

北京市地方计量技术规范

JJF (京) XXXX- XXXX

液相色谱仪自动进样器校准规范

Calibration Specification for Autosampler for Liquid Chromatography

(征求意见稿)

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

北京市市场监督管理局 发布

液相色谱仪自动 进样器校准规范

Calibration Specification for

Autosampler for Liquid Chromatography

JJF(京) XXXX-XXXX

归口单位：北京市市场监督管理局

主要起草单位：北京市计量检测科学研究院

中国食品药品检定研究院

北京市药品检验研究院

目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 概述	(1)
3 计量特性	(1)
4 校准条件	(2)
4.1 环境条件	(2)
4.2 测量标准及其它设备	(2)
5 校准项目和校准方法	(2)
5.1 温度设定值误差	(2)
5.2 进样体积误差	(3)
5.3 进样线性	(4)
5.4 进样重复性	(5)
5.5 样品残留	(5)
6 校准结果表达	(6)
7 复校时间间隔	(6)
附录 A 不同温度下纯水的密度表	(7)
附录 B 校准证书内页参考格式	(8)
附录 C 校准原始记录参考格式	(9)
附录 D 进样体积误差的不确定度评定示例	(11)

引 言

JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001-2011《通用计量术语及定义》、JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》共同构成支撑本规范制修订工作的基础性系列规范。

本规范的制定，参考了 JJG 705-2014 《液相色谱仪》、GB/T 26792-2019 《液相色谱仪》、GB/T 38125-2019 《液相色谱仪用自动进样器》的相关内容。

本规范为首次发布。

液相色谱仪自动进样器校准规范

1 范围

本规范适用于液相色谱仪、其他类型仪器液相部分的自动进样器的校准。

2 概述

液相色谱仪自动进样器（以下简称仪器）是液相色谱仪重要的配套设备之一，在液相色谱实验分析中，只需设置好仪器进样参数、放入待检测样品，即可自动完成进样过程。此外，液相色谱仪自动进样器还可以与质谱检测器、原子荧光检测器、ICP、ICP-MS 等进行联用。

仪器一般由进样臂、进样针、样品盘、清洗系统、以及控制系统等五部分组成。

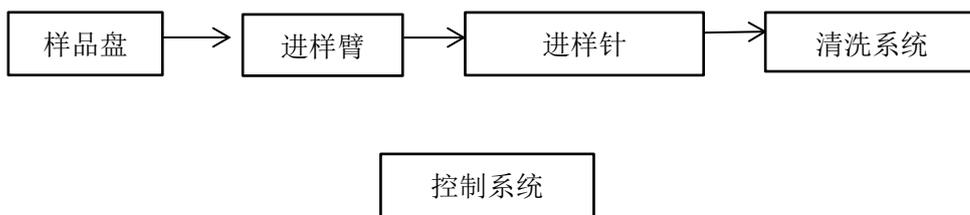


图 1 液相色谱仪自动进样器结构示意图

3 计量特性

仪器各项计量性能指标见表 1。

表 1 计量性能指标

序号	校准项目	技术指标
1	温度设定值误差	$\pm 4^{\circ}\text{C}$
2	进样体积误差	5 μL : $\pm 5\%$; 10 μL : $\pm 5\%$; 20 μL : $\pm 3\%$
3	进样线性	线性系数 ≥ 0.999
4	进样重复性	$\leq 0.5\%$
5	样品残留	$\leq 0.01\%$

注：以上计量特性要求仅供参考，不作为判定依据

4 校准条件

4.1 环境条件

4.1.1 环境温度：(5~35) °C。

4.1.2 相对湿度：不大于 80%。

4.1.3 供电电源：电压 (220±22) V，频率 (50±0.5) Hz。

4.1.4 其他：室内应避免易燃、易爆和强腐蚀性气体及强烈的震动、电磁干扰和空气对流等，且应有良好的通风。

4.2 测量标准及其它设备

4.2.1 校准设备：

4.2.1.1 分析天平：最小分度值不大于 0.1 mg，准确度不~~低于~~I 级。

4.2.1.2 数字温度计：测量范围为(0~100)°C，分辨力为 0.1°C，最大允许误差不超过±0.3°C。

4.2.1.3 单标线容量瓶：50 mL，最大允许误差不超过±0.05 mL。

4.2.2 标准物质

应使用处于有效期内的的国家标准物质。

萘-甲醇溶液标准物质，认定值为 1.00×10^{-4} g/mL，扩展不确定度不大于 4%， $k=2$ ；

萘-甲醇溶液标准物质，认定值为 1.00×10^{-7} g/mL，扩展不确定度不大于 4%， $k=2$ 。

4.2.3 其他要求

校准用试剂：分析纯萘、纯水、色谱级甲醇。

色谱柱：符合 GB/T 30433 的 C18 色谱柱，理论塔板数每米不小于 50000。

5 校准项目和校准方法

5.1 温度设定值误差

启动仪器进行预热，保证仪器稳定并达到测试状态。将仪器样品室温度设定为 4°C 或环境温度-15°C，样品瓶中注入纯水并放置于样品盘中，待样品室温度稳定后，用数字温度计测量瓶中纯水的温度。样品盘上测温点的选择，可参考图 1，每个样品盘应选择一个中央位置、至少两个对称的边缘位置，最少选择 ①、②、③，可增加 ④、⑤。

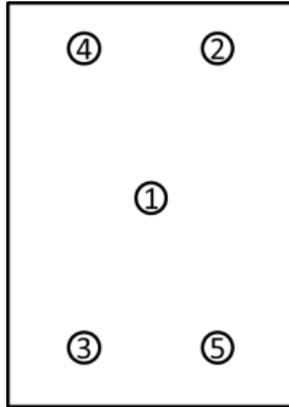


图 1 样品盘中测温点位置示意图

样品室温度测量值为每个测温点的测量值的平均值，按照公式(1)计算。

$$\bar{T} = \frac{\sum_{i=1}^n T_i}{n} \quad (1)$$

式中：

\bar{T} ——样品室温度的测量值，℃；

T_i ——样品室各测温点的测量值，℃；

n ——测温点数目。

样品室温度设定值误差，按照公式(2)计算。

$$\Delta T = T_s - \bar{T} \quad (2)$$

ΔT ——样品室温度设定值误差，℃；

T_s ——样品室温度设定值，℃。

5.2 进样体积误差

样品瓶中注入纯水，置于样品室恒温，待温度恒定后，测量样品瓶中纯水温度 T_1 ，并进行首次称重，记录下质量 m_1 。根据仪器配置，参考表 2 设置单次进样体积 V ，连续进样 n 次，最终总体积为 100 μL ，并设置适当的吸液速度。进样结束后，再次测量样品中纯水温度 T_2 ，并进行称重，记录下质量 m_2 。根据进样前后纯水温度的平均值，按照附录 A 选择纯水的密度值 ρ 。

表 2 进样方法

进样体积设定值	5 μL	10 μL	20 μL
---------	-----------------	------------------	------------------

进样次数	20	10	5
------	----	----	---

对于 10 μL 及以下的样品环,可设定单次进样 5 μL 、10 μL 。对于 10 μL 以上的样品环,可设定单次进样体积 10 μL 、20 μL 。

进样体积的测量值 V_m 按照公式(3)计算。

$$V_m = \frac{m_1 - m_2}{\rho \cdot n} \times 10^6 \quad (3)$$

式中:

V_m ——进样体积测量值, μL ;

m_1 ——进样前样品瓶质量, g;

m_2 ——进样后样品瓶质量, g;

ρ ——纯水密度, kg/m^3 ;

n ——重复进样次数;

进样体积误差以相对误差的形式表示,按照公式(4)计算。

$$\Delta V_r = \frac{V_m - V}{V} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

ΔV_r ——进样体积误差;

V ——进样体积设定值, μL 。

5.3 进样线性

将自动进样器接入配置紫外-可见光检测器或二极管阵列检测器的液相色谱系统中,连接 C18 色谱柱,以 100%甲醇为流动相,柱箱温度设定为恒温 35 $^{\circ}\text{C}$ 或 40 $^{\circ}\text{C}$,流速依液相色谱系统配置设置为 (0.2~1.0) mL/min,检测器波长为 254 nm,将浓度为 1×10^{-4} g/mL 的萘-甲醇溶液标准物质注入样品瓶并置于样品盘中。根据液相色谱系统配置,进样体积可选择 0.5 μL 、1 μL 、2 μL 、5 μL 、10 μL 、20 μL 、50 μL 这一系列中至少连续 5 个,待系统稳定后每个体积连续测量三次,记录萘的色谱峰面积,取算术平均值作为峰面积测量值,与对应的取样体积按照最小二乘法进行线性拟合,计算线性相关系数 γ 。校准实验中,依据吸光度大小可对标准物质进行适当稀释。

5.4 进样重复性

在5.3中的液相色谱条件下，将浓度为 1×10^{-4} g/mL的萘-甲醇溶液标准物质注入样品瓶并置于样品盘中。依据液相色谱系统配置，设置进样体积(2~20) μL ，重复进样7次，记录萘的色谱峰面积。按公式(5)计算峰面积的相对标准偏差*RSD*，作为进样重复性。

$$RSD = \frac{1}{\bar{A}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - \bar{A})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (5)$$

式中：

RSD——峰面积的相对标准偏差；

\bar{A} ——峰面积平均值， $\text{mAU} \cdot \text{min}$ ；

A_i ——第*n*次进样峰面积， $\text{mAU} \cdot \text{min}$ ；

n——进样次数，*n*=7；

5.5 样品残留

称取适量分析纯萘，以色谱级甲醇作为溶剂，用单标线容量瓶定容，稀释至浓度为 1×10^{-3} g/mL。

在5.3中的液相色谱条件下，将浓度为 1×10^{-7} g/mL的萘-甲醇溶液标准物质注入样品瓶并置于样品盘中。依据液相色谱系统配置，设置进样体积10 μL 或20 μL ，确保萘色谱峰信噪比不低于4:1，记录萘的色谱峰面积 A_1 。

将浓度为 1×10^{-3} g/mL的萘-甲醇溶液注入样品瓶并置于样品盘中。按照前述进样体积进样。

将色谱级甲醇（空白溶液）注入样品瓶并置于样品盘中。按照前述进样体积进样，进样前可设置不洗针或洗针一次，记录萘色谱峰面积 A_2 。洗针次数应在校准证书中予以标明。

按照公式(6)计算样品残留。

$$C_m = \frac{A_2}{A_1 \times 10^4} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

C_m ——样品残留；

A_1 ——浓度 1×10^{-7} g/mL的萘-甲醇溶液标准物质的色谱峰面积， $\text{mAU} \cdot \text{min}$ ；

A_2 ——空白溶液的色谱峰面积， $\text{mAU} \cdot \text{min}$ 。

6 校准结果表达

校准结果应在校准证书上反映。校准证书应至少包括以下信息：

- a) 标题：“校准证书”；
- b) 实验室名称和地址；
- c) 进行校准的地点（如果与实验室的地址不同）；
- d) 证书的唯一性标识（如编号），每页及总页数的标识；
- e) 客户的名称和地址；
- f) 被校对象的描述和明确标识；
- g) 进行校准的日期，如果与校准结果的有效性和应用有关时，应说明被校对象的接收日期；
- h) 如果与校准结果的有效性应用有关时，应对被校样品的抽样程序进行说明；
- i) 校准所依据的技术规范的标识，包括名称及代号；
- j) 本次校准所用测量标准的溯源性及有效性说明；
- k) 校准环境的描述；
- l) 校准结果及其测量不确定度的说明；
- m) 对校准规范的偏离的说明；
- n) 校准证书签发人的签名、职务或等效标识；
- o) 校准结果仅对被校对象有效的声明；
- p) 未经实验室书面批准，不得部分复制证书的声明。

7 复校时间间隔

仪器复校时间间隔建议为 2 年。由于复校时间间隔的长短是由仪器的使用情况、使用者、仪器本身质量等诸因素所决定的，因此，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔。

附录 A

不同温度下纯水的密度表

单位: kg/m^3

$t(^{\circ}\text{C})$	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
0	999.840	999.846	999.853	999.859	999.865	999.871	999.877	999.883	999.888	999.893
1	999.898	999.904	999.908	999.913	999.917	999.921	999.925	999.929	999.933	999.937
2	999.940	999.943	999.946	999.949	999.952	999.954	999.956	999.959	999.961	999.962
3	999.964	999.966	999.967	999.968	999.969	999.970	999.971	999.971	999.972	999.972
4	999.972	999.972	999.972	999.971	999.971	999.970	999.969	999.968	999.967	999.965
5	999.964	999.962	999.960	999.958	999.956	999.954	999.951	999.949	999.946	999.943
6	999.940	999.937	999.934	999.930	999.926	999.923	999.919	999.915	999.910	999.906
7	999.901	999.897	999.892	999.887	999.882	999.877	999.871	999.866	999.880	999.854
8	999.848	999.842	999.836	999.829	999.823	999.816	999.809	999.802	999.795	999.788
9	999.781	999.773	999.765	999.758	999.750	999.742	999.734	999.725	999.717	999.708
10	999.699	999.691	999.682	999.672	999.663	999.654	999.644	999.634	999.625	999.615
11	999.605	999.595	999.584	999.574	999.563	999.553	999.542	999.531	999.520	999.508
12	999.497	999.486	999.474	999.462	999.450	999.439	999.426	999.414	999.402	999.389
13	999.377	999.384	999.351	999.338	999.325	999.312	999.299	999.285	999.271	999.258
14	999.244	999.230	999.216	999.202	999.187	999.173	999.158	999.144	999.129	999.114
15	999.099	999.084	999.069	999.053	999.038	999.022	999.006	998.991	998.975	998.959
16	998.943	998.926	998.910	998.893	998.876	998.860	998.843	998.826	998.809	998.792
17	998.774	998.757	998.739	998.722	998.704	998.686	998.668	998.650	998.632	998.613
18	998.595	998.576	998.557	998.539	998.520	998.501	998.482	998.463	998.443	998.424
19	998.404	998.385	998.365	998.345	998.325	998.305	998.285	998.265	998.244	998.224
20	998.203	998.182	998.162	998.141	998.120	998.099	998.077	998.056	998.035	998.013
21	997.991	997.970	997.948	997.926	997.904	997.882	997.859	997.837	997.815	997.792
22	997.769	997.747	997.724	997.701	997.678	997.655	997.631	997.608	997.584	997.561
23	997.537	997.513	997.490	997.466	997.442	997.417	997.393	997.396	997.344	997.320
24	997.295	997.270	997.246	997.221	997.195	997.170	997.145	997.120	997.094	997.069
25	997.043	997.018	996.992	996.966	996.940	996.914	996.888	996.861	996.835	996.809
26	996.782	996.755	996.729	996.702	996.675	996.648	996.621	996.594	996.566	996.539
27	996.511	996.484	996.456	996.428	996.401	996.373	996.344	996.316	996.288	996.260
28	996.231	996.203	996.174	996.146	996.117	996.088	996.059	996.030	996.001	996.972
29	995.943	995.913	995.884	995.854	995.825	995.795	995.765	995.753	995.705	995.675
30	995.645	995.615	995.584	995.554	995.523	995.493	995.462	995.431	995.401	995.370
31	995.339	995.307	995.276	995.245	995.214	995.182	995.151	995.119	995.087	995.055
32	995.024	994.992	994.960	994.927	994.895	994.863	994.831	994.798	994.766	994.733
33	994.700	994.667	994.635	994.602	994.569	994.535	994.502	994.469	994.436	994.402
34	994.369	994.335	994.301	994.267	994.234	994.200	994.166	994.132	994.098	994.063
35	994.029	993.994	993.960	993.925	993.891	993.856	993.821	993.786	993.751	993.716
36	993.681	993.646	993.610	993.575	993.540	993.504	993.469	993.433	993.397	993.361
37	993.325	993.280	993.253	993.217	993.181	993.144	993.108	993.072	993.035	992.999
38	992.962	992.925	992.888	992.851	992.814	992.777	992.740	992.703	992.665	992.628
39	992.591	992.553	992.516	992.478	992.440	992.402	992.364	992.326	992.288	992.250

40	992.212	991.826	991.432	991.031	990.623	990.208	989.786	987.358	988.922	988.479
----	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

附录 B

校准证书内页参考格式

证书编号：××××——××××

环境温度： °C； 相对湿度： %； 其他：

校准结果：

1. 温度设定值误差
2. 进样体积误差
3. 进样线性
4. 进样重复性
5. 样品残留

进样体积误差的扩展不确定度

以下空白

C.2 进样体积误差

纯水温度(°C)	进样前	进样后	平均值	纯水密度(kg/m ³)		
总进样体积(μL)	单次进样 体积 (μL)	进样次数	进样前 质量(g)	进样后 质量(g)	进样体积 测量值(μL)	误差
100	10	10				
	20	5				

C.3 进样线性

标准物质: 萘-甲醇		浓度: 1×10^{-4} g/mL		流动相: 100% 甲醇	
流速: ____ mL/min		柱箱温度: ____ °C		检测器波长: 254 nm	
进样体积 (μL)	峰面积(mAU · min)			平均值(mAU · min)	线性相关系数
2					
5					
10					
20					
50					

C.4 进样重复性

峰面积(mAU · min)							RSD

C.5 样品残留

峰面积 A_1 (mAU · min)	峰面积 A_2 (mAU · min)	样品残留 C_m

附录 D

进样体积误差的不确定度评定示例

D.1 概述

样品瓶中注入纯水，置于仪器样品室恒温。设置仪器单次进样体积，连续进样次数，总体积为 100 μL 。待样品瓶温度恒定后，启动仪器进样程序。要分别测量进样前后样品瓶的质量、样品瓶中纯水的温度，以质量差除以纯水密度即可计算实际进样体积，与设定值进行比较计算得出进样体积误差。

D.2 测量模型

进样体积误差以相对误差的形式表示，按照公式(D.1)计算。

$$\Delta V_r = \frac{V_m - V}{V} \times 100\% \quad (\text{D.1})$$

式中：

ΔV_r ——进样体积误差；

V ——进样体积设定值， μL 。

进样体积设定值 V 可视为常数，则进样体积误差的标准不确定度可表示为：

$$u(\Delta V_r) = \frac{u(V_m)}{V} \quad (\text{D.2})$$

在实际的校准过程中，一般 $V_m \approx V$ ，因此上式可简化为：

$$u(\Delta V_r) = \frac{u(V_m)}{V} \approx \frac{u(V_m)}{V_m} = u_{\text{rel}}(V_m) \quad (\text{D.3})$$

D.3 各输入量的不确定度

进样体积的测量值 V_m 按照公式(D.4)计算。

$$V_m = \frac{m_1 - m_2}{\rho \cdot n} \times 10^6 = \frac{\Delta m}{\rho} \times \frac{10^6}{n} \quad (\text{D.4})$$

式中：

V_m ——进样体积测量值， μL ；

m_1 ——进样前样品瓶质量，g；

m_2 ——进样后样品瓶质量, g;

Δm ——进样前后样品瓶质量差, g;

ρ ——纯水密度, kg/m^3 ;

n ——重复进样次数;

则进样体积测量值的相对不确定度可表示为:

$$u_{\text{rel}}(V_m) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(\Delta m) + u_{\text{rel}}^2(\rho)} \quad (\text{D.5})$$

D.3.1 天平称量引入的不确定度

电子天平的检定分度值为 1 mg, 最大允许误差为 ± 0.5 mg, 按三角分布, 单次称量引入的标准不确定度为:

$$u_m = \frac{0.5\text{mg}}{\sqrt{6}} = 0.204\text{mg} \quad (\text{D.6})$$

前后称量两次, 则

$$u(\Delta m) = \sqrt{2}u_m = 0.289\text{mg} \quad (\text{D.7})$$

进样总体积为 100 μL , 进样前后两次称量值为 4.5364 g、4.4358 g, 质量差为 0.1006 g。

则

$$u_{\text{rel}}(\Delta m) = \frac{u(\Delta m)}{\Delta m} = \frac{0.289\text{mg}}{0.1006\text{g}} = 0.287\% \quad (\text{D.8})$$

D.3.2 纯水密度的不确定度

纯水密度的不确定度主要源于纯水温度变化对密度的影响。进样前后, 测量样品瓶中纯水的温度为 23.7 $^{\circ}\text{C}$ 、23.8 $^{\circ}\text{C}$ 。根据附录 A, 可取 23.8 $^{\circ}\text{C}$ 下纯水密度值 997.344 kg/m^3 计算进样体积。23.7 $^{\circ}\text{C}$ 下纯水密度值为 997.396 kg/m^3 , 密度变化为 0.024 kg/m^3 , 按照均匀分布, 密度的标准不确定度为:

$$u_p = \frac{0.024\text{kg}/\text{m}^3}{\sqrt{3}} = 0.014\text{kg}/\text{m}^3 \quad (\text{D.9})$$

相对不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(\rho) = \frac{u_p}{\rho} = \frac{0.014\text{kg}/\text{m}^3}{997.344\text{kg}/\text{m}^3} = 0.002\% \quad (\text{D.10})$$

D.4 合成标准不确定度

按照公式(D.3)和(D.5)，计算合成标准不确定度：

$$u(\Delta V_r) = u_{\text{rel}}(V_m) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(\Delta m) + u_{\text{rel}}^2(\rho)} = \sqrt{(0.287\%)^2 + (0.002\%)^2} = 0.288\%$$

D.5 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，相应的扩展不确定度为：

$$U = k \cdot u(\Delta V_r) = 2 \times 0.288\% \approx 0.6\%$$
