



中华人民共和国国家计量检定规程

JJG 705—2014

液相色谱仪

Liquid Chromatographs

2014-02-14 发布

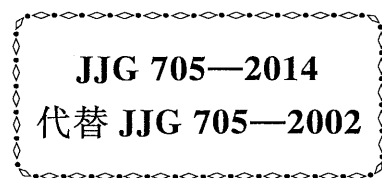
2014-08-14 实施

国家质量监督检验检疫总局 发布



液相色谱仪检定规程

Verification Regulation of
Liquid Chromatographs



归口单位：全国物理化学计量技术委员会

起草单位：中国计量科学研究院

本规程委托全国物理化学计量技术委员会负责解释

本规程起草人：

何雅娟（中国计量科学研究院）

何海红（中国计量科学研究院）

赵 敏（中国计量科学研究院）

目 录

引言	(Ⅱ)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 概述	(1)
4 计量性能要求	(1)
4.1 输液系统	(1)
4.2 柱温箱	(2)
4.3 检测器	(2)
4.4 整机性能	(2)
5 通用技术要求	(3)
5.1 仪器外观	(3)
5.2 仪器电路系统	(3)
6 计量器具控制	(3)
6.1 检定条件	(3)
6.2 检定项目和检定方法	(4)
6.3 检定结果	(11)
6.4 检定周期	(11)
附录 A 色谱柱性能测试	(12)
附录 B 单色器滤光片的性能测试	(14)
附录 C 不同温度下流动相密度	(15)
附录 D 检定证书(内页)格式	(17)
附录 E 液相色谱仪检定记录格式	(18)

引 言

JJG 705—2014《液相色谱仪》的编写是以 JJF 1001—2011《通用计量术语及定义》、JJF 1002—2010《国家计量检定规程编写规则》为基础和依据，对 JJG 705—2002《液相色谱仪》进行修订的。

与 JJG 705—2002《液相色谱仪》相比，除编辑性修改外，本规程主要技术内容有以下变化：

- 增加了蒸发光散射检测器；
- 删掉了检测器换挡误差的检定项目；
- 荧光检测器检定用标准物质改为萘-甲醇溶液；
- 示差折光率检测器检定用标准物质改为甲醇中胆固醇溶液；
- 整机定性重复性由原来的 1.5% 修改为 1.0%；
- 检测器基线噪声和漂移采集时间由原来的 1 h 改为 30 min。

JJG 705 的历次版本发布情况为：

- JJG 705—2002；
- JJG 705—1990。

液相色谱仪检定规程

1 范围

本规程适用于配有紫外-可见光检测器、二极管阵列检测器、荧光检测器、示差折光率检测器和蒸发光散射检测器的液相色谱仪的首次检定、后续检定和使用中检查。

2 引用文件

JJG 537—2006 荧光分光光度计

3 概述

液相色谱仪（以下简称仪器）是由输液系统、进样系统、分离系统、检测系统和数据处理系统等部分组成的分析仪器，图 1 是其组成的方框图。液相色谱仪根据样品中各组分在色谱柱内固定相和流动相间分配或吸附等特性的差异，由流动相将样品带入色谱柱中进行分离，经检测器检测并通过数据处理系统记录色谱图，依据各组分的保留时间和响应值（峰面积或峰高）进行定性和定量分析。

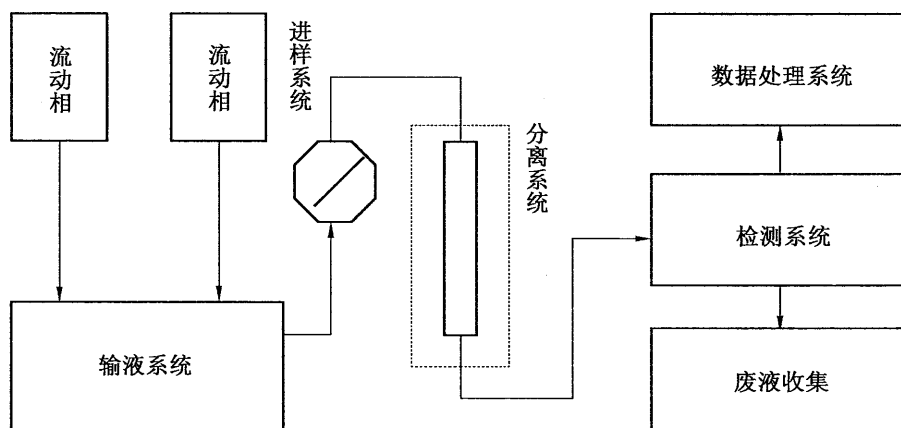


图 1 液相色谱仪组成方框图

4 计量性能要求

4.1 输液系统

4.1.1 输液管路接口紧密牢固，在规定的压力范围内无泄漏。

4.1.2 泵流量设定值误差 S_S 和流量稳定性 S_R 应符合表 1 的要求。

4.1.3 梯度最大允许误差 G_c ：±3%。

表 1 泵流量设定值误差 S_s 和稳定性 S_R 的指标要求

泵流量设定值/(mL/min)	0.2~0.5	0.6~1.0	大于 1.0
测量次数	3	3	3
流动相收集时间/min	20~10	10~5	5
泵流量设定值最大允许误差 S_s	$\pm 5\%$	$\pm 3\%$	$\pm 2\%$
泵流量稳定性 S_R	3%	2%	2%
注：①最大流量的设定值可根据用户使用情况而定； ②对特殊的、流量小的仪器，流量的设定可根据用户使用情况选大、中、小三个流量， 流动相的收集时间则根据情况适当缩短或延长。			

4.2 柱温箱

4.2.1 柱温箱温度设定值最大允许误差： $\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ 。4.2.2 柱温箱温度稳定性：不大于 $1\text{ }^\circ\text{C/h}$ 。

4.3 检测器

仪器的检测器的主要技术指标见表 2。

表 2 液相色谱仪检测器的主要技术指标

检测器 项目	紫外-可见光检测器 二极管阵列检测器	荧光检测器	示差折光率检测器	蒸发光散射检测器
基线噪声 ^①	$\leq 5 \times 10^{-4}$ AU	$\leq 5 \times 10^{-4}$ FU	$\leq 5 \times 10^{-7}$ RIU	≤ 1 mV
基线漂移	$\leq 5 \times 10^{-3}$ AU/30 min	$\leq 5 \times 10^{-3}$ FU/30 min	$\leq 5 \times 10^{-6}$ RIU/30 min	≤ 5 mV/30 min
最小检测浓度	$\leq 5 \times 10^{-8}$ g/mL 萘-甲醇溶液	$\leq 5 \times 10^{-9}$ g/mL 萘-甲醇溶液	$\leq 5 \times 10^{-6}$ g/mL 胆固醇-甲醇溶液	$\leq 5 \times 10^{-6}$ g/mL 胆固醇-甲醇溶液
波长示值最大 允许误差	± 2 nm	± 5 nm	—	—
波长重复性	≤ 2 nm	≤ 2 nm	—	—
线性范围	优于 10^3	优于 10^3	优于 10^3	—
注：①若仪器的输出信号用 mV 或 V 表示，注意查看仪器说明书或仪器标牌标明的其与 AU (FU) 的换算关系；若无特殊标明通常可按照 $1\text{ V}=1\text{ AU (FU)}$ 进行换算。				

4.4 整机性能

仪器的整机性能用定性定量测量重复性表示，指标要求见表 3。

表 3 液相色谱仪整机性能指标要求

检测器 项目	紫外-可见光检测器 二极管阵列检测器	荧光检测器	示差折光率检测器	蒸发光散射检测器
定性重复性	$\leq 1.0\%$	$\leq 1.0\%$	$\leq 1.0\%$	$\leq 1.5\%$
定量重复性	$\leq 3.0\%$	$\leq 3.0\%$	$\leq 3.0\%$	$\leq 4.0\%$

5 通用技术要求

5.1 仪器外观

仪器上应有仪器名称、型号、制造厂名、产品系列号、出厂日期等内容的标牌，国产仪器应有制造计量器具许可证标志。

5.2 仪器电路系统

仪器电源线、信号线等插接紧密，各开关、旋钮、按键等功能正常，指示灯灵敏，显示器清晰。

6 计量器具控制

计量器具控制包括：首次检定、后续检定和使用中检查。

6.1 检定条件

6.1.1 环境条件

6.1.1.1 检定室应清洁无尘，无易燃、易爆和腐蚀性气体，通风良好。

6.1.1.2 室温 $(15\sim 30)^{\circ}\text{C}$ ，检定过程中温度变化不超过 3°C （对示差折光率检测器，室温变化不超过 2°C ），室内相对湿度 $20\%\sim 85\%$ 。

6.1.1.3 仪器应平稳地放在工作台上，周围无强烈机械振动和电磁干扰源，仪器接地良好。

6.1.1.4 电源电压为 $(220\pm 22)\text{V}$ ，频率为 $(50\pm 0.5)\text{Hz}$ 。

6.1.2 检定设备

6.1.2.1 秒表：最小分度值不大于 0.1 s 。

6.1.2.2 分析天平：最大称量不小于 100 g ，最小分度值不大于 1 mg 。

6.1.2.3 数字温度计：测量范围为 $(0\sim 100)^{\circ}\text{C}$ ，最大允许误差为 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 。

以上器具需经计量检定合格。

6.1.3 有证标准物质：

萘-甲醇溶液标准物质：认定值为 $1.00\times 10^{-4}\text{ g/mL}$ ，扩展不确定度小于 4% ， $k=2$ ；

萘-甲醇溶液标准物质：认定值为 $1.00\times 10^{-7}\text{ g/mL}$ ，扩展不确定度小于 4% ， $k=2$ ；

甲醇中胆固醇溶液标准物质：认定值为 $200\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，扩展不确定度小于 2.0% ， $k=2$ ；

甲醇中胆固醇溶液标准物质：认定值为 $5.0\text{ }\mu\text{g/mL}$ ，扩展不确定度小于 5.0% ， $k=2$ ；

胆固醇纯度标准物质：认定值为 99.7% ，扩展不确定度小于 0.1% ， $k=2$ 。

6.1.4 其他要求

6.1.4.1 检定用试剂：色谱级甲醇，纯水，分析纯的丙酮和异丙醇，紫外分光光度计溶液标准物质等。

6.1.4.2 注射器： $10\text{ }\mu\text{L}$ ， $50\text{ }\mu\text{L}$ 和 10 mL 各一支。

6.1.4.3 容量瓶：50 mL，10 个。

6.2 检定项目和检定方法

6.2.1 检定项目

检定项目见表 4。

表 4 检定项目一览表

序号	检定项目	首次检定	后续检定	使用中检查
1	输液系统：泵耐压	+	— ^①	—
	泵流量设定值误差 S_s	+	—	—
	泵流量稳定性 S_R	+	+	+
	梯度误差 G_i ^②	+	—	—
2	柱温箱：温度设定值误差 ΔT_s ^②	+	—	—
	温度稳定性 T_c ^②	+	—	—
3	检测器：基线噪声	+	+	+
	基线漂移	+	+	+
	最小检测浓度	+	+	—
	波长示值误差和重复性 ^③	+	—	—
	线性范围	+	—	—
4	整机：定性、定量重复性	+	+	+
注：① “+”表示应检定项目，“—”表示可不检定项目； ② 无梯度洗脱装置和无柱温箱的仪器，此项不检定； ③ 紫外-可见光、二极管阵列和荧光检测器检定此项目，其他检测器不检定此项目。				

6.2.2 检定方法

6.2.2.1 通用技术要求

按 5.1 和 5.2 的要求，目视、手动检查。

6.2.2.2 输液系统

a) 泵耐压

将仪器各部分连接好，以 100% 甲醇（或纯水）为流动相，流量为 0.2 mL/min，按说明书启动仪器，压力平稳后保持 10 min，用滤纸检查各管路接口处是否有湿迹。卸下色谱柱，堵住泵出口端（压力传感器以下），使压力达到最大允许值的 90%，保持 5 min 应无泄漏。

b) 泵流量设定值误差 S_s 和流量稳定性 S_R

按表 1 的要求设定流量，启动仪器，压力稳定后，在流动相出口处用事先称重过的洁净容量瓶收集流动相，同时用秒表计时，收集表 1 规定时间流出的流动相，在分析天平上称重，按公式 (3) 计算流量实测值 F_m 按公式 (1)、公式 (2) 计算 S_s 和 S_R 。每一设定流量，重复测量 3 次。

$$S_s = \frac{\bar{F}_m - F_s}{F_s} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

$\bar{F}_m$ ——同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min；

F_s ——流量设定值，mL/min。

$$S_R = \frac{F_{\max} - F_{\min}}{F_m} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

$F_{\max}$ ——同一设定流量 3 次测量值的最大值，mL/min；

$F_{\min}$ ——同一设定流量 3 次测量值的最小值，mL/min。

$$F_m = (W_2 - W_1) / (\rho_t \cdot t) \quad (3)$$

式中：

F_m ——流量实测值，mL/min；

W_2 ——容量瓶+流动相的质量，g；

W_1 ——容量瓶的质量，g；

ρ_t ——实验温度下流动相的密度，g/cm³，（不同温度下流动相的密度参见附录 C）；

t ——收集流动相的时间，min。

c) 梯度误差

由梯度控制装置设置阶梯式的梯度洗脱程序（梯度程序可参照表 5），A 溶剂为纯水，B 溶剂为含 0.1% 丙酮的水溶液。将输液泵和检测器连接（不接色谱柱），开机后以 A 溶剂冲洗系统，基线平稳后开始执行梯度程序，画出 B 溶剂经由 5 段阶梯从 0% 变到 100% 的梯度变化曲线，如图 2 所示。求出由 B 溶剂变化所产生的每一段阶梯对应的响应信号值的变化值 L_i 。重复测量 2 次，按公式（4）计算每一段阶梯对应的响应信号值的变化平均值 $\bar{L}_i$ ；按公式（5）计算五段阶梯响应信号值的总平均值 $\bar{\bar{L}}_i$ ；按公式（6）计算每一段的梯度误差 G_i ，取 G_i 最大者作为仪器的梯度误差。

$$\bar{L}_i = \frac{(L_{1i} - L_{1(i-1)}) + (L_{2i} - L_{2(i-1)})}{2} \quad (4)$$

式中：

$\bar{L}_i$ ——第 i 段阶梯响应信号值的平均值；

L_{1i} ——第 i 段阶梯第 1 组响应信号值；

$L_{1(i-1)}$ ——第 $(i-1)$ 段阶梯第 1 组响应信号值；

L_{2i} ——第 i 段阶梯第 2 组响应信号值；

$L_{2(i-1)}$ ——第 $(i-1)$ 段阶梯第 2 组响应信号值。

$$\bar{\bar{L}}_i = \frac{\sum_{i=1}^n \bar{L}_i}{n} \quad (5)$$

式中：

$\bar{\bar{L}}_i$ ——5 段阶梯响应信号值的总平均值；

n ——梯度的阶梯数, $n=5$ 。

$$G_i = \frac{\overline{L_i} - \overline{L_{i-1}}}{\overline{L_i}} \times 100\% \quad (6)$$

式中:

G_i ——第 i 段阶梯的梯度误差。

注: 当 i 为 1 ($i-1=0$) 时, 第 ($i-1$) 阶梯响应信号值为 B 溶剂为 0% 时的响应信号值。

表 5 梯度程序设置

序号	A 溶剂 (纯水)	B 溶剂 (0.1%丙酮水溶液)
1	100%	0%
2	80%	20%
3	60%	40%
4	40%	60%
5	20%	80%
6	0%	100%
7	100%	0%

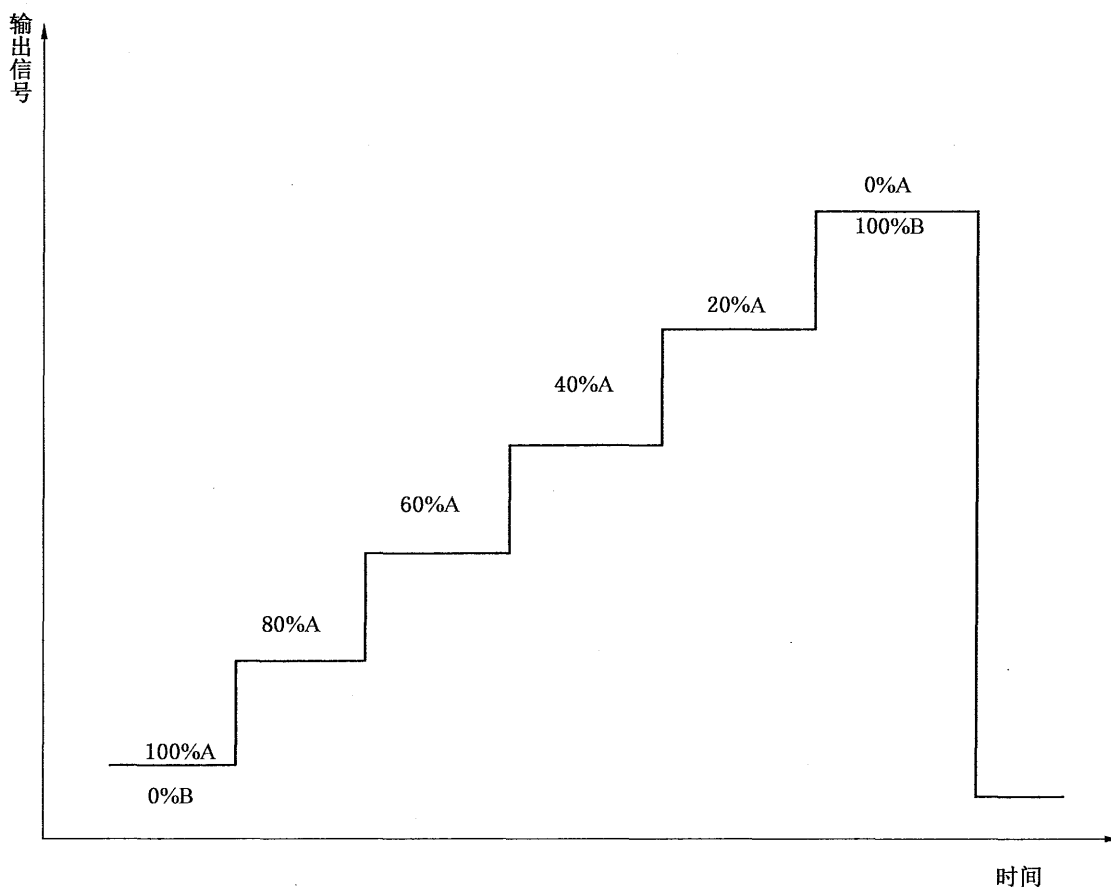


图 2 梯度误差检定示意图

6.2.2.3 柱温箱温度设定值误差 ΔT_s 和柱箱温度稳定性 T_c

将数字温度计探头固定在柱温箱内与色谱柱相同的部位,选择 35 ℃ 和 45 ℃ (也可根据用户使用温度设定) 进行检定。按仪器说明书操作,通电升温,待温度稳定后,记下温度计读数并开始计时,以后每隔 10 min 记录 1 次读数,共计 7 次,求出平均值。平均值与设定值之差为柱温箱温度设定值误差 ΔT_s , 7 次读数中最大值与最小值之差为柱温箱温度稳定性 T_c 。

6.2.2.4 紫外-可见光检测器和二极管阵列检测器的性能

a) 波长示值误差和重复性

将检测器和数据处理系统连接好,通电预热稳定后,用注射器将纯水注入检测池内进行冲洗后,充满检测池。待检测器示值稳定后,在 (235 ± 5) nm、 (257 ± 5) nm、 (313 ± 5) nm 和 (350 ± 5) nm 的波长下将示值回零,然后再用注射器将紫外分光光度计溶液标准物质(参考波长为 235 nm, 257 nm, 313 nm 和 350 nm)从检测器入口注入样品池中冲洗,并将样品池充满至示值稳定。将检测器波长调到低于参考波长 5 nm 处(例如检定 257 nm 时,检测器波长先调到 252 nm),改变检测器波长,每 $(5 \sim 10)$ s 改变 1 nm,记录每个波长下的吸收值(吸收值变化的示意图见图 3),最大或最小吸收值对应的波长与参考波长之差为波长示值误差。每个波长重复测量 3 次,其中最大值与最小值之差为波长重复性。

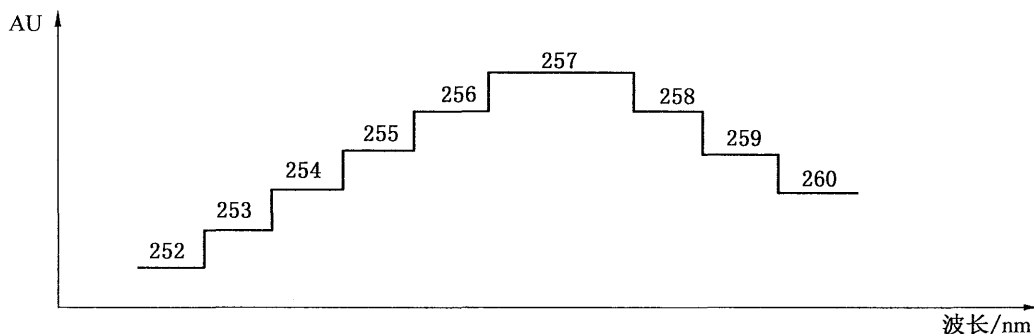


图 3 波长示值误差检定中吸收值变化示意图

有吸光值显示的检测器,改变波长时可直接读出吸光值,其最大(或最小)吸光值对应的波长与参考波长之差为波长示值误差。有波长扫描功能的仪器可画出标准溶液的光谱曲线,其波峰(或波谷)对应的波长与参考波长之差为波长示值误差。对于有内置标准滤光片可进行自检的仪器可直接采用其测量数据。

对改变波长有自动回零功能的紫外-可见光检测器,可采用连续进样的方法检定波长示值误差,具体做法是:用一节空管代替色谱柱将液路连通,以水做流动相,流量为 $(0.5 \sim 1.0)$ mL/min,采用步进进样方法,例如检定 257 nm 时,从 252 nm 开始到 262 nm,每 2 min 改变 1 nm,用注射器注入相同体积的紫外分光光度计溶液标准物质,得到一组不同波长的色谱峰,最高(或最低)色谱峰对应的波长与参考波长之差,即为波长示值误差。

b) 基线噪声和基线漂移

选用 C_{18} 色谱柱,以 100% 甲醇为流动相,流量为 1.0 mL/min,紫外检测器的波长设定为 254 nm,检测灵敏度调到最灵敏挡。开机预热,待仪器稳定后记录基线 30 min,选取基线中噪声最大峰-峰高对应的信号值,按公式 (7) 计算基线噪声,用检测器自身

的物理量 (AU) 作单位表示。基线漂移用 30 min 内基线偏离起始点最大信号值 (AU/30 min) 表示。

$$N_d = KB \quad (7)$$

式中:

N_d ——检测器基线噪声;

K ——衰减倍数;

B ——测得基线峰-峰高对应的信号值, AU。

c) 最小检测浓度

在 6.2.2.4 中 b) 的色谱条件下, 由进样系统注入 (10 ~ 20) μL 的 $1.00 \times 10^{-7} \text{ g/mL}$ 蔡-甲醇溶液, 记录色谱图, 由色谱峰高和基线噪声峰高, 按公式 (8) 计算最小检测浓度 C_L (按 20 μL 进样量计算)。

$$C_L = \frac{2N_d c V}{20H} \quad (8)$$

式中:

C_L ——最小检测浓度, g/mL ;

N_d ——基线噪声峰高;

c ——标准溶液浓度, g/mL ;

V ——进样体积, μL ;

H ——标准物质的峰高。

注: N_d 和 H 的单位应保证一致; 式中分母的“20”表示标准的进样体积, 其单位为微升 (μL)。

d) 线性范围

将检测器和数据处理系统连接好, 检测器波长设定为 254 nm, 通电稳定后, 用注射器直接向检测池中注射 2% 异丙醇-水溶液冲洗检测池至示值稳定后, 记下此值。然后, 依照上法向检测池中依次分别注入丙酮-2% 异丙醇系列水溶液 (丙酮含量为 0.1%, 0.2%, ..., 1.0%), 并记下各溶液对应的稳定响应信号值, 每个溶液重复测量 3 次, 取算术平均值。以 5 个丙酮溶液浓度 (0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%) 和对应的响应信号值做标准曲线, 在曲线上找出丙酮溶液浓度大于 0.5% 各点的读数, 与相应各浓度点的测量值做比较, 量值相差 5% 时的浓度作为检测上限 C_H 。按 6.2.2.4 中 c) 得到的最小检测浓度为检测下限 C_L 值, C_H/C_L 比值为线性范围。

6.2.2.5 荧光检测器性能

a) 波长示值误差和重复性

固定波长荧光检测器波长示值误差和重复性的检定, 需取出检测器中的滤光片, 参照 JJG 537—2006 《荧光分光光度计》5.3.3 的方法 (参见附录 B), 在经检定合格的紫外-可见分光光度计上测出其最大透射比对应的波长, 此波长与滤光片上标记的波长之差, 为波长示值误差。

可调波长荧光检测器波长示值误差和重复性的检定, 将检测器与数据处理系统连接好, 利用蔡在 290 nm (激发波长) 和 330 nm (发射波长) 有最大荧光强度的特性, 用

注射器从检测池入口注入 1.00×10^{-7} g/mL 的萘-甲醇溶液标准物质, 冲洗检测池并将其充满。调激发波长为 290 nm, 改变发射波长, 从 325 nm 到 335 nm, 每 (5~10) s 改变 1 nm, 记录每个波长下的吸收值 (吸收值变化的示意图类似图 3), 曲线最高点对应的波长与参考波长之差, 为发射波长示值误差, 重复测量 3 次, 其最大值与最小值之差为波长重复性。然后将发射波长调到测得的曲线最高点对应的波长, 改变激发波长 (从 285 nm 到 295 nm), 用与前面相同的方法测出激发波长的示值误差和重复性。

b) 基线漂移和基线噪声

将仪器各部分连接好, 选用 C_{18} 色谱柱, 以 100% 甲醇为流动相, 流量为 1.0 mL/min, 灵敏度选在最灵敏挡, 激发波长设定为 290 nm, 发射波长设定为 330 nm, 仪器预热稳定后, 记录基线 30 min, 根据检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的响应信号值, 按公式 (7) 计算基线噪声, 用检测器自身的物理量 (FU) 做单位表示; 基线漂移用 30 min 内基线偏离起始点最大响应信号值 (FU/30 min) 表示。

c) 最小检测浓度

在 6.2.2.5 中 b) 的色谱条件下, 待基线稳定后由进样系统注入 (10~20) μ L 的 1.00×10^{-7} g/mL (或 1×10^{-8} g/mL) 的萘-甲醇溶液, 记录色谱图, 按公式 (8) 计算最小检测浓度。

d) 线性范围

将检测器和数据处理系统连接好, 检测器的激发波长设定为 290 nm, 发射波长设定为 330 nm, 仪器稳定后, 向检测池中注入 100% 甲醇, 冲洗检测池, 至示值稳定后, 记下此值。然后按此法依次向池中注入 1×10^{-5} g/mL, 2×10^{-5} g/mL, 3×10^{-5} g/mL, ..., 1×10^{-4} g/mL 的萘-甲醇溶液, 记下每种溶液对应的响应信号值, 重复测量 3 次, 取平均值。以 5 个萘-甲醇溶液浓度 ($1 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-5}$) g/mL 和对应的响应信号值作标准曲线, 在曲线上找出萘-甲醇浓度大于 5×10^{-5} g/mL 各点读数, 与相应各浓度点的测量值做比较, 两值相差 5% 时的萘-甲醇溶液浓度为检测上限 C_H , 6.2.2.5 中 c) 得到的最小检测浓度 C_L 为检测下限, C_H/C_L 比值为线性范围。

注: 荧光检测器性能的检定过程中使用的 1×10^{-5} g/mL、 1×10^{-6} g/mL 和 1×10^{-8} g/mL 的萘-甲醇溶液可用 1.0×10^{-4} g/mL 的萘-甲醇溶液标准物质稀释而得。

6.2.2.6 示差折光率检测器性能

a) 基线漂移和基线噪声

选用 C_{18} 色谱柱, 将仪器各部分连接好, 以甲醇为流动相, 流量为 1.0 mL/min, 参比池充满流动相, 灵敏度选择在最灵敏挡, 接通电源, 待仪器稳定后记录基线 30 min, 根据检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的响应信号值, 按公式 (7) 计算基线噪声, 用检测器自身的物理量 (RIU) 表示; 基线漂移用 30 min 内基线偏离起始点最大响应信号值 (RIU/30 min) 表示。(实验中应特别注意, 室温的波动不要超过 2 $^{\circ}$ C)。

b) 最小检测浓度

在 6.2.2.6 中 a) 的色谱条件下, 待基线稳定后由进样系统注入 (10~20) μ L 的 5.0 μ g/mL 的甲醇中胆固醇溶液标准物质, 记录色谱图, 按公式 (8) 计算最小检测浓

度 C_L 。

c) 线性范围

将检测器与数据处理系统连接好,用甲醇反复冲洗样品池与参比池,并充满参比池,仪器稳定后记下响应信号值。依次向样品池中注入 1×10^{-4} g/mL, 2×10^{-4} g/mL, ..., 10×10^{-4} g/mL 甲醇中胆固醇溶液,记下上述各浓度溶液对应的响应信号值,重复测量 3 次,取平均值。以 5 个甲醇中胆固醇溶液浓度 ($1 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-4}$) g/mL 和对应的响应信号值作标准曲线,在曲线上找出甲醇中胆固醇溶液浓度大于 5×10^{-4} g/mL 各点对应的读数,与相应各浓度点的测量值做比较,两值相差 5% 时的甲醇中胆固醇溶液浓度为检测上限 C_H , 6.2.2.6 中 b) 得到最小检测浓度为检测下限 C_L , C_H/C_L 之比为线性范围。

6.2.2.7 蒸发光散射检测器性能

a) 基线漂移和基线噪声

选用 C_{18} 色谱柱,将仪器各部分连接好,以甲醇为流动相,流量为 1.0 mL/min,漂移管温度 70 °C (低温型 35 °C),雾化气体流速为 (2.5~3.0) L/min 或适当的气体压力 (280~350) kPa,灵敏度选择在适当的挡位,接通电源,待仪器稳定后记录基线 30 min,根据检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的响应信号值,按公式 (7) 计算基线噪声,用检测器自身的物理量 (mV) 表示;基线漂移用 30 min 内基线偏离起始点最大响应信号值 (mV/30 min) 表示。

b) 最小检测浓度

在 6.2.2.7 中 a) 的色谱条件下,待基线稳定后由进样系统注入 (10~20) μ L 的 5.0 μ g/mL (5.0×10^{-6} g/mL) 的甲醇中胆固醇溶液标准物质,记录色谱图,按公式 (8) 计算最小检测浓度 C_L 。

6.2.2.8 整机性能 (定性、定量重复性)

将仪器各部分联接好,选用 C_{18} 色谱柱,用 100% 甲醇为流动相,流量为 1.0 mL/min,根据仪器配置的检测器,选择测量参数:紫外-可见光检测器和二极管阵列检测器波长设定为 254 nm,灵敏度选择适中,基线稳定后由进样系统注入一定体积的 1.0×10^{-4} g/mL 萘-甲醇溶液标准物质;荧光检测器激发波长和发射波长分别设定为 290 nm 和 330 nm,灵敏度选在中间挡,基线稳定后注入一定体积的 1×10^{-5} g/mL 萘-甲醇标准溶液;示差折光率检测器和蒸发光散射检测器灵敏度选在中间挡,注入一定体积的 200 μ g/mL (2.0×10^{-4} g/mL) 的甲醇中胆固醇溶液标准物质。连续测量 6 次,记录色谱峰的保留时间和峰面积,按公式 (9) 计算相对标准偏差 RSD_6 。

$$RSD_{6\text{定性(定量)}} = \frac{1}{\bar{X}} \sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2 / (n-1)} \times 100\% \quad (9)$$

式中:

$RSD_{6\text{定性(定量)}}$ ——定性 (定量) 测量重复性相对标准偏差;

X_i ——第 i 次测得的保留时间或峰面积;

$\bar{X}$ ——6 次测量结果的算术平均值;

i ——测量序号；

n ——测量次数。

6.3 检定结果

6.3.1 按本规程条款检定，全部检定项目（详见第4章）均达到规定技术要求的仪器为合格仪器，发给检定证书。

6.3.2 只配一个检测器的仪器，任何一个检定项目不合格，该仪器为不合格仪器，发给检定结果通知书，注明不合格项。

6.3.3 配一个以上检测器的仪器，只要其中一个检测器的检定项目和除检测器外其他检定项目合格，可发给配该检测器的仪器检定证书。同时注明其他不合格的检测器，限制使用。

6.4 检定周期

仪器的检定周期一般不超过2年，更换重要部件或对仪器性能有影响时，应重新检定。

附录 A

色谱柱性能测试

A.1 液相色谱柱

A.1.1 柱效

反相色谱柱的理论塔板数一般在 $(3 \times 10^4 \sim 4 \times 10^4) \text{ m}^{-1}$ 范围内, 正相色谱柱的理论塔板数在 $(4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4) \text{ m}^{-1}$ 范围内。

A.1.2 色谱峰对称性: 被测峰(萘)的不对称因子 A_s 一般在 0.8~1.6 范围内。

A.2 色谱柱性能测试方法

A.2.1 测试条件和标准溶液

色谱柱性能测试条件和液相色谱仪的检定条件基本相同。反相色谱柱测试用的标准溶液为 $1 \times 10^{-4} \text{ g/mL}$ 尿嘧啶、 $1 \times 10^{-5} \text{ g/mL}$ 联苯和萘(萘)的甲醇溶液, 正相色谱柱测试用的标准溶液为 $1 \times 10^{-2} \text{ mL/mL}$ 甲苯和 $1 \times 10^{-4} \text{ mL/mL}$ 硝基苯的正己烷溶液。

A.2.2 柱效的测试方法

将被测试的色谱柱接到检定合格的液相色谱仪器上, 反相柱用甲醇+水(85%+15%)为流动相, 流速为 1 mm/s (内径为 4.6 mm 色谱柱, 流量为 1.0 mL/min), 紫外检测器波长为 254 nm , 灵敏度选择适中。按说明书操作, 开启仪器稳定后, 从进样口注入 $10 \mu\text{L}$ 反相色谱柱测试标准溶液, 记录色谱图(如图 A.1), 由公式(A.1)计算色谱柱效, 重复测量 3 次, 取平均值。

$$n = 5.54 \times \left[\frac{t_R}{W_{\frac{h}{2}}} \right]^2 \times 1000/L \quad (\text{A.1})$$

式中:

n ——理论塔板数;

t_R ——色谱峰的保留时间, min (时间测量需精确到 0.02 min);

$W_{\frac{h}{2}}$ ——色谱峰半高峰宽, min ;

L ——色谱柱长, mm 。

正相色谱柱的柱效测试条件和方法与反相色谱柱基本相同, 只是流动相为正己烷+异丙醇(99.5%+0.5%), 注入正相色谱柱测试标准溶液。

A.2.3 色谱峰对称性的计算

在 A.2.2 测得的色谱图中, 按公式(A.2)计算色谱峰的不对称因子 A_s 。

$$A_s = b/a \quad (\text{A.2})$$

式中:

a, b 分别为通过 $\frac{1}{10}h$ 峰高处、平行于峰底的直线被峰两侧及峰高截取的两线段的长度(见图 A.1)。

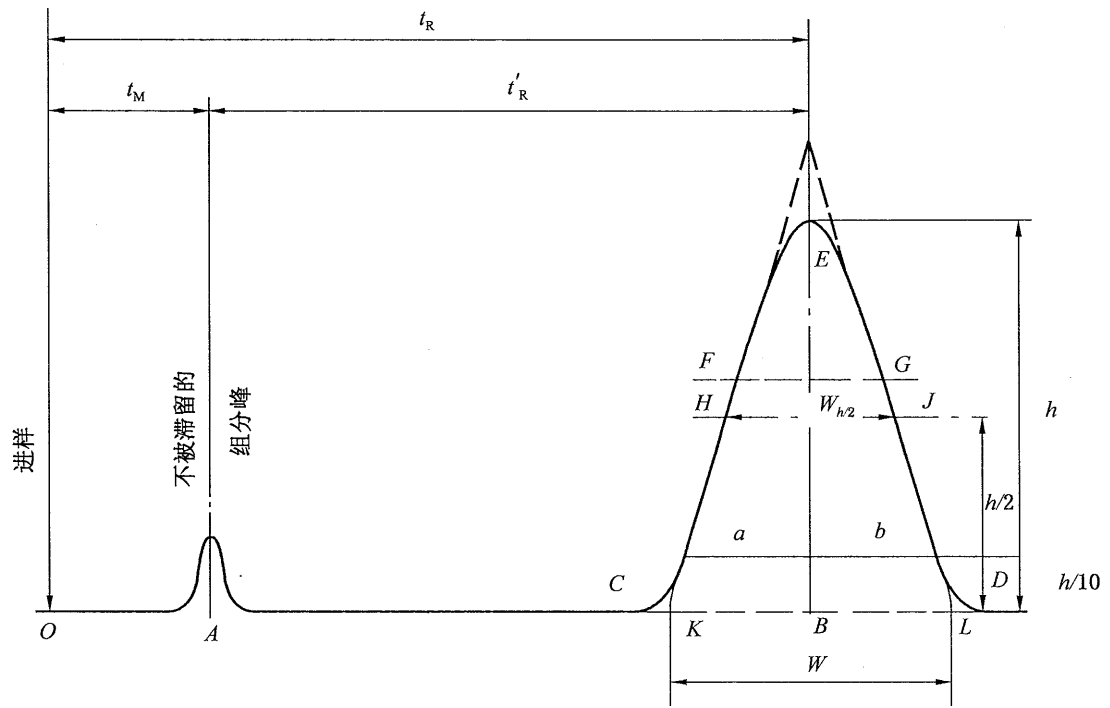


图 A.1 标准色谱图

附录 B

单色器滤光片的性能测试

B.1 带通型滤光片的波长示值误差

用紫外-可见分光光度计测量被检仪器的滤光片在各波长处的透射比，绘制透射比-波长特性曲线（见图 B.1）。由曲线求出最大透射比 $T_{\max}$ 对应的波长 $\lambda_{\max}$ ，则滤光片峰值波长误差：

$$\Delta\lambda = \lambda - \lambda_{\max} \quad (\text{B.1})$$

式中：

λ ——滤光片峰值波长标称值。

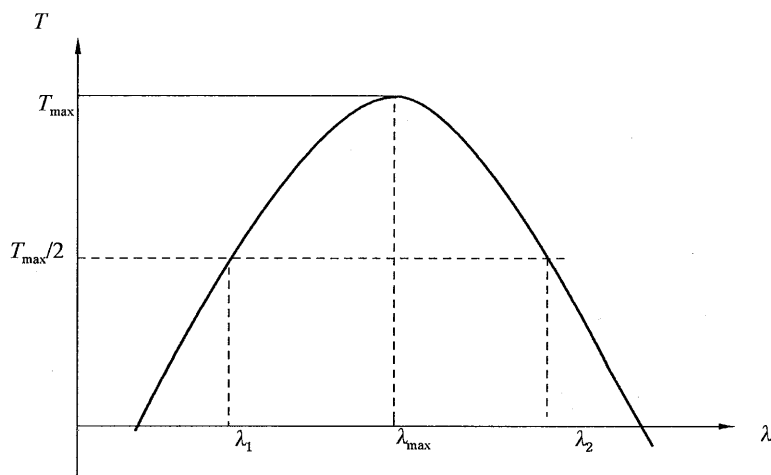


图 B.1 带通型滤光片透射比-波长特性曲线

B.2 截止型滤光片波长示值误差

截止型滤光片的透射光特性用半高波长表示。测量方法同 B.1，由图 B.2 所示曲线求出最大透射比 $T_{\max}$ ， $T_{\max}/2$ 所对应的波长 λ_3 为半高波长。

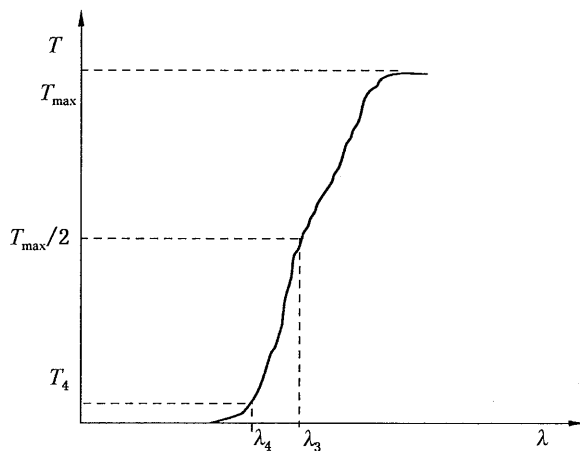


图 B.2 截止型滤光片透射比-波长特性曲线

附录 C

不同温度下流动相密度

C.1 水的密度

不同温度下纯水的密度见表 C.1。

表 C.1 不同温度下纯水的密度表

单位为 g/cm³

$t/^\circ\text{C}$	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
15	0.999 1	0.999 1	0.999 1	0.999 1	0.999 0	0.999 0	0.999 0	0.999 0	0.999 0	0.999 0
16	0.998 9	0.998 9	0.998 9	0.998 9	0.998 9	0.998 9	0.998 8	0.998 8	0.998 8	0.998 8
17	0.998 8	0.998 8	0.998 7	0.998 7	0.998 7	0.998 7	0.998 7	0.998 6	0.998 6	0.998 6
18	0.998 6	0.998 6	0.998 6	0.998 5	0.998 5	0.998 5	0.998 5	0.998 5	0.998 4	0.998 4
19	0.998 4	0.998 4	0.998 4	0.998 3	0.998 3	0.998 3	0.998 3	0.998 3	0.998 2	0.998 2
20	0.998 2	0.998 2	0.998 2	0.998 1	0.998 1	0.998 1	0.998 1	0.998 1	0.998 0	0.998 0
21	0.998 0	0.998 0	0.997 9	0.997 9	0.997 9	0.997 9	0.997 9	0.997 8	0.997 8	0.997 8
22	0.997 8	0.997 7	0.997 7	0.997 7	0.997 7	0.997 7	0.997 6	0.997 6	0.997 6	0.997 6
23	0.997 5	0.997 5	0.997 5	0.997 5	0.997 4	0.997 4	0.997 4	0.997 4	0.997 3	0.997 3
24	0.997 3	0.997 3	0.997 2	0.997 2	0.997 2	0.997 2	0.997 1	0.997 1	0.997 1	0.997 1
25	0.997 0	0.997 0	0.997 0	0.997 0	0.996 9	0.996 9	0.996 9	0.996 9	0.996 8	0.996 8
26	0.996 8	0.996 8	0.996 7	0.996 7	0.996 7	0.996 6	0.996 6	0.996 6	0.996 6	0.996 5
27	0.996 5	0.996 5	0.996 5	0.996 4	0.996 4	0.996 4	0.996 3	0.996 3	0.996 3	0.996 3
28	0.996 2	0.996 2	0.996 2	0.996 1	0.996 1	0.996 1	0.996 1	0.996 0	0.996 0	0.996 0
29	0.995 9	0.995 9	0.995 9	0.995 9	0.995 8	0.995 8	0.995 8	0.995 8	0.995 7	0.995 7
30	0.995 6	0.995 6	0.995 6	0.995 6	0.995 5	0.995 5	0.995 5	0.995 4	0.995 4	0.995 4
31	0.995 3	0.995 3	0.995 3	0.995 2	0.995 2	0.995 2	0.995 2	0.995 1	0.995 1	0.995 1
32	0.995 0	0.995 0	0.995 0	0.994 9	0.994 9	0.994 9	0.994 8	0.994 8	0.994 8	0.994 7
33	0.994 7	0.994 7	0.994 6	0.994 6	0.994 6	0.994 5	0.994 5	0.994 5	0.994 4	0.994 4
34	0.994 4	0.994 3	0.994 3	0.994 3	0.994 2	0.994 2	0.994 2	0.994 1	0.994 1	0.994 1
注：该纯水的密度表采用国际温标（ITS-90）的纯水密度表。										

C.2 纯甲醇的密度

不同温度下纯甲醇的密度按式（C.1）计算得出：

$$\rho_t = \rho_{20} - k(t - 20) \quad (\text{C.1})$$

式中：

ρ_{20} ——20 °C时纯甲醇的密度，0.791 g/cm³；

ρ_t —— t 温度条件下纯甲醇密度, g/cm^3 ;

t ——测定流速时温度, $^{\circ}\text{C}$;

k ——温度校正系数, $0.000\ 93\ \text{g}/\text{cm}^3 \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$ 。

附录 D

检定证书（内页）格式

检定结果

1. 外观检查
2. 输液系统
泵流量设定值/(mL/min):
 实测值/(mL/min):
 设定值误差 S_s /(%):
 重复性 S_R /(%):
 泵梯度误差 G_i /(%):
3. 柱温箱
柱箱温度设定值误差 ΔT_s :
 柱箱温度稳定性 T_c :
4. 检测器性能（以紫外-可见光检测器为例）
 基线噪声/(AU):
 基线漂移/(AU/h):
 波长示值误差/(nm):
 波长重复性/(nm):
最小检测浓度/(g/mL 萘-甲醇):
 线性范围:
5. 整机性能
定性重复性 RSD_6 /(%):
定量重复性 RSD_6 /(%):

以下空白

附录 E

液相色谱仪检定记录格式

液相色谱仪检定记录

送检单位		室温	℃
联系人及电话		相对湿度	%
仪器型号		检定员	
制造厂名		核验员	
出厂编号		记录编号	
检定日期		证书编号	

E.1 仪器外观：

E.2 泵耐压、泵流量设定值误差 (S_s) 和泵流量稳定性误差 (S_R)：

耐压/MPa	流动相			密度			
F_s (mL/min)	F_{s1}	$t_1 =$	F_{s2}	$T_2 =$	F_{s3}	$T_3 =$	
W_1							
W_2							
$W_2 - W_1$							
$(W_2 - W_1)/\rho$							
F_m							
$\overline{F_m}$							
S_s (%)							
S_R (%)							

E.3 梯度误差：

A 溶液				B 溶液		
B 溶液比例	0%	20%	40%	60%	80%	100%
L_i						
$L_{1i} - L_{1(i-1)}$						
L_{2i}						
$L_{2i} - L_{2(i-1)}$						
$\overline{L_i}$						
$\overline{\overline{L_i}}$						
$\overline{L_i} - \overline{\overline{L_i}}$						
G_i						

E.4 柱箱温度设定值误差 ΔT_s 和柱箱温度稳定性 T_c :

$T_{s1}/^{\circ}\text{C}$	序号	1	2	3	4	5	6	7	均值
	读数								
	ΔT_{s1}				T_{c1}				
$T_{s2}/^{\circ}\text{C}$	序号	1	2	3	4	5	6	7	均值
	读数								
	ΔT_{s2}				T_{c2}				

E.5 定性和定量测量重复性:

标物名称		浓度/(g/mL)			进样量		检测波长	
流动相		流量			灵敏度		波长范围	
序号	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD%
保留时间								
峰面积								

E.6 紫外-可见光检测器/二极管阵列检测器性能:

型号							波长范围						
波长示值误差			标准值	235 nm			257 nm		313 nm		350 nm		
			测量值										
			平均值										
示值误差													
波长重复性													
基线噪声							基线漂移						
最小检测浓度（萘-甲醇)/(g/mL)													
线性范围	丙酮/%	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0	C _H	
	读数												
	平均值												
最小检测浓度(丙酮)C _L							线性范围						

E.7 荧光检测器性能:

型号							波长范围					
波长示值误差	标准值		激发 290 nm					发射 330 nm				
	测量值											
	平均值											
示值误差												
波长重复性												
基线噪声							基线漂移					
最小检测浓度（萘-甲醇）/(g/mL)												
线性范围	萘-甲醇	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1.0	C _H
	读数											
	平均值											
最小检测浓度（萘-甲醇）C _L								线性范围				

E.8 示差折光率检测器性能:

型号						折光率检测范围						
基线噪声						基线漂移						
最小检测浓度(甲醇中胆固醇)/(g/mL)												
线性范围	胆固醇 (10 ⁻⁴)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1.0	C _H
	读数											
	平均值											
最小检测浓度(甲醇中胆固醇)C _L								线性范围				

E.9 蒸发光散射检测器性能:

型号		检测范围	
基线噪声		基线漂移	
最小检测浓度（甲醇中胆固醇）/(g/mL)			

中 华 人 民 共 和 国
国 家 计 量 检 定 规 程
液 相 色 谱 仪

JJG 705—2014

国家质量监督检验检疫总局发布

*

中国质检出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

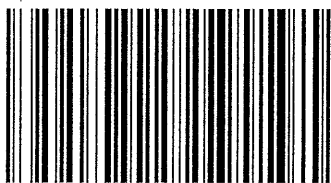
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 40 千字
2014年7月第一版 2014年7月第一次印刷

*

书号: 155026·J-2912

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



JJG 705-2014