

СОГЛАСОВАНО

Директор

ФБУ «Марийский ЦСМ»

А.Н. Бодров

«30» мая 2022 г.

М.П.



Государственная система обеспечения единства измерений

## **ХРОМАТОГРАФЫ ЖИДКОСТНЫЕ "ХРОМАТЭК – КРИСТАЛЛ ВЭЖХ 2014"**

Методика поверки

МП 214.2.840.096-01Д

г. Йошкар-Ола

2022 г.

## Содержание

|   |    |
|---|----|
| 1. Общие положения  | 4  |
| 2. Перечень операции поверки  | 4  |
| 3. Требования к условиям проведения поверки   | 5  |
| 4. Требования к специалистам, осуществляющим поверку  | 5  |
| 5. Метрологические и технические требования к средствам поверки   | 6  |
| 6. Требования по обеспечению безопасности проведения поверки  | 8  |
| 7. Внешний осмотр   | 9  |
| 8. Подготовка к поверке и опробование   | 9  |
| 9. Проверка программного обеспечения  | 15 |
| 10. Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям | 16 |
| 11. Оформление результатов поверки  | 19 |
| Приложение А  | 21 |
| Приложение Б  | 23 |
| Приложение В  | 25 |

## 1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика поверки распространяется на хроматографы Хроматэк – Кристалл ВЭЖХ 2014, изготовленные по ТУ 4381-025-12908609-2014 (далее – хроматографы), используемые в качестве рабочих средств измерений в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений содержания органических и элементарноорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах и государственной поверочной схемой для средств измерений содержания неорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах.

При поверке должна быть обеспечена прослеживаемость хроматографов к ГЭТ 208-2019 Государственный первичный эталон единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии и ГЭТ 176-2019 Государственный первичный эталон единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии.

Допускается проводить периодическую поверку хроматографа в сокращенном объеме (с меньшим или большим количеством детекторов и других устройств, чем указано в комплектности хроматографа). Поверка в сокращенном объеме проводится на основании письменного заявления владельца хроматографа или лица, представившего его на поверку, оформленного в произвольной форме.

Действие методики распространяется вновь выпускаемые хроматографы.

## 2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

При проведении первичной и периодической поверок выполняют операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

| Наименование операции поверки                            | Обязательность выполнения операции поверки при |                   |                       | Номер раздела (пункта) методики поверки, в соответствии с которым выполняется операция поверки |
|--|--|-------------------|-----------------------|--|
|  | первичной поверке                              |                   | периодической поверке |  |
|  | выпуск из производства                         | выпуск из ремонта |                       |  |
| Внешний осмотр   | Да   | Да                | Да                    | 7  |
| Подготовка к поверке и опробование                       |  |                   |                       | 8.2  |
| определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала | Да   | Да                | Да <sup>1)</sup>      | 8.2.2  |
| определение дрейфа нулевого сигнала                      | Да   | Да                | Да <sup>1)</sup>      | 8.2.3  |
| определение предела детектирования                       | Да   | Да                | Да <sup>1)</sup>      | 8.2.4  |
| Проверка программного обеспечения                        | Да   | Нет               | Да                    | 9  |

|   |     |     |                  |      |
|---|-----|-----|------------------|------|
| Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям   |     |     |                  | 10   |
| определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала  | Да  | Да  | Да <sup>1)</sup> | 10.1 |
| определение изменения выходного сигнала за 8 ч непрерывной работы хроматографа  | Нет | Да  | Да               | 10.2 |
| определение показателей точности результатов измерений, установленных в НД на методику измерений*   | Нет | Нет | Да <sup>2)</sup> | 10.3 |
| <sup>1)</sup> При отсутствии НД на методику измерений, аттестованную в установленном порядке.<br><sup>2)</sup> При наличии НД на методику измерений, аттестованную в установленном порядке. |     |     |                  |      |

\*МВИ – для средств измерений, используемых в государствах, входящих в Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации.

Допускается проводить периодическую поверку хроматографа с меньшим или большим количеством детекторов и других устройств, чем указано в комплектности хроматографа, на основании письменного заявления владельца хроматографа.

Если при проведении той или иной операции поверки получен отрицательный результат, поверка прекращается и хроматографы признают не прошедшими поверку.

### 3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки должны соблюдаться следующие условия:

- температура окружающей среды (20 ± 5) °С;
- относительная влажность не более 80 %;
- атмосферное давление от 84 до 106 кПа
- напряжение переменного тока (220 ± 22) В;
- частота переменного тока (50 ± 1) Гц;
- механические воздействия, внешние электрические и магнитные поля, влияющие на работу хроматографа, должны отсутствовать.

### 4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

4.1 Поверителем хроматографа может быть физическое лицо – сотрудник юридического лица или индивидуального предпринимателя, аккредитованного на право выполнения работ по поверке средств измерений, проводящий поверку в порядке, установленном действующими нормативными документами в области обеспечения единства средств измерений.

4.2 Поверитель должен быть ознакомлен с эксплуатационными документами на поверяемый хроматограф.

## 5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

5.1 При проведении поверки применяют средства поверки (приборы, оборудование, материалы и реактивы), указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

| Операции поверки, требующие применение средств поверки | Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки  | Перечень рекомендуемых средств поверки   |
|--|---|--|
| п. 3 Контроль условий поверки                          | <p>Средства измерений температуры окружающей среды, относительной влажности воздуха, атмосферного давления<br/>           Диапазон измерений:<br/>           - температуры воздуха от минус 10 до плюс 60 °С,<br/>           - относительной влажности от 0 до 100 %;<br/>           - давления от 300 до 1200 гПа<br/>           Предел допускаемой погрешности измерений:<br/>           - температуры воздуха <math>\pm 0,4</math> °С;<br/>           - относительной влажности <math>\pm 3</math> %;<br/>           - давления <math>\pm 5</math> гПа</p> <p>Средства измерений напряжения и частоты питающей сети<br/>           Диапазон измерений:<br/>           - напряжения до 400 В<br/>           - частоты до 51,2 Гц<br/>           Предел допускаемой абсолютной погрешности измерений:<br/>           - напряжения <math>\pm(0,01 \cdot U + 0,3 \text{ В})</math>,<br/>           - частоты <math>\pm(0,001 \cdot F + 0,01 \text{ Гц})</math></p> | <p>Прибор комбинированный<br/>           Testo 622<br/>           (рег. № 53505-13)</p> <p>Мультиметр цифровой<br/>           Testo 760-1,<br/>           (рег. № 65373-16)</p>                  |
| п. 8.1 Подготовка к поверке                            | <p>Весы лабораторные<br/>           Наибольший предел взвешивания 220 г.<br/>           КТ специальный (I)</p> <p>Колбы мерные<br/>           Номинальная вместимость: (5-2000) см<sup>3</sup><br/>           Предел допускаемой абсолютной погрешности <math>\pm(0,05-1,20)</math> см<sup>3</sup></p> <p>Пипетки градуированные<br/>           Номинальная вместимость: (1-25) см<sup>3</sup><br/>           Класс точности 2</p>  | <p>Весы лабораторные<br/>           (рег. № 28158-07)</p> <p>Колбы исполнений 1, 2, 2а<br/>           (рег. № 25280-08)</p> <p>Пипетки градуированные тип 1<br/>           (рег. № 55939-13)</p> |

|  |   |   |
|--|---|---|
|  | <p>Ацетонитрил для жидкостной хроматографии<br/>Массовая доля основного вещества не менее 99,9 %</p> <p>Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная) по ГОСТ Р 52501-05</p> <p>Колонка ВЭЖХ Amino<br/>250 мм x 4,6 мм, 5 мкм</p> <p>Колонка ВЭЖХ C18<br/>150 мм x 4,6 мм, 5 мкм</p> <p>Колонка ВЭЖХ анионообменная<br/>250 мм x 4,0 мм, 9 мкм</p> <p>Колонка ВЭЖХ катионообменная<br/>125 мм x 4,6 мм, 5 мкм</p>  | <p>Ацетонитрил хч,осч</p> <p>Степень чистоты 1</p> <p>ProteCol Amino 2CN-05R45P (SGE)</p> <p>ProteCol C18 2C183-05N46P (SGE)</p> <p>Shodex IC SI-90 4E<br/>F6995244</p> <p>Shodex IC YS-50<br/>F7122000</p> |
| <p>п. 8.2 Опробование</p> <p>п. 10 Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям</p> | <p>Микрошприц для ВЭЖХ<br/>Вместимость 100 мкл,</p> <p>Микрошприц для ВЭЖХ<br/>Вместимость 250 мкл</p> <p>Азот особой чистоты<br/>ГОСТ 9293-74</p> <p>СО бензола<br/>Диапазон молярной доли основного вещества, от 99,30 % до 99,99 %<br/>Границы допускаемого значения абсолютной погрешности аттестованного значения <math>\pm 0,20</math> %.</p> <p>СО состава раствора фенола<br/>Диапазон массовой концентрации фенола от 0,95 до 1,05 г/дм<sup>3</sup>,<br/>Границы допускаемого значения относительной погрешности аттестованного значения <math>\pm 1,0</math> %.</p> <p>СО состава водного раствора глюкозы<br/>Молярная концентрация 20,00 ммоль/дм<sup>3</sup><br/>Границы допускаемого значения относительной погрешности ат-</p> | <p>005300 100F-LC (SGE)</p> <p>006300 250F-LC (SGE)</p> <p>Сорт 2</p> <p>ГСО 7141-95</p> <p>ГСО 7346-96</p> <p>ГСО 11683-2021</p>   |

|  |  |   |
|--|--|---|
|  | <p>тестованного значения <math>\pm 3,0</math> %.</p> <p>СО состава раствора бенз(а)пирена<br/>         Диапазон массовой концентрации бенз(а)пирена от 95 до 105 мг/см<sup>3</sup><br/>         Границы допускаемого значения относительной погрешности аттестованного значения <math>\pm 2,0</math> %</p> <p>СО состава раствора антрацена в ацетонитриле<br/>         Диапазон массовой концентрации антрацена от 0,19 до 0,21 мг/см<sup>3</sup><br/>         Границы допускаемого значения относительной погрешности аттестованного значения <math>\pm 2,0</math> %.</p> <p>СО состава раствора хлорид-ионов<br/>         Диапазон массовой концентрации хлорид-ионов от 9,5 до 10,5 мг/см<sup>3</sup><br/>         Границы допускаемого значения относительной погрешности аттестованного значения <math>\pm 1</math> %.</p> <p>СО состава раствора ионов натрия<br/>         Диапазон массовой концентрации ионов натрия от 0,95 до 1,05 мг/см<sup>3</sup><br/>         Границы допускаемого значения относительной погрешности аттестованного значения <math>\pm 1,0</math> %.</p> | <p>ГСО 7515-98</p> <p>ГСО 8749-2006</p> <p>ГСО 7813-2000</p> <p>ГСО 7474-98</p> |
|--|--|---|

5.2 Допускается использовать другие средства поверки, вспомогательные материалы и оборудование, метрологические и технические характеристики которых обеспечивают требуемую точность передачи единиц величин поверяемому хроматографу.

Допускается проводить поверку хроматографа только по одному из контрольных веществ, заявленных для данного детектора.

5.3 При наличии нормативной документации на методику измерений по ГОСТ 8.563 колонки, используемые при поверке, должны соответствовать требованиям, указанным в соответствующем разделе методики измерений.

## 6 ТРЕБОВАНИЯ ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

6.1 При проверке хроматографа должны соблюдаться действующие «Правила устройства электроустановок» (ПУЭ), «Правила технической эксплуатации электроустановок

потребителей» (ПТЭЭП), «Межотраслевые правила по охране труда (правила безопасности) при эксплуатации электроустановок».

6.2 В помещении, где проводится поверка хроматографа количество горючих газов и легковоспламеняющихся веществ должно быть в количествах недостаточных для создания взрывоопасной смеси.

6.3 Источниками опасности комплекса являются:

- токоведущие части хроматографа, находящиеся под напряжением;
- жидкостные магистрали высокого давления (до 42 МПа);
- газовые магистрали высокого давления 0,5 МПа (при работе с ДИС);
- ультрафиолетовое излучение в СФД, ДДМ, ФД;
- химические реактивы при повреждении или демонтаже жидкостных магистралей (капилляров и фитингов);
- внутренние поверхности термостата колонок, имеющие высокую температуру.

6.4 Все составные части хроматографа, имеющие силовые цепи, должны быть заземлены. Заземление осуществляется с помощью сетевых вилок и дополнительного заземления (при наличии). Контакты «L» сетевых розеток для подключения составных частей хроматографа должны быть заземлены (соединены с контуром внешнего заземления) с помощью гибких медных проводов сечением не менее 1,5 мм<sup>2</sup>.

Дополнительное заземление составных частей (включая системный блок компьютера; монитор и принтер допускается дополнительно не заземлять) осуществляется соединением клемм дополнительного заземления этих частей с контуром заземления (с помощью шин дополнительного заземления, входящих в комплекты поставки составных частей).

6.5 При использовании токсичных и едких соединений в качестве элюентов необходимо использовать средства индивидуальной защиты для избегания контакта с кожей и дыхательными путями.

6.6 При проведении анализов и использовании в качестве элюентов горючих, вредных и агрессивных веществ должны соблюдаться меры пожарной безопасности и правила техники безопасности, предусмотренные в специальных инструкциях, разрабатываемых потребителем в соответствии со спецификой применяемых веществ

## 7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР

При внешнем осмотре устанавливаются следующее:

- наличие эксплуатационной документации;
- отсутствие механических повреждений;
- соответствие комплектности хроматографа и номеров его составных частей требованиям технической документации и паспортным данным;
- четкость маркировки.

Пломбирование хроматографов не предусмотрено.

Хроматографы, не соответствующие вышеуказанным требованиям к дальнейшей поверке не допускают.

## 8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ

8.1 Перед проведением поверки должны быть выполнены следующие подготовительные работы:

- подготовлены соответствующие контрольные растворы. Инструкция по приготовлению контрольных растворов приведена в приложении А;
- подготовлены колонки в соответствии с нормативной документацией по проведению анализа. Подготовка колонок описана в приложении В;



При наличии нормативной документации на МВИ по ГОСТ 8.563 подготовительные работы должны быть проведены в соответствии с требованиями раздела о подготовке к проведению измерений МВИ.

## 8.2 Опробование

8.2.1 При определении уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала вместо колонки установить капилляр 214.5.150.043 (внутренний диаметр 0,08 мм (0,003"), длина 10 см) или иное гидросопротивление для создания в системе давления (минимум 0,1 МПа). Допускается производить определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала детекторов с установленной хроматографической колонкой при условии, что она не ухудшает их характеристики.

При определении уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала с установленной хроматографической колонкой необходимо убедиться, что колонка совместима с используемым элюентом, иначе колонка может прийти в негодное состояние.

При необходимости использования в качестве элюента бинарных смесей, предпочтительно использование предварительно смешанных растворов.

Все подключения, задание режимов работы при этой и последующих проверках выполняют в соответствии с руководствами по эксплуатации хроматографа 214.2.840.096РЭ.

Задают режим работы хроматографа в соответствии с таблицей 3.

Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала для каждого из детекторов выполняют без ввода пробы в программе «Хроматэк Аналитик» не ранее, чем через 2 часа после задания соответствующего режима.

Определение дрейфа нулевого сигнала допускается совмещать с определением уровня флуктуационных шумов. При этом для расчета уровня шумов выбирается участок хроматограммы продолжительностью не менее 1 мин.

При проверке уровня шумов задается фильтрация по Хеммингу.

Величина уровня флуктуационных шумов ЭХД определяется не менее чем через 5 минут после остановки потока элюента (для стабилизации сигнала).

Таблица 3 – Режимы детекторов для измерения шума и дрейфа

| Детектор    | Наименование параметра               | Значение параметра             |
|-------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| СФД,<br>ДДМ | Температура термостата колонок, °С   | 35                             |
|             | Длина волны излучения, нм            | 254                            |
|             | Элюент                               | Вода для лабораторного анализа |
|             | Поток элюента, мл/мин                | 1                              |
| РД          | Температура термостата колонок, °С   | 35                             |
|             | Температура термостата ячейки, °С    | 35                             |
|             | Элюент                               | Вода для лабораторного анализа |
|             | Поток элюента, мл/мин                | 1                              |
| ДИС         | Температура термостата колонок, °С   | 35                             |
|             | Температура испарительной трубки, °С | 45                             |
|             | Температура распылителя, °С          | 10                             |
|             | Элюент                               | Вода для лабораторного анализа |
|             | Поток элюента, мл/мин                | 0,6                            |
| ЭХД         | Температура термостата, °С           | 35                             |

|   |  |   |
|---|--|---|
|   | Поток элюента, мл/мин                      | 0,8; на время измерения шума насос выключить  |
|   | Элюент                                     | 50 % однопроцентного раствора $H_3PO_4$ в воде + 4 ммоль/л NaCl и 50 % ацетонитрила |
|   | Потенциал рабочего электрода, В            | 0,8   |
| КД  | Температура термостата колонок, °С         | 35  |
|   | Температура кондуктометрической ячейки, °С | 35  |
|   | Элюент                                     | Вода для лабораторного анализа  |
|   | Поток элюента, мл/мин                      | 1,0   |
| Примечания:   |  |   |
| Не указанные в таблице параметры режимов детекторов задают в соответствии с указаниями руководства по эксплуатации хроматографа для соответствующих детекторов.   |  |   |
| Режимы детекторов, указанные в таблице, приведены для справки и могут быть изменены в процессе поверки. При этом оптимальные режимы фиксируются в хроматограммах первичной поверки, которые поставляются с хроматографом. |  |   |

### 8.2.2 Определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала.

Регистрируют сигнал детектора в течение интервала времени не менее 1 минуты (температура окружающей среды за время анализа не должна меняться более чем на 2 °С).

Уровень флуктуационных шумов  $\Delta_x'$  рассчитывают в программе «Хроматэк Аналитик» по формуле:

$$\Delta_x' = \Delta_x / K_{np} \quad (1)$$

где  $\Delta_x$  – максимальное значение амплитуды повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с, причем одиночные возмущения нулевого сигнала длительностью не более 1 с на половине амплитуды возмущения не учитываются, В;

$K_{np}$  – коэффициент преобразования усилителя выходного сигнала:

- для СФД  $K_{np} = 1$ ;
- для ДДМ  $K_{np} = 1$ ;
- для РД  $K_{np} = 1$ ;
- для КД  $K_{np} = 1$ ;
- для ДИС  $K_{np} = 1$ ;
- для ЭХД  $K_{np} = 10^6$  (В/А);

Уровень флуктуационных шумов  $\Delta_x'$  нулевого сигнала детектора не должен превышать нижеуказанных значений:

- СФД 0,9·10<sup>-5</sup> В (для аналитической хроматографии);  
1,6·10<sup>-5</sup> В (для полупрепаративной хроматографии);
- ДДМ 2,5·10<sup>-5</sup> В (для аналитической хроматографии);  
3,0·10<sup>-5</sup> В (для полупрепаративной хроматографии);
- РД 1,5·10<sup>-5</sup> В (для аналитической хроматографии);

|     |  |
|-----|--|
|     | $1,0 \cdot 10^{-3}$ В (для полупрепаративной хроматографии); |
| КД  | $1,1 \cdot 10^{-4}$ В (для аналитической хроматографии);     |
| ДИС | $0,7 \cdot 10^{-3}$ В (для аналитической хроматографии);     |
| ЭХД | $0,7 \cdot 10^{-10}$ А (для аналитической хроматографии).    |

Если уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала детекторов не соответствует требуемым значениям, поверка прекращается.

### 8.2.3 Определение дрейфа нулевого сигнала

За дрейф нулевого сигнала принимают наибольшее смещение уровня нулевого сигнала в течение 1 ч. В случае, если на хроматограмме не наблюдается увеличение дрейфа, допускается сокращать время проверки нулевого сигнала до 20 мин. При этом программное обеспечение автоматически экстраполирует значения дрейфа на интервал 1 час.

Проверку дрейфа нулевого сигнала допускается совмещать с определением уровня флуктуационных шумов.

Для определения дрейфа нулевого сигнала задают режим в соответствии с таблицей 3 и после стабилизации системы, но не ранее, чем через 15 минут после задания режима, записывают сигнал каждого из детекторов в течение 1 часа (температура окружающей среды за время анализа не должна меняться более чем на 2 °С).

Значение дрейфа нулевого сигнала рассчитывают в программе «Хроматэк Аналитик» по формуле:

$$\Delta'_y = \Delta_y / K_{np} \quad (2)$$

где  $\Delta_y$  – смещение уровня нулевого сигнала, зарегистрированное на выходе усилителя входного сигнала детектора, В

Дрейф нулевого сигнала детектора не должен превышать нижеуказанных значений:

|     |  |
|-----|--|
| СФД | $2,0 \cdot 10^{-4}$ В/ч (для аналитической хроматографии);     |
|     | $3,0 \cdot 10^{-4}$ В/ч (для полупрепаративной хроматографии); |
| ДДМ | $5,0 \cdot 10^{-4}$ В/ч (для аналитической хроматографии);     |
|     | $1,0 \cdot 10^{-3}$ В/ч (для полупрепаративной хроматографии); |
| РД  | $2,0 \cdot 10^{-3}$ В/ч (для аналитической хроматографии);     |
|     | $5,0 \cdot 10^{-3}$ В/ч (для полупрепаративной хроматографии); |
| КД  | $5,0 \cdot 10^{-2}$ В/ч (для аналитической хроматографии);     |
| ДИС | $1,0 \cdot 10^{-3}$ В/ч (для аналитической хроматографии);     |
| ЭХД | $1,5 \cdot 10^{-9}$ А/ч (для аналитической хроматографии).     |

Если уровень дрейфа нулевого сигнала детекторов не соответствует требуемым значениям, поверка прекращается.

Уровни флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала для детектора ФД не нормированы.

### 8.2.4 Определение предела детектирования.

Определение предела детектирования для аналитической хроматографии выполняют с помощью программы «Хроматэк Аналитик».

Задают режим в соответствии с таблицей 4 в зависимости от вида проверяемого детектора. Определение предела детектирования выполняют по истечении установленного времени выхода на рабочий режим.

Таблица 4 – Режимы поверки

| Детектор | Наименование параметров   | Значения параметров   |
|----------|---|---|
| СФД, ДДМ | Температура термостата колонок, °С                                | 35  |
|          | Длина волны излучения, нм   | 254   |
|          | Элюент для анализа бензола и антрацена                            | Вода для лабораторного анализа – 20%<br>Ацетонитрил – 80%   |
|          | Поток элюента, мл/мин   | 1   |
| РД       | Температура термостата колонок, °С                                | 35  |
|          | Температура термостата ячейки, °С                                 | 35  |
|          | Элюент для анализа бензола и глюкозы                              | Вода для лабораторного анализа – 20%<br>Ацетонитрил – 80%   |
|          | Поток элюента, мл/мин   | 1   |
| ФД       | Температура термостата колонок, °С                                | 35  |
|          | Длина волны возбуждения / излучения для анализа антрацена, нм     | 250 / $\geq 325$  |
|          | Длина волны возбуждения / излучения для анализа бенз(а)пирена, нм | 365 / $\geq 405$  |
|          | Элюент для анализа антрацена и бенз(а)пирена                      | Вода для лабораторного анализа – 20%<br>Ацетонитрил – 80%   |
|          | Поток элюента, мл/мин   | 1   |
| ДИС      | Элюент  | Вода для лабораторного анализа – 20%<br>Ацетонитрил – 80%   |
|          | Поток элюента, мл/мин   | 0,6   |
| ЭХД      | Температура термостата, °С  | 35  |
|          | Поток элюента, мл/мин   | 0,8   |
|          | Элюент  | 1% раствор $H_3PO_4$ и 4 ммоль/л $NaCl$ в воде для лабораторного анализа – 50 %<br>Ацетонитрил – 50 % |
| КД       | Температура термостата колонок, °С                                | 35  |
|          | Температура кондуктометрической ячейки, °С                        | 35  |
|          | Элюент для анионов  | Раствор 1,8 ммоль/л $Na_2CO_3$ +1,7 ммоль/л $NaHCO_3$ в воде для лабораторного анализа                |

|  |   |
|--|---|
| Элюент для катионов (без подавителя электропроводности)                | Раствор 4 ммоль/л HNO <sub>3</sub> в воде для лабораторного анализа |
| Поток элюента для анионов, мл/мин                                      | 1   |
| Поток элюента для катионов (без подавителя электропроводности), мл/мин | 1   |

Значения параметров задают в соответствии с указаниями руководства по эксплуатации 214.2.840.096РЭ для соответствующих детекторов и в зависимости от анализируемых соединений.

Режимы, указанные в таблице, приведены для справки и могут быть изменены в процессе поверки.

Для определения предела детектирования вводят в хроматограф шесть или более раз соответствующую проверяемому детектору пробу в соответствии с таблицей 5 (для детекторов, допускающих определение на двух видах пробы - выбирают любую). Пробы вводят при помощи автоматического дозатора или при помощи крана-дозатора. При вводе пробы в кран-дозатор необходимо вводить количество пробы в 3 - 5 раз большее, чем объем установленной дозы. Объем дозы для всех детекторов 20 мкл.

Таблица 5 – Контрольные растворы и типы колонок

| Детектор | Проба, концентрация  | Наполнение и параметры колонки  |
|----------|--|---|
| СФД, ДДМ | Антрацен в ацетонитриле, 0,1 мг/л<br>Бензол в ацетонитриле, 100 мг/л       | C18, 150 мм x 4,6 мм, 5 мкм   |
| РД       | Глюкоза в воде, 20 ммоль/дм <sup>3</sup><br>Бензол в ацетонитриле, 1 г/л   | Amino, 250 мм x 4,6 мм, 5 мкм<br>C18, 150 мм x 4,6 мм, 5 мкм  |
| ФД       | Антрацен в ацетонитриле, 10 мкг/л<br>Бенз(а)пирен в ацетонитриле, 10 мкг/л | C18, 150 мм x 4,6 мм, 5 мкм   |
| ДИС      | Глюкоза в воде, 20 мг/л  | Amino, 250 мм x 4,6 мм, 5 мкм   |
| ЭХД      | Фенол в этаноле, 1 мг/л  | C18, 150 мм x 4,6 мм, 5 мкм   |
| КД       | Хлорид-ион водный раствор, 10 мг/л<br>Ионов натрия водный раствор, 10 мг/л | Анионообменный сорбент<br>250 мм x 4,0 мм, 9 мкм<br>Катионообменный сорбент,<br>125 мм x 4,6 мм, 5 мкм. |

Значение предела детектирования для всех детекторов  $C_{min}$ , г/мл, рассчитывают в программе «Хроматэк Аналитик» по формуле:

$$C_{min} = \frac{2 \cdot \Delta_x \cdot G}{\bar{S} \cdot V} \quad (3)$$

где  $G$  – масса контрольного компонента, г;

$\bar{S}$  – среднее арифметическое значение площади пика, В·с;

$V$  – величина расхода элюента, мл/с.

Массу контрольного компонента  $G$  при использовании жидкой пробы определяют по формуле:

$$G = V_S \cdot C_0, \quad (4)$$

где  $V_S$  – объем стандартной смеси, мл;

$C_0$  – концентрация контрольного компонента, г/мл.

Предел детектирования детекторов не должен превышать нижеуказанных значений:

|     |  |
|-----|--|
| СФД | 1,0·10 <sup>-8</sup> г/мл по бензолу в ацетонитриле;<br>1,0·10 <sup>-10</sup> г/мл по антрацену в ацетонитриле;        |
| ДДМ | 2,5·10 <sup>-8</sup> г/мл по бензолу в ацетонитриле;<br>1,5·10 <sup>-10</sup> г/мл по антрацену в ацетонитриле;        |
| РД  | 1,5·10 <sup>-7</sup> г/мл по бензолу в ацетонитриле;<br>3,0·10 <sup>-7</sup> г/мл по глюкозе в воде;                   |
| КД  | 3,0·10 <sup>-9</sup> г/мл по хлорид-иону;<br>4,0·10 <sup>-8</sup> г/мл по натрий-иону;                                 |
| ДИС | 3,0·10 <sup>-8</sup> г/мл по глюкозе в воде;   |
| ЭХД | 1,3·10 <sup>-10</sup> г/мл по фенолу;  |
| ФД  | 2,5·10 <sup>-11</sup> г/мл по антрацену в ацетонитриле;<br>2,5·10 <sup>-11</sup> г/мл по бенз(а)пирену в ацетонитриле; |

Определение предела детектирования допускается совмещать с определением относительного СКО.

## 9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

9.1 Определение версии файла метрологически значимого модуля ПО Analytic3Core.dll.

С помощью программы MS Windows «Проводник» найти в папке установки ПО «Хроматэк Аналитик» файл Analytic3Core.dll и открыть диалог «Свойства файла».

Файл Analytic3Core.dll должен иметь версию 3.0.0.2.

9.2 Определение хэш-кода файла метрологически значимого модуля ПО AnlCheck-up.dll.

• На установочном диске с ПО «Хроматэк Аналитик» войти в папку «Utils» и запустить программу md5summer.exe.

• Выбрать папку, в которую было установлено ПО «Хроматэк Аналитик» (см. документ Программное обеспечение «Хроматэк Аналитик». Руководство пользователя 214.00045-51И).

• Нажать «Create sums».

• Выбрать файл Analytic3Core.dll и нажать «Add».

• Нажать «ОК».

• Сохранить под любым именем файл с расширением \*.md5.

• Открыть с помощью блокнота сохраненный файл с расширением \*.md5 и сравнить приведенный там хэш-код, со значением, указанным в документе Программное обеспечение «Хроматэк Аналитик». Паспорт 214.00045-51ПС.

При совпадении хэш-кодов, программное обеспечение считается идентифицированным.

## 10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ ХРОМАТОГРАФА МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

10.1 Определение относительного среднеквадратического отклонения (СКО) выходного сигнала.

Задают режим в соответствии с таблицей 4. Определение относительного СКО выполняют по истечении установленного времени выхода на рабочий режим в программе «Хроматэк Аналитик». Допускается определение относительного СКО совмещать с определением предела детектирования.

Для определения относительного СКО вводят в хроматограф шесть или более раз соответствующую проверяемому детектору пробу (таблица 5). Пробы вводят при помощи автоматического дозатора или при помощи крана-дозатора. При вводе пробы в кран-дозатор необходимо ввести количество пробы в 3 - 5 раз большее, чем объем установленной дозы.

Программой определяются значения выходного сигнала:  $(t_i, h_i, S_i)$  и рассчитываются их средние арифметические значения  $(\bar{t}, \bar{h}, \bar{S})$ .

Значения относительного СКО в процентах для времени удерживания ( $\sigma_t$ ), высоты ( $\sigma_h$ ) и площади пика ( $\sigma_s$ ) рассчитывается в программе «Хроматэк Аналитик» по формулам:

$$\sigma_t = \frac{100}{\bar{t}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_i - \bar{t})^2}{n-1}}, \quad (5)$$

$$\sigma_h = \frac{100}{\bar{h}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (h_i - \bar{h})^2}{n-1}}, \quad (6)$$

$$\sigma_s = \frac{100}{\bar{S}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - \bar{S})^2}{n-1}} \quad (7)$$

где  $n$  – число результатов измерений, полученное после исключения аномальных результатов.

Для определения аномальных результатов рассчитывают среднеквадратическое отклонение информативных параметров выходного сигнала  $x$  ( $\bar{t}, \bar{h}, \bar{S}$ ) по формуле

$$x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n-1}} \quad (8)$$

где  $\bar{y}$  – среднее арифметическое значение информативного параметра выходного сигнала.

Находят отношение для подозреваемого в аномальности результата наблюдений  $U_i$  по формуле

$$U_i = \frac{|y_i - y|}{x} \quad (9)$$

Полученный результат сравнивают с величиной  $\beta$  из таблицы 6 для данного объема выборки.

Таблица 6 – Предельные значения  $\beta$

|         |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| N       | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11   |
| $\beta$ | 1,15 | 1,46 | 1,67 | 1,82 | 1,94 | 2,03 | 2,11 | 2,18 | 2,23 |

Продолжение таблицы 6

|         |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| N       | 12   | 13   | 14   | 15   | 16   | 17   | 18   | 19   | 20   |
| $\beta$ | 2,29 | 2,33 | 2,37 | 2,41 | 2,44 | 2,48 | 2,50 | 2,53 | 2,56 |

Если  $U_i \geq \beta$ , то результат наблюдения аномален и его исключают из серии измерений.

Все вычисления проводятся с помощью программного обеспечения.

Полученные значения относительного СКО должны быть не более, указанных в таблице 7.

Таблица 7 – Относительное СКО выходного сигнала хроматографа

| Тип детектора | Относительное СКО выходного сигнала хроматографа, %, не более |              |                   |
|---------------|---|--------------|-------------------|
|               | высота пика   | площадь пика | время удерживания |
| СФД           | 2   | 2            | 1                 |
| ДДМ           | 2   | 2            | 1                 |
| РД            | 2   | 2            | 1                 |
| КД            | 3   | 3            | 1                 |
| ДИС           | 3   | 3            | 1                 |
| ЭХД           | 3   | 3            | 1                 |
| ФД            | 2   | 2            | 1                 |

Хроматографы, значение относительного СКО выходного сигнала которых не соответствуют вышеуказанным требованиям, к дальнейшей поверке не допускают.

10.2 Определение относительного изменения выходного сигнала хроматографа за 8 часов непрерывной работы.



Выполняют операции по п. 10.1 и определяют средние арифметические значения информативных параметров выходного сигнала  $\bar{X}(t, \bar{h}, \bar{S})$ .

Через 8 часов непрерывной работы хроматографа снова проводят измерения по п. 10.1 и определяют средние арифметические значения параметров  $\bar{X}_i(t_i, \bar{h}_i, \bar{S}_i)$ .

Относительное изменение параметров выходного сигнала (времени удерживания, высоты, и площади пика)  $\delta_i$ , %, за 8 часов непрерывной работы определяют по формуле

$$\delta_i = \frac{\bar{X}_i - X}{X} 100 \quad (10)$$

Полученные значения относительного изменения параметров выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа  $\delta_i$ , должны быть не более указанных в таблице 8.

Таблица 8 – Относительное изменение выходного сигнала хроматографа за 8 часов непрерывной работы

| Тип детектора | Относительное изменение выходного сигнала хроматографа за 8 часов непрерывной работы, %, не более |              |                   |
|---------------|---|--------------|-------------------|
|               | высота пика   | площадь пика | время удерживания |
| СФД           | ±2  | ±2           | ±1                |
| ДДМ           | ±2  | ±2           | ±1                |
| РД            | ±5  | ±5           | ±1                |
| КД            | ±3  | ±3           | ±1                |
| ДИС           | ±5  | ±5           | ±1                |
| ЭХД           | ±5  | ±5           | ±1                |
| ФД            | ±4  | ±4           | ±1                |

Определение относительного изменения выходного сигнала допускается совмещать с определением предела детектирования и относительного СКО.

10.3 Определение показателей точности результатов измерений, установленных в НД на методику измерений.

Определение показателей точности результатов измерений проводят в условиях и на образцах для контроля, указанных в НД на МВИ.

Задают значения параметров хроматографа, установленные в НД на методику измерений. Вводят в хроматограф контрольный образец, указанный в методике измерений.

Полученный результат измерения (С) должен удовлетворять условию:

$$| C - C_q | \leq K, \quad (11)$$

где  $C_q$  – действительное значение содержания компонента в контрольном образце;

$K$  – норматив оперативного контроля точности, указанный в НД на методику измерений.

## **11 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ**

11.1 Сведения о результатах поверки хроматографов в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений РФ передаются в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений.

11.2 Положительные результаты первичной поверки хроматографа оформляют записью в формуляре хроматографа, удостоверенной подписью и клеймом поверителя.

11.3 Результаты поверки хроматографа заносят в протокол поверки по форме, рекомендуемой в приложении Б. Возможно оформление протокола поверки в произвольной форме с указанием всех характеристик, рекомендуемых формой протокола, приведенного в Приложении Б.

11.4 При положительных результатах поверки дополнительно по заявлению владельца средства измерений или лица, предоставившего его на поверку, выдается свидетельство о поверке на бумажном носителе. Знак поверки в виде оттиска клейма и (или) наклейки наносится на свидетельство о поверке.

11.5 При отрицательных результатах поверки дополнительно по заявлению владельца средства измерений или лица, предоставившего его на поверку выдается извещение о непригодности к применению.

## **Перечень принятых сокращений**

СФД – спектрофотометрический детектор;  
ДДМ – детектор диодно-матричный;  
РД – рефрактометрический детектор;  
КД – кондуктометрический детектор;  
ДИС – детектор испарительный светорассеяния;  
ЭХД – электрохимический детектор;  
ФД – флуориметрический детектор;  
СО – стандартный образец;  
НД – нормативная документация;  
МВИ – методика выполнения измерений;  
ПК – персональный компьютер;  
ПО – программное обеспечение;  
СКО – среднее квадратическое отклонение;  
РЭ – руководство по эксплуатации.  
ТУ – технические условия;  
ЭД – эксплуатационная документация;  
РФ – Российская Федерация.

**ПРИЛОЖЕНИЕ А****(рекомендуемое)****Инструкция по приготовлению контрольных растворов**

Настоящая инструкция устанавливает методику приготовления контрольных растворов, предназначенных для контроля метрологических характеристик хроматографа.

Диапазон содержания компонента в контрольном образце должен быть от 0,01 до 1000 мг/дм<sup>3</sup>. Относительная погрешность массовой концентрации контрольного компонента не превышает 10 %.

Средства измерений, материалы и реактивы приведены в разделе 5 настоящей методики поверки.

**1 Процедура приготовления растворов**

1.1 Растворы готовят объемно - весовым методом. Массовую концентрацию контрольного компонента ( $C_0$ ) определяют по формуле

$$C_0 = \frac{m_i}{V} \quad (\text{A.1})$$

где  $m_i$  – масса контрольного компонента, мг;

$V$  – объем приготовленного раствора, см<sup>3</sup>.

1.2 Исходные вещества, используемые для приготовления раствора, выдерживают не менее 2 часов в лабораторном помещении.

1.3 Температура окружающей среды при приготовлении контрольных растворов не должна изменяться более чем на 4 °С.

1.4 Определяют массу ( $m_1$ ) мерной колбы вместимостью  $V$ . Результат взвешивания записывают до первого десятичного знака.

1.5 В мерную колбу вносят необходимое количество контрольного вещества и вновь взвешивают колбу ( $m_2$ ).

1.6 Вычисляют массу контрольного компонента ( $m$ ) в мг

$$m = m_2 - m_1 \quad (\text{A.2})$$

1.7 В колбу с контрольным компонентом вводят небольшое количество растворителя, перемешивают содержимое и доводят объем раствора до метки используемой колбы. Тщательно перемешивают раствор.

1.8 Рассчитывают массовую концентрацию контрольного компонента по формуле А.1.

1.9 Приготовление растворов объемным методом путем последовательного разбавления более концентрированных растворов. Массовую концентрацию контрольного компонента рассчитывают по формулам:

$$C_1 = \frac{C_0 \cdot V_1}{V_k} \quad (\text{A.3})$$

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot V_2}{V_k} \quad (\text{A.4})$$

$$C_n = \frac{C_{n-1} \cdot V_n}{V_k} \quad (\text{A.5})$$

где  $n$  – номер ступени разбавления исходного контрольного раствора с концентрацией  $C_0$ .

$V_1, V_2, V_n$  – аликвотная доля раствора с концентрацией  $C_0, C_1, C_{n-1}$ , соответственно, мг/см<sup>3</sup>.

$V_k$  – вместимость мерной колбы, мл

1.10 Перед каждым разбавлением рассчитывают значение аликвотной доли раствора ( $V_1, V_2, V_n$ ), исходя из заданного значения концентрации контрольного компонента ( $C_0, C_1, C_{n-1}$ ) и концентрации разбавляемого раствора

1.11 В мерную колбу вместимостью  $V_k$  вносят аликвотную долю разбавляемого раствора, доводят объем приготавливаемого раствора до метки используемой колбы и тщательно перемешивают

## 2 Хранение контрольных растворов

2.1 Контрольный раствор хранят в чистых сухих склянках с хорошо притертыми пробками, вдали от источников огня и нагревательных приборов при температуре от 4 до 8 °С.

**ПРИЛОЖЕНИЕ Б**  
**(рекомендуемое)**  
**Форма протокола поверки хроматографа**

Протокол № \_\_\_\_\_  
поверки хроматографа жидкостного «Хроматэк-Кристалл ВЭЖХ 2014», принадлежащего

\_\_\_\_\_   
наименование организации

Изготовитель \_\_\_\_\_  
Год изготовления \_\_\_\_\_  
Порядковый номер по системе нумерации изготовителя \_\_\_\_\_  
Наименование и номера блоков \_\_\_\_\_

**Условия поверки**

температура окружающего воздуха \_\_\_\_\_ (°C)  
атмосферное давление \_\_\_\_\_ кПа  
относительная влажность \_\_\_\_\_ %  
напряжение питания \_\_\_\_\_ В

**1 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала**

| Детектор | Значение уровня шумов |                | Значение дрейфа |                |
|----------|-----------------------|----------------|-----------------|----------------|
|          | по ТУ                 | действительное | по ТУ           | действительное |
|          |                       |                |                 |                |

**2 Определение предела детектирования**

| Детектор | Значение выходного сигнала | Значение предела детектирования |                |
|----------|----------------------------|---------------------------------|----------------|
|          |                            | по ТУ                           | действительное |
|          |                            |                                 |                |

**3 Определение относительного СКО выходного сигнала**

| Детектор | Значение выходного сигнала |       |       | Среднее арифметическое значение выходного сигнала |           |           | Значение относительного СКО выходного сигнала |            |            |                |            |            |  |  |  |  |  |
|----------|----------------------------|-------|-------|---|-----------|-----------|---|------------|------------|----------------|------------|------------|--|--|--|--|--|
|          |                            |       |       |   |           |           | по ТУ   |            |            | действительное |            |            |  |  |  |  |  |
|          | $t_i$                      | $h_i$ | $S_i$ | $\bar{i}$   | $\bar{h}$ | $\bar{S}$ | $\sigma_t$                                    | $\sigma_h$ | $\sigma_S$ | $\sigma_t$     | $\sigma_h$ | $\sigma_S$ |  |  |  |  |  |
|          |                            |       |       |   |           |           |   |            |            |                |            |            |  |  |  |  |  |

**4 Определение относительного изменения выходного сигнала за 8 ч непрерывной работы хроматографа**

| Детектор | Значение выходного сигнала |          |          | Среднее арифметическое значение выходного сигнала |             |             | Значение по ТУ |                |                | Действительное значение |                |                |  |  |  |  |  |
|----------|----------------------------|----------|----------|---|-------------|-------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------|----------------|----------------|--|--|--|--|--|
|          | $t_{ii}$                   | $h_{ii}$ | $S_{ii}$ | $\bar{t}_t$                                       | $\bar{h}_h$ | $\bar{S}_s$ | $\delta_{t,t}$ | $\delta_{t,h}$ | $\delta_{t,S}$ | $\delta_{t,t}$          | $\delta_{t,h}$ | $\delta_{t,S}$ |  |  |  |  |  |
|          |                            |          |          |   |             |             |                |                |                |                         |                |                |  |  |  |  |  |

## 5 Определение показателей точности результатов измерений

| Значение содержания (добавка) контрольного компонента, полученное при измерении выходного сигнала | Значение содержания контрольного компонента по паспорту (расчетное значение добавки) | Норматив оперативного контроля точности по НД на МВИ |
|---|--|--|
|   |  |  |

6 Особые отметки (пробы, режимы, колонки и др.)

7 Приложение (хроматограммы, полученные при поверке)

Заключение по результатам поверки \_\_\_\_\_

Поверку проводил \_\_\_\_\_  
подпись

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_ г.

**ПРИЛОЖЕНИЕ В**  
**(рекомендуемое)**  
**Подготовка хроматографических колонок**

Хроматограф поставляется с протестированными колонками.

При использовании колонок необходимо соблюдать рекомендации по её обслуживанию для продления срока её службы. При длительном хранении колонки необходимо производить её консервацию. Правила консервации и используемый раствор указан в руководстве по эксплуатации колонки.



**Перед началом работы необходимо произвести фильтрацию элюентов. Процедуру фильтрации можно пропустить при использовании чистых реактивов, предназначенных для ВЭЖХ.**

**Перед проведением анализов настоятельно рекомендуется производить фильтрацию проб при помощи специальных фильтров.**

**Для увеличения срока службы колонок рекомендуется использовать предколонку, предотвращающую загрязнение основной колонки.**

Фильтрация элюентов осуществляется при помощи системы для вакуумной фильтрации и дегазации (фильтр-воронка Шотта, устанавливаемая на колбу Бунзена).

Для фильтрации пробы используют одноразовые фильтры из соответствующего материала и с типичными размерами пор 0,22 – 0,45 мкм.

Методика регенерации колонки зависит от типа фазы адсорбента и от веществ, разделение которых проводилось на колонке. Регенерацию колонки следует выполнять в строгом соответствии с рекомендациями производителя.

Если не предполагается использование колонки в течение длительного времени необходимо производить её консервацию. При консервации колонки необходимо следовать рекомендациям производителя.