

Заместитель директора
по производственной метрологии
ФГУП «ВНИИМС»



Н.В. Иванникова

2019 г.

Хроматографы жидкостные высокоэффективные "KNAUER"

Методика поверки

МП 205-13-2019

Москва

2019 г.

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные высокоэффективные "KNAUER" производства фирмы "KNAUER Wissenschaftliche Geräte GmbH", Германия, и устанавливает методику их первичной и периодической поверок.

Интервал между поверками - 1 год.

1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 1. Номенклатура показателей, подлежащих определению, зависит от вида детектора. Значения нормированных метрологических характеристик для хроматографов с различными детекторами приведены в Приложении А. Возможно проведение поверки хроматографа с ограниченным количеством детекторов на основании письменного заявления владельца хроматографа.

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методики поверки	Обязательное проведение операции	
		при эксплуатации	после ремонта
Внешний осмотр	5.1	да	да
Опробование:	5.2	да	да
- определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала	5.2.1 - 5.2.3	да	да
- определение отношения сигнал/шум спектрофлуориметрического детектора для Рамановского спектра дистиллированной воды	5.2.4	да	да
- определение предела детектирования	5.2.5	да	да
Определение метрологических характеристик:	5.3	да	да
- определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала	5.3.1 - 5.3.3	да	да
- определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы	5.3.4 - 5.3.5	да	да

2 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

При проведении поверки соблюдают:

- правила техники безопасности при эксплуатации электроустановок, ГОСТ Р 12.1.019-2009,
- правила пожарной безопасности, ГОСТ 12.1.004-91,
- правила работы с химическими реактивами, ГОСТ 12.1.007-76,
- требования безопасности, приведенные в Руководстве по эксплуатации поверяемого анализатора.

3 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки применяют следующие средства измерений и реактивы:

- ГСО 8749-2006 состава раствора антрацена в ацетонитриле;
- ацетонитрил для жидкостной хроматографии, ТУ 6-09-14-2167-84;
- вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72.

3.2 Допускается применение аналогичных средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых СИ с требуемой точностью.

При прекращении действия нормативных документов, использованных в тексте методики, новые нормативные документа, взамен отмененных автоматически вводятся в действие в данной методике.

ГСО должен иметь действующий паспорт.

4 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ

4.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- | | |
|---|----------------|
| – температура окружающего воздуха, °С | от 10 до 35 |
| – атмосферное давление, кПа | от 84 до 106,7 |
| – относительная влажность воздуха, % | от 20 до 80 |
| – напряжение в сети переменного тока, В | 220±22 |
| – частота переменного тока в сети, Гц | 50±1 |

4.2 Проводят подготовительные работы в соответствии с инструкцией по эксплуатации хроматографа.

4.3 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы (КР) в соответствии с Приложением Б.

5 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

5.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

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

5.2 Опробование

При опробовании проводят определение уровня флуктуационных шумов, дрейфа нулевого сигнала, предела детектирования и отношения сигнал/шум спектрофлуориметрического детектора с соблюдением условий, указанных в таблице 2.

Для проверки шума, дрейфа и отношения сигнал/шум спектрофлуориметрического детектора для Рамановского спектра дистиллированной воды отключают колонку, заменяют водой подвижную фазу в системе ВЭЖХ, если подвижная фаза (ПФ) не смешивается с водой, то сначала заменяют ПФ промежуточным растворителем, который смешивается с ПФ и водой. Затем заменяют этот растворитель водой, промывают автосамплер (инжектор) и насос. Соединяют регулятор давления, инжектор и детектор при помощи капилляров и фитингов, входящих в комплект поставки

Таблица 2

Детектор	Элюент	Длина волны, нм	Скорость потока, см ³ /мин	Постоянная времени, с	Температура термостата колонок, °С
Спектрофотометрические детекторы: - Azura UVD 2.1S; - Azura UVD 2.1L	вода	254	1	1	без термостата
На диодной матрице - Azura DAD 6.1 L	вода	254	1	1	без термостата
Спектрофлуориметрические: - RF-20A - RF-20Axs	вода	350 (возбуждения) 450 (испускания)	1	1,5	без термостата

5.2.1 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала.

После выхода хроматографа на режим фиксируют в течение 1 часа нулевой сигнал каждого детектора на шкале с максимальной чувствительностью в координатах сигнал (оптическая плотность, напряжение) – время.

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (Δx) принимают равным максимальному значению амплитуды (h) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с.

Значение дрейфа нулевого сигнала принимают равным смещению нулевого сигнала в течение 1 часа.

Значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала и дрейфа нулевого сигнала не должны превышать значений, приведенных в таблице А.1.

5.2.2 Определение отношения сигнал/шум спектрофлуориметрических детекторов для Рамановского спектра дистиллированной воды

Извлечь ячейку из прибора, чтобы убедиться в отсутствии в ней пузырьков воздуха. Установить ячейку в прибор, закрыть переднюю крышку и панель клавиш на приборе.

Заполнить ячейку дистиллированной водой при помощи насоса. Включить прибор и запустить программу LCsolution. Выполнить операции в соответствии с Руководством по эксплуатации, раздел 7.5.6 "Проверка характеристик по Рамановскому спектру воды" (проверка с использованием программы "LCsolution").

Полученные значения отношения сигнал /шум должны быть не менее значений, приведенных в таблице А.1.

5.2.3 Определение предела детектирования

Определение предела детектирования выполняют с использованием контрольных растворов и условий, указанных в таблице 3.

Таблица 3

Детектор	Массовая концентрация антрацена в КР, мг/дм ³	Объем пробы, мкл	Элюент	Скорость потока, см ³ /мин
Azura UVD 2.1S Azura UVD 2.1L Azura DAD 6.1 L	10	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1
RF-20A RF-20Axs	1	10		

В хроматограф вводят пробу КР, измеряют высоту и ширину пика на половине его высоты ($\mu_{0,5}$). Предел детектирования 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; $G = C \cdot v$ (C – массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм³, v – объем пробы, дм³);

V – скорость потока элюента, см³/мин;

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

Δx – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, определенный по 5.2.1;

Δx и h – измеряют в мм, условных единицах либо е.о.п.

Результат поверки считают положительным, если полученные значения не превышают значений, приведенных в таблице А.1.

5.3 Определение метрологических характеристик

5.3.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходных сигналов.

Измерения проводят после выхода хроматографа на режим. Контрольный раствор в соответствии с табл. 2 вводят в хроматограф не менее 10 раз, измеряют значения параметров выходных сигналов (времен удерживания и площадей пиков), вычисляют их среднее арифметическое значение (\bar{X}).

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

где X_i – i -тое значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания).

Значения относительного СКО выходного сигнала не должны превышать значений, приведенных в таблице А.1.

5.3.2 Определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы.

Проводят операции по 5.3.1. Через 8 часов непрерывной работы хроматографа повторяют измерения по 5.3.1. Относительное изменение выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа рассчитывают по формуле

$$\partial_i = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}}{\bar{X}} \cdot 100.$$

Значения относительного изменения выходного сигнала не должны превышать нормированных значений, приведенных в таблице А.1.

6 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

6.1 Результаты поверки хроматографов заносят в протокол произвольной формы.

6.2 Положительные результаты поверки хроматографов оформляют выдачей свидетельства в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержания свидетельства о поверке (утв. приказом Минпромторга России № 1815 от 02.07.2015 г.).

6.3 На анализаторы, не удовлетворяющие требованиям настоящих рекомендаций, выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержания свидетельства о поверке (утв. приказом Минпромторга России № 1815 от 02.07.2015 г.).

6.4 После ремонта хроматографы подвергают поверке.

Начальник отдела 205 ФГУП «ВНИИМС»  С.В. Вихрова

Ст. науч. сотрудник ФГУП "ВНИИМС"  И.А. Питерских

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Метрологические характеристики

Наименование характеристики	Значение характеристики для детектора				
	Azura UVD 2.1S	Azura UVD 2.1L	Azura DAD 6.1 L	RF-20A	RF-20Axs
Диапазон длин волн, нм	от 190 до 500	от 190 до 750	от 190 до 500 (дейтериевая лампа) от 500 до 1000 (галогенная лампа)	от 200 до 650	от 200 до 750
Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала ($\lambda=254$ нм, постоянная времени 1 с, ацетонитрил-вода, объемное соотношение 84:16), е.о.п., не более	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$		
Дрейф нулевого сигнала ($\lambda=254$ нм, постоянная времени 1 с, ацетонитрил-вода, объемное соотношение 84:16), е.о.п./ч, не более	$3 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$		
Предел детектирования, г/см^3 антрацена, не более	$1 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-9}$	$1 \cdot 10^{-9}$		
Предел допускаемых значений относительного СКО выходного сигнала, %: – по площади пика – по времени удерживания	2 0,5	2 0,5	2 0,5	2 0,5	2 0,5
Пределы допускаемого значения относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы по площади пиков, %	± 2	± 2	± 2	± 2	± 2
Отношение сигнал/шум для Рамановского спектра дистиллированной воды, не менее ($\lambda_{\text{возб.}} = 350$ нм):				1200	1200

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления контрольных растворов антрацена в ацетонитриле. При соблюдении всех регламентированных в методике условий относительная погрешность значений массовой концентрации антрацена в растворах не превышает $\pm 3\%$.

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

1.1 ГСО 8749-2006 состава раствора антрацена в ацетонитриле, массовая концентрация антрацена $0,200 \text{ мг/см}^3$.

1.2 Колбы мерные наливные 2-100-2, 2-200-2, 2-500-2, ГОСТ 1770-74.

1.3 Пипетки градуированные 1-1-2-1, 1-5-2-1, ГОСТ 29227-91(I).

1.4 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, ТУ 6-09-14-2167-84.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление контрольных растворов антрацена

2.1.1 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией антрацена $10,0 \text{ мг/дм}^3$.

5 см^3 ГСО состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией 200 мг/дм^3 пипеткой вместимостью 5 см^3 помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик спектрофотометрических детекторов

2.1.1 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией антрацена $1,0 \text{ мг/дм}^3$.

1 см^3 ГСО состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией $0,2 \text{ мг/см}^3$ пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 200 см^3 и доводят объем до метки ацетонитрилом.