

# 液相色谱仪检定结果的不确定度评定

刘志娟<sup>1</sup> 赵 敏<sup>2</sup> 许 峰<sup>1</sup>

(1. 中国兵器工业集团第五三研究所, 济南 250031; 2. 中国计量科学研究院, 北京 100013)

**摘要** 分析液相色谱仪每项检定项目检定结果的不确定度来源, 以 UV 检测器为例进行分析, 对液相色谱仪的主要几项检定项目检定结果的不确定度进行评定, 其中泵流量设定值误差、柱温箱温度设定值误差、最小检测浓度、波长示值误差、定量重复性检定结果的相对扩展不确定度分别为 0.64%、0.54%、5.32%、0.86%、1.38%。

**关键词** 液相色谱仪 检定 不确定度

液相色谱技术作为一种高效的分离分析技术, 越来越广泛地应用于质量检验、实验研究和制备分离, 已经成为我国计量、科研、生产中不可缺少的高效、快速、高灵敏度的分离分析手段<sup>[1]</sup>。近 20 年来, 液相色谱技术发展迅猛, 其配置及检测精度越来越高。

目前市场上液相色谱仪的品种繁多, 性能各异, 为了使仪器在使用过程中始终处于良好的工作状态, 保证测试数据准确可靠, 使不同实验室之间的数据具有可比性, 国家制定了 JJG 705 - 2002<sup>[2]</sup> 检定规程, 要求定期对色谱仪进行检定。为了评定检定结果的质量, 对检定结果进行不确定度评定非常重要。因此笔者根据测量不确定度评定指南<sup>[3]</sup> 和 JJF 1059 - 1999 技术规范要求<sup>[4]</sup>, 在全面分析液相色谱仪各项检定结果不确定度来源的基础上, 以常用的浓度型紫外吸收(UV)检测器为例, 对液相色谱仪检定结果的不确定度进行了分析与评定。

## 1 实验部分

### 1.1 检定项目和检定方法

按照检定规程 JJG 705 - 2002 中的第 5.2.2 条规定的检定项目进行检定。检定项目列于表 1。

表 1 液相色谱仪的检定项目<sup>[2]</sup>

被检部分名称	检定项目
输液系统	泵耐压检定
	泵流量设定值误差 $S_S$
	泵流量稳定性误差 $S_R$
柱温箱	梯度误差 $GV_C$
	柱箱温度设定值误差 $\Delta T_S$
检测器	柱箱温度稳定性 $T_C$
	波长示值误差和重复性
	基线噪声
	基线漂移
	最小检测浓度
整机性能	线性范围
	换挡误差
整机性能	定性定量重复性

### 1.2 主要仪器与试剂

液相色谱仪: LC - 6A 型(配有 UV 检测器), 日本岛津公司;

秒表: J9 - 1 型, 分度值不大于 0.01 s, 上海手表五厂;

分析天平: 328A 型, 测量范围 0.1 ~ 100 g, 分度值 0.1 mg, 上海天平厂;

数字温度计: 测量范围 0 ~ 100℃, 最小分度 0.1℃;

注射器: 10 μL、50 μL、10 mL 各一支, 上海注射器厂;

容量瓶: 50 mL, 10 个, 上海玻璃仪器厂;

烧杯: 250 mL, 2 个, 上海玻璃仪器厂;

甲醇:(HPLC 用);

丙酮、异丙醇: 分析纯, 上海试剂厂;

液相色谱检定用标准物质: 萘/甲醇溶液(浓度为  $1 \times 10^{-4}$ 、 $1 \times 10^{-7}$  g/mL), 硫酸奎宁/高氯酸水溶液(浓度为  $1 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-9}$  g/mL), 丙三醇/水溶液(浓度为  $1 \times 10^{-3}$ 、 $1 \times 10^{-5}$  g/mL), 紫外波长标准溶液, 国家标准物质研究中心。

实验用水为二次蒸馏水。

### 2 液相色谱仪检定结果不确定度的主要来源

#### 2.1 输液系统检定结果的不确定度来源

##### 2.1.1 泵流量设定值误差和流量稳定性误差检定结果的不确定度

输液系统检定所用的计量器具主要有天平、秒表, 配套器具为容量瓶。由泵流量设定值误差和流量稳定性误差的计算公式<sup>[2]</sup> 可知, 其检定结果的不确定度来源主要有:

(1) 天平砝码校准的不确定度;

(2) 流动相称量质量的不确定度;

(3)流动相密度的不确定度;

(4)流动相收集时间的不确定度。

#### 2.1.2 梯度误差检定结果的不确定度

由检定方法<sup>[2]</sup>可知,本项目检定结果不确定度来源主要有:

(1)两段输出信号之间距离测量的不确定度;

(2)记录器记录信号值的不确定度(只对使用积分仪记录数据的液相色谱仪);

(3)紫外检测器对丙酮响应的非线性引起的不确定度;

(4)B溶剂含量的不确定度。

#### 2.2 柱温箱温度检定结果的不确定度来源

柱温箱温度检定所用的主要计量器具为数字温度计或铂电阻温度传感器和数字电压表,通过温度设定值偏差和控温稳定性的计算公式<sup>[2]</sup>可知,柱温箱温度检定结果的不确定度来源主要有:

(1)数字温度计校准的不确定度或铂电阻温度传感器、数字电压表校准的不确定度;

(2)多次测量重复性的不确定度;

(3)温度设定值准确性引入的不确定度。

#### 2.3 检测器性能检定的不确定度来源

##### 2.3.1 波长示值误差检定结果的不确定度

(1)固定波长的UV检测器的波长示值误差检定结果的不确定度

主要是波长标准器的不确定度。

(2)可调波长的UV检测器波长示值误差和重复性检定结果的不确定度

①波长标准溶液或波长标准器引入的不确定度;

②波长测量重复性引入的不确定度。

##### 2.3.2 基线噪声和基线漂移检定结果的不确定度

(1)基线噪声检定结果的不确定度

①基线上下包线之间距离测量的不确定度;

②记录仪灵敏度的不确定度(使用积分仪记录数据的液相色谱仪);

(2)基线漂移检定结果的不确定度

除了上述(1)中两项外还包括以下两项:

①起始点、终点测量引入的不确定度;

②运行时间控制引入的不确定度。

##### 2.3.3 最小检测浓度检定结果的不确定度

(1)标准溶液定值引入的不确定度;

(2)标准物质浓度变化引入的不确定度;

(3)峰高测量引入的不确定度(只对使用积分

仪记录数据的液相色谱仪);

(4)噪声峰高测量引入的不确定度;

(5)进样体积误差引入的不确定度。

##### 2.3.4 线性范围检定结果的不确定度

(1)线性范围检定用溶液浓度定值的不确定度;

(2)最小检测浓度值测定引入的不确定度;

(3)作图法确定线性范围上限引入的不确定度。

##### 2.3.5 灵敏度选择器换档误差检定结果的不确定度(使用积分仪记录数据的液相色谱仪)

(1)检测器对组分响应的不稳定性引入的不确定度;

(2)记录仪灵敏度的不确定度;

(3)信号输出值测量的不确定度。

#### 2.4 整机性能检定结果的不确定度来源

##### 2.4.1 定性测量重复性检定结果的不确定度

(1)人员进样时间控制引入的不确定度(手动进样的仪器);

(2)流速的不稳定性对保留时间的影响。

##### 2.4.2 定量测量重复性检定结果的不确定度

(1)注射器进样量(或自动进样器进样量)重复性引入的不确定度;

(2)标准溶液浓度的变化引入的不确定度;

(3)峰高(或峰面积)测量重复性的不确定度。

#### 3 检定结果不确定度评定

以UV检测器为例,对检定项目中的主要几项检定结果进行评定。

##### 3.1 泵流量设定值误差 $S_s$ 、流量稳定性误差 $S_R$ 的不确定度评定

(1)泵流量设定值误差,按下式计算:

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

$$F_m = mt/\rho \quad (2)$$

式中:  $S_s$ —泵流量设定值误差;

$F_m$ —流量实测值, mL/min;

$F_s$ —流量设定值, mL/min;

$m$ —收集到的流动相质量, g;

$t$ —收集流动相的时间, s;

$\rho$ —流动相的密度, g/mL。

$S_s$ 检定结果不确定度评定结果列于表2(以岛津仪器LC-6A为例)。

合成标准不确定度:

$$u_c(S_s) = \sqrt{(0.29\%)^2 + (0.003\%)^2 + (0.13\%)^2 + (0.03\%)^2} \\ = 0.32\%$$

表 2 流量设定值误差不确定度评定结果

来源	量值	标准不确定度	相对标准不确定度/%
天平砝码校准( $M_{\text{校准}}$ )	100 g	0.50 g <sup>1)</sup>	0.29
流动相质量( $m$ )	3.9614 g	0.0001 g	0.003
流动相密度( $\rho$ )	0.791 g/mL	0.001 g/mL	0.13
时间( $t$ )	300 s	0.1 s	0.03

注: 1) 证书给出, 服从均匀分布,  $k = \sqrt{3}$ 。

取包含因子  $k=2$ , 则相对扩展不确定度:

$$U(S_s) = k u_c(S_s) = 0.64\%$$

(2) 流量稳定性误差  $S_R$  的来源与  $S_S$  的来源相同。因此,  $S_R$  的不确定度与  $S_S$  的相同。

### 3.2 柱温箱温度设定值误差 $\Delta T_s$ 和控温稳定性 $T_c$ 检定的不确定度评定

$\Delta T_s$  的检定是使用一支分度为  $0.1^\circ\text{C}$ 、测量范围为  $0 \sim 100^\circ\text{C}$  的数字温度计, 温度计校准的不确定度为  $0.02^\circ\text{C}$ 。以检定  $45^\circ\text{C}$  为例, 在相同的条件下, 对柱箱温度进行测定,  $\Delta T_s = \bar{T}_{\text{测量}} - T_{\text{设定}}$ , 其中  $\bar{T}_{\text{测量}}$ 、 $T_{\text{设定}}$  分别为测定平均值和设定值, 单位为  $^\circ\text{C}$ , 柱箱温度测量重复性标准不确定度和相对标准不确定度分别按式(3)、式(4)计算, 计算结果列于表 3。

$$u(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} \quad (3)$$

$$u(s) = \frac{u(x)}{\bar{x}} \quad (4)$$

表 3 柱箱温度设定值误差的不确定度评定结果

来源	量值/ $^\circ\text{C}$	标准不确定度/ $^\circ\text{C}$	相对标准不确定度/%
测定重复性( $\bar{T}_{\text{测量}}$ )	45.2	0.07	0.15
设定值准确性( $T_{\text{设定}}$ )	45	0.1	0.22
温度计校准误差	45	0.2 <sup>1)</sup>	0.026

注: 1) 证书给出, 服从均匀分布,  $k = \sqrt{3}$ 。

合成标准不确定度:

$$u_c(\Delta T_s) = \sqrt{(0.15\%)^2 + (0.22\%)^2 + (0.026\%)^2} = 0.27\%$$

取包含因子  $k=2$ , 相对扩展不确定度:

$$U(\Delta T_s) = k u_c(\Delta T_s) = 2 \times 0.27\% = 0.54\%$$

控温稳定性  $T_c$  的来源与柱箱温度设定值误差  $\Delta T_s$  的来源相同。因此,  $T_c$  的不确定度与  $\Delta T_s$  的相同。

### 3.3 波长示值误差 $\Delta\lambda$ 检定的不确定度评定

波长示值误差是用被测的紫外-可见光检测器(UV 检测器)直接测量已知波长的标准溶液, 用最大(或最小)测量值与标准值之差表示示值误差

$\Delta\lambda$ , 按式(5)计算:

$$\Delta\lambda = \bar{\lambda} - \lambda_s \quad (5)$$

式中:  $\Delta\lambda$ —波长示值误差;

$\bar{\lambda}$ —最大(或最小)吸光度对应的波长(测量值);

$\lambda_s$ —标准溶液的波长。

由计算公式可知,  $\bar{\lambda}$  的不确定度主要来源于 UV 检测器的测量重复性, 可以通过连续多次测量(例如, 连续测量 6 次)方式, 用测量标准偏差表示。

$\lambda_s$  的不确定度主要来源于标准溶液波长定值的不确定度, 标准物质证书给出的结果为  $1.0 \text{ nm}$  ( $k=2$ )。以  $257 \text{ nm}$  为例, 波长示值误差  $\Delta\lambda$  的不确定度评定结果列于表 4。

表 4 波长示值误差  $\Delta\lambda$  的不确定度评定结果

来源	量值/nm	标准不确定度/nm	相对标准不确定度/%
波长测量重复性( $\bar{\lambda}$ )	257	1	0.39
标准溶液波长定值( $\lambda_s$ )	257	1.0 <sup>1)</sup>	0.19

注: 1) 证书给出, 服从正态分布,  $k=2$ 。

合成标准不确定度:

$$u_c(\Delta\lambda) = \sqrt{(0.39\%)^2 + (0.19\%)^2} = 0.43\%$$

取包含因子  $k=2$ , 相对扩展不确定度:

$$U(\Delta\lambda) = k u_c(\Delta\lambda) = 0.86\%$$

其它波长示值误差不确定度的评定可参照以上进行。

### 3.4 最小检测浓度检定的不确定度评定

检测器最小检测浓度  $c_L$  的检定是通过注入  $20 \mu\text{L } 1.0 \times 10^{-7} \text{ g/mL}$  的萘-甲醇标准溶液, 记录色谱峰高, 规定在  $S/N=2$  时,  $c_L$  按式(6)计算:

$$c_L = \frac{2N_d c V}{20H} \quad (6)$$

式中:  $c_L$ —最小检测浓度,  $\text{g/mL}$ ;

$N_d$ —基线噪声,  $\text{Au}$ ;

$c$ —标准溶液浓度,  $\text{g/mL}$ ;

$V$ —进样体积,  $\mu\text{L}$ ;

$H$ —标准溶液的色谱峰高,  $\text{Au}$ 。

由式(6)可知,  $c_L$  的不确定度与标准溶液的浓度、进样体积、基线噪声, 以及色谱峰高有关。以岛津 LC-6A 为例,  $c_L$  的不确定度来源及评定结果列于表 5。

合成标准不确定度为:

$$u_c(c_L) = \sqrt{(0.22\%)^2 + (2.31\%)^2 + (1.0\%)^2 + (90.50\%)^2 + (0.68\%)^2} = 2.62\%$$

表5 最小检测浓度检定结果的不确定度评定结果

来源	量值	标准不确定度	相对标准不确定度/%
噪声( $N_d$ )	$4.5 \times 10^{-5}$ Au	$0.1 \times 10^{-6}$ Au	0.22
标准溶液浓度定值( $c_{\text{标准}}$ )	$1.0 \times 10^{-7}$ g/mL	4% <sup>1)</sup>	2.31
浓度变化( $c_{\text{变化}}$ )	$1.0 \times 10^{-7}$ g/mL	$0.1 \times 10^{-8}$ g/mL	1.00
体积误差( $V$ )	20 $\mu$ L	0.50	
色谱峰高( $H$ )	$1.47 \times 10^{-3}$ Au	$0.01 \times 10^{-3}$ Au	0.68

注: 1)证书给出,服从均匀分布,  $k = \sqrt{3}$ 。

取包含因子  $k=2$ , 相对扩展不确定度为:

$$U(c_L) = ku_c(c_L) = 5.24\%$$

### 3.5 定量重复性检定的不确定度评定

定量重复性的检定是选用  $1 \times 10^{-4}$  g/mL 的萘/甲醇标准溶液, 连续进样 6 次, 用峰高或峰面积的相对标准偏差( $s_r$ )表示色谱仪定量重复性, 即:

$$s_r = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^6 (x_i - \bar{x})^2 / (6 - 1)}}{\bar{x}} \quad (7)$$

由本项目的检定过程可知, 定量重复性主要与标准物质的浓度以及进样量有关, 通过分析, 对因溶剂挥发引起溶液浓度的变化估计为 0.05%; 微量注射器的检准证书给出的扩展不确定度为 0.1  $\mu$ L, 定量重复性的不确定度来源及其计算结果见表 6。

## EVALUATION OF UNCERTAINTY IN VERIFICATION RESULT OF LIQUID CHROMATOGRAPHY

Liu Zhijuan<sup>1</sup>, Zhao Min<sup>2</sup>, Xu Feng<sup>1</sup>

(1. CNGC Institute 53, Jinan 250031, China; 2. National Institute of Metrology, Beijing 10031, China)

**ABSTRACT** The sources of uncertainty of verification result for liquid chromatograph were discussed. The detector UV was taken as example, uncertainties of several main verification results of liquid chromatographs were evaluated. The relative expanded uncertainties of pump flow enactment value error, columnnition box temperature enactment value error, the least detection concentration, wavelength value error, quantitation repeatability were 0.64%, 0.54%, 5.32%, 0.86%, 1.38% respectively.

**KEYWORDS** liquid chromatography, verification, uncertainty

## 欢 迎 查 询 有 关 广 告

对于在我刊刊登的所有广告, 如读者需要查询更详细的资料或了解情况, 请填好《读者查询广告资料服务卡》后寄回或来函。本杂志社将为您提供或转请有关单位提供资料, 以满足您的要求。如需购买任何广告单位的材料、设备、仪器及配件等产品, 我社将帮助您联系, 以保证产品质量, 争取优惠价格。欢迎各单位在我刊刊登广告。刊登办法函索即寄。

### 《化学分析计量》读者查询广告资料服务卡

No \_\_\_\_\_

读者姓名 \_\_\_\_\_ 单位 \_\_\_\_\_

通讯地址 \_\_\_\_\_ 电话 \_\_\_\_\_ 邮政编码 \_\_\_\_\_

欲获得《化学分析计量》\_\_\_\_\_年第\_\_\_\_\_期第\_\_\_\_\_页\_\_\_\_\_

广告中有关\_\_\_\_\_的详细资料。

如空位不够, 请另附纸。填好后请寄回。

山东省济南市 108 信箱杂志社

邮政编码: 250031

表6 定量重复性的不确定度评定结果

来源	量值	标准不确定度	相对标准不确定度/%
浓度变化( $c_{\text{变化}}$ )	$1 \times 10^{-4}$ g/mL	0.50	0.50
注射器体积误差( $V$ )	20 $\mu$ L	0.1 $\mu$ L <sup>1)</sup>	0.25
6 次测量结果( $s_r$ )			0.41

注: 证书给出, 服从正态分布,  $k=2$ 。

$$u_{\text{定量}} = \sqrt{(0.50\%)^2 + (0.25\%)^2 + (0.41\%)^2} \\ = 0.69\%$$

取包含因子  $k=2$ , 相对扩展不确定度:

$$U_{\text{定量}} = ku_{\text{定量}} = 2 \times 0.69\% = 1.38\%$$

### 4 结语

液相色谱仪检定过程中, 每项检定项目的检定结果独立给出, 因此, 进行检定结果不确定度来源分析及其评定时要针对每项进行。其中仪器型号不同、所使用计量器具不同, 其评定结果也不同, 应根据实际情况进行分析评定。

### 参考文献

- [1] 王俊德, 商振华. 高效液相色谱法 [M]. 北京: 中国石化出版社, 1992.
- [2] JJG 705 - 2002 液相色谱仪检定规程 [S].
- [3] 刘立. 量化分析测量不确定度评定指南 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2003.
- [4] JJF 1059 - 1999 测量不确定度的评定与表示 [S].