

СОГЛАСОВАНО

Первый заместитель генерального
директора - заместитель по научной работе

ФГУП «ВНИИФТРИ»



А.Н. Щипунов

04 2024 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

ХРОМАТОГРАФЫ ЖИДКОСТНЫЕ «МАЭСТРО ВЭЖХ»

МЕТОДИКА ПОВЕРКИ

МП 651-24-002

р.п. Менделеево

Оглавление

| | |
|---|----|
| ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ | 3 |
| 1. ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ..... | 5 |
| 2. ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ | 6 |
| 3. ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ | 6 |
| 4. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ..... | 6 |
| 5. ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ | 8 |
| 6. ВНЕШНИЙ ОСМОТР | 8 |
| 7. ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ..... | 9 |
| 8. ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ | 11 |
| 9. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ | 11 |
| 10. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ..... | 14 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ А | 16 |

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные «МАЭСТРО ВЭЖХ» (далее по тексту — хроматографы), изготавливаемые ООО «ИНТЕРЛАБ», г. Москва, и устанавливает методы и средства их первичной и периодической поверок.

Прослеживаемость результатов измерений при поверке хроматографов к государственным первичным эталонам единиц величин реализуется путем применения 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 196-2023 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов;

ГЭТ 208-2024 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.

Допускается возможность проведения поверки хроматографа с меньшим количеством детекторов (из числа входящих в его комплектацию в соответствии с заказом).

В результате поверки хроматографов должны быть подтверждены требования, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 – Требования, подтверждаемые при поверке

| Наименование характеристики | Значение |
|---|---------------------|
| Детектор на диодной матрице | |
| Предел детектирования по антрацену, г/см ³ , не более | $1,0 \cdot 10^{-9}$ |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, Б, не более | $5,0 \cdot 10^{-5}$ |
| Предел допускаемого значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %: | |
| – по времени удерживания при ручном вводе | 2,0 |
| – по времени удерживания при вводе автоматическим пробоотборником | 0,5 |
| – по площади пика при ручном вводе | 5,0 |
| – по площади пика при вводе автоматическим пробоотборником | 1,5 |

| Наименование характеристики | Значение |
|---|----------------------|
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны | |
| Предел детектирования по антрацену, г/см ³ , не более | $1,0 \cdot 10^{-9}$ |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, Б, не более | $5,0 \cdot 10^{-5}$ |
| Предел допускаемого значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %: | |
| – по времени удерживания при ручном вводе | 2,0 |
| – по времени удерживания при вводе автоматическим пробоотборником | 0,5 |
| – по площади пика при ручном вводе | 5,0 |
| – по площади пика при вводе автоматическим пробоотборником | 1,5 |
| Флуориметрический детектор | |
| Предел детектирования по антрацену, г/см ³ , не более | $1,0 \cdot 10^{-10}$ |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, Б, не более | $1,0 \cdot 10^{-4}$ |
| Предел допускаемого значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %: | |
| – по времени удерживания при ручном вводе | 2,0 |
| – по времени удерживания при вводе автоматическим пробоотборником | 0,5 |
| – по площади пика при ручном вводе | 5,0 |
| – по площади пика при вводе автоматическим пробоотборником | 1,5 |
| Рефрактометрический детектор | |
| Предел детектирования по глюкозе, г/см ³ , не более | $1,0 \cdot 10^{-7}$ |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, ед.рефр, не более | $5,0 \cdot 10^{-5}$ |
| Предел допускаемого значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %: | |
| – по времени удерживания при ручном вводе | 2,0 |
| – по времени удерживания при вводе автоматическим пробоотборником | 0,5 |
| – по площади пика при ручном вводе | 5,0 |
| – по площади пика при вводе автоматическим пробоотборником | 1,5 |
| Амперометрический детектор | |
| Предел детектирования по фенолу, г/см ³ , не более | $1,0 \cdot 10^{-8}$ |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, А, не более | $5,0 \cdot 10^{-10}$ |
| Предел допускаемого значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %: | |
| – по времени удерживания при ручном вводе | 2,0 |
| – по времени удерживания при вводе автоматическим пробоотборником | 0,5 |
| – по площади пика при ручном вводе | 5,0 |
| – по площади пика при вводе автоматическим пробоотборником | 1,5 |

| Наименование характеристики | Значение |
|---|---------------------|
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния | |
| Предел детектирования по глюкозе, г/см ³ , не более | $1,5 \cdot 10^{-6}$ |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, В, не более | $2,0 \cdot 10^{-2}$ |
| Предел допускаемого значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %: | |
| – по времени удерживания при ручном вводе | 2,0 |
| – по времени удерживания при вводе автоматическим пробоотборником | 2,0 |
| – по площади пика при ручном вводе | 5,0 |
| по площади пика при вводе автоматическим пробоотборником | 5,0 |

Примечание:

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.

1. ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

1.1 При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – 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 | да | да | 6 |
| Подготовка к поверке и опробование | да | да | 7 |
| Проверка программного обеспечения | да | да | 8 |
| Определение метрологических характеристик средства измерений и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям | да | да | 9 |
| Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала | да | да | 9.1 |
| Определение предела детектирования | да | да | 9.2 |

1.2 При получении отрицательных результатов при проведении хотя бы одной операции, дальнейшее выполнение поверки прекращается, хроматограф признается непригодным к применению.

1.3 Допускается проведение поверки только тех детекторов, которые установлены на поверяемом хроматографе. В случае наличия нескольких детекторов на поверяемом хроматографе, на основании письменного заявления владельца хроматографа в свободной форме, допускается проведение периодической поверки отдельных детекторов с указанием в сведениях о поверке информации об объеме проведенной поверки. Данная информация приводится в свидетельстве о поверке (в случае его оформления) и в сведениях, направляемых в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений.

2. ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

Поверка хроматографов должна проводиться при следующих условиях:

- температура окружающей среды, °С от +15 до +25;
- относительная влажность воздуха, %, не более 80;
- атмосферное давление, кПа от 84,0 до 106,7.

3. ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

К проведению поверки допускаются поверители средств измерений в соответствии с областью аккредитации организации, аккредитованной в национальной системе аккредитации на проведение поверки средств измерений согласно законодательству Российской Федерации об аккредитации, прошедшие инструктаж по технике безопасности и изучившие настоящую методику поверки и эксплуатационную документацию. Для получения данных с хроматографов, необходимых для поверки, допускается участие технических специалистов организации, заявившей прибор на поверку (под контролем поверителя).

4. МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

4.1 При проведении поверки должны применяться средства, указанные в таблице 3.

Таблица 3 – Средства поверки

| Операции поверки, требующие применения средств поверки | Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки | Перечень рекомендуемых средств поверки |
|--|--|--|
| п.7 Подготовка к поверке и опробование | Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от +15 °С до +25 °С с абсолютной погрешностью не более ± 1 °С; Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне от 30 % до 80 % с абсолютной погрешностью не более ± 3 %; Средства измерений атмосферного давления в диапазоне от 84,0 до 106,7 кПа, | Термогигрометры ИВА-6Н (рег. № 46434-11) |

| Операции поверки, требующие применения средств поверки | Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки | Перечень рекомендуемых средств поверки |
|---|--|--|
| | с абсолютной погрешностью не более ± 3 кПа | |
| | Стандартный образец состава раствора антрацена в ацетонитриле Интервал допускаемых аттестованных значений массовой концентрации антрацена от 0,19 до 0,21 мг/см ³ Границы допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения $CO \pm 2 \%$ при $P = 0,95$ | ГСО 8749-2006 |
| | Стандартный образец состава раствора фенола в этаноле Интервал допускаемых аттестованных значений массовой концентрации фенола от 0,95 до 1,05 г/дм ³ Границы допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения $CO \pm 2 \%$ при $P = 0,95$ | ГСО 9915-2011 |
| | Стандартный образец состава глюкозы Интервал допускаемых аттестованных значений массовой доли глюкозы от 99,50 до 99,85 % Допускаемые значения относительной расширенной неопределенности аттестованного значения, $U = 0,10 \%$ (при $k=2$, $P=0,95$) | ГСО 11989-2022 |
| | Весы лабораторные высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011, диапазон измерений от 0,001 г до 200 г Меры вместимости: пипетки градуированные 2 класса точности по ГОСТ 29227-91, колбы мерные 2 класса точности по ГОСТ 1770-74 Вода 1-й степени чистоты по ГОСТ Р 52501-2005 Ортофосфорная кислота, чда по ГОСТ 6552-80 Ацетонитрил для высокоэффективной жидкостной хроматографии по СТП ТУ СОМРЗ-074-06 | |
| п. 9 Определение метрологических характеристик средства измерений и подтверждение | Контрольные растворы, приготовленные в соответствии с приложением А настоящей методики поверки | ГСО 8749-2006 ГСО 9915-2011 ГСО 11989-2022 |

| Операции поверки, требующие применения средств поверки | Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки | Перечень рекомендуемых средств поверки |
|---|--|--|
| соответствия средства измерений метрологическим требованиям | Вода 1-й степени чистоты по ГОСТ Р 52501-2005 Ортофосфорная кислота, чда по ГОСТ 6552-80 Ацетонитрил для высокоэффективной жидкостной хроматографии по СТП ТУ СОМРЗ-074-06 | |

4.2 Допускается применение других средств поверки, допущенных к применению в РФ, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых хроматографов с требуемой точностью.

4.3 Применяемые средства поверки должны быть исправны и поверены, а стандартные образцы применяться в пределах срока годности экземпляра.

5. ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

5.1 Требования безопасности при поверке должны соответствовать требованиям, изложенным в настоящей методике поверки, руководстве по эксплуатации (РЭ) на хроматографы, а также в эксплуатационной документации на поверочное оборудование и средства измерений.

5.2 При работе с хроматографом следует руководствоваться «Основными правилами безопасной работы в химической лаборатории», а также соблюдать ГОСТ 12.2.091-2012 «Безопасность электрического оборудования для измерения, управления и лабораторного применения».

5.3 При работе с хроматографом необходимо соблюдать «Противопожарные нормы» согласно СниП 2.01.02.

5.4 Лица, допускаемые к работе, должны иметь соответствующую техническую квалификацию и подготовку, ежегодно проходить проверку знаний техники безопасности.

6. ВНЕШНИЙ ОСМОТР

6.1 При проведении внешнего осмотра должно быть установлено соответствие хроматографов следующим требованиям:

- отсутствие механических повреждений, чистота разъемов, состояние соединительных кабелей;
- целостность корпуса, внешних элементов, отсутствие повреждений органов управления;
- соответствие обозначений и маркировки требованиям эксплуатационной документации

6.2 Результаты внешнего осмотра считать положительными, если выполняются требования п. 6.1.

7. ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ

7.1 Подготовка к поверке

7.1.1 Перед проведением поверки должны быть выполнены следующие подготовительные работы:

- подготовка хроматографа;
- подготовка колонок;
- приготовление элюента;
- приготовление контрольных растворов.

7.1.2 Подготовительные операции, включение хроматографов следует проводить в соответствии с руководством по эксплуатации на хроматограф. Элюент следует тщательно взболтать.

7.1.3 Подготовить контрольные растворы из ГСО в соответствии с их паспортами, инструкциями по применению и Приложением А к настоящей методике поверки.

7.2 Опробование

7.2.1 Опробование хроматографа заключается в его включении, запуске ПО и проверке общего функционирования: выход на режим, соответствие окон на дисплее, отсутствие сообщений об ошибке, а также в определении уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала.

7.2.2 Определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала

7.2.2.1 Определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала проводить для детектора на диодной матрице, спектрофотометрического детектора с изменяемой длиной волны, флуориметрического детектора, рефрактометрического детектора, амперометрического детектора и низкотемпературного испарительного детектора светорассеяния не менее, чем через 60 минут после включения хроматографа. После выхода хроматографа на режим записывают нулевой сигнал в течение 15 мин. Условия регистрации сигнала должны соответствовать таблице 4. За уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала принимается значение амплитуды повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 10 с.

Таблица 4 – Условия измерений уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала

| Тип детектора | Условия измерений |
|-----------------------------|--|
| Детектор на диодной матрице | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом C18, фракции 5 мкм; Элюент – 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин; Длина волны – 254 нм. |

| Тип детектора | Условия измерений |
|---|--|
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом C18, фракции 5 мкм; Элюент – 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин; Длина волны – 254 нм. |
| Флуориметрический детектор | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом C18, фракции 5 мкм; Элюент – 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин; Длина волны возбуждения – 350 нм; Длина волны регистрации (эмиссия) – 375 нм |
| Рефрактометрический детектор | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом NH ₂ , фракции 5 мкм; Температура колонки – 30 °С; Температура ячейки – 35 °С; Элюент – 70 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин. |
| Амперометрический детектор | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом C18, фракции 5 мкм; Потенциал электрода +1,3 В; Элюент – 50 % раствор ацетонитрила в ортофосфорной кислоте (рН=3); Расход элюента 1 см ³ /мин. |
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом NH ₂ , фракции 5 мкм; Температура колонки – 30 °С; Температура ячейки – 35 °С; Элюент – 70 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин. |

Примечание: Допускается использовать колонки других типоразмеров и маркировок, не ухудшающие измеряемые величины. При этом допускается изменение параметров проведения измерений (элюент, расход элюентов, температура колонок). Также допускается использовать вместо колонки рестриктор (отрезок капилляра длиной 2 метра).

Размерность уровня флуктуационных шумов ΔX и площади пика для детектора на диодной матрице отображается в ПО - mAU и mAU c, соответственно, 1 mAU = 1 мБ, 1 mAU c = 1 мБ·с.

Размерность уровня флуктуационных шумов ΔX и площади пика для спектрофотометрического детектора отображается в ПО - mAU и mAU c, соответственно, 1 mAU = 1 мБ, 1 mAU c = 1 мБ·с.

7.2.3 Результаты поверки по п. 7.2 настоящей методики в части опробования хроматографа считать положительными, если не возникает сообщений об обнаруженных ошибках, полученные значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала соответствуют Таблице 5.

Таблица 5 – Допустимые значения уровня флуктуационных шумов

| Детектор | Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, ΔX , не более |
|---|---|
| Детектор на диодной матрице | $5,0 \cdot 10^{-5}$ Б |
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны | $5,0 \cdot 10^{-5}$ Б |
| Флуориметрический детектор | $1,0 \cdot 10^{-4}$ Б |
| Рефрактометрический детектор | $5,0 \cdot 10^{-5}$ ед.рефр. |
| Амперометрический детектор | $5,0 \cdot 10^{-10}$ А |
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния | $2,0 \cdot 10^{-2}$ В |

В противном случае результаты поверки считать отрицательными.

8. ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

8.1 Провести проверку идентификационных данных программного обеспечения (далее – ПО) хроматографа. Идентификационные данные ПО выводятся на дисплей ПК при запуске хроматографа. Идентификационные данные ПО должны соответствовать данным, указанным в таблице 6.

Таблица 6 – Идентификационные данные ПО

| Идентификационные данные | Значение | | | |
|--|-------------|----------|----------|----------|
| Идентификационное наименование ПО | Kromstation | Мазэстри | SpaceCDS | MMSP |
| Номер версии (идентификационный номер) ПО, не ниже | 2.0.0.90 | 1.1.07 | Y23H2 | 1.0.12.0 |
| Цифровой идентификатор ПО | - | - | - | - |

8.2 Результаты проверки ПО согласно разделу 8 настоящей методики считать положительными, если версия программного обеспечения соответствует Таблице 6. В противном случае результаты поверки считать отрицательными.

9. ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

9.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала

9.1.1 Для определения значения относительного среднего квадратического отклонения (ОСКО) выходного сигнала хроматографы должны быть подвергнуты технологической наработке. Для этого ввести не менее трех раз контрольное вещество, указанное в таблице 7, затем произвести десять вводов контрольного вещества объемом 20 мкл с регистрацией выходного сигнала (по времени удерживания и площади пика).

Таблица 7 – Условия регистрации ОСКО выходного сигнала и предела детектирования

| Детектор | Контрольное вещество, концентрация | Условия измерений |
|---|---|--|
| Детектор на диодной матрице | Антрацен, $1 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом С18, фракции 5 мкм; Элюент – 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин; Длина волны – 254 нм. |
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны | Антрацен, $1 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом С18, фракции 5 мкм; Элюент – 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин; Длина волны – 254 нм. |
| Флуориметрический детектор | Антрацен, $1 \cdot 10^{-7}$ г/см ³ | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом С18, фракции 5 мкм; Элюент – 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин; Длина волны возбуждения – 350 нм; Длина волны регистрации (эмиссия) – 375 нм |
| Рефрактометрический детектор | Глюкоза, $1 \cdot 10^{-3}$ г/см ³ | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом NH ₂ , фракции 5 мкм; Температура колонки – 30 °С; Температура ячейки – 35 °С; Элюент – 70 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин. |
| Амперометрический детектор | Фенол, $1 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом С18, фракции 5 мкм; Потенциал электрода +1,3 В; Элюент – 50 % раствор ацетонитрила в ортофосфорной кислоте (рН=3); Расход элюента 1 см ³ /мин. |
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния | Глюкоза, $5 \cdot 10^{-4}$ г/см ³ | Колонка длиной 150 мм и внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная сорбентом NH ₂ , фракции 5 мкм; Температура колонки – 30 °С; Температура ячейки – 35 °С; Элюент – 70 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты (взболтать перед использованием); Расход элюента 1 см ³ /мин. |

9.1.2 Значения ОСКО выходных сигналов рассчитать по пикам контрольных веществ по формуле (1):

$$ОСКО = \frac{100}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad (1)$$

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^n X_i / n, \quad (2)$$

где X_i – i -ое значение результатов измерений – выходного сигнала (по времени удерживания или площади пика); \bar{X} – среднее арифметическое значение результатов измерений (по времени удерживания и площади пика); n – количество измерений.

9.1.3 Результаты поверки по п. 9.1 считать положительными, если значения ОСКО выходных сигналов не превышают значений, указанных в таблице 8. В противном случае результаты поверки считать отрицательными.

Таблица 8 – Допустимые значения ОСКО выходного сигнала

| Характеристика отклонения выходного сигнала | Допускаемое значение ОСКО, % | | | |
|---|------------------------------|--|---------------------|--|
| | По времени удерживания | | По площади пиков | |
| | при ручном вводе | при вводе автоматическим пробоотборником | при ручном вводе | при вводе автоматическим пробоотборником |
| Детектор на диодной матрице | 2,0 | 0,5 | 5,0 | 1,5 |
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны | 2,0 | 0,5 | 5,0 | 1,5 |
| Флуориметрический детектор | 2,0 | 0,5 | 5,0 | 1,5 |
| Рефрактометрический детектор | 2,0 | 0,5 | 5,0 | 1,5 |
| Амперометрический детектор | 2,0 | 0,5 | 5,0 | 1,5 |
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния | 2,0 | 2,0 | 5,0 | 5,0 |

9.2 Определение предела детектирования

9.2.1 В соответствии с руководством по эксплуатации установить рабочие параметры хроматографа в зависимости от типа детектора. В инжектор хроматографа шприцом или с помощью автодозатора ввести контрольное вещество, указанное в таблице 7, до насыщения колонки. Провести ввод контрольного вещества в объеме 20 мкл с регистрацией площади пиков, после чего провести регистрацию хроматограммы. Наименование и концентрация контрольного вещества, соответствующая поверяемому детектору, указаны в таблице 7.

9.2.2 Измерить уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, необходимый для расчета предела детектирования по п. 7.2.2.

9.2.3 Измерить выходной сигнал – площадь пика контрольного вещества, выраженный в соответствующих для каждого детектора единицах.

9.2.4 Вычислить предел детектирования C_{\min} по формуле (3):

$$C_{\min} = \frac{2 \cdot \Delta X \cdot m}{S \cdot U}, \quad (3)$$

где ΔX – измеренная величина уровня флуктуационных шумов (для детектора на диодной матрице, спектрофотометрического детектора с изменяемой длиной волны - мВ; для флуориметрического и низкотемпературного испарительного детектора светорассеяния - мВ; для рефрактометрического детектора - ед.рефр; для амперометрического детектора - нА); m – масса введенного контрольного вещества, г; S – площадь пика (для детектора на диодной матрице, спектрофотометрического детектора с изменяемой длиной волны - мВ·с; для флуориметрического и низкотемпературного испарительного детектора светорассеяния - мВ·с; для рефрактометрического детектора, - ед.рефр с; для амперометрического детектора - нА·с); U – расход элюента, см³/с.

9.2.5 Массу m , введенного контрольного вещества, рассчитать по формуле (4):

$$m = C_0 \cdot V_g, \quad (4)$$

где C_0 – концентрация контрольного вещества в растворе, г/см³; V_g – объем вводимого контрольного вещества, см³.

9.2.6 Результаты поверки по п. 9.2 считать положительными, если значения пределов детектирования не превышают значений, указанных в Таблице 9. В противном случае результаты поверки считать отрицательными.

Таблица 9 – Допустимые значения пределов детектирования

| Детектор | Предел детектирования, C_{\min} , г/см ³ |
|--|---|
| Детектор на диодной матрице по антрацену | $1,0 \cdot 10^{-9}$ |
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны по антрацену | $1,0 \cdot 10^{-9}$ |
| Флуориметрический детектор по антрацену | $1,0 \cdot 10^{-10}$ |
| Рефрактометрический детектор по глюкозе | $1,0 \cdot 10^{-7}$ |
| Амперометрический детектор по фенолу | $1,0 \cdot 10^{-8}$ |
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния по глюкозе | $1,5 \cdot 10^{-6}$ |

10. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

10.1 Результаты поверки оформить протоколом произвольной формы.

10.2 При положительных результатах поверки хроматограф признается годным. Нанесение знака поверки на хроматограф не предусмотрено. При отрицательных результатах поверки хроматограф бракуется и к дальнейшей эксплуатации не допускается.

10.3 Результаты поверки хроматографа подтверждаются сведениями о результатах поверки средств измерений, включенными в Федеральный информационный фонд по

обеспечению единства измерений. По заявлению владельца хроматографа или лица, представившего его на поверку, на хроматограф выдается свидетельство о поверке (при положительных результатах поверки) или извещение о непригодности к применению (при отрицательных результатах поверки).

Начальник лаборатории № 670
ФГУП «ВНИИФТРИ»
Зам. начальника лаборатории № 670
ФГУП «ВНИИФТРИ»

 А.А. Стахеев
 Т.П. Столбоушкина

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(ОБЯЗАТЕЛЬНОЕ)

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Таблица А1

| Детектор | Контрольное вещество | Элюент | Концентрация контрольного вещества, г/см ³ |
|---|----------------------|--|---|
| Детектор на диодной матрице | Антрацен | 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты | $1 \cdot 10^{-6}$ |
| Спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны | Антрацен | 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты | $1 \cdot 10^{-6}$ |
| Флуориметрический детектор | Антрацен | 90 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты | $1 \cdot 10^{-7}$ |
| Рефрактометрический детектор | Глюкоза | 70 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты | $1 \cdot 10^{-3}$ |
| Амперометрический детектор | Фенол | 50 % раствор ацетонитрила в ортофосфорной кислоте | $1 \cdot 10^{-6}$ |
| Низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния | Глюкоза | 70 % раствор ацетонитрила в воде 1-й степени чистоты | $5 \cdot 10^{-4}$ |

А.1 Для приготовления контрольных растворов применяют следующее оборудование и реактивы:

- Стандартные образцы по п. 4 настоящей методики поверки;
- Весы лабораторные высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011, диапазон измерений от 0,001 г до 200 г;
- Колбы мерные 2-го класса точности с притёртой пробкой по ГОСТ 1770-74;
- Пипетки градуированные 2-го класса точности по ГОСТ 29227-91;
- Ортофосфорная кислота чда по ГОСТ 6552-80;
- Ацетонитрил для высокоэффективной жидкостной хроматографии по СТП ТУ СОРЗ-074-06.

А.2 Приготовление контрольного раствора антрацена.

А.2.1 Приготовление контрольного раствора для поверки детектора на диодной матрице и спектрофотометрического детектора с изменяемой длиной волны с массовой

концентрацией антрацена $C_1 = 1 \cdot 10^{-6}$ г/см³.

При помощи пипетки или дозатора пипеточного одноканального переносят 0,5 см³ стандартного образца в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 100 см³, добавляют до метки элюент и перемешивают.

А.2.2 Действительное значение массовой концентрации контрольного раствора антрацена № 1 (C_1 , г/см³) для п.А.2.1 вычисляют по формуле (А.1):

$$C_1 = C_{ГСО} \cdot \frac{V_n}{V_k} \quad (\text{А.1})$$

где $C_{ГСО}$ — действительное (паспортное) значение массовой концентрации контрольного вещества в стандартном образце, г/см³;

V_n — объем раствора, отобранного пипеткой и используемого в качестве исходного для разбавления, см³;

V_k — объем приготовленного раствора, см³.

А.2.3 Приготовление контрольного раствора для проверки флуориметрического детектора с массовой концентрацией антрацена $C_{КРАнтр\ №1} = 1 \cdot 10^{-7}$ г/см³.

При помощи градуированной пипетки или дозатора пипеточного одноканального переносят 1 см³ контрольного раствора антрацена № 1 в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 10 см³, добавляют до метки элюент и перемешивают.

А.2.4 Действительное значение массовой концентрации контрольного раствора ($C_{КРАнтр\ №1}$, г/см³) для п.А.2.3 вычисляют по формуле (А.2):

$$C_{КРАнтр\ №1} = C_1 \cdot \frac{V_n}{V_k} \quad (\text{А.2})$$

А.2.5 При использовании средств измерений и стандартных образцов и реактивов, указанных в п.А.2 настоящего приложения, относительная погрешность контрольного раствора, приготовленного по данной методике, находится в пределах $\pm 5\%$

А.3 Приготовление контрольного раствора глюкозы.

А.3.1 Приготовление контрольного раствора №1 ($C_{КРГ\ глюкоза\ №1}$) для проверки рефрактометрического детектора с массовой концентрацией глюкозы $C_{КРГ\ глюкоза\ №1} = 1 \cdot 10^{-3}$ г/см³.

Навеску стандартного образца массой около 0,1 г, взятую на весах лабораторных с точностью 1 мг, вносят в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 100 см³, добавляют до метки элюент и перемешивают.

А.3.2 Действительное значение массовой концентрации контрольного раствора ($C_{КРГ\ глюкоза\ №1}$, г/см³) для п.А.3.1 вычисляют по формуле (А.3).

$$C_{КРГ\ глюкоза\ №1} = \frac{A_{ГСО} \cdot m_{нав}}{V_k} \quad (\text{А.3})$$

где $A_{ГСО}$ — действительное (паспортное) значение массовой доли контрольного вещества в стандартном образце, %;

$m_{нав}$ — масса навески ГСО, отобранной на весах и используемой в качестве исходной для разбавления, г;

V_k — объем приготовленного раствора, см³.

А.3.3 Приготовление контрольного раствора № 2 для поверки низкотемпературного испарительного детектора светорассеяния с массовой концентрацией глюкозы $C_{\text{КРГ глюкоза}\#2} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ г/см}^3$. При помощи градуированной пипетки или дозатора пипеточного одноканального переносят 5 см^3 $\text{КР}_{\text{Глюкоза}\#1}$ в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 10 см^3 , добавляют до метки элюент и перемешивают.

А.3.4 Действительное значение массовой концентрации контрольного раствора ($C_{\text{КРГ глюкоза}\#2}$, г/см^3) для п.А.3.3 вычисляют по формуле (А.4):

$$C_{\text{КРГ глюкоза}\#2} = C_{\text{КРГ глюкоза}\#1} \cdot \frac{V_n}{V_k} \quad (\text{А.4})$$

где V_n – объем раствора, отобранного пипеткой и используемого в качестве исходного для разбавления, см^3 ;

V_k – объем приготовленного раствора, см^3 .

А.3.5 При использовании средств измерений и стандартных образцов и реактивов, указанных в п.А.3 настоящего приложения, относительная погрешность контрольного раствора, приготовленного по данной методике, находится в пределах $\pm 5 \%$

А.4 Приготовление контрольного раствора фенола.

А.4.1 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией фенола $C_{\text{фенол}} = 1 \cdot 10^{-6} \text{ г/см}^3$ для поверки амперометрического детектора.

При помощи градуированной пипетки переносят $0,1 \text{ см}^3$ стандартного образца в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 100 см^3 , добавляют до метки элюент и перемешивают.

А.4.2 Действительное значение массовой концентрации контрольного раствора ($C_{\text{фенол}}$, г/см^3) для п.А.4.1 вычисляют по формуле (А.5).

$$C_{\text{фенол}} = C_{\text{ГСО}} \cdot \frac{V_n}{V_k} \quad (\text{А.5})$$

где $C_{\text{ГСО}}$ – действительное (паспортное) значение массовой концентрации контрольного вещества в стандартном образце, г/см^3 ;

V_n – объем раствора, отобранного пипеткой и используемого в качестве исходного для разбавления, см^3 ;

V_k – объем приготовленного раствора, см^3 .

А.4.3 При использовании средств измерений и стандартных образцов и реактивов, указанных в п.А.4 настоящего приложения, относительная погрешность контрольного раствора, приготовленного по данной методике, находится в пределах $\pm 5 \%$.