

УТВЕРЖДАЮ

**Заместитель директора по
производственной метрологии
ФГУП «ВНИИМС»**



Иванникова **Н.В.Иванникова**

30 " *сентября* 2016 г.

ИНСТРУКЦИЯ

ХРОМАТОГРАФЫ ЖИДКОСТНЫЕ

RIGOL L-3000

Методика поверки

МП 205-07-2016

**Москва
2016 г.**

Настоящая инструкция распространяется на хроматографы жидкостные RIGOL L-3000 с детекторами спектрофотометрическим L-3500, на диодной матрице L-3520, рефрактометрическим L-3560, по светорассеянию L-3535, изготавливаемые фирмой "RIGOL TECHNOLOGIES, INC.", Китай, (далее – хроматографы) и устанавливает методы и средства их первичной и периодической поверок.

Интервал между поверками – 1 год.

1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

1.1 При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методических указаний	Обязательное проведение операции	
		при выпуске из производства и из ремонта	при периодической поверке
Внешний осмотр	4.1	да	да
Опробование	4.2		
– определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала	4.2.1	да	да ¹⁾
– определение дрейфа нулевого сигнала	4.2.2	да	да ¹⁾
– определение предела детектирования	4.2.3	да	да ¹⁾
Определение метрологических характеристик:	4.3	да	да
– определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала	4.3.1 – 4.3.4	да	да ¹⁾
– определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы	4.3.5 – 4.3.6	да	да ¹⁾
- определение показателей точности результатов измерений	4.3.7	нет	да ²⁾

Примечание:

¹⁾При отсутствии НД на методику измерений, утвержденного в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563 -2009.

²⁾При наличии НД на методику измерений.

Допускается проведение поверки при выпуске из производства и при вводе в эксплуатацию с детекторами, которые входят в состав хроматографа в соответствии с комплектацией пользователя.

1.2 Если при проведении той или иной операции поверки получен отрицательный результат, поверку прекращают.

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

2.1 При проведении поверки применяют средства поверки:

- МСО 0389:2002 состава водного раствора глюкозы, молярная концентрация глюкозы 100,00 ммоль/дм³;
- кофеин ФС 42-0249 07 с содержанием основного вещества не менее 98 %;
- ацетонитрил для жидкостной хроматографии ТУ 6-09-14-2167-84;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72;
- хроматографические колонки:
 - Compass C18 250 x4,6 мм, средний размер частиц 5мкм;
 - ZORBAX NH2 250x4.6 мм, средний размер частиц 5мкм;
- барометр-анероид БАММ-1 по ТУ 25-04-1618;
- термометр типа ТЛ4 № 2, ТУ 25-2021.003-88;
- психрометр аспирационный М-34-М по ГРПИ 405132.001 ТУ.

2.2 Допускается применение других средств измерений, обеспечивающих определение метрологических характеристик с требуемой точностью.

2.3 Все средства поверки должны иметь действующие свидетельства о поверке, а стандартные образцы – действующие паспорта.

3 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ

3.1 При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С 20 ± 5
- атмосферное давление, кПа $84 \div 106,7$
- относительная влажность воздуха, % $30 \div 90$
- напряжение переменного тока, В 220 ± 22
- частота сети, Гц 50 ± 1

3.2 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

3.2.1 Хроматографы готовят к работе в соответствии с руководством по эксплуатации

3.3 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы.

Рекомендуемые значения массовой концентрации контрольных веществ, режимы поверки, элюент указаны в таблице 2. Процедура приготовления контрольных растворов приведена в приложении 1.

Таблица 2

Контрольный раствор	Массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм ³	Объем пробы, мкл	Элюент	Скорость потока элюента, см ³ /мин	Длина волны, нм	Температура термостата колонки, °С	Детектор
Кофеин в воде	1	20	Ацетонитрил:вода 70:30	1	272		Спектрофотометрический L-3050

Кофеин в воде	1	20	Ацетонитрил:вода 70:30	1	272		На диодной матрице L-3520
Глюкоза в воде	90	20	Вода дистиллированная	1		30	Рефрактометрический L-3560
Кофеин в воде	12,5	20	Ацетонитрил:вода 70:30	1		30	Детектор по светорассеянию L-3535

4 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

4.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности хроматографа паспортным данным;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей.

4.2 Опробование

При опробовании проводят определение уровня флуктуационных шумов, дрейфа нулевого сигнала и предела детектирования.

Для проверки шума, дрейфа отключают колонку, водой промывают автосамплер (инжектор) и насос. колонку заменяют на стальной или полиэтиленовый капилляр (сталь марки 316 или материал РЕЕК) длиной 30-50 см и внутренним диаметром (0,1-0,3) мм.

Нулевой сигнал регистрируют на самом чувствительном диапазоне в течение 1 часа.

4.2.1 Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала определяют при условиях, указанных в таблице 3, после выхода детектора на режим (п.3.2). Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала измеряют в динамическом режиме в течение 1 час. В качестве элюента используют воду.

4.2.2.Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (ΔX) принимают равным амплитуде (h) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 секунд.

Дрейф рассчитывают как максимальное значение одностороннего смещения нулевой линии в течение 1 часа и выражают в ед. физической величины в час.

Таблица 3

Параметр	Детектор			
	Спектрофотометрический L-3050	Спектрофотометрический на диодной матрице L-3520	Рефрактометрический L-3560	Детектор по светорассеянию L-3535
Элюент	вода	вода	вода	вода
Скорость потока элюента, см ³ /мин	1	1	1 (температура ячейки 35 ⁰ С)	1
Длина волны, нм	254	254	–	-

Параметр	Детектор			
	Спектрофотометрический L-3050	Спектрофотометрический на диодной матрице L-3520	Рефрактометрический L-3560	Детектор по светорассеянию L-3535
Постоянная времени, сек	1	1	1,5	1
Температура испарительной трубки	–	–	–	45 °С
Давление на входе в распылитель	–	–	–	3,5 атм

Полученные значения не должны превышать значений, приведенных в таблице 4.

Таблица 4

Детектор	Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (peak to peak)	Дрейф нулевого сигнала
спектрофотометрический с переменной длиной волны L-3050 на диодной матрице L-3520	$5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$5 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./час
рефрактометрический L-3560	$5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$5 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./час
по светорассеянию L-3535	$2,5 \cdot 10^{-8}$ ед.рефр 2 мВ	$2 \cdot 10^{-7}$ ед.рефр./час 4 мВ

4.2.3 Определение предела детектирования

Определение предела детектирования и метрологических характеристик выполняют на хроматографе, укомплектованном соответствующим детектором и аналитической колонкой, допускается использование капилляра согласно п. 4.2.

Предел детектирования определяют с использованием контрольных веществ и условий, указанных в таблице 2.

В хроматограф вводят пробу контрольного вещества, определяют высоту (h) и ширину пика на половине его высоты или площадь пика (S).

Предел детектирования рассчитывают по формулам

$$C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{h \cdot \mu_{0,5} \cdot V} \quad \text{или} \quad C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G \cdot 60}{S \cdot V}$$

где G – масса вещества, г, $G = C \cdot v$ (C – массовая концентрация контрольного вещества, г/дм³, v – объем пробы, дм³);

V – скорость потока элюента, см³/мин;

$\mu_{0,5}$ – ширина пика на половине высоты, мин;

Δx – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, определенный по п.4.2, мВ, е.о.п. или ед.рефр.;

h – значение высоты пика контрольного вещества, мВ, е.о.п. или ед.рефр.;

S – значение площади пика контрольного вещества, мВ·с, е.о.п.·с или ед.рефр.·с.

Полученные результаты не должны превышать значений, приведенных в таблице 5

Таблица 5

Наименование детектора	Предел детектирования, г/см ³
Детектор спектрофотометрический L-3500	1·10 ⁻⁹ по кофеину
Детектор на диодной матрице L-3520	2·10 ⁻⁹ по кофеину
Детектор рефрактометрический L-3560	1·10 ⁻⁶ по глюкозе
Детектор по светорассеянию L-3535	5·10 ⁻⁸ по кофеину

4.3 Определение метрологических характеристик

4.3.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения параметров выходного сигнала.

Измерения проводят после выхода хроматографа на режим. Условия выполнения измерений должны соответствовать приведенным в разделе 3.

4.3.2 Контрольный раствор (табл.2.) вводят в хроматограф не менее 6 раз, измеряют значения выходных сигналов (площади пиков и времени удерживания) и вычисляют их среднее арифметическое значение.

4.3.3 Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле

$$\sigma = \frac{100}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}},$$

где \bar{X} – значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания).

4.3.4 Значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади и времени удерживания), %, не должны превышать данных, приведенных в таблице 6.

n – число наблюдений

Таблица 6

Детекторы	При автоматическом дозировании	
	по площадям пиков	по времени удерживания
- спектрофотометрические с переменной длиной волны L-3050	2	1
- на диодной матрице L-3520	2	1
- рефрактометрические RI-201H	2	1
- по светорассеянию L-3535 ELSD	3	1

4.3.5 Определение относительного изменения выходных сигналов за 8 часов непрерывной работы.

Условия измерений аналогичны, описанным в разделе 3. Проводят операции, описанные в п.4.3.2. Через 8 часов непрерывной работы повторяют измерения по п.4.3.2.

Относительное изменение выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа рассчитывают по формуле

$$\delta = \frac{|\bar{X}_t - \bar{X}|}{\bar{X}} \cdot 100.$$

4.3.6 Значения относительного изменения выходного сигнала не должно превышать значений, приведенных в таблице 7.

Таблица 7

Детекторы	При автоматическом дозировании
	по площадям пиков
Детектор спектрофотометрический L-3500	3
Детектор на диодной матрице L-3520	3
Детектор рефрактометрический L-3560	4
Детектор по светорассеянию L-3535	4

5 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

5.1 Результаты поверки хроматографов заносят в протокол.

При использовании системы обработки данных "UltraChrom" протоколы с результатами поверки распечатываются автоматически.

5.2. Положительные результаты поверки хроматографов оформляют выдачей Свидетельство о поверке в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (утв. приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 2 июля 2015 г. № 1815).

5.3. Хроматографы, не удовлетворяющие требованиям настоящих рекомендаций, к эксплуатации не допускаются. Хроматографы изымаются из обращения. Свидетельство о поверке изымают и выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (утв. приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 2 июля 2015 г. № 1815).

5.4 После ремонта хроматографы подвергают поверке.

Начальник отдела ФГУП "ВНИИМС"

Начальник сектора ФГУП "ВНИИМС", к.х.н.



Ш.Р. Фаткудинова



О.Л. Рутенберг

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления контрольных растворов кофеина и глюкозы.

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

1.1 МСО 0390:2002 состава раствора глюкозы с молярной концентрацией 100 ммоль/дм³.

1.2 Кофеин безводный ФС 42-0249-07.

1.3 Весы с наибольшим пределом взвешивания 210 г, с пределами абсолютной погрешности взвешивания $\pm 0,2$ мг.

1.3 Колбы мерные наливные 2-100-2, 2-200-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74.

1.4 Пипетки с одной отметкой 1-2-1 по ГОСТ 29169-91.

1.5 Дистиллированная вода по ГОСТ 6709-72.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление контрольных растворов кофеина.

2.1.1 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией кофеина 12,5 мг/дм³.

Навеску (12,5 \pm 0,1) мг кофеина помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают.

Погрешность приготовления раствора $\pm 2,0$ %.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик детекторов по светорассеянию.

2.1.2 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией кофеина 1 мг/дм³.

Навеску (10,0 \pm 0,1) мг кофеина помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³. Массовая концентрация приготовленного раствора 100 мг/дм³.

1 см³ раствора с массовой концентрацией кофеина 100 мг/дм³ пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают.

Погрешность приготовления контрольного раствора $\pm 2,5$ %.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик детекторов спектрофотометрических и детекторов на диодной матрице.

2.2 Приготовление контрольных растворов глюкозы

2.2.1 Приготовление раствора с массовой концентрацией глюкозы 0,090 мг/см³.

1 см³ МСО 0390:2002 состава раствора глюкозы с молярной концентрацией 100 ммоль/дм³ пипеткой вместимостью 1 см³ помещают в мерную колбу вместимостью 200 см³ и до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивают.

Погрешность приготовления раствора № 1 $\pm 1,8$ %.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик детекторов рефрактометрических.