



УТВЕРЖДАЮ
Заместитель директора
ФГУП «ВНИИОФИ»

И.С. Филимонов

«06» 07 2020 г

Государственная система обеспечения единства измерений

Комплекты мер флуоресценции КМФ-ВМ

МЕТОДИКА ПОВЕРКИ
МП 023.Д4-20

Главный метролог
ФГУП «ВНИИОФИ»

С.Н. Негода

«06» 07 2020 г

Главный научный сотрудник
ФГУП «ВНИИОФИ»

В.Н. Крутиков

«06» 07 2020 г

Москва
2020 г.

Введение

Настоящая методика поверки распространяется на Комплекты мер флуоресценции КМФ-ВМ (далее – комплекты), предназначенные для воспроизведения и передачи значений интенсивности флуоресценции, выраженных в относительных единицах флуоресценции (далее – ОЕФ), при поверке (калибровке) флуориметров, спектрофлуориметров, флуориметрических анализаторов, ПЦР-анализаторов и других люминесцентных приборов, и устанавливает порядок, методы и средства проведения первичной поверки.

Комплекты предусматривают первичную поверку до ввода в эксплуатацию.

1 Операции поверки

1.1 Поверку средств измерений осуществляют аккредитованные в установленном порядке в области обеспечения единства измерений юридические лица и индивидуальные предприниматели.

1.2 При проведении первичной поверки должны быть выполнены операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции при проведении первичной поверки

Наименование операций	Номер пункта документа по поверке	Обязательность выполнения операции
		Первичная поверка
Внешний осмотр	7.1	Да
Определение (контроль) метрологических характеристик	7.2	Да
Определение значений интенсивности флуоресценции	7.2.1	Да
Определение относительной погрешности измерения интенсивности флуоресценции мер	7.2.2	Да

1.3 При получении отрицательных результатов при проведении хотя бы одной операции поверка прекращается.

2 Средства поверки

2.1 При проведении поверки должны применяться средства, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

Номер пункта методики поверки	Наименование средства поверки; номер документа, регламентирующего технические требования к средству, основные технические характеристики.
7.2	Государственный первичный эталон единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов (далее – ГЭТ 196-2016) по ГПС «Государственная поверочная схема для средств измерений массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации, а также флуоресценции компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов», утвержденной Приказом Федерального агентства по техническому

Продолжение таблицы 2

Номер пункта методики поверки	Наименование средства поверки; номер документа, регламентирующего технические требования к средству, основные технические характеристики.
7.2	регулированию и метрологии № 3455 от 30 декабря 2019 г.: массовая концентрация компонента от $1 \cdot 10^{-9}$ до $99,99 \text{ г/дм}^3$*; относительное среднеквадратическое отклонение массовой концентрации компонента от 0,01 до 0,5 % при $n=10$; относительная неисключенная систематическая погрешность массовой концентрации компонента от 0,045 до 1,2 %; относительная стандартная неопределенность массовой концентрации компонента: по типу А от 0,01 до 0,5 %; по типу В от 0,013 до 0,7 %; суммарная стандартная неопределенность от 0,016 до 0,9 %; расширенная неопределенность массовой концентрации компонента при $k=2$ от 0,032 до 1,8 %. Вспомогательное оборудование: Кварцевая кювета по ГОСТ 20903-75: ширина окна 10 мм
* – В соответствии с ГПС, утвержденной Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 30.12.2019 г. № 3455, за относительную единицу флуоресценции (1 ОЕФ) принимается флуоресцирующую способность водного ($\text{pH}=5,5$) раствора флуоресцеина натрия концентрацией 1 мг/дм^3 на длине волны 514 нм при длине волны возбуждения 405 нм.	

2.2 Допускается применение средств поверки, не приведенных в таблице 2, но обеспечивающих определение метрологических характеристик с требуемой точностью.

2.3 Средства измерений, указанные в таблице 2, должны быть аттестованы (поверены) в установленном порядке.

3 Требования к квалификации поверителей и требования безопасности

3.1 К проведению поверки допускают лиц, изучивших настоящую методику поверки и Руководство по эксплуатации комплектов (далее – РЭ), имеющих квалификационную группу не ниже III в соответствии с правилами по охране труда при эксплуатации электроустановок, указанных в приложении к приказу Министерства труда и социальной защиты РФ от 24.07.13 № 328н и прошедшие полный инструктаж по технике безопасности, прошедших обучение на право проведения поверки по требуемому виду измерений, ученые хранители или лица допущенные к работе на ГЭТ 196-2015.

4 Требования безопасности

4.1 Комплекты должны поверяться в закрытых взрыво- и пожаробезопасных лабораторных помещениях, оборудованных вытяжной вентиляцией. При проведении поверки следует соблюдать требования, установленные ГОСТ Р 12.1.031-2010, ГОСТ 12.1.040-83. Оборудование, применяемое при поверке, должно соответствовать требованиям ГОСТ 12.2.003-91. Воздух рабочей зоны должен соответствовать ГОСТ 12.1.005-88 при температуре помещения, соответствующей условиям испытаний для легких физических работ.

4.2 Система электрического питания используемых при поверке приборов должна быть защищена от колебаний и пиков сетевого напряжения, искровые генераторы не должны устанавливаться вблизи приборов.

4.3 При выполнении поверки должны соблюдаться требования по ГОСТ 12.1.019-2017, а также требования РЭ.

4.4 Помещение, в котором проводится поверка, должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004-91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009-83.

5 Условия поверки

5.1 При проведении поверки следует соблюдать следующие условия:

- температура воздуха от 20 до 24 °С;
- относительная влажность воздуха, не конденсирующаяся, не более 60 %;
- атмосферное давление от 96 до 104 кПа;
- напряжение питающей сети от 216 до 224 В;
- частота от 49 до 51 Гц.

5.2 Комплекты не должны подвергаться прямому воздействию солнечных лучей. Не устанавливайте их около окна.

5.3 Рядом с комплектами не должно быть источников тепла, таких как газовая горелка, электронагреватель, печь и т.п. Допускаемый перепад температуры в течение проведения поверки – не более 2 °С

6 Подготовка к поверке

6.1 Изучить РЭ комплектов.

6.2 До начала поверки должны быть выполнены операции технического обслуживания комплекта в соответствии с разделом 7 РЭ комплекта.

6.3 Проверить наличие средств поверки комплектов, указанных в таблице 2, и укомплектованность их документацией.

7 Проведение поверки

7.1 Внешний осмотр.

7.1.1 При внешнем осмотре должно быть установлено:

- отсутствие механических повреждений футляра, мер комплекта;
- наличие маркировки, подтверждающей тип и заводской номер комплекта;
- читаемость надписей на мерах комплекта;
- соответствие комплектации заявленной в РЭ.

7.1.2 Комплекты считаются прошедшими операцию поверки, если они соответствуют всем перечисленным выше требованиям.

7.2 Определение (контроль) метрологических характеристик

7.2.1 Определение значений интенсивности флуоресценции

7.2.1.1 Включить люминесцентный комплекс из состава ГЭТ 196-2015. Установить ширину щелей монохроматоров возбуждения и эмиссии 2 нм в соответствии с РЭ на ГЭТ 196-2015.

7.2.1.2 Содержимое ампулы с мерой № 1 из комплекта поместить в кварцевую кювету с окном шириной 10 мм по ГОСТ 20903-75.

7.2.1.3 Установить кварцевую кювету с мерой № 1 с поверяемой мерой в измерительный отсек люминесцентного комплекса.

7.2.1.4 В соответствии с РЭ на люминесцентный комплекс выполнить десять измерений значений интенсивности флуоресценции I_i , ОЕФ. Измерения интенсивности флуоресценции проводят на длине волны эмиссии 450 нм при длине волны возбуждения 365 нм и температуре кюветного отделения 22 °С.

7.2.1.5 Повторить п.7.2.1.2 – 7.2.1.4 поочередно для каждой из мер комплекта.

7.2.1.6 Из полученных значений в п. 7.2.1.5 для каждой меры рассчитать среднее арифметическое значение интенсивности флуоресценции $\bar{I}$, ОЕФ, по формуле (1).

$$\bar{I} = \frac{\sum_{i=1}^n I_i}{n}, \quad (1)$$

где I_i – измеренное значение интенсивности флуоресценции, ОЕФ;

n – число измерений, равное 10;

i – номер измерения, от 1 до 10.

7.2.1.7 Повторить п. 7.2.1.4 – 7.2.1.6 на длине волны эмиссии 450 нм при длине волны возбуждения 370 нм и температуре кюветного отделения 37 °С.

7.2.1.8 Комплекты считаются прошедшими операцию проверки, если полученные значения интенсивности флуоресценции соответствуют значениям, указанным в таблице 3.

Таблица 3 – Значения интенсивности флуоресценции

Поверяемая мера	Значение интенсивности флуоресценции, ОЕФ
на длине волны эмиссии 450 нм при длине волны возбуждения 365 нм при температуре мер 22 °С	
- мера № 1	от 10 до 150
- мера № 2	от 150 до 250
- мера № 3	от 250 до 400
- мера № 4	от 300 до 450
- мера № 5	от 400 до 550
- мера № 6	от 450 до 600
- мера № 7	от 500 до 650
на длине волны эмиссии 450 нм при длине волны возбуждения 370 нм при температуре мер 37 °С	
- мера № 1	от 10 до 100
- мера № 2	от 100 до 200
- мера № 3	от 150 до 300
- мера № 4	от 200 до 350
- мера № 5	от 250 до 400
- мера № 6	от 300 до 450
- мера № 7	от 350 до 500

7.2.2 Определение относительной погрешности измерений интенсивности флуоресценции

7.2.2.1 Рассчитать относительное среднее квадратическое отклонение среднего арифметического значения измерений интенсивности флуоресценции, %, по формуле (2).

$$S_x = \frac{1}{I} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^i (I_i - \bar{I})^2}{n \cdot (n-1)}} \cdot 100. \quad (2)$$

7.2.2.2 Рассчитать случайную составляющую погрешности, %, величины интенсивности флуоресценции по формуле (3).

$$\varepsilon = t \cdot S_x, \quad (3)$$

где t – коэффициент Стьюдента равный 2,262 для $n = 10$ и доверительной вероятности $P = 0,95$.

7.2.2.3 Рассчитать среднее квадратическое отклонение неисключенной систематической погрешности (далее – НСП), %, по формуле (4).

$$S_{\Theta} = \frac{\Theta}{\sqrt{3}}, \quad (4)$$

где Θ – НСП люминесцентного комплекса из состава ГЭТ 196-2015, равная относительной стандартной неопределенности массовой концентрации компонента по типу В, из сертификата калибровки, %.

7.2.2.4 Рассчитать пределы допускаемой относительной погрешности измерений интенсивности флуоресценции, %, по формуле (5).

$$\Delta_i = \frac{\varepsilon + \Theta}{S_x + S_{\Theta}} \cdot S_{\Sigma}, \quad (5)$$

где S_{Σ} – суммарное среднее квадратическое отклонение оценки интенсивности флуоресценции, %, рассчитываемое по формуле (6).

$$S_{\Sigma} = \sqrt{S_{\Theta}^2 + S_x^2}. \quad (6)$$

7.2.2.5 Комплект считается прошедшим операцию поверки, если полученные значения относительной погрешности измерений интенсивности флуоресценции для каждой меры не превышают ± 3 %.

8 Оформление результатов поверки

8.1 Результаты поверки заносятся в протокол поверки, который хранится в организации, проводившей поверку (см. Приложение А к настоящей методике поверки).

8.2 Если комплект прошел поверку с положительным результатом, он признаётся годным и допускается к применению.

8.2.1 Результаты поверки оформляются свидетельством о поверке и/или наносится знак поверки в соответствии с требованиями Приказа Минпромторга России от 02.07.2015 № 1815 «Об утверждении Порядка проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (с изменениями на 28 декабря 2018 года)» в паспорт поверяемого комплекта.

8.3 Если комплект прошел поверку с отрицательным результатом, он признается непригодным, не допускается к применению; на него выдается извещение о непригодности в соответствии с требованиями Приказа Минпромторга России от 02.07.2015 № 1815 «Об утверждении Порядка проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (с изменениями на 28 декабря 2018 года)».

Начальник отдела Д-4
ФГУП «ВНИИОФИ»

А.В. Иванов

Начальник сектора МО СИМН
ФГУП «ВНИИОФИ»

Н.Ю. Грязских

Ведущий научный сотрудник отдела Д-4
ФГУП «ВНИИОФИ»

М.М. Чугунова

Инженер второй категории отдела Д-4
ФГУП «ВНИИОФИ»

Т.Г. Сляднева

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(рекомендуемое)
к Методике поверки № МП 023.Д4-20
«Комплекты мер флуоресценции КМФ-ВМ»

ПРОТОКОЛ

Первичной/периодической поверки от « » 20 года

Средство измерений: Комплекты мер флуоресценции КМФ-ВМ

Наименование СИ, тип (если в состав СИ входят несколько автономных блоков)
Заводской № №/№

Номер бланка свидетельства
Принадлежащее

Наименование юридического лица, ИНН, КПП
Поверено в МП 023.Д4-20 «Комплекты мер флуоресценции КМФ-ВМ»,
соответствии с утвержденной ФГУП «ВНИИОФИ» 06 июля 2020 г.
методикой поверки

Наименование документа на поверку, кем утвержден (согласован), дата
С применением эталонов:

Наименование, заводской №, разряд, класс точности или погрешность

При следующих значениях влияющих факторов:

Температура, °С

Влажность, %

Давление, мм рт.ст.

Приводят перечень и значения влияющих факторов, нормированных в методике поверки

Внешний осмотр:

Получены результаты проверки метрологических характеристик:

Таблица А.1 – Таблица измерений интенсивности флуоресценции дистиллированной воды

Наименование характеристики	Результат	Требования методики поверки
Значение интенсивности флуоресценции, ОЕФ:		
при температуре мер 22 °С		
- мера № 1		от 10 до 150
- мера № 2		от 150 до 250
- мера № 3		от 250 до 400
- мера № 4		от 300 до 450
- мера № 5		от 400 до 550
- мера № 6		от 450 до 600
- мера № 7		от 500 до 650
при температуре мер 37 °С		
- мера № 1		от 10 до 100
- мера № 2		от 100 до 200
- мера № 3		от 150 до 300
- мера № 4		от 200 до 350
- мера № 5		от 250 до 400
- мера № 6		от 300 до 450
- мера № 7		от 350 до 500

Таблица А.2 – Относительная погрешность измерений интенсивности флуоресценции

	Наибольшее расчетное значение Δ , %	Требования ТД и ОТ
Относительная погрешность измерений интенсивности флуоресценции		± 3 %.

Рекомендации:

Средство измерений признать пригодным (или непригодным) для применения

Исполнители

Подписи, Ф.И.О., должность