

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель директора  
ФГУП "ВНИИМС" по науке



Ф.В. Булыгин

2017 г.

Хроматографы жидкостные высокоэффективные  
«Альфахром® М-03»

МЕТОДИКА ПОВЕРКИ  
ЯПМИ 1544.7.00.00.00.00 И10

2017 г.

Настоящая методика поверки (далее - Методика) распространяется на Хроматографы жидкостные высокоэффективные «Альфахром® М-03» (далее - хроматограф), технические требования к которым регламентируются техническими условиями ТУ 9443-001-11823101-2015, и устанавливает методику их первичной и периодической поверки.

Межповерочный интервал – 1 (один) год.

## 1. ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

1.1. При проведении поверки должны быть выполнены следующие операции и применены средства поверки с характеристиками, указанными в табл. 1

Таблица 1

№	Наименование операции	№ пункта Методики
1	Внешний осмотр	5.1
2	Опробование	5.2
2.1	Проверка режимов работы хроматографа, проверка режимов детекции	5.2.1
2.2	Проверка идентификационных данных программного обеспечения	5.2.2
3	Определение времени выхода на режим, дрейфа нулевого сигнала и уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала детектора хроматографа	5.3
4	Определение метрологических характеристик хроматографа	5.4
4.1	Определение относительного среднеквадратического отклонения (СКО) выходного сигнала хроматографа (площадь пика)	5.4.1
4.2	Определение относительного среднеквадратического отклонения (СКО) выходного сигнала хроматографа (времени удерживания)	5.4.2
4.3	Определение относительного изменения выходного сигнала хроматографа (площадь пика) за 8 ч непрерывной работы	5.4.3
4.4	Определение относительного изменения времен удерживания пиков за 8 ч непрерывной работы	5.4.4

## 2. СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

2.1. При проведении поверки применяют следующие средства поверки:

- Вода дистиллированная ГОСТ 6709-72;
- Нафталин для хроматографии "хч" ТУ6-09-2373-72;
- Антрацен каменноугольный "чда" ТУ6-09-2283-77;
- Пирен с содержанием основного вещества не менее 99 %, фирмы Sigma EC № 82648;
- Ацетонитрил для хроматографии "о.с.ч" ТУ 2634-002-04715285-2012;
- Колонка хроматографическая тестовая Ø 2 x 75 мм, заполненная обращено- фазовым сорбентом ProntoSIL 120-5-C18 AQ;
- Имитатор кюветы ЯПМИ 7.18.07.00.00.00;
- Пипетка 7-2-10 ГОСТ 20292-74;
- Колбы 2-100-2, 2-250-2 по ГОСТ 1770-74;
- Стакан СВ-14/8 ГОСТ 25336-82.

### Примечания:

1. Допускается использование других средств поверки, реактивов и вспомогательного оборудования, метрологические характеристики которых не хуже указанных выше.

2. Все средства измерений должны иметь паспорта и действующие свидетельства поверки.

### 3. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

- 3.1. Конструкция и электрический монтаж хроматографа обеспечивают безопасность обслуживающего персонала в соответствии с ГОСТ 12.2.007.0-75 по классу 1, "Правилами технической эксплуатации электроустановок потребителей" и "Правилами техники безопасности при эксплуатации электроустановок потребителей", "Правилами пожарной безопасности для учреждений, организаций и предприятий Академии наук РФ".
- 3.2. При проведении поверки соблюдают требования безопасности, изложенные в гл. 7.1 и 7.2 руководства по эксплуатации ЯПМИ 1544.7.00.00.00.00 РЭ (далее "РЭ")
- 3.3. Помещение, в котором проводится поверка, оборудуют приточно-вытяжной вентиляцией.

### 4. УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ

- 4.1. Перед проведением поверки средства поверки должны быть подготовлены к работе в соответствии с эксплуатационной документацией, на хроматографе должны быть выполнены подготовительные работы в соответствии с гл. 8 "Подготовка хроматографа к работе" РЭ, приложением 1 к настоящей Методике и эксплуатационной документацией на персональный компьютер.
- 4.2. При проведении поверки соблюдают следующие условия:
  - 1) температура окружающего воздуха  $(20 \pm 2)$  °С;
  - 2) относительная влажность воздуха от 30 % до 80 %;
  - 3) атмосферное давление от 84 кПа до 107 кПа;
  - 4) напряжение переменного тока, питающего хроматограф  $220^{+22}_{-22}$  В;
  - 5) частота питающей сети  $(50 \pm 1)$  Гц.

#### Примечания:

1. Во время проведения поверки колебания температуры не должны превышать  $\pm 2$  °С. Должно быть обеспечено отсутствие сквозняков и исключена возможность попадания солнечного света на хроматограф.

2. Для обеспечения вышеуказанной стабильности напряжения переменного тока, при необходимости, используют стабилизатор напряжения электромагнитный С - 0,5 по ТУ 25-05.1798-75 или стабилизатор с аналогичными характеристиками.

### 5. ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

#### 5.1. Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- 5.1.1. соответствие хроматографа технической документации в части комплектности;
- 5.1.2. отсутствие дефектов и повреждений, влияющих на работоспособность и приводящих к нарушению требований безопасности, производственной санитарии и охраны окружающей среды;
- 5.1.3. целостность лакокрасочных и гальванических покрытий.

## 5.2. Опробование

При опробовании проверяют режимы работы хроматографа а и режимы детекции.

5.2.1. При опробовании проверяют режимы работы хроматографа, режимы детекции. Опробование хроматографа проводят в соответствии с РЭ, «Подготовка к хроматографии. Ручное управление» и «Управление хроматографом. Запуск серии анализов».

При опробовании проверяют общее функционирование хроматографа, возможность перехода из одного режима работы в другой, работу в режиме ручного управления и т.п. В том числе проверяют ручной режим работы - режим подготовка прибора, и режим серийных анализов – выполнение не-нескольких последовательных анализов при изократической и градиентной элюции, при различных режимах работы детектора: многоволновом и одноволновом, двухлучевом и однолучевом режимах, а так же режим записи спектра. Проверку герметичности жидкостной системы проводят в ручном режиме как описано в РЭ в главе 12. "Герметичность жидкостной системы".

### 5.2.2. Проверка идентификационных данных программного обеспечения.

Совпадение идентификационных данных запущенного ПО с данными, приведенными в таблице 2 является положительным результатом проверки идентификационных данных ПО.

Таблица 2-Идентификационные данные программного обеспечения.

Идентификационные данные (признаки)	Значение	Значение	Значение
Идентификационное наименование ПО	АльфаХром 1.3	АльфаСпектр 1.3	МетроС 1.3
Номер версии (идентификационный номер) ПО	1.3	1.3	1.3
Цифровой идентификатор ПО	d984451035d62bcbd5 1ccd3e671525b4	555b966a67b35ce4f 84b150e226e4b7e	d764a76fbd2d144df 187185a4761c95f
Алгоритм вычисления цифрового идентификатора ПО	MD5	MD5	MD5

## 5.3. Определение времени выхода на режим, дрейфа нулевого сигнала и уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала детектора хроматографа.

Определение характеристик хроматографа проводят с помощью управляющей программы «АльфаХром».

5.3.1. Определение времени выхода на режим, дрейфа нулевого сигнала хроматографа, уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа проводят на имитаторе кюветы. Для этого отсоединяют штатную кювету детектора от колонки, вынимают ее и вставляют на ее место имитатор, входящий в комплект поставки.

5.3.1.1 В управляющей программе в окне **Управление \ Ручные операции** в поле **Термостат** задают температуру 35 °С и включают его.

5.3.1.2 В окне **Настройки хроматографа** выставляют следующий режим работы детектора:

- метод измерения - двухлучевой
- рабочая кювета - верхняя

В окне **Управление \ Ручные операции** в поле **Детектор** устанавливают:

- время измерения - 0,34 с
- длина волны - 250 нм

- 5.3.1.3 Включают детектор командой **Начать регистрацию** и записывают нулевой сигнал в течение 20 - 30 мин. В окне просмотра устанавливают для оптической плотности шкалу  $\pm 0,001$ . За время измерения на экране компьютера запись нулевого сигнала выходит на плато (стабильный уровень). Хроматографа и детектор считают вышедшими на рабочий режим.
- 5.3.1.4 По команде **Стоп** останавливают измерения; данные при этом автоматически записываются в файл с расширением \*.detx в папку ...\*АльфаХром*\Детектор. На диаграмме на мониторе компьютера считывают время остановки. Это время будет определять время выхода хроматографа на режим (см. п. 5.3.1.5).
- 5.3.1.5 Время выхода на режим хроматографа должно быть не более 18 мин.

**Примечание.** Здесь и далее, для целей последующего просмотра и обработки экспериментальных файлов, следует записывать полное имя файла, присутствующее в основном окне на экране во время работы детектора.

- 5.3.2. Повторно запускают детектор на запись нулевого сигнала в течение 0,5 часа. Останавливают детектор, в программе "АльфаХром" загружают (открывают) полученный файл \*.detx из папки ...\*АльфаХром*\Детектор и экспортируют его в формат \*.det (Файл\Экспорт\Хроматограмму в файл формат \*.chr).
- 5.3.3. Загружают полученный файл \*.det из папки ...\*АльфаХром*\Детектор в обрабатывающую программу МетроС. Работа программы МетроС описана в п. 5.5. Вычисление шума и дрейфа детектора проводится одновременно по пункту 5.3.1.
- 5.3.3.1. Дрейф рассчитывается как одностороннее смещение нулевого сигнала за 1 час работы в единицах оптической плотности в час (далее - е.о.п./ч) по формуле

$$\delta_t = 0,153 \cdot A_{см}, \quad (1)$$

где 0,153 – безразмерный коэффициент пересчета оптической плотности на реальную кювету хроматографа «АльфаХром М-03»;  
 $A_{см}$  - одностороннее смещение нулевого сигнала за 1 ч, е.о.п.

- 5.3.3.2. Дрейф нулевого сигнала хроматографа должен быть не более  $5 \cdot 10^{-5}$  е.о.п./ч на имитаторе кюветы.
- 5.3.3.3. Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала в единицах оптической плотности рассчитывают по формуле:

$$\Delta x = 0,153 \cdot A_{max}, \quad (2)$$

где 0,153 - безразмерный коэффициент пересчета оптической плотности на реальную кювету хроматографа «АльфаХром М-03»;  
 $A_{max}$  - максимальная амплитуда нулевого сигнала, е.о.п.

- 5.3.3.4. Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа не должен превышать  $1 \cdot 10^{-4}$  е.о.п.

 **Перед проведением хроматографических экспериментов выполняют следующие операции:**

- подготавливают элюент (дегазируют) одним из методов, описанных в РЭ в гл. 8.2 "Подготовка элюентов и жидкостной системы", или подключают на выход кюветы клапан противодавления;
- устанавливают кювету детектора, запускают регенерацию колонки, как описано в РЭ в гл. 8.4 "Ежедневная процедура подготовки хроматографа";
- проверяют отсутствие воздушных пузырьков в жидкостной системе, как это описано в РЭ в гл. 12.2 "Воздушные пузырьки в жидкостной системе";

- готовят контрольный раствор № 1 (Тестовая смесь "Тест-3") в соответствии с методикой, приведенной в приложении 1.

#### 5.4. Определение метрологических характеристик хроматографа

Все последующие операции выполняют после выхода хроматографа на режим (по п. 5.3.1).

##### 5.4.1. Определение относительного среднеквадратического отклонения (СКО) выходного сигнала хроматографа (площади пика) в изократическом режиме

5.4.1.1. С помощью пипетки набирают в две пробирки по 100 мкл контрольного раствора №1 (Приложение 1), плотно закрывают их пробками. Устанавливают пробирки в гнезда 1 и 2 автодозатора.

5.4.1.2. Со страницы **Настройка/ Настройки хроматографа** устанавливают следующие параметры анализа:

- элюенты А и Б - ацетонитрил
- контроль давления - мин. 0,2 МПа  
макс. 8,0 МПа
- метод измерения -двухлучевой
- запуск детектора -после ввода пробы
- промывка иглы -выкл.
- промывка инжектора -вкл.
- рабочая кювета - верхняя
- использовать один метод для всей серии анализов.

5.4.1.3. Со страницы **Управление/ Серия анализов** устанавливают следующие параметры:

- требуемая температура -35°C
- скорость потока при регенерации - 100 мкл/мин
- скорость потока при элюции - 100 мкл/мин
- регенерация - 0 мкл, 50% Б
- начало - 0 мкл, 50 % Б
- шаг 1 - 500 мкл, 50 % Б
- время измерения - 0,18 с
- длина волны - 250 нм
- номера анализов - от 1 до 12
- номера пробирок - 1, 1, 1, 1, 1, 1, 2, 2, 2, 2, 2, 2
- объем пробы - 5 мкл
- буфер - не использовать

**Примечание.** Указанные параметры могут быть записаны в файл метода *Поверка.mtd*, который можно использовать при всех последующих процедурах поверки хроматографа.

5.4.1.4. Запускают выполнение серии из 12 анализов по команде **Начать анализ**.

Хроматограф автоматически выполнит серию из 12 хроматограмм, данные автоматически запишутся в файлы с расширением *\*.chr* в папку *Альфахром\Анализы\ Поверка \DATE* (гггг-мм-дд).

5.4.1.5. В программе "Альфахром" открывают 10 из 12 полученных файлов *\*.chr* с номерами 2 - 6 и 8 - 12 и экспортируют их в формат *\*.chr* (**Файл\ Экспорт\ Хроматограмму в файл формата \*.chr**).

5.4.1.6. Открывают полученные файлы *\*.chr* из папки *Альфахром\ Анализы\ Поверка \DATE* в программе МетроС. Проводят математическую обработку десяти хроматограмм серии. Процедура расчета описана в п. 5.5.

5.4.1.7. Относительное СКО выходного сигнала ( $v_{cp}$ ) в процентах рассчитывается по формулам:

$$v_{cp} = \left( \sqrt{\sum_1^3 v_j^2} \right) / 3 \quad (3)$$

$$v_j = \frac{100}{A_{jcp}} * \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_{ji} - A_{jcp})^2}{n-1}} \quad (4)$$

где  $n$  - число хроматограмм;

$A_{ji}$  - площадь  $j$ -ого пика  $i$ -ой хроматограммы, е.о.п.·мкл;

$A_{jcp}$  - среднее арифметическое значение площади  $j$ -ого пика из десяти хроматограмм, е.о.п.·мкл;

$v_j$  - относительное СКО площади  $j$ -ого пика.

Результат рассчитывается автоматически по программе МетроС после считывания файлов с расширением \*.chr.

5.4.1.8. Относительное СКО выходного сигнала должно быть не более 1,0 %.

5.4.2. Определение относительного СКО выходного сигнала хроматографа (времен удерживания) в изократическом режиме

5.4.2.1. Относительное СКО времен удерживания  $T_{cp}$  рассчитывается из тех же экспериментальных данных, что и СКО выходного сигнала по площади пика, по формулам:

$$T_{cp} = \left( \sqrt{\sum_1^3 T_j^2} \right) / 3 \quad (5)$$

$$T_j = \frac{100}{T_{jcp}} * \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (T_{ji} - T_{jcp})^2}{n-1}} \quad (6)$$

где  $n$  - число хроматограмм;

$T_{ji}$  - время удерживания  $j$ -ого пика для  $i$ -ой хроматограммы;

$T_{jcp}$  - среднее время удерживания  $j$ -ого пика по всем хроматограммам;

$T_j$  - относительное СКО времени удерживания для  $j$ -ого пика, %.

Результат рассчитывается автоматически по программе МетроС после считывания файлов с расширением \*.chr.

5.4.2.2. Относительное СКО времен удерживания должно быть не более 1,0 %.

5.4.3. Определение изменения выходного сигнала (площади пика) через 8 ч

5.4.3.1. Обеспечивают непрерывную работу хроматографа в течение 8 ч (рабочего дня).

5.4.3.2. По истечении 8 часов ставят 2 новые пробирки с контрольным раствором № 1 в позиции 1 и 2 автодозатора. Повторяют эксперимент и обработку результатов по п. 5.4.1.

5.4.3.3. Рассчитывают относительное изменение выходного сигнала (площадь пика) за 8 ч непрерывной работы по формуле:

$$\delta_s = 100 \cdot (A(t)_{cp} - A_{cp}) / A_{cp} \quad (7)$$

где  $A(t)_{cp}$  - сумма средних арифметических значений площадей трех пиков серии, полученной в конце испытаний, е.о.п.·мкл.;

$A_{cp}$  - сумма средних арифметических значений площадей трех пиков серии, полученной в начале испытаний, е.о.п.·мкл.;

$\delta_s$  - относительное изменение выходного сигнала (площадь пика) за 8 ч непрерывной работы, %.

Значения  $A(t)_{cp}$  и  $A_{cp}$  считывают из результатов расчетов по программе МетроС в ячейке таблицы на пересечении строки Среднее и столбца Сигнал.

5.4.3.4. Изменение выходного сигнала хроматографа (сумма площадей трех пиков) за 8 ч непрерывной работы не должно выходить за пределы  $\pm 3\%$ .

5.4.4. Определение изменения времен удерживания пиков через 8 ч производится по результатам, полученным при выполнении п. 5.4.3

5.4.4.1. Рассчитывают относительное изменение времен удерживания пиков за 8 ч непрерывной работы по формуле:

$$\delta_t = 100 \cdot (T(t)_{3,cp} - T_{3,cp}) / T_{3,cp} \quad (8)$$

где  $T(t)_{3,cp}$  – среднее арифметическое значение времен удерживания пика № 3 (антрацена) в серии, полученной в конце испытаний, мин.;

$T_{3,cp}$  - среднее арифметическое значение времен удерживания пика № 3 в серии, полученной в начале испытаний, мин.;

$\delta_t$  - относительное изменение времени удерживания за 8 ч непрерывной работы, %.

Значения  $T(t)_{3,cp}$  и  $T_{3,cp}$  считывают из результатов расчетов по программе МетроС в ячейке таблицы на пересечении строки 3 и столбца  $T_{cp}$ , мин.

5.4.4.2. Изменение времени удерживания пиков за 8 ч непрерывной работы не должно выходить за пределы  $\pm 3\%$ .

5.5. Процедура вычисления результатов по программе МетроС. Описание работы программы МетроС приведено в Приложении 2.

5.5.1. Входят в программу МетроС двойным щелчком кнопки мыши по иконке, соответствующей этой программе.

5.5.2. По команде **Выберите хроматограммы для расчета** выбирают папку *Альфахром\ Детектор*. Выбирают нужный файл детектора с расширением \*.det, нажимают кнопку **Открыть**.

5.5.3. Повторно задают команду **Выберите хроматограммы для расчета**, выбирают директорию с файлами хроматограмм *Альфахром\ Анализы \Поверка\DATE*. Удерживая клавишу Ctrl, мышкой помечают выбранные файлы, нажимают кнопку **Открыть**.

5.5.4. Выбирают команду **Расчет метрологических характеристик**. Расчет производится автоматически.

5.5.5. Выводят на принтер отчет нажатием кнопки с изображением принтера.

5.5.6. Результаты для дрейфа нулевого сигнала детектора, шума детектора, СКО выходного сигнала (площадь пика), СКО времен удерживания пиков содержатся в соответствующих разделах отчета.

## 6. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

6.1. Результаты поверки Хроматографа жидкостного высокоэффективного «Альфахром® М-03» заносят в протокол (Приложение 3).

- 6.2. Положительные результаты поверки хроматографов оформляют выдачей свидетельства установленной формы.
- 6.3. При отрицательных результатах поверки оформляют извещение установленной формы о непригодности, прибор бракуют, к дальнейшей эксплуатации не допускают и направляют в ремонт. После ремонта прибор подвергают повторной проверке.

Начальник лаборатории 009 ФГУП «ВНИИМС»



Е.В.Кулябина

## 1 МЕТОДИКИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

- 1.1 При приготовлении контрольных растворов массовая концентрация вещества ( $C$ ) определяют по формуле:

$$C = N \cdot m / V,$$

где  $N$  - массовая доля основного вещества (в долях единицы);  
 $m$  - масса вещества, г;  
 $V$  - объем раствора, см<sup>3</sup> (мл).

- 1.2 Погрешность приготовления контрольного раствора определяется погрешностью, обусловленной наличием примесей в препарате, погрешностью взвешивания, погрешностью используемой мерной посуды.

Предел допускаемой погрешности аналитических весов составляет 0,2 мг.

Относительная погрешность определения массы вещества ( $\delta_m$ ) определяют по формуле:

$$\delta_m = \pm \Delta_m / m, \quad (1)$$

где  $\Delta_m$  - допускаемая погрешность взвешивания, мг;  
 $m$  - навеска вещества, мг.

Допускаемая погрешность взвешивания для двух измерений (пустого стаканчика и стаканчика с навеской):

$$\Delta_m = \sqrt{0,22^2 + 0,22^2} = 0,28 \text{ мг}$$

Относительная погрешность используемой мерной посуды ( $\delta_V$ ) определяют по формуле:

$$\delta_V = \pm \Delta_V / V, \quad (2)$$

где  $\Delta_V$  - допускаемая погрешность от номинальной вместимости мерной посуды, см<sup>3</sup> (мл);  
 $V$  - объем используемого раствора, см<sup>3</sup> (мл).

Относительная погрешность определения массовой доли основного вещества ( $\delta_N$ ) в препарате определяют по формуле:

$$\delta_N = \pm \Delta_N / N, \quad (3)$$

где  $\Delta_N$  - допускаемая погрешность, обусловленная содержанием примесей в основном веществе, %;

$N$  - массовая доля основного вещества в препарате, %.

- 1.3 Погрешность приготовления контрольных растворов ( $\delta$ ) в процентах определяют по формуле:

$$\delta = \pm 100 \cdot k \cdot \sqrt{\delta_N^2 + \delta_m^2 + \delta_V^2}, \quad (4)$$

где  $k$  - коэффициент, равный 1,1 при доверительной вероятности 0,95.

## 2 Методика приготовления контрольного раствора №1

2.1 Для приготовления контрольного раствора № 1 используют нафталин для хроматографии "хч", антрацен каменноугольный "чда", пирен "для синтеза", ацетонитрил "осч" для жидкостной хроматографии.

2.1.1. На аналитических весах в стаканчике СВ-14/8 (далее по тексту - стаканчик) взвешивают 145 мг нафталина. Навеску переносят в колбу 2-250-2.

2.1.2. Аналогично взвешивают 50 мг пирена, навеску переносят в ту же колбу.

2.1.3. Взвешивают 30 мг антрацена. Навеску переносят в колбу 2-100-2. Приливают в колбу ацетонитрил (приблизительно 2/3 от необходимого объема), перемешивают до полного растворения осадка. Доводят объем раствора до метки ацетонитрилом, перемешивают.

2.1.4. Затем из колбы 2-100-2 отбирают пипеткой 7-2-10 10 см<sup>3</sup> (10 мл) раствора и переносят в колбу 2-250-2 (где уже имеются нафталин и пирен), приливают ацетонитрил (приблизительно до 2/3 от необходимого объема), перемешивают до полного растворения осадка. Доводят объем раствора до метки ацетонитрилом, перемешивают.

2.2 Относительную погрешность определения массы нафталина при взвешивании  $\delta_m^{Np}$  определяют по формуле (1):

$$\delta_m^{Np} = \pm 0,28/145 = \pm 0,002$$

2.2.1. Относительную погрешность определения массовой доли основного вещества для нафталина ( $\delta_N^{Np}$ ) в препарате определяют по формуле (3):

$$\delta_N^{Np} = \pm 0,1/99,9 = \pm 0,001$$

2.2.2. Суммарная относительная погрешность для массы нафталина в контрольном растворе ( $\delta_{Np}$ ) равна:

$$\delta_{Np} = \pm \sqrt{(\delta_m^{Np})^2 + (\delta_N^{Np})^2} = \pm \sqrt{0,0022 + 0,0012} = \pm 0,002$$

2.3 Относительную погрешность определения массы пирена при взвешивании ( $\square mPy$ ) определяют по формуле (1):

$$\delta_m^{Py} = \pm 0,28/50 = \pm 0,006$$

2.3.1. Относительную погрешность определения массовой доли основного вещества для пирена ( $\delta_N^{Py}$ ) в препарате определяют по формуле (3):

$$\delta_N^{Py} = \pm 2/98 = \pm 0,020$$

2.3.2. Суммарная относительная погрешность для массы пирена в контрольном растворе ( $\delta_{Py}$ ) равна:

$$\delta_{Py} = \pm \sqrt{(\delta_m^{Py})^2 + (\delta_N^{Py})^2} = \pm \sqrt{0,0062 + 0,0202} = \pm 0,021$$

2.4 Относительную погрешность определения массы антрацена при взвешивании  $\delta_m^{An}$  определяют по формуле (1):

$$\delta_m^{An} = \pm 0,28/30 = \pm 0,009$$

2.4.1. Относительную погрешность определения массовой доли основного вещества для антрацена ( $\delta_N^{An}$ ) в препарате определяют по формуле (3):

$$\delta_N^{An} = \pm 2/98 = \pm 0,020$$

2.4.2. Относительную погрешность используемой мерной посуды при введении антрацена в контрольный раствор № 1 ( $\delta_V^{An}$ ) определяют по формуле (2).

2.5 Допускаемая погрешность от номинальной вместимости для колбы 2-100-2 составляет  $\pm 0,2 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,2$  мл), для пипетки 7-2-10 составляет  $\pm 0,1 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,1$  мл).

$$\delta_V^{An} = \pm (0,2/100 + 0,1/10) = \pm 0,012$$

2.6 Суммарная относительная погрешность для массы антрацена в контрольном растворе № 1 ( $\delta_{An}$ ) равна:

$$\delta_{An} = \pm \sqrt{(\delta_m^{An})^2 + (\delta_N^{An})^2 + (\delta_V^{An})^2} = \pm \sqrt{0,0092 + 0,0202 + 0,0122} = \pm 0,025$$

2.7 Относительную погрешность используемой мерной посуды при приготовлении контрольного раствора № 1 определяют по формуле (2).

2.7.1. Допускаемая погрешность от номинальной вместимости для колбы 2-250-2 составляет  $\pm 0,3 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,3$  мл).

$$\delta_V = \pm 0,3/250 = \pm 0,0012$$

2.8 Погрешность приготовления контрольного раствора № 1 в процентах определяют по формуле (4) и она равна:

$$\delta = \pm 1,1 \cdot 100 \cdot \sqrt{\delta_{Np}^2 + \delta_{Py}^2 + \delta_{An}^2 + \delta_V^2} = \pm 1,1 \cdot 100 \cdot \sqrt{0,0022 + 0,0212 + 0,0252 + 0,0012} = \pm 3,6$$

Таким образом, погрешность приготовления контрольного раствора № 1 составляет  $\pm 3,6 \%$ .

### 3 Методика приготовления контрольного раствора № 2

3.1 Контрольный раствор № 2 готовят двойным разбавлением раствора антрацена 0,3 мг/мл, используемого при приготовлении контрольного раствора № 1.

3.1.1. Из колбы 2-100-2, содержащей раствор антрацена в ацетонитриле, отбирают пипеткой 4-2-1 1  $\text{см}^3$  (1 мл) раствора и переносят в колбу 2-250-2, заполняют ее до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

3.1.2. Затем из колбы 2-250-2 отбирают пипеткой 4-2-1 1  $\text{см}^3$  (1 мл) раствора и переносят в колбу 2-100-2, заполняют ее до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают.

3.2 Относительную погрешность определения массы антрацена при взвешивании ( $\delta_m^{An}$ ) определяют по формуле (1):

$$\delta_m^{An} = \pm 0,28/30 = \pm 0,009$$

3.3 Относительную погрешность определения массовой доли основного вещества для антрацена ( $\delta_N^{An}$ ) в препарате определяют по формуле (3):

$$\delta_N^{An} = \pm 2/98 = \pm 0,020$$

- 3.4 Относительную погрешность используемой мерной посуды  $\delta_V$  при приготовлении контрольного раствора № 2 определяют по формуле (2).
- 3.5 Допускаемая погрешность от номинальной вместимости для колбы 2-1000-2 составляет  $\pm 0,2 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,2 \text{ мл}$ ), для колбы 2-250-2 составляет  $\pm 0,3 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,3 \text{ мл}$ ), для пипетки 7-2-10  $\pm 0,1 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,1 \text{ мл}$ ), для пипетки 4-2-1  $\pm 0,01 \text{ см}^3$  ( $\pm 0,01 \text{ мл}$ ).

$$\delta_V = \pm (0,3/250 + 2 \cdot 0,2/1000 + 0,1/10 + 2 \cdot 0,01/1) = \pm 0,033$$

- 3.6 Погрешность приготовления контрольного раствора № 2 в процентах определяют по формуле (4) и равна:

$$\delta = \pm 1,1 \cdot 100 \cdot \sqrt{0,0092 + 0,0202 + 0,0332} = \pm 4,0$$

Таким образом, погрешность приготовления контрольного раствора № 2 составляет  $\pm 4,0 \%$ .

#### 4 Аттестация контрольных растворов № 1 и № 2

- 4.1 Приготовление контрольных растворов должно осуществляться лицами, аттестованными на право приготовления контрольных растворов, с обязательной записью в "Журнале приготовления контрольных растворов".
- 4.2 Контрольные растворы хранятся в стеклянной посуде из темного стекла при комнатной температуре не более одного года.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** Аттестованный контрольный раствор № 1 (Тестовая смесь "Тест-3") продается производителем хроматографов.

## Приложение 2

## КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ ПРОГРАММЫ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ РАСЧЕТОВ "МетроС"

### ВВЕДЕНИЕ

Программа метрологических расчетов "МетроС" входит в пакет дополнительного программного обеспечения хроматографа «Альфахром М-03».

Программа "МетроС" обеспечивает расчеты основных нормируемых метрологических параметров хроматографа «Альфахром М-03»: величин флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала детектора, среднеквадратического отклонения (СКО) времен удерживания пиков и выходного сигнала (площади пика) в соответствии с методикой поверки ЯПМИ 1544.7.00.00.00.00 И10 с выдачей печатного отчета.

Для расчета параметров необходимо выполнить все подготовительные работы и провести хроматографические эксперименты в соответствии с упомянутой методикой.

Примерный вид хроматограмм, файла детектора и печатного отчета приведены в данном приложении.

### РАБОТА С ПРОГРАММОЙ

Программа функционирует в операционной среде [REDACTED].  
Вход в нее и выход осуществляются стандартным для Windows путем.

При вызове программы на экране появляется диалоговое окно, изображенное на рис. 1. Кнопки с пиктограммами в левой части окна обеспечивают все управление работой программы; для удобства работы они снабжены всплывающими подсказками.

Метрологические расчеты

Расчет СКО площадей пиков и времен удерживания

Пик №	T, мин	СКО (T), %	Площадь пика	СКО площади, %
1		0,379	47,001	0,537
2	2,667	0,376	46,216	0,583
3	3,020	0,373	53,740	0,555
Среднее		0,376	S: 146,957	0,559

Хроматограмм использовано: 10      Серийный № прибора: 123/12

**Тест на СКО времен удерживания пиков пройден успешно!**

**Тест на СКО площадей пиков пройден успешно!**

Определение величины шума и дрейфа детектора  
P:\Аганичев\Шум детектора\04660845.det

Шум, е.о.п. = 0,00001747  
Статус: В норме!

Дрейф, е.о.п./ч = 0,00001540 ± 0,00000112  
Статус: В норме!

Рис.1. Основное диалоговое окно программы "МетроС"



При подведении указателя мыши к первой кнопке возникнет подсказка "**Выберите хроматограммы для расчета**", а при щелчке – откроется стандартное диалоговое окно (рис. 2) для выбора хроматограмм, которые будут участвовать в расчете СКО, и файла детектора, на основании которого будут выполнены расчеты величин шума и дрейфа детектора.

В окошке **Папка** надо выбрать диск и папку в которой содержатся хроматограммы. Удерживая клавишу **Ctrl** на клавиатуре, мышью пометить необходимые хроматограммы и нажать **Открыть файлы**. Список файлов появится в основном окне программы.

Для получения полного отчета о метрологических характеристиках прибора рекомендуется вновь открыть диалоговое окно выбора, выбрать папку с файлами детектора и так же **Открыть** соответствующий файл детектора.

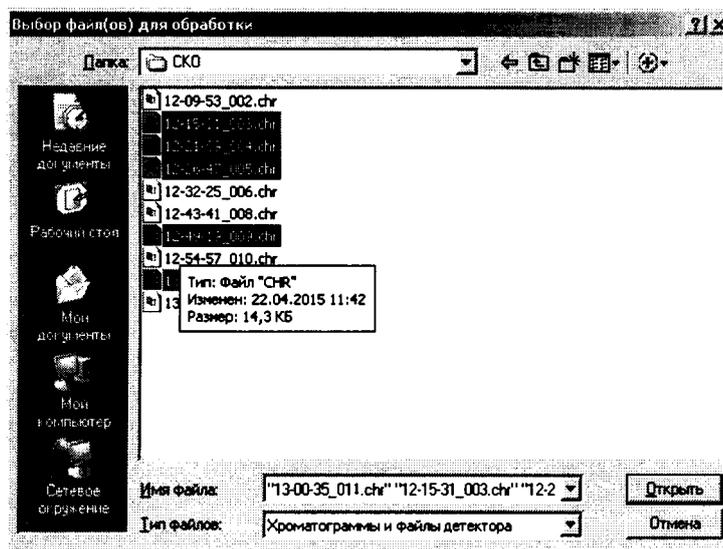


Рис.2. Диалоговое окно выбора хроматограмм и файла детектора

## 1 РАСЧЕТ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК



При нажатии на кнопку, изображенную слева, автоматически будут выполнены все расчеты, и результат расчетов будет отражен в основном окне справа.

Программа рассчитана только на обработку таких хроматограмм, которые выполнены в соответствии с методикой поверки, и площади пиков которых не отличаются от среднестатистических для этой системы более чем на 5 процентов.

В случае неудачных хроматографических экспериментов или при ошибочном выборе хроматограмм на экране возникнет окно предупреждения с надписью "В хроматограмме не найден пик для расчета :.... Хроматограмма исключена из расчета". С этим можно только согласиться, нажав **ОК**, и получить результат по оставшимся хроматограммам, либо добавить дополнительные хроматограммы и повторить расчет.

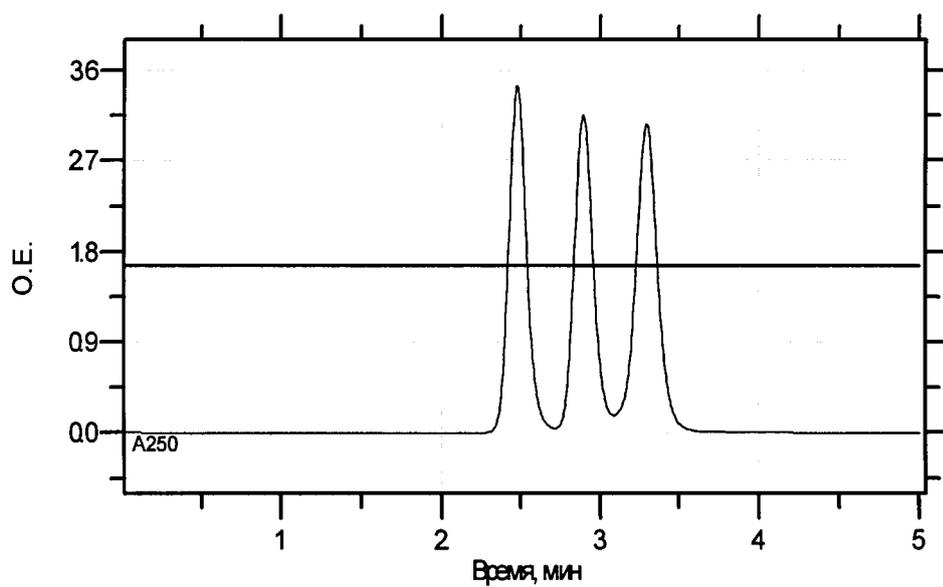
## 2 ПЕЧАТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ РАСЧЕТА



При нажатии на кнопку с нарисованным принтером открывается окно предварительного просмотра печатного отчета. Форма отчета жестко задана и не может быть изменена. В нем предусмотрено отражение всех данных хроматографических экспериментов (колонка, проба, режим детектора, режим элюции, имена файлов и пр.) и собственно результатов расчетов с соответствующими заключениями: "Тест СКО ..... ПРОШЕЛ" или "Тест СКО ..... НЕ ПРОШЕЛ". Заключение о том, что тест прошел либо не прошел, делается на основании соответствующих критериев, записанных в методике поверки и в ТУ на хроматограф «Альфахром М-03».

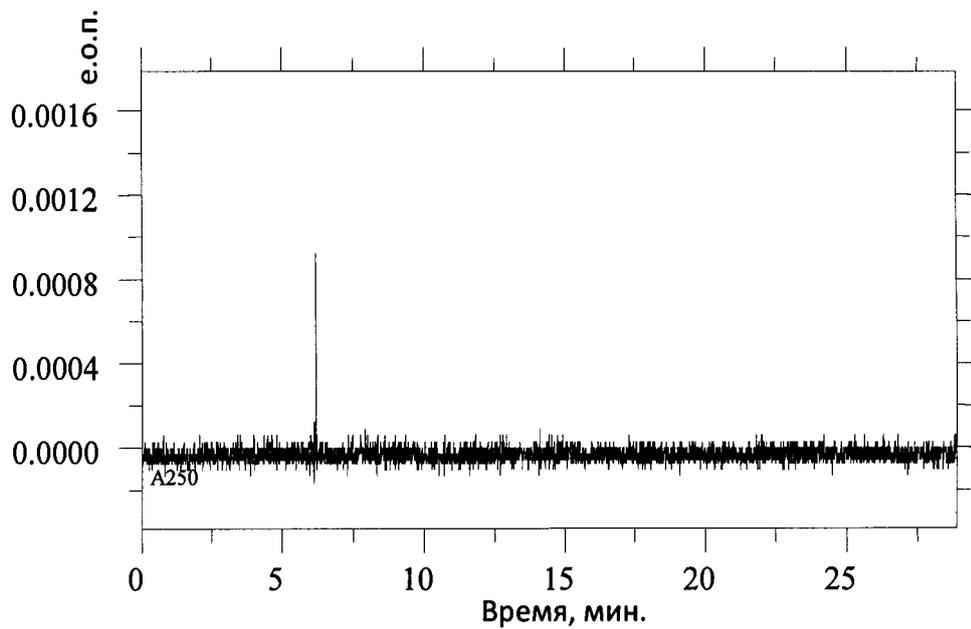
Отчет может быть записан в файл. Файл записывается в txt-формате в ту же папку, где находятся хроматограммы, и впоследствии он может быть вставлен в текстовый или графический редактор.

Примерный вид хроматограммы контрольного раствора №1 (тестовая смесь "Тест-3").



Примерный вид записи шума и дрейфа детектора.

Допускается наличие случайного выброса - не более одного за период записи.



## ОТЧЕТ О ПРОВЕРКЕ ХРОМАТОГРАФА

Определение СКО сигнала (площадей пиков) и СКО времени удерживания

Дата

Оператор Головина  
№ анализа

Проба 5 мкл № пробирок 2, 1, 1, 1, 1, 1, 2, 2, 2, 2

Колонка ProntoSil-120-5-C18 AQ, N=3717, D (мм)=2, L (мм)=75, dP (um)=5

Температура 35°C

Параметры детектора Длина волны: 250 нм, Нижняя кювета  
Метод измерения Одно-лучевой

Элюенты:

А ацетонитрил  
Б ацетонитрил

Табл. градиента	Шаг	Реген	0	1
	Объем, мкл	0	0	500
	%Б	0	50	50
	Поток, мкл/мин	100	100	100

Макс. давление, МПа: 0,8

Условия проведения экспериментов - в соответствии с инструкцией по эксплуатации

## Результаты расчетов:

Легенда:  $T_{cp}$  - среднее время удерживания пика  
 $СКО(T)$  - относительное СКО времени удерживания  
 Сигнал - средняя площадь пиков  
 $СКО(сигнал)$  - относительное СКО площадей пиков

№ Пика	$T_{cp}$ мин	$СКО(T)$ %	$S_{cp}$ е.о.п*мкл	$СКО(S)$ %
1	2,298	0,379	47,001	0,537
2	2,667	0,376	46,216	0,583
3	3,020	0,373	53,740	0,555

Сумма: 146,95  
 Среднее: 0,376 0,559

Условия прохождения теста:  $СКО(T) < 1\%$ ,  $СКО(S) < 1\%$ 

Использовано файлов 10

D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\13-06-13\_012.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-09-53\_002.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-15-31\_003.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-21-09\_004.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-26-47\_005.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-32-25\_006.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-43-41\_008.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-49-19\_009.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\12-54-57\_010.chr  
 D:\AlphaChrom\Анализы\СКО\13-00-35\_011.chr

## Результаты проверки:

Тест на СКО площадей пиков пройден успешно!

Тест на СКО времени удерживания пиков пройден успешно!

Хроматограф ГОТОВ к использованию

Подпись оператора \_\_\_\_\_ дата \_\_\_\_\_

Подпись ответственного \_\_\_\_\_ дата \_\_\_\_\_

## ПРОТОКОЛ № \_\_\_\_\_

**Хроматограф жидкостный высокоэффективный «Альфахром® М-03»**

Тип прибора: хроматограф «Альфахром М-03»

Заводской № \_\_\_\_\_

Детектор: УФ-спектрофотометр, № детектора \_\_\_\_\_

Вид поверки: первичная / периодическая

Принадлежит: \_\_\_\_\_

(наименование организации)

Условия поверки: температура окружающего воздуха \_\_\_°С, атм. давление \_\_\_\_\_ кПа,

относительная влажность воздуха \_\_\_\_\_ %

Средства поверки: Контрольный раствор №1 (Тестовая смесь "Тест-3"); Объем пробы 5 мкл;

Режимы поверки: в соответствии с методикой поверки ЯПМИ 1544.7.00.00.00.00 И10

**Результаты поверки:**

1. Внешний осмотр: соответствует требованиям
2. Опробование: пригоден к применению
3. Определение параметров детектора:

Наименование параметра	Единицы измерения	Значение параметра	
		Действительное	Допустимое
Время выхода на режим	ч		0,5
Уровень флуктуационных шумов	е.о.п.		$1,0 \cdot 10^{-4}$
Дрейф нулевого сигнала	е.о.п./ч		$5 \cdot 10^{-5}$

4. Определение метрологических характеристик.

## 4.1. Определение среднего квадратического отклонения выходного сигнала

Наименование выходного сигнала	Полученное СКО выходного сигнала, %	Допустимое СКО выходного сигнала, %
Время удерживания		1,0
Площадь пика		1,0

## 4.2. Определение изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы

Наименование выходного сигнала	Полученное относительное изменение выходного сигнала, %	Допустимое относительное изменение выходного сигнала, %
Площадь пика		3,0
Время удерживания		3,0

По результатам поверки прибор признан пригодным / непригодным к применению.

(ненужное зачеркнуть)

Выдано свидетельство / извещение о непригодности / № \_\_\_\_\_

(ненужное зачеркнуть)

Поверку провел \_\_\_\_\_

Фамилия И.О.

Подпись

Отв. исполнитель \_\_\_\_\_

Фамилия И.О.

Подпись

Дата поверки " \_\_\_\_ " 201\_ г