

СОГЛАСОВАНО

Руководитель ГЦИ СИ, заместитель
Генерального директора
ФБУ «Ростест - Москва»



 А.С.Евдокимов

«07» ноября 2013 г.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ИнтелБио»



 И.В. Кашинцев

«07» ноября 2013 г.

**ТУРБИДОФЛУОРИМЕТР
«БиоТФ»**

Методика поверки

ИНТЕЛБИО.03.00.00.МП

2013

Настоящая методика поверки распространяется на турбидофлуориметры БиоТФ (далее – приборы) выпускаемые по техническим условиям ТУ 4434-001-90177498-2013.

Методика устанавливает методы и средства поверки приборов при выпуске из производства и в процессе эксплуатации.

Периодичность поверки -1 год.

1 Операции и средства поверки

Турбидофлуориметры БиоТФ предназначены для динамических измерений интенсивности светорассеяния и флуоресценции при заданной температуре в мутных растворах биологических жидкостей.

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

Таблица 1

Наименование операций	Номер пункта методики поверки	Поверка	
		первичная	периодическая
Внешний осмотр	6.1	Да	Да
Опробование. Идентификация программного обеспечения.	6.2	Да	Да
Определение пределов относительной погрешности прибора при измерении формазиновой суспензии.	6.3.1	Да	Да
Определение предела случайной составляющей погрешности прибора при измерении формазиновой суспензии.	6.3.1	Да	Да
Определение предела случайной составляющей погрешности прибора при измерении интенсивности флуоресценции в испытательном растворе родамина Ж.	6.3.2	Да	Да
Оформление результатов поверки.	7	Да	Да

2 Средства поверки

2.1 При проведении поверки используют средства, указанные в таблице 2.

Таблица 2

Номер пункта методики поверки	Наименование и тип основного или вспомогательного средства поверки	Основные метрологические и технические характеристики
6.3.1	Стандартный образец мутности (формазиновой суспензии), ГСО 7271-96	$4000 \pm 2,0\%$ ЕМФ
6.3.2	Родамин Ж, ТУ 6-09-2463-82 ч.д.а.	массовая доля примесей не более 1,0%

Приложения А и Б	Колба мерная наливная объемом 100 мл, ГОСТ 1770-74	$\pm 0,2$ мл
	Весы электронные АТ201, номер по Государственному реестру 18949-99	$\pm 0,0002$ г
	Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема Pipetman номер по Государственному реестру 28123-04, исполнений:	
	-P5000 (1,0 – 5,0 мл);	$\pm 1,2\%$ при $V = 1$ мл; $\pm 0,7\%$ при $V = 2$ мл; $\pm 0,6\%$ при $V = 5$ мл;
	-P1000 (200 – 1000 мкл)	$\pm 0,8\%$ при $V = 1$ мл; $\pm 0,8\%$ при $V = 0,5$ мл; $\pm 1,5\%$ при $V = 0,2$ мл
	-P100 (20 – 100 мкл)	$\pm 1,0\%$ при $V = 0,05$ мл; $\pm 1,0\%$ при $V = 0,1$ мл; $\pm 0,8\%$ при $V = 0,2$ мл;

2.2 Средства измерений, указанные в таблице 2, должны быть поверены и аттестованы в установленном порядке.

2.3 Допускается использовать эталонные средства других типов, обеспечивающие поверку метрологических характеристик приборов с заданной точностью.

3 Требования к квалификации поверителя

Поверку осуществляют физические лица, прошедшие обучение на предприятие-разработчика и аттестованные в порядке, установленном действующим законодательством РФ.

4 Условия поверки

Температура окружающей среды $23 \pm 5^\circ\text{C}$.

Относительная влажность не более 80% при $t^\circ = 25^\circ\text{C}$.

Атмосферное давление от 84 до 106 кПа.

5 Подготовка к поверке

Перед поверкой приборы необходимо выдерживать в указанных условиях поверки не менее 1 часа.

6 Проведение поверки

6.1 Внешний осмотр.

- прибор не должен иметь на наружной поверхности царапин, вмятин, повреждений;
- маркировка прибора должна быть различима (наименование и товарный знак завода-изготовителя, тип и заводской номер прибора).

6.2 Опробование прибора.

Подготовка к работе и проверка функционирования прибора проводится в соответствии с разделом 6 Руководства по эксплуатации.

После запуска программы БиоТФ проводится проверка соответствия следующих заявленных идентификационных данных программного обеспечения:

- 1) наименования программного обеспечения;
- 2) идентификационное наименование программного обеспечения;
- 3) номер версии (идентификационный номер) программного обеспечения;

Программное обеспечение идентифицируется в виде номера версии программы при включении турбидофлуориметра БиоТФ в разделе программы БиоТФ «Справка», «О программе».

Результат опробования считается положительным, если заданная программа измерения выполняется без сбоев, а идентификационный номер программного обеспечения соответствует поверяемому СИ.

6.3 Определение погрешности прибора.

6.3.1. Определение погрешности прибора при измерении формазинной суспензии.

Измерения растворов формазинной суспензии и бланка проводить в калиброванных микропробирках, поставляемых предприятием-изготовителем по отдельному заказу.

6.3.1.1. Растворы формазинной суспензии стандартного образца готовят путем разведения исходного раствора (4000 ЕМФ): 1000, 400, 200 и 100 ЕМФ, в соответствии с методикой приготовления, приведенной в приложении А.

Перед использованием растворы тщательно перемешать в течение 30 сек.

6.3.1.2. В меню программы БиоТФ выбирают пункт «Эксперимент» рис.1. В выпадающем списке выбрать пункт «Настройка» и в появившемся окне нажать кнопку «Холостая проба». После сообщения «Новые значения холостой пробы записаны в память устройства» нажать кнопку «ОК».

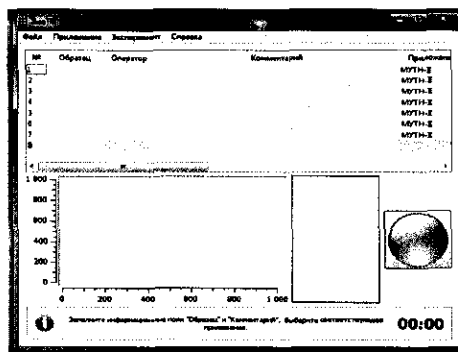


Рис. 1. Окно программы БиоТФ.

Нажать пункт «Приложения» и в выпадающем списке выбрать приложение «turb.app». После чего сдвинуть крышку измерительной платформы турбидофлуориметра и установить в измерительную ячейку микропробирку с дистиллированной водой (объемом не менее 1,2 мл), закрыть крышку и нажать большую зеленую кнопку и после начала измерений, через 10-15 секунд нажать кнопку «БЛАНК». Последовательно нажимая кнопку «БЛАНК» добиться стабильных показаний бланка.

Установить в измерительную ячейку микропробирку с раствором формазинной суспензии (объемом не менее 1,2 мл) с концентрацией 100 ЕМФ. После установившихся значений показаний мутности (5-10 секунд после закрытия крышки) снять последовательно 10 показаний (рис.2) в течение одной минуты.

Полученные значения результатов измерений занести в протокол (приложение В).

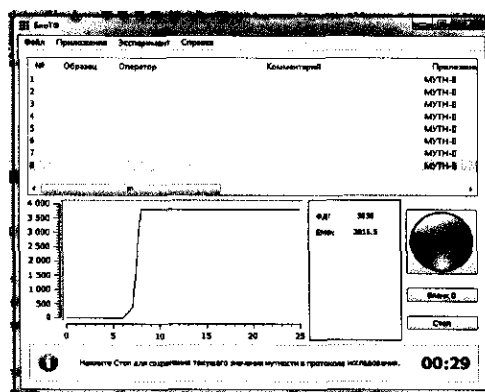


Рис. 2. Рабочее состояние программы БиоТФ.

6.3.1.3. Последовательно провести измерения по п. 6.3.1.2. для растворов формазинной суспензии с концентрацией 200, 400 и 1000 ЕМФ.

6.3.1.4. По результатам измерений рассчитать:

- среднее значение измеряемой прибором мутности раствора $D_{срj}$ по формуле:

$$D_{срj} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} D_{ij}}{n},$$

где D_{ij} – измеренные значения мутности D в серии из $n=10$ измерений.

- относительную погрешность прибора (ΔS_j) в растворе по формуле:

$$\Delta S_j = 100 \cdot \frac{D_{срj} - D_{oj}}{D_{oj}} \%$$

где D_{oj} - значение мутности, приготовленного раствора

- относительное среднее квадратическое отклонение (СКО) случайной составляющей погрешности прибора $S[\Delta]_i$ в каждом растворе по формуле:

$$S[\Delta]_j = \frac{100}{D_{cpj}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (D_i - D_{cpj})^2}{n-1}} \%$$

6.3.1.5. Результаты поверки считаются положительными, если относительная погрешность прибора не превышает $\pm 20,0\%$, а относительное среднее квадратическое отклонение случайной составляющей погрешности не превышает 5% .

6.3.2. Определение предела случайной составляющей погрешности прибора при измерении интенсивности флуоресценции в испытательном растворе родамина Ж.

Измерения растворов родамина Ж и бланка проводить в калиброванных микропробирках, поставляемых предприятием-изготовителем по отдельному заказу.

6.3.2.1. Испытательные растворы родамина Ж с концентрацией 4,0, 4,0, 1,0 и 0,4 мкмоль/л готовят в соответствии с методикой приготовления, приведенной в приложении Б.

Перед использованием растворы тщательно перемешать в течении 30 сек.

6.3.2.2. В меню программы БиоТФ выбирают пункт «Эксперимент» рис.1. В выпадающем списке выбрать пункт «Настройка» и в появившемся окне нажать кнопку «Холостая проба». После сообщения «Новые значения холостой пробы записаны в память устройства» нажать кнопку «ОК».

Нажать пункт «Приложения» и в выпадающем списке выбрать приложение «fluo.app». После чего сдвинуть крышку измерительной платформы турбидофлуориметра и установить в измерительную ячейку микропробирку с дистиллированной водой (объемом не менее 1,2 мл), закрыть крышку и нажать большую зеленую кнопку и после начала измерений, через 10-15 секунд нажать кнопку «БЛАНК». Последовательно нажимая кнопку «БЛАНК» добиться стабильных показаний бланка.

Установить в измерительную ячейку микропробирку с раствором родамина с концентрацией 0,4 мкмоль/л. После установившихся значений показаний флуоресценции (5-10 секунд после закрытия крышки) снять последовательно 10 показаний (рис.2) в течение одной минуты.

Полученные значения результатов измерения занести в протокол (приложение В).

6.3.2.3. Последовательно провести измерения по п. 6.3.2.2. для растворов родамина Ж с концентрацией 1,0, 2,0 и 4,0 мкмоль/л.

6.3.2.4. По результатам измерений рассчитать относительное среднее квадратическое отклонение (СКО) случайной составляющей погрешности прибора $S[\Delta]_i$ в каждом растворе по формуле:

$$S[\Delta]_j = \frac{100}{\Phi_{срj}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{i=n} (\Phi_i - \Phi_{срj})^2}{n-1}} \%$$

где Φ_{ij} – измеренные значения флуоресценции раствора радамина Ж.

6.3.2.5. Результаты поверки считаются положительными, если относительное среднее квадратическое отклонение случайной составляющей погрешности не превышает 5%.

7 Оформление результатов поверки

7.1 Результат поверки прибора считается положительным, если выполняются все требования п.п. 6.1 - 6.3.

7.2 Если прибор имеют отрицательные результаты поверки, то на прибор выдается извещение о непригодности.

Начальник лаборатории 448
ФБУ «Ростест – Москва»
Главный специалист по метрологии



В.В. Рыбин



А.А. Мягков

Приложение А

**МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПОВЕРОЧНЫХ РАСТВОРОВ
ФОРМАЗИНОВОЙ СУСПЕНЗИИ ГСО 7271-96**

Для проверки метрологических характеристик прибора используют стандартный образец мутности (формазиновой суспензии), ГСО 7271-96.

Растворы формазиновой суспензии стандартного образца готовят путем разведения исходного раствора (4000 ЕМФ).

При приготовлении поверочных растворов формазиновой суспензии должны быть использованы средства измерений и исходные материалы (химические реактивы), указанные в таблице А1.

Таблица А1

Наименование и тип средства измерений; материала (химического реактива); обозначение нормативного документа	Метрологические и основные технические характеристики
- дозатор пипеточный одноканальный переменного объема Pipetman исп. Р5000 (1000 – 5000 мкл), номер по Государственному реестру 28123-04	$\pm 1,2\%$ при $V = 1$ мл; $\pm 0,7\%$ при $V = 2$ мл; $\pm 0,6\%$ при $V = 5$ мл;
- дозатор пипеточный одноканальный переменного объема Pipetman исп. Р1000 (200 – 1000 мкл), номер по Государственному реестру 28123-04	$\pm 0,8\%$ при $V = 1$ мл; $\pm 0,8\%$ при $V = 0,5$ мл; $\pm 1,5\%$ при $V = 0,2$ мл;
- дозатор пипеточный одноканальный переменного объема Pipetman исп. Р100 (20 – 100 мкл), номер по Государственному реестру 28123-04	$\pm 1,0\%$ при $V = 0,05$ мл; $\pm 1,0\%$ при $V = 0,1$ мл; $\pm 0,8\%$ при $V = 0,2$ мл;
- стандартный образец мутности (формазиновой суспензии), ГСО 7271-96	4000 $\pm 2\%$ ЕМФ
- вода дистиллированная ГОСТ 6709-72	

Для получения раствора с концентрацией 1000 ЕМФ из ампулы ГСО отбирают 0,5 мл формазиновой суспензии и переносят в микропробирку, добавляя к ней 1,5 мл дистиллированной воды.

Для получения раствора с концентрацией 400 ЕМФ из ампулы ГСО отбирают 0,2 мл формазиновой суспензии и переносят в микропробирку, добавляя к ней 1,8 мл дистиллированной воды.

Для получения раствора с концентрацией 200 ЕМФ из ампулы ГСО отбирают 0,1 мл формазиновой суспензии и переносят в микропробирку, добавляя к ней 1,9 мл дистиллированной воды.

Для получения раствора с концентрацией 100 ЕМФ из ампулы ГСО отбирают 0,05 мл формазиновой суспензии и переносят в микропробирку, добавляя к ней 1,95 мл дистиллированной воды.

Погрешность поверочных растворов формазинной суспензии при доверительной вероятности 0,95 рассчитывают по процедуре приготовления в соответствии с РМГ 60-2003.

Погрешность растворов δ_0 рассчитывают по формуле:

$$\delta_i = \sqrt{\delta_{ED}^2 + 2\delta_d^2}$$

где: - $\delta_{ир}$ – относительная погрешность исходного раствора формазинной суспензии:

- δ_d – относительная погрешность дозатора

Относительная погрешность растворов формазинной суспензии приведена в таблице А2.

Таблица А2.

Концентрация растворов формазинной суспензии, ЕМФ	4000	1000	400	200	100
Относительная погрешность растворов, % не более	±2	±2,3	±2,6	±2,3	±2,3

Перед использованием растворы тщательно перемешать в течении 30 сек.

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ИСПЫТАТЕЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

РОДАМИНА Ж

Для приготовления испытательного раствора используют родамин Ж ТУ 6-09-2463-82.

При приготовлении испытательных растворов должны быть использованы средства измерений и исходные материалы (химические реактивы), указанные в таблице Б1.

Таблица Б1

Наименование и тип средства измерений; материала (химического реактива); обозначение нормативного документа	Метрологические и основные технические характеристики
- весы электронные АТ201, номер по Государственному реестру 18949-99	$\pm 0,0002$ г
- дозатор пипеточный одноканальный переменного объема Pipetman исп. Р5000 (1000 – 5000 мкл), номер по Государственному реестру 28123-04	$\pm 1,2\%$ при $V = 1$ мл; $\pm 0,7\%$ при $V = 2$ мл; $\pm 0,6\%$ при $V = 5$ мл
- дозатор пипеточный одноканальный переменного объема Pipetman исп. Р1000 (200 – 1000 мкл), номер по Государственному реестру 28123-04	$\pm 0,8\%$ при $V = 1$ мл; $\pm 0,8\%$ при $V = 0,5$ мл; $\pm 1,5\%$ при $V = 0,2$ мл
- колба мерная наливная объемом 100 мл, 2-го класса точности ГОСТ 1770-74	$\pm 0,2$ мл
- вода дистиллированная ГОСТ 6709-72	
- родамин Ж, ТУ 6-09-2463-82 ч.д.а., с массовой долей примесей не более	1,0%

Примечание.

1. Средства измерений, указанные в таблице, должны быть поверены в установленном порядке.
2. Смешивание жидкостей, связанное с измерением объема конечного раствора, производится при температуре жидкостей $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$, при этом температура контролируется по ртутному термометру ТЛ-18.
3. Допускается использовать материалы и эталонные средства других типов, имеющие метрологические характеристики не хуже указанных.

Для приготовления исходного раствора родамин молярной концентрацией 4,0 мкмоль/л взвесить в стаканчике для взвешивания на лабораторных весах с погрешностью не более $\pm 0,0002$ г навеску родамин массой 0,0192 г. Навеску количественно перенести в мерную колбу вместимостью 100 мл и довести объем раствора дистиллированной водой до метки. Затем из полученного раствора отбирают 1 мл и переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки.

Для получения раствора с концентрацией 2,0 мкмоль/л из исходного раствора отбирают 1,0 мл и добавляют к ней 1,0 мл дистиллированной воды.

Для получения раствора с концентрацией 1,0 мкмоль/л из исходного раствора отбирают 0,5 мл и добавляют к ней 1,5 мл дистиллированной воды.

Для получения раствора с концентрацией 0,4 мкмоль/л из исходного раствора отбирают 0,2 мл и добавляют к ней 1,8 мл дистиллированной воды.

Погрешность испытательных растворов родамина Ж при доверительной вероятности 0,95 рассчитывают по процедуре приготовления в соответствии с РМГ 60-2003.

Погрешность исходного раствора δ_0 рассчитывают по формуле:

$$\delta_i = \sqrt{\delta_A^2 + \delta_D + 2\delta_E^2}$$

где: - δ_B – относительная погрешность весов, $\delta_B = 2\%$;

- δ_D – относительная погрешность, вносимая температурным расширением раствора в диапазоне температур $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$: $\delta_T = 0,2\%$;

- δ_P – относительная погрешность массовой доли примесей родамина: $\delta_P = 1,0\%$

Погрешность растворов δ_0 рассчитывают по формуле:

$$\delta_i = \sqrt{\delta_{ED}^2 + 2\delta_a^2}$$

где: - $\delta_{ир}$ – относительная погрешность исходного раствора родамина:

- δ_d – относительная погрешность дозатора

Относительная погрешность испытательных растворов приведена в таблице Б2.

Таблица Б2.

Концентрация испытательных растворов, мкмоль/л	4,0	2,0	1,0	0,4
Относительная погрешность растворов, % не более	$\pm 2,3$	$\pm 2,9$	$\pm 2,6$	$\pm 2,8$

Перед использованием растворы тщательно перемешать в течении 30 сек.

Приложение В
(Рекомендуемое)

К Методике поверки «Турбидофлуориметры БиоТФ»

ПРОТОКОЛ
Периодический поверки

от « ____ » _____ 20 ____ года

Средство измерений: Турбидофлуориметр БиоТФ

Заводской № _____

Принадлежащее _____
Наименование юридического лица, ИНН

Поверено в соответствии с методикой поверки:

ИНТЕЛБИО.03.00.00.МП

Наименование документа на поверку, кем утвержден (согласован), дата

согласованная ГЦИ СИ ФБУ «Ростест-Москва» 07.11.2013

С применением эталонов:

(наименование, заводской №, разряд, класс точности или погрешность)

При следующих значениях влияющих факторов _____

(приводят перечень и значения влияющих факторов, нормированных в методике поверки)

Получены результаты поверки метрологических характеристик:

(приводят данные: требования методики поверки/ фактически получено при поверке)

Рекомендации: _____
Средство измерений признать пригодным (или непригодным) для применения

Поверитель _____
Подпись Ф.И.О.