

Федеральное государственное унитарное предприятие
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева»
ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»

СОГЛАСОВАНО

И.о. генерального директора
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»



А.Н. Пронин
15.12. 2021 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Системы капиллярного электрофореза Капель

Методика поверки
МП-242-2470-2021

Руководитель НИО государственных
эталонов в области физико-химических измерений
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

А.В. Колобова

Ст. научный сотрудник

М.А. Мешалкин

Санкт-Петербург
2021

Настоящая методика поверки распространяется на системы капиллярного электрофреза Капель (далее по тексту – системы, системы Капель), предназначенные для измерений содержания различных компонентов в пробах водных и водно-органических растворов.

Требования по обеспечению прослеживаемости поверяемой системы к государственным первичным эталонам единиц величин выполняются путем реализации на системе методик измерений с применением стандартных образцов утвержденного типа, прослеживаемых к комплексу государственных первичных эталонов единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации по ГОСТ 8.735.0-2011 «Государственная поверочная схема для средств измерений содержания компонентов в жидких и твердых веществах и материалах. Основные положения»:

ГЭТ 217-2018 ГПЭ единиц массовой доли и массовой (молярной) концентрации неорганических компонентов в водных растворах на основе гравиметрического и спектрального методов;

ГЭТ 176-2019 ГПЭ единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии;

ГЭТ 196 -2019 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов;

ГЭТ 208-2019 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии.

Метод, обеспечивающий реализацию методики поверки – косвенное измерение поверяемым средством величины, воспроизводимой стандартным образцом.

П р и м е ч а н и я

1. При пользовании настоящей методикой поверки целесообразно проверить действие ссылочных документов по соответствующему указателю стандартов, составленному по состоянию на 1 января текущего года и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

2. 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

При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта	Проведение операции при поверке	
		первичной	периодической
Внешний осмотр и опробование	6, 7.2	Да	Да
Проверка соответствия программного обеспечения	8	Да	Да
Определение предела обнаружения контрольного вещества	9.1, 9.2	Да	Да
Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (по площади пика)	9.4	Да	Да
<p>Примечание - При периодической поверке систем Капель допускается проводить операции по 9.1, 9.2 при одной полярности высокого напряжения, при этом право выбора полярности принадлежит потребителю.</p>			

2 Требования к условиям проведения поверки

При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %;
- атмосферное давление от 84 до 106 кПа;
- напряжение сети питания (220 ± 22) В, частота (50 ± 1) Гц;
- содержание вредных веществ в воздухе помещения, где проводится поверка, не должно превышать установленных по ГОСТ 12.1.005-88 значений предельно допустимых концентраций.

Допускается участие в поверке операторов, обслуживающих систему.

Перед проведением поверки необходимо изучить Руководство по эксплуатации систем Капель и настоящую методику, и обеспечить выполнение условий поверки и требований техники безопасности.

3 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

К проведению поверки допускаются лица, ознакомившиеся с руководством по эксплуатации поверяемых систем, эталонных средств измерений и вспомогательных средств поверки, инструкциями по применению стандартных образцов и прошедшие инструктаж по технике безопасности.

Для получения экспериментальных данных, необходимых для поверки, допускается участие в поверке операторов, обслуживающих системы Капель (под контролем поверителя).

4 Метрологические и технические требования к средствам поверки

4.1 При проведении поверки применяют средства поверки по таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

Номер пункта методики поверки	Наименование эталонного средства измерений или вспомогательного средства поверки, номер документа, регламентирующего технические требования к средству, метрологические и технические характеристики
2	Термогигрометр электронный или гигрометр психрометрический, зарегистрированные в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений (например, ФИФ № 53505-13 или аналогичные)
9	Стандартный образец удельной энергии сгорания ГСО 5504-90 (аттестуемая характеристика – молярная доля бензойной кислоты не менее 99,990 %) или стандартный образец состава бензойной кислоты ГСО 11467-2019 (массовая доля бензойной кислоты от 99,5 до 99,9 %)
9	Стандартный образец состава раствора хлорид-ионов ГСО 6687-93 (1 мг/см ³ , ПГ ± 1 %)
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100 см ³ по ГОСТ 1770-74
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Пипетки градуированные, 2-го класса точности вместимостью 1, 5, 10 см ³ по ГОСТ 29227-91
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Дозаторы пипеточные переменного объема 100 - 1000 мм ³ , зарегистрированные в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений (например, ФИФ № 36152-12 или аналогичные)
ПРИЛОЖЕНИЕ А	Весы лабораторные специального класса точности, обеспечивающие взвешивание с погрешностью не более ±1 мг, зарегистрированные в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений

4.2 Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых систем с требуемой точностью.

4.3 Все средства измерений, используемые при поверке, должны быть поверены, а стандартные образцы применяться в пределах срока годности экземпляра.

5 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

При проведении поверки систем Капель следует соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007-76, Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок, утвержденных Приказом Минтруда России от 15.12.2020 № 903н, а также требования безопасности, содержащиеся в Руководстве по эксплуатации систем Капель.

6 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливаются соответствие систем Капель следующим требованиям:

- отсутствие внешних повреждений (трещин, вмятин и др.), влияющих на работоспособность и безопасность системы;
- исправность органов управления;
- соответствие маркировки требованиям эксплуатационной документации.

Системы Капель считают выдержавшими внешний осмотр, если они соответствуют указанным выше требованиям.

7 Подготовка к поверке и опробование

7.1 Подготовка к поверке

7.1.1 При подготовке к проведению поверки продельвают следующие операции:

- подготавливают систему Капель к работе согласно Руководству по эксплуатации;
- устанавливают в систему Капель кассету с капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, общая длина 60 см);
- подготавливают средства поверки, перечисленные в разделе 4;
- подготавливают буферные и поверочные растворы согласно Приложению А.

7.1.2 В зависимости от полярности высокого напряжения системы Капель измерения проводят с использованием разных буферных растворов и контрольных веществ:

- бензойной кислоты и тетраборатного буферного раствора для систем Капель с положительной полярностью высокого напряжения;
- хлорид-ионов и хроматного буферного раствора для систем Капель с отрицательной полярностью высокого напряжения.

7.1.3 Перед измерением все растворы фильтруют через целлюлозно-ацетатные фильтры, входящие в комплект системы Капель и/или дегазируют центрифугированием (скорость вращения не менее 5000 об/мин, время 5 мин).

7.1.4 Перед началом проведения измерений промывают капилляр согласно Приложению Б.

7.1.5 Рекомендуется перед началом проведения поверки получить пробную электрофореграмму, по которой можно определить время миграции пика контрольного вещества.

При положительной полярности высокого напряжения регистрируют пробную электрофореграмму раствора № 3 бензойной кислоты (см. А.3.5) в условиях согласно 9.1.1 (табл.2), а при отрицательной - раствора № 2 хлорид-ионов (см. А.4.6) в условиях согласно 9.2.1 (табл.3).

Время миграции ($T_{\text{миг}}$, мин) пика бензойной кислоты не должно превышать 10 мин, пика хлорид-ионов 5 мин. При невыполнении этих условий промывку капилляра продолжают.

После регистрации пробной электрофореграммы промывают капилляр в соответствии с приложением Б и переходят к 9.1.1 или к 9.2.1 в зависимости от полярности высокого напряжения.

7.2 Опробование

7.2.1 Опробование системы Капель (самотестирование) проводится в соответствии с Руководством по эксплуатации в автоматическом режиме после включения питания.

8 Проверка соответствия программного обеспечения

8.1 Запускают программное обеспечение стандартными средствами операционной системы, в главном меню выбирают элемент *Помощь/Идентификация*. При этом появится окно с информацией о метрологически значимой части ПО. Для закрытия окна нажимают кнопку «Закрыть».

8.2 Результат проверки считают положительным, если версия метрологически значимой части ПО соответствует идентификационным данным, указанным в разделе «Программное обеспечение» описания типа средства измерений или выше.

9 Определение метрологических характеристик

9.1 Определение метрологических характеристик при положительной полярности высокого напряжения

9.1.1 В соответствии с Руководством по эксплуатации системы Капель регистрируют по две электрофореграммы каждого из поверочных растворов бензойной кислоты №№ 3-6, приготовленных по А.3.5 - А.3.6, в условиях, указанных в таблице 3. После регистрации каждой электрофореграммы капилляр промывают по Б.3.

Таблица 3 - Условия регистрации электрофореграмм при положительной полярности высокого напряжения

Контрольное вещество	Бензойная кислота	
	Исполнения систем	Капель-104Т
Длина волны, нм	254	220
Температура, °С	20	
Ввод пробы	Давление 30 мбар, время 30 с	
Напряжение, кВ	20	
Ведущий электролит	Буферный раствор по А.3.2	
Время анализа, мин	$T_{\text{миг}} + 1$	

9.1.2 Далее переходят к обработке результатов

9.2 Определение метрологических характеристик при отрицательной полярности высокого напряжения

9.2.1 В соответствии с Руководством по эксплуатации системы Капель регистрируют по две электрофореграммы каждого из поверочных растворов хлорид-ионов №№ 2-5, приготовленных по А.4.6 - А.4.7, в условиях, указанных в таблице 4. После регистрации каждой электрофореграммы капилляр промывают по Б.3.

9.2.2 Далее переходят к обработке результатов.

Таблица 4 – Условия регистрации электрофореграмм при отрицательной полярности высокого напряжения

Контрольное вещество	Хлорид-ионы	
	Исполнения систем	Капель-104Т
Длина волны, нм	254	370
Температура, °С	20	
Ввод пробы	Давление 30 мбар, время 10 с	
Напряжение, кВ	минус 17	
Ведущий электролит	Буферный раствор по А.4.4	
Время анализа, мин	$T_{\text{миг}} + 1$	

9.3 Обработка результатов

9.3.1 На полученных электрофореграммах проверяют правильность автоматической разметки пиков контрольных веществ и, если необходимо, корректируют её.

9.3.2 Используя программное обеспечение, находят:

- высоту пика H_i контрольного вещества
- максимальную величину уровня флуктуации шумов нулевого сигнала H_{sh} на участке с минимальным количеством выбросов; этот участок должен быть не менее 30 с для хлорид-ионов и не менее 60 с для бензойной кислоты (см. Приложение В).

П р и м е ч а н и е - Кратковременные изменения выходного сигнала, имеющие характер одиночных импульсов, при оценке уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала не учитывают.

9.3.3 Вычисляют отношение сигнал/шум (H_i / H_{sh}) для всех электрофореграмм. Для каждого значения массовой концентрации контрольного вещества вычисляют среднее арифметическое полученных значений отношения сигнал/шум. Результаты сводят в таблицу 5.

Таблица 5

№ раствора	Высота пика H_i	H_{sh}	Концентрация контрольного вещества (мкг/см ³)	Отношение сигнал / шум	Среднее отношение сигнал/ шум

9.3.4 Строят график зависимости среднего отношения сигнал/шум от концентрации контрольного вещества, используя данные из таблицы 4, в виде линейной функции

$$R = a + b \cdot C \quad (1)$$

где R - отношение сигнал/шум (H_i / H_{sh});

C - массовая концентрация контрольного вещества, мкг/см³;

a, b - параметры линейной функции.

и находят угловой коэффициент b . Некоторые рекомендации по использованию для этой цели программного продукта MS Excel и ручной обработке данных приведены в Приложении В.

9.3.5 Рассчитывают предел обнаружения контрольного вещества ($C_{мин}$, мкг/см³) по формуле

$$C_{мин} = \frac{3}{b} \quad (2)$$

9.4 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (по площади пика)

9.4.1 Регистрируют пять раз электрофореграмму поверочного раствора бензойной кислоты (в случае положительной полярности высокого напряжения) или хлорид-ионов (в случае отрицательной полярности высокого напряжения) массовой концентрации 4 мкг/см³ в условиях, приведенных в таблицах 2 (см.9.1.1) или 3 (см.9.2.1) соответственно. На полученных электрофореграммах проверяют правильность автоматической разметки пиков и, если необходимо, корректируют её.

9.4.2 Используя программное обеспечение, вычисляют площади пика контрольного вещества на каждой электрофореграмме.

9.4.3 Вычисляют среднее арифметическое A_{cp} полученных значений (A_i) и относительное среднее квадратическое отклонение (S_A) по формулам:

$$A_{cp} = \frac{\sum A_i}{N} \quad (3)$$

$$S_A = 100 \cdot \frac{\sqrt{\frac{\sum (A_i - A_{cp})^2}{N - 1}}}{A_{cp}} \quad (4)$$

где N - число измерений.

10 Подтверждение соответствия системы метрологическим требованиям

10.1 Результаты поверки системы считают положительными, если полученные значения относительного среднеквадратического отклонения выходного сигнала по площади пика, и предела обнаружения контрольного вещества соответствуют значениям, указанным в таблице 6.

Таблица 6 – Нормированные значения метрологических характеристик

Наименование метрологической характеристики	Требования
Предел обнаружения контрольного вещества (не более): -бензойной кислоты (положительная полярность высокого напряжения), мкг/см ³ -хлорид-ионов (отрицательная полярность высокого напряжения), мкг/см ³	0,8 0,5
Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала по площади пика, %	5

11 Оформление результатов поверки

Данные, полученные при поверке, оформляются в форме протокола в соответствии с требованиями, установленными в организации, проводящей поверку. Рекомендуемая форма записи результатов измерений, включаемых в протокол поверки, приведена в Приложении Г.

Система, прошедшая поверку с положительными результатами, признается годной и допускается к дальнейшему использованию. На нее оформляется свидетельство о поверке установленного образца.

Система, прошедшая поверку с отрицательным результатом, к дальнейшей эксплуатации не допускается, и на нее оформляется извещение о непригодности.

Результаты поверки систем подтверждаются сведениями о результатах поверки средств измерений, включенными в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений.

По заявлению владельца средства измерений или лица, представившего его на поверку, на системы оформляется свидетельство о поверке.

Знак поверки наносится на свидетельство о поверке (при его оформлении).

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

Приготовление поверочных растворов**А.1 Вспомогательное оборудование и реактивы для приготовления растворов**

А.1.1 Для приготовления поверочных и вспомогательных растворов применяют следующее вспомогательное оборудование:

Стаканы химические вместимостью 200 см ³	ГОСТ 25336-82
Центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 5000 оборотов в минуту	ТУ 5-375-4261-76
Пробирки одноразовые (типа Эппендорф) вместимостью 1,5 см ³	ТУ 62-2-300-80
Шприц медицинский одноразовый типа «Луер» вместимостью 10, 20 см ³	ГОСТ 24861-91
Фильтры целлюлозно-ацетатные, размер пор 0,2 мкм, диаметр 25 мм	ТУ 6-55-221-879-88
Оправа для фильтра, например, производства фирмы «SARTORIUS STEDIM»	

А.1.2 Для приготовления поверочных и вспомогательных растворов используют следующие реактивы:

Вода дистиллированная	ГОСТ Р 58144-2018
Соляная кислота, х.ч.	ГОСТ 3118-77
Гидроксид натрия, х.ч.	ГОСТ 4328-77
Хрома (VI) оксид, ч.д.а.	ГОСТ 3776-78
Цетилтриметиламмония гидроксид (гексадецилтриметиламмония гидроксид, далее ЦТА-ОН), 10 %-ный раствор, например, производства «Sigma-Aldrich», кат. номер 439231	
Цетилтриметиламмония гидроксид, (ЦТА-ОН), квалификации р.а., например, производства фирмы «Fluka», Швейцария, кат. номер 52385	
или цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ), массовая доля основного вещества не менее 98 %, например, производства фирмы «Fluka», Швейцария, кат. номер 52369	
Диэтаноламин (бис(2-оксиэтил)амин), массовая доля основного вещества не менее 98 % например, производства фирмы «Fluka», Швейцария, кат. номер 31589	
Натрий тетраборнокислый, стандарт-титр	ТУ 6-09-2540-87

А.1.3 Допускается использование вспомогательного оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками и химических реактивов аналогичной или более высокой квалификации, выпущенных по другой документации.

А.2 Приготовление растворов для промывки капилляра

Все растворы готовят на свежей дистиллированной воде, соответствующей ГОСТ Р 58144-2018.

А.2.1 Раствор гидроксида натрия для промывки капилляра

В стакан из термостойкого стекла помещают 2 г гидроксида натрия и растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Молярная концентрация раствора приблизительно 0,5 моль/дм³.

Срок хранения в посуде из полиэтилена 6 месяцев.

А.2.2 Раствор соляной кислоты для промывки капилляра

В стакан из термостойкого стекла помещают 100 см³ дистиллированной воды, затем приливают 8 см³ концентрированной соляной кислоты и перемешивают. Молярная концентрация раствора приблизительно 1 моль/дм³.

Срок хранения не ограничен.

А.3 Приготовление растворов для проведения поверки при ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ полярности высокого напряжения

А.3.1 Раствор натрия тетраборнокислого, молярная концентрация 0,05 моль/дм³

Раствор готовят из стандарт-титра по прилагаемой к нему инструкции. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде в условиях, исключающих поглощение диоксида углерода.

Срок хранения – 6 месяцев.

А.3.2 Раствор натрия тетраборнокислого, молярная концентрация 0,01 моль/дм³ (буферный раствор)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 10 см³ раствора натрия тетраборнокислого, приготовленного по А.3.1, и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде в условиях, исключающих поглощение диоксида углерода.

Срок хранения – 2 месяца.

А.3.3 Приготовление запасного раствора бензойной кислоты № 1 (массовая концентрация 1000 мкг/см³)

Навеску бензойной кислоты массой 100 мг растворяют в дистиллированной воде при нагревании на водяной бане, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в холодильнике – 1 месяц.

А.3.4 Приготовление запасного раствора бензойной кислоты №2 (массовая концентрация 100 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 5 см³ запасного раствора №1 по А.3.3, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в холодильнике – 1 неделя.

А.3.5 Приготовление поверочного раствора бензойной кислоты №3 (массовая концентрация 4 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 1 см³ запасного раствора №2 (см.А.3.4), доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Раствор используют в день приготовления.

А.3.6 Приготовление поверочных растворов бензойной кислоты №№ 4 - 6

В чистые сухие пробирки типа «Эппендорф» помещают объемы растворов, указанные в таблице А.1 и перемешивают.

Растворы используют в день приготовления.

Таблица А.1 – Приготовление поверочных растворов бензойной кислоты

Раствор бензойной кислоты	Массовая концентрация, мкг/см ³	Исходные растворы	Объемы исходных растворов, мм ³
Раствор № 4	2,0	Раствор № 3	400
		Дистиллированная вода	400
Раствор № 5	1,0	Раствор № 3	200
		Дистиллированная вода	600
Раствор № 6	0,5	Раствор № 3	100
		Дистиллированная вода	700

П р и м е ч а н и е - При отсутствии дозаторов допускается увеличение объемов и использование для приготовления поверочных растворов градуированных пипеток и мерных колб.

А.4 Приготовление растворов для проведения поверки при ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ полярности высокого напряжения**А.4.1 Раствор оксида хрома (VI), молярная концентрация 0,05 моль/дм³**

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают навеску 0,50 г оксида хрома (VI), растворяют в 50 - 60 см³ дистиллированной воды, затем доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в плотно закрытом полиэтиленовом сосуде не ограничен.

А.4.2 Раствор диэтанолamina (ДЭА), молярная концентрация 0,1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 0,263 г диэтанолamina, предварительно замороженного (при необходимости) до кристаллического состояния, растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в полиэтиленовой посуде в условиях, исключающих поглощение диоксида углерода из воздуха – 1 месяц.

А.4.3 Раствор цетилтриметиламмония гидроксида (ЦТА-ОН), молярная концентрация 0,01 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 25 см³, содержащую 4 – 5 см³ дистиллированной воды, помещают 0,75 см³ 10%-ного раствора ЦТА-ОН. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в пластиковой посуде в условиях, исключающих поглощение углекислого газа из воздуха, в холодильнике – 6 месяцев.

П р и м е ч а н и е - При отсутствии ЦТА-ОН раствор можно приготовить из ЦТАБ. Для этого в мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 0,091 г ЦТАБ, добавляют 15 см³ дистиллированной воды, выдерживают на водяной бане при 30°C до полного растворения, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Молярная концентрация ЦТАБ - 0,01 моль/дм³.

А.4.4 Хроматный буферный раствор

В чистый сухой стакан вместимостью 50 см³ помещают 2,0 см³ раствора оксида хрома (VI), приготовленного по А.4.1, 3,0 см³ раствора ДЭА, приготовленного по А.4.2, и 3,0 см³ дистиллированной воды. Тщательно перемешивают, затем добавляют 2,0 см³ ЦТА-ОН, приготовленного по А.4.3. Сразу после смешения раствор фильтруют через мембранный фильтр, используя медицинский шприц, в пластиковую посуду с закрывающейся крышкой.

Приготовленный раствор содержит 10 ммоль/дм³ оксида хрома (VI), 30 ммоль/дм³ ДЭА и 2,0 ммоль/дм³ ЦТА-ОН.

Буферный раствор используется для проведения поверки при отрицательной полярности высокого напряжения.

Срок хранения – 1 неделя.

А.4.5 Приготовление запасного раствора хлорид-ионов №1 (массовая концентрация 100 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 5,0 см³ стандартного образца состава раствора хлорид-ионов, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Срок хранения раствора – 1 месяц.

А.4.6 Приготовление поверочного раствора хлорид-ионов №2 (массовая концентрация 4 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 1,0 см³ запасного раствора хлорид-ионов (см.А.4.5), доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор используют в день приготовления

А.4.7 Приготовление поверочных растворов хлорид-ионов №№ 3-5

В чистые сухие пробирки типа «Эппендорф» помещают объемы растворов, указанные в таблице А.2 и перемешивают.

Растворы используют в день приготовления.

Таблица А.2 – Приготовление поверочных растворов хлорид - ионов

Раствор хлорид-ионов	Концентрация, мкг/см ³	Исходные растворы	Объемы исходных растворов, мм ³
Раствор № 3	2,0	Раствор № 2	400
		Дистиллированная вода	400
Раствор № 4	1,0	Раствор № 2	200
		Дистиллированная вода	600
Раствор № 5	0,5	Раствор № 2	100
		Дистиллированная вода	700

П р и м е ч а н и е - При отсутствии дозаторов допускается увеличение объемов и использование для приготовления поверочных растворов градуированных пипеток и мерных колб.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(рекомендуемое)
Подготовка капилляра

Б.1 Подготовка нового капилляра к работе

Новый капилляр последовательно промывают:

- 2 минуты дистиллированной водой;
- 10 минут раствором соляной кислоты по А.2.2;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут раствором гидроксида натрия по А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут буферным раствором по А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого напряжения.

Все промывочные растворы собирают в сливную пробирку, не погружая в неё выходной конец капилляра.

Б.2 Промывка капилляра, ранее использованного в работе

Подготовка капилляра, ранее находившегося в работе, зависит от состава ранее использованного буферного раствора.

Если использовали буферные растворы без модифицирующих добавок, то капилляр промывают по следующей схеме:

- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут буферным раствором по А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого напряжения.

Если использовали буферные растворы, содержащие добавки ЦТАБ, ЦТАОН, β-циклодекстрина, то необходимо провести промывку по следующей схеме:

- 2 минуты дистиллированной водой;
- 5 минут раствором соляной кислоты по А.2.2;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут раствором гидроксида натрия по А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут буферным раствором по А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого напряжения.

Если использовали буферные растворы, приготовленные на основе бензимидазола или содержащие добавки додецилсульфата натрия, то капилляр промывают по следующей схеме:

- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут раствором гидроксида натрия по А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут буферным раствором по А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого напряжения.

В случае отсутствия пика контрольного вещества на электрофореграмме необходимо промыть капилляр серной кислотой, разбавленной дистиллированной водой в объемном соотношении 1:1 в течение 10 - 15 минут. После этого необходима тщательная промывка капилляра дистиллированной водой по длительности большая, чем промывка кислотой. Далее капилляр промывают раствором гидроксида натрия по А.2.1, дистиллированной водой и соответствующим буферным раствором, как указано выше.

Б.3 Промывка капилляра между измерениями и по окончании поверки

Непосредственно перед измерением капилляр промывают соответствующим буферным раствором в течение 3 минут.

После каждого измерения капилляр промывают соответствующим буферным раствором в течение 2 минут.

По окончании поверки капилляр промывают по схеме:

- 2 минуты дистиллированной водой;
- 5 минут раствором гидроксида натрия по А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут раствором соляной кислоты по А.2.2;
- 5 минут дистиллированной водой и оставляют в дистиллированной воде, подняв пробирки с водой на входе и выходе.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(обязательное)

Обработка данных

В.1.1 Принцип нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала показан на рис.В.1

В.1.2 Для нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала выбирают участок электрофореграммы требуемой ширины (см. 9.3.2) и, если программное обеспечение позволяет непосредственно определить уровень флуктуационных шумов на этом участке, то находят его в соответствии с Руководством пользователя (ПО «Эльфوران»).

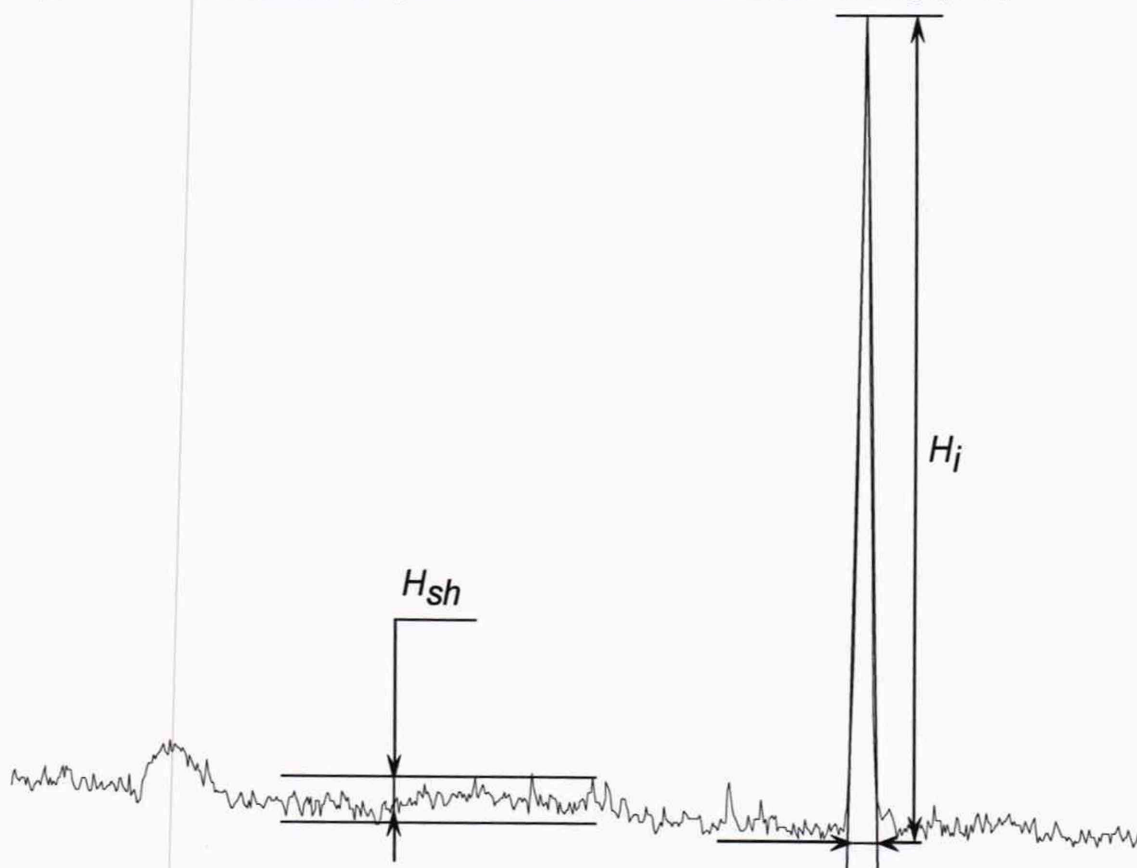


Рис.В.1 - Пример оценки высоты пика и уровня флуктуации шума

H_i - высота пика, отсчитываемая от линии нулевого сигнала;

H_{sh} - уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала.

В.1.3 После того, как таблица 4 (см.9.3.3) заполнена, строят график зависимости отношения сигнал/шум от концентрации поверочного раствора, используя соответствующие программные продукты, например, MS Excel. Рекомендуется использовать диаграмму типа «Точечная», на которую помещают линейную линию тренда и включают опцию «Показывать уравнение на диаграмме» (рис.В.2). Опция «Пересечение кривой с осью Y в точке 0» должна быть отключена! Численные данные (пример) приведены ниже:

C , мкг/см ³	$R = H/H_{sh}$
0,5	8,75
1,0	18
2,0	39
4,0	68.

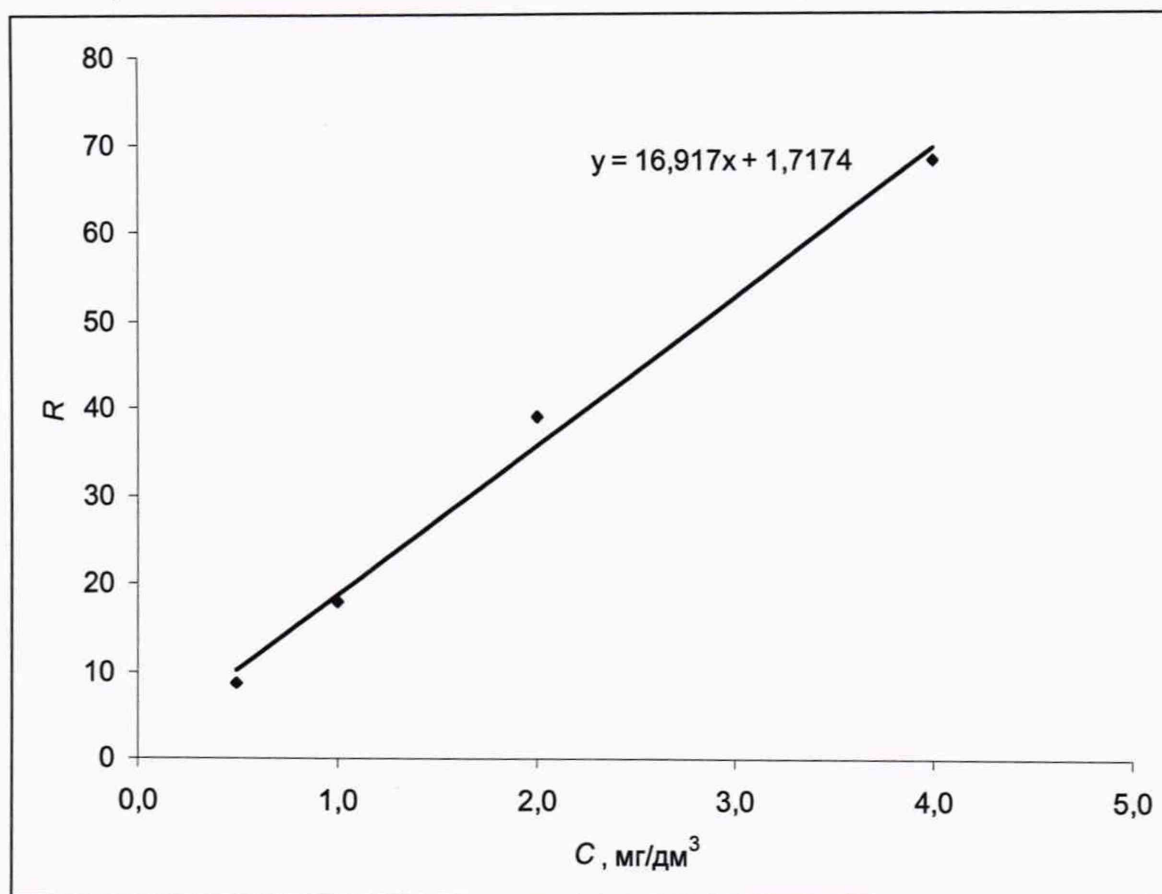


Рис. В.2 - Пример построения графика с использованием программного продукта MS Excel

В.1.4 Угловой коэффициент b используют для расчета предела обнаружения по формуле (2) из п.9.3.5. В нашем случае $C_{\min} = 3/16,917 = 0,18$ мкг/см³.

Примечание - По умолчанию в программном продукте MS Excel для обозначения переменной по оси абсцисс используется обозначение «x», а по оси ординат - «y».

В.1.5 Допускается вместо программного продукта использовать ручную обработку данных. Для этого нумеруют пары значений C , R в порядке возрастания массовой концентрации вещества в поверочном растворе и вычисляют угловой коэффициент для соседних пар значений по формулам:

$$b_1 = \frac{R_2 - R_1}{C_2 - C_1} \quad (\text{В.1})$$

$$b_2 = \frac{R_3 - R_2}{C_3 - C_2} \quad (\text{В.2})$$

$$b_3 = \frac{R_4 - R_3}{C_4 - C_3}. \quad (\text{B.3})$$

Вычисляют среднее арифметическое полученных значений, которое используют для расчета предела обнаружения по формуле (2):

$$b = \frac{b_1 + b_2 + b_3}{3}. \quad (\text{B.4})$$

В нашем примере

$$b_1 = \frac{18 - 8,75}{1,0 - 0,5} = 18,5 \quad (\text{B.5})$$

$$b_2 = \frac{39 - 18}{2,0 - 1,0} = 21,0 \quad (\text{B.6})$$

$$b_3 = \frac{68 - 39}{4,0 - 2,0} = 14,5. \quad (\text{B.7})$$

Следовательно, $b = 18,0$, откуда $C_{\text{мин}} = 3/18,0 = 0,17 \text{ мкг/см}^3$.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

(рекомендуемое)

Протокол поверки № _____ от _____

Наименование СИ: система капиллярного электрофореза Капель, исполнение _____

Регистрационный номер в ФИФ ОЕИ _____, зав.№ _____, принадлежащее _____

Обозначение методики поверки _____

Условия проведения поверки

Температура окружающей среды, °С	
Относительная влажность, %	
Атмосферное давление, кПа	

Средства поверки _____

Результаты поверки

Внешний осмотр: _____

Результаты опробования: _____

Определение предела обнаружения бензойной кислоты:

№ раствора	Высота пика H_i	Уровень флуктуации H_{sh}	Концентрация контрольного вещества (мкг/см ³)	Отношение сигнал / шум	Среднее отношение сигнал / шум

Предел обнаружения бензойной кислоты: _____ мкг/см³

Определение предела обнаружения хлорид-ионов:

№ раствора	Высота пика H_i	Уровень флуктуации H_{sh}	Концентрация контрольного вещества (мкг/см ³)	Отношение сигнал / шум	Среднее отношение сигнал / шум

Предел обнаружения хлорид-ионов: _____ мкг/см³

Определение СКО выходного сигнала (по площади пика) для бензойной кислоты

№	Площадь пика,	Среднее значение площади пика	Относительное СКО выходного сигнала

Определение СКО выходного сигнала (по площади пика) для хлорид-ионов

№	Площадь пика,	Среднее значение площади пика	Относительное СКО выходного сигнала

Заключение _____

Поверитель _____

Примечание - При проведении периодической поверки протокол заполняют только для использованного контрольного вещества.