

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УНИТАРНОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ
"ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ"
(ФГБУ "ВНИИМС")**

СОГЛАСОВАНО

**Заместитель директора
по производственной метрологии
ФГБУ "ВНИИМС"**



А.Е. Коломин

" 28 " 11 2022 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

**ХРОМАТОГРАФЫ ЖИДКОСТНЫЕ/ИОННЫЕ
LC-10Avp, LC-2010, PIA-1000, Prominence**

МЕТОДИКА ПОВЕРКИ

МП 205-17-2022

**г. Москва
2022 г.**

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные/ионные LC-10Avp, LC-2010, PIA-1000, Prominence (далее – хроматографы) фирмы "SHIMADZU", Япония, и устанавливает методику их первичной и периодической поверок.

Прослеживаемость результатов измерений при поверке хроматографов жидкостных/ионных LC-10Avp, LC-2010, PIA-1000, Prominence обеспечивается применением ГСО:

- к единице молярной (массовой) концентрации в соответствии с поверочной схемой «Государственная поверочная схема для средств измерений содержания неорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах», утвержденной Приказом Росстандарта от 19.02.2021 г. № 148. ГЭТ 176-2019, Приказом Росстандарта от 27.12.2019 г. № 3396.

- к единице массы (кг) в соответствии с поверочной схемой: "Государственная поверочная схема для средств измерений массы", утвержденной Приказом Росстандарта от 04.07.2022 г. № 1622. ГЭТ 3-2020, утвержденный Приказом Ростехрегулирования от 23.12.2020 г. № 2180;

- к единице объема (м³) в соответствии с поверочной схемой "Государственная поверочная схема 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. ГЭТ 216-2018, утвержденный Приказом Росстандарта от 19.01.2018 г. № 79.

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

Настоящая методика поверки распространяется на все средства измерений, находящиеся в эксплуатации, и на средства измерений, изготовленные после приказа о внесении изменений в сведения об утвержденном типе.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1

| Наименование операции | Номер пункта методики поверки | Обязательное проведение операции при проведении поверки | |
|--|-------------------------------|---|------------------|
| | | первичной | периодической |
| Внешний осмотр | 7 | Да | Да |
| Проверка идентификационных данных программного обеспечения (ПО) | 9 | Да | Да |
| Опробование: | | | |
| - определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала | 10.1.2-10.1.3 | | |
| - определение предела детектирования | 10.1.4 | Да | Да ¹⁾ |
| - определение отношения сигнал/шум | 10.1.5 | Да | Да ¹⁾ |
| Определение метрологических характеристик: | 11 | Да | Да ¹⁾ |
| - определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала | 11.1 | Да | Да ¹⁾ |
| - определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы | 11.2 | Да | Да ¹⁾ |
| - определение показателей точности результатов измерений | 11.3 | Нет | Да ²⁾ |

| Наименование операции | Номер пункта методики поверки | Обязательное проведение операции при проведении поверки | |
|--|-------------------------------|---|---------------|
| | | первичной | периодической |
| Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям | 12 | Да | Да |
| Оформление результатов поверки | 13 | Да | Да |
| Примечания. ¹⁾ При отсутствии НД на методики измерений (МИ), утвержденных в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563-2009. ²⁾ При наличии НД на МИ. | | | |

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

2.3 Проведение поверки хроматографов с отдельными детекторами в соответствии с пунктом 18 Приказа Министерства промышленности и торговли от 31.07.2020 г. РФ № 2510 "Об утверждении порядка проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке" проводится на основании письменного заявления владельца СИ.

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 до 106 |
| - относительная влажность воздуха, % | от 30 до 80 |

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

4.1 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 °С. Средства измерений атмосферного давления в диапазоне измерений от 84,0 до 106,7 кПа с абсолютной погрешностью не более ± 3 кПа. | Барометр-анероид БАММ-1, рег. № 5738-76 Прибор комбинированный TESTO мод. 608-H1, рег. № 53505-13 |

| Операции поверки, требующие применения средств поверки | Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки | Перечень рекомендуемых средств поверки |
|---|--|--|
| 10.; 11.1-11.2.2 | Контрольный раствор с массовой концентрацией папаверина 100 мг/дм ³ , п-нитрофенола 200 мг/дм ³ , фенола 5 мг/дм ³ , глюкозы 90 мг/дм ³ , хлорид-ионов 10 мг/дм ³ , антрацена 1 мг/дм ³ , кофеина 10 мг/дм ³ с относительной погрешностью не более ±5 %. | Контрольный раствор, приготовленный по методике, являющейся приложением А к Программе испытаний, приготовленный из: ГСО 7813-2000 ГСО 7346-96 ГСО 8749-2006 ГСО 11683-2021 ГСО 11872-2022 |
| | Массовая доля основного вещества не менее 99% | папаверин гидрохлорид ФС.2.1.0153.18 или CAS 58-74-2 |
| | Массовая доля основного вещества не менее 99% | п-нитрофенол ч.д.а., ТУ 6-09-3973-75 |
| 10.1.4 11 | Колонки для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) Shim-pack XR-ODSIII 150x2,0, или Shim-pack XR-ODSIII 50x2,0 или Shim-pack VP-ODS 150x4,6 мм, 5 мкм, или аналогичные; Shim-pack GIST NH2 (250 mm × 4,6 mm I.D., 5 мкм) или аналогичная; Shim-pack IC-A3 150x4,6 мм, 5 мкм, Shodex IC I-524A 100x4,6 мм или аналогичная; Shim-pack IC-SA3 250x4,0 мм, 5 мкм или аналогичная (колонка выбирается исходя из конфигурации хроматографа и рабочего давления) | |
| Примечание - Допускается использовать при поверке другие утвержденные и поверенные средства измерений, стандартные образцы с действующими паспортами, удовлетворяющие метрологическим требованиям, указанным в таблице, и обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых СИ с требуемой точностью. | | |

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

6.1 При проведении поверки требования к обеспечению безопасности труда должны соответствовать нормативно-технической документации на оборудование, входящее в состав хроматографа.

6.2 При проведении поверки соблюдают требования техники безопасности:

- общие требования по ГОСТ 12.2.003-91;
- при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007-76 и ГОСТ 12.4.021-75;
- при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019-2017, ГОСТ 12.2.007.0-75, в соответствии с Приказом Министерства энергетики Российской Федерации от 13 января 2003 г. № 6 "Об утверждении правил технической эксплуатации электроустановок потребителей" и Приказа Минтруда Российской Федерации от 15 декабря 2020 г. № 903н "Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок";
- указания соответствующих разделов руководства по эксплуатации хроматографов жидкостных/ионных LC-10Avp, LC-2010, PIA-1000, Prominence.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР

7.1 При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности приборов требованиям технической документации;
- отсутствие внешних повреждений, влияющих на работоспособность хроматографов и детекторов;
- исправность механизмов и крепежных деталей;
- четкость надписей на лицевой панели;

7.2 Хроматограф считается выдержавшим внешний осмотр, если он соответствует перечисленным выше требованиям.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ

8.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

8.2 Поверяемый хроматограф подготавливают к работе в соответствии с руководством по его эксплуатации.

8.3 Хроматографические колонки подготавливают в соответствии с требованиями технической документации на колонки.

8.4 Проверяют герметичность системы подачи элюента.

8.5 Средства измерений и вспомогательные средства, применяемые при поверке, подготавливают в соответствии с их РЭ или инструкциями по их применению.

8.6 Проверяют наличие сведений о поверке и паспортов на средства поверки.

8.7 Перед началом поверки включают приточно-вытяжную вентиляцию и выполняют другие требуемые операции по обеспечению безопасного проведения работ.

8.8 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы в соответствии с процедурами, изложенными в Приложении А.

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

Проверку идентификационных данных выполняют, проверяя соответствие версии ПО хроматографа версии ПО, указанной в описании типа, при включении прибора.

Идентификационные данные ПО должны соответствовать значениям, приведенным в таблице 2.

Таблица 2 - Идентификационные данные программного обеспечения

| Идентификационные данные (признаки) | Значение |
|--|-------------------|
| Идентификационное наименование ПО | LabSolutions |
| Номер версии (идентификационный номер ПО) | не ниже 5.71 SP1* |
| Цифровой идентификатор ПО | - |
| Примечание: *) формат номера версии ПО предусматривает двух- или трехсимвольное цифровое обозначение после разделителя (точки), и необязательное буквенно-цифровое обозначение языкового пакета и/или пакета обновлений, исправлений и улучшений (например: Rus; SP1, SP2 и т.д.) | |

10 ОПРОБОВАНИЕ

10.1 При опробовании определяют уровень флуктуационных шумов, дрейф нулевого сигнала и предел детектирования или отношение сигнал/шум (для спектрофлуоресцентных и масс-спектрометрических детекторов). При определении уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала хроматографическую колонку заменяют на капилляр который создает необходимое для проведения измерений противодавление (от 5 до 10 МПа).

10.1.2 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала с конкретным типом детектора выполняют при условиях, указанных в таблице 3. После выхода хроматографа на режим записывают нулевой сигнал каждого детектора на наиболее чувствительной шкале прибора.

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (Δx) принимают равным амплитуде повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с. Программное обеспечение позволяет измерять значение уровня флуктуационных шумов с помощью функции "Параметры проверки базовой линии". Уровень флуктуационных шумов измеряют в микровольтах с дальнейшим пересчетом в единицы физических величин, приведенные в Приложении Б.

10.1.3 За дрейф нулевого сигнала принимают наибольшее смещение нулевого сигнала в течение одного часа при регистрации хроматограммы без ввода пробы. При определении дрейфа нулевой сигнал регистрируют в течение не менее 30 мин на шкале с максимальной чувствительностью в координатах "сигнал (оптическая плотность, напряжение и т.д.) – время" с последующей экстраполяцией.

Дрейф нулевого сигнала определяют в единицах, аналогичных применяемым при определении уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала.

Полученные значения не должны превышать значений, приведенных в Приложении Б.

10.1.4 Определение предела детектирования, отношения сигнал/шум и метрологических характеристик выполняют на хроматографе, укомплектованном соответствующим детектором и хроматографической колонкой.

Предел детектирования проверяют с использованием контрольных растворов и условий, указанных в таблице 3.

В хроматограф вводят пробу контрольного раствора и определяют высоту или площадь пика (S).

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

$$C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{H \cdot \mu_{0,5} \cdot V} \quad \text{или} \quad C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G \cdot 60}{S \cdot V},$$

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

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

Δx – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, определенный до ввода контрольного вещества;

H – высота пика контрольного вещества;

Δx и H – измеряют в мм, условных единицах, мкВ, либо в единицах, указанных в Приложениях Б и В.

S – площадь пика контрольного вещества, $\text{мкВ} \cdot \text{с}$;

G – количество контрольного вещества, г;

$$G = C \cdot V_{\text{доз}},$$

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

$V_{\text{доз}}$ – объем введенной пробы контрольного вещества, мкл.

Результаты определения признают положительными, если полученные значения предела детектирования не превышают значений, указанных в приложении Б.

10.1.5 Отношение сигнал-шум измеряют для масс-спектрометрического детектора при условиях, указанных в таблице 3. В хроматограф вводят пробу контрольного вещества. Находят значение отношения сигнал/шум (S/N) для пика со значением m/z , указанным в таблице 3, используя встроенный в программу обработки данных калькулятор (S/N Check).

Значения S/N должны быть не менее указанных в приложении Б.

10.1.6 Отношение сигнал/шум для спектрофлуоресцентных детекторов проводят после включения прибора и выдержки его в течение 60 мин (время стабилизации ксеноновой лампы детектора). Используется измерительная кювета, заполненная дистиллированной водой.

С помощью кнопки [VP] на лицевой панели детектора выбирают режим <VALIDATION>. Кнопкой [func] выбирают режим <S/N CHECK>, кнопкой [Enter] запускают автоматическую проверку соотношения сигнал/шум.

Результат выводится на дисплей детектора и должен быть не менее значения, указанного в приложении Б.

11 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК

11.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходных сигналов

11.1.1 Контрольный раствор (табл. 3.) вводят в хроматограф не менее 6 раз ($n \geq 6$), измеряют значения выходных сигналов (времени удерживания и площади пиков) и вычисляют среднее арифметическое значение выходных сигналов (\bar{X}).

11.1.2 Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле

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

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

Значения относительного среднего квадратического отклонения выходных сигналов не должны превышать значений, указанных в приложении В.

11.2 Определение относительного изменения выходных сигналов за 8 часов непрерывной работы.

11.2.1. Проводят операции, описанные в 11.1.1. Через 8 часов непрерывной работы повторяют измерения по 11.1.1.

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

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

Значения относительного изменения выходных сигналов не должны превышать значений, приведенных в приложении В.

11.3 При проведении периодической поверки хроматографов, эксплуатируемых по НД на МИ, отвечающим требованиям ГОСТ 8.563-09, проверяют показатели точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в НД на МИ.

Таблица 3

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|---|--|---------------------------|---|---------------------------------|--|
| Спектрофотометрические SPD-10Avp, SPD-10AVvp, SPD-20A, SPD-10AV, SPD-20AV | Раствор кофеина в воде 10 мг/дм ³ | 20 | Ацетонитрил/вода с объемным соотношением 20/80 (для колонки с обращенной фазой) | 0,2-1 | При проверке предела детектирования длина волны: 272 нм. Постоянная времени: 2 с. При проверке уровня шума и дрейфа нулевого сигнала длина волны 250 нм, постоянная времени 2 с. |
| Спектрофотометрические на диодной матрице SPD-M10Avp, SPD-M20A | | | | | |
| Встроенный спектрофотометрический детектор хроматографа модели LC-2010 | | | | | |
| Спектрофлуоресцентные RF-20A, RF-20Axs | Раствор антрацена в ацетонитриле 5 мг/дм ³ | 5 | Ацетонитрил/вода с объемным соотношением 80/20 (для колонки с обращенной фазой) | 1 | Длина волны возб.: 250 нм. Длина волны эмис.: 440. Постоянная времени: 0,5 с. Gain (Усиление): 1. |
| Спектрофлуоресцентный RF-10AXL | Раствор антрацена в ацетонитриле 1 мг/дм ³ | 20 | Ацетонитрил/вода с объемным соотношением 80/20 (для колонки с обращенной фазой) | 0,2-1 | Длина волны возб.: 350 нм. Длина волны эмис.: 450 нм. Постоянная времени: 0,5 с. Gain (Усиление): 1. |
| Рефрактометрический RID-10A | Водный раствор глюкозы 90 мг/дм ³ | 20 | Дистиллированная вода | 0,2-1 | С нормальной фазой с привитыми аминогруппами. Постоянная времени: 1,5 с. |
| | Водный раствор фенола 100 мг/дм ³ | | Ацетонитрил/вода 0,5 % ортофосфорная кислота с объемным соотношением 35/65 | | Постоянная времени: 1.5 с. Колонка C18 (ODS) с обращенной фазой, с размером частиц 5 мкм, 125x4 мм. |

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|--|---|---------------------------|---|---------------------------------|---|
| Кондуктометрический: CDD-10Avp, PIA-1000 | Раствор хлорид-ионов-в воде 1 мг/дм ³ (с подавлением фоновой проводимости) | 50 | 1,8 ммоль Na ₂ CO ₃ +1,7 ммоль NaHCO ₃ , водный раствор | 1,0 | Отклик (response): 1 с. Gain (Усиление): 1 (0,01 мкСм·см ⁻¹). *Ионообменная хроматографическая колонка, предназначенная для определения анионов с подавлением фоновой проводимости (с использованием супрессора). |
| | Раствор хлорид-ионов-в воде 10 мг/дм ³ (без подавления фоновой проводимости) | 20 | 0,0025 моль фталевой кислоты + 0,0024 М трисаминометан (pH=4,0), водный раствор (для определения анионов) | 1-1,5 | Gain (Усиление): 2 (0,1 мкСм·см ⁻¹ , для определения анионов). Ионообменная хроматографическая колонка, предназначенная для определения анионов без подавления фоновой проводимости, без использования супрессора. |
| Электрохимические: Procede и Decade I и II | Раствор фенола в воде, 10 мкг/дм ³ | 20 | Ацетонитрил/ацетатный буфер (pH=5) с объемным соотношением 32/68 + NaCl до достижения концентрации в растворе 2 ммоль/дм ³ | 0,4-1 | E _{ох} = 0,80 V. Диапазон чувствительности: 20 нА. |
| Низкотемпературный светорассеивающий детектор ELSD-LT, ELSD-LT II | Раствор глюкозы в воде 90 мг/дм ³ | 20 | Ацетонитрил/вода с объемным отношением 20/80 | 0,4-1 | Давление распыляющего газа: 350 кПа. Температура: 50 °С. |

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|-------------------------------------|--|---------------------------|--|---------------------------------|--|
| Масс-спектрометрический LCMS-2010 | Раствор папаверина в воде 0,01 мг/дм ³ | 1 | Для режима ESI вода/ацетонитрил с объемным отношением 10/90 | 0,2-0,5 | SIM, положительная, m/z 340,15. Без осушающего газа. |
| | Раствор п-нитрофенола в воде 0,02 мг/дм ³ | 1 | | | SIM, отрицательная, m/z 138,00. Без осушающего газа. |
| | Раствор папаверина в воде 0,01 мг/дм ³ | 1 | Для режима APCI вода:метанол с объемным отношением 50/50 | 1,0 | SIM, положительная, m/z 340,15. Без осушающего газа. |
| | Раствор п-нитрофенола в воде 0,02 мг/дм ³ | 1 | | | SIM, отрицательная, m/z 138,00. Без осушающего газа. |
| Масс-спектрометрический LCMS-2020 | Раствор папаверина в воде 0,01 мг/дм ³ | 1 | Для режима ESI: вода/ацетонитрил с объемным отношением 10/90 | 0,2-0,5 | SIM, положительная, m/z 340,15. Время сканирования: 0,5 с. Температура DL: 250 °С. Температура блока нагревателя: 200 °С. Напряжение на детекторе, полученное при автотюннинге: +0,2 кВ. Без осушающего газа. |
| | Раствор п-нитрофенола в воде 0,02 мг/дм ³ | 1 | | | SIM, отрицательная, m/z 138,00. Время сканирования: 0,5 с. Температура DL: 250 °С. Температура блока нагревателя: 200 °С. Напряжение на детекторе, полученное при автотюннинге: +0,2 кВ. Без осушающего газа. |

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|-------------------------------------|--|---------------------------|--|---------------------------------|--|
| Масс-спектрометрический LCMS-2020 | Раствор папаверина в воде, 0,02 мг/дм ³ | 1 | Для режима АРСІ (опция): Вода:метанол с объемным отношением 50/50 | 1,0 | SIM, положительная, m/z 340,15. Время сканирования: 0,2 с. Температура DL: 200 °С. Температура блока нагревателя: 200 °С. Температура интерфейса: 350 °С. Напряжение на детекторе полученное при автотюнинге: +0,5 кВ. Расход осушающего газа: 5,0 л/мин |
| | Раствор п-нитрофенола в воде, 0,04 мг/дм ³ | 1 | | | SIM, отрицательная, m/z 138,00. Время сканирования: 0,2 с. Температура DL: 250 °С. Температура блока нагревателя: 200 °С. Температура интерфейса: 350 °С. Напряжение на детекторе полученное при автотюнинге: +0,5 кВ. Расход осушающего газа: 15,0 л/мин. |

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|-------------------------------------|---|---------------------------|---|---------------------------------|--|
| Масс-спектрометрический LCMS-2020 | Раствор папаверина гидрохлорида в воде (для положительной ионизации режима DUIS), 0,01 мг/дм ³ | 1 | Для режима DUIS ESI (опция): вода: ацетонитрил с объемным отношением 10/90 | 0,2-0,5 | SIM, положительная, m/z 340,15; Время сканирования: 0,5 с; Температура DL: 250 °С; Температура блока нагревателя: 200 °С; Напряжение на детекторе полученное при автотюннинге: +0,2 кВ. Расход осушающего газа: 15,0 л/мин. |
| | Раствор п-нитрофенола в воде, 0,02 мг/дм ³ | 1 | Для режима DUIS ESI (опция) вода: ацетонитрил с объемным отношением 10/90 | | SIM, отрицательная, m/z 138,00; Время сканирования: 0,5 с; Температура DL: 250 °С; Температура блока нагревателя: 200 °С; Напряжение на детекторе полученное при автотюннинге: +0,2 кВ |

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|-------------------------------------|--|---------------------------|--|---------------------------------|---|
| Масс-спектрометрический LCMS-IT-TOF | Раствор папаверина в воде (для положительной ионизации), 0,01 мг/дм ³ | 1 | Для режима ESI вода: ацетонитрил с объемным отношением 10/90 | 0,2-0,5 | <p>Режим ручного анализа (положительная ионизации); Температура CDL: 250 °С; Температура блока нагревателя: 200 °С; Напряжение на детекторе: 1,6 - 1,7 кВ; Без осушающего газа. Event1: Диапазон масс m/z 600-610. Время сканирования: 300 мс. Время накопления ионов: 100 мс. Event2: Диапазон масс m/z 100-620. Время сканирования: 300 мс. Время накопления ионов: 100 мс. Исходный ион m/z 609,2807. Производный вторичный ион (Product ion) 448,0000. Ширина разброса (Width) 3 а.е.м. Время: 20 мс. CID вкл.</p> |

| Наименование детектора/хроматографа | Контрольный раствор, массовая концентрация, мг/дм ³ | Объем вводимой пробы, мкл | Элюент | Скорость потока элюента, мл/мин | Параметры детектора |
|---|---|---------------------------|--|---------------------------------|--|
| Масс-спектрометрический LCMS-IT-TOF | Раствор п-нитрофенола в воде (для отрицательной ионизации), 0,02 мг/дм ³ | 1 | Для режима ESI вода: ацетонитрил с объемным отношением 10/90 | 0,2-0,5 | <p>Режим ручного анализа (отрицательная ионизации); Температура CDL: 250 °С; Температура блока нагревателя: 200 °С; Напряжение на детекторе: 1,6 - 1,7 кВ; Без осушающего газа; Event1: Диапазон масс m/z 120-150. Время сканирования: 300 мс; Время накопления ионов: 100 мс; Количество повторений 1; Event2 Диапазон масс m/z 120-150; Время сканирования: 300 мс. Время накопления ионов: 100 мс. Количество повторений: 1. Исходный ион m/z 138,0196. Производный вторичный ион (Product ion): 138,019; Ширина разброса (Width): 3 а.е.м. Время: 20 мс.</p> |
| Примечание: при наличии термостата колонок устанавливают температуру термостата равную 40 °С. | | | | | |

12 ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

В результате анализа характеристик, полученных в результате поверки, делается вывод о пригодности дальнейшего использования средства измерений. Критериями пригодности являются соответствие полученных значений уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала, отношения сигнал:шум масс-спектрометрического или спектрофлуоресцентного детектора, предела детектирования хроматографа с детекторами, для которых нормируются эти показатели, относительного СКО выходного сигнала и относительного изменения выходного сигнала хроматографа установленным нормам (Приложения Б и В настоящей методики поверки).

13 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

13.1 Результаты поверки хроматографа заносят в протокол.

13.2 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.

13.3 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.

13.4 Знак поверки наносится на свидетельство о поверке.

Начальник отдела ФГБУ "ВНИИМС"



С.В. Вихрова

Начальник сектора ФГБУ "ВНИИМС", к.х.н.



О.Л. Рутенберг

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

ГСО 7478-98 - СО состава водного раствора хлорид-ионов с интервалом допускаемых аттестованных значений от 9,50 до 10,5 вкл. мг/см³ и относительной погрешностью не более ±1 % при P=0,95.

ГСО 7346-96 - СО состава раствора фенола в этаноле с интервалом допускаемых аттестованных значений массовой концентрации от 0,95 до 1,05 вкл., мг/см³ и относительной погрешностью не более ±1 % при P=0,95.

ГСО 8749-2006 - СО состава антрацена в ацетонитриле с, интервалом допускаемых аттестованных значений массовой концентрации от 0,19 до 0,21 вкл., мг/см³ и относительной погрешностью не более ±2 % при P=0,95.

ГСО 11683-2021 - СО молярной концентрации глюкозы в растворе (комплект РГ 2), аттестованное значение молярной концентрации глюкозы 5,00 ммоль/дм³ и границами относительной погрешности аттестованного значения ±3 % при P=0,95.

ГСО 11872-2022 - СО состава кофеина (Кфн СО УНИИМ), интервал допускаемых аттестованных значений массовой доли кофеина от 97,00 до 99,99 % и относительной погрешностью не более ±1 % при P=0,95.

Папаверин гидрохлорид, ФС.2.1.0153.18, массовая доля основного вещества не менее 99% или папаверин гидрохлорид CAS 58-74-2, массовая доля основного вещества не менее 99.

Нитрофенол ч.д.а. по ТУ 6-09-3973-75.

Весы специального (I) или высокого класса точности (II) по ГОСТ 53228-2008 и ГОСТ OIML R 76-1-2011 с пределом взвешивания 20 г или 200 г.

Пипетки градуированные 1–2–2–0,5 по ГОСТ 29227-91(I).

Колбы мерные наливные 2–100–2, 2–200–2, 2–500–2, 2–1000–2 по ГОСТ 1770-74.

Стаканы В–1–50ТС по ГОСТ 25336-82.

Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018.

Метанол по ГОСТ 6995-77.

Допускается использование иных средств измерений и стандартов (в т.ч. СО) с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление контрольного раствора папаверина

2.1.1 Приготовление раствора папаверина с массовой концентрацией 100 мг/ дм³

Взвешивают в стакане 10,0 мг папаверина, добавляют в стакан 25 см³ воды, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Ополаскивают стакан водой, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки водой, перемешивают.

2.1.2 1 см³ раствора, приготовленного по 2.1.1, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят до метки водой. Массовая концентрация полученного раствора 0,1 мг/дм³.

2.1.3 10 см³ раствора, приготовленного по 2.1.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки водой. Массовая концентрация полученного контрольного раствора 0,01 мг/дм³. Раствор хранят при комнатной температуре не более 2 дней.

2.2. Приготовление контрольного раствора п-нитрофенола

2.2.1 20,0 мг п-нитрофенола переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят до метки элюентом (табл.3). Массовая концентрация п-нитрофенола 200 мг/ дм³.

2.2.2 1 см³ раствора, приготовленного по 2.2.1, переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят до метки элюентом. Массовая концентрация п-нитрофенола в полученном растворе 0,2 мг/дм³.

2.2.3 10 см³ раствора, приготовленного по 2.2.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки элюентом. Массовая концентрация полученного контрольного раствора 0,02 мг/дм³.

Раствор хранят при комнатной температуре не более 2 дней.

2.3 Приготовление контрольного раствора фенола

2.3.1 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией фенола 5 мг/дм³

1 см³ ГСО состава фенола в этаноле пипеткой вместимостью 1 см³ переносят в мерную колбу вместимостью 200 см³ и доводят содержимое колбы до метки ацетонитрилом.

2.4 Приготовление контрольного раствора глюкозы с массовой концентрацией 90 мг/дм³

1 см³ ГСО глюкозы с молярной концентрацией глюкозы 5,00 ммоль/дм³ пипеткой переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³ и доводят содержимое колбы до метки дистиллированной водой.

2.5 Приготовление контрольных растворов хлорид-ионов

2.5.1 Приготовление контрольных растворов хлорид-ионов с массовой концентрацией 10 мг/дм³.

1 см³ ГСО состава раствора хлорид-ионов пипеткой вместимостью 1 см³ переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и доводят содержимое колбы до метки деионизованной водой.

2.5.2 Приготовление контрольных растворов хлорид-ионов с массовой концентрацией 1 мг/дм³.

10 см³ раствора хлорид-ионов, приготовленного по 2.5.1, пипеткой вместимостью 10 см³ переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят содержимое колбы до метки деионизованной водой.

2.6 Приготовление контрольного раствора антрацена с массовой концентрацией 1 мг/дм³

2.6.1 1 см³ ГСО состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией 200 мг/дм³ помещают в мерную колбу вместимостью 200 см³, доводят раствор до метки ацетонитрилом.

Массовая концентрация антрацена в приготовленном растворе 1 мг/дм³.

2.7 Приготовление контрольного раствора кофеина

2.7.1 Приготовление исходного раствора кофеина

Взвешивают в стакане около 200 мг ГСО состава кофеина, добавляют в стакан 25 мл дистиллированной воды, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Ополаскивают стакан дистиллированной водой, переносят ее в мерную колбу, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Содержание кофеина в исходном растворе (C_0 , мг/дм³) рассчитывают по формуле

$$C_0 = \frac{m}{V_{100} \cdot 10^{-3}} = \frac{m}{0,1}$$

где m – масса кофеина, мг;

V_{100} – вместимость мерной колбы, $V = 100$ см³;

X – массовая доля кофеина в ГСО.

2.7.2 Приготовление контрольного раствора кофеина с массовой концентрацией 10 мг/дм³.

1 см³ исходного раствора кофеина переносят пипеткой вместимостью 1 см³ в мерную колбу вместимостью 200 см³. Доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

| Прибор (детектор) | Уровень флуктуационных шумов | Дрейф нулевого сигнала | Предел детектирования, не более |
|---|-----------------------------------|------------------------------|---|
| Хроматографы LC-10Avp, Prominence с детекторами: спектрофотометрическими SPD-10Avp/10AVvp | $\pm 0,5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п. | $2 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч | $3 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ (по кофеину) |
| спектрофотометрическим на диодной матрице SPD-M10Avp | $\pm 2,5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п. | $2 \cdot 10^{-3}$ е.о.п./ч | $1 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ (по кофеину) |
| масс-спектрометрическим LCMS-2010 | - | - | Отношение сигнал : шум ESI положительный режим (папаверин 10 пг) 100:1 отрицательный режим (п-нитрофенол 20 пг) 10:1 АСPI положительный режим 100:1 отрицательный режим 25:1 |
| спектрофлуориметрическим RF-10AXL | - | - | Отношение сигнал : шум для Романовского спектра дистиллированной воды 200:1 |
| | - | - | $1 \cdot 10^{-10}$ г/см ³ (по антрацену) |
| рефрактометрическим RID-10A | $\pm 0,25 \cdot 10^{-8}$ ед.рефр. | $1 \cdot 10^{-7}$ ед.рефр./ч | $5 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ (по глюкозе) |
| кондуктометрическим CDD-10Avp (без подавления фоновой проводимости) | 0,004 мкСм/см | 0,025 мкСм/(см ч) | $5 \cdot 10^{-8}$ г/см ³ (по хлорид-иону) |
| кондуктометрическим CDD-10Avp (с подавлением фоновой проводимости) | 0,004 мкСм/см | 0,025 мкСм/(см ч) | $5 \cdot 10^{-8}$ г/см ³ (по хлорид-иону) |
| электрохимическими Procede, Decade I, II | $2 \cdot 10^{-12}$ А | - | $5 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ (по фенолу) |
| низкотемпературными светорассеивающими ELSD-LT, ELSD-LT II | 2 мВ | 4 мВ/ч | $1 \cdot 10^{-7}$ г/см ³ (по глюкозе) |
| спектрофотометрическими SPD-20A/SPD-20AV | $\pm 0,5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п. | $2 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч | $3 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ (по кофеину) |
| спектрофотометрическим на диодной матрице SPD-M20A | $\pm 2,5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п. | $2 \cdot 10^{-3}$ е.о.п./ч | $3 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ (по кофеину) |
| спектрофлуориметрическим RF-20A | - | - | Отношение сигнал:шум для Романовского спектра дистиллированной воды 600:1 |

| Прибор (детектор) | Уровень флуктуационных шумов | Дрейф нулевого сигнала | Предел детектирования, не более |
|--|------------------------------|----------------------------|--|
| спектрофлуориметрическим RF-20Ахs | - | - | Отношение сигнал : шум для Романовского спектра дистиллированной воды 1000:1 |
| масс-спектрометрическим LCMS-2020 | - | - | Отношение сигнал : шум ESI положительный режим (папаверин 10 пг) 1500:1 отрицательный режим (п-нитрофенола 20 пг) 150:1 АСPI положительный режим (папаверин 10 пг) 1000:1 отрицательный режим (20 пг п-нитрофенола) 250:1 |
| времяпролетным масс-спектрометрическим LCMS-IT-TOF | - | - | Отношение сигнал : шум ESI положительный режим (папаверин 10 пг) 100:1 ESI отрицательный режим (п-нитрофенол 20 пг) 10:1 |
| Хроматографы жидкостные LC-2010А и LC-2010С со спектрофотометрическим детектором | $\pm 1 \cdot 10^{-5}$ е.о.п | $3 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч | $3 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ (по кофеину) |
| Хроматограф ионный PIA-1000 | - | - | $5 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ (по хлорид-иону) |

ПРИЛОЖЕНИЕ В

| Прибор (детектор) | Относительное изменение выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы | Относительное СКО выходного сигнала (%) | |
|---|---|---|--------------|
| | Площадь пика | Время удерживания | Площадь пика |
| Хроматографы LC-10Avp, Prominence с детекторами: спектрофотометрическими SPD-10Avp/10AVvp | ±3 | 1 | 1,5 |
| спектрофотометрическим на диодной матрице SPD-M10Avp | ±3 | 1 | 1,5 |
| масс-спектрометрический LCMS-2010 | - | - | 7 |
| спектрофлуориметрическим RF-10AXL | ±6 | 1 | 4 |
| рефрактометрическим RID-10A | ±2 | 1 | 2 |
| кондуктометрическим CDD-10Avp (с подавлением фоновой проводимости) | ±5 | 1 | 5 |
| кондуктометрическим CDD-10Avp (без подавления фоновой проводимости) | ±5 | 1 | 5 |
| электрохимическими Procede, Decade I, II | ±5 | 1,5 | 5 |
| низкотемпературными светорассеивающими ELSD-LT, ELSD-LT II | - | 1,5 | 5 |
| спектрофотометрическими SPD-20A/SPD-20AV | ±2 | 1 | 1,5 |
| спектрофотометрическим на диодной матрице SPD-M20A | ±2 | 1 | 1,5 |
| спектрофлуориметрическими RF-20A/RF-20Axs | ±3 | 1 | 3 |
| масс-спектрометрическим LCMS-2020 | - | - | 10 |
| времяпролетный масс-спектрометрическим LCMS-IT-TOF | - | - | 10 |
| Хроматографы жидкостные LC-2010A и LC-2010C со спектрофотометрическим детектором | ±2 | 1 | 5 |
| Хроматограф ионный PIA-1000 | ±5 | 1 | 5 |