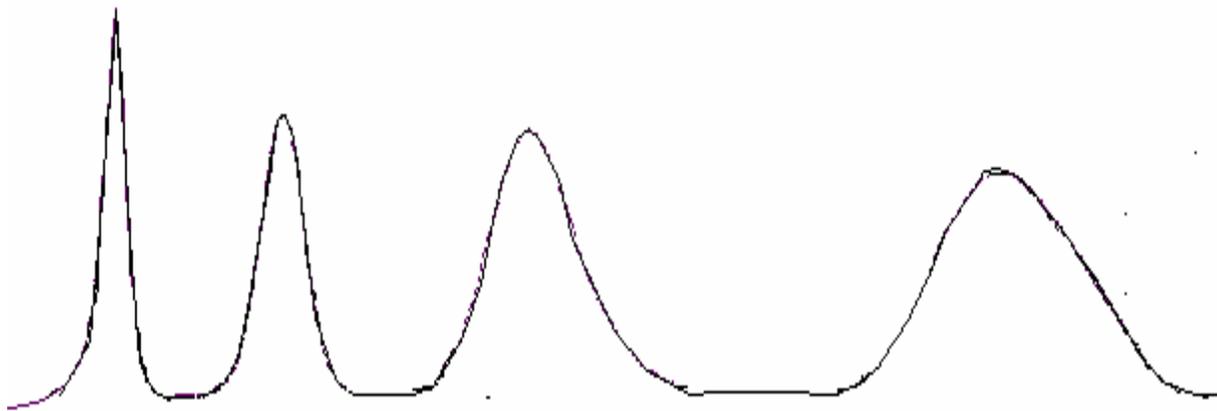
谷宽 > 半峰高宽度  
 $T_2 > T_1$



# T. DBL的设置

T. DBL: 时间变参, 根据时间自动改变峰宽和斜率

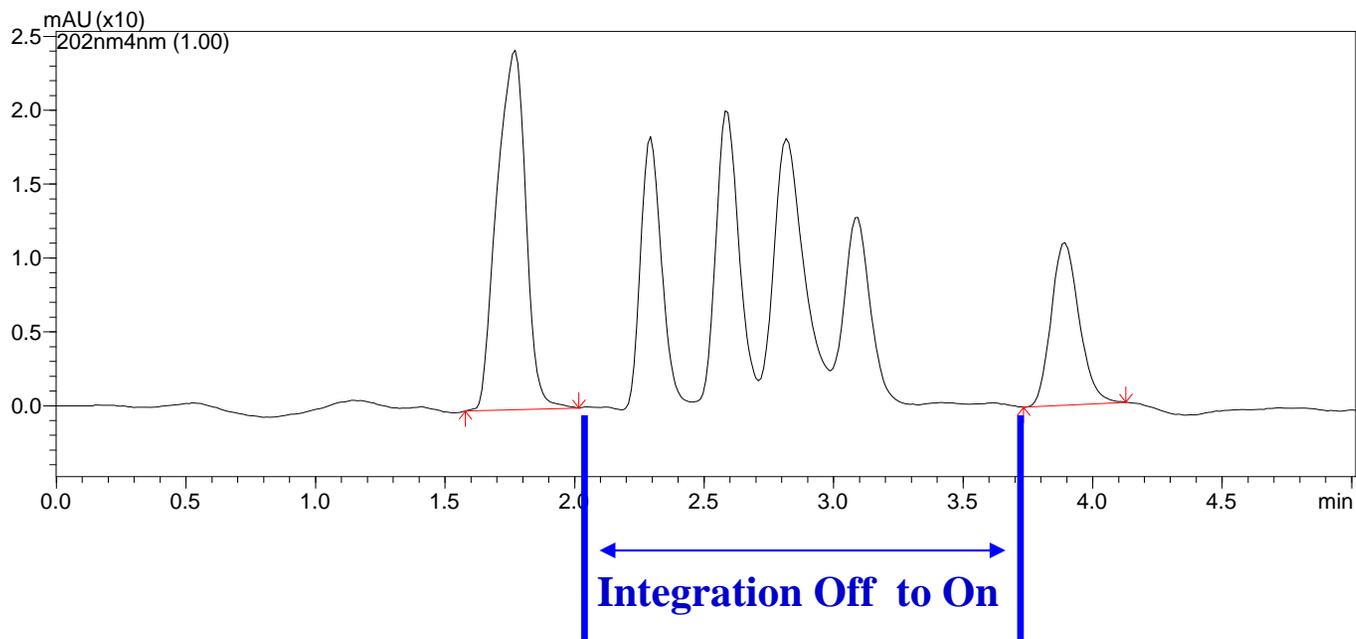
- ☞ 等度洗脱时, 出峰时间越长, 峰越宽
- ☞ 设定值为0时, 根据宽度自动判断
- ☞ 默认值为1000, 此时该参数不起作用



⊗在实际使用中, 一般使用默认设定

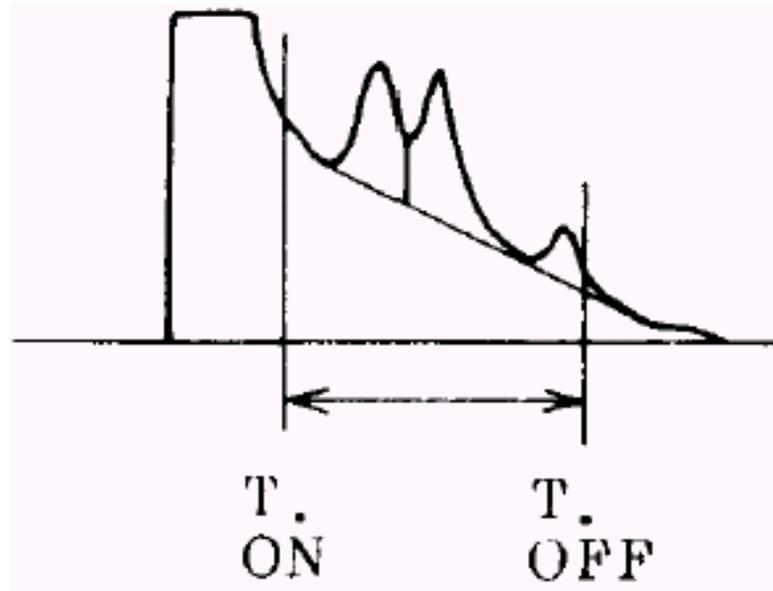
# 积分锁定

Integration Off to On: 锁定某一时间范围的峰，使之不计算积分



# 拖尾处理

Tailing On to Off: 强制执行拖尾处理



# 影响定量结果的因素

- ➡ 保留时间的重现性（对GPC影响很大）
- ➡ 样品问题（杂质、溶剂、稳定性、配制）
- ➡ 进样问题（准确度和精密度）
- ➡ 检测器的性能（影响线性、检出限、灵敏度）
- ➡ 方法的可靠性
- ➡ 积分参数的设定

非常感谢  
大家对岛津的支持!!!