

H 点标准加入法研究与应用述评 Advance in Research and Application of *H*-Point Standard Addition Method (HPSAM)

刘树深

Liu Shusheng

(桂林工学院应用化学系
桂林市建干路 12 号 541004)

(Dept. of Applied Chemistry, Guilin Institute of
Technology, 12 Jiangan Road, Guilin, Guangxi, 541004)

翟宗奎

Zhai Zongxi

(中国科学院盐湖
研究所 810008)

(Institute of Salt Lakes, the
Chinese Academy of Sciences, 810008)

摘要 叙述 *H* 点标准加入法 (HPSAM) 的基本原理及其理论发展和初步应用。阐明了基本 *H* 点标准加入法、吸光度增量为分析信号的 HPSAM、*K*-比率 HPSAM、干扰和基体未知的 HPSAM、通用 *H* 点标准加入法 (GH-PSAM) 的使用条件。

关键词 *H* 点 标准加入法 光谱分析

Abstract The fundamentals and applications and theoretical developments of *H*-point standard addition method (HPSAM) are recounted. The applied conditions of original HPSAM and the HPSAM using absorbance increment as analytical signals and the *K*-ratio HPSAM and the HPSAM for samples containing unknown matrix and interferences and general HPSAM are expounded.

Key words *H*-point, Standard addition method, spectrophotometric method

分析体系按定性成分是否已知分为黑色体系(定性成分完全未知的体系)、灰色体系(定性成分部分已知的体系)和白色体系(定性成分完全已知的体系)^[1]。分析仪器对实际分析体系进行测量所得到的分析信号实际上是由分析物、化学干扰物和样品基体三部分的贡献总和。要从分析信号通过校正得到无偏分析物结果,必须消除化学干扰(经典方法采用分离和或掩蔽)和真正方法空白(也称 Youden 空白^[2],记为 TYB)对分析信号的影响。若已消除化学干扰,通常采用标准加入法^[3,4]以使所有的测量在近似相同的环境中进行,从而消除校正曲线法因样品基体影响产生的误差。若样品基体产生一恒定系统误差,还需进行空白校正^[2,4]。另一方面,若分析体系不存在方法空白和基体效应时,化学干扰可视为化学组分借多元校正技术^[6~13]进行同时测定。然而,实际分析体系绝大多数属于灰色体系,既要校正基体和方法空白,也要消除化学干扰。目前解决这一难题的唯一方法是

HELP 方法^[14~16]。该法可从黑色分析体系或灰色分析体系的色谱-光谱二维数据中解析出存在分析物的纯光谱和纯色谱。但算法原理比较复杂,多数分析工作者目前尚难理解。

1988 年首次提出的 *H* 点标准加入法 (HPSAM)^[17] 虽是改进的标准加入法 (SAM), 但与 SAM 有着本质的区别。HPSAM 可以在分析物、化学干扰和基体效应同时存在, 且样品分析信号(光谱)严重重叠, 而不能采用 SAM 和校正技术或很难找到合适的校正集(比如干扰未知的实际分析体系)时对分析物进行准确测定。且若干扰定性已知, 还可对干扰物浓度直接进行估计。HPSAM 原理简单, 且仅需一维分析数据。HPSAM 的独到之处还在于它能把干扰和基体产生的分析误差从总分析误差中分离出来, 从而得到分析物的无偏分析结果^[18]。几年来的实践表明, HPSAM 不仅可以用于有机物, 无机物的选择测定, 动力学分析, 重叠光谱分辨, 试剂空白校正等光谱分析领域; 也可应用到荧光与同步荧光, 色谱及其与光谱联用等其他分析化学领域。

HPSAM 研究方兴未艾, 新的原理不断出现, 应

1996-01-28 收稿, 1996-04-18 修回。

应用领域继续拓宽。可以预期, HPSAM 可应用于施行化学量测的各个领域, 前景十分乐观。鉴于目前国内学者该方面未予足够重视, 研究尚少, 故撰此文以对 HPSAM 的理论发展和所取得的初步成就作一概要说明。

1 H 点标准加入法的理论发展

1.1 基本 H 点标准加入法

1988 年西班牙学者 Bosch-Reig F 等^[17]首次提出了基本 HPSAM 的基本原理。他们把分析体系看成是由分析物 X 和干扰物及基体等除分析物外的所有其他物质(统称为 Y)组成的二元分析体系。在预先选定的 2 个(或多个)波长下, 若物质 Y 产生的总干扰信号相等, 则对分析物施行多次标准加入后, 在 2 个(或多个)波长 λ_1 和 λ_2 处所作的 2 条(或多条)校正曲线 (A_1 和 A_2) 将相交于一点 ($-C_H, A_H$), 此点称为 H 点(见图 1)。其中 C_H 就是样品中待分析物浓度, A_H 是物质 Y 产生的信号。若干扰组分定性已知, 则可直接估计干扰浓度。这就是基本 HPSAM。为了选择 λ_1 和 λ_2 , 就必须在 λ_1 和 λ_2 之间各个不同波长进行测定, 寻找相应波长所得各条校正曲线是否相交于一点。如果只有一个交点, 则估计的干扰信号就是一个常数。如果不只一个交点, 则需改变光谱区域寻找 λ_1 和 λ_2 , 直至满足基本 HPSAM 的条件。在这里, HPSAM 方法是在干扰未知的情况下进行的, 与基于干扰光谱已知而提出的双波长标准加入法^[18~21]有着本质的不同, 因而 HPSAM 有可能解决干扰未知的实际样品中分析物的选择测定难题。也即 HPSAM 可以解决化学干扰和基体存在时不经分离等手段分析物的准确测定问题。HPSAM 的重要性和独到之处在于它能把分析物浓度从总的恒定系统误差中分离出来^[22]。应该指出 H 点纵坐标 A_H 是化学干扰和真正方法空白 (TYB)^[2]共同产生的结果。显然只有当 TYB 在 λ_1 和 λ_2 处的分析信号相同时, HPSAM 才能得到准确的结果。为了消除作图产生的人为误差, 可两次采用最小二乘法求得 H 点坐标^[23]。

1.2 吸光度增量为分析信号的 HPSAM

文献 [24] 证明, 在满足基本 HPSAM 的条件(物质 Y 在 2 个波长分析信号相同)下, 两波长 λ_1 和 λ_2 处各标准加入点的吸光度增量 ΔA (即两波长吸光度之差) 仅与分析物浓度有关, 而与基体与干扰 Y 无关。此时以吸光度增量为分析信号对相应加入分析物浓度作图将得一条直线, 其与浓度轴的交点就是分析物浓度(见图 1)。这与单变量校正的标准加入法 (SAM) 是类似的。即以 ΔA 作分析信号的 HPSAM

已简化为单标准校正方法^[25]。如果已知原样品和已加入纯分析物的样品溶液在波长 λ_1 和 λ_2 处的 ΔA_s 和 ΔA_t 以及加入的分析物浓度 C_a 时, HPSAM 就可以下式求得分析物的准确浓度 C_o

$$C_o = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_t - \Delta A_s} \cdot C_a$$

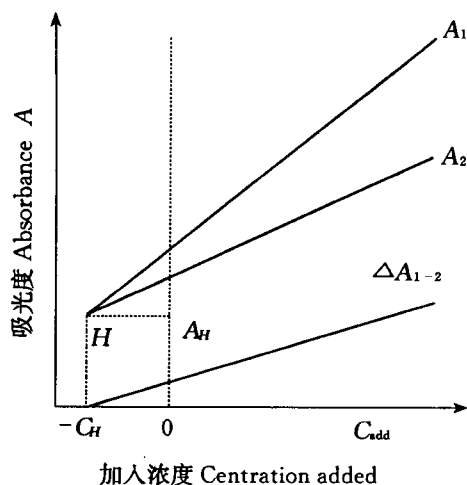


图 1 H 点标准加入法和以吸光度增量为纵坐标的 H 点标准加入法示意图

Fig. 1 The plot of the HPSAM and the HPSAM with ΔA values

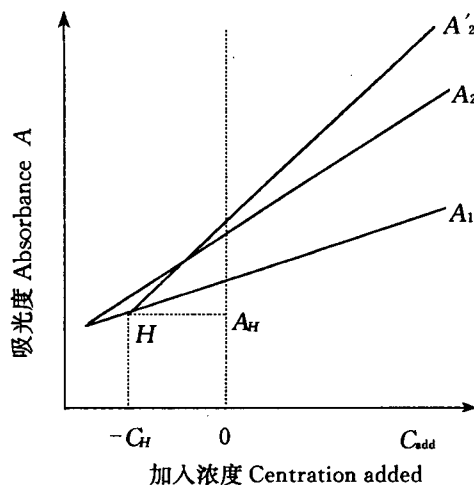


图 2 K 比率 H 点标准加入法

Fig. 2 The plot of K-ratio H-point standard addition method

1.3 K-比率 HPSAM

HPSAM 应用的先决条件是化学干扰分析信号在选定的 2 个波长(实际上是 2 个波长之间的多个波长)下为常数。但是很多未知实际分析体系, 在选定的光谱区域范围内并不存在等吸收区, 此时无论如何改变光谱区域也寻找不到满足 HPSAM 基本条件的波长范围。为此, 刘国民等^[26]提出了称作 K 比率 HPSAM 的改进方法, 拓展了 HPSAM 的应用范围, 使

化学干扰分析信号不为常数的实际分析体系也能应用。他们根据物质在 2 个波长的吸光度比值是一个常数的原理, 定义 K 是干扰在 λ_1 和 λ_2 处的吸光度比值, 当把标准加入校正曲线 A_2 乘上比率 K 时所得新校正曲线 A'_2 与 λ_1 处所得校正曲线 A_1 的新交点就是 H ($-C_H, A_H$) 点(图 2), C_H 仍是分析物的无偏浓度, A_H 是 Y 在 λ_1 处的吸光度。在该法中, 比率 K 的确定直接影响分析物浓度的准确程度。他们采用倪永年等^[27] 提出的双波长直线法, 选用多个已知浓度的 X 和 Y 构成校正集求出 K 比率。显然, 在 Y 未知的不同实际体系中无法构造 X 和 Y 的校正集, 或在有基体效应且其产生的光谱信号与干扰的 K 比率不一致时, 算法就难实现。还需进一步研究。

1.4 干扰和基体未知的 HPSAM

当干扰和基体光谱完全未知时, 基本 HPSAM 在很多体系中很难找出在 (λ_1, λ_2) 范围内存在常数的光谱区域, 因而不能使用基本 HPSAM 方法。另一方面, 由于不能解析出未知干扰光谱, 也就没法定义 K 比率, 因而不能应用 K 比率 HPSAM。为此, Bosch Reig F 等^[28] 提出了新的设想以使 HPSAM 适用于未知干扰和基体的实际分析体系。他们在分析物光谱最大吸收波长两边寻找和确定分析物光谱有相同吸光度的 2 个波长 λ_1 和 λ_2 。再在 λ_1 和 λ_2 之间选择第 3 个波长 λ_m (一般为分析物最大吸收波长), 当对分析物施行标准加入时在 3 个波长处可得到 3 条校正曲线 A_1, A_2, A_m 。则以 A'_m 为纵坐标(其中 $A'_m = (A_1 + A_2)/2$) 对加入浓度作图得到的校正曲线与 A_m 的交点就是 H 点(图 3)。当 Y 与 X 有如图 4 所示光谱, 即在选定的三个波长上, 干扰 Y 的分析信号与波长有线性关系时新方法就可应用。他们分 2 种情况讨论了在实际未知体系中如何选择 λ_1 和 λ_2 (及 λ_m) 的方法。如果化学干扰 Y 在整个光谱范围内有线性关系, 则只需在分析物最大吸收波长两边随机选择波长即可。对于化学干扰信号表现出非线性时, 平均直线 A'_m 与 A_m 就不在 H 点相交, 此时就必须先考虑样品光谱的一阶导数后再加以校正。文献 [29] 在此基础上采用吸光度增量 ΔA 作分析信号, 将上述方法简化为单变量校正形式。采用 $\Delta A = A_m - A'_m$ 对加入分析物浓度作图, 可得一条校正曲线, 它与横坐标的交点即是 H 点(图 3)。正如 2.2 节中所述, 仅采用单标准加入也可方便地求出分析物的正确浓度 C_0 。

1.5 通用 H 点标准加入法 (GHPSAM)

在 2.4 节中提出的未知干扰和基体的 HPSAM, 使该法应用更加广泛, 但如何寻找干扰分析信号在 3 个波长处与波长成线性的区域, 仍是解决完全未知样

品分析物选择测定的难题。通用 H 点标准加入法^[30]

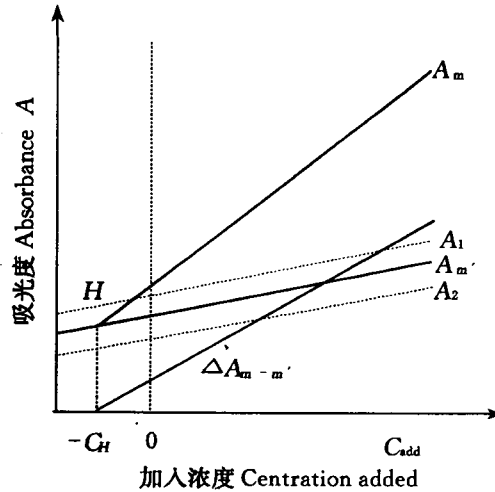


图 3 以吸光度和吸光度增量为分析信号的 H 点标准加入法示意图

Fig. 3 Calibration lines obtained for HPSAM when absorbance and ΔA values as analytical signals are used

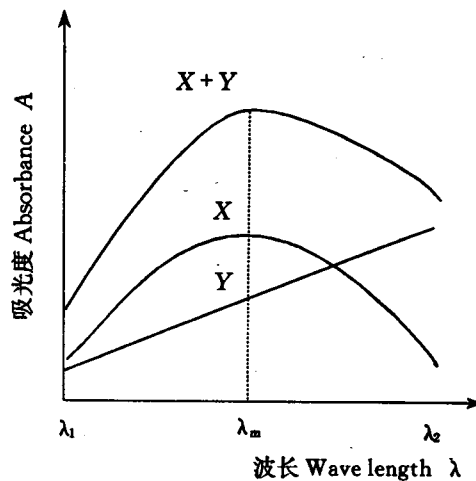


图 4 分析物 X 与干扰及基体 Y 的光谱特征

Fig. 4 Spectral features for the X analyte, Y interferent and the addition of both in the wavelength interval $\lambda_1 - \lambda_2$

(简称 GHPSAM) 提出了解决这个问题的方法。由于干扰在 3 个波长下有线性关系, 即 $A_y = a + b\lambda$ 。根据样品总分析信号(例如样品光谱) $A = A_x + A_y = A_x + a + b\lambda$ 。以该光谱对波长 λ 求二阶导数有:

$$A'' = \frac{d^2 A}{d\lambda^2} = \frac{d^2 A_x}{d\lambda^2} = A''_x = \epsilon'' C,$$

ϵ 为分析物光谱的吸收系数。上式表明, 样品光谱与分析物吸收系数光谱的二阶导数在干扰信号与波长存在线性关系的波长范围内其比值是一个常数。因而若以 A''/ϵ'' 对全光谱波长作图所得曲线的水平区域范围就是干扰光谱存在线性的波长区域, 此时就可应

2 HPSAM 的初步应用

HPSAM 已用于光谱分析、色谱分析、荧光光谱分析等领域,也可用来研究动力学过程及试剂空白行为等。下面就 HPSAM 的初步应用作一说明。

HPSAM 已用于多种有机混合物^[17,21,26,28]与无机离子显色体系混合物的光度分析^[18,19,23]。

HPSAM 曾用于以正己烷:乙酸乙酯(1:1)为萃取剂,以 1,2-萘醌-4-磺酸钠为显色剂的萃取光度法同时分析尿中苯丙胺和甲苯丙胺两种药物^[13]。这 2 种药物的光谱非常近似且重迭严重,一般只能通过薄层色谱^[32],气相色谱和液相色谱^[33]分离后才能进行分析。有作者将样品通过 C₁₈固相萃取装置并辅以 C₁₈柱色谱分离的方法成功地测定了尿中茶叶碱和 1,7-二甲基黄嘌呤的含量^[34]。这 2 种物质色谱峰重迭严重,一般色谱方法难以得到准确结果。

荧光和同步荧光光谱分析也有应用^[35]。采用 HPSAM 消除水中酚类在荧光校正时由溶剂的 Raman 发射产生的干扰,从而实现荧光光谱严重重迭的酚类混合物(如苯酚和邻甲苯酚混合物)的分辨和解析。

HPSAM 还可应用于光谱-色谱二维数据的分辨。文献 [36] 对不同利尿剂混合物进行了 HPSAM 分析,并与二阶导数方法进行了对比

建立了应用于动力学光度分析的 HPSAM 理论基础^[37],使 HPSAM 适用于 2 种动力学过程:一是 1 组分反应速度比另 1 组分快或后者根本不反应;二是各组分的速度常数均依赖于时间。他们借 Mn 和 V 对邻苯三酚红的氧化作用测定 Mn 与 V 以及血清中肌酸酐的测定及肌酸酐和白肼的同时测定为例证明了方法的可行性。

试剂空白的光谱行为,信号估计以及对浓度校正的影响是光谱分析中一个非常重要的问题^[38,39]。HPSAM 应用于无机离子显色体系的分析时,必须考虑试剂空白的影响。文献 [40] 提出了以 2 波长吸光度增量为分析信号,借 HPSAM 估计以消除试剂空白引起的系统误差。他们把试剂空白看成是一种化学干扰,以缩二脲为试剂测定了蛋白质,以钽射气测定了钽,以钛黄测定了镁。文献 [41] 还研究了不同萃取体系光度分析中试剂空白的行为和它引入分析过程的各种特性,并定义了 2 种类型的试剂空白。

HPSAM 还可应用于解决光谱严重重迭的分辨问题^[42]。

- 1 Liang Y Z, Kvalheim O M, Manne R. White, grey and black multicomponent system-A classification of mixture problems and methods for their quantitative analysis. *Chemom Intell Lab Syst*, 1992, 00: 1.
- 2 Youden W J. Technique for testing accuracy of analytical data. *Anal Chem*, 1974, 19: 946.
- 3 Bader M. A systematic approach to standard addition methods in instrumental analysis. *J Chem Educ*, 1980, 57: 703.
- 4 Sharaf M A, Illman D L, Kowalski B R. *Chemometrics*. Wiley-interscience, New York, 1986: 133.
- 5 Cardone M J. New technique in chemical assay calculations 1: a survey of calculational practices on a model problem. *Anal Chem* 1986, 58: 433.
- 6 Poulisse H N J. Multicomponent-analysis computations based on Kalman filtering. *Anal Chim Acta* 1979, 112: 361.
- 7 Frank I E, Kalivas J H, Kowalski B R. Partial least squares solutions for multicomponent analysis. *Anal Chem*, 1983, 55: 1800.
- 8 Otto M, Wegscheider W. Spectrophotometric multicomponent analysis applied to trace metal determinations. *Anal Chem*, 1985, 57: 63.
- 9 Haaland D M, Inomas E V. PLS methods for spectral analysis 1: relation to other quantitative calibration methods and the extraction of qualitative information. *Anal Chem*, 1988, 60: 1193.
- 10 Borgem O S, Kowalski B R, An extension of the multivariate component-resolution method to three components. *Anal Chim Acta*, 1985, 174: 1.
- 11 Saxberg B E H, Kowalski B R, The general standard addition method. *Anal Chem*, 1979, 151: 1038.
- 12 Geladi P, Kowalski B R. Partial least-square regression: a tutorial. *Anal. Chim. Acta*, 1986, 185: 1.
- 13 Maris M A, Brown C W, Lavery D S, Non-linear multicomponent analysis by infrared spectrophotometry. *Anal. Chem*, 1983, 55: 1694.
- 14 Kvalheim O M, Liang Y Z. Heuristic evolving latent projections: resolving two-way multicomponent data 1: selectivity, latent projective graph, datascope, local rank, and unique resolution. *Anal Chem*, 1992, 64: 936.
- 15 Liang Y Z, Kvalheim O M, Keller H R et al.. Heuristic evolving latent projections, resolving two-way multicomponent data 2: detection and resolution of minor constituents. *Anal Chem*, 1992, 64: 946.
- 16 Keller H R, Massart D L, Liang Y Z et al.. A comparison of the heuristic evolving latent projections and evolving

- factor analysis methods for peak purity control in liquid chromatography with photodiode array detection. *Anal Chim Acta* 1992, 167; 63.
- 17 Bosch Reig F, Campins Falco P, H-Point standard additions method Part 1: Fundamentals and application to analytical spectroscopy. *Analyst*, 1988, 113; 1011.
 - 18 王亦菲, 吴水生. 双波长标准加入吸光光度法同时测定铊汞. *理化检验 (化)*, 1992, 28 (6); 10.
 - 19 李自林, 杨淑琼. 双波长标准加入法及其应用, *分析化学*, 1993, 21 (10); 1205.
 - 20 葛宣宁, 双波长标准加入法. *理化检验 (化)*, 1994, 30 (3); 152.
 - 21 赵书林, 夏心泉, 马厚蓉等. 混合显色体系双波长同时测定铜和钛, *分析试验室*, 1995, 14 (2); 5.
 - 22 Cardone M J, Bosch Reig F, Campins Falco P. *Letters, Analyst*, 1990, 115; 111.
 - 23 刘树深. H 点标准加入法及其应用研究, *冶金分析*, 1994, 14 (1); 44.
 - 24 Campins Falco P, Bosch Reig F, Verdu Andres J, Application of the H-point standard additions method by using absorbance increment values as analytical signals. *Talanta*, 1992, 39 (1); 1.
 - 25 Cardone M J, Palermo P J, Sybrandt L B, Potential error in single-point-ratio calculations based on linear calibration curves with a significant intercept, *Anal Chem*, 1980, 52; 1187.
 - 26 Liu G M, Ma X L, Li P. K ratio H-point standard additions method, *Anal. Lett*, 1993, 26 (4); 801.
 - 27 倪永年, 朱惠芳, 白玲. 双波长分光光度法研究-直线法同时确定 K 系数及工作曲线斜率. *分析化学*, 1988, 16 (3); 266.
 - 28 Bosch Reig F, Campins Falco P, Verdu Andres J Development of the H-point standard additions method for analyte determinations in unknown matrix. *Anal Chim Acta*, 1993, 283; 831.
 - 29 Verdu Andres J, Campins Falco P, Bosch Reig F, Elimination of the unknown irrelevant matrix absorbance by using the H-point standard additions method (HPSAM). *Talanta*, 1994, 41 (9); 1569.
 - 30 General H-point standard additions method for analyte determinations in unknown samples. *Anal Chim Acta*, 1995, 302; 323.
 - 1 Campins Falco P, Bosch Reig F, Sevillano Cabeza A et al.. Determination of amphetamine and methamphetamine in urine with sodium 1,2-naphthoquinone 4-sulphonate using the H-point standard addition method. *Anal Chim Acta*, 1994, 287; 41.
 - 32 Gulyas H, Kemeny G, Hollosi I et al.. Determination of some doping agents by overpressured thin-layer chromatography. *J Chromatogr*, 1984, 291; 471.
 - 33 Tsuchihashi H, Nakajima K, Nishikawa M et al.. Headspace gas chromatography of stimulants in urine by in-column trifluoroacetyl derivatization method, *J Chromatogr*, 1989, 467; 227.
 - 34 Campins Falco P, Bosch Reig F, Herraez Hernandez R et al.. Determination of theophylline and paraxanthine in urine samples by liquid chromatography using the H-point standard additions method. *Anal Chim Acta*, 1992, 268; 73.
 - 35 Campins Falco P, Bosch Reig F, Verdu Andres J. Development of the H-point standard additions method for the use of spectrofluorimetry and synchronous spectrofluorimetry. *Analyst*, 1994, 119; 2123.
 - 36 Campins Falco P, Bosch Reig F, Herraez Hernandez R, et al.. Development of the H-point standard additions method for coupled chromatography and UV-visible spectrophotometry. *Anal Chim Acta*, 1992, 257; 89.
 - 37 Bosch Reig F, Campins Falco P, Sevillano Cabeza A et al.. Development of the H-point standard additions method for Ultraviolet-visible spectroscopic kinetic analysis of two component systems. *Anal Chem*, 1991, 63; 2424.
 - 38 周复元, 显色反应中过量显色剂对测定的影响. *分析化学*, 1983, 11 (30); 398.
 - 39 梁果文. 分光光度法中的试剂空白问题. *大学化学*, 1990, 5 (6); 30.
 - 40 Campins Falco P, Bosch Reig F, Verdu Andres J. Evaluation and elimination of the "blank bias error" using the H-point standard addition method. *Anal Chim Acta*, 1992, 270; 253.
 - 41 Bosch Reig F, Verdu Andres J, Campins Falco P et al.. Study of the behaviour of the absorbent blanks in analytical procedures by using the H-point standard additions method (HPSAM), *Talanta*, 1994, 41; 39.
 - 42 Campins Falco P, Bosch Reig F, Molina Benet A. Spectrophotometric analysis of mixtures of two components with extensively or completely overlapping spectra by the H-point standard additions method. *Fresenius J Anal Chem*, 1990, 338; 16.

(责任编辑: 蒋汉明 邓大玉)