

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ»
(ФГБУ «ВНИИМС»)**

СОГЛАСОВАНО

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



А.Е. Коломин

М.п.

« 11 »

2023 г.

**Государственная система обеспечения единства измерений
Хроматографы жидкостные ХРОМАТРОН-1411**

Методика поверки

МП 205-21-2023

**г. Москва
2023 г.**

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные ХРОМАТРОН-1411 (далее по тексту – хроматографы), изготовленные АО «Лабтех», г. Москва, и устанавливает методы и средства их первичной поверки после выпуска из производства и после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Прослеживаемость поверяемого СИ реализуется посредством применения ГСО:

- к единице молярной концентрации в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений содержания неорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах, утвержденной Приказом Росстандарта от 19.02.2021 г. № 148, подтверждающей прослеживаемость к государственному первичному эталону ГЭТ 176-2019;

- к единице массы (кг) в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений массы, утвержденной Приказом Росстандарта от 04.07.2022 г. № 1622, подтверждающей прослеживаемость к государственному первичному эталону ГЭТ 3-2020;

- к единице объема (m^3) в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений массы и объема жидкости в потоке, объема жидкости и вместимости при статических измерениях массового и объемного расходов жидкости, утвержденной Приказом Росстандарта от 26.09.2022 г. № 2356, подтверждающей прослеживаемость к государственному первичному эталону ГЭТ 216-2018.

Методы, обеспечивающие реализацию методики проверки – косвенные.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

При проведении поверки выполняют операции, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 - Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта-методики поверки	Проведение операции при	
		первичной поверке	периодической поверке
Внешний осмотр	7	Да	Да
1 Проверка программного обеспечения	9	Да	Да ¹⁾
2 Опробование:	10	Да	Да
- определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала хроматографов с детекторами: на диодной матрице, спектрофотометрическим, рефрактометрическим, светорассеяния	10.1	Да	Да ¹⁾
- определение отношения сигнал/шум хроматографов с спектрофлуориметрическим детектором			
- определение предела детектирования хроматографов с детекторами: на диодной матрице, спектрофотометрическим, рефрактометрическим, светорассеяния	10.2	Да	Да ¹⁾
Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям:	11	Да	Да ¹⁾
- определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала	11.1	Да	Да ¹⁾

Наименование операции	Номер пункта-методики поверки	Проведение операции при	
		первичной поверке	периодической поверке
- определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа	11.2	Да	Да ¹⁾
- определение показателей точности результатов измерений	11.3	Да	Да ²⁾
4 Оформление результатов поверки	13	Да	Да
Примечания: ¹⁾ При отсутствии НД на методику измерений, утвержденного в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563-09. ²⁾ При наличии НД на методику измерений, утвержденного в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563-09.			

2.2 Если при проведении той или иной операции поверки получен отрицательный результат, дальнейшее выполнение поверки прекращают.

2.3 Поверка по отдельному измерительному каналу (детектору) в соответствии с порядком, утвержденным Приказом Министерства промышленности и торговли РФ № 2510 от 31.07.2020 г. «Об утверждении порядка проведения поверки средств измерений, требований к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке», проводится на основании письменного заявления владельца средства измерений или лица, предоставившего его на поверку.

Информация об объеме проведенной поверки передается в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений (ФИФОЕИ).

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- | | |
|---------------------------------------|------------------|
| - температура окружающего воздуха, °С | от 15 до 25 |
| - атмосферное давление, кПа | от 84,0 до 106,7 |
| - относительная влажность воздуха, % | от 20 до 80 |

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

К проведению поверки допускаются поверители средств измерений в соответствии с областью аккредитации организации, аккредитованной в национальной системе аккредитации на проведение поверки средств измерений согласно законодательству Российской Федерации об аккредитации, прошедшие инструктаж по технике безопасности и ознакомленные с эксплуатационными документами.

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

5.1 При проведении поверки применяют средства, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 - Средства поверки

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
3.1	Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от 15 °С до 25 °С с абсолютной погрешностью не более ± 1 °С Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне от 20 % до 80 % с абсолютной погрешностью не более ± 3 % Средства измерений атмосферного давления в диапазоне измерений от 84,0 до 106,7 кПа с абсолютной погрешностью не более ± 3 кПа	Прибор комбинированный TESTO мод. 608-N1, рег. № 53505-13 Барометр-анероид БАММ-1, рег. № 5738-76
10.1	Средства измерений времени в диапазоне измерений от 0 до 60 мин с абсолютной погрешностью не более ± 5 с	Секундомер механический СОСпр-36-2-000, рег. № 83109-21
10.2, 11.1, 11.2	Контрольные растворы с массовой концентрацией антрацена в ацетонитриле $5 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ , 200 мкг/мл, 0,25 мкг/мл Контрольный раствор с массовой концентрацией глюкозы в воде $9 \cdot 10^{-4}$ г/см ³ (5 ммоль/дм ³)	ГСО 8749-2006 с массовой концентрацией антрацена в диапазоне от 0,19 мг/см ³ до 0,21 мг/см ³ ГСО 11683-2021 с молярной концентрацией глюкозы 5 ммоль/дм ³ Контрольные растворы, приготовленные из ГСО 11683-2021 и ГСО8749-2006 по методике, приведенной в приложении А

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

5.3 Все средства измерений для поверки должны быть утвержденного типа, поверены и соответствовать требованиям методики поверки. Стандартные образцы, используемые при поверке, должны быть утвержденного типа, соответствовать требованиям методики поверки и иметь действующие паспорта.

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

6.1 При проведении поверки выполняют требования ГОСТ 12.0.004-2015 «ССБТ. Организация обучения безопасности труда. Общие положения», ГОСТ 12.1.007-76 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности», а также требования, изложенные в Руководстве по эксплуатации хроматографов жидкостных ХРОМАТРОН-1411.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР

При внешнем осмотре устанавливают

- соответствие комплектности поверяемого хроматографа требованиям эксплуатационной документации;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей;
- отсутствие видимых механических повреждений, влияющих на работоспособность хроматографа.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ

8.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

8.1.1 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы, назначение и содержание анализируемых компонентов в которых приведены в таблице 3.

8.1.2 Методика приготовления контрольных растворов приведена в приложении А.

8.1.3 Перед проведением поверки хроматограф готовят к работе в соответствии с руководством по эксплуатации.

Хроматограф выдерживают не менее 30 минут после включения прибора для установления динамического равновесия в системе (выхода на режим).

Перед включением детекторов хроматографическую систему промывают подвижной фазой не менее 10 минут.

8.1.4 Для определения предела детектирования, относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала, относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы используют аналитическую колонку размером 250x4,6 мм или 150x4,6 мм, заполненную сферическим силикагелем с эффективным диаметром частиц 5 мкм, эффективным диаметром пор от 80 до 120 Å и химически модифицированной поверхностью октадецильными группами (С18).

Таблица 3 - Контрольные растворы для определения предела детектирования и метрологических характеристик

Тип детектора	Состав раствора	Содержание контрольного компонента в растворе	Объем вводимой пробы
Спектрофотометрический детектор LC-1411UV Детектор на диодной матрице LC-1411DAD	Антрацен в элюенте Ацетонитрил/Н ₂ О 80:20	$5 \cdot 10^{-6}$ г/см ³	0,02 см ³
Детектор светорассеяния L-3535 ELSD	Глюкоза в дистиллированной воде	5 ммоль/л	0,02 см ³
Детектор рефрактометрический RI-201H	Антрацен в элюенте Ацетонитрил/вода 80:20	200 мкг/мл	0,02 см ³
Детектор спектрофлуориметрический RF-20A	Антрацен в элюенте Ацетонитрил/вода 80:20	0,25 мкг/мл	0,02 см ³

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

Запускают ПО хроматографа, на экране в верхнем правом углу нажимают символ «i».

На экране высвечивается наименование ПО и номер версии. Идентификационные данные ПО должны соответствовать значениям, приведенным в таблице 4

Таблица 4 - Идентификационные данные программного обеспечения

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Идентификационное наименование ПО	WORKSTATION
Номер версии (идентификационный номер) ПО, не ниже	v11.03.47.05
Цифровой идентификатор ПО	-

10 ОПРОБОВАНИЕ

При опробовании определяют уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала, предел детектирования для всех детекторов кроме спектрофлуориметрического, для спектрофлуориметрического детектора определяют отношение сигнал шум по Рамановскому спектру воды.

10.1 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала

Определение дрейфа и уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала детектора хроматографа можно проводить с установленной аналитической колонкой, указанной в 8.1.4, или без аналитической колонки с использованием капилляра с внутренним диаметром 0,127 мм (0,005 дюймов) длиной около 1 м между насосом и инжектором.

Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала определяют при условиях, указанных в таблице 5, после выхода детектора на режим в соответствии с руководством по эксплуатации.

Таблица 5

Тип детектора	Контрольный раствор	Объем пробы, см ³	Элюент	Скорость потока, см ³ /мин	Параметры
Детектор спектрофотометрический LC-1411UV Детектор на диодной матрице LC-1411DAD Детектор рефрактометрический RI-201H-	Антрацен в ацетонитриле	0,02	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 80:20	1	Одноволновой режим с длиной волны детектирования 254 нм
Детектор светорассеяния L-3535 ELSD	Глюкоза в дистиллированной воде	0,02	Деионизованная вода	1	Коэффициент усиления выходного сигнала 7. Постоянная времени 1 с. Давление газа (азота или воздуха) на входе в детектор 3,5 бар. Температура испарительной трубки 50 °С.

После выхода хроматографа на режим фиксируют в течение одного часа нулевой сигнал детектора на шкале с максимальной чувствительностью в координатах сигнал (оптическая плотность или напряжение) – время.

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (Δx) определяется как максимальная высота пика (h) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 секунд.

Автоматическое измерение уровня флуктуационных шумов проводят по алгоритму «Пик к Пику» и определяют за любой одноминутный отрезок времени, начиная с 10-ой минуты измерений.

Значение дрейфа нулевого сигнала принимают равным смещению нулевого сигнала в течение одного часа при регистрации хроматограммы без ввода пробы. Допускается регистрировать нулевой сигнал в течение 30 мин с последующей экстраполяцией.

Автоматическое измерение дрейфа проводят по алгоритму «Пик к Пику» с определением за любой 30-и минутный отрезок времени, начиная с 10-ой минуты измерений, и автоматическим пересчетом программой на период, равный одному часу.

Результаты операции поверки считают положительными, если значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала и дрейфа нулевого сигнала не превышают значений, приведенных в таблице 6.

10.2 Определение предела детектирования

Определение предела детектирования выполняют на хроматографе с установленной аналитической колонкой, указанной в 8.1.4, с применением контрольных растворов, приведенных в таблице 5.

В хроматограф вводят пробу контрольного раствора, измеряют высоту и ширину пика на половине его высоты ($\mu_{0,5}$). Предел детектирования C_{\min} рассчитывают по формуле

$$C_{\min} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{h \cdot \mu_{0,5} \cdot V}, \quad (1)$$

где G – масса вещества, г, определяемая по формуле

$$G = C \cdot v, \quad (2)$$

где C – массовая концентрация контрольного вещества, г/см³,

v – объем пробы, см³;

V – скорость потока элюента, см³/мин;

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

h – высота пика контрольного вещества, В или е.о.п.;

Δx – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, В или е.о.п.

Результаты считают положительными, если значения предела детектирования не превышают значений, приведенных в таблице 6.

Таблица 6

Наименование характеристики	Детектор				
	спектрофотометрический LC-1411UV	на диодной матрице LC-1411DAD	спектрофлуориметрический RF-20A	рефрактометрический RI-201H	светорассеяния 3535 ELSD
Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, не более	$5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	-	$2,5 \cdot 10^{-9}$ ед. рефр.	$1 \cdot 10^{-3}$ В
Дрейф нулевого сигнала, не более	$5 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч	$5 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч	-	$9 \cdot 10^{-7}$ ед. рефр./ч	$5 \cdot 10^{-3}$ В/ч
Предел детектирования, не более	$5 \cdot 10^{-10}$ г/см ³ по антрацену	$5 \cdot 10^{-10}$ г/см ³ по антрацену	-	$1 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ по антрацену	$1 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ по глюкозе
Отношение сигнал/шум для Рамановского спектра дистиллированной воды, не менее	-	-	1000:1	-	-
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, % при автоматическом дозировании					
- времени удерживания	1	1	1	1	1
- площади пика	3	3	4	4	5
при ручном дозировании					
- времени удерживания	2	2	1	2	2
- площади пиков	4	4	5	5	6
Пределы допускаемого относительного изменения выходного сигнала (площади пика) за 8 часов непрерывной работы хроматографа (при автоматическом/ручном дозировании), %	±5	±5	±6	±6	±7

10.3 Определение отношения сигнал/шум для хроматографов с спектрофлуориметрическим детектором по Рамановскому спектру воды

Отношение сигнал/шум определяют при условиях, указанных в таблице 5 и НД на хроматографы.

Прогревают лампу в течение 1 часа. Заполняют ячейку дегазированной дистиллированной водой. Регистрируют Рамановский спектр воды. Рассчитывают с помощью ПО отношение сигнал/шум.

Результаты операции поверки считают положительными, если значения отношения сигнал/шум не превышают значений, приведенных в таблице 6.

11 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

11.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала.

Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала проводят на хроматографе с соответствующим детектором и аналитической колонкой, указанной в 8.1.4.

Метрологические характеристики определяют с использованием контрольных растворов, приведенных в таблице 3, при условиях хроматографирования, указанных в таблице 5.

Контрольную смесь вводят в хроматограф не менее 6 раз, измеряют значения выходных сигналов (площади пиков и времени удерживания).

Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле

$$\sigma = \frac{100}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad (3)$$

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

X – значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания);

n – количество измерений.

Результаты операции поверки считают положительными, если значения относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала не превышают значений, приведенных в таблице 6.

11.2 Определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы

Проводят операции по 11.1. Через 8 часов непрерывной работы хроматографа повторяют измерения по 11.1.

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

$$\delta = \frac{|\bar{X}_t - \bar{X}|}{\bar{X}} \cdot 100, \quad (4)$$

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

\bar{X}_t – среднее арифметическое значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания), полученное через 8 часов непрерывной работы.

Результаты операции поверки считают положительными, если значения изменения выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) за 8 часов непрерывной работы хроматографа не превышают значений, приведенных в таблице 6.

11.3 Определение показателей точности результатов измерений

При проведении периодической поверки хроматографов, эксплуатируемых по НД на методики, отвечающим требованиям ГОСТ Р 8.563-2009, проверяют показатели точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в методике измерений.

12 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

12.1 Результаты поверки хроматографа заносят в протокол произвольной формы.

12.2 Результаты поверки передаются в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. При положительных результатах поверки оформляют свидетельство о поверке в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений по письменному заявлению владельца или лица, представившего средство измерений на поверку.

12.3 На хроматограф, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений оформляется извещение о непригодности с указанием причин.

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

Начальник отдела ФГБУ «ВНИИМС»



С.В. Вихрова

Начальник сектора ФГБУ «ВНИИМС», к.х.н.



О.Л. Рутенберг

Инженер 1 категории ФГБУ «ВНИИМС»



Д.Р. Гуммель

**ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)****МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ****А.1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ**

А.1.1 ГСО 8749-2006 состава раствора антрацена в ацетонитриле (СО-Антр) с массовой концентрацией антрацена от 0,19 до 0,21 мг/см³, границы допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения СО ±2 % (при Р=0,95).

А.1.2 ГСО 11683-2021 СО молярной концентрации глюкозы в растворе (комплект РГ), с значениями молярной концентрации глюкозы 1,00; 5,00; 10,00; 20,00 ммоль/дм³, границы допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения при Р=0,95 ±3 %.

А.1.3 Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2 по ГОСТ 1770-74.

А.1.4 Пипетки градуированные 1-1-2-1, по ГОСТ 29227-91.

А.1.5 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, ТУ 6-09-14-2167-84; или с аналогичными характеристиками чистоты и оптического поглощения.

А.1.6 Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018.

А.1.7 Вода для лабораторного анализа, деионизованная с удельным сопротивлением не менее 18 мОм/см, ТОС менее 50 мкг/дм³ по ГОСТ Р 52501-2005.

А.2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

А.2.1 Приготовление контрольных растворов антрацена

А.2.1.1 Приготовление контрольного раствора № 1 с массовой концентрацией антрацена $5 \cdot 10^{-3}$ мг/см³ ($5 \cdot 10^{-6}$ г/см³).

0,5 см³ ГСО состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией 0,2 мг/см³ градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем до метки раствором подвижной фазы (ацетонитрил : вода с объемным отношением 80 : 20).

Контрольный раствор № 1 используют для определения метрологических характеристик хроматографов с детектором спектрофотометрическим, детектором на диодной матрице.

А.2.1.2 Приготовление контрольного раствора № 2 с массовой концентрацией антрацена $0,25 \cdot 10^{-3}$ мг/см³ ($0,25 \cdot 10^{-6}$ г/см³).

5 см³ контрольного раствора № 1 с массовой концентрацией антрацена $5 \cdot 10^{-3}$ мг/см³ пипеткой вместимостью 5 см³ помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем до метки раствором подвижной фазы (ацетонитрил : вода с объемным отношением 80 : 20).

Контрольный раствор № 2 используют для определения метрологических характеристик хроматографов с детектором спектрофлуориметрическим.

А 2.2 Приготовление контрольных растворов глюкозы

В качестве контрольного раствора используют СО молярной концентрации глюкозы в растворе с содержанием глюкозы 5,00 ммоль/дм³ (ГСО 11683-2021). Допускается использовать растворы с другой молярной концентрацией глюкозы, входящие в комплект ГСО 11683-2021, после соответствующего разбавления.