

Настоящая инструкция распространяется на хроматографы ионные Dionex ICS-900, ICS-1100, ICS-1500, ICS-1600, ICS-2000, ICS-2100, ICS-2500, ICS-4000, ICS-5000/ICS-5000⁺ фирмы "DIONEX", США, с детекторами: кондуктометрическими (CD), фотометрическими (VWD), диодно-матричными (PDA), электрохимическими (ED), зарядовыми QD – и устанавливает методику их первичной и периодической поверок.

Интервал между поверками – 1 год.

1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

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

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта инструкции
Внешний осмотр	4.1
Опробование:	4.2
– определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала	4.2.1–4.2.3
– определение дрейфа нулевого сигнала	4.2.4
Определение метрологических характеристик:	4.3
– определение относительного среднего квадратического отклонения выходных сигналов	4.3.1–4.3.3
– определение относительного изменения выходных сигналов за 8 часов непрерывной работы	4.3.4–4.3.5

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки применяют следующие средства поверки:

- ГСО 7793-2000 состава нитрат-иона, массовая концентрация нитрат-ионов 1 мг/см³, относительная погрешность ±1%;
- ГСО 7474-98 состава ионов натрия, массовая концентрация ионов натрия от 0,95 до 1,05 мг/см³
- МСО 0389:2002 состава глюкозы, концентрация глюкозы 10,00 ммоль/дм³;
- кофеин по ФС 42-0249-07 (1,3,7-Триметил-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион, С8Н10N4O2, М.м. 194,19, содержание основного вещества не менее 99%).
- Вода деионизированная, ГОСТ 25661-83.

Допускается применять другие средства поверки, метрологические характеристики которых соответствуют указанным выше.

3 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С 20 ± 5
- атмосферное давление, кПа 84 ÷ 106,7
- относительная влажность воздуха, % 30 ÷ 90

– напряжение переменного тока, В	220 ± 22
– частота сети, Гц	50 ± 1

3.2 Подготовительные работы выполняют в соответствии с инструкцией по эксплуатации хроматографа.

3.3 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы, назначение и содержание анализируемых компонентов в которых приведены в таблице 2.

3.4 Процедура приготовления контрольных растворов приведена в приложении 1.

Таблица 2

Контрольный раствор	Массовая концентрация компонента, мг/дм ³	Объем пробы, мм ³	Элюент	Скорость потока, см ³ /мин	Детектор
Раствор нитрат-ионов или раствор натрий-ионов	10	25	Деионизованная вода	1,0 (все) 0,01 (капиллярные системы)	Кондуктометрические ICS-900, ICS-1100, ICS-1500, ICS-1600, ICS-2000, ICS-2100, CD ICS-4000, ICS-5000 /ICS-5000 ⁺ , Зарядовые QD ICS-4000, ICS-5000 ICS-5000 ⁺
Кофеин в деионизованной воде	10	25	Деионизованная вода	1,0	Фотометрические VWD, диодноматричные PDA
Глюкоза	10	25	50 ммоль/дм ³ NaOH	0,25	Электрохимические ED ICS-4000 и ICS-5000 /ICS-5000 ⁺ , Аусменный электрод, интегрированная амперометрия, режим волны ААА, (рН, Ag/AgCl референсный электрод)

4 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

4.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности хроматографа паспортным данным;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей
- отсутствие протечек жидкостного тракта хроматографа.

4.2 Опробование

4.2.1. Проверка идентификационных данных программного обеспечения хроматографов. Идентификационные данные ПО должны соответствовать Таблице 1 Описания типа. Функционирование программного обеспечения идентифицируется отображением на экране возможности редактирования доступных областей данных

4.2.2 Проводят определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала. Для сбора данных используют OQ/PQ шаблоны ПО Chromeleon или используют процедуры автоматизации отчета по Приложению 2.

Опробование производят при условиях, указанных в таблице 3, в соответствии с инструкцией по эксплуатации хроматографа.

Для имитации рабочего давления хроматографа между насосом и инжектором устанавливают капилляр с внутренним диаметром 0.075 мм длиной не более 1 м. Для капиллярных систем устанавливают капилляр с внутренним диаметром 0.001 мм длиной не более 0,4 м

Измерения проводят при отключенной колонке. Вместо колонки между инжектором и детектором устанавливают капилляр с внутренним диаметром 0.25 мм длиной не менее 6 м.

Для электрохимических детекторов: устанавливают Au-сменный электрод, режим интегрированная амперометрия, волна AAA, (рН, Ag/AgCl референсный электрод).

После выхода хроматографа на режим записывают в течение часа нулевой сигнал детектора.

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

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

Таблица 3.

Условия поверки	Детекторы			
	Кондуктометрические ICS-900, ICS-1100, ICS-1500, ICS-1600, ICS-2000, ICS-2100, CD ICS-4000, ICS-5000/ICS-5000 ⁺	Зарядовые QD ICS-4000, ICS-5000/ICS-5000 ⁺	Фотометрические VWD, диодно-матричные PDA	Электрохимические ED ICS-4000 и ICS-5000/ICS-5000 ⁺
Элюент	Деионизованная вода	Деионизованная вода	Деионизованная вода	50 ммоль/дм ³ NaOH
Длина волны	-	-	254 нм	-
Напряжение	-	6В	-	-
Скорость потока элюента	1,0 см ³ /мин (все) 0,03 см ³ /мин (ICS-4000, ICS5000 капиллярные системы)	1,0 см ³ /мин (все) 0,03 см ³ /мин (ICS-4000, ICS5000 капиллярные системы)	1 см ³ /мин	0,25
Постоянная времени	1 с	2 с	2 с	2 с

4.2.3 Значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала не должны превышать, соответственно:

Детектор	Характеристика
Кондуктометрические Dionex ICS-1100, ICS-1500, ICS-1600, ICS-2000, ICS-2100, CD ICS-4000, ICS-5000/ICS-5000 ⁺	$2 \cdot 10^{-9}$ См
Кондуктометрический Dionex ICS-900	$1 \cdot 10^{-8}$ См
Электрохимический ED	$100 \cdot 10^{-12}$ Кл
Зарядовый QD	300 нА
Спектрофотометрический VWD	$40 \cdot 10^{-6}$ е.о.п.
Диодно-матричный PDA	$1 \cdot 10^{-4}$ е.о.п.

4.2.4 Значения дрейфа нулевого сигнала не должны превышать, соответственно:

Детектор	Характеристика
Кондуктометрические Dionex ICS-1100, ICS-1500, ICS-1600, ICS-2000, ICS-2100, CD ICS-4000, ICS-5000/ICS-5000 ⁺	$20 \cdot 10^{-9}$ См
Кондуктометрический Dionex ICS-900	$100 \cdot 10^{-9}$ См
Электрохимический ED	$3000 \cdot 10^{-12}$ Кл
Зарядовый QD	1000 нА
Спектрофотометрический VWD	$200 \cdot 10^{-6}$ е.о.п.
Диодно-матричный PDA	$1 \cdot 10^{-3}$ е.о.п.

4.3 Определение метрологических характеристик

4.3.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала.

Измерения проводят после процедур опробования и выхода хроматографа на режим. Условия выполнения измерений должны соответствовать п.3.1.

4.3.2 Контрольный раствор (табл.2.) вводят в хроматограф не менее 10 раз, измеряют значения выходного сигнала (времени удерживания и площади пика) вычисляют среднее арифметическое значение выходного сигнала (\bar{X}).

4.3.3 Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле:

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

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

Значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала не должны превышать норм, приведенных в таблице 4.

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

Условия измерений аналогичны, описанным в п.3.1. Проводят повторно операции, по п.4.3.2.

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

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

где \bar{X}_i – среднее арифметическое значение выходного сигнала через 8 часов непрерывной работы.

4.3.5 Значения относительного изменения выходного сигнала не должны превышать норм, приведенных в таблице 4.

Таблица 4

Хроматограф	Норма		
	Относительное среднее квадратическое отклонение выходных сигналов (%)		Относительное изменение выходного сигнала площади пика за 8 часов непрерывной работы (%)
	Время удерживания	Площадь пика	
Все, кроме с детекторами VWD, PDA	1,5	3	3
С детекторами VWD, PDA	1,5	3	5

5 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

5.1 Результаты поверки хроматографов заносят в протокол.

5.2 Положительные результаты поверки хроматографов оформляют выдачей свидетельства в соответствии с ПР 50.2.006.

5.3 Хроматографы, не удовлетворяющие требованиям настоящих рекомендаций, к эксплуатации не допускаются. Хроматографы изымаются из обращения. Свидетельство о поверке изымают и выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с ПР 50.2.006.

5.4 После ремонта хроматографы подвергают поверке.

Ведущий инженер ФГУП «ВНИИМС»



О.Н. Мелкова

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ АТТЕСТОВАННЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления аттестованных водных растворов кофеина, нитрат-иона, натрий-иона, раствора глюкозы.

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

- 1.1 ГСО 7793-2000 состава раствора нитрат-ионов;
- 1.2 ГСО 7775-2000 состава натрия;
- 1.3 СО 08.12.001, состава водного раствора глюкозы;
- 1.4 кофеин по ФС 42-0249-07 (содержание основного вещества не менее 99%).
- 1.5 Весы лабораторные по ГОСТ 24104-01, с верхним пределом взвешивания 200

г.

- 1.6 Мера массы (гири), 2–01 класс точности, ГОСТ 7328.
- 1.7 Колбы мерные наливные 2–100–2 по ГОСТ 1770-74
- 1.8 Пипетки градуированные 1–2–2–0,5 по ГОСТ 29227 (I)
- 1.9 Стаканы В–1–50ТС по ГОСТ 25336
- 1.10 Вода деионизированная, ГОСТ 25661-83.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление раствора нитрат-ионов с массовой концентрацией 10 мг/дм^3 1 см^3 раствора ГСО с массовой концентрацией нитрат-ионов 1 мг/дм^3 пипеткой, вместимостью 1 см^3 вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят содержимое колбы до метки деионизированной водой.

Относительная погрешность аттестованного значения массовой концентрации нитрат-ионов в растворе не более 1,2%.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик всех кондуктометрических детекторов и зарядового детектора QD ICS4000 и ICS-5000.

2.2 Приготовление раствора натрий-ионов с массовой концентрацией 10 мг/дм^3

1 см^3 раствора с массовой концентрацией натрий-ионов 1 мг/дм^3 пипеткой, вместимостью 1 см^3 вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят содержимое колбы до метки деионизированной водой.

Относительная погрешность аттестованного значения массовой концентрации натрий-ионов в растворе не более 1,2%.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик всех кондуктометрических детекторов и зарядового детектора, в случае, если нет ГСО нитрат-иона.

2.3 Приготовление исходного раствора кофеина

2.3.1 Взвешивают в стакане около 200 мг кофеина, добавляют в стакан 25 мл деионизированной воды, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 . Ополаскивают стакан деионизированной водой, переносят ее в мерную колбу, доводят до метки деионизированной водой, перемешивают.

Содержание кофеина в исходном растворе в растворе (C^0 , мг/дм^3) 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, $V = 100 \text{ см}^3$.

2.3.2 Приготовление аттестованного раствора кофеина с массовой концентрацией 10 мг/дм^3 .

1 см^3 исходного раствора кофеина переносят пипеткой вместимостью 1 см^3 в мерную колбу вместимостью 200 см^3 . Доводят деионизированной водой до метки, перемешивают.

Массовую концентрацию в мг/дм^3 кофеина в аттестованном растворе находят следующим образом:

$$C_0 = \frac{C_0 \cdot V_n}{V_{200}},$$

где V_n – вместимость пипетки, $V_n = 1 \text{ см}^3$;

V_{200} – вместимость мерной колбы, $V_{200} = 200 \text{ мл}$.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик фотометрического VWD и диодноматричного PDA детекторов.

2.4 Приготовление контрольного раствора с массовой концентрацией глюкозы 10 мг/дм^3

$0,55 \text{ см}^3$ МСО раствора глюкозы пипеткой вместимостью 1 см^3 переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят содержимое колбы до метки деионизированной водой.

Относительная погрешность приготовления контрольного раствора $\pm 1,5 \%$.

Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик электрохимического детектора ED ICS4000 и ICS-5000.

ПРИМЕР ОБРАБОТКИ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК В ПО CHROMELEON

Данное приложение предназначено для упрощения и автоматизации процедуры расчета метрологических характеристик.

- для расчета шума и дрейфа:

1 Для сбора данных для расчета шума и дрейфа создают последовательность (sequence) с одной пробой в списке образцов. Хроматографирование производят без инъекции, для этого в программе Chromelon в последовательности устанавливают тип образца Blank (Бланк). В программе (pgm) устанавливают соответствующую скорость потока элюента и длительность сбора данных сигнала детектора – 60 мин, прочие установки соответствующего детектора по таблице 3.

2. Запускают последовательность

2. После окончания работы последовательности, двойным кликом по хроматограмме, по которой ведется расчет шума и дрейфа, открывается отчет. Выбирают вкладку Summary и добавляют новую колонку, нажав правую кнопку мыши (рис 1).

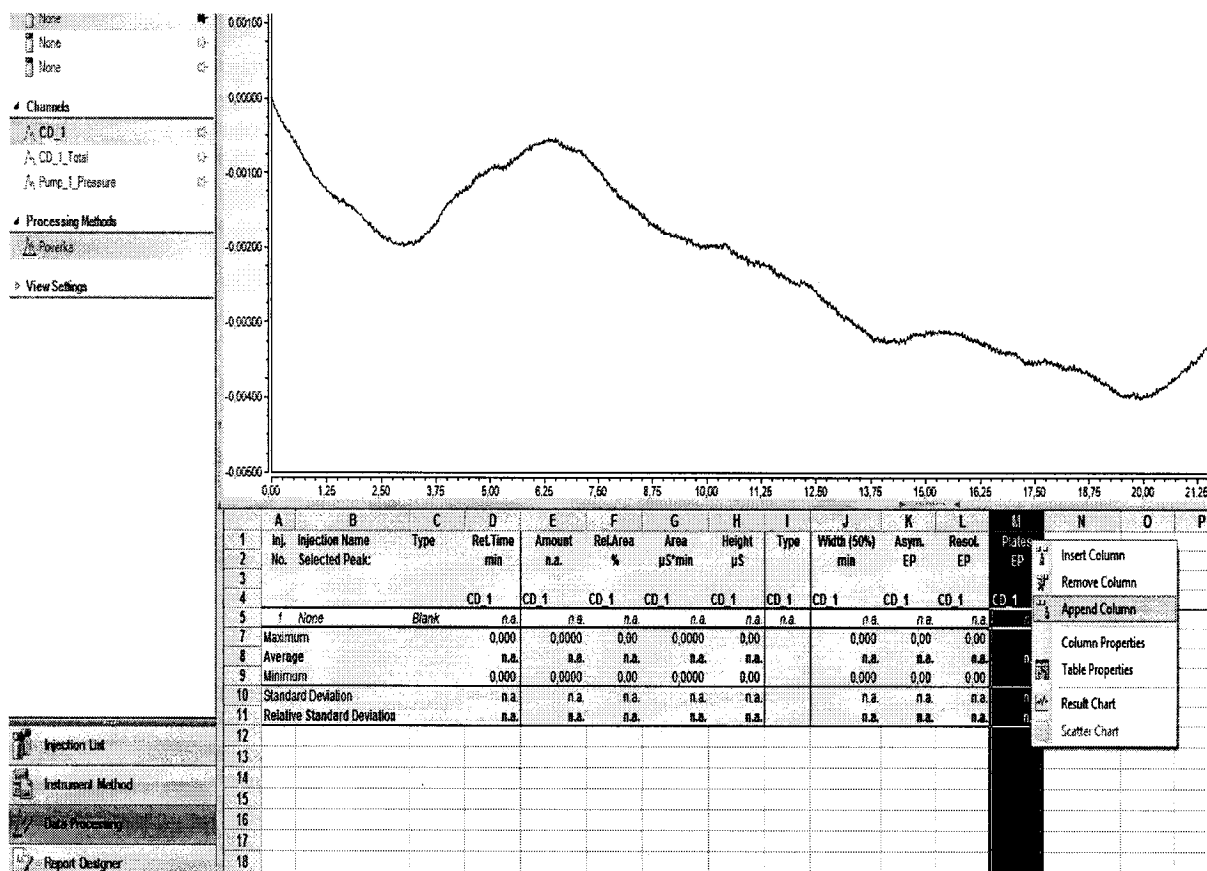


Рис. 1 Окно Summary

2.1 Добавляют характеристики для расчета дрейфа согласно рис. 2.

Выберите категорию Chromatogram и переменную Signal Drift

Укажите диапазон не менее 30 мин для сбора данных нажмите ОК в обоих окнах

Добавьте несколько нулей после запятой для получения значащих результатов в графе формат

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
	Inj. No.	Injection Name	Type	Ret. Time min	Amount	Rel. Area %	Area $\mu\text{S}^2/\text{min}$	Height μS	Type	Width (50%) min	Asym. EP	Resol. EP	Plates EP	
1														
2														
3														
4			CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1
5	1	None	Blank	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
7				0,000	0,0000	0,00	0,0000	0,00		0,000	0,00	0,00		
8				n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
9				0,000	0,0000	0,00	0,0000	0,00		0,000	0,00	0,00		
10				n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.	n.a.	n.a.		

Рис. 2 Настройка расчета дрейфа в интервале 60 минут

2.2 Аналогично п.2.1. добавляют колонку для расчета шума с окном 20 секунд.

Compute noise in...

time range used during peak detection

custom time range from 1.000 min. to 1.331 min.

	K	L	M	N	O	P
	Asym. EP	Resol. EP	Plates EP	Drift $\mu\text{S}/\text{min}$		
D 1	CD 1	CD 1	CD 1	CD 1		
Blank	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	0,000	0,0000	0,00	0,00003		

Рис. 3 Настройка расчета шума с окном 20 секунд.

2.3 В таблице на рис. 4 даны значения дрейфа ($\mu\text{S}/\text{мин}$) и пять значений шума (μS) с окном 20 секунд.

Для получения результата модуль значения дрейфа в данном случае $\mu\text{S}/\text{мин}$ переводят в $\mu\text{S}/\text{час}$ (умножив на 60). Для других детекторов значения сигнала приводят в единицах, указанных в методике поверки. Значение шума выражают в единицах, указанных в МП для соответствующего детектора. При расчете шума для предела детектирования берут значения в тех единицах, в которых определяют высоту пика контрольного вещества.

Полученные данные можно распечатать или сохранить в формате Excel.

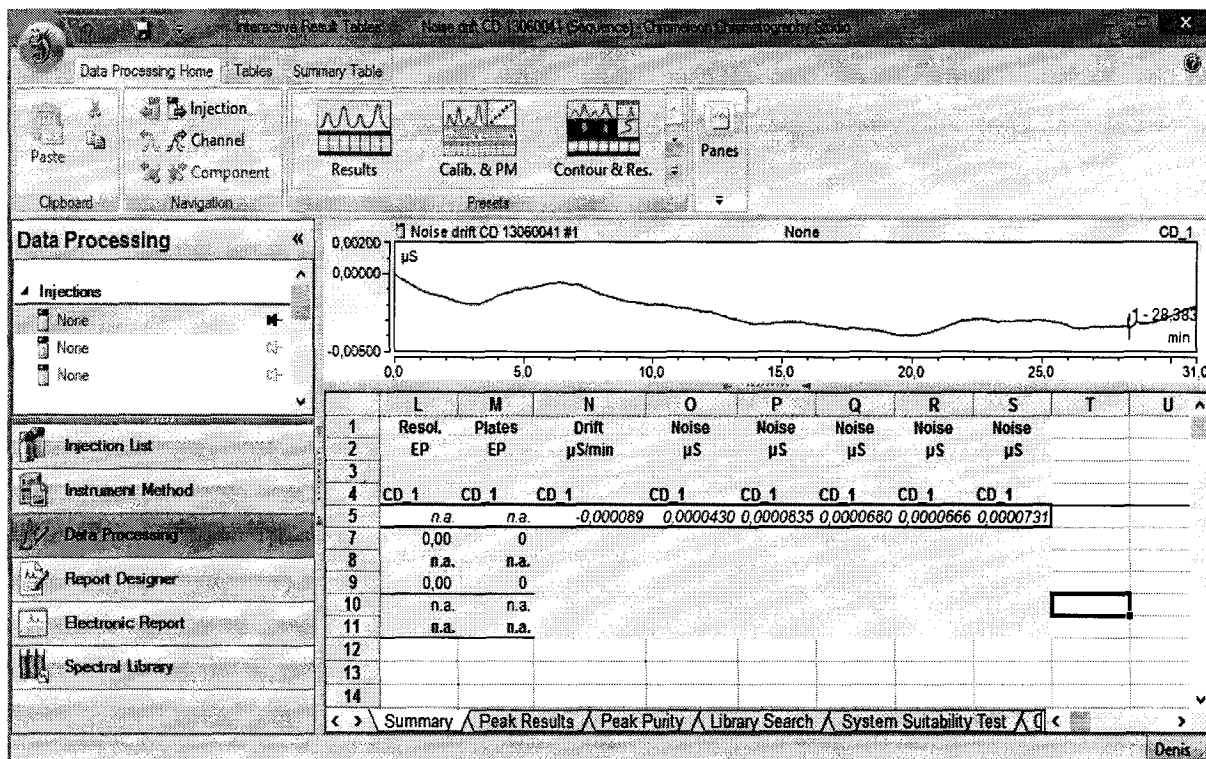


Рис. 4 Пример расчета значений дрейфа и шума

- для расчета относительного СКО выходного сигнала:

1 Для сбора данных для расчета СКО выходного сигнала создают последовательность (sequence) с не менее 10-ю пробами в списке образцов. В последовательности устанавливают тип образца unknown (неизвестная проба). В программе (pgm) устанавливают соответствующую скорость потока элюента, длительность сбора данных сигнала детектора— обычно 3 мин, прочие установки соответствующего детектора по таблице 3.

2. Запускают последовательность

3. После окончания работы последовательности, сочетанием клавиш Ctrl и левой клавишей мыши выделяют хроматограммы, по которым ведется расчет СКО, нажимаем правую клавишу мыши, открывается меню, выбираем Compare (сравнить), канал детектора (например, CD_1). Открывается отчет. Выбираем вкладку Summary.

4. Полученные данные можно распечатать или сохранить в формате Excel.