

国家计量技术规范规程制修订

《纳升液相色谱仪校准规范》
实验报告
(征求意见稿)

2023年2月

实验报告

一、 实验目的

验证《纳升液相色谱仪校准规范》的适用性和可行性。

二、 实验地点

验证实验均在不同客户实验室完成。

三、 环境条件

实验过程中环境温度均在（18~25）℃，相对湿度不大于 80%。

四、 实验仪器与实验设计

在验证实验中，对 Thermo Fisher、Waters、Eksigent 公司生产的 5 台次商品化纳升液相色谱仪进行了验证实验，覆盖了国内常用的纳升液相色谱仪类型。

五、 校准设备和试剂

校准使用的电子天平，准确度等级 I 级，分度值不大于 0.01 mg；秒表，分度值不大于 0.1 s；探针数字温度计，测量范围（4~50）℃，最大允许误差 0.1 ℃，经过计量校准。定性测量重复性项目校准过程中还使用了 NEB 公司生产的胰蛋白酶酶切牛血清白蛋白的多肽混合物物质控样本，监测其中肽段 YICDNQDTISSK（ $m/z^{2+722.3}$ ）在 6 次测定过程中的保留时间。

六、 实验结果

6.1 Thermo Fisher EASY-nano LC 1200 验证实验

根据校准规范要求，对 Thermo Fisher EASY-nano LC 1200 进行了验证实验。

（1）外观及功能检查

对仪器的外观及功能进行了检查，结果如表 1 所示。

表 1 Thermo Fisher EASY-nano LC 1200 外观及功能检查结果

<input checked="" type="checkbox"/> 符合要求	<input type="checkbox"/> 不符合要求
--	--------------------------------

（2）输液泵流量示值误差

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量示值误差，结果如表 2 所示。

表 2 Thermo Fisher EASY-nano LC 1200 输液泵流量示值误差校准结果

F_s (nL/min)	$\rho(T)$ (g/mL)	m_1 (mg)	m_2 (mg)	F_m (nL/ min)	t (min)	\bar{F}_m (nL/ min)	s_s (%)	$U(k=2)$ (%)
300	0.997929	506.14	515.15	300.856 329	30.01	301.41	-0.47	0.02
		505.53	514.57	301.858 0704	30.01			
		505.39	514.42	301.524 1566	30.01			

(3) 输液泵流量重复性

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量重复性，结果如表 3 所示。

表 3 Thermo Fisher EASY-nano LC 1200 输液泵流量重复性校准结果

F_s (nL/min)	F_m (nL/min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_R (%)
300	300.8563	301.41	0.33
	301.8581		
	301.5242		

(4) 整机性能（定性测量重复性）

仪器设定 300 nL/min 的流速，流动相 A 相：0.1%甲酸的水溶液，流动相 B 相：0.1%甲酸的乙腈溶液，使用 NEB 公司生产的胰蛋白酶酶切牛血清白蛋白的多肽混合物物质控样本，计算其中肽段 YICDNQDTISSK ($m/z^{2+}722.3$) 在 6 次测定过程中保留时间的相对标准偏差，结果如表 4 所示。

表 4 Thermo Fisher EASY-nano LC 1200
整机性能（定性测量重复性）校准结果

保留时间测定值						RSD
1	2	3	4	5	6	0.48
9.78	9.75	9.69	9.7	9.67	9.66	

6.2 Thermo Fisher EASY-nano LC 1000 验证实验

根据校准规范要求，对 Thermo Fisher EASY-nano LC 1000 进行了验证实验。

(1) 外观及功能检查

对仪器的外观及功能进行了检查，结果如表 5 所示。

表 5 Thermo Fisher EASY-nano LC 1000 外观及功能检查结果

<input checked="" type="checkbox"/> 符合要求	<input type="checkbox"/> 不符合要求
--	--------------------------------

(2) 输液泵流量示值误差

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量示值误差，结果如表 6 所示。

表 6 Thermo Fisher EASY-nano LC 1000 输液泵流量示值误差校准结果

F_s (nL/min)	$\rho(T)$ (g/mL)	m_1 (mg)	m_2 (mg)	F_m (nL/min)	t (min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_s (%)	$U(k=2)$ (%)
300	0.997658	505.95	514.97	301.372481	30	302.05	-0.68	0.02
		506.42	515.5	303.1750593	30.02			
		506.78	515.81	301.6060615	30.01			

(3) 输液泵流量重复性

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量重复性，结果如表 7 所示。

表 7 Thermo Fisher EASY-nano LC 1000 输液泵流量重复性校准结果

F_s (nL/min)	F_m (nL/min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_R (%)
300	301.372481	302.05	0.60
	303.1750593		
	301.6060615		

(4) 整机性能（定性测量重复性）

仪器设定 300 nL/min 的流速，流动相 A 相：0.1%甲酸的水溶液，流动相 B 相：0.1%甲酸的乙腈溶液，使用 NEB 公司生产的胰蛋白酶酶切牛血清白蛋白的多肽混合物物质控样本，计算其中肽段 YICDNQDTISSK ($m/z^{2+}722.3$) 在 6 次测定过程中保留时间的相对标准偏差，结果如表 8 所示。

表 8 Thermo Fisher EASY-nano LC 1000
整机性能（定性测量重复性）校准结果

保留时间测定值						RSD
1	2	3	4	5	6	0.61
8.34	8.31	8.31	8.25	8.21	8.24	

6.3 Thermo Fisher UltiMate 3000 RSLC nano System 验证实验

根据校准规范要求，对 Thermo Fisher UltiMate 3000 RSLC nano System 进行了验证实验。

(1) 外观及功能检查

对仪器的外观及功能进行了检查，结果如表 9 所示。

表 9 Thermo Fisher UltiMate 3000 RSLC nano System 外观及功能检查结果

<input checked="" type="checkbox"/> 符合要求	<input type="checkbox"/> 不符合要求
--	--------------------------------

(2) 输液泵流量示值误差

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量示值误差，结果如表 10 所示。

表 10 Thermo Fisher UltiMate 3000 RSLC nano System 输液泵流量
示值误差校准结果

F_s (nL/min)	$\rho(T)$ (g/mL)	m_1 (mg)	m_2 (mg)	F_m (nL/min)	t (min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_s (%)	$U(k=2)$ (%)
300	0.99770 4	506.69	515.7	301.024 4856	30	301.4	-0.47	0.02
		505.35	514.37	301.258 1666	30.01			
		506.25	515.29	301.926 1448	30.01			

(3) 输液泵流量重复性

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量重复性，结果如表 11 所示。

表 11 Thermo Fisher UltiMate 3000 RSLC nano System

输液泵流量重复性校准结果

F_s (nL/min)	F_m (nL/min)	\bar{F}_m (nL/min)	S_R (%)
300	301.0244856	301.4	0.30
	301.2581666		
	301.9261448		

(4) 整机性能（定性测量重复性）

仪器设定 300 nL/min 的流速，流动相 A 相：0.1%甲酸的水溶液，流动相 B 相：0.1%甲酸的乙腈溶液，使用 NEB 公司生产的胰蛋白酶酶切牛血清白蛋白的多肽混合物物质控样本，计算其中肽段 YICDNQDTISSK ($m/z^{2+}722.3$) 在 6 次测定过程中保留时间的相对标准偏差，结果如表 12 所示。

表 12 Thermo Fisher UltiMate 3000 RSLC nano System
整机性能（定性测量重复性）校准结果

保留时间测定值						RSD
1	2	3	4	5	6	0.43
9.33	9.35	9.43	9.38	9.42	9.41	

6.4 Waters ACQUITY UPLC M-Class 验证实验

根据校准规范要求，对 Waters ACQUITY UPLC M-Class 进行了验证实验。

(1) 外观及功能检查

对仪器的外观及功能进行了检查，结果如表 13 所示。

表 13 Waters ACQUITY UPLC M-Class 外观及功能检查结果

<input checked="" type="checkbox"/> 符合要求	<input type="checkbox"/> 不符合要求
--	--------------------------------

(2) 输液泵流量示值误差

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量示值误差，结果如表 14 所示。

表 14 Waters ACQUITY UPLC M-Class

输液泵流量示值误差校准结果

F_s (nL/min)	$\rho(T)$ (g/mL)	m_1 (mg)	m_2 (mg)	F_m (nL/min)	t (min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_s (%)	$U(k=2)$ (%)
300	0.99775	505.05	514.11	301.675 4475	30.1	301.43	-0.48	0.02
		506.13	515.17	301.811 6545	30.02			
		506.42	515.43	300.810 0672	30.02			

(3) 输液泵流量重复性

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量重复性，结果如表 15 所示。

表 15 Waters ACQUITY UPLC M-Class

输液泵流量重复性校准结果

F_s (nL/min)	F_m (nL/min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_R (%)
300	301.6754	301.43	0.33
	301.8117		
	300.8101		

(4) 整机性能（定性测量重复性）

仪器设定 300 nL/min 的流速，流动相 A 相：0.1%甲酸的水溶液，流动相 B 相：0.1%甲酸的乙腈溶液，使用 NEB 公司生产的胰蛋白酶酶切牛血清白蛋白的多肽混合物质控样本，计算其中肽段 YICDNQDTISSK ($m/z^{2+}722.3$) 在 6 次测定过程中保留时间的相对标准偏差，结果如表 16 所示。

表 16 Waters ACQUITY UPLC M-Class

整机性能（定性测量重复性）校准结果

保留时间测定值						RSD
1	2	3	4	5	6	0.49
9.17	9.14	9.15	9.11	9.06	9.07	

6.5 Eksigent nanoLC-2D 验证实验

根据校准规范要求，对 Eksigent nanoLC-2D 进行了验证实验。

(1) 外观及功能检查

对仪器的外观及功能进行了检查，结果如表 17 所示。

表 17 Eksigent nanoLC-2D 外观及功能检查结果

<input checked="" type="checkbox"/> 符合要求	<input type="checkbox"/> 不符合要求
--	--------------------------------

(2) 输液泵流量示值误差

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量示值误差，结果如表 18 所示。

表 18 Eksigent nanoLC-2D 输液泵流量示值误差校准结果

F_s (nL/min)	$\rho(T)$ (g/mL)	m_1 (mg)	m_2 (mg)	F_m (nL/min)	t (min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_s (%)	$U(k=2)$ (%)
300	0.99775	506.85	515.78	298.337 927	30	298.34	0.58	0.02
		506.15	515.06	297.669 757	30			
		506.09	515.04	299.006 097	30			

(3) 输液泵流量重复性

仪器设定 300 nL/min 的流速，以纯水为流动相，采用质量比较法，测定仪器的输液泵流量重复性，结果如表 19 所示。

表 19 Eksigent nanoLC-2D 输液泵流量重复性校准结果

F_s (nL/min)	F_m (nL/min)	\bar{F}_m (nL/min)	s_R (%)
300	298.337927	298.34	0.45
	297.669757		
	299.006097		

(4) 整机性能（定性测量重复性）

仪器设定 300 nL/min 的流速，流动相 A 相：0.1%甲酸的水溶液，流动相 B 相：0.1%甲酸的乙腈溶液，使用 NEB 公司生产的胰蛋白酶酶切牛血清白蛋白的

多肽混合物物质控样本，计算其中肽段 YICDNQDTISSK ($m/z^{+722.3}$) 在 6 次测定过程中保留时间的相对标准偏差，结果如表 20 所示。

表 20 Eksigent nanoLC-2D 整机性能（定性测量重复性）校准结果

保留时间测定值						RSD
1	2	3	4	5	6	0.51
8.47	8.43	8.37	8.41	8.35	8.39	

七、 实验结论

通过对市场占有率比较高的 Thermo Fisher、Waters、Eksigent 公司生产的 5 台次商品化纳升液相色谱仪进行了验证实验，证明制定的《纳升液相色谱仪校准规范》能够很好的评价和反映出纳升液相色谱仪的误差大小，并提供出修正值，从而实现量值传递，保证纳升液相色谱仪检测结果准确可比。