

Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии

УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИТАРНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ
ИМ. Д. И. МЕНДЕЛЕЕВА»

(УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»)

СОГЛАСОВАНО

Директор УНИИМ – филиала
ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»

Е. П. Собина

2023 г.



«ГСИ. Хроматограф жидкостный EX1800. Методика
поверки»

МП 13-251-2023

г. Екатеринбург

2023 г.

ПРЕДИСЛОВИЕ

1. РАЗРАБОТАНА Уральским научно-исследовательским институтом метрологии – филиалом Федерального государственного унитарного предприятия «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева» (УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»)
2. ИСПОЛНИТЕЛЬ – ведущий инженер лаб. 251, Засухин А.С.
3. СОГЛАСОВАНА директором УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева» в 2023 г.

СОДЕРЖАНИЕ

1	Общие положения.....	4
2	Нормативные ссылки.....	4
3	Перечень операций поверки средства измерений	5
4	Требования к условиям проведения поверки.....	5
5	Требования к специалистам, осуществляющим поверку	5
6	Метрологические и технические требования к средствам поверки	5
7	Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки.....	7
8	Внешний осмотр средства измерений	7
9	Подготовка к поверке и опробование средства измерений.....	7
10	Проверка программного обеспечения средства измерений	7
11	Определение метрологических характеристик средства измерений.....	8
12	Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	9
13	Оформление результатов поверки	10
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	12

1 Общие положения

1.1 Настоящая методика поверки распространяется на хроматограф жидкостный EX1800 (далее – хроматограф), выпущенный фирмой «Shanghai Wufeng Scientific Instruments Co., Ltd.», Китай. Хроматограф подлежит первичной и периодической поверке. Поверка хроматографа должна производиться в соответствии с требованиями настоящей методики.

1.2 При проведении поверки прослеживаемость хроматографа обеспечивается:

– к ГЭТ 208-2019 Государственному первичному эталону 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 в соответствии с приказом Росстандарта Российской Федерации от 10.06.2021 г. № 988 «Об утверждении Государственной поверочной схемы для средств измерений содержания органических и элементарноорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах».

1.3 В настоящей методике поверки реализована поверка методом прямых измерений.

1.4 Настоящая методика поверки применяется для поверки хроматографа, используемого в качестве рабочего средства измерений. В результате поверки должны быть подтверждены метрологические требования, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики

Наименование характеристики	Значение
Спектральный диапазон, нм	от 190 до 800
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения результатов измерений, %	
- площади пика	2
- времени удерживания	0,5
Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала ($\lambda=254$ нм), Б, не более	$5,0 \cdot 10^{-5}$
Дрейф нулевого сигнала ($\lambda=254$ нм), Б/ч, не более	$1,0 \cdot 10^{-3}$
Предел детектирования по кофеину, г/см ³	$1,0 \cdot 10^{-8}$

2 Нормативные ссылки

2.1 В настоящей методике поверки использованы ссылки на следующие документы:

– Приказ Росстандарта Российской Федерации от 10.06.2021 г. № 988 «Об утверждении Государственной поверочной схемы для средств измерений содержания органических и элементарноорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах»;

– Приказ Министерства труда и Социальной защиты РФ от 15.12.2020 № 903н «Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок»;

– ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия;

– ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия;

– ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования;

– ГОСТ 12.2.007.0-75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности;

– ГОСТ OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания;

– ТУ 6-09-14-2167-84 Ацетонитрил (особой частоты для жидкостной хроматографии).

3 Перечень операций поверки средства измерений

3.1 При поверке должны быть выполнены операции, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Операции поверки

Наименование операции	Обязательность проведения операций при		Номер раздела (пункта) методики поверки, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной поверке	периодической поверке	
Внешний осмотр	да	да	8
Подготовка к поверке и опробование	да	да	9
Проверка программного обеспечения	да	да	10
Определение метрологических характеристик средства измерений	да	да	11
Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала	да	да	11.1
Определение предела детектирования	да	да	11.2
Определение относительного среднего квадратического отклонения результатов измерений выходного сигнала и времени удерживания	да	да	11.3
Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	да	да	12

3.2 В случае невыполнения требований хотя бы к одной из операций, поверка хроматографа прекращается, и выполняются операции по п. 13 настоящей методики поверки.

4 Требования к условиям проведения поверки

4.1 При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающей среды, °С от + 15 до + 25
- относительная влажность, %, не более 80

5 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

5.1 К проведению работ по поверке хроматографа допускаются лица, прошедшие обучение в качестве поверителя, изучившие РЭ на хроматограф и настоящую методику поверки.

6 Метрологические и технические требования к средствам поверки

6.1 При проведении поверки применяют оборудование согласно таблице 3.

Таблица 3 – Средства поверки

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
п. 9 Подготовка к поверке и опробование средства измерений	Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от плюс 10 °С до плюс 30 °С с абсолютной погрешностью не более 1 °С; Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне от 10 % до 90 %, с абсолютной погрешностью не более 3 %	Термогигрометры электронные «CENTER» моделей 310, 311, 313, 314, 315, 316 (рег.№ 22129-09)
п.11 Определение метрологических характеристик средства измерений	Контрольный раствор, приготовленный в соответствии с Приложением А настоящей методики поверки	
	Вода для лабораторного анализа 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005	Вода для лабораторного анализа 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005
	Ацетонитрил, оптическая плотность на длине волны 200 нм не более 0,025	Ацетонитрил по ТУ 2634-002-54260861-2013, «Криохром»
	Колонка для ВЭЖХ/УВЭЖХ (С-18) длиной от 3 до 25 см, внутренним диаметром от 2,1 до 4,6 мм, размером частиц наполнителя от 1,9 до 5,0 мкм	Hawach Scientific HPLC Column C18-Universal, средний размер частиц 3 мкм, диаметр 4,6 мм, длина 150 мм
Приложение А	Стандартный образец состава кофеина, интервал допускаемых аттестованных значений массовой доли кофеина от 97,00 % до 99,99 %, границы допускаемых значений абсолютной погрешности аттестованного значения $\pm 1,0$ % при $P = 0,95$	ГСО 11872-2022 (Кфн СО УНИИМ)
	Градуированные пипетки вместимостью 1,0 и 5,0 см ³ не хуже 2 класса точности по ГОСТ 29227-91	Градуированные пипетки вместимостью 1,0 и 5,0 см ³ 1 класса точности по ГОСТ 29227-91
	Одноканальные механические дозаторы варьируемого объема дозирования в диапазоне от 100 до 1000 мм ³	Дозатор механический одноканальный ВЮНИТ Proline варьируемого объема в диапазоне от 100 до 1000 мм ³
	Вода для лабораторного анализа 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005	Вода для лабораторного анализа 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
	Ацетонитрил, оптическая плотность на длине волны 200 нм не более 0,025	Ацетонитрил по ТУ 2634-002-54260861-2013, «Криохром»
	Весы лабораторные, диапазон измерений от 0,001 до 200 г и первым специальным классом точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011	Весы лабораторные XP Analytical XP205 (рег.№ 44573-10)
<p><i>Примечание – Допускается использовать при поверке другие утвержденные и аттестованные эталоны единиц величин, средства измерений утвержденного типа и поверенные, удовлетворяющие метрологическим требованиям, указанным в таблице, а также п. 1.2 настоящей методики поверки.</i></p>		

6.2 Средства измерений, применяемые при поверке, должны быть утвержденного типа и поверены, стандартный образец (далее – СО) должен быть утвержденного типа и иметь действующий паспорт.

7 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

7.1 При проведении поверки должны быть соблюдены требования Приказа Министерства труда и Социальной защиты РФ от 15.12.2020 № 903н «Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок», требования ГОСТ 12.2.007.0, а также рекомендации, изложенные в РЭ на хроматограф.

8 Внешний осмотр средства измерений

8.1 При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие внешнего вида блоков хроматографа сведениям, приведенным в описании типа;
- отсутствие видимых повреждений блоков хроматографа;
- соответствие комплектности, указанной в паспорте хроматографа и РЭ;
- наличие обозначений и серийных номеров блоков хроматографа, наличие серийного номера хроматографа в паспорте, четкость маркировки, а также отсутствие повреждений и дефектов, влияющих на работоспособность хроматографа.

9 Подготовка к поверке и опробование средства измерений

9.1 Проводят контроль условий поверки с помощью термогигрометра в соответствии с п.6 настоящей методики поверки.

9.2 Перед проведением поверки хроматограф готовят к работе в соответствии с РЭ, проверяют работоспособность органов управления и регулировки блоков хроматографа.

9.3 При включении хроматографа должны отсутствовать сообщения об ошибках.

9.4 Стандартные образцы готовят к поверке в соответствии с их паспортами.

9.5 Готовят контрольные растворы в соответствии с Приложением А к настоящей методике поверки.

10 Проверка программного обеспечения средства измерений

10.1 Проводят проверку идентификационных данных программного обеспечения (далее – ПО) хроматографа: в строке команд выбирают пункт «Справка» («Help»); в открывшемся меню выбрать пункт «о ПО» («About») – откроется окно, содержащее номер

версии ПО и идентификационное наименование ПО. Наименование и номер версии ПО хроматографа должны соответствовать требованиям, приведенным в таблице 4.

Таблица 4 – Идентификационные данные ПО хроматографа

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Идентификационное наименование ПО	EX-Clarity
Номер версии (идентификационный номер) ПО, не ниже	8.1.0.76
Цифровой идентификатор ПО	-

11 Определение метрологических характеристик средства измерений

11.1 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала

11.1.1 В ПО хроматографа задают параметры метода измерений, указанные в таблице 5.

Таблица 5 – Параметры метода измерений при определении уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала

Наименование детектора	Параметры детектора	Элюент	Скорость потока, см ³ /мин	Колонка
Детектор спектрофотометрический EX1800 UVD	1) Лампа: дейтериевая 2) Частота опроса: 10 Гц 3) Время интегрирования: 10 мс 4) Длина волны: 254 нм	Вода	1	Капилляр из стали нержавеющей или РЕЕК (рекомендуемые параметры: внутренний диаметр 0,1 мм, длина 4 м), создающий противодействие в диапазоне от 2 до 10 МПа на скорости потока 1 см ³ /мин

11.1.2 Измерения уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала проводят при снятой разделительной колонке. Вместо колонки устанавливают капилляр с параметрами в соответствии с таблицей 5.

11.1.3 Заполняют водой аналитический тракт хроматографа, ожидают выхода хроматографа на режим и стабилизацию базовой линии. Рекомендуемое время стабилизации – не менее 6 ч.

11.1.4 Обнуляют сигнал детектора и проводят запись хроматограммы без инъекции в течение не менее 80 мин.

11.2 Определение предела детектирования

11.2.1 Предел детектирования определяют с использованием контрольного раствора, приготовленного в соответствии с Приложением А настоящей методики поверки. Измерения проводят с установленной аналитической колонкой в соответствии с таблицей 3 настоящей методики поверки.

11.2.2 Задают инструментальные условия, указанные в таблице 6. Дополнительно задают температуру термостата разделительных колонок, равную 40 °С. Ожидают выхода хроматографа на режим и стабилизацию базовой линии не менее 1 ч.

11.2.3 После выхода хроматографа на режим проводят ввод контрольного раствора в хроматограф, регистрируют хроматограмму.

Таблица 6 – Условия проведения измерений для определения предела детектирования

Наименование детектора	Контрольный раствор	Параметры детектора	Элюент	Скорость потока, см ³ /мин
Детектор спектрофотометрический EX1800 UVD	Раствор кофеина в воде с концентрацией от 5 до 20 мкг/см ³	1) Лампа: дейтериевая 2) Частота опроса: 10 Гц 3) Время интегрирования: 10 мс 4) Длина волны: 254 нм	CH ₃ CN / H ₂ O*: 80 / 20	от 0,5 до 1,2
* CH ₃ CN – ацетонитрил, H ₂ O – вода				

11.3 Определение относительного среднего квадратического отклонения результатов измерений выходного сигнала и времени удерживания

11.3.1 Проводят процедуру по п. 11.2 не менее десяти раз.

12 Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям

12.1 Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала принимают равным амплитуде повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с. За дрейф нулевого сигнала принимают смещение нулевого сигнала в течение 1 ч.

При помощи ПО хроматографа проводят обработку хроматограммы, полученной по п. 11.1.4, в следующей последовательности:

- открывают хроматограмму в модуле ПО, предназначенной для обработки хроматограмм;

- в меню «Хроматограмма» («Chromatogram») выбирают «Шум и дрейф» («Noise & Drift»), затем: 1) «Оценка шума по ASTM» («ASTM Noise Evaluation») для расчета шума; 2) «Оценка дрейфа» («Drift Evaluation») для расчета дрейфа;

- для оценки шума и дрейфа первые 10-20 мин хроматограммы не учитываются;

- выбирают участок на хроматограмме продолжительностью около 60 мин, где необходимо провести оценку шума и дрейфа;

- считывают результат в окне «Результаты» («Results»).

Записывают в протокол произвольной формы значения уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала. Полученные значения уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала должны соответствовать данным таблицы 1.

Примечание – о размерности измеряемых величин в ПО хроматографа EX1800.

Размерность уровня флуктуационных шумов Δx , дрейфа нулевого сигнала и площади пика S для детектора спектрофотометрического EX1800 UVD отображается в ПО как mAU, mAU/h и mAU·s, соответственно. 1 mAU = 1·10⁻³ Б, 1 mAU/h = 1·10⁻³ Б/ч, 1 mAU·s = 1·10⁻³ Б·с.

12.2 Из полученной хроматограммы по п. 11.2.3 рассчитывают предел детектирования C_{min} , г/см³ для контрольного компонента (кофеина) по формуле

$$C_{min} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot C_i \cdot V \cdot 0,06}{S \cdot \vartheta}, \quad (1)$$

где Δx – уровень флуктуационных шумов, определенный по п. 12.1, мБ (в ПО: mAU);

C_i – массовая концентрация компонента в контрольном растворе, г/см³;

V – объем пробы, мм³;

S – площадь пика контрольного компонента, мБ·с (в ПО: mAU·s);

ϑ – скорость потока элюента, см³/мин.

Полученное значение предела детектирования по кофеину должно соответствовать данным таблицы 1.

12.3 Используя данные, полученные в п. 11.3, рассчитывают относительное среднее квадратическое отклонение результатов измерений площади пика контрольного компонента (кофеина) σ_s , %, по формуле

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

где n – количество измерений;

S_i – площадь пика контрольного компонента (кофеина) при i -ом измерении, мБ·с (в ПО: мАУ·с);

\bar{S} – среднеарифметическое значение результатов измерений площадей пика контрольного компонента (кофеина), мБ·с (в ПО: мАУ·с):

$$\bar{S} = \frac{\sum_{i=1}^n S_i}{n}. \quad (3)$$

Полученное значение относительного среднего квадратического отклонения результатов измерений выходного сигнала должно соответствовать данным таблицы 1.

12.4 Используя данные, полученные в п. 11.3, рассчитывают относительное среднее квадратическое отклонение результатов измерений времени удерживания контрольного компонента (кофеина) σ_t , % по формуле

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

где n – количество измерений;

t_i – время удерживания контрольного компонента (кофеина) при i -ом измерении, мин;

\bar{t} – среднеарифметическое значение результатов измерений времени удерживания контрольного компонента (кофеина), мин

$$\bar{t} = \frac{\sum_{i=1}^n t_i}{n}. \quad (5)$$

Полученное значение относительного среднего квадратического отклонения результатов измерений времени удерживания должно соответствовать данным таблицы 1.

13 Оформление результатов поверки

13.1 Результаты поверки оформляются протоколом в произвольной форме.

13.2 При положительных результатах поверки хроматограф признают пригодным к применению.

13.3 Нанесение знака поверки на хроматограф не предусмотрено. Пломбирование хроматографа не предусмотрено.

13.4 При отрицательных результатах поверки хроматограф признают непригодным к применению.

13.5 По заявлению владельца средства измерений или лица, представившего его на поверку, аккредитованное на поверку лицо, проводившее поверку, в случае положительных результатов поверки выдает свидетельство о поверке, оформленное в соответствии с требованиями к содержанию свидетельства о поверке, утвержденными действующими на момент проведения поверки нормативно-правовыми актами в области обеспечения единства

измерений или в случае отрицательных результатов поверки выдает извещение о непригодности к применению средства измерений.

13.6 Сведения о результатах поверки передают в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений в соответствии с установленным порядком.

**Ведущий инженер лаб. 251 УНИИМ – филиала
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»**



А.С. Засухин

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Процедура приготовления контрольного раствора

А.1 Для приготовления контрольного раствора используются:

- стандартный образец по п. 6 настоящей методики поверки;
- мерные колбы вместимостью 100,0 см³ не хуже 2 класса точности по ГОСТ 1770-74;
- градуированные пипетки вместимостью 1,0 см³ или 5,0 см³ не хуже 2 класса точности по ГОСТ 2927-91;

– одноканальные механические дозаторы варьируемого объема дозирования в диапазоне от 100 до 1000 мм³;

– весы лабораторные с диапазоном измерений от 0,001 до 200 г и первым специальным классом точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011;

– вода для лабораторного анализа 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005;

– ацетонитрил, оптическая плотность на длине волны 200 нм не более 0,025.

А.2 В таблице А.1 приведен контрольный раствор, используемый для поверки хроматографа.

Таблица А.1 – Контрольный раствор

№	Наименование контрольного раствора	Концентрация контрольного компонента
1.	Раствор кофеина в воде	от 5·10 ⁻⁶ до 2·10 ⁻⁵ г/см ³ (от 5 до 20 мкг/см ³)

Перед проведением процедуры поверки готовят свежие контрольные растворы.

А.3 Приготовление контрольного раствора кофеина

А.3.1 Навеску ГСО 11872-2022 массой около 0,1 г, взятую на весах лабораторных с точностью 1 мг, вносят в мерную колбу вместимостью 100,0 см³, добавляют около 50 см³ воды для лабораторного анализа 1-ой степени очистки, тщательно перемешивают раствор до полного растворения кофеина. Водой доводят объем раствора до риски мерной колбы, тщательно перемешивают получившийся раствор. Рассчитывают массовую концентрацию кофеина в промежуточном растворе $C_{0\text{коф}}$, г/см³, по формуле

$$C_{0\text{коф}} = \frac{A_{\text{коф}} \cdot m_{\text{коф}}}{100 \cdot V_{\text{к}}}, \quad (\text{А.1})$$

где $m_{\text{коф}}$ – масса ГСО 11872-2022, г;

$A_{\text{коф}}$ – аттестованное значение массовой доли кофеина в ГСО 11872-2022, %;

$V_{\text{к}}$ – объем колбы, см³.

А.3.2 От раствора, приготовленного по п. А.3.1, отбирают 1 см³, помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 см³, водой доводят объем раствора до риски мерной колбы, тщательно перемешивают получившийся раствор. Рассчитывают массовую концентрацию кофеина в контрольном растворе $C_{1\text{коф}}$, г/см³, по формуле

$$C_{1\text{коф}} = \frac{C_{0\text{коф}} \cdot V_{0\text{коф}}}{V_{\text{к}}}, \quad (\text{А.2})$$

где $V_{0\text{коф}}$ – объем аликвоты, отбираемый от промежуточного раствора кофеина по п. А.3.1, см³.

Допускается проводить разбавление контрольного раствора при помощи соответствующего элюента по таблице 6 (ацетонитрил / вода – 80 % / 20 %).

Допускается приготовление контрольного раствора путем последовательного объемного разбавления исходных стандартных образцов, используя иной шаг разбавления, если концентрации полученных контрольных растворов соответствуют таблице Таблица А.1.