

高效液相色谱仪期间核查方法研究

胡大方,王海波

(四川省兽药监察所,四川成都 610041)

[收稿日期] 2005-03-22 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2005)11-0014-02 [中图分类号] O652.2

[摘要] 高效液相色谱仪做为强制检定仪器除按规定定期送法定检定机构进行检定外,在两次检定周期之间还需对使用频率高的仪器进行期间核查以维持设备校准状态的可信度。本文简述了期间核查的项目和方法,包括外观检查、输液系统检查、色谱柱和检测器性能检查及做好检查和处理结果的记录。

[关键词] 高效液相色谱仪;检验仪器设备;期间核查

高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)作为一种分析方法已被广泛用于各种领域,成为常规分析技术之一,与传统的分离纯化技术相比,它的高效、快速及自动化的操作引起人们尤其是制药业的高度关注,HPLC正成为新世纪中药物分析技术的发展主流。在兽药药品标准及兽药残留量检测标准中,HPLC法被广泛采纳,无论是兽药生产企业还是兽药检验单位,高效液相色谱仪已成为了常规的检验用仪器设备。为了保证仪器设备的计量特性满足测试参数的要求,高效液相色谱仪作为强制检定仪器,需送法定检定机构进行检定。按高效液相色谱仪检定规程,其检定周期应为两年。但在两次检定周期之间,仪器设备使用时会出现一些常见的故障,譬如:漏液、柱压不稳、保留时间不稳定、峰面积重现性不好、理论塔板数不够、基线漂移等,这些因素势必会对我们的分析结果造成一定偏差。为了保证测定数据的准确度,按照《检测和校准实验室能力的通用要求》的要求,对使用频率高的仪器需利用期间核查以维持设备校准状态的可信度。参照计量仪器设备检定规程以及我所多年来进行仪器校准的实际经验,制定了高效液相色谱仪期间核查校准方法,由设备管理员每六个月对色谱仪器进行一次核查。

1 外观

先检查贮液器是否清洁,尽可能使用 HPLC 级

的溶剂,非 HPLC 级的流动相一定要通过微孔滤膜过滤以除去其中的微粒物质,同时更换掉陈旧的流动相。检查吸滤头是否堵塞,若有堵塞现象,可先用异丙醇超声,然后再用甲醇或乙腈清洗干净。检查仪器电源线、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。(对于外观的检查是很有必要的,电源线和信号线还应该着重检查有无破损和漏电现象,如发现有上述问题,应该及时更换,避免造成更大的损失;指示灯指示着仪器的运行状态,灵敏与否同样至关重要。)

2 输液系统

2.1 输液管路接口 应紧密牢固,在规定的压力范围内无泄漏。检定方法:将仪器各部分连接好,以 100% 甲醇为流动相,流量为 1.0 mL/min,按说明书启动仪器,待压力平稳后保持 10 min,用滤纸检查各管路接口应无湿迹。

我们常用的高压管路材料有两种:不锈钢管和 PEEK 管,各有其优缺点。不锈钢管有精密的同轴度且能耐腐蚀,但是不便于经常拆卸;而在实际工作中经常需要改变流路和使用不同品牌的色谱柱,这时使用 PEEK 材料制成的管路和接头会非常方便,手拧即可固定,而且容易调节锥箍之外的管路长度,但是其压力限低于不锈钢管,当压力过高时,可能会使接头在管路上滑动而产生死体积或漏液,同时使色谱峰变宽且有拖尾现象。

作者简介:胡大方(1958年~),女,高级兽医师,从事兽药检测业务的管理工作。

在测定有无漏液情况时,应该接上色谱柱,保证系统处于高压状态,这样才能反映仪器的真实性能,如果使用的是 PEEK 管线连接,则应注意色谱柱的长度和流速,检查时滤纸在各管路接口停留时间应该稍长一些。

2.2 流量设定值误差 S_S 和流量稳定性误差 S_R
 S_S 和 S_R 应符合表 1 的要求。

表 1 S_S 和 S_R 的技术要求

流量设定值 /(mL·min ⁻¹)	测定次数	流动相收集 时间 /min	允许误差 /%	
			S_S	S_R
0.5	3	10	5	3
1.0	3	7	3	2
2.0	3	3	2	2

检定方法:按表 1 的要求设定流量,启动仪器,等压力稳定后,在流动相排出口用事先清洗称量过的容量瓶收集流动相,同时用秒表计时,准确在 3~10 min 收集,称重。按 (1)、(2)、(3) 式计算 S_S 和 S_R 。

$$F_m = (W_2 - W_1) / \tau \cdot t \quad (1)$$

$$S_S = |F - F_S| / F_S \times 100\% \quad (2)$$

$$S_R = (F_{m_{\max}} - F_{m_{\min}}) / F \times 100\% \quad (3)$$

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;

F_S 流量设定值, mL/min;

τ 实验温度下流动相的密度, g/cm³;

t 收集流动相的时间, min;

$F_{m_{\max}}$ 同一组测量中流量最大值, mL/min;

$F_{m_{\min}}$ 同一组测量中流量最小值, mL/min;

F 同一组测量 F_m 的算术平均值, mL/min。

对于流量精度的测定,不一定完全按照上述的方法检查,可以根据仪器配制情况来定。比如:将流动相改为水,改变流速等,但是在使用水作流动相时,有必要用直通换下色谱柱,因为长时间处于水环境中的色谱柱很难恢复。

3 色谱柱及检测器

3.1 定性重复性误差 6 次测量值的 RSD 应小于或等于 1.5%。

3.2 定量重复性误差 6 次测量值的 RSD 应小于或等于 3.0%。

检定方法:将仪器各部分连接好,选用 C₁₈ 色谱

柱,以甲醇-水 (85:15) 作为流动相,流量为 1.0 mL/min,检测波长为 254 nm,灵敏度选择在 0.1 左右 (现在很多色谱软件能自动调整范围),基线稳定后用注射器注入适量 (5~20 μ L) 的含 1×10^{-5} g/mL 萘和 3×10^{-5} g/mL 甲苯的甲醇溶液,连续测量 6 次,记录色谱峰的保留时间和峰面积,分别计算相对标准偏差 RSD ,同时计算两主峰之间的分离度 (《中国兽药典》要求分离度应大于 1.5)。

此项测定是检查仪器的整机性能,同时考察了进样准确性、色谱柱分离性能、检测器灵敏度等。由于现在高效液相色谱仪一般都配有色谱处理软件,所以这项测定结果可直接在软件上操作,即可得出 RSD 。

4 检查记录与处理

在按照上述方法逐项检查的同时如实作好相关记录。在检查过程中如发现异常现象,应及时处理,并记录好相应的处理方法及处理结果,以备日后查阅。若所有检查结果均能符合上述各项要求,即可出具“正常”报告,并将报告归入仪器档案保存。

以上系我们进行高效液相色谱仪期间核查中所采取的方法。另外,在仪器噪声和基线漂移方面,由于我所有多种不同厂家、不同型号的高效液相色谱仪,每台仪器所要求的测试方法和技术参数不尽相同,如岛津的紫外检测器需要以空气作为空白等,所以在制定上述核查程序时未作统一规定。

综上所述,高效液相色谱仪期间核查在我们的日常工作中是很有必要的,它为检测数据的准确性提供了可靠保障。通过我所多年在仪器管理方面的经验来看,上述方法操作简便快捷,结果准确,采用该方法校准的高效液相色谱仪经与按标准检定规程检定后的仪器相比较,在仪器的性能指标上都表现为一致。

参考文献:

- [1] 国家质量监督检验检疫总局. 中华人民共和国国家计量检定规程. 液相色谱仪 [S]. 2002.
- [2] 国家质量技术监督局. 中华人民共和国国家标准. 检测和校准实验室能力的通用要求 [S]. 2000.
- [3] 中国药品检验标准操作规范 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2000.
- [4] 吴方迪. 色谱仪器维护与故障排除 [M]. 北京:化学工业出版社, 2002.
- [5] 马广慈. 药物分析方法与应用 [M]. 北京:科学出版社, 2000.