

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.И.Пронин

19.04.2021 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Хроматографы жидкостные Elute

Методика поверки

МП-242-2421-2021

И.о. руководителя отдела
Государственных эталонов в области
физико-химических измерений
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

A handwritten signature in blue ink, belonging to A.V. Kolobova, is written over a horizontal line.

А.В.Колобова

Ст.научный сотрудник
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

A handwritten signature in blue ink, belonging to M.A. Meshalkin, is written over a horizontal line.

М.А.Мешалкин

С. Петербург
2021 г.

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные Elute, (модификации Elute SP, Elute UHPLC, Elute OLE и Elute HT) со следующими детекторами:

- диодно-матричный детектор (Elute DAD);
- спектрофотометрический детектор с изменяемой длиной волны (UVD 2.1S фирмы "Knauer Wissenschaftliche Gerätebau GmbH")

и устанавливает методы и средства их первичной поверки при вводе в эксплуатацию и после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Прослеживаемость результатов измерений, получаемых с помощью хроматографа, осуществляется при реализации на нем методов (методик) измерений путем использования стандартных образцов, прослеживаемых к государственным первичным эталонам 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»

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

Операции, связанные с опробованием и определением метрологических характеристик, проводят для каждого из детекторов, входящих в комплект поставки хроматографа.

Методикой поверки допускается проведение поверки меньшего количества детекторов из состава хроматографа с обязательным указанием в свидетельстве о поверке сведений о поверенных детекторах.

1 Перечень операций поверки

1.1 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	6	Да	Да
Подготовка к поверке и опробование	7	Да	Да
Проверка программного обеспечения	8	Да	Да
Определение метрологических характеристик	9	Да	Да

2 Требования к условиям проведения поверки

2.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 15 до 30 °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %.

3 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

3.1 К работе с хроматографами и проведению поверки допускаются лица, ознакомленные с руководством по эксплуатации поверяемого хроматографа и инструкциями (руководствами) по применению средств измерений, стандартных образцов и вспомогательных средств поверки и имеющие квалификацию не ниже бакалавра (инженера) и прошедшие инструктаж по технике безопасности.

4 Метрологические и технические требования к средствам поверки

4.1 При проведении поверки применяют средства, указанные в 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
7, 9	Основные средства поверки: - стандартный образец состава раствора антрацена в ацетонитриле (СО-Антр) ГСО 8749-2006.
7	Растворители: - ацетонитрил для жидкостной хроматографии кв. ОСЧ по ТУ 2634-002-54260861-2013 (или аналогичный с содержанием основного компонента не менее 99,9 %); - вода для лабораторного анализа высокой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005;
7	Средства измерений: - меры вместимости: пипетки 2 класса точности по ГОСТ 29227-91, колбы наливные 2 класса точности по ГОСТ 1770-74; - дозаторы пипеточные с диапазоном дозирования от 0,5 до 1000 мкл и относительной погрешностью не более $\pm 10\%$ (например, ФИФ №67230-17 или аналогичные); - весы лабораторные высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011.
2	- термогигрометр электронный или гигрометр психрометрический, зарегистрированные в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений (например, ФИФ №22129-09; ФИФ № 69566-17 или аналогичные);
9	Дополнительное оборудование: - хроматографическая колонка Bruker Solo 2 100×2 мм или аналогичная. - капилляр из материала РЕЕК внутренний диаметр 0,065 мм длиной 1000 мм.

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

4.3. Все средства измерений, используемые при поверке, должны иметь свидетельства о поверке, а ГСО и химические реактивы (растворители) - действующие паспорта.

5 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

При проведении поверки соблюдают следующие требования безопасности:

5.1 Хроматограф должен быть установлен в хорошо проветриваемом помещении.

5.2. При проведении поверки нельзя прикасаться к частям корпуса хроматографа, на которые нанесены предупреждающие знаки.

5.3. При проведении поверки требуется следовать правилам безопасности, изложенным в разделе 1 Руководства по эксплуатации хроматографов

6 Внешний осмотр средства измерений

6.1 При внешнем осмотре устанавливают соответствие хроматографов следующим требованиям:

- отсутствие внешних повреждений, влияющих на работоспособность;
- исправность органов управления;
- четкость надписей на лицевой панели.

- отсутствие протечек в системе, отсутствие пузырей воздуха в питающих трубках
- маркировка должна соответствовать требованиям эксплуатационной документации.

Хроматограф считают выдержавшими внешний осмотр, если он соответствует указанным выше требованиям.

7 Подготовка к поверке и опробование хроматографа

7.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы:

- приготовить по 200 мл подвижных фаз А, Б из воды и ацетонитрила соответственно.
- согласно инструкции по применению стандартного образца состава раствора антрацена в ацетонитриле ГСО 8749-2006 приготовить контрольный раствор с массовой концентрацией антрацена 10 мг/см³, используя в качестве растворителя ацетонитрил для жидкостной хроматографии кв. ОСЧ.

7.2. Параметры хроматографа и детектора должны быть установлены в соответствии с руководством по эксплуатации. Используют настройки метода указанные в таблице 3 для соответствующего детектора, кондиционируют хроматографическую колонку и детектор в течение 30 минут до начала контрольных измерений.

7.3. На рисунке 1 показано окно ПО с результатами измерений. Под термином площадь пика (Area Target Cmpd) понимают рассчитанную площадь под кривой сигнала при появлении пика и автоматическом интегрировании в программе обработки. Под термином время удерживания (RT Target Cmpd) понимают время появления хроматографического пика от начала анализа, автоматически посчитанное программой обработки. Под термином «Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала» понимают значение равное амплитуде повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с.

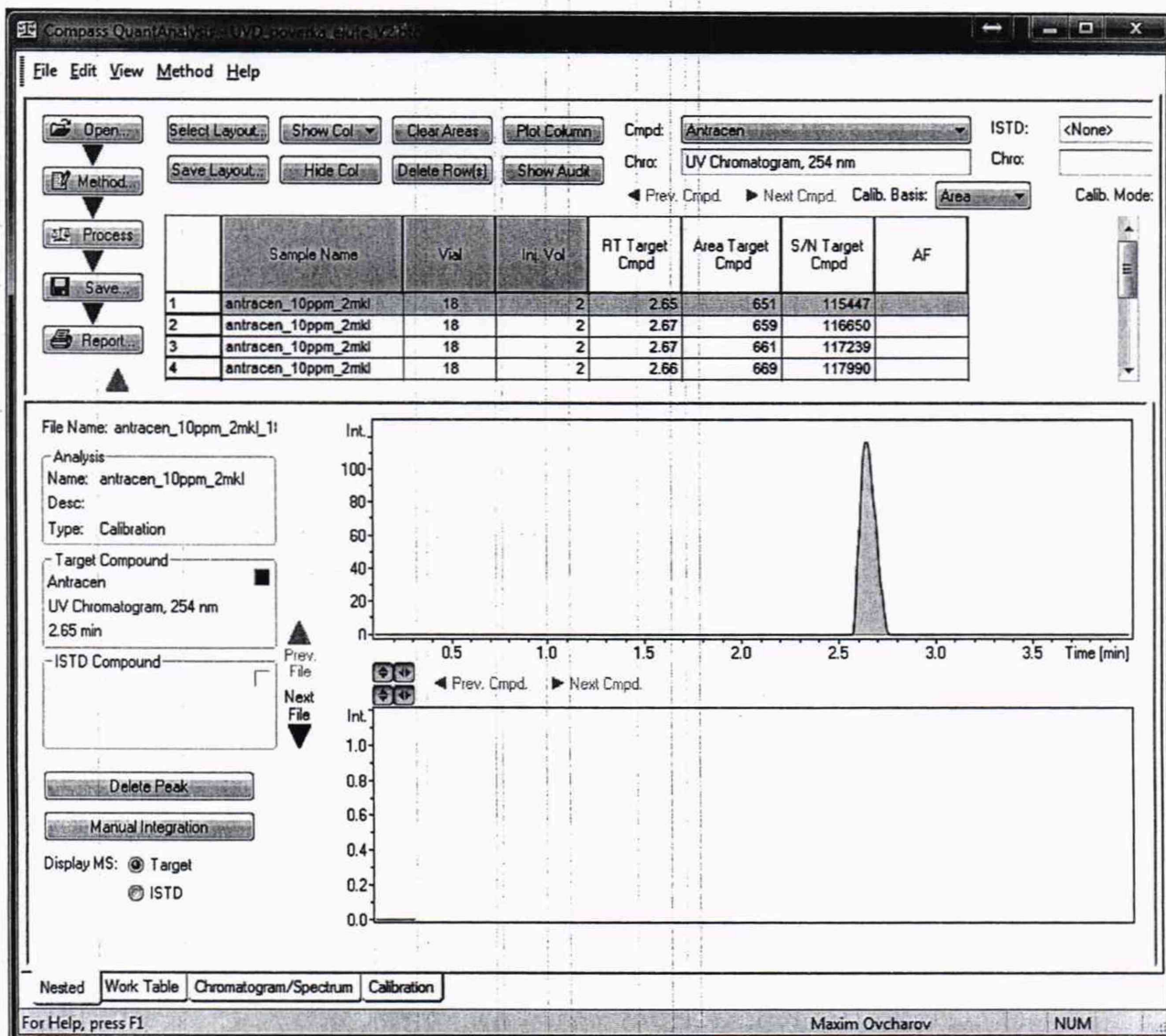


Рисунок 1 – Окно ПО Compass Quant Analysis с результатами измерений

7.2 Опробование (самотестирование прибора) проводится в автоматическом режиме после включения питания. В случае успешного прохождения тестирования на дисплее появляется стартовое окно программы управления прибором.

8 Проверка программного обеспечения средства измерений

8.1 Проверка программного обеспечения (ПО) хроматографов проводится путем установления соответствия ПО хроматографов, представленных на поверку, тому ПО, которое было зафиксировано (внесено в банк данных) при испытаниях в целях утверждения типа.

8.2 Для проверки соответствия ПО выполняют следующие операции

8.2.1 Окно с номером версии ПО Hystar выводится на дисплей с помощью команды Help⇒ About Compass Hystar. Вид окна приведен на рисунке 2. Версия ПО приведена в строке Version.

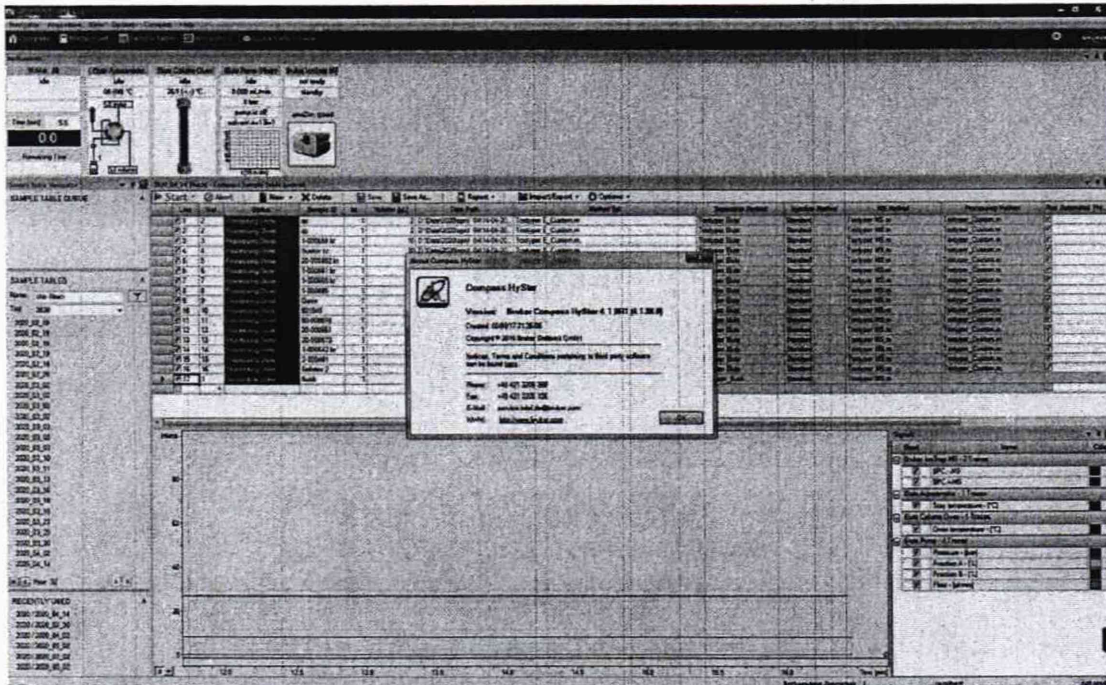


Рисунок 2 – Вид окна с версией ПО Compass Hystar

8.2.2 Для того, чтобы определить версию модуля программного обеспечения в ПО Compass DataAnalysis, необходимо в строке меню ПО выбрать пункт Help, в раскрывшемся меню выбрать About Compass DataAnalysis.

После этого появится окно с версией и сборкой ПО вида:

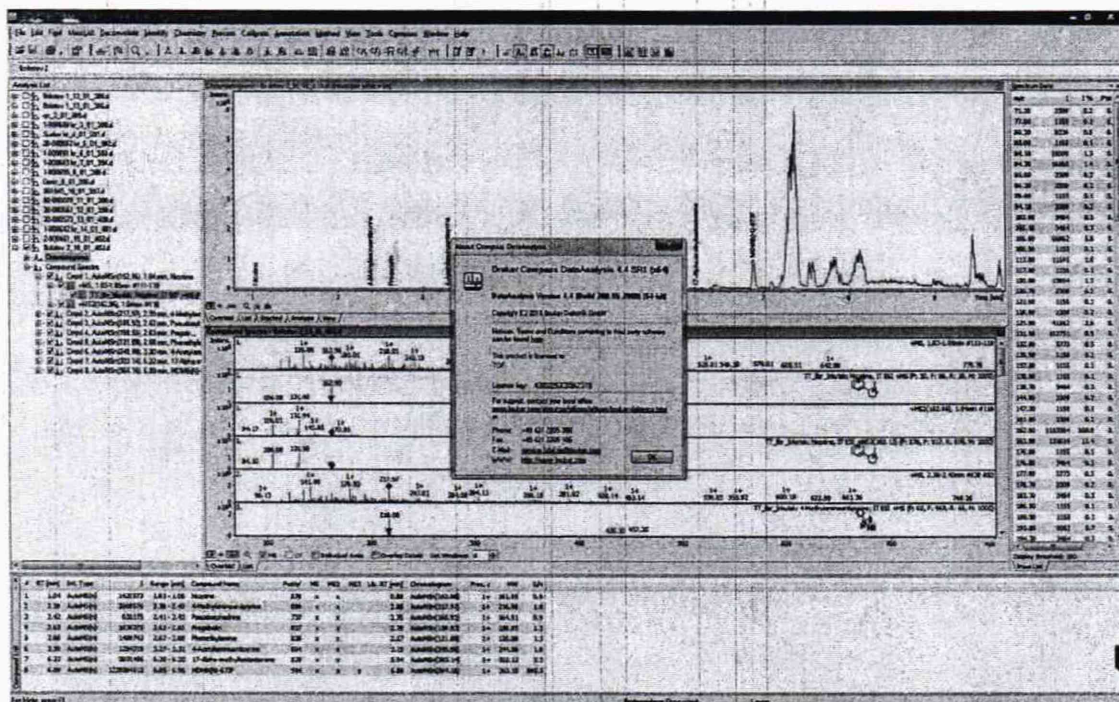


Рисунок 3 - Вид окна с версией ПО Compass DataAnalysis

8.2.3 Для того, чтобы определить версию модуля программного обеспечения в ПО Compass QuantAnalysis, необходимо в строке меню ПО выбрать пункт Help, в раскрывшемся меню выбрать About Compass QuantAnalysis.

После этого появится окно с версией и сборкой ПО вида:

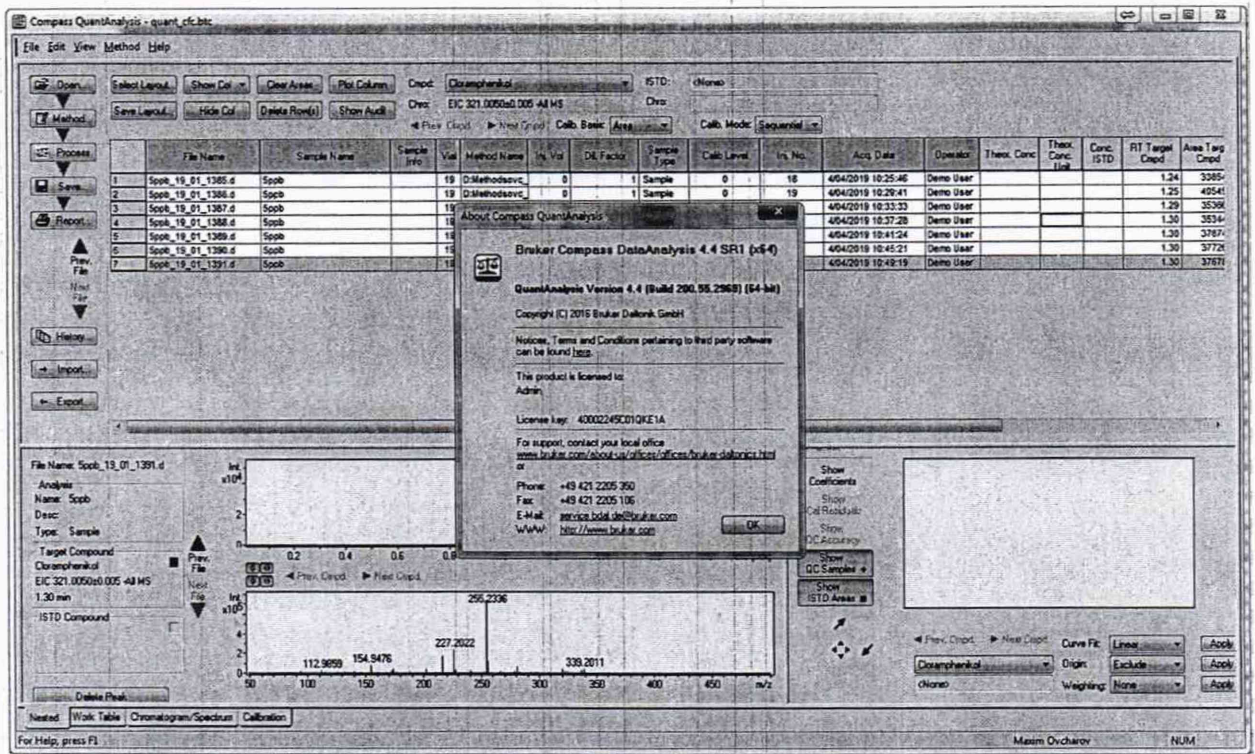


Рисунок 4 - Вид окна с версией ПО Compass QuantAnalysis

8.2.4 Для того, чтобы определить версию модуля встроенного программного обеспечения необходимо навести курсор на соответствующий модуль (Насос (Elute Pump), термостат колонок (Elute Column Oven), автосамплер (Elute Autosampler), детектор (UVD 2.1S Detector или Elute Detector)) нажать правой кнопкой мыши выбрать Maintenance затем System information для каждого модуля появится окно с версией встроенного программного обеспечения.

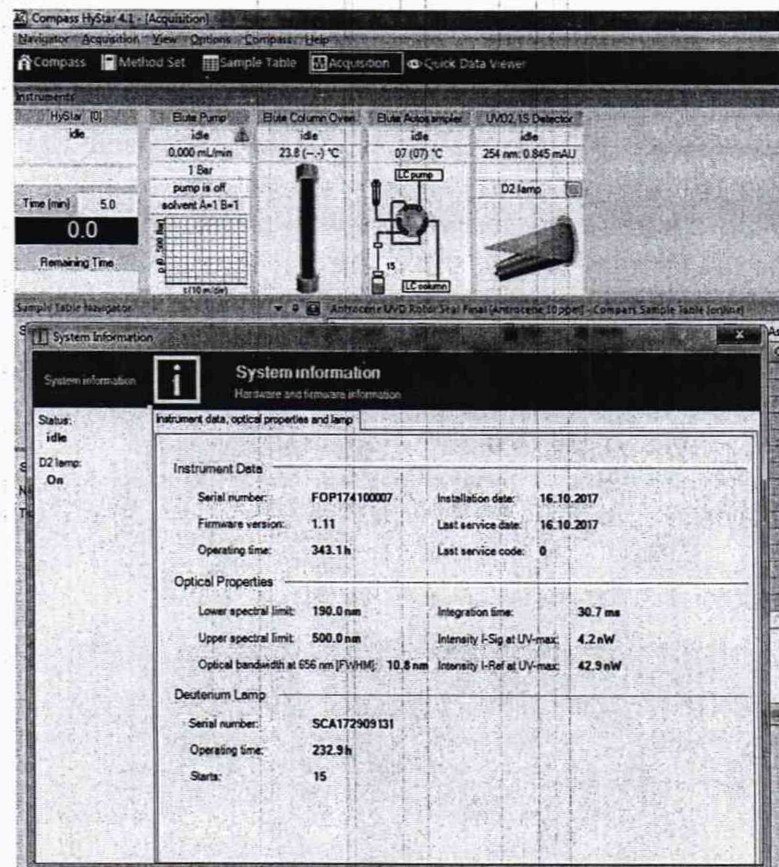


Рисунок 5 - Версия встроенного ПО для детектора UVD2.1S

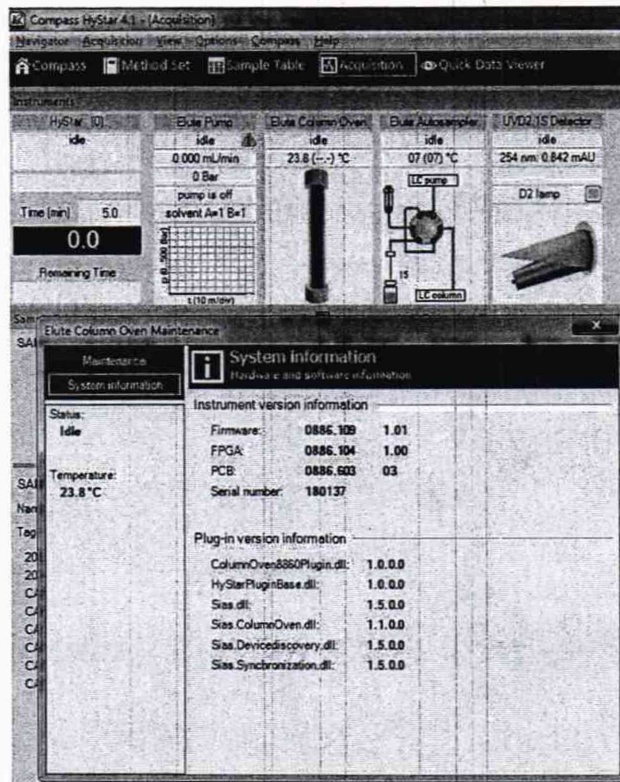


Рисунок 6 - Версия встроенного ПО для термостата колонок

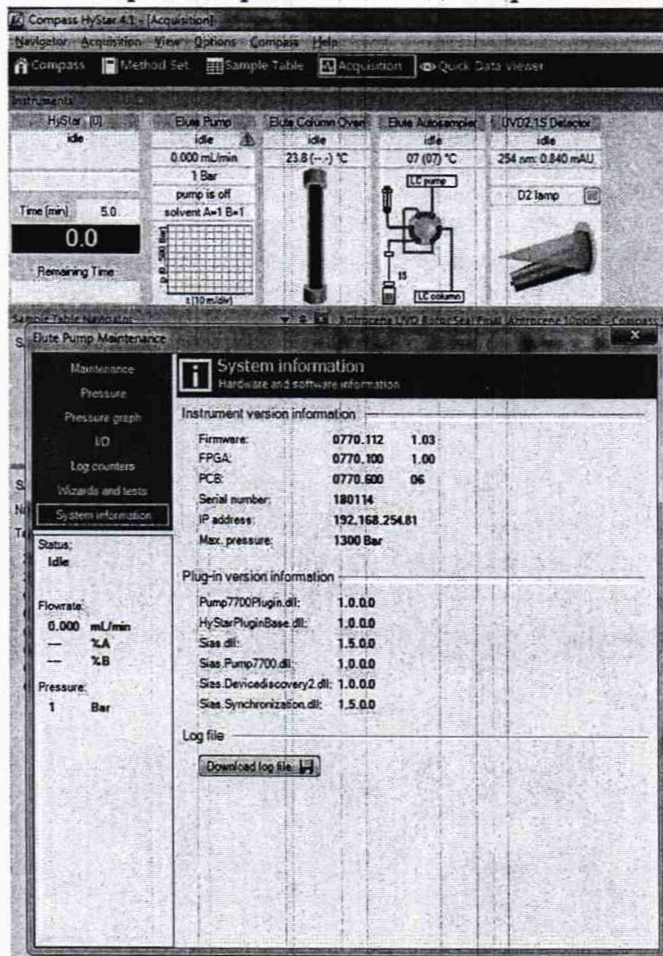


Рисунок 7 - Версия встроенного ПО для насоса.

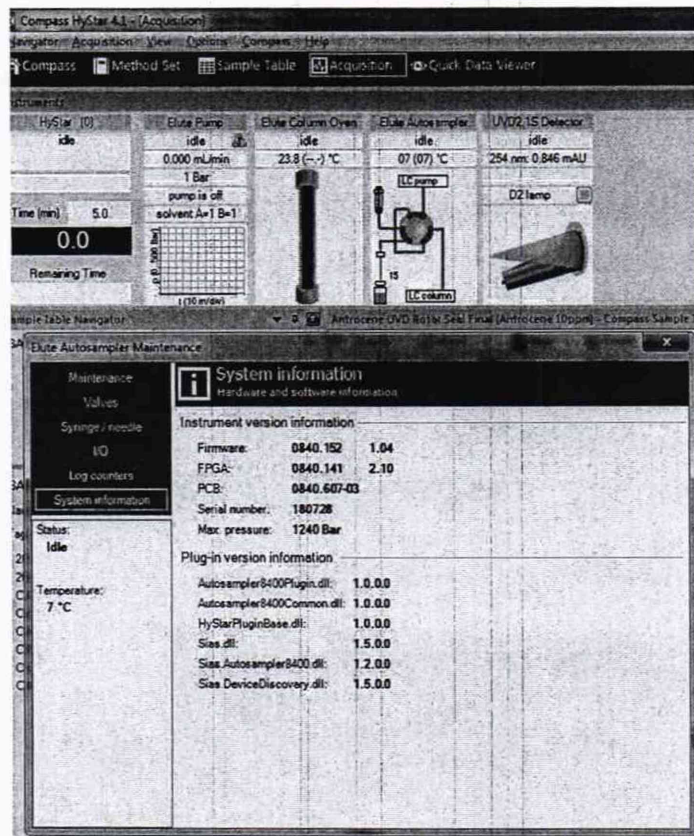


Рисунок 8 - Версия встроенного ПО для автосамплера

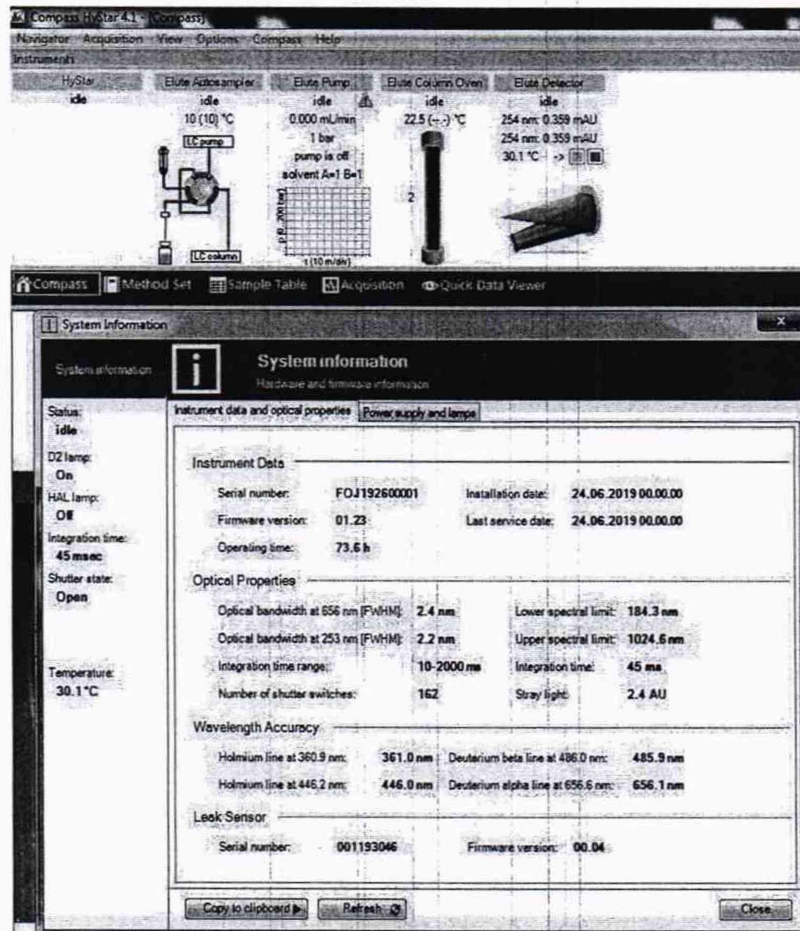


Рисунок 8- Версия встроенного ПО для детектора Elute DAD.

9 Определение метрологических характеристик хроматографа

9.1 Следовать условиям эксперимента согласно таблице 3 для конфигурации оборудования с детектором UVD 2.1S и/или Elute DAD.

Таблица 3 – Перечень условий эксперимента

Хроматограф	Детектор	Условия эксперимента
Elute	UVD 2.1S	Таблица 4
Elute	Elute DAD	Таблица 5

Таблица 4 - Условия поверки хроматографов с детектором UVD 2.1S

Скорость потока подвижной фазы	0,25 мл/мин
Содержание ацетонитрила	80 %
Содержание воды	20 %
Температура колонки	45 °С
Объем ввода пробы	2 мкл.
Время анализа	5 мин.
Длина волны	254 нм
Частота сбора данных	2 Гц
Способ ввода пробы	Частичное заполнение петли

Таблица 5 - Условия поверки хроматографов с Elute DAD детектором.

Скорость потока подвижной фазы	0,25 мл/мин
Содержание ацетонитрила	80 %
Содержание воды	20 %
Температура колонки	45 °С
Объем ввода пробы	2 мкл
Время анализа	5 мин.
Длина волны	254 нм
Частота сбора данных	2 Гц
Способ ввода пробы	Частичное заполнение петли

9.2 Определение предела обнаружения и относительного СКО выходного сигнала.

9.2.1 Поместить в автосамплер контрольный раствор и произвести 6 последовательных измерений.

9.2.2 С помощью программного обеспечения Compass QuantAnalysis определить площади пиков и время удерживания и провести обработку полученных результатов в соответствии с указаниями п. 9.2.3.

9.2.3 Порядок обработки результатов измерений.

9.2.3.1 Для расчета ОСКО выходного сигнала используются значения площадей пиков и времен удерживания. При этом недостоверные результаты измерений, которые можно оценить как выбросы (см. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002, п. 3.21; ГОСТ Р 8.736-2011), отбраковываются и не учитываются в расчетах. В случае обнаружения выбросов проводят необходимое дополнительное число измерений.

9.2.3.2 Расчет ОСКО проводят в программе MS Excel, либо вручную по формуле:

$$S_r = \frac{100}{N} \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (N - N_k)^2}{n-1}}, \% \quad (1)$$

где: N – среднее арифметическое результатов n - измерений;

N_k – k -е значение результата измерений;

n – число измерений.

9.2.3.3 Уровень (размах) флуктуационных шумов нулевого сигнала (ΔX) измеряют в программе Compass DataAnalysis на участке хроматограммы, предшествующем выходу контрольного вещества и принимают равным максимальной амплитуде повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с (при этом единичные выбросы не учитываются).

9.2.3.4 Для определения предела детектирования используют значение N , полученное в пункте 9.2.3.2 для площади пика и значение Δx , определенное в пункте 9.2.3.3.

Предел детектирования в г/см^3 рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{мин}} = \frac{2 \times \Delta X \times G \times 60}{\bar{X} \times V} \quad (2)$$

где:

ΔX – уровень флуктуационных шумов;

V – скорость элюента, $\text{см}^3/\text{мин}$;

G – количество контрольного вещества в граммах, $G = 10^{-9} \times C \times V_{\text{доз}}$;

C – массовая концентрация контрольного вещества в мг/дм^3 ;

$V_{\text{доз}}$ – объём вводимой пробы контрольного вещества, мкл.

9.3 Определение относительного изменения выходного сигнала δt (площади пика) за 4 часа непрерывной работы.

9.3.1 Через 4 часа после определения ОСКО выходных сигналов повторяют измерения в соответствии с пунктом 9.2.1 и пунктом 9.2.2.

9.3.2 Относительное изменение выходного сигнала (в процентах) за 4 часа непрерывной работы хроматографа рассчитывают по формуле:

$$\delta_t = (X_t - X) \cdot 100 / X \quad (3)$$

где: X – среднее значение площади пика ($n=6$) в начальный момент времени;

X_t – среднее значение площади пика ($n=6$) через 4 часа непрерывной работы.

10 Подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям

10.1 Результаты поверки считаются положительными, если полученные значения ОСКО площади пика, ОСКО времени удерживания и предела детектирования не превышают значений, указанных в таблице 6.

Таблица 6 – Предельные допусаемые значения метрологических характеристик

Детектор	ОСКО площади пика, %, не более	ОСКО времени удерживания, %, не более	Относительное изменение выходного сигнала за 4 часа непрерывной работы, %, не более	Предел детектирования, не более
Elute DAD	2,0	0,5	2,0	$2 \times 10^{-9} \text{ г/см}^3$
UVD 2.1S	2,0	0,5	2,0	$2 \times 10^{-9} \text{ г/см}^3$

11 Оформление результатов поверки

11.1 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 А.

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

11.3 Результаты поверки средств измерений 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 средство измерений наносится знак поверки, и (или) выдается свидетельство о поверке средства измерений, и (или) в паспорт средства измерений вносится запись о проведенной поверке, заверяемая подписью поверителя и знаком поверки, с указанием даты поверки, или выдается извещение о непригодности к применению средства измерений.

11.4 Знак поверки наносится на переднюю панель хроматографа и (или) на свидетельство о поверке.

11 Оформление результатов поверки

11.1. 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 А.

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

11.3 Результаты поверки средств измерений 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 средство измерений наносится знак поверки, и (или) выдается свидетельство о поверке средства измерений, и (или) в паспорт средства измерений вносится запись о проведенной поверке, заверяемая подписью поверителя и знаком поверки, с указанием даты поверки, или выдается извещение о непригодности к применению средства измерений.

Протокол поверки

Хроматограф жидкостной Elute

Зав. № _____

Принадлежит _____

ИНН владельца _____

Дата выпуска _____

Дата поверки _____

Условия поверки:

температура окружающего воздуха _____ °С;

относительная влажность _____ %.

Документ, по которому проведена поверка _____

Средства поверки _____

Результаты внешнего осмотра и опробования _____

Результаты проверки соответствия ПО _____

Результаты определения метрологических характеристик

Таблица 1 – Пределы обнаружения

Детектор	Контрольное вещество, (концентрация)	Объем вводимой пробы, мм ³ (мкл)	Масса введенн. контр. вещества, г	Уровень флуктуационных шумов (Δ_x), Б	Площадь пика, Б·с	Скорость элюента, см ³ /мин	Предел детектирования, г/см ³
Elute DAD	Антрацен 10 мг/л	2	2×10^{-8}				
UVD 2.1S	Антрацен 10 мг/л	2	2×10^{-8}				

Таблица 2 – Относительное СКО параметров выходного сигнала (детектор _____)

№ п/п	Время удерживания, мин	Площадь пика, S, (Б·с) $\times 10^3$
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
Средн.		
СКО отн., %		

Таблица 3– Относительное изменение выходного сигнала за 4 часа непрерывной работы

(детектор _____)

№ п/п	Площадь пика, S, (Б·с) x10 ³	Площадь пика, S, (Б·с) x10 ³ , через 4 часа
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
Средн.		
Отн. изм. вых. сигнала, %		