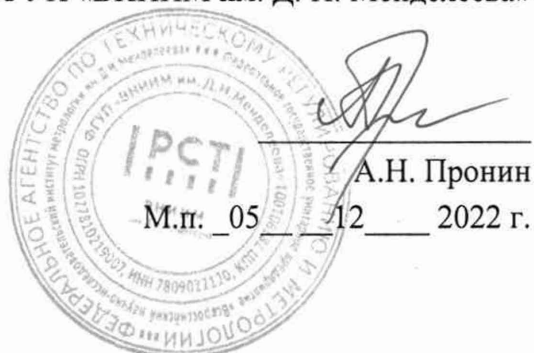


Федеральное государственное унитарное предприятие
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева»
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

СОГЛАСОВАНО
Генеральный директор
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»


А.Н. Пронин
М.п. 05 12 2022 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Хроматографы жидкостные Люмахром-М

Методика поверки

МП-242-2511-2022

Руководитель научно-исследовательского отдела
государственных эталонов в области
физико-химических измерений


А.В. Колобова

Старший научный сотрудник


М.А. Мешалкин

Санкт-Петербург
2022

1 Общие положения

Настоящая методика поверки распространяется на хроматографы жидкостные Люмахром-М, модификации Люмахром-М-350 и Люмахром-М-600 (далее по тексту - хроматографы) и устанавливает методы и средства их первичной поверки после ввода в эксплуатацию или после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Требования по обеспечению прослеживаемости поверяемого хроматографа к государственным первичным эталонам единиц величин выполняются путем реализации на хроматографе 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.

Первичная поверка до ввода в эксплуатацию проводится с теми детекторами, которые входят в состав комплектации хроматографа в соответствии с заказом.

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

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.

2 Перечень операций поверки

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

Таблица 1 – Операции поверки

Наименование операции	Проведение операции при поверке		Номер пункта методики поверки, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной	периодической	
Внешний осмотр	Да	Да	7
Подготовка к поверке и опробование	Да	Да	8
Проверка соответствия программного обеспечения	Да	Да	9
Определение метрологических характеристик: - определение предела детектирования - Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала хроматографа; - определение относительного изменения выходного сигнала за 4 часа непрерывной работы	Да	Да	10.1
	Да	Да	10.2
	Да	Нет	10.3
Подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям	Да	Да	11

3 Требования к условиям проведения поверки

При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %.

4 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

4.1 Поверка хроматографов должна проводиться юридическими лицами или индивидуальными предпринимателями, аккредитованными на право оказания услуг в области обеспечения единства измерений, в установленном действующим законодательством порядке.

4.2 К проведению поверки допускаются лица, допущенные к выполнению поверки по данному виду измерений, изучившие методику поверки и руководство по эксплуатации хроматографов, прошедшие инструктаж по технике безопасности в установленном порядке.

5 Метрологические и технические требования к средствам поверки

5.1 При проведении поверки применяют средства поверки по таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
Раздел 3 Требования к условиям проведения поверки	Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от 0 до +50 °С; Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне не более 85 %.	Прибор комбинированный Testo 608-N1 (регистрационный номер в ФИФ № 53505-13 или аналогичные)
Раздел 10 Определение метрологических характеристик	Стандартные образцы состава раствора антрацена в ацетонитриле (массовая концентрация антрацена: от 0,19 до 0,21 мг/см ³ , относительная погрешность ± 2 % при доверительной вероятности $P = 0,95$) Тест-колонка хроматографическая длиной 50 мм внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом C ₁₈ (5 мкм)	Стандартный образец состава раствора антрацена в ацетонитриле ГСО 8749-2006 (массовая концентрация от 0,19 до 0,21 мг/см ³ , границы относительной погрешности ± 2 % при доверительной вероятности $P = 0,95$) Тест-колонка хроматографическая длиной 50 мм внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом C ₁₈ (5 мкм)
Приложение А. Приготовление подвижной фазы и контрольных растворов	Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 50 и 100 см ³ по ГОСТ 1770-74 Пипетки градуированные 2-го класса точности вместимостью 1, 5 см ³ любого типа и исполнения по ГОСТ 29227-91 Цилиндры мерные 2-го класса точности вместимостью 250 см ³ любого исполнения по ГОСТ 1770-74 Вода дистиллированная ГОСТ Р 58144-2018 Ацетонитрил оптическая плотность на длине волны 200 нм не	Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 50 и 100 см ³ по ГОСТ 1770-74 Пипетки градуированные вместимостью 1 и 5 см ³ 2-го класса точности по ГОСТ 29227-91 любого типа и исполнения Цилиндр мерный вместимостью 250 см ³ 2-го класса точности по ГОСТ 1770-74 любого исполнения Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018 Ацетонитрил, сорт 0 или сорт 1 по

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
	более 0,025	ТУ 2634-002-54260861-2013 торговой марки «Криохром»

5.2 Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых хроматографов с требуемой точностью.

5.3 Все средства измерений, используемые при поверке, должны быть поверены, а стандартные образцы иметь действующие паспорта

6 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

При проведении поверки хроматографов 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 хроматографов.

7 Внешний осмотр

7.1 При внешнем осмотре устанавливают соответствие хроматографов следующим требованиям:

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

7.2 Хроматографы считают выдержавшими внешний осмотр, если они соответствуют указанным выше требованиям.

8 Подготовка к поверке и опробование

8.1 Подготовка к поверке

8.1.1 Перед проведением поверки следует изучить Руководство по эксплуатации хроматографа (далее – РЭ) и настоящую методику, а также обеспечить выполнение требований техники безопасности согласно разделу 6 и выполнение условий проведения поверки согласно разделу 3 методики поверки.

8.1.2 Подготавливают средства поверки, перечисленные в разделе 5.

8.1.3 Приготавливают подвижную фазу и контрольные растворы антрацена согласно Приложению А.

8.1.4 Подготавливают хроматограф к работе в соответствии с РЭ. Подключают хроматограф к сети, включают электропитание и прогревают хроматограф в течение 30 мин и устанавливают условия регистрации хроматограмм в соответствии с Приложением Б.

8.1.5 Подготавливают к приему данных компьютер и программное обеспечение (далее – ПО) согласно Руководству пользователя программного обеспечения.

П р и м е ч а н и е - Допускается проведение проверки соответствия программного обеспечения (см. раздел 9), не дожидаясь окончания времени прогрева хроматографа.

8.2 Опробование

Опробование хроматографа проводится в автоматическом режиме после включения питания. Результаты опробования считают положительными, если в процессе автотестирования не возникло сообщений об ошибках.

9 Проверка соответствия программного обеспечения

9.1 Запускают ПО «ПикЭксперт» стандартными средствами операционной системы, в главном меню выбирают элемент Информация/О программе и в появившемся диалоге нажимают кнопку «Проверка». При этом появится окно с информацией о метрологически значимой части ПО. Для закрытия окна нажимают кнопку «ОК».

9.2 Результат проверки считают положительным, если номер версии ПО соответствует идентификационным данным, указанным в разделе «Программное обеспечение» описания типа средства измерений» или выше.

10 Определение метрологических характеристик

10.1 Определение предела детектирования

10.1.1 Определение предела детектирования антрацена проводят с каждым детектором, входящим в состав хроматографа.

10.1.2 После выхода хроматографа на режим записывают нулевой сигнал в течение 15 мин. Условия регистрации сигнала должны соответствовать Приложению Б. Измеряют максимальную величину уровня флуктуационных шумов хроматографа на участке с минимальным количеством выбросов (этот участок должен быть равен, по меньшей мере, трем минутам). Полученное значение используется при расчете предела детектирования по формуле (1) для каждой зарегистрированной хроматограммы.

П р и м е ч а н и я

1. Допускается определение максимального уровня флуктуационных шумов хроматографа непосредственно на хроматограмме контрольного вещества, на участке с минимальным количеством выбросов. Этот участок должен быть равен, по крайней мере, трем минутам.

2. Если программное обеспечение позволяет подсчитать S_{ϕ} – среднее квадратическое отклонение флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа, то уровень флуктуационных шумов может быть оценена как $4S_{\phi}$.

10.1.3 Затем вводят в хроматограф 5 раз ($n = 5$) контрольный раствор антрацена в подвижной фазе по п.А.2 Приложения А. Условия регистрации хроматограмм выбирают в соответствии с Приложением Б.

10.1.4 Регистрируют хроматограммы для каждого ввода и при помощи программного обеспечения определяют площадь хроматографического пика. При этом проверяют автоматическую разметку пика и при необходимости корректируют ее вручную.

10.1.5 Рассчитывают предел детектирования ($C_{min,i}$, нг/см³) для каждого ввода по формуле:

$$C_{min,i} = \frac{2 \cdot \Delta_{h,i} \cdot C_2 \cdot V_{\Pi}}{S_i \cdot \left(\frac{u}{60}\right)}, \quad (1)$$

где $\Delta_{h,i}$ - уровень флуктуационных шумов детектора по п.10.1.2 для i -ой хроматограммы, единицы выходного сигнала;

C_2 - массовая концентрация контрольного раствора антрацена (по п.А.3.2 Приложения А), нг/см³;

V_{Π} - объем дозирующей петли в соответствии с документацией на хроматограф, мм³;

S_i - площадь пика антрацена по п.10.1.4, единицы выходного сигнала · с;

u - объемная скорость подачи подвижной фазы, мкл/мин.

10.1.6 За предел обнаружения антрацена C_{min} , нг/см³, принимают наибольшее из значений, полученных по п.10.1.5.

10.2 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала хроматографа

10.2.1 При определении относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала хроматографа (далее - ОСКО) используют результаты, полученные по п.10.1.4. При помощи программного обеспечения на каждой хроматограмме фиксируют значения выходного сигнала хроматографа - время удерживания хроматографического пика контрольного вещества (t_i , мин) и его площадь (S_i).

10.2.2 Вычисляют среднее арифметическое полученных значений площади пика \bar{S} и времени удерживания \bar{t} :

$$\bar{S} = \frac{\sum_{i=1}^N S_i}{n}; \quad (2)$$

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^N t_i}{n} \quad (3)$$

и ОСКО выходного сигнала по формулам:

$$S_S = \frac{100}{\bar{S}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})^2}{n - 1}}; \quad (4)$$

$$S_t = \frac{100}{\bar{t}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})^2}{n - 1}}. \quad (5)$$

где S_S - ОСКО площади пика на хроматограмме, %;

S_t - ОСКО времени удерживания пика на хроматограмме, %;

n - число измерений ($n \geq 5$).

10.3 Определение относительного изменения выходного сигнала за 4 часа непрерывной работы

Через 4 часа после определения относительного СКО выходных сигналов проводят повторные измерения по п.10.2.11.3 и 10.1.4 и рассчитывают среднее значение площади пика. Относительное изменение выходного сигнала за 4 часа непрерывной работы хроматографа (δ , %) рассчитывают по формуле:

$$\delta = 100 \cdot \frac{|\bar{X}_t - \bar{X}|}{\bar{X}}, \quad (6)$$

где \bar{X} - среднее значение параметра выходного сигнала (площади пика контрольного вещества - антрацена) при регистрации хроматограмм в начальный момент времени, %;

\bar{X}_t - среднее значение параметра выходного сигнала (площади пика контрольного вещества - антрацена) при регистрации хроматограмм через 4 ч непрерывной работы, %.

П р и м е ч а н и е - Не допускается отключение хроматографа от сети питания до завершения повторных измерений.

11 Подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям

Хроматограф соответствует метрологическим требованиям, указанным в его описании типа, если полученные значения ОСКО площади пика, ОСКО времени удерживания и предела детектирования соответствуют значениям, указанным в таблицах 3 и 4, а относительное изменение выходного сигнала (площади пика) за 4 ч непрерывной работы не превышает $\pm 4,0$ %.

Таблица 3 – Нормированные значения пределов детектирования антрацена и относительного изменения выходного сигнала за 4 часа непрерывной работы

Тип детектора	Предел детектирования антрацена, нг/см ³ , не более
Спектрофотометрический детектор СФД 310	1,0
Спектрофлуориметрический детектор СФЛД 320	0,2

Таблица 4 – Пределы допускаемых значений ОСКО выходного сигнала хроматографа

Тип детектора	По времени удерживания, %	По площади пика, %
Спектрофотометрический детектор СФД 310	1,0	2,0
Спектрофлуориметрический детектор СФЛД 320	1,0	3,0

12 Оформление результатов поверки

12.1 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 В.

12.2 Хроматограф, удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, признается годным к применению. Хроматограф, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики, не допускается к применению.

12.3 Сведения о результатах поверки СИ передают в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений в соответствии с порядком проведения поверки средств измерений, предусмотренным действующим законодательством Российской Федерации.

12.4 При положительных результатах поверки по заявлению заказчика оформляют свидетельство о поверке, подтверждающее соответствие хроматографа обязательным требованиям к средствам измерений в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации. Нанесение знака поверки на хроматограф не предусмотрено.

12.5 При отрицательных результатах поверки хроматограф к применению не допускают, по заявлению заказчика выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

Приготовление подвижной фазы и контрольных растворов

А.1 Подготовка стеклянной посуды

Посуду для приготовления и хранения элюента и контрольных растворов моют только концентрированной серной кислотой (без применения других моющих средств), тщательно ополаскивают дистиллированной водой и сушат 15-30 мин при температуре 105°C.

А.2 Приготовление подвижной фазы (элюента)

Тщательно вымытый согласно п.А.1 цилиндр вместимостью 250 см³ ополаскивают примерно 20 см³ ацетонитрила. Отмеряют с его помощью 200 см³ ацетонитрила и переносят в заранее подготовленную плотно закрывающуюся стеклянную емкость для постоянного хранения подвижной фазы. Этим же цилиндром отмеряют 50 см³ дистиллированной воды, выливают в ту же емкость и тщательно перемешивают. Недопустимо использование резиновых, корковых и полимерных пробок (за исключением фторопластовых).

Перед употреблением элюент выдерживают для дегазации не менее 4 часов либо проводят вакуумирование, поместив емкость с элюентом на ультразвуковую баню.

Срок хранения в условиях, исключающих испарение компонентов смеси – 6 месяцев.

А.3 Приготовление контрольных растворов

А.3.1 Приготовление раствора антрацена в ацетонитриле массовой концентрации 1 мкг/см³

При помощи градуированной пипетки номинальной вместимостью 1 см³ переносят 0,5 см³ стандартного образца состава раствора антрацена в ацетонитриле с номинальным значением массовой концентрации 200 мкг/см³ (действительное значение указано в паспорте) в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 100 см³, разбавляют до метки ацетонитрилом и перемешивают. Срок хранения раствора в холодильнике - 3 месяца.

Действительное значение массовой концентрации антрацена в растворе (C_1 , мкг/см³) вычисляют по формуле:

$$C_1 = C_0 \cdot \frac{V_0}{V_{к,1}}, \quad (A.1)$$

где C_0 - аттестованное значение массовой концентрации для стандартного образца состава раствора антрацена, мкг/см³;

V_0 - объем исходного раствора, использованный для приготовления данного раствора (0,5 см³);

$V_{к,1}$ - объем приготовленного раствора (100 см³).

А.3.2 Приготовление раствора антрацена в подвижной фазе массовой концентрации 50 нг/см³

В мерную колбу вместимостью 50 см³ с притертой пробкой при помощи градуированной пипетки номинальной вместимостью 5 см³ помещают 2,5 см³ раствора антрацена в ацетонитриле массовой концентрации 1 мкг/см³ по п.А.3.1, разбавляют до метки подвижной фазой, приготовленной по п.А.2, и перемешивают. Раствор используют в день приготовления.

Действительное значение массовой концентрации антрацена в растворе (C_2 , нг/см³) вычисляют по формуле:

$$C_2 = 1000 \cdot C_1 \cdot \frac{V_1}{V_{к,2}}, \quad (A.2)$$

где V_1 - объем промежуточного раствора антрацена массовой концентрации C_1 , мкг/см³, приготовленного по п. А.3.1, использованный для приготовления данного раствора (2,5 см³);

$V_{к,2}$ - объем приготовленного раствора (50 см³).

1000 - коэффициент согласования размерности единиц массы.

Относительная погрешность массовой концентрации антрацена в приготовленном растворе не превышает $\pm 3\%$.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(обязательное)

**Настройки блоков хроматографа и программного обеспечения
при регистрации хроматограмм**

Б.1 Необходимые настройки насоса и детекторов приведены в таблице Б.1.

Таблица Б.1

Параметр	Значение
Насос Н 330 (насос Н 360)	
Режим	Изократический
Начальное давление, МПа	1,0
Начальный расход, мкл/мин	1000
Расход, мкл/мин	100
Спектрофотометрический детектор СФД 310	
Длина волны, нм	252
Длительность измерения	10
Интервал усреднения, с	1
Канал	Оптическая плотность
Спектрофлуориметрический детектор СФЛД 320	
Длина волны возбуждения, нм	250
Длина волны регистрации, нм	400
Чувствительность ФЭУ	Средняя
Длительность измерения	10
Интервал усреднения, с	1
Канал	Флюориметрия
Режим коррекции	На опору

Б.2 Условия хроматографического анализа при проведении поверки приведены в таблице Б.2.

Таблица Б.2

Параметр	Значение
Колонка и подвижная фаза	
Колонка (длина/внутренний диаметр), мм	50/2,1
Состав подвижной фазы	Ацетонитрил – вода 4:1 (об.)
Расход подвижной фазы, мкл/мин	100
Объем дозирующей петли, мкл	В соответствии с формуляром
Контрольный раствор	
Вещество	Антрацен
Массовая концентрация, нг/см ³	50
Растворитель	Подвижная фаза

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(рекомендуемое)
Форма протокола поверки

Протокол поверки № _____ от _____

Наименование СИ: хроматограф жидкостной Люмахром-М

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

Обозначение методики поверки _____

Детекторы: _____

Условия проведения поверки

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

Средства поверки

Раствор антрацена в подвижной фазе, массовая концентрация 50 нг/см³, приготовленный из стандартного образца состава раствора антрацена _____

Результаты поверки

1. Внешний осмотр _____

2. Наименование и версия автономного программного обеспечения _____

3. Опробование _____

4. Определение метрологических характеристик хроматографа

4.1 Определение предела детектирования

Спектрофотометрический детектор

№	Площадь пика S_i , ед.выходного сигнала·с	Δh_i , ед.выходного сигнала	Предел детектирования, нг/см ³	Предел детектирования, максимальное значение, нг/см ³	Допускаемое значение предела детектирования, нг/см ³ , не более
1					1,0
2					
3					
4					
5					

Спектрофлуориметрический детектор

№	Площадь пика S_i , ед.выходного сигнала-с	Δh_i , ед.выходного сигнала	Предел детектирования, нг/см ³	Предел детектирования, максимальное значение, нг/см ³	Допускаемое значение предела детектирования, нг/см ³ , не более
1					0,2
2					
3					
4					
5					

4.2 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала

Спектрофотометрический детектор

№	Значение выходного сигнала		Относительное СКО выходного сигнала, %			
			Результаты расчета		Предельное допускаемое значение, не более	
	t_i , мин	S_i	По времени удерживания	По площади пика	По времени удерживания	По площади пика
1					1,0	2,0
2						
3						
4						
5						

Спектрофлуориметрический детектор

№	Значение выходного сигнала		Относительное СКО выходного сигнала, %			
			Результаты расчета		Предел	
	t_i , мин	S_i	По времени удерживания	По площади пика	По времени удерживания	По площади пика
1					1,0	3,0
2						
3						
4						
5						

Результаты поверки: _____
 (годен, забракован – указать причину непригодности)

На основании результатов поверки выдано свидетельство о поверке (извещение о непригодности) № _____

Поверитель: _____