

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

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора

по производственной метрологии

ФГБУ «ВНИИМС»

А.Е. Коломин

2022 г.



Государственная система обеспечения единства измерений

Анализаторы аминокислотные Agasus

Методика поверки

МП 205-11-2022

г. Москва

2022 г.

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика поверки распространяется Анализаторы аминокислотные Aracus (далее – анализаторы), изготавливаемые фирмой «PMA Purification Membranes Analytics GmbH», Германия, и устанавливает методы и средства первичной и периодической поверок анализаторов при выпуске и в процессе эксплуатации.

Методика обеспечивает прослеживаемость СИ к ГПЭ единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии ГЭТ 176-2019 в соответствии с Государственной поверочной схемой для средств измерений содержания неорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах, утвержденной Приказами Росстандарта № 148 от 19.02.2021 г. и № 761 от 17.05.2021 г. и воспроизводимой с помощью Государственных стандартных образцов (ГСО) или рабочих эталонов, соответствующих указанной ГПС, методом статистической обработки выходных сигналов, получаемых из графиков хроматограмм контрольного раствора стандартного образца состава глицина (Приложение 1) - время удерживания и площадь пика (СКО), а также методом расчета предела детектирования.

Также настоящая методика измерений предусматривает возможность обеспечения прослеживаемости СИ, эксплуатируемых с применением аттестованных в соответствии с ГОСТ 8.563-2009 методик измерений, к другим ГПЭ (или первичным референтным методикам) массовой (молярной) концентрации или массовой (молярной) доли компонентов по соответствующим поверочным схемам методом косвенных измерений.

В результате поверки (при отсутствии НД на методики измерений) должны быть подтверждены следующие метрологические требования, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики

Наименование характеристики	Значение
Предел детектирования по глицину, г/см ³	$7,0 \cdot 10^{-8}$
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения результата измерений площади пика, %	3
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения времени удерживания, %	1

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта методики	Обязательность проведения операции	
		Первичная поверка при выпуске из производства и после ремонта	Периодическая поверка при эксплуатации
Внешний осмотр	7	Да	Да
Подготовка к поверке и опробование средства измерений	8	Да	Да
Подтверждение соответствия программного обеспечения (ПО)	8.2.1	Да	Нет
Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям:	9	Да	Да
- определение предела детектирования	9.2.1	Да	Да ¹⁾

Наименование операции	Номер пункта методики	Обязательность проведения операции	
		Первичная поверка при выпуске из производства и после ремонта	Периодическая поверка при эксплуатации
- определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала	9.2.2	Да	Да ¹⁾
- определение показателей точности результатов измерений, установленных в НД на методику измерений	9.2.3	Нет	Да ²⁾
Подтверждение соответствия СИ метрологическим требованиям	9.3	Да	Да
Оформление результатов поверки	10	Да	Да
¹⁾ При отсутствии НД на методику измерений, аттестованную в установленном порядке. ²⁾ При наличии НД на методику измерений.			

2.2 Если при проведении какой-либо операции поверки получают отрицательный результат, дальнейшую поверку прекращают.

2.3 Выполнение ограниченной поверки в соответствии с пунктом 18 Приказа Министерства промышленности и торговли РФ от 31.07.2020 г. № 2510 «Об утверждении порядка проведения поверки средств измерений, требований к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке», не предусмотрено.

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С 20 ± 5
- относительная влажность, % от 30 до 80
- атмосферное давление, кПа от 84 до 106,7

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

4.1 К проведению операций поверки допускаются сотрудники юридического лица или индивидуальные предприниматели, аккредитованные в соответствии с Федеральным Законом РФ от 28.12.2013 г. № 412-ФЗ на проведение поверки средств измерений

4.2 Специалист, осуществляющий поверку, должен изучить настоящую методику поверки, ознакомиться с эксплуатационной документацией (далее – ЭД) на поверяемое средство измерений.

4.3 Допускается выполнение при поверке технических операций персоналом, обслуживающим средство измерений или сервис-инженером под контролем специалиста, осуществляющего поверку.

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

5.1 При проведении поверки применяют следующие средства, указанные в таблице 3.

Таблица 3 – Средства поверки

Номер пункта методики поверки	Наименование средств поверки, номер документа, регламентирующего требования к средствам поверки, метрологические и технические характеристики ^{*)}
3	Прибор комбинированный Testo 622 (рег. № 53505-13) Барометр-анероид БАММ-1 (рег. № 5738-76)
9	Контрольный раствор глицина в соответствии с Приложением 1: - ГСО 10272-2013 состава глицина; - весы электронные неавтоматического действия Pioneer 1 класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011. НПВ не более 220 г, (рег № 55924-13); - колбы мерные наливные 2-100-2 по ГОСТ 1770-74; - дозатор механический одноканальный ВЮНІТ с варьируемым объемом дозирования до 1000 мкл (1,00 см ³) (рег № 36152-12) или пипетка с одной отметкой 1-2-1 по ГОСТ 29169-91; - стаканчик для взвешивания СН-34/12 или СН-45/13 ГОСТ 25336-82; - воронка стеклянная В-36-80 ГОСТ 25336-82 , - дистиллированная вода по ГОСТ Р 58144-2018 или буферный раствор (Sample Dilution Buffer, кат. № 650-0018, рН 2,3±0,3, проводимость 15±1 мСм/см), идущий в комплекте с анализатором. - элюенты и растворы производителя, идущие в комплекте поставки, в соответствии с РЭ
^{*)} Метрологические характеристики применяемых СИ и ГСО приведены в их описаниях типа.	

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

5.3 Все средства измерений, применяемые при поверке, должны иметь действующие свидетельства о поверке, стандартные образцы - действующие паспорта.

5.4 При определении показателей точности результатов измерений, установленных в НД на методику измерений, применяют указанные в НД средства (эталон, стандартные образцы, средства измерений, вспомогательные средства, реактивы и материалы).

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

6.1 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 безопасности, при работе с поверяемым СИ и средствами поверки в соответствии с соответствующими разделами РЭ или инструкциями по применению.
- другие правила безопасности при поверке по месту эксплуатации СИ, действующие на территории промышленного объекта или в лаборатории.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

7.1 При проведении внешнего осмотра проверяют:

- отсутствие механических повреждений и дефектов, влияющих на работоспособность СИ;
- исправность органов управления;
- четкость всех надписей;

- наличие эксплуатационной документации;
- соответствие фактической маркировки СИ маркировке, указанной в технической документации.

7.2 Анализатор считают выдержавшим проверку, если он соответствует всем требованиям, перечисленным в п.7.1.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

8.1 Перед проведением поверки выполняют следующие работы:

- проверяют срок годности ГСО по паспорту, и сроки действия поверки средств измерений;
- подготавливают к работе средства поверки в соответствии с их РЭ и инструкциями по применению;
- приготавливают контрольный раствор по методике в Приложении 1.
- подготавливают анализатор к работе и включают в соответствии с Руководством по эксплуатации раздел 12.2 «Порядок выполнения программ в iControl», с помощью ПО задают последовательности измерений по методу (таблица 4) - не менее 1 измерения без ввода пробы и не менее 6 измерений - при определении метрологических характеристик (при поверке по п. 9.2.3 метод задают в соответствии с НД на методику измерений).

Таблица 4 - Хроматографический метод

Метод	GLY_High-Resolution_c
Предколонка	Поглотитель аммония, 30 мм × 4,0 мм ID
Разделительная колонка	Li-HR, 125 мм × 4 мм ID, 7 мкм
Элюенты	Lithium system, элюенты В, Е и F ^{*)} в градиентном режиме, программирование в соответствии с методом.
Температура колонки, °С	+38 (изотермический режим)
Скорость потока элюента, мкл/мин	300
Объем пробы контрольного раствора ^{**)} , мкл	20
Реагент (постколоночная дериватизация)	Нингидрин ^{*)}
Скорость потока реагента, мкл/мин	150
Температура реактора, °С	+130
Детектирование	Фотометрическое, 570 нм и 440 нм
Время хроматографического разделения, мин	29,5
Общее время анализа, включая промывку и выход на режим, мин	58
^{*)} Элюенты и растворы, входящие в комплект поставки анализатора	
^{**)} При определении предела детектирования и СКО выходных сигналов.	

- при поверке по аттестованной методике измерений подготовку проводят в соответствии с НД на методику измерений.

8.2 Опробование.

8.2.1 Подтверждение соответствия программного обеспечения (ПО)

Подтверждение соответствия ПО проводят путем проверки версии ПО:

ПО iControl: Home - Report- Report.html Page - в колонке «Version» указаны версии применяемого ПО;

ПО AminoPeak или Clarity: исходная страница (Chromatography Workstation) - Help - About - появляется информационное окно (рисунок 1)

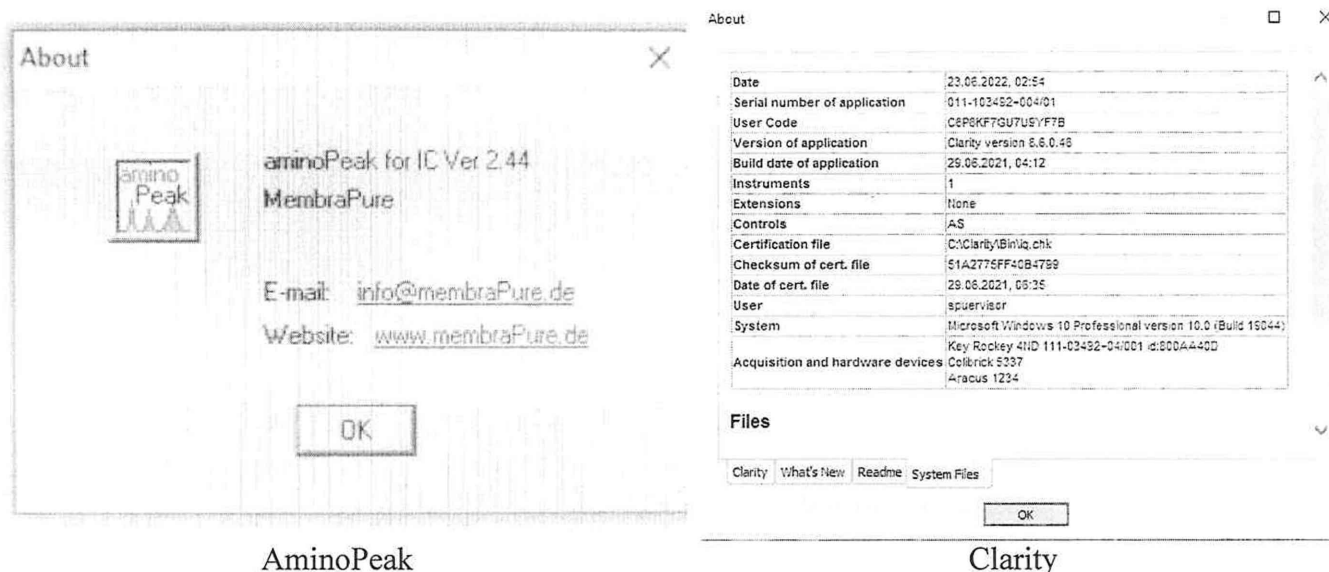


Рисунок 1 - Идентификационные данные ПО AminoPeak или Clarity

Версия ПО должна соответствовать приведенной в описании типа СИ и таблице 5

Таблица 5 – Идентификационные данные ПО

Идентификационные данные (признаки)	Значение
iControl	
Идентификационное наименование ПО	iControl
Номер версии (идентификационный номер) ПО	не ниже 1.4.3
Цифровой идентификатор ПО	-
AminoPeak	
Идентификационное наименование ПО	AminoPeak
Номер версии (идентификационный номер) ПО	не ниже V2.44
Цифровой идентификатор ПО	-
Clarity	
Идентификационное наименование ПО	Clarity
Номер версии (идентификационный номер) ПО	не ниже 7.2
Цифровой идентификатор ПО	-

Примечание - Анализаторы функционируют с ПО iControl + AminoPeak или iControl + Clarity. Проверку выполняют только для установленного ПО.

8.2.2 Проверка функционирования анализатора, определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала.

Включают анализатор в сеть и проверяют выполнение стандартных операций при подготовке к работе. После выхода на режим проводят одно измерение без ввода пробы. По полученной хроматограмме определяют уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала Δx , как амплитуду повторяющихся колебаний выходного сигнала с периодом не более 20 с.

8.2.3 Анализатор считают выдержавшим проверку, если результаты проверки идентификационных данных ПО - положительные, все операции п.8.2.2 завершены успешно, уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала не превышает 1,5 мВ (0,0015 В).

9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

9.1 Определение метрологических характеристик

На вход хроматографа с помощью автосамплера подают контрольный раствор глицина (Приложение 1) и выполняют не менее 6 измерений. С помощью ПО определяют и записывают площадь и время удерживания пика.

При определении показателей точности результатов измерений, установленных в НД на методику измерений, измерения выполняют в соответствии с приведенными в НД процедурами.

9.2 Обработка результатов поверки

9.2.1 Определение предела детектирования.

Предел детектирования $C_{\text{мин}}$, г/см³, рассчитывают по формуле (1)

$$C_{\text{мин}} = \frac{2\Delta x G \cdot 10^{-3} \cdot 60}{\bar{S}V}, \quad (1)$$

где G – количество контрольного вещества, мг (2);

$$G = C v_{\text{доз}}, \quad (2)$$

где C – массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм³;

$v_{\text{доз}}$ – объем введенной пробы контрольного вещества, мм³ (мкл);

V – скорость потока элюента, мм³/мин (мкл/мин);

Δx – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, измеряют после выхода стабилизации режима работы хроматографа, мВ;

\bar{S} – среднее арифметическое значение площади пика контрольного вещества, мкВ·с

9.2.2 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала

Значения относительного СКО выходного сигнала (площади пика σ_s и времени удерживания σ_t рассчитывают по формулам (3) и (4) для пяти последовательно полученных хроматограмм.

$$\sigma_s = \frac{100}{\bar{S}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})^2}{n-1}}, \quad (3)$$

$$\sigma_t = \frac{100}{\bar{t}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})^2}{n-1}}, \quad (4)$$

где \bar{S}, S_i – среднее арифметическое и i -тое измеренное значение площади пика, соответственно, мкВ·с;

\bar{t}, t_i – среднее арифметическое и i -тое измеренное значение времени удерживания, мин;

n – число измерений, $n=5$.

9.2.3 Определение показателей точности результатов измерений, установленных в НД на методику измерений

При проведении периодической поверки анализатора, эксплуатируемого по НД на методики измерений, аттестованным в установленном порядке и соответствующих требованиям ГОСТ 8.563-2009, проверяют показатели точности в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в НД на методику измерений.

9.3 Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям

9.3.1 Результаты проверки метрологических характеристик считают положительными, если предел детектирования (п. 9.2.1) не превышает $7,0 \cdot 10^{-8}$ г/см, значения относительного СКО выходного сигнала (п. 9.2.2) не более 1 % для времени удерживания, и не более 3 % для площади пика глицина. Показатели точности при определении метрологических характеристик по НД на методику измерений (п. 9.2.3) должны соответствовать нормированным при утверждении НД на методику измерений.

10 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

10.1 Результаты поверки заносят в протокол произвольной формы.

10.2 Положительные результаты поверки вносят в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений (по запросу владельца выдают свидетельство о поверке) в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требований к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (утв. приказом Минпромторга России от 31.07.2020 г. № 2510).

10.3 Отрицательные результаты поверки с указанием причин непригодности вносят в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений (по запросу владельца выдают извещение о непригодности) в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требований к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (утв. приказом Минпромторга России от 31.07.2020 г. № 2510).

Начальник отдела
ФГБУ «ВНИИМС»



С.В. Вихрова

Старший научный сотрудник
ФГБУ «ВНИИМС»



Е.Г. Оленина

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ**1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ**

- 1.1 ГСО 10272-2013 состава глицина.
- 1.2 Весы аналитические по 1 класса точности ГОСТ OIML R 76-1-2011, НПВ не более 220 г.
- 1.3 Колбы мерные наливные 2-100-2 по ГОСТ 1770-74.
- 1.4 Пипетка с одной отметкой 1-2-1 по ГОСТ 29169-91 (или дозатор вместимостью 1,0 см³).
- 1.5 Стаканчик для взвешивания СН-34/12 или СН-45/13 ГОСТ 25336-82.
- 1.6 Воронка стеклянная В-36-80 ГОСТ 25336-82.
- 1.7 Дистиллированная вода по ГОСТ Р 58144-2018 или буферный раствор (Sample Dilution Buffer, кат. № 650-0018, рН 2,3±0,3, проводимость 15±1 мСм/см), идущий в комплекте с анализатором.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНОГО РАСТВОРА ГЛИЦИНА

2.1 Приготовление промежуточного раствора глицина с массовой концентрацией 750 мг/дм³

С помощью аналитических весов берут навеску (75,0±1,5) мг ГСО глицина в стаканчике для взвешивания. Затем навеску количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, многократно оmyвая стаканчик буферным раствором. Перемешивают раствор в колбе до полного растворения навески, доводят объем раствора до метки дистиллированной водой или буферным раствором и тщательно перемешивают.

2.2 Приготовление контрольного раствора глицина с массовой концентрацией 7,5 мг/дм³ (соответствует 100 нмоль/мл).

С помощью мерной пипетки или дозатора отбирают 1 см³ промежуточного раствора глицина, приготовленного по п. 2.1, и помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят раствор до метки дистиллированной водой или буферным раствором, тщательно перемешивают.

2.3 Действительное значение массовой концентрации контрольного раствора, приготовленного по 2.1 - 2.2, мг/дм³, вычисляют по формуле

$$C = m / 10,$$

где m - навеска контрольного вещества, мг.

2.4 Растворы готовят в день применения, не хранят.