

JB

中华人民共和国机械行业标准

JB / T 6857 - 93

液相色谱仪试验方法

1993 - 07 - 09 发布

1994 - 01 - 01 实施

中华人民共和国机械工业部 发布

液相色谱仪试验方法

1 主题内容和适用范围

标准规定了液相色谱仪的试验方法。

本标准适用于液相色谱仪(以下简称仪器)。不适用于专用液相色谱仪。

2 引用标准

GB 4793 电子测量仪器 安全要求

GB 6587.7 电子测量仪器 基本安全试验

ZB Y002 仪器仪表运输、运输贮存基本环境条件及试验方法

ZB N52001 液相色谱固定波长(254nm)紫外吸收检测器试验方法

3 术语

下列术语仅适用于本标准。

仪器的启动时间:系指在正常试验条件下,当仪器达到稳定性、灵敏度或敏感度要求后,关机停 8h 以上,再次启动仪器,在试验条件下,重新达到稳定性、灵敏度或敏感度要求时所需要的时间。

4 环境要求

仪器应在以下所规定的正常条件下试验:

- a. 环境温度:10~35℃;
- b. 相对湿度:不大于 80%;
- c. 供电电源:电压 $220 \pm 22\text{V}$, 频率 $50 \pm 0.5\text{Hz}$;
- d. 室内应避免易燃、易爆和强腐蚀性气体及强烈的机械振动、电磁干扰和空气对流等;
- e. 接地电阻小于 1Ω 。

5 试验顺序

本标准的条款顺序,不作为试验时规定顺序,试验时可根据具体情况灵活安排,但应以以后一试验不受前一试验的影响为原则。

6 输液系统和色谱柱

6.1 以下所用试剂规格均为分析纯级,所用流动相均应脱气处理。

6.2 液路密封性

连接输液系统、进样装置及色谱柱,由输液系统输送甲醇——水溶液经色谱柱至废液瓶,调节流量,使压力达到或接近上限值,压力显示稳定后保持 15min,用滤纸检查各接头处,应无湿润现象。

6.3 流量稳定性

6.3.1 试验设备

分度为 0.01ml、0.02ml 的吸量管各一支;

分度为 1% 的秒表一只。

6.3.2 试验条件

流量: 0.2, 0.5, 1.2 ml / min;

流动相: 二次蒸馏水;

色谱柱: 反相柱 [C18, 5(10)μ]

温度: 室温 ± 2℃。

6.3.3 试验步骤

柱出口接吸量管, 启动输液泵, 用秒表计时, 分别记录流动相通过各设定流量值相对应的容积所经历的时间。每种流量重复 11 次, 各流量一次测量的体积见下表:

设定流量 ml / min	0.2	0.5	1	2
体积 ml	1	1	1	2

6.3.4 计算

流量稳定性用变异系数表示按(1)式计算:

$$C_v = \frac{n}{\sum_{i=1}^n X_i} \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\Delta X_i)^2} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中: C_v ——变异系数;

ΔX_i ——每次测量的 X_i 值与 n 次测量的算术平均值的偏差;

X_i ——第 i 次测量的值;

i ——测量次数序号;

n ——测量总次数。

6.4 梯度准确度

6.4.1 溶液

甲溶液: 2% 异丙醇的二次蒸馏水溶液;

乙溶液: 0.13% 丙酮的甲溶液。

6.4.2 试验条件

紫外吸收检测器波长: 254nm;

流量: 4~6 ml / min;

梯度范围: 0~100% 乙溶液, 变化范围不小于 25%;

记录仪纸速: 4~5 mm / min。

6.4.3 试验步骤

在输液系统和检测器样品池进口之间连接一根不锈钢管(内径 0.4~0.6mm, 长 200~300mm)。通过主机设置溶液梯度程序, 使乙溶液的比例在规定的范围内以每分钟百分之一的速率均匀增加。在记录仪上得到梯度曲线如图 1 (该曲线应超过记录纸幅面的 50%)。

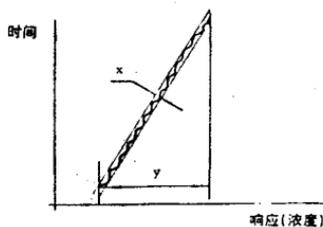


图 1 梯度曲线

6.4.4 计算

在曲线两侧绘制垂直距离最短的一对平行线,按(2)式计算:

$$G_c = \frac{X}{Y} \cdot n \dots\dots\dots(2)$$

式中: G_c ——梯度准确度;

X ——两平行线间垂直距离, mm;

Y ——梯度变化两端基线间垂直距离, mm;

n ——实际梯度变化范围。

6.5 色谱柱

6.5.1 吸附型硅胶柱试验条件

紫外吸收检测器波长: 254nm;

流量: 1ml / min;

流动相: 正己烷(经干燥处理);

进样方式: 阀进样(10 μ l 定量管);

记录仪纸速: 不小于 16mm / min;

试样: 意的正己烷溶液, 8×10^{-6} g / ml;

温度: 室温 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。

6.5.2 烷基键合相柱试验条件

流动相: 甲醇 85%, 二次蒸馏水 15%;

试样: 意的甲醇溶液, 8×10^{-6} g / ml;

紫外吸收检测器波长、流量、进样方式、记录仪纸速同 6.5.1。

6.5.3 试验步骤

仪器在正常工作条件下, 分别对两种柱进行试验, 用平头微量注射器抽取定量管体积 2~3 倍的试样(6.5.1 或 6.5.2)注入进样阀定量管, 快速转动进样阀手柄进样, 同时用秒表或数据处理装置记录保留时间, 在记录仪上记录谱图。间隔 10min 进样一次, 重复 3 次, 取算术平均值。

6.5.4 计算

6.5.4.1 柱效:

按(3)式计算:

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2 \dots\dots\dots(3)$$

式中: N ——被测柱柱效, 1 / m;

t_R ——保留时间, s;

$W_{h/2}$ ——半峰宽, s。

6.5.4.2 不对称因子(A_s)

从峰顶作基线的垂线为峰高 h , 在 $1/10h$ 处作基线的平行线, 该线被峰的两边线及峰高线分割成 a 、 b 两段如图 2。按(4)式计算:

$$A_s = \frac{b}{a} \dots\dots\dots(4)$$

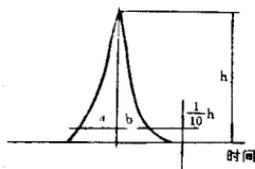


图 2 计算不对称因子示意图

6.6 重复性

6.6.1 试验条件

流动相: 甲醇;

色谱柱: 反相柱[C18, 5(10) μ];

记录仪纸速: 4~5mm/min;

紫外吸收检测器波长、流量、进样方式、试样同 6.5.2。

6.6.2 试验方法

仪器在正常工作条件下, 流量稳定后, 用平头微量注射器抽取定量管体积 2~3 倍的试样注入进样阀定量管, 快速转动进样阀手柄进样, 同时用秒表或数据处理装置记录保留时间, 在记录仪上记录谱图。间隔 5min 进样一次, 共 11 次。

6.6.3 计算

定性定量重复性用变异系数表示, 用葱峰的保留时间及其峰高或峰面积分别作为定性和定量测量值, 并按(1)式计算。

6.7 温度控制

6.7.1 试验设备

任选下列一种:

铂电阻测温计或分度值不低于 0.1℃ 的测温计。

6.7.2 试验条件

最低可控温度和柱加热器最高工作温度的 90% 两个温度点为试验温度。

6.7.3 试验步骤和计算

将试验设备探头置柱加热器中的柱安装位置, 选定的试验温度从低到高顺序升温, 温度显示值稳定后, 隔 5min 记录一次, 共 6 次, 按(5)(6)(7)式计算:

$$\bar{T} = \frac{1}{6} \sum_{i=1}^6 T_i \dots\dots\dots (5)$$

$$T_s = \bar{T} - T_c \dots\dots\dots (6)$$

$$T_p = |\bar{T} - T_i|_{\max} \dots\dots\dots (7)$$

式中: \bar{T} ——6 次测量的平均值;

T_i ——第 i 次测量的值;

i ——测量次数序号;

T_c ——试验温度;

T_s ——温度控制准确度;

T_p ——温度控制精密度。

6.8 绝缘电阻

6.8.1 试验设备

500V 兆欧表 1 只。

6.8.2 试验方法

仪器在不工作状态下, 测量仪器的相、中连线和机壳之间的绝缘电阻。

6.9 绝缘强度

6.9.1 试验设备

0.25~2kVA 高压试验台 1 台。

6.9.2 试验方法

仪器在不工作状态下, 仪器的相、中连线和机壳之间施以频率为 50Hz 的交流电压 1500V, 历时 1min。

6.10 泄漏电流

按 GB 6587 7 中 3.3 条及图 1 进行。

6.11 受潮预处理

按 GB 4793 中 9.7 条进行。

6.12 仪器的外观

用目视和手感检查。

7 检测器

7.1 以下所用试剂规格均为分析纯级。

7.2 固定波长紫外吸收检测器

7.2.1 吸光度校准

7.2.1.1 校准用紫外—可见分光光度计

波长范围:200~700nm;

波长精密度:优于 $\pm 0.5\text{nm}$;

吸光度测量精密度:优于 $\pm 1\%$ 。

7.2.1.2 溶液同 6.4.1。

7.2.1.3 试验步骤

在校准用分光光度计上,以甲溶液为空白,在 254nm 波长处测量乙溶液的吸光度 A_0 。

将甲、乙溶液交替充入检测池,在记录仪上得到以甲溶液为基线的乙溶液的响应值 A_t , 单位 A_u 。重复 3 次取算术平均值。

7.2.1.4 计算

$$A_c = \frac{A_0 \cdot b_1}{b_0} \dots\dots\dots (8)$$

$$\delta = \frac{A_t - A_c}{A_c} \times 100\% \dots\dots\dots (9)$$

式中: A_c ——校准值, A_u ;

δ ——相对误差;

b_0 ——校准用分光光度计测量池液层厚度, cm;

b_1 ——被测检测器样品池液层厚度, cm。

7.2.2 稳定性

7.2.2.1 试验条件

流量:1ml / min;

流动相:甲醇;

色谱柱:反相柱[C18, 500 μ];

温度:室温 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。

7.2.2.2 试验步骤

在检测器吸光度校准合格条件下,待达到检测器启动时间后,连续运行 1h,然后变动电源电压从 220V 到 242V 和 198V,各试验 0.5h,检验其基线漂移和噪声。

7.2.3 启动时间

7.2.3.1 试验条件同 7.2.2.1。

7.2.3.2 试验步骤

在检测器吸光度校准合格条件下,用时钟读出检测器从启动至达到基线漂移指标时所经历的时间。

7.2.4 线性范围

7.2.4.1 溶液

甲溶液:2%异丙醇的二次蒸馏水溶液;

乙溶液:丙酮和甲溶液的混合液,丙酮浓度分别为 0.1, 0.2, …… , 0.9, 1%。

7.2.4.2 试验步骤

以甲溶液为基线,乙溶液按浓度从低到高依次与甲溶液交替充入检测器样品池,在记录仪上得到不同乙溶液的吸光度。每种乙溶液重复3次取算术平均值。

7.2.4.3 计算

根据实测短期噪声按(10)式计算:

$$C_{min} = 2N_s \cdot C_i / H_i \dots \dots \dots (10)$$

式中: C_{min} ——检测器最小检测浓度,%;

N_s ——实测短期噪声, Au;

C_i ——乙溶液的丙酮浓度;

H_i ——乙溶液对应的吸光度, Au。

在对数坐标纸上,作吸光度与乙溶液浓度的关系曲线,按 ZB N52001 中 3.5.3.2 条,求出保持线性响应所允许的乙溶液的最大浓度 Ch , $Ch / Cmin$ 即为检测器的线性范围。

7.3 可变波长紫外吸收检测器

7.3.1 波长准确度校准

7.3.1.1 试验设备

校准用紫外——可见分光光度计同 7.2.1.1;

滤光片:软玻璃(厚度 2mm,波长 445nm 时透过率小于 5.0%)。

7.3.1.2 滤光片标定

在校准用分光光度计上测出滤光片在 200~700nm 范围内的吸光度谱图,确定各特征波长。

7.3.1.3 试验步骤和计算

在光路中加入标定过的滤光片,在特征波长 $\pm 2nm$ 范围内单方向改变波长设置,在记录仪上记录其响应,读取最大响应值所对应的波长,重复 3 次,在各特征波长处取 3 次的算术平均值,该值与特征波长的算术差为各特征波长的准确度,取其中的最大值作为检测器的波长准确度。

注:光路中不能加入滤光片的定型产品,可参照有关标准。

7.3.2 吸光度校准

检测器波长置 254nm,其它同 7.2.1。

7.3.3 基线漂移

7.3.3.1 试验条件

检测器波长:240nm;

流量:0.5ml/min;

流动相:甲醇;

温度:室温 $\pm 1^\circ C$ 。

7.3.3.2 试验步骤

在输液系统和检测器样品池进口之间连接一根不锈钢管(内径 0.4~0.6mm,长 200~300mm),在检测器吸光度校准合格条件下,待达到检测器启动时间后,连续运行 1h,然后变动电源电压从 220V 到 242V 和 198V,各试验 0.5h,检验其基线漂移。

7.3.4 基线噪声

7.3.4.1 试验条件

色谱柱:反相柱[C18, 500 μ];

流量:1ml/min;

检测器波长、流动相、温度同 7.3.3.1。

7.3.4.2 试验步骤

输液系统接色谱柱再接检测器样品池进口,在检测器吸光度校准合格条件下,待达到检测器启动时

间后,连续运行 0.5h,任取其中 10min 噪声,然后变动电源电压从 220V 到 242V 和 198V,各试验 0.5 h,检验其基线噪声。

7.3.5 启动时间

7.3.5.1 试验条件同 7.3.3.1

7.3.5.2 试验步骤

在检测器吸光度校准合格条件下,用时钟读出检测器从启动至达到基线漂移指标时所经历的时间。

7.3.6 线性范围

检测器波长置 254nm,其它同 7.2.4。

7.4 荧光检测器

7.4.1 最小检测浓度

7.4.1.1 溶液

甲溶液:0.05mol / l 硫酸的二次蒸馏水溶液;

乙溶液: 1×10^{-6} g / ml 硫酸奎宁的甲溶液。

7.4.1.2 试验条件

激发波长:360nm 或 365nm;

发射波长:460nm。

7.4.1.3 试验步骤

将甲、乙溶液交替充入检测器样品池,在记录仪上得到以甲溶液为基线的乙溶液的响应值,重复 3 次取算术平均值。

7.4.1.4 计算

$$C_{\min} = 2N_s \cdot C / H \dots \dots \dots (11)$$

式中: C_{\min} ——检测器最小检测浓度, g / ml;

N_s ——实测短期噪声, mV;

C ——乙溶液浓度, g / ml;

H ——乙溶液浓度对甲溶液的响应值, mV。

7.4.2 稳定性

7.4.2.1 试验条件

激发波长:360nm 或 365nm;

发射波长:460nm;

流量:1ml / min;

流动相:甲醇;

色谱柱:反相柱[C18, 500 μ];

温度:室温 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。

7.4.2.2 试验步骤

输液系统接色谱柱再接检测器样品池。在检测器最小检测浓度合格条件下,待达到检测器启动时间后,连续运行 1h,然后变动电源电压从 220V 到 242V 和 198V,各试验 0.5 h,检验其基线漂移和噪声。

7.4.3 启动时间

7.4.3.1 试验条件同 7.4.2.1

7.4.3.2 试验步骤

在检测器最小检测浓度合格条件下,用时钟读出检测器从启动至达到基线漂移指标时所经历的时间。

7.4.4 线性范围

7.4.4.1 溶液

甲溶液:0.05mol / l 硫酸的二次蒸馏水溶液;

乙溶液:抗酸奎宁和甲溶液的混合液,硫酸奎宁的浓度分别为: 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5} , 1×10^{-6} g/ml。

7.4.4.2 试验步骤

以甲溶液为基线,乙溶液按浓度从低到高依次与甲溶液交替充入检测器样品池,在记录仪上得到不同乙溶液的响应值,每种乙溶液重复3次取算术平均值。

7.4.4.3 计算

根据实测短期噪声按(1)式计算检测器最小检测浓度 C_{\min} ,在对数坐标纸上,作乙溶液的响应与浓度的关系曲线,按 ZB N52001 中 3.5.3.2 条,求出保持线性响应所允许的乙溶液的最大浓度 C_h , C_h / C_{\min} 即为检测器的线性范围。

7.5 示差折光检测器

7.5.1 灵敏度校准

7.5.1.1 溶液

甲溶液:脱气蒸馏水;

乙溶液:0.442%(重量百分比)丙三醇的甲溶液。

7.5.1.2 试验步骤

将甲溶液充入参比池。

将甲、乙溶液交替充入检测器样品池,在记录仪上得到以甲溶液为基线的乙溶液的响应值,用 RI 单位表示,重复3次取算术平均值。

7.5.2 稳定性

7.5.2.1 试验条件

检测器折光指数范围:1.30~1.45;

流量:1ml/min;

流动相:甲醇;

色谱柱:反相柱[C18, 5(10) μ];

温度:室温 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。

7.5.2.2 试验步骤

将样品池和参比池串联后接入输液系统,在检测器灵敏度合格条件下,待达到检测器启动时间后,连续运行 1h,然后变动电源电压从 220V 到 242V 和 198V,各试验 0.5h,检验其基线漂移和噪声。

注:检测器样品池出口不能接反压器。

7.5.3 启动时间

7.5.3.1 试验条件同 7.5.2.1。

7.5.3.2 试验步骤

在检测器灵敏度校准合格条件下,用时钟读出检测器从启动至达到基线漂移指标时所经历的时间。

8 仪器的运输、运输贮存试验

按 ZB Y002 的要求进行,其中高温 $+55^\circ\text{C}$;低温 -40°C ;跌落高度 250mm。

附加说明:

本标准由机械工业部北京分析仪器研究所提出并归口。

本标准由北京分析仪器厂负责起草。

本标准主要起草人吴军。