



中华人民共和国国家计量检定规程

JJG 705—2002

液 相 色 谱 仪

Liquid Chromatographs

2002 - 05 - 24 发布

2002 - 08 - 24 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

JJG 705—2002
代替 JJG 705—1990

本规程经国家质量监督检验检疫总局于 2002 年 05 月 24 日批准，并自 2002 年 08 月 24 日起施行。

归口单位：全国物理化学计量技术委员会

起草单位：国家标准物质研究中心

本规程委托全国物理化学计量技术委员会负责解释

本规程主要起草人：

赵 敏 （国家标准物质研究中心）

参加起草人：

吴方迪 （国家标准物质研究中心）

何雅娟 （国家标准物质研究中心）

目 录

1 范围	(1)
2 概述	(1)
3 计量性能要求	(1)
3.1 输液系统	(1)
3.2 柱温箱	(1)
3.3 检测器	(1)
3.4 整机性能	(2)
4 通用技术要求	(2)
4.1 仪器外观	(2)
4.2 仪器电路系统	(2)
5 计量器具控制	(3)
5.1 检定条件	(3)
5.2 检定项目和检定方法	(3)
5.3 检定结果的处理	(9)
5.4 检定周期	(9)
附录 A 色谱柱性能测试	(10)
附录 B 检定证书(内页)格式	(12)
附录 C 液相色谱仪检定记录格式	(13)

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、荧光检测器和示差折光率检测器的液相色谱仪的首次检定、后续检定和使用中检验。液相色谱仪样机试验和定型鉴定中有关计量性能试验可参照本规程进行。

2 概述

液相色谱仪（以下简称仪器）是由输液系统、进样器、色谱柱（柱温箱）、检测器和数据记录处理装置等部分组成的分析仪器，图1是其组成的方框图。液相色谱仪利用试样中各组分在色谱柱内固定相和流动相分配或吸附特性的差异，由流动相将试样带入色谱柱中进行分离，经检测器检测，依据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。

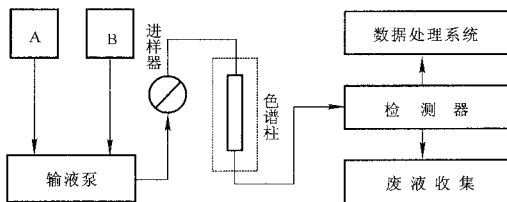


图1 液相色谱仪组成方框图

3 计量性能要求

3.1 输液系统

3.1.1 输液管路接口紧密牢固，在规定的压力范围内无泄漏。

3.1.2 流量设定值误差 S_s 和流量稳定性误差 S_R 应符合表1的要求。

3.1.3 梯度误差 G_e ：不超过 $\pm 3\%$ 。

3.2 柱温箱

3.2.1 柱箱温度设定值误差 ΔT_s ：不超过 $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

3.2.2 温度稳定性 T_e ：不超过 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

3.3 检测器

液相色谱仪检测器的主要技术指标见表2。

表 1 流量设定值误差 S_s 和流量稳定性误差 S_R 的要求

流量设定值/(mL/min)		0.5	1.0	2.0
测量次数		3	3	3
流动相收集时间/min		10	5	5
允许误差	S_s	5%	3%	2%
	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。

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
* 基线噪声	不超过 5×10^{-4} AU	不超过 5×10^{-4} FU	不超过 5×10^{-7} RIU
* 基线漂移	不超过 5×10^{-3} AU/h	不超过 5×10^{-3} FU/h	不超过 5×10^{-6} RIU/h
* 最小检测浓度	不超过 1×10^{-7} g/mL 萘/甲醇溶液	不超过 1×10^{-9} g/mL 硫酸奎宁/高氯酸水溶液	不超过 5×10^{-6} g/mL 丙三醇/水溶液
波长示值误差 波长重复性	不超过 ± 2 nm 优于 2 nm	不超过 ± 5 nm 优于 2 nm	
线性范围	优于 10^3	优于 10^3	优于 10^3
换挡误差	优于 2%	优于 2%	优于 2%

3.4 整机性能

仪器的整机性能用定性定量测量重复性表示。

3.4.1 * 定性测量重复性 (6次测量) RSD_6 : 不超过 1.5%。

3.4.2 * 定量测量重复性 (6次测量) RSD_6 : 不超过 3.0%。

注：* 与检定结果的处理有关，详见 5.3 条。

4 通用技术要求

4.1 仪器外观

仪器上应有仪器的名称、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。

4.2 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。

5 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验。

5.1 检定条件

5.1.1 环境条件

5.1.1.1 检定室应清洁无尘，无易燃、易爆和腐蚀性气体，排风良好。

5.1.1.2 室温在 $15 \sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，检定过程中温度变化不超过 $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ （对示差折光率检测器，室温变化不超过 $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ），室内湿度在 $20\% \sim 85\% \text{ RH}$ 范围内。

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

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

5.1.2 检定设备

5.1.2.1 秒表：分度值不大于 0.1 s 。

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

5.1.2.3 数字温度计：测量范围为 $0 \sim 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，最小分度不大于 $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

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

以上计量器具需经计量检定合格。

5.1.2.5 10 mL 注射器一支。

5.1.2.6 游标卡尺： $15\text{ cm}/0.02\text{ mm}$ 。

5.1.2.7 容量瓶： 50 mL ，10 个。

5.1.3 标准物质：

$1 \times 10^{-4}\text{ g/mL}$ ， $1 \times 10^{-7}\text{ g/mL}$ 的萘/甲醇溶液；

$1 \times 10^{-6}\text{ g/mL}$ ， $1 \times 10^{-9}\text{ g/mL}$ 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液；

$1 \times 10^{-3}\text{ g/mL}$ ， $1 \times 10^{-5}\text{ g/mL}$ 的丙三醇/水溶液；

紫外波长标准溶液。

5.1.4 其他要求

5.1.4.1 检定用试剂：HPLC 用甲醇、纯水，分析纯的丙酮和异丙醇等。

5.1.4.2 其他玻璃器皿等

5.2 检定项目和检定方法

5.2.1 检定项目

检定项目见表 3。

表 3 检定项目一览表

序号	检定项目	首次检定	后续检定	使用中检验
1	泵耐压检定	+	-	-
	泵流量设定值误差 S_s	+	+	+
	泵流量稳定性误差 S_R	+	+	+
	梯度误差 G_e	+	+	-

表 3 (续)

序号	检定项目	首次检定	后续检定	使用中检验
2	柱箱温度设定值误差 $\Delta T_s^{\text{①}}$	+	+	-
	柱箱温度稳定性 $T_c^{\text{②}}$	+	+	-
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	+	-	-
	换挡误差	+	-	-
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,此项目不检定。 ③ 紫外-可见光、二极管阵列和荧光检测器检定此项目,示差折光率检测器不检定此项目。				

5.2.2 检定方法

5.2.2.1 通用技术要求的检查

按第 4.1、4.2 条的要求,目视、手动检查。

5.2.2.2 输液系统的检定

a) 泵耐压检定

将仪器各部分连接好,以 100%甲醇为流动相,流量为 1 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应无湿迹。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 无泄漏。

b) 泵流量设定值误差 S_s 、流量稳定性误差 S_R 的检定

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清洗称重过的容量瓶收集流动相,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,按式(1)、式(2)计算 S_s 和 S_R 。

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

$$S_R = (F_{\max} - F_{\min}) / \bar{F}_m \times 100\% \quad (2)$$

式中: F_m —— $F_m = (W_2 - W_1) / (\rho_t \cdot t)$, 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;

t ——收集流动相的时间, min;

$\bar{F}_m$ ——同一组测量的算术平均值, mL/min;

F_s ——流量设定值, mL/min;

$F_{\max}$ ——同一组测量中流量最大值, mL/min;

$F_{\min}$ ——同一组测量中流量最小值, mL/min。

c) 梯度误差的检定

由梯度控制装置设置阶梯式的梯度洗脱程序, A 溶剂为纯水, B 溶剂为含 0.1% 丙酮的水溶液, B 经由 5 个阶梯从 0 变到 100%, 如图 2 所示。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, 画出梯度变化曲线。求出 A, B 溶剂不同比例时的输出信号值(或记录仪读数), 重复测量 2 次, 计算平均值。从 B 溶剂的含量及对应的输出信号值(或记录仪读数), 按式(3)计算梯度误差 G_{ci} , 取 G_{ci} 最大者作为仪器梯度误差。

$$G_{ci} = (\bar{L}_i - \bar{L}_m) / \bar{L}_m \times 100\% \quad (3)$$

式中: G_{ci} ——第 i 段梯度误差(%);

$\bar{L}_i$ ——第 i 段输出信号值(或记录仪读数)平均值;

$\bar{L}_m$ ——各段输出信号(或记录仪读数)平均值的平均值。

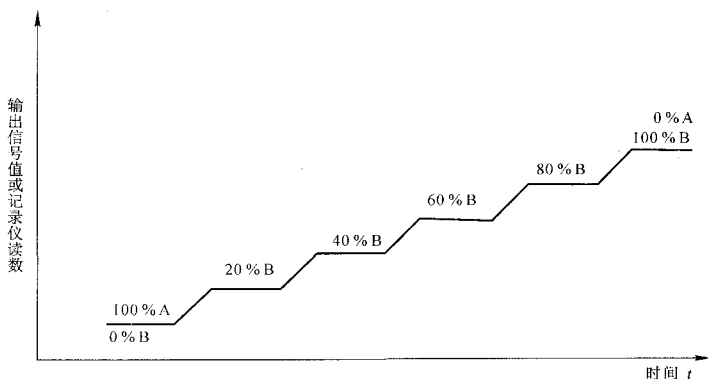


图2 梯度误差检定示意图

5.2.2.3 柱温箱温度设定值误差 ΔT_s 和控温稳定性 T_c 的检定

将数字温度计探头固定在柱温箱内, 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 记录一次读数, 共计 7 次, 求出平均值。平均值与设定值之差为 ΔT_s , 7 次读数中最大值与最小值之差为控温稳定性 T_c 。

5.2.2.4 紫外-可见光检测器和二极管阵列检测器的检定

a) 波长示值误差和重复性的检定

将检测器和记录仪连接好,通电预热稳定后,用注射器将紫外波长标准溶液(标准波长为 235 nm, 257 nm, 313 nm 和 350 nm)从检测器入口注入样品池中冲洗,并将池充满。将检测器波长调到低于标准波长 5 nm 处(例如检定 257 nm 时,检测器波长先调到 252 nm),记录纸速调到 2~4 cm/min,记录笔调到记录纸的中间,启动记录仪,记录笔画出一条直线。调检测器波长,每 5~10 s 改变 1 nm,记录仪上将画出如图 3 所示的折线,折线的最高点(或最低点)对应的波长与标准溶液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误差。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标准溶液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)对应的波长与标准溶液波长之差为波长示值误差。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 0.5~1.0 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,用注射器注入紫外吸收标准溶液 5~10 μ L,这样将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标准溶液波长之差,即为波长示值误差。

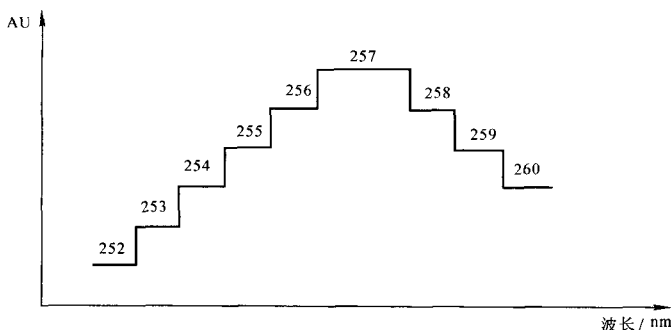


图 3 波长示值误差检定记录示意图

b) 基线噪声和基线漂移的检定

选用 C_{18} 色谱柱,以 100% 甲醇为流动相,流量为 1.0 mL/min,紫外检测器的波长选在 254 nm,检测灵敏度调到最灵敏挡,记录纸速调至 5~10 mm/min。开机预热,待仪器稳定后记录基线 30 min,由检测器的衰减倍数和测得的基线峰-峰高对应的记录仪标度,计算基线噪声,用检测器自身的物理量(AU)作单位表示。

$$N_d = KB \quad (4)$$

式中: N_d ——检测器基线噪声;

K ——衰减倍数;

B ——测得的基线峰-峰高对应的记录仪标度, AU。

基线漂移用 1 h 内基线偏离原点的值 (AU/h) 表示。

c) 最小检测浓度的检定

在 5.2.2.4 中 b) 的色谱条件下, 用微量注射器从进样口注入 $10 \sim 20 \mu\text{L } 1 \times 10^{-7} \text{ g/mL}$ 的萘/甲醇溶液, 记录色谱图, 由色谱峰高和基线噪声峰 - 峰高, 按式 (5) 计算最小检测浓度 c_L (按 $20 \mu\text{L}$ 进样量计算)。

$$c_L = \frac{2N_d cV}{20H} \quad (5)$$

式中: c_L ——最小检测浓度, g/mL;

N_d ——基线噪声峰 - 峰高, mm;

c ——标准溶液浓度, g/mL;

H ——标准溶液的色谱峰高, mm;

V ——进样体积, μL 。

d) 线性范围的检定

将检测器和记录仪连接好, 检测器波长选在 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记录仪读数不变, 记下此值。之后, 依照上法分别注入丙酮/2% 异丙醇系列水溶液 (丙酮含量为 0.1%, 0.2%, ..., 1.0%) 冲洗检测池, 并记下各溶液对应的稳定记录仪读数, 每个溶液重复测量 3 次, 取算术平均值。以 5 个丙酮含量 (0.1% ~ 0.5% 5 个点) 和对应的记录仪读数做标准曲线, 在曲线上找出丙酮含量大于 0.5% 各点的读数, 与对应含量的测量值做比较, 测量值低于读数 5% 时, 认为曲线弯曲, 此点的浓度作为检测上限 c_H 。按 5.2.2.4 中 c) 的方法和式 (5) 测出丙酮的 c_L 值, 由 c_H/c_L 算出检测器的线性范围。

e) 灵敏度换挡误差的检定

在 5.2.2.4 中 b) 的色谱条件下, 将记录笔调到记录纸中间, 纸速调到 $2 \sim 4 \text{ cm/min}$, 待基线平稳后依次改变灵敏度挡位, 记录纸上画出相应的折线, 重复测量 3 次, 量出每两挡对应的记录曲线间的距离, 取算术平均值, 按式 (6) 计算相邻两挡的误差 H_i , 取 H_i 最大值表示换挡误差。

$$H_i = \frac{X_i Y_i - X_{i+1} Y_{i+1}}{X_i Y_i} \times 100\% \quad (6)$$

式中: X_i, X_{i+1} ——选择器第 i 挡、第 $i+1$ 挡的标称值;

Y_i, Y_{i+1} ——选择器在第 i 挡、第 $i+1$ 挡时记录的曲线间距离。

5.2.2.5 荧光检测器性能的检定

a) 波长示值误差和重复性的检定

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 538—1988 荧光光度计检定规程, 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, 利用萘在 290 nm (激发波长) 和 330 nm (发射波长) 有最大荧光强度的特性, 采用静态法进行。检定方法与紫外检测

器波长检定基本相同,将检测器与记录系统连接好,用注射器从检测池入口注入 1×10^{-5} g/mL 的萘/甲醇溶液,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,记录系统上画出如图 3 类似的图形,曲线最高点对应的波长与标准波长之差,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误差。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误差。

b) 基线漂移和基线噪声的检定

将仪器各部分连接好,选用 C_{18} 色谱柱,以 85% 甲醇/水溶液为流动相,流量为 1.0 mL/min,灵敏度选在最灵敏挡,激发波长选在 345 nm,发射波长选在 455 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-峰高对应的记录仪标度,按式(4)计算基线噪声和漂移,用检测器自身的物理量(FU)做单位表示。

c) 最小检测浓度的检定

在 5.2.2.5 中 b) 的色谱条件下,待基线稳定后由进样器注入 $10 \sim 20 \mu\text{L } 1 \times 10^{-9}$ g/mL 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液,记录色谱图,按式(5)计算最小检测浓度。

d) 线性范围的检定

检定方法同 5.2.2.4 中 d),将检测器和记录仪连接好,检测器的激发波长为 345 nm,发射波长为 455 nm,仪器稳定后,用注射器直接向检测池中注入 0.05 mol/L 的高氯酸水溶液,冲洗检测池,至记录仪读数不变,记下记录仪读数,然后按此法依次向池中注入 1×10^{-5} , 2×10^{-5} , 3×10^{-5} , ..., 1×10^{-4} g/mL 的硫酸奎宁/高氯酸水溶液,记下每种溶液对应的记录仪读数,重复测量 3 次,取平均值。以 5 个硫酸奎宁含量($1 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-5}$ g/mL)和对应的记录仪读数作标准曲线,在曲线上找出硫酸奎宁含量大于 5×10^{-5} g/mL 各点读数,与测量值比较,测量值与曲线读数差 5% 时的硫酸奎宁含量为检测上限 c_H 。5.2.2.5 中 c) 得到的最小检测浓度 c_L 是检测下限, c_H/c_L 比值为线性范围。

e) 灵敏度换挡误差的检定

色谱条件同 5.2.2.5 中 d),实验操作和计算方法同 5.2.2.4 中 e)。

5.2.2.6 差示折光率检测器性能检定

a) 基线漂移和基线噪声的检定

选用 C_{18} 色谱柱,将仪器各部分联接好,以 HPLC 用水为流动相,流量为 1 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-峰高对应的记录仪标度,按式(4)计算基线噪声和基线漂移,用检测器自身的物理量(RIU)表示。(实验中应特别注意,室温的波动不要超过 2 °C)。

b) 最小检测浓度的检定

在 5.2.2.6 中 a) 的色谱条件下,待基线稳定后由进样器注入 $10 \sim 20 \mu\text{L } 1 \times 10^{-5}$ g/mL 丙三醇水溶液,记录色谱图,按式(5)计算最小检测浓度 c_L 。

c) 线性范围的检定

线性范围的检定方法同 5.2.2.4 中 d)。将检测器与记录仪连接好,用 HPLC 用水反复冲洗样品池与参比池,并充满参比池,仪器稳定后记下记录仪读数。依次向样品池中注入 1×10^{-3} , 2×10^{-3} , ..., 10×10^{-3} g/mL 丙三醇水溶液,记下各溶液对应的记录仪读数,重复测量 3 次,取平均值。以 5 个丙三醇含量 ($1 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-3}$ g/mL) 和对应的记录仪读数作标准曲线,在曲线上找出丙三醇含量大于 5×10^{-3} g/mL 各点对应的读数,与相应含量的测量值做比较,两值相差 5% 时的丙三醇含量为检测上限 c_H 。5.2.2.6 中 b) 得到最小检测浓度即检测下限 c_L , c_H/c_L 之比值为线性范围。

d) 灵敏度选择器换挡误差的检定

色谱条件同 5.2.2.6 中 b), 实验操作和计算方法同 5.2.2.4 中 e)。

5.2.2.7 整机性能(定性、定量重复性)的检定

将仪器各部分联接好,选用 C_{18} 色谱柱,根据仪器配置的检测器,选择流动相和测量参数:紫外检测器和二极管阵列检测器用 100% 甲醇为流动相,流量为 1.0 mL/min,检测波长为 254 nm,灵敏度选择在 0.04 左右,基线稳定后由进样器注入 $5 \sim 10 \mu\text{L}$ 的 1×10^{-4} g/mL 萘/甲醇标准溶液;荧光检测器用 85% 甲醇/水溶液做流动相,流量为 1.0 mL/min,激发波长和发射波长分别为 345 nm 和 455 nm,灵敏度选在中间挡,基线稳定后注入 $5 \sim 10 \mu\text{L}$ 1×10^{-6} g/mL 硫酸奎宁/高氯酸水溶液;差示折光率检测器用 100% 的水为流动相,流量为 1.0 mL/min,灵敏度选在中间挡,注入 $5 \sim 10 \mu\text{L}$ 的 1×10^{-3} g/mL 的丙三醇水溶液。连续测量 6 次,记录色谱峰的保留时间和峰面积,按式 (7) 计算相对标准偏差 RSD_0 。

$$RSD_{6\text{定性(定量)}} = \sqrt{\sum_{i=1}^6 (X_i - \bar{X})^2 / (6 - 1)} \times \frac{1}{\bar{X}} \times 100\% \quad (7)$$

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。

5.3 检定结果的处理

5.3.1 按本规程条款检定,凡带 * 号的检定项目(详见 3 计量性能要求)全部达到规定技术要求的仪器为合格仪器,发给检定证书。

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

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

5.4 检定周期

液相色谱仪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怀疑时,应随时检定。

附录 A

色谱柱性能测试

A.1 液相色谱柱性能

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 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 10^{-4} g/mL 尿嘧啶、 10^{-5} 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 10^{-2} mL/mL 甲苯和 10^{-4} 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 , 灵敏度选择在 0.04 左右, 记录纸速为 $10 \sim 20 \text{ mm/min}$ 。按说明书操作, 开启仪器稳定后, 从进样口注入 $10 \mu\text{L}$ 反相柱测试标准溶液, 记录色谱图(如图 A1), 由式(A1)计算色谱柱效, 重复测量 3 次, 取平均值。

$$n = 5.54 \times \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2 \times 1000/L \quad (\text{A1})$$

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);

$W_{h/2}$ ——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, 按式(A2)计算色谱峰的不对称因子 A_s 。

$$A_s = b/a \quad (\text{A2})$$

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 A1)。

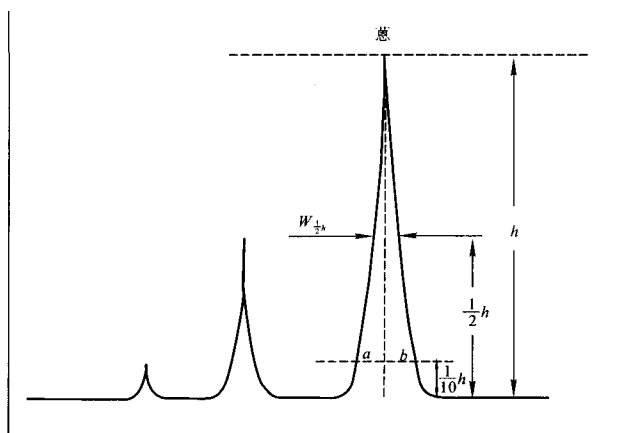


图 A1 色谱峰示意图

附录 B

检定证书（内页）格式

检 定 结 果

B.1 外观检查

B.2 泵流量设定误差和重复性误差

泵流量设定值/ (mL/min): 0.5 1.0 1.5

实测值/ (mL/min):

设定误差 $S_s/\%$:

重复性误差 $S_R/\%$:

泵梯度误差 $G_e/\%$:

B.3 柱箱温度设定值误差 ΔT_s :

柱箱温度稳定性 T_e :

B.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:

换挡误差/ %:

B.5 整机性能

定性重复性 $RSD_6/\%$:

定量重复性 $RSD_6/\%$:

附录 C

液相色谱仪检定记录格式

液相色谱仪检定记录

记录编号:

年 月 日

送检单位		室 温	
联系电话		湿 度	
仪器型号		气 压	
制 造 厂		检 定 员	
出厂编号		核 验 员	
检定日期		证书编号	

C.1 外观检查

C.2 泵流量设定值误差及流量稳定性误差的检定

耐压/MPa	流动相		密度	
F_s	$F_{s1} =$	$t_1 =$	$F_{s2} =$	$t_2 =$
W_1			$F_{s3} =$	$t_3 =$
W_2				
$W_2 - W_1$				
$(W_2 - W_1) / \rho$				
F_m				
$\bar{F}$				
S_s				
$\cdot S_R$				

C.3 紫外—可见光检测器/二极管阵列检测器性能检定

型 号						波长范围							
波长示值误差		235 nm			257 nm			313 nm			350 nm		
波长重复性													
· 基线噪声						· 基线漂移							
· 最小检测浓度 (蔡)						最小检测浓度 (丙酮)							
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												
	标示值												
换挡误差	读 数												

C.4 * 定性定量测量重复性的检定

标物名称		浓度			进样量			波长	
流动相		流量			灵敏度选择			纸速	
序号	1	2	3	4	5	6	平均	S	RSD _s
保留时间									
峰面积									

C.5 柱温箱温度设定值误差及控温稳定性的检定

T_{s1}	序号	1	2	3	4	5	6	7	平均
	读数								
	ΔT_{s1}				T_{c1}				
T_{s2}	序号	1	2	3	4	5	6	7	平均
	读数								
	ΔT_{s2}				T_{c2}				

C.6 梯度准确度的检定

B 溶液变化范围		0%	20%	40%	60%	80%	100%
记录仪读数	1						
	2						
	$\bar{L}_i$						
$\bar{L}_i - \bar{L}_m$							
G_{ci}							

C.7 荧光检测器性能检定

型号					波长示值 误差		激发波长	
* 基线噪声							发射波长	
* 基线漂移					* 最小检测浓度			
线性范围	标准溶液浓度							c_H
	读数							
换挡	标示值							
误差	实测值							

C.8 示差折光率检测器性能检定

型号		折光率检测范围									
基线噪声		基线漂移									
最小检测浓度											
线性范围	标准溶液浓度										
	读数										
											c_H
换挡误差	标示值										
	实测值										

C.9 液相色谱柱性能测试记录

测试日期:

柱型号	柱长	内径	流动相	流量	衰减	纸速
组分名称	t_R/min	$W_{1/2}/\text{min}$	N	A/min	B/min	A/B