

СОГЛАСОВАНО
Первый заместитель
генерального директора –
заместитель по научной работе
ФГУП «ВНИИФТРИ»



А.Н. Щипунов

июня 2022 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Спектрофлуориметры FL

Методика поверки

651-20-022 МП

2022 г.

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1 Настоящая методика распространяется на спектрофлуориметры FL (далее – спектрофлуориметры), изготавливаемые компанией PerkinElmer Inc., 710 Bridgeport Avenue Shelton, CT 06484-4794, США, и устанавливает объем и методы первичной и периодических поверок.

1.2 Требования по обеспечению прослеживаемости поверяемого спектрофлуориметра к государственным первичным эталонам единиц величин выполняются путем реализации на спектрофлуориметре 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 не предусмотрена возможность проведения поверки отдельных измерительных каналов и (или) отдельных автономных блоков из состава средства измерений для меньшего числа измеряемых величин или на меньшем числе поддиапазонов измерений

Примечание:

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.

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.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

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

Таблица 1 – Операции поверки

Наименование операций поверки	Обязательность выполнения операций поверки при		Номер раздела (пункта) методики поверки, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной поверке	периодической поверке	
Внешний осмотр средства измерений	да	да	7
Подготовка к поверке и опробование спектрофлуориметра	да	да	8
Проверка программного обеспечения средства измерений	да	да	9
Определение метрологических характеристик спектрофлуориметра	да	да	10
Определение абсолютной погрешности измерений массовой концентрации фенола	да	да	10.1
Определение относительного среднего квадратического отклонения случайной составляющей погрешности измерений массовой концентрации фенола	да	да	10.2
Определение предела обнаружения фенола	да	да	10.3
Определение отношения «сигнал/шум»	да	да	10.4
Подтверждение соответствия спектрофлуориметра метрологических требованиям	да	да	11

2.2 Не допускается проведение поверки меньшего числа измеряемых величин.

2.3 Первичная и периодическая поверка спектрофлуориметров может проводиться как в лабораторных условиях, так и по месту эксплуатации спектрофлуориметров.

2.4 При получении отрицательных результатов поверки по любому пункту таблицы 1 спектрофлуориметр признается непригодным к применению.

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 15 до 25 °С;
- относительная влажность от 30 до 80 %;
- атмосферное давление от 84 до 106,7 кПа (от 630 до 800 мм рт. ст.)

3.2 При поведении поверки должны соблюдаться условия эксплуатации основных и вспомогательных средств поверки.

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

4.1 К работе со спектрофлуориметрами и проведению поверки допускаются лица, ознакомленные с руководством по эксплуатации поверяемого спектрофлуориметра и

инструкциями (руководствами) по применению средств измерений, стандартных образцов и вспомогательных средств поверки и имеющие квалификацию не ниже бакалавра (инженера) и прошедшие инструктаж по технике безопасности. Для получения данных со спектрофлуориметров, необходимых для поверки, допускается участие технических специалистов организации заявившей прибор на поверку (под контролем поверителя).

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

5.1 При проведении поверки применяют средства, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
п. 3 Требования к условиям проведения поверки	Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от 15 до 25 °С с абсолютной погрешностью не более 1 °С; Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне от 30 до 80 % с погрешностью не более 2%; Средства измерений атмосферного давления в диапазоне от 84 до 107 кПа, с абсолютной погрешностью не более 0,5 кПа.	Термогигрометры ИВА-6Н (рег. № 46434-11)
п. 10 Определение метрологических характеристик	Стандартный образец состава раствора фенола, массовая концентрация фенола 1 мг/см ³ , погрешность определения концентрации 1% при доверительной вероятности $p=0,95$ Вода для лабораторного анализа второй степени чистоты	Государственный стандартный образец состава раствора фенола в этаноле (ГСО 7346-96), массовая концентрация фенола 1 мг/см ³ , погрешность определения концентрации 1% при доверительной вероятности $p=0,95$; Вода для лабораторного анализа (второй степени чистоты) по ГОСТ Р 52501-2005 (ИСО 3696:1987)

5.2. Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых спектрофлуориметров с требуемой точностью.

5.3. Все средства измерений, используемые при поверке, должны быть поверены и иметь сведения о результатах поверки в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений. ГСО и химические реактивы (растворители) должны иметь действующие паспорта.

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки соблюдают следующие требования безопасности:

6.1. Спектрофлуориметр должен быть установлен в хорошо проветриваемом помещении.

6.2. При проведении поверки требуется следовать правилам безопасности, изложенным в разделе «Техника безопасности» Руководства по эксплуатации спектрофлуориметров.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

7.1. При внешнем осмотре следует проверить:

- комплектность спектрофлуориметра и наличие маркировки путём сличения с эксплуатационной документацией (ЭД) на спектрофлуориметр;
- отсутствие внешних повреждений, влияющих на работоспособность;
- исправность органов управления;
- четкость надписей на лицевой панели;

Результаты внешнего осмотра признаются положительными, если все указанные в п.

7.1 проверки прошли с положительным результатом.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА

8.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы:

8.2 Подготовительные работы и опробование выполняют в соответствии с руководством по эксплуатации спектрофлуориметра.

8.3 В соответствии с Приложением А настоящей Методики Поверки готовят аттестованные растворы №1, 2, 3.

8.4 Опробование спектрофлуориметра заключается в его включении и запуске программного обеспечения.

8.5 Результаты опробования считать положительными, если на экране не появляется сообщений об ошибках.

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

9.1 Проверка программного обеспечения (далее - ПО) спектрофлуориметров проводится путем установления соответствия ПО спектрофлуориметров, представленных на поверку, тому ПО, которое было зафиксировано (внесено в банк данных) при испытаниях в целях утверждения типа.

9.2 Для проверки соответствия ПО выполняют следующие операции

9.2.1 Проверка идентификационных данных программного обеспечения

При проверке идентификационных данных ПО проверяют идентификационное наименование ПО, номер версии (идентификационный номер). Идентификационные сведения о программе располагаются по следующему пути:

Русскоязычная версия ПО: Помощь -> О программе

Англоязычная версия ПО: Help -> About

Функционирование ПО идентифицируется отображением на экране возможности редактирования доступных областей данных.

Идентификационные данные ПО должны соответствовать таблице 4.

Таблица 4 – Идентификационные данные ПО

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Идентификационное наименование ПО	Spectrum FL
Номер версии (идентификационный номер) ПО	не ниже 1.0.0
Цифровой идентификатор ПО (контрольная сумма исполняемого кода)	-

9.2.2. Результаты поверки считать положительными, если идентификационные данные (признаки) ПО соответствуют приведенным в таблице 4.

10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА

10.1. Определение абсолютной погрешности измерений массовой концентрации фенола

10.1.1. Установить для спектрофлуориметров FL длину волны возбуждения 260 нм, длину волны эмиссии 300 нм, ширину щелей обоих монохроматоров 5 нм.

10.1.2. Для определения абсолютной погрешности измерений массовой концентрации фенола последовательно измерить интенсивность флуоресценции воды 2-й степени чистоты и аттестованных растворов № 1, № 2, № 3. Определить интенсивности сигналов и методом наименьших квадратов построить градуировочную зависимость. Используя полученную градуировочную зависимость, провести 10 измерений массовой концентрации каждого из аттестованных растворов № 1, № 2, № 3 по полученной градуировочной зависимости.

10.1.3. Рассчитать среднее арифметическое значение массовой концентрации фенола для каждого аттестованного раствора по формуле (1):

$$w_{\text{cp}} = \frac{\sum_{i=1}^{10} w_i}{10}, \quad (1)$$

где w_i - измеренное значение массовой концентрации фенола, мг/дм³.

10.1.4. Рассчитать абсолютную погрешность измерений массовой концентрации фенола по формуле (2):

$$\Delta = w_{\text{cp}} - w_{\text{атт}}, \quad (2)$$

где $w_{\text{атт}}$ - аттестованное значение массовой концентрации фенола, мг/дм³.

10.2. Определение относительного среднего квадратического отклонения случайной составляющей погрешности измерений массовой концентрации фенола.

10.2.1. Вычислить относительное среднее квадратическое отклонение случайной составляющей погрешности измерений массовой концентрации фенола (оско), используя значения массовой концентрации, полученные в п. 6.4, по формуле (3):

$$\text{ОСКО} = \frac{1}{w_{\text{cp}}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (w_i - w_{\text{cp}})^2}{n(n-1)}} \cdot 100\%. \quad (3)$$

10.3. Определение предела обнаружения фенола

10.3.1. Используя полученную в пункте 10.1.2 градуировочную зависимость для фенола провести 10 измерений для воды 2-й степени чистоты.

10.3.2. Рассчитать среднее арифметическое значение массовой концентрации фона фенола по формуле (4):

$$w_{\text{cp}} = \frac{\sum_{i=1}^{10} w_i}{10}, \quad (4)$$

где w_i - измеренное значение массовой концентрации фенола, мг/дм³

10.3.3. По полученным результатам находят среднее квадратическое отклонение фона фенола по формуле (5):

$$\text{СКО} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (w_i - w_{\text{cp}})^2}{n-1}}, \quad (5)$$

где w_i - измеренное значение массовой концентрации, мг/дм³;

$w_{\text{ср}}$ - среднее значение массовой концентрации, мг/дм³;

n – число измерений массовой концентрации.

10.3.4. За предел обнаружения по 3σ -критерию принимают утроенное абсолютное значение СКО. Предел обнаружения (ПрО) определяют по формуле (6):

$$\text{ПрО} = 3 \times \text{СКО}, \quad (6)$$

где СКО – среднее квадратическое отклонение фона, мг/дм³.

10.4. Определение отношения «сигнал/шум»

10.4.1. Поместить кварцевую кювету с длиной оптического пути 10 мм, заполненную водой 2-й степени чистоты, в отделение для образцов.

10.4.2. Перейти в раздел Validation настроек Method Setup. Из списка Validation Methods выбрать только пункт Water Raman Sensitivity и подпункт Signal To Noise. Сохранить метод, выбрав из главного меню ПО FL Winlab пункт Method > Save, а затем запустить тест отношения сигнал/шум, выбрав из главного меню пункт Action > Run. Измерения начнутся автоматически. После окончания измерений перейти в раздел ПО Previous Results, искомое значение отношения сигнал/шум будет представлено на вкладке Detail в разделе S/N.

11 ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРА МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

11.1. Определение абсолютной погрешности измерений массовой концентрации фенола. Результаты поверки считать положительными, если значения абсолютной погрешности измерений массовой концентрации фенола находятся в пределах, определенных по формуле $\pm(0,05 \cdot w_{\text{атт}} + 0,03)$ мг/дм³

11.2. Результаты поверки считать положительными, если ОСКО случайной составляющей погрешности измерений массовой концентрации фенола в каждом из аттестованных растворов не превышает 5 %.

11.3. Результаты поверки считать положительными, если рассчитанная величина предела обнаружения для фенола не превышает 0,0050 мг/дм³.

11.4. Результаты поверки считать положительными, если значения «сигнал/шум» не менее 750:1 для спектрофлуориметра FL 6500 и не менее 4000:1 для спектрофлуориметра FL 8500.

12 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

12.1 Результаты поверки спектрофлуориметра подтверждаются сведениями о результатах поверки средств измерений, включенными в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. По заявлению владельца спектрофлуориметра или лица, представившего его на поверку, на руководство по эксплуатации спектрофлуориметра наносится знак поверки, и (или) выдается свидетельство о поверке и (или) в паспорт спектрофлуориметра вносится запись о проведенной поверке, заверяемая подписью поверителя и знаком поверки, с указанием даты поверки, или выдается извещение о непригодности к применению средства измерений.

12.2 Результаты поверки оформляются в соответствии с приказом № 2510 от 31.07.2020 Минпромторга России.

Начальник НИО-6 ФГУП «ВНИИФТРИ»



В.И. Добровольский

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ АТТЕСТОВАННЫХ РАСТВОРОВ ФЕНОЛА

А.1 Назначение и область применения

Настоящая методика регламентирует процедуру приготовления аттестованных растворов фенола. Аттестованные растворы фенола предназначены для поверки спектрофлуориметров FL. Аттестованное значение концентрации фенола в растворах находится в диапазоне от 0,01 мг/дм³ до 0,5 мг/дм³.

А.2 Нормы и погрешности

А.2.1 Характеристики погрешности аттестованных растворов фенола оценивают по процедуре приготовления с учетом всех составляющих погрешностей, вносимых на каждой стадии приготовления растворов фенола.

А.2.2 Настоящая методика обеспечивает получение аттестованных растворов фенола с погрешностью аттестованных значений фенола не превышающих при доверительной вероятности $P=0,95$ доверительных интервалов абсолютной погрешности ($\pm\Delta A$) при соблюдении всех регламентированных условий.

А.3 Средства измерений, приборы и реактивы

А.3.1 Весы лабораторные, класс точности специальный (1) по ГОСТ 24104-2001.

А.3.2 Колбы мерные 2-го класса точности с притертой пробкой по ГОСТ 1770-74.

А.3.3 Пипетки 2-го класса точности по ГОСТ 29169-91, 29228-91.

А.3.4 ГСО 7346-96.

А.3.5 Вода 2-й степени чистоты. ГОСТ Р 52501-2005 (ИСО 3696:1987) Вода для лабораторного анализа. Технические условия.

А.4 Требования безопасности

А.4.1 Применение ГСО 7346-96 требует соблюдения мер предосторожности, так как данный стандартный образец является раствором фенола. Если раствор фенола попал на руки, то нужно немедленно тщательно промыть место попадания водой, так как фенол легко проникает через кожу. Фенол довольно токсичен для человека, нарушает функционирование нервной системы, при воздействии на слизистую оболочку, кожу, дыхательные пути вызывает раздражение, в дальнейшем может спровоцировать онкологические заболевания. При работе с фенолом необходимо пользоваться индивидуальными средствами защиты (респираторы, резиновые перчатки, защитные очки, спецодежда), а также соблюдать правила личной гигиены. Все рабочие помещения должны быть оборудованы общей приточно-вытяжной вентиляцией. Работы с фенолом следует проводить в вытяжном шкафу лаборатории.

А.5 Требования к квалификации оператора

К приготовлению аттестованных растворов фенола и вычислениям допускают лиц, имеющих квалификацию инженера-химика или техника-химика и опыт работы в химической лаборатории.

А.6 Условия приготовления аттестованных растворов фенола

А.6.1 Приготовление аттестованных растворов фенола проводят при соблюдении в лаборатории следующих условий:

- температура окружающего воздуха от 15 до 25 °С;
- атмосферное давление от 96 до 104, кПа;
- относительная влажность окружающего воздуха от 45 до 75 %.

А.6.2 Приготовленные аттестованные растворы фенола следует хранить в колбах с хорошо притертыми пробками при температуре 18 до 22 °С, вдали от прямых солнечных лучей. Растворы фенола устойчивы в течение 1 недели.

А.7 Приготовление аттестованных растворов фенола

Из раствора с концентрацией фенола 1 г/дм³ (ГСО 7346-96) отбирают аликвоту в 1 см³ и переносят в колбу на 100 см³. Колбу доводят водой 2-й степени чистоты до метки и перемешивают содержимое колбы, переворачивая её 10 раз. Полученный исходный раствор имеет концентрацию фенола 10 мг/дм³.

Из исходного раствора с концентрацией фенола 10 мг/дм³ готовят аттестованные растворы № 2 и № 3 с концентрациями фенола 0,1 мг/дм³ и 0,5 мг/дм³ посредством отбора аликвот в 1 см³ и 5 см³, соответственно, и переноса их в колбы на 100 см³. Колбы доводят водой 2-й степени чистоты до метки и перемешивают содержимое колб, переворачивая их 10 раз.

Из аттестованного раствора № 2 с концентрацией фенола 0,1 мг/см³ отбирают аликвоту в 10 см³ и переносят в колбу на 100 см³. Колбу доводят водой 2-й степени чистоты до метки и перемешивают содержимое колбы, переворачивая её 10 раз. Полученный аттестованный раствор № 1 имеет концентрацию фенола 0,01 мг/см³.

А.8 Оценка метрологических характеристик аттестованных растворов фенола

А.8.1 Значения пределов абсолютной погрешности аттестованного значения массовой концентрации фенола (ΔA) в аттестованных растворах, рассчитанные по формуле (1), приведены в таблице 1.

$$\Delta A = (\delta \cdot X)/100 \quad (1)$$

где δ - относительная погрешность приготовления аттестованных растворов, рассчитываемая по формуле (2):

X - концентрация приготовленных растворов;

$$\delta = \sqrt{\delta_1^2 + \delta_2^2} \quad (2)$$

А.8.2 Относительная погрешность приготовления аттестованных растворов рассчитывается по формулам 3 и 4:

$$\delta_1 = (\Delta V_k / V_k) \cdot 100, \% \quad (3)$$

$$\delta_2 = (\Delta V_n / V_n) \cdot 100, \% \quad (4)$$

где ΔV_k - погрешность измерений объема мерной колбы, (берется в соответствии с ГОСТ 1770-74);

V_k - объем мерной колбы, см³;

ΔV_n - погрешность измерений объема пипетки 2-го класса точности по ГОСТ 29169-91, ГОСТ 29228-91;

V_n - объем дозирования пипетки 2-го класса точности по ГОСТ 29169-91, ГОСТ 29228-91, см³.

А.9 Оформление результатов

А.9.1 Рассчитанные значения метрологических характеристик приготовленных аттестованных растворов фенола приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики аттестованных растворов фенола

Номер аттестованного раствора	Концентрация раствора, мг/дм ³	Абсолютная погрешность аттестованного значения растворов фенола, ΔA , мг/дм ³
1	0,01	0,0002
2	0,1	0,0021
3	0,5	0,0158