

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева»
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

СОГЛАСОВАНО

И.о. генерального директора
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»



Государственная система обеспечения единства измерений

Хроматографы жидкостные «Люмахром»

Методика поверки
МП-242-2456-2021

И.о. руководителя НИО государственных
эталонов в области физико-химических измерений
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

А.В. Колобова

Ст. научный сотрудник

М.А. Мешалкин

Санкт-Петербург
2021

Общие положения

Настоящая методика поверки распространяется на хроматографы жидкостные «Люмахром» (далее по тексту - хроматографы) и устанавливает методы и средства их первичной поверки после ввода в эксплуатацию или после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Требования по обеспечению прослеживаемости поверяемого хроматографа к государственным первичным эталонам единиц величин выполняются путем реализации на системе методик измерений с применением стандартных образцов утвержденного типа, прослеживаемых к комплексу государственных первичных эталонов единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации по ГОСТ 8.735.0-2011 «Государственная поверочная схема для средств измерений содержания компонентов в жидких и твердых веществах и материалах. Основные положения»:

ГЭТ 217-2018 ГПЭ единиц массовой доли и массовой (молярной) концентрации неорганических компонентов в водных растворах на основе гравиметрического и спектрального методов;

ГЭТ 176-2019 ГПЭ единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии;

ГЭТ 196 -2019 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов;

ГЭТ 208-2019 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии.

Метод, обеспечивающий реализацию методики поверки – косвенное измерение поверяемым средством величины, воспроизводимой стандартным образцом.

Методикой поверки предусмотрена возможность проведения поверки отдельных детекторов из состава хроматографа. Первичная поверка при выпуске из производства должна проводиться только с теми детекторами, которые входят в состав комплектации хроматографа в соответствии с заказом. Первичная поверка после ремонта и периодическая поверка должны проводиться только с теми детекторами, с которыми хроматограф эксплуатируется.

Примечания

1. При пользовании настоящей методикой поверки целесообразно проверить действие ссылочных документов по соответствующему указателю стандартов, составленному по состоянию на 1 января текущего года и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

2. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящей методикой следует руководствоваться заменяющим (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

1 Перечень операций поверки

При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта	Проведение операции при поверке	
		первичной	периодической
Внешний осмотр хроматографов	6	Да	Да
Опробование	7.2	Да	Да
Проверка соответствия программного обеспечения	8	Да	Да
Определение метрологических характеристик:			
--- Определение предела детектирования	9.1	Да	Да
--- Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала хроматографа	9.2	Да	Да

2 Требования к условиям проведения поверки

При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %.

3 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

К проведению поверки допускаются лица, соответствующие требованиям ГОСТ Р 56069-2018, ознакомившиеся с руководством по эксплуатации поверяемого хроматографа, эталонных средств измерений и вспомогательных средств поверки, инструкциями по применению стандартных образцов и прошедшие инструктаж по технике безопасности.

Для получения экспериментальных данных, необходимых для поверки, допускается участие в поверке операторов, обслуживающих хроматограф (под контролем поверителя).

4 Метрологические и технические требования к средствам поверки

4.1 При проведении поверки применяют средства поверки по таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

Номер пункта методики поверки	Наименование эталонного средства измерений или вспомогательного средства поверки, номер документа, регламентирующего технические требования к средству, метрологические и технические характеристики
2	Термогигрометр электронный или гигрометр психрометрический, зарегистрированные в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений (например, ФИФ № 53505-13 или аналогичные)
9	Стандартный образец состава раствора антрацена в ацетонитриле ГСО 8749-2006 (массовая концентрация от 0,19 до 0,21 мг/см ³ , границы относительной погрешности $\pm 2\%$ при доверительной вероятности $P = 0,95$)
9	Тест-колодка хроматографическая длиной 50 мм внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом C ₁₈ (5 мкм)
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 50 и 100 см ³ любого исполнения по ГОСТ 1770-74
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Пипетки градуированные вместимостью 1 и 5 см ³ 2-го класса точности по ГОСТ 29227-91 любого типа и исполнения
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Цилиндр мерный вместимостью 250 см ³ 2-го класса точности по ГОСТ 1770-74 любого исполнения
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Ацетонитрил, оптическая плотность на длине волны 200 нм не более 0,025, например, сорт 0 или сорт 1 по ТУ 2634-002-54260861-2013 торговой марки «Криохром»

4.2 Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых хроматографов с требуемой точностью.

4.3 Все средства измерений, используемые при поверке, должны быть поверены, а стандартные образцы применяться в пределах срока годности экземпляра.

5 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

При проведении поверки хроматографов следует соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007-76, Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок, утвержденных Приказом Минтруда России от 15.12.2020 № 903н, а также требования безопасности, содержащиеся в Руководстве по эксплуатации хроматографов.

6 Внешний осмотр хроматографов

При внешнем осмотре устанавливают соответствие хроматографов следующим требованиям:

- отсутствие внешних повреждений (трещин, вмятин и др.), влияющих на работоспособность;
- исправность органов управления;

- соответствие маркировки требованиям эксплуатационной документации.

Хроматографы считают выдержавшими внешний осмотр, если они соответствуют указанным выше требованиям.

7 Подготовка к поверке и опробование

7.1 Подготовка к поверке

7.1.1 Перед проведением поверки следует изучить Руководство по эксплуатации хроматографа (далее – РЭ) и настоящую методику, а также обеспечить выполнение условий поверки и требований техники безопасности согласно разделу 5.

7.1.2 Подготавливают средства поверки, перечисленные в разделе 4.

7.1.3 Приготавливают подвижную фазу и поверочные растворы антрацена согласно Приложению А.

7.1.4 Подготавливают хроматограф к работе в соответствии с РЭ. Подключают хроматограф к сети, включают электропитание и прогревают хроматограф в течение 30 мин и устанавливают условия регистрации хроматограмм в соответствии с Приложением Б.

7.1.5 Подготавливают к приему данных компьютер и программное обеспечение (далее – ПО) согласно Руководству пользователя программного обеспечения.

П р и м е ч а н и е - Допускается проведение проверки соответствия программного обеспечения (см. раздел 8), не дожидаясь окончания времени прогрева хроматографа.

7.2 Опробование

7.2.1 Опробование хроматографа (автотестирование блоков) проводится в автоматическом режиме после включения питания. В случае успешного прохождения тестирования на дисплее появляется стартовое окно программы управления соответствующим блоком.

8 Проверка соответствия программного обеспечения

8.1 При включении хроматографа в сеть и завершения автотестирования на дисплей соответствующего блока выводится окно «Идентификация ПО», в котором указана версия встроенного ПО. Для выхода из окна «Идентификация ПО» и продолжения работ по поверке хроматографа нажимают клавишу «Esc». Блок хроматографа переходит в «Основное меню».

П р и м е ч а н и е - В случае флуориметрического фильтрового детектора «Люмахром ФЛД 2420 «Флюорат-02-4М» для входа в окно «Идентификация ПО» из окна заставки, открывающегося при включении, следует нажать клавишу «F3».

8.2 Результат проверки считают положительным, если номер версии встроенного ПО соответствует версии, указанной в разделе «Программное обеспечение» описания типа средства измерений или выше.

8.3 Для автономного ПО «МультиХром», используя стандартные средства операционной системы, в меню «Пуск» выбирают подменю «Все Программы», находят в нем элемент, соответствующий ПО «МультиХром» (например, «Система МультиХром») и, раскрыв его, запускают утилиту «Проверка инсталляции ПО», которая выводит на экран компьютера требуемую информацию в форме отчета. При необходимости отчет может быть распечатан. При

отсутствии установленной утилиты в главном меню ПО выбирают элемент *Справка/О программе*. В открывшемся окне *О программе МультиХром* выводится версия ПО. Выход из утилиты (окна *О программе*) осуществляется нажатием кнопки «Заккрыть».

8.4 При использовании автономного ПО «ПикЭксперт» запускают его стандартными средствами операционной системы, в главном меню выбирают элемент *Информация/О программе* и в появившемся диалоге нажимают кнопку «Проверка». При этом появится окно с информацией о метрологически значимой части ПО. Для закрытия окна нажимают кнопку «ОК».

8.5 Результат проверки считают положительным, если номер версии ПО соответствует идентификационным данным, указанным в разделе «Программное обеспечение» описания типа средства измерений» или выше.

9 Определение метрологических характеристик

9.1 Определение предела детектирования

9.1.1 Определение предела детектирования антрацена проводят с каждым детектором, входящим в состав хроматографа.

9.1.2 После выхода хроматографа на режим записывают нулевой сигнал в течение 15 мин. Условия регистрации сигнала должны соответствовать Приложению Б. Измеряют максимальную величину уровня флуктуационных шумов хроматографа на участке с минимальным количеством выбросов (этот участок должен быть равен, по меньшей мере, трем минутам). Полученное значение используется при расчете предела детектирования по формуле (1) для каждой зарегистрированной хроматограммы. Пример обработки хроматограммы приведен в Приложении В.

П р и м е ч а н и я

1. Допускается определение максимального уровня флуктуационных шумов хроматографа непосредственно на хроматограмме контрольного вещества, на участке с минимальным количеством выбросов. Этот участок должен быть равен, по крайней мере, трем минутам.

2. Если программное обеспечение позволяет подсчитать S_{ϕ} – среднее квадратическое отклонение флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа, то уровень флуктуационных шумов может быть оценена как $4S_{\phi}$.

9.1.3 Затем вводят в хроматограф 5 раз ($N = 5$) поверочный раствор антрацена в подвижной фазе по п.А.2 Приложения А. Условия регистрации хроматограмм выбирают в соответствии с Приложением Б.

9.1.4 Регистрируют хроматограммы для каждого ввода и при помощи программного обеспечения определяют площадь хроматографического пика. При этом проверяют автоматическую разметку пика и при необходимости корректируют ее вручную.

9.1.5 Рассчитывают предел детектирования ($C_{min,i}$, нг/см³) для каждого ввода по формуле:

$$C_{min,i} = \frac{2 \cdot \Delta_{h,i} \cdot C_2 \cdot V_n}{S_i \cdot \left(\frac{u}{60}\right)}, \quad (1)$$

где $\Delta_{h,i}$ - уровень флуктуационных шумов детектора по п.9.1.2 для i -ой хроматограммы, единицы выходного сигнала;

C_2 - массовая концентрация поверочного раствора антрацена (по п.А.3.2 Приложения А), нг/см³;

V_n - объем дозирующей петли в соответствии с документацией на хроматограф, мм³;

S_i - площадь пика антрацена по п.9.1.4, единицы выходного сигнала · с;

u - объемная скорость подачи подвижной фазы, мм³/мин.

9.1.6 За предел обнаружения антрацена C_{min} , нг/см³, принимают наибольшее из значений, полученных по п.9.1.5.

9.2 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала хроматографа

9.2.1 При определении относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала хроматографа (далее - ОСКО) используют результаты, полученные по п.9.1.4. При помощи программного обеспечения на каждой хроматограмме фиксируют значения выходного сигнала хроматографа - время удерживания хроматографического пика контрольного вещества (t_i , мин) и его площадь (S_i).

9.2.2 Вычисляют среднее арифметическое полученных значений площади пика $\bar{S}$ и времени удерживания $\bar{t}$:

$$\bar{S} = \frac{\sum_{i=1}^N S_i}{N} \quad (2)$$

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^N t_i}{N} \quad (3)$$

и ОСКО выходного сигнала по формулам:

$$CKO_S = \frac{100}{\bar{S}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (S_i - \bar{S})^2}{N - 1}} \quad (4)$$

$$CKO_t = \frac{100}{\bar{t}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (t_i - \bar{t})^2}{N-1}}, \quad (5)$$

где CKO_s - ОСКО площади пика на хроматограмме, %;

CKO_t - ОСКО времени удерживания пика на хроматограмме, %.

10 Подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям

10.1 Результаты поверки хроматографа считают положительными, если полученные значения ОСКО площади пика, ОСКО времени удерживания и предела детектирования соответствуют значениям, указанным в таблицах 2 - 3.

Таблица 2 – Нормированные значения пределов детектирования антрацена

Тип детектора	Предел детектирования антрацена, нг/см ³ , не более
Спектрофотометрический детектор СФД 3220	1
Флуориметрический фильтровой детектор «Люмахром ФЛД 2420 Флюорат-02-4М»	2
Спектрофлуориметрический детектор «Флюорат-02-Панорама»	0,5

Таблица 3 – Пределы допускаемых значений ОСКО выходного сигнала хроматографа

Тип детектора	По времени удерживания, %	По площади пика, %
Спектрофотометрический детектор СФД 3220	1,5	2
Флуориметрический фильтровой детектор «Люмахром ФЛД 2420 Флюорат-02-4М»	1,5	4
Спектрофлуориметрический детектор «Флюорат-02-Панорама»	1,5	4

11 Оформление результатов поверки

11.1 Данные, полученные при поверке, оформляются в форме протокола в соответствии с требованиями, установленными в организации, проводящей поверку. Рекомендуемая форма записи результатов измерений, включаемых в протокол поверки, приведена в Приложении Г.

11.2 Хроматограф, удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, признается годным к применению. Хроматограф, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики, не допускается к применению.

11.3 Результаты поверки хроматографа подтверждаются сведениями о результатах поверки средств измерений, включенными в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений.

11.4 По заявлению владельца средства измерений или лица, представившего его на поверку, на хроматограф оформляется свидетельство о поверке.

11.5 Знак поверки наносится на свидетельство о поверке (при его оформлении).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

Приготовление подвижной фазы и поверочных растворов

А.1 Подготовка стеклянной посуды

Посуду для приготовления и хранения элюента и поверочных растворов моют только концентрированной серной кислотой (без применения других моющих средств), тщательно ополаскивают дистиллированной водой и сушат 15-30 мин при температуре 105°C.

А.2 Приготовление подвижной фазы (элюента)

Тщательно вымытый согласно п.А.1 цилиндр вместимостью 250 см³ ополаскивают примерно 20 см³ ацетонитрила. Отмеряют с его помощью 200 см³ ацетонитрила и переносят в заранее подготовленную плотно закрывающуюся стеклянную емкость для постоянного хранения подвижной фазы. Этим же цилиндром отмеряют 50 см³ дистиллированной воды, выливают в ту же емкость и тщательно перемешивают. Недопустимо использование резиновых, корковых и полимерных пробок (за исключением фторопластовых).

Перед употреблением элюент выдерживают для дегазации не менее 4 часов либо проводят вакуумирование, поместив емкость с элюентом на ультразвуковую баню.

Срок хранения в условиях, исключающих испарение компонентов смеси – 6 месяцев.

А.3 Приготовление поверочных растворов

А.3.1 Приготовление раствора антрацена в ацетонитриле массовой концентрации 1 мкг/см³

При помощи градуированной пипетки номинальной вместимостью 1 см³ переносят 0,5 см³ стандартного образца состава раствора антрацена в ацетонитриле с номинальным значением массовой концентрации 200 мкг/см³ (действительное значение указано в паспорте) в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 100 см³, разбавляют до метки ацетонитрилом и перемешивают. Срок хранения раствора в холодильнике - 3 месяца.

Действительное значение массовой концентрации антрацена в растворе (C_I , мкг/см³) вычисляют по формуле:

$$C_I = C_o \cdot \frac{V_o}{V_k}, \quad (\text{А.1})$$

где C_o - действительное значение массовой концентрации стандартного образца состава раствора антрацена, мкг/см³;

V_o - объем исходного раствора, использованный для приготовления данного раствора (0,5 см³);

V_k - объем приготовленного раствора (100 см³).

А.3.2 Приготовление раствора антрацена в подвижной фазе массовой концентрации 50 нг/см³

В мерную колбу вместимостью 50 см³ с притертой пробкой при помощи градуированной пипетки номинальной вместимостью 5 см³ помещают 2,5 см³ раствора антрацена в ацетонитриле массовой концентрации 1 мкг/см³ по п.А.3.1, разбавляют до метки подвижной фазой, приготовленной по п.А.2, и перемешивают. Раствор используют в день приготовления.

Действительное значение массовой концентрации антрацена в растворе (C_2 , нг/см³) вычисляют по формуле:

$$C_2 = 1000 \cdot C_1 \cdot \frac{V_1}{V_k}, \quad (\text{А.2})$$

где V_1 - объем промежуточного раствора антрацена массовой концентрации C_1 , мкг/см³, приготовленного по п. А.3.1, использованный для приготовления данного раствора (2,5 см³);

V_k - объем приготовленного раствора (50 см³).

1000 - коэффициент согласования размерности единиц массы.

Относительная погрешность массовой концентрации антрацена в приготовленном растворе не превышает $\pm 3\%$.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(обязательное)

**Настройки блоков хроматографа и программного обеспечения
при регистрации хроматограмм**

Б.1 Необходимые настройки насоса и детекторов приведены в таблице Б.1.

Таблица Б.1

Параметр	Значение
Насос Н 1730	
Режим	Изократический
Верхний предел избыточного давления $P_{\text{макс}}$, МПа	10,0
Нижний предел избыточного давления $P_{\text{мин}}$, МПа	0
Начальное давление P_0 , МПа	1,0
Начальный расход (объемная скорость) подвижной фазы Q_0 , мм ³ /мин	1000
Конечное давление $P_{\text{кон}}$, МПа	0,5
Скорость сброса Q_P , мм ³ /мин	1000
Расход подвижной фазы при регистрации, мм ³ /мин	100
Спектрофотометрический детектор СФД 3220	
Режим работы	Ручной
Длина волны, нм	252
Протокол обмена	1 (МультиХром)
Флуориметрический детектор «Люмахром ФЛД 2420 Флюорат-02-4М»	
Светофильтры	Канал возбуждения – № 1, канал регистрации – ХТ
Режим	Хроматография
Время регистрации, мин	10
Сглаживание	10
Чувствительность	2
Коррекция опорн.	Нет
Коррекция проп.	Есть

Продолжение таблицы Б.1

Параметр	Значение
Спектрофлуориметрический детектор «Флюорат-02-Панорама»	
Длина волны возбуждения, нм	250
Длина волны регистрации, нм	400
Чувствительность	Средняя
Длительность измерения	10
Интервал усреднения, с	1
Каналы	Флюориметрия
Коррекция	На опору
Примечание – Рекомендуется провести выбор оптимальных длин волн возбуждения и регистрации антрацена для спектрофлуориметрического детектора согласно Приложению Д.	

Б.2 Условия хроматографического анализа при проведении поверки приведены в таблице Б.2.

Таблица Б.2

Параметр	Значение
Колонка и подвижная фаза	
Колонка (длина/внутренний диаметр), мм	50/2,1
Состав подвижной фазы	Ацетонитрил – вода 4:1 (об.)
Расход подвижной фазы, мм ³ /мин	100
Объем дозирующей петли, мм ³	В соответствии с формуляром
Поверочный раствор	
Вещество	Антрацен
Массовая концентрация, нг/см ³	50
Растворитель	Подвижная фаза

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(обязательное)

Пример обработки хроматограмм

В.1 Для нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа необходимо распечатать листинг хроматограммы, выбрав масштаб по оси Y таким образом, чтобы вертикальный размер распечатки визуально не превышал ширину шумовой дорожки более чем в 5-7 раз. При распечатке хроматограмм поверочных растворов не обращают внимания на то, что пик рабочего вещества при этом «срезается».

В.2 На рис.В.1 приведен пример нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа (Δ_{hi}) при использовании флуориметрического и спектрофлуориметрического детекторов.

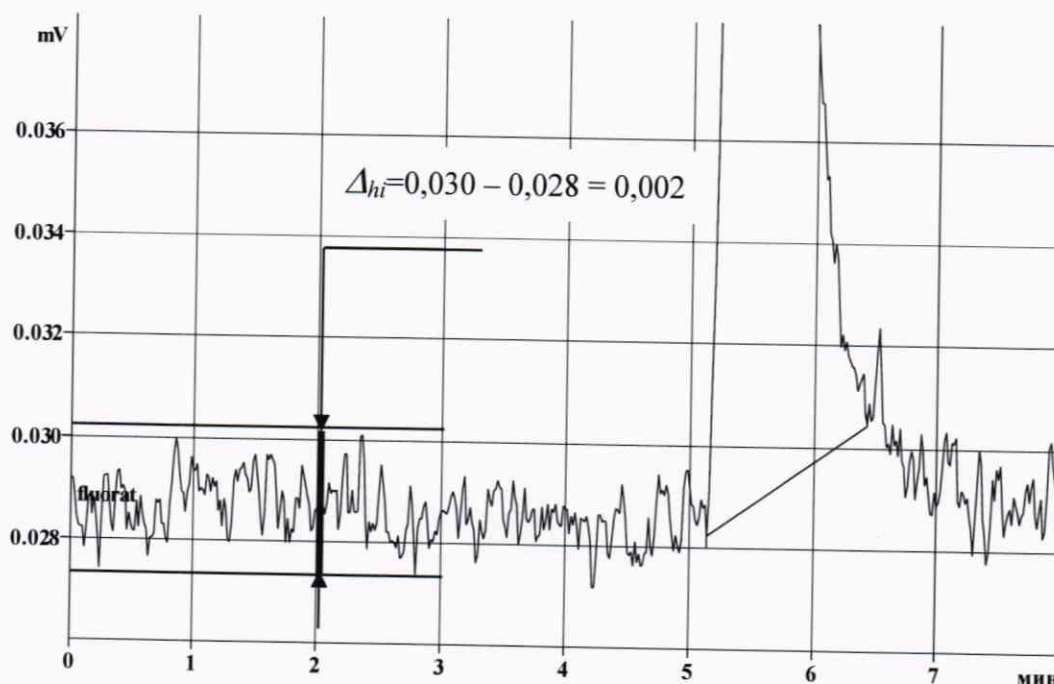


Рис. В.1 - Пример нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала флуориметрического детектора

В.3 На рис.В.2 приведен пример нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа (Δ_h) при использовании спектрофотометрического детектора.

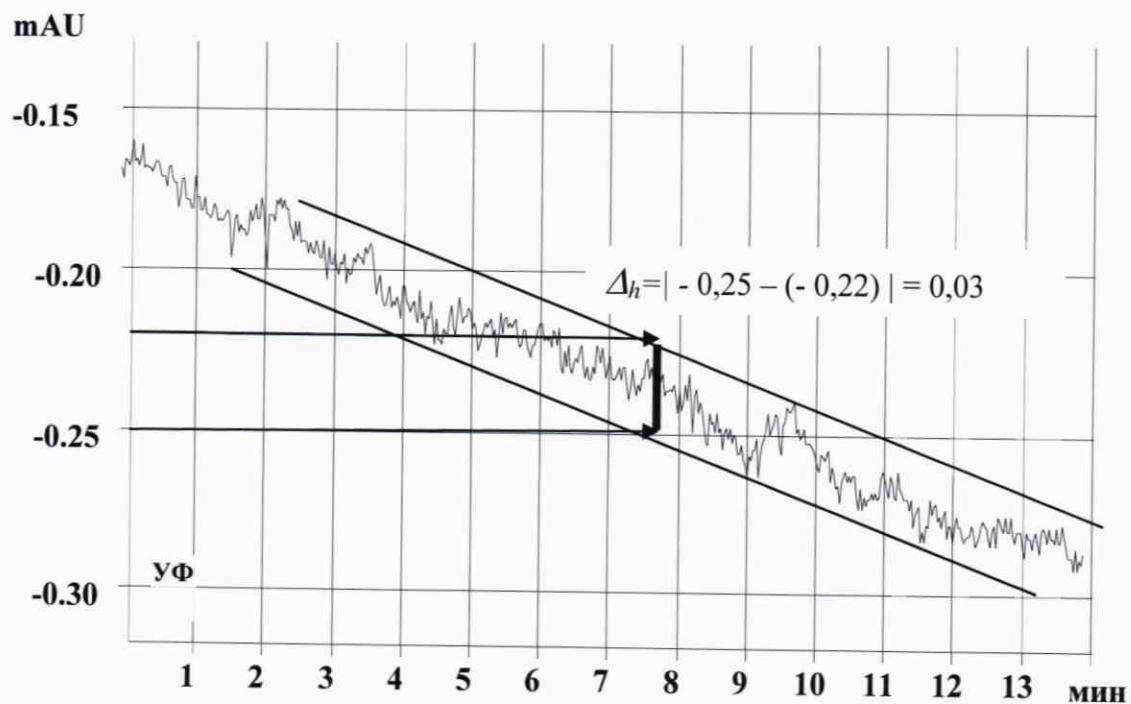


Рис. В.2. Пример нахождения уровня флуктуационных шумов спектрофотометрического детектора

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

(рекомендуемое)

Протокол измерений № _____ от _____

Наименование СИ: хроматограф жидкостной «Люмахром»

Регистрационный номер в ФИФ ОЕИ _____, зав.№ _____, принадлежащий

Обозначение методики поверки _____

Детекторы: _____

Условия проведения поверки

Температура окружающей среды, °C	
Относительная влажность, %	
Атмосферное давление, кПа	

Средства поверки

Раствор антрацена в подвижной фазе, массовая концентрация 50 нг/см³, приготовленный из стандартного образца состава раствора антрацена _____

Результаты поверки

1. Внешний осмотр _____
2. Наименование и версия автономного программного обеспечения _____

3. Опробование: определение предела детектирования

Спектрофотометрический детектор

№	Площадь пика S_i , ед.выходного сигнала·с	Δh_i , ед.выходного сигнала	Предел детектирования, нг/см ³	Предел детектирования, максимальное значение, нг/см ³	Допускаемое значение предела детектирования, нг/см ³ , не более
1					1,0
2					
3					
4					
5					

Флуориметрический детектор

№	Площадь пика S_i , ед.выходного сигнала·с	Δh_i , ед.выходного сигнала	Предел детектирования, нг/см ³	Предел детектирования, максимальное значение, нг/см ³	Допускаемое значение предела детектирования, нг/см ³ , не более
1					2,0
2					
3					
4					
5					

Спектрофлуориметрический детектор

№	Площадь пика S_i , ед.выходного сигнала·с	Δh_i , ед.выходного сигнала	Предел детектирования, нг/см ³	Предел детектирования, максимальное значение, нг/см ³	Допускаемое значение предела детектирования, нг/см ³ , не более
1					0,5
2					
3					
4					
5					

4. Определение метрологических характеристик хроматографа

Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала

Спектрофотометрический детектор

№	Значение выходного сигнала		Относительное СКО выходного сигнала, %			
			Результаты расчета		Предельное допускаемое значение, не более	
	t_i , мин	S_i	По времени удерживания	По площади пика	По времени удерживания	По площади пика
1					1,5	2,0
2						
3						
4						
5						

Флуориметрический детектор

№	Значение выходного сигнала		Относительное СКО выходного сигнала, %			
			Результаты расчета		Предел	
	t_i , мин	S_i	По времени удерживания	По площади пика	По времени удерживания	По площади пика
1					1,5	4,0
2						
3						
4						
5						

Спектрофлуориметрический детектор

№	Значение выходного сигнала		Относительное СКО выходного сигнала, %			
			Результаты расчета		Предел	
	t_i , мин	S_i	По времени удерживания	По площади пика	По времени удерживания	По площади пика
1					1,5	4,0
2						
3						
4						
5						

Измерения провел _____

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

(рекомендуемое)

Оптимизация условий регистрации флуоресценции антрацена при помощи спектрофлуориметрического детектора

Д.1 Подготавливают спектрофлуориметрический детектор к работе и помещают в кюветное отделение кварцевую кювету с раствором антрацена по п.А.3.2 Приложения А. Устанавливают монохроматор возбуждения на длину волны 250 нм.

Д.2 После запуска программного обеспечения в окне «Спектральные измерения» устанавливают следующие параметры: сканирование - «по регистрации», канал «флюориметрия», коррекция - «на опору», усреднение «50», чувствительность ФЭУ - «1».

Д.3 Регистрируют спектр флуоресценции раствора антрацена массовой концентрации 50 нг/см^3 в диапазоне сканирования от 375 до 415 нм, шаг сканирования 1 нм, и находят его максимум в области 395 – 405 нм.

Д.4 Устанавливают режим сканирования «по возбуждению», монохроматор регистрации выставляют на длину волны, соответствующую зарегистрированному по Д.3 максимуму спектра флуоресценции и регистрируют спектр возбуждения в диапазоне сканирования от 230 до 270 нм. Остальные параметры выбирают аналогично п.Д.2. Определяют максимум спектра возбуждения флуоресценции.

Д.5 Найденные по п.Д.3 и Д.4 значения длин волн, соответствующие максимумам спектров возбуждения и регистрации флуоресценции, используют при регистрации хроматограмм по п.9.1.3.