

JJF(豫)205-2016



河南省地方计量技术规范

JJF(豫)205-2016

薄层色谱扫描仪校准规范

Calibration Specification for Thin layer Chromatogram scanner

2016-09-23 发布

2016-11-23 实施

河南省质量技术监督局 发布

薄层色谱扫描仪 校准规范

Calibration Specification Thin layer
Chromatogram scanner



归口单位： 河南省质量技术监督局
起草单位： 河南省计量科学研究院

本规范委托起草单位负责解释

本规范主要起草人：

许建军（河南省计量科学研究所）

陆进宇（河南省计量科学研究所）

刘 明（河南省中医药研究所）

孟 洁（河南省计量科学研究所）

李 琛（河南省计量科学研究所）

参加起草人：

孙 琳（焦作市质量技术监督检验检测中心）

党明安（河南省食品药品审评查验中心）

目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 概述	(1)
4 计量特性	(1)
4.1 噪声	(1)
4.2 漂移	(1)
4.3 基线平直度	(1)
4.4 波长示值误差	(1)
4.5 波长示值重复性	(1)
4.6 定量重复性	(1)
5 校准条件	(2)
5.1 环境条件	(2)
5.2 校准用计量器具	(2)
6 校准项目和校准方法	(2)
6.1 校准前检查	(2)
6.2 基线平直度的校准	(2)
6.3 噪声与漂移的校准	(2)
6.4 波长示值误差和重复的校准	(2)
6.5 定量重复性的校准	(3)
7 校准结果表达	(3)
8 复校时间间隔	(4)
附录 A 校准记录格式	(5)
附录 B 校准证书内页格式	(6)
附录 C 波长示值误差测量结果的不确定度评定示例	(7)

引 言

本规范是依据 JJF 1001《通用计量术语及定义》、JJF 1059.1《测量不确定度评定与表示》、《JJG178—2007 紫外、可见、近红外分光光度计检定规程》、《中华人民共和国药典》2015 年版四部(通则 0502)、中国药品检验标准操作规范(2010 版)而制定。

本规范校准的主要项目有：

- 噪声与漂移的校准；
- 基线平直度的校准；
- 波长示值误差和重复性的校准；
- 定量重复性的校准；

本规范为首次制定。

薄层色谱扫描仪校准规范

1 范围

本规范适用于薄层色谱扫描仪的校准。

2 引用文件

本规范引用下列文件：

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

JJG178—2007 紫外、可见、近红外分光光度计检定规程

中华人民共和国药典 2015 年版 四部(通则 0502)

中国药品检验标准操作规范(2010 版)

凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修改版均不适用本校准规范;凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本规程。

3 概述

薄层色谱扫描仪(以下简称仪器)是用一束长宽可以调节的一定波长和强度的光扫描薄层板上分离出来的斑点,并根据扫描图谱对物质进行定性鉴别和定量分析的仪器。

薄层色谱扫描仪主要由光源、单色器、样品室、检测器和数据处理系统组成,通常具有反射、荧光、透射和吸收四种测量方式。

4 计量特性

4.1 噪声

仪器在 2 min 内的噪声应不大于吸光度 0.05。

4.2 漂移

仪器在 10 min 内的漂移应不大于吸光度 0.5。

4.3 基线平直度

仪器在紫外光区和可见光区的基线平直度应不大于吸光度 0.5。

4.4 波长示值误差

仪器在全工作波段范围内波长最大允许误差为 ± 6 nm。

4.5 波长示值重复性

仪器在全工作波段范围内波长示值重复性不大于 3 nm。

4.6 定量重复性

仪器对同一样品重复进行测量时,测量值的相对标准偏差应不大于

锯齿扫描:1.5%

线性扫描:2.0%

注:以上技术指标不适用于合格性判别,仅供参考。

5 校准条件

5.1 环境条件

5.1.1 环境温度:(10~35)℃。

5.1.2 相对湿度:不大于85%。

5.1.3 电源:电压为(220±22)V,频率为(50±1)Hz。

5.1.4 操作环境应洁净,无强光直射,周围无强磁场、电场干扰,无强气流及腐蚀性气体,应避免其它冷、热源影响。

5.2 校准用计量器具

5.2.1 氧化钛滤光片标准物质(不确定度不大于0.3 nm $k=2$)。

5.2.2 镨钕滤光片标准物质(不确定度不大于0.3 nm $k=2$)。

5.2.3 定量重复性校准用板(规格为100 mm×200 mm,小孔坐标为X=30 mm,Y=30 mm 直径:1 mm)。

6 校准项目和校准方法

6.1 校准前检查

仪器不能有影响校准的外观缺陷。按键开关、调节旋钮等各部件工作正常,仪器上应有仪器名称、型号、制造厂商、产品序列号。

6.2 噪声与漂移

选择2 nm的光谱带宽,采用光谱测量,在吸光度模式下,采用反射测量方式,把空白薄层色谱板置于仪器托架上,将波长分别调至250 nm和500 nm处扫描2 min,测量图谱上的相邻的峰—谷吸光度之差,取最大差值即为仪器的噪声。波长调至500 nm扫描10 min,测量图谱包络中心线的最大值和最小值之差即为仪器的漂移(对于有实时显示吸光度数值功能的仪器也可记录吸光度值,以相邻的两个吸光度差值最大的作为噪声,以与起始吸光度差值的绝对值最大的作为漂移)。

(注:不具备此功能的,不校准该项目。)

6.3 基线平直度

与6.2方法相同,设置波长范围为仪器波长下限加20 nm和仪器波长上限减50 nm。扫描待测的空白薄层色谱板,扣除背景后,再次在该位置扫描待测空白薄层色谱板,测量图谱中起始点的吸光度与偏离起始点的吸光度之差的最大值即为基线平直度。

(注:不具备此功能的,不校准该项目。)

6.4 波长示值误差与重复性

与 6.3 规定的波长范围相同,每间隔 100 nm 至少选择一个波长校准点,选择 2 nm 或该仪器常用的光谱带宽,慢速扫描,小扫描间隔。在吸光度模式下,采用光谱扫描,透射测量方式,先后将氧化钛滤光片标准物质(参考波长:241.9 nm、279.3 nm、287.9 nm、334.0 nm、360.9 nm、418.4 nm、484.5 nm、536.4 nm、637.9 nm)、镨钕滤光片标准物质(参考波长:739.3 nm、807.7 nm)置于光路中,连续扫描 3 次,记录峰值波长。将每个测量波长按公式(1)计算波长示值误差,按公式(2)计算波长示值重复性。

$$\Delta\lambda = \bar{\lambda} - \lambda_s \quad (1)$$

$$\delta_\lambda = \lambda_{\max} - \lambda_{\min} \quad (2)$$

式中: $\Delta\lambda$ ——波长示值误差, nm

λ_s ——波长标准值, nm

$\bar{\lambda}$ ——波长 3 次测量平均值, nm

δ_λ ——波长示值重复性, nm

λ_{\max} ——3 次波长测量的最大值, nm

λ_{\min} ——3 次波长测量的最小值, nm

6.5 定量重复性的校准

将定量重复性校准用板放入仪器中,在色谱模式下,设置为单波长 460 nm,设定合适的光斑大小,测量方式为反射锯齿或反射线性,光斑扫描范围要完全覆盖小孔,对扫描得到的色谱峰积分。重复测量 6 次,按照公式(3)计算积分面积的相对标准偏差,即为仪器的定量重复性。

$$RSD = \frac{1}{\bar{A}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (A_i - \bar{A})^2}{5}} \quad (3)$$

式中: RSD ——定量测量重复性(%)

A_i ——第 i 次测得的峰面积

\bar{A} ——6 次测得的峰面积的平均值

i ——测量序号

7 校准结果表达

校准结果应在校准证书或校准报告上反映,校准证书或报告至少包括以下信息:

- 标题,如“校准证书”或“校准报告”;
- 实验室名称和地址;
- 进行校准的地点;
- 证书或报告的唯一性标识(如编号),每页及总页数的标识;
- 送校单位的名称和地址;
- 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受日期;
- h) 如果与校准结果的有效性和应用有关时,应对抽样程序进行说明;
- i) 对校准所依据的技术规范的标识,包括名称及代码;
- 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) 校准结果及测量不确定度的说明;
- m) 校准证书或校准报告签发人的签名、职务或等效标识、以及签发日期;
- n) 校准结果仅对被校对象有效的声明;
- o) 未经实验室书面批准,不得部分复制证书或报告的声明。

8 复校时间间隔

仪器的复校时间间隔一般不超过 1 年。在相邻两次校准期间,如果对仪器的检测数据有怀疑或仪器更换主要部件及修理后应对仪器重新校准。

附录 A

校准记录格式

计量器具名称							
申请者名称					申请人		
申请者地址					型号		
样品生产厂家					编号		
校准日期							
校准技术依据							
环境温度(℃)			环境湿度(%RH)			其它	
主标准器名称			型号			编号	
准确度等级			测量范围				
标准器证书号							
校准员				核验员			

1. 校准前检查：
2. 噪声：
3. 漂移：
4. 基线平直度：
5. 波长示值误差与示值重复性的校准：

标准值(nm)	测量值(nm)			平均值(nm)	示值误差(nm)	示值重复性(nm)

6. 定量重复性(RSD)：
7. 测量不确定度

附录 B

校准证书内页格式

校准结果

校准项目	校准规范技术要求	校准结果
1. 噪声		
2. 漂移		
3. 基线平直度		
4. 波长示值误差		
5. 波长示值重复性		
6. 定量重复性(RSD)		

波长示值误差不确定度：

附录 C

示值误差测量结果的不确定度评定示例

C.1 概述

C.1.1 测量依据:JJF(豫)205—2016《薄层色谱扫描仪校准规范》

C.1.2 计量标准:氧化钛滤光片标准物质

镨钕标光片标准物质

C.1.3 被测对象:薄层色谱扫描仪

C.1.4 测量方法:按 JJF(豫)205—2016《薄层色谱扫描仪校准规范》第 6.4 之规定进行示值误差的校准,然后按公式(1)计算波长示值误差。

C.2 测量模型

C.2.1 波长示值误差:

$$\Delta\lambda = \bar{\lambda} - \lambda_s \quad (\text{C-1})$$

式中: $\Delta\lambda$ ——波长示值误差(nm)

λ_s ——波长标准值(nm)

$\bar{\lambda}$ ——波长 3 次测量平均值(nm)

C.2.2 不确定度传播率

式(C-1)中,输入量彼此间独立无关,不确定度传播率如下:

$$u^2(\Delta\lambda) = c_1^2 u^2(\bar{\lambda}) + c_2^2 u^2(\lambda_s) \quad (\text{C-3})$$

C.2.3 计算灵敏系数

$$c_1 = \frac{\partial(\Delta\lambda)}{\partial\bar{\lambda}} = 1 \quad (\text{C-4})$$

$$c_2 = \frac{\partial(\Delta\lambda)}{\partial(\lambda_s)} = -1 \quad (\text{C-5})$$

C.3 不确定度的来源及评定

测量时引入的不确定度因素主要有:标准器的不确定度、重复测量引入的不确定度。

C.3.1 标准器的不确定度

由氧化钛滤光片、镨钕滤光片的校准证书可知,该标准器引入的不确定度为

$$U_s = 0.3 \text{ nm} \quad k=2 \quad (\text{C-6})$$

引入的不确定度分量为 $u(\lambda_s) = 0.15 \text{ nm}$

C.3.2 重复测量引入的不确定度

对任一波长(以 419.5 nm 为例)进行 6 次测量,测量值为 419.5 nm,419.5 nm,419.4 nm,419.4 nm,419.3 nm,419.5 nm,单次测量的标准差为

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (\lambda_i - \bar{\lambda})^2}{5}} = 0.082 \text{ nm} \quad (\text{C-7})$$

按照规范要求,进行 3 次测量,所以平均值的标准差为

$$u(\bar{\lambda}) = \frac{s}{\sqrt{3}} = 0.047 \text{ nm} \quad (\text{C-8})$$

即重复测量引入的不确定度分量为

$$u(\bar{\lambda}) = 0.047 \text{ nm} \quad (\text{C-9})$$

C.4 测量不确定度分量

测量结果的不确定度分量见表 C1。

表 C.1 测量结果不确定度分量

来源	符号	标准不确定度	概率分布	灵敏系数	不确定度分量
标准滤光片	λ_s	0.15 nm	正态	-1	0.15 nm
重复测量	$\bar{\lambda}$	0.047nm	正态	1	0.047 nm

C.5 标准不确定度的评定

以上各项标准不确定度分量互不相关,所以合成标准不确定度为:

$$u(\Delta\lambda) = \sqrt{c_1^2 u^2(\lambda) + c_2^2 u^2(\bar{\lambda})} = 0.2 \text{ nm} \quad (\text{C-10})$$

C.6 扩展不确定度的评定

包含因子取 $k=2$,则扩展不确定度为:

$$U_\lambda = k \cdot u(\Delta\lambda) = 0.4 \text{ nm} \quad (\text{C-11})$$

C.7 测量结果的扩展不确定度为:

$$U = 0.4 \text{ nm} \quad k=2 \quad (\text{C-16})$$