

УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ – ФИЛИАЛ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИТАРНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ  
ИМ. Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА»

УТВЕРЖДАЮ

Директор УНИИМ – филиала  
ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»

С.В. Медведевских

2020 г.



ГОСУДАРСТВЕННАЯ СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЕДИНСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

## Хроматографы жидкостные ExionLC

### МЕТОДИКА ПОВЕРКИ

МП 63-241-2020

Екатеринбург

2020

## **ПРЕДИСЛОВИЕ**

- 1 РАЗРАБОТАНА УНИИМ - филиалом ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»**
- 2 ИСПОЛНИТЕЛЬ Медведевских М.Ю.**
- 3 УТВЕРЖДЕНА директором УНИИМ - филиала ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева» в сентябре 2020 г.**

|   |                              |
|---|------------------------------|
| <p><b>Государственная система обеспечения единства измерений.</b><br/> <b>Хроматографы жидкостные ExionLC. Методика поверки</b></p> | <p><b>МП 63-241-2020</b></p> |
|---|------------------------------|

Дата введения в действие: сентябрь 2020 г.

## **1 Область применения**

Настоящая методика поверки распространяется на хроматографы жидкостные ExionLC производства фирмы «SCIEX CORPORATION», Сингапур (далее – хроматографы) и устанавливает методы и средства первичной и периодической поверок.

Поверка хроматографов должна производиться в соответствии с требованиями настоящей методики. Интервал между поверками – один год.

## **2 Нормативные ссылки**

В настоящей методике поверки использованы ссылки на следующие документы:

Приказ Минпромторга России от 02.07.2015 № 1815 Об утверждении Порядка проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке

Приказ Минпромторга России от 15.12.2015 № 4091 «Об утверждении порядка аттестации первичных референтных методик (методов) измерений, референтных методик (методов) измерений и методик (методов) измерений и их применения»

Приказ Минтруда России №328н от 24.07.2013 «Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок»

ГОСТ Р 8.563 – 2009 Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений

ГОСТ 12.2.003-91 Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности

ГОСТ 12.2.007.0–75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ 1770-91 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

МИ 2531–99 Государственная система обеспечения единства измерений. Анализаторы состава веществ и материалов универсальные. Общие требования к методикам поверки в условиях эксплуатации

### 3 Операции и средства поверки

3.1 При поверке должны быть выполнены операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

| Наименование операции  | Номер пункта методики поверки | Обязательность проведения операций при |                       |
|--|-------------------------------|--|-----------------------|
|  |                               | первичной поверке                      | периодической поверке |
| 1 Внешний осмотр   | 8.1                           | да                                     | да                    |
| 2 Опробование  | 8.2                           | да                                     | да                    |
| 3 Проверка метрологических характеристик   | 8.3                           |  |                       |
| 3.1 Проверка уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала хроматографов с оптическими детекторами           | 8.3.1                         |  |                       |
| 3.2 Проверка отношения сигнал/шум хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами                               | 8.3.2                         |  |                       |
| 3.3 Проверка относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала всех модификаций хроматографов     | 8.3.3                         | да                                     | да                    |
| 3.4 Проверка предела детектирования хроматографов с оптическими детекторами  | 8.3.4                         |  |                       |
| 3.5 Проверка относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы всех модификаций хроматографов | 8.3.5                         |  |                       |
| 4 Поверка в процессе эксплуатации  | 8.4                           | нет                                    | да                    |

3.2 В случае невыполнения требований хотя бы к одной из операций поверка прекращается, хроматограф бракуется.

3.3 Допускается проведение поверки не в полном объеме для метрологических характеристик в зависимости от комплектации и применения хроматографов.

### 4 Средства поверки

4.1 При проведении поверки применяют следующие средства поверки:

- весы неавтоматического действия I (специального) класса точности с действительной ценой деления 0,1 мг по ГОСТ OIML R 76-1;

- пипетки 1-1-2-1 (10) по ГОСТ 29227;

- колбы мерные 2-100 (1000)-2 по ГОСТ 1770;

- кофеин фармакопейный, содержание основного вещества не менее 98,5 %.



Примечание: в случае утверждения стандартного образца состава кофеина, удовлетворяющего по требованиям к чистоте, предпочтительнее применение стандартного образца утвержденного типа.

4.2 Для контроля условий проведения поверки применяются измерители температуры воздуха, с пределами допускаемой абсолютной погрешности измерений температуры  $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  (регистрационный номер в Федеральном информационном фонде 71394-18).

4.3 Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих требуемую точность и пределы измерений.

4.4 При наличии стандартных образцов утвержденного типа (ГСО) предпочтительно в качестве средств поверки выбирать ГСО состава кофеина, при условии соблюдения требований по чистоте.

## **5 Требования безопасности**

5.1 При проведении поверки должны быть соблюдены «Правила по охране труда при эксплуатации электроустановок», утвержденные Приказом Минтруда России №328н от 24 июля 2013 г., требования ГОСТ 12.2.007.0, ГОСТ 12.2.003.

5.2 Поверитель перед проведением поверки хроматографа должен ознакомиться с руководством по эксплуатации (далее – РЭ) на хроматограф.

## **6 Условия поверки**

6.1 При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха,  $^{\circ}\text{C}$  от 15 до 30

## **7 Подготовка к поверке**

7.1 Приготовить подвижную фазу и растворы кофеина в соответствии с Приложением А.

7.2 Приготовить растворы кофеина, предусмотренные в качестве средств поверки, в соответствии с Приложением Б.

7.3 Подготовка хроматографа к проведению поверки

Подготавливают хроматограф к работе в соответствии с требованиями РЭ и выдерживают после выхода на рабочий режим не менее 2 часов.

В оптических детекторах хроматографа, при необходимости, производится чистка проточной кюветы, замена ламп.

В масс-спектрометрических детекторах хроматографа, при необходимости, производится чистка поверхностей электронной оптики (электронных линз и квадрупольных фильтров) и калибровка масс-спектрометров. С применением раствора кофеина В,

приготовленного по Приложению А, в автоматическом режиме работы хроматографа определяются оптимальные параметры значений напряжений на элементах ионной оптики для + MRM перехода молекулярного иона кофеина в его фрагмент (195 а.е.м. > 138 а.е.м.). При одновременном введении раствора кофеина В (скорость подачи 5 мкл/мин) и подвижной фазы (скорость подачи 995 мкл/мин) через тройник (рис.1), производится оптимизация работы электрораспыления в рабочем потоке (положение зонда в источнике, температура распыления, потоки распыляющего и вспомогательного газов).

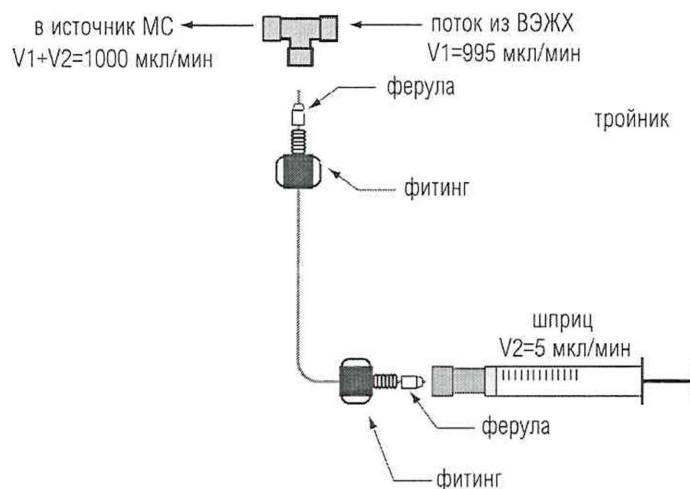


Рисунок 1 – Иллюстрация использования тройника для оптимизации работы электрораспыления в рабочем потоке хроматографа

Перед регистрацией шума и дрейфа детекторов рекомендуется прогрев дейтериевой и вольфрамовой ламп минимум в течение часа.

## 8 Проведение поверки

### 8.1 Внешний осмотр.

При внешнем осмотре установить:

- целостность корпуса, внешних элементов, отсутствие механических повреждений и исправность системы управления работой хроматографа;
- отсутствие ослабленных элементов конструкции и крепежных деталей, чистоту разъемов, состояние соединительных кабелей;
- соответствие комплектности указанной в РЭ;
- четкость обозначений и маркировки.

### 8.2 Опробование

8.2.1 Включить хроматограф и убедиться, что с положительным результатом проводится процесс самодиагностики.

8.2.2 Провести проверку идентификационных данных программного обеспечения (далее – ПО) хроматографа.

Для определения идентификационных данных ПО после запуска управляющей хроматографом программы зайти во вкладки

Help -> About Analyst (для ПО Analyst)

Configuration -> About SCIEX OS (для ПО SCEX OS)

В окне программы отображается идентификационное название ПО и номер версии, полученные данные должны соответствовать указанным в таблице 2.

Таблица 2– Идентификационные данные ПО

| Идентификационные данные (признаки)       | Значение                          |            |
|---|-----------------------------------|------------|
|   | Идентификационное наименование ПО | Analyst    |
| Номер версии (идентификационный номер) ПО | 1.6 и выше                        | 1.4 и выше |
| Цифровой идентификатор ПО                 | -                                 | -          |

### 8.3 Проверка метрологических характеристик

#### 8.3.1 Проверка уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала

Проверку проводят для хроматографов со спектрофотометрическим детектором ExionLC UV и детектором с диодной матрицей ExionLC PDA и при условиях регистрации, указанных в таблице 3.

Таблица 3 – Условия регистрации уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала

| Наименование характеристики / режима измерений       | Значения / установки |                    |
|--|----------------------|--------------------|
|  | ExionLC UV           | ExionLC PDA        |
| Подвижная фаза (элюент)                              | Воздух               | Метанол или воздух |
| Скорость потока элюента, см <sup>3</sup> /мин        | -                    | 1                  |
| Длина волны, нм                                      | 250                  | 250                |
| Постоянная времени, с                                | 2                    | 2                  |
| Температура проточной кварцевой ячейки детектора, °С | 40                   | 40                 |
| Ширина полосы пропускания, нм                        | 4                    | 4                  |
| Длина волны сравнения (reference wavelength), нм     | 600                  | 350                |
| Ширина полосы пропускания опорной длины волны, нм    | 40                   | 40                 |
| Ширина щели, нм                                      | 8                    | 8                  |
| Температура термостата колонки, °С                   | 40                   | 40                 |
| Метод измерения шума ASTM method                     | ASTM E1657-98        |                    |

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала ( $\Delta X$ ) принимают равным амплитуде  $h$  повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с в единицах оптической плотности (Б), которую устанавливают с помощью программного обеспечения хроматографа.

Примечание:



Уровень флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала зависит от длины оптического пути кюветного отделения. В случае использования проточных кювет с отличными от стандартной длинами оптических путей (стандартная длина оптического пути 10мм) уровень флуктуационных шумов необходимо нормировать на оптический путь в 10 мм, умножая значения шума и дрейфа на коэффициенты из таблицы 4.

Таблица 4 - Коэффициенты нормирования значений шума и дрейфа.

| Тип проточной кюветы      | Длина оптического пути кюветного отделения, мм | Коэффициент нормирования значений шума и дрейфа |
|---------------------------|--|---|
| Стандартная               | 10   | 1   |
| Полу-микро                | 5  | 0,5   |
| Микро                     | 3  | 0,3   |
| Препаративная             | 0,5  | 0,05  |
| Препаративная             | 0,2  | 0,02  |
| Препаративная             | 0,1  | 0,01  |
| Для быстрой хроматографии | 3  | 0,3   |
| Для высоких давлений      | 6  | 0,60  |

За дрейф нулевого сигнала принимают наибольшее смещение уровня нулевого сигнала в течение 1 ч при регистрации хроматограммы без ввода пробы. При проведении измерения дрейфа нулевого сигнала зафиксировать флуктуацию температуры окружающего воздуха. В зависимости от значения флуктуации температуры выбрать соответствующее нормируемое значение дрейфа нулевого сигнала по приложению Б.

Полученные значения дрейфа нулевого сигнала должны соответствовать приведенным в Приложении Б для соответствующих условий измерения.

### 8.3.2 Проверка отношения сигнал/шум

Проверку отношения сигнал/шум проводят для хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами. Для проверки производят соединение крана-переключателя (divert valve) масс-спектрометра согласно рисунку 2. Используют петлю объемом 5 мм<sup>3</sup> (мкл).

Примечание – Для уменьшения размытия хроматографического пика для соединения крана-переключателя с источником используют капилляр TUBE\* 1 16OD-0.0025 INCH ID PEEK (0.0025” внутренний диаметр капилляра в дюймах) p/n 016485 из набора расходных материалов (Consumables Kit)



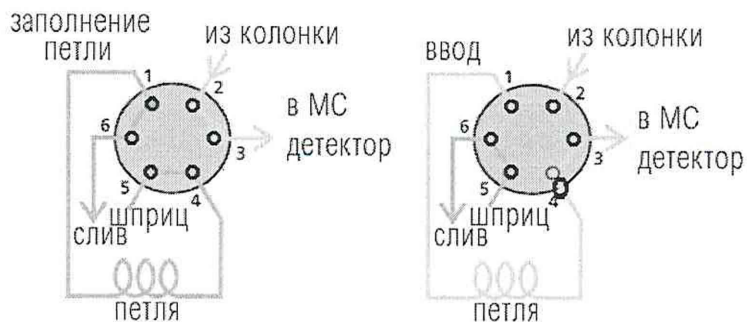


Рисунок 2 – Соединение крана-переключателя (divert valve) масс-спектрометра

Производят процедуру снижения шума масс-спектрального детектора (промывки) без ввода пробы, выставив условия, приведенные в таблице 5 или значения, определённые при оптимизации.

Таблица 5 - Условия промывки масс-спектрального детектора

| Режим          | Наименование характеристики                        | Значения / установки                                 |
|----------------|--|--|
| Хроматография  | Колонка для ВЭЖХ                                   | Phenomenex SYNERGI 4 мкм, FUSION RP80A 50 x 2 мм     |
|                | Подвижная фаза (элюент)                            | см. Приложение А                                     |
|                | Скорость потока элюента, см <sup>3</sup> /мин      | 1  |
| Ионизация      | Источник ионов                                     | Turbo V Ion Source или IonDrive Ion Source           |
|                | Зонд   | ESI (электрораспыление)                              |
|                | Напряжение электрораспыления, В                    | 4500   |
|                | Потенциал декластеризации DP, В                    | 70   |
|                | Температура, °С                                    | 500  |
|                | GAS 1, psi<br>GAS 2, psi                           | 50<br>50   |
| Детектирование | Режим сканирования                                 | + SRM (регистрация выбранных реакций, положительная) |
|                | Молекулярный ион, m/z                              | 195  |
|                | Фрагмент, m/z                                      | 138  |
|                | Накопление dwell, мс                               | 150  |
|                | Энергия соударения CE, В                           | 37   |
|                | Потенциал выхода из столкновительной ячейки СХР, В | 14   |
|                | Время регистрации, ч                               | 1 или до снижения шума до минимальных значений.      |

Раствор кофеина В, приготовленный по Приложению А, вводится через встроенный кран-дозатор шприцевым насосом со скоростью 50 мм<sup>3</sup>/мин (50 мкл/мин). Хроматографирование проводят при условиях, приведенных в таблице 6 или используют значения, определённые при оптимизации.

Определение отношения сигнал/шум проводят с использованием ПО, управляющего хроматографической системой по полученной хроматограмме. Для расчета шума выбирается гладкий участок хроматограммы длиной не менее 30 с.

Полученное значение отношения сигнал/шум должно быть не менее значений, указанных в Приложении Б.

Таблица 6 – Условия регистрации отношения сигнал/шум

|   |   |  |
|---|---|--|
| Хроматография                                     | Колонка для ВЭЖХ  | Phenomenex SYNERGI 4 мкм, FUSION RP80A 50 x 2 мм     |
|   | Скорость потока элюента, см <sup>3</sup> /мин                   | 1  |
|   | Анализируемый раствор   | Кофеин в элюенте (подвижной фазе)                    |
|   | Массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм <sup>3</sup> | 0,1  |
|   | Объем пробы контрольного раствора, мм <sup>3</sup>              | 5  |
| Ионизация   | Источник ионов  | Turbo V Ion Source или IonDrive Ion Source           |
|   | Зонд  | ESI (электрораспыление)                              |
|   | Напряжение электрораспыления, В                                 | 4500   |
|   | Потенциал декластеризации DP, В                                 | 70   |
|   | Температура, °С   | 400  |
|   | GAS 1, psi*   | 50   |
| GAS 2, psi*                                       | 50  |  |
| Детектирование                                    | Режим сканирования  | + SRM (регистрация выбранных реакций, положительная) |
|   | Материнский ион, m/z  | 195  |
|   | Дочерний ион, m/z   | 138  |
|   | Накопление dwell, мс  | 150  |
|   | Энергия соударения CE, В  | 37   |
|   | Потенциал выхода из столкновительной ячейки СХР, В              | 14   |
|   | Время регистрации, мин  | 1  |
| *фунт-сила на квадратный дюйм, 1 psi = 6894,76 Па |   |  |

8.3.3 Проверка относительного среднего квадратического отклонения параметров выходного сигнала (площади пика, времени удерживания)

Проверка относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) проводится для всех модификаций хроматографов при вводе растворов кофеина через хроматограф.

Растворы кофеина, подготовленные в соответствии с Приложением А, анализируют не менее 6 раз, проводя измерения значения выходного сигнала (площади пика) при условиях, указанных в Таблице 7. В качестве элюента применяют смесь следующего состава вода :

ацетонитрил : метанол : муравьиная кислота в объемных соотношениях 70 : 15 : 15 : 0,1.  
Скорость потока элюента 1 см<sup>3</sup>/мин.

Таблица 7 – Условия регистрации относительного среднего квадратического отклонения параметров выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) детекторов

| Хроматограф в комплекте с детектором   | Применяемый раствор, массовая концентрация   | Режимы измерений  |
|--|--|---|
| Хроматографы с детекторами ExionLC UV, ExionLC PDA   | Водный раствор кофеина А с массовой концентрацией 10,0 мг/дм <sup>3</sup> по Приложению А            | Длина волны, 272 нм.<br>Температура термостата колонки, 40 °С.<br>Температура ячейки детектора, 40 °С |
| Хроматографы с детекторами API3200 и Triple Quad 3500/4500/5500+/6500+ и QTRAP 3200/4500/5500+/6500+ | Раствор кофеин в элюенте (раствор Б) с массовой концентрацией 0,1 мг/дм <sup>3</sup> по Приложению А | по таблице 5  |

По результатам измерений вычислить среднее арифметическое значение выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) ( $\bar{X}$ ) и относительное СКО ( $S$ ) результатов измерений выходного сигнала по формулам:

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

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

где  $X_i$  - результат  $i$ -го измерения параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания), усл. ед. (с);

$n = 6$  - количество проведенных измерений.

Полученное значение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала должно удовлетворять требованиям Приложения Б.

Примечания:

1. Допускается последовательное и параллельное (с применением делителей потока из состава хроматографа) соединение оптических детекторов и масс-спектрометрических детекторов в хроматографе для одновременного определения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика).



2. В том случае, если используют другой объем вводимой пробы (например, установлена петля другой вместимости), допускается соответствующим образом корректировать концентрацию анализируемого раствора.

3. Допускается использовать другой элюент при условии, что значение фактора удерживания ( $k'$ ) будет не менее 2.

$$k' = (t_R - t_0) / t_0,$$

где  $t_R$  - время удерживания анализируемого компонента, с;

$t_0$  - время элюирования неудерживаемого компонента (мертвое время), с.

4. Допускается использовать иную скорость потока, в случае если конфигурация измерительной системы хроматографа (применяемые колонки и т. п.) не рассчитана на работу с потоком 1 см<sup>3</sup>/мин.

#### 8.3.4 Определение предела детектирования

Проверку предела детектирования проводят для хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами. Для определения предела детектирования используют значение  $\bar{X}$ , полученное в разделе 8.3.3 для площади выходного сигнала и значение  $\Delta X$ , полученное в разделе 8.3.1 для уровня флуктационных шумов.

Предел детектирования в г/см<sup>3</sup> рассчитывают по формуле

$$C_{\text{мин}} = \frac{2 \cdot \Delta X \cdot G \cdot 60}{\bar{X} \cdot V}, \quad (3)$$

где  $\Delta X$  - уровень флуктационных шумов;

$V$  - скорость элюента, см<sup>3</sup>/мин;

$G$  - количество контрольного вещества, г, рассчитываемое по формуле

$$G = 10^{-9} \cdot C \cdot V_{\text{доз}}, \quad (4)$$

где  $C$  - массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм<sup>3</sup>;

$V_{\text{доз}}$  - объем вводимой пробы контрольного вещества, мм<sup>3</sup>.

Полученное значение предела детектирования должны удовлетворять требованиям Приложения Б.

8.3.5 Проверка относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы

Через 8 часов после определения относительного среднего квадратического отклонения параметров выходного сигнала повторяют данные измерения в соответствии с разделом 8.3.3. Проводят определение среднего значения выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) за 8 часов непрерывной работы ( $\bar{X}_1$ ) и относительного СКО ( $S_r$ ) результатов измерений выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) по формулам (1), (2).



Полученные значения относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы должны удовлетворять требованиям Приложения Б.

#### 8.4 Поверка в процессе эксплуатации

В процессе эксплуатации при наличии специально разработанной методики (метода) измерений, аттестованной в соответствии с порядком, утвержденным Приказом Минпромторга РФ от 15.12.2015 №4091, или стандартизированной методики, отвечающей требованиям ГОСТ Р 8.563, допускается периодическую поверку проводить по МИ 2531. В таком случае проводят контроль показателей точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в методике (методе) измерений, при этом предпочтительнее использовать стандартные образцы утвержденных типов.

### 9 Оформление результатов поверки

9.1 Оформляют протокол проведения поверки в произвольной форме.

9.2 Положительные результаты поверки оформляют выдачей свидетельства о поверке в соответствии с Приказом Минпромторга № 1815. Знак поверки в виде оттиска поверительного клейма наносится на свидетельство о поверке.

9.3 При отрицательных результатах поверки хроматограф признают непригодным к дальнейшей эксплуатации и выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с Приказом Минпромторга № 1815.

#### Разработчик

Зав. лаб.241 УНИИМ - филиала  
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»



М.Ю. Медведевских

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

### Процедура приготовления элюента (подвижной фазы) и растворов кофеина

А.1 Для приготовления элюента (подвижной фазы) и растворов кофеина используют:

- весы неавтоматического действия по ГОСТ OIML R 76-1, I (специального) класса точности с действительной ценой деления 0,1 мг;
- ультразвуковая ванна вместимостью не менее 3 дм<sup>3</sup>, например «Сапфир - 2,8 ТТЦ»
- колба 2-100 (1000)-2 ГОСТ 1770;
- цилиндр вместимостью 1 дм<sup>3</sup> не ниже второго класса точности по ГОСТ 1770;
- пипетки градуированные 1-1-2-1 (10) ГОСТ 29227;
- кофеин фармакопейный по ФС.2.1.0116.18, массовая доля основного вещества не менее 98,5 %;
- вода Pierce™ Water, LC-MS Grade, производства фирмы Thermo Fisher Scientific;
- ацетонитрил Pierce™ Acetonitrile (ACN), LC-MS Grade, производства фирмы Thermo Fisher Scientific;
- метанол Methanol for UHPLC Supergradient, производства фирмы ACS Panreak
- муравьиная кислота Pierce™ Formic Acid, LC-MS Grade, производства фирмы Thermo Fisher Scientific

А.2 Процедура приготовления элюента (подвижной фазы)

В мерный цилиндр вместимостью 1 дм<sup>3</sup> добавляют 1 см<sup>3</sup> муравьиной кислоты, 150 см<sup>3</sup> метанола, 150 см<sup>3</sup> ацетонитрила и водой доводят до метки. Полученную смесь переносят в чистую емкость для элюента, дегазируют в течение 10 минут в ультразвуковой ванне.

А.3 Процедура приготовления растворов кофеина

А.3.1 Раствор А кофеина с массовой концентрацией 10 мг/дм<sup>3</sup>

В мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup> взвешивают 10 мг кофеина, добавляют 250 см<sup>3</sup> воды, помещают в ультразвуковую ванну на 10 минут, добиваясь полного растворения. Доводят до метки водой, перемешивают.

А.3.2 Раствор В кофеина с массовой концентрацией 0,1 мг/ дм<sup>3</sup>

Аликвоту 1 см<sup>3</sup> раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят до метки подвижной фазой, помещают в ультразвуковую ванну на 10 минут.

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(обязательное)

### Метрологические характеристики

| Наименование характеристики   | Значение для хроматографов с детекторами |                  |                             |                                |                                |  |  |
|---|--|------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|--|
|   | API3200 QTRAP 3200                       | Triple Quad 3500 | Triple Quad 4500 QTRAP 4500 | Triple Quad 5500+/ QTRAP 5500+ | Triple Quad 6500+/ QTRAP 6500+ | ExionLC UV                                   | ExionLC PDA                                  |
| Диапазон массовых чисел, а.е.м.   | 5-2000                                   |                  |                             | 5-1250                         | 5-2000                         | -  | -  |
| Спектральный диапазон, нм   | -  |                  |                             | -                              | -                              | 190-900                                      | 190-700                                      |
| Отношение сигнал/шум*, не менее   | 400:1                                    | 3000:1           | 5000:1                      | 40000:1                        | 100000:1                       | -  | -  |
| Предел детектирования*, г/см <sup>3</sup>   | -  | -                | -                           | -                              | -                              | 3,0·10 <sup>-10</sup>                        |  |
| Предел допускаемого относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала*, %:<br>- по площади;<br>- по времени удерживания  |  |                  | 7,0<br>1,0                  |                                |                                | 5,0<br>1,0                                   |  |
| Предел допускаемого относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы*, %:<br>- по площади;<br>- по времени удерживания  |  |                  | 7,0<br>1,0                  |                                |                                | 5,0<br>1,0                                   |  |
| Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (250 нм), Б, не более   |  |                  | -                           |                                |                                | 2,5·10 <sup>-6</sup>                         | 2,0·10 <sup>-6</sup>                         |
| Дрейф нулевого сигнала (250 нм), Б/ч, не более, при флуктуации температуры окружающей среды<br>- менее ±2°С<br>- от ±2°С до ±2,5°С  |  |                  | -                           |                                |                                | 1,0·10 <sup>-4</sup><br>3,0·10 <sup>-4</sup> | 5,0·10 <sup>-4</sup><br>1,5·10 <sup>-3</sup> |
| Примечание к таблице – Метрологические характеристики, отмеченные знаком *, установлены для хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами в режиме положительной ионизации электрораспылением при инъекции 500 пг кофеина; для хроматографов со спектрофотометрическими детекторами и детекторами на диодной матрице – при инъекции 50 нг кофеина. |  |                  |                             |                                |                                |  |  |