

УТВЕРЖДАЮ



Генеральный директор СИ ФГУП «ВНИИМС»

В.Н.Яншин

2006 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

ХРОМАТОГРАФЫ ЖИДКОСТНЫЕ Agilent 1100, Agilent 1200

Методика поверки

Москва 2006 г.

Настоящая инструкция распространяется на жидкостные хроматографы Agilent 1100, Agilent 1200 со спектрофотометрическим с изменяемой длиной волны, многоволновым спектрофотометрическим, на диодной матрице, рефрактометрическим и флуориметрическим детекторами и устанавливает и устанавливает методику их первичной и периодической поверок.

Межповерочный интервал 1 год.

## 1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

1.1 При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методических указаний	Обязательное проведение операции	
		при эксплуатации	После ремонта
Внешний осмотр	4.1.	да	да
Опробование	4.2.	да	да
– определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала	4.2.1.	да	да
– определение дрейфа нулевого сигнала	4.2.2.	да	да
– определение отношения сигнал/шум по Рамановскому спектру воды для флуориметрического детектора	4.2.3.	да	да
– определение предела детектирования	4.2.4.	да	да
Определение метрологических характеристик:	4.3.	да	да
– определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала	4.3.1.– 4.3.4.	да	да
– определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы	4.3.5.– 4.3.6.	да	да

## 2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ, РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

Контрольные вещества:

– ГСО 7895-2001 состава раствора кофеина в воде;

- ✓ – аттестованные растворы антрацена в ацетонитриле.  
 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии ТУ 6-09-14-2167-84.  
 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72. +  
 Колонка Hypersil ODS 125x4,0 мм. *свое*  
 Допускается применять другие средства поверки, метрологические характеристики которых соответствуют указанным в настоящей инструкции.

### 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.

При использовании системы Agilent ChemStation поверка хроматографа выполняется автоматически. Установку режимных параметров, проведение операций поверки и обработку результатов выполняют через функцию "Verification".

3.3 Перед проведением поверки готовят контрольные смеси, назначение и содержание анализируемых компонентов в которых приведено в таблице 2. Относительная погрешность аттестации не более 10%.

Таблица 2

Контрольный раствор	Массовая концентрация мг/дм <sup>3</sup>	Объем пробы, мкл	Элюент	Скорость потока элюента, см <sup>3</sup> /мин	Детектор
Кофеин-вода	0,125 <i>10</i> <i>конт. N</i>	5	Ацетонитрил : вода 4:1	0,8	Спектрофотометрический с изменяемой длиной волны Многоволновой спектрофотометрический ✓ На диодной матрице
Кофеин-вода	1,25	1	Ацетонитрил : вода 4:1	1	Рефрактометрический

## 4 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

### 4.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности хроматографа паспортным данным;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей.

### 4.2 Опробование

При опробовании проводят определение уровня флуктуационных шумов, дрейфа нулевого сигнала, отношения сигнал/шум по Рамановскому спектру воды для флуориметрического детектора и предела детектирования для остальных детекторов.

4.2.1 Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала определяют при условиях, указанных в таблице 3, после выхода хроматографа на режим (время выхода на режим для каждого детектора установлено в инструкции по эксплуатации). Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала измеряют в динамическом режиме в течение 30 мин. В качестве элюента используют воду.

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала ( $\Delta X$ ) принимают равным амплитуде ( $h$ ) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 секунд.

Таблица 3

	Детектор	
	Спектрофотометрический с изменяемой длиной волны; многоволновой спектрофотометрический; на диодной матрице	Рефрактометрический
Элюент	Вода	Вода
Скорость потока элюента, см <sup>3</sup> /мин	0,8	1
Длина волны, нм	254	–
Постоянная времени, сек	2	4

4.2.2 При использовании системы Agilent ChemStation значения шума и дрейфа рассчитываются автоматически. Полученные значения не должны превышать значений, приведенных в таблице 4.

Таблица 4

Детектор	Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (peak to peak)	Дрейф нулевого сигнала
Спектрофотометрический с изменяемой длиной волны		
- для 1100	$4 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$5 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./час
✓ - для 1200, 1200 SL	$1,5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$3 \cdot 10^{-4}$
На диодной матрице, многоволновый спектрофотометрический		
- для 1100	$5,0 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$5,0 \cdot 10^{-3}$ е.о.п./час
✓ - для 1200	$2,0 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$2,0 \cdot 10^{-3}$ е.о.п./час
- для 1200 SL	$1,6 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$0,9 \cdot 10^{-3}$ е.о.п./час
Рефрактометрический		
- для 1100	$5,0 \cdot 10^{-8}$	$2 \cdot 10^{-7}$ ед.рефр./час
✓ - для 1200	$5,0 \cdot 10^{-9}$	$2 \cdot 10^{-7}$ ед.рефр./час

#### 4.2.3 Определение отношения сигнал/шум по Рамановскому спектру воды

Определение отношения сигнал/шум для флуориметрического детектора проводят согласно процедуре, описанной в Разделе 10 «Руководства по эксплуатации флуориметрического детектора» для хроматографа Agilent 1100 и Разделе 8 «Инструкции по сервисному обслуживанию» для хроматографа Agilent 1200 при длинах волн возбуждения 350 нм и эмиссии 392 нм.

Полученные значения должны быть не менее:

для Agilent 1100 series (вариант А платы FCF) 200:1

для остальных вариантов Agilent 1100 series 400:1

для Agilent 1200 series 500:1.

#### 4.2.4 Определение предела детектирования

Предел детектирования определяют с использованием контрольных веществ и условий, указанных в таблице 2.

В хроматограф вводят пробу контрольного вещества, определяют высоту и ширину пика на половине его высоты ( $\mu_{0,5}$ )

Предел детектирования рассчитывают по формуле:

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

где G – количество контрольного вещества, г;

V – скорость элюента, см<sup>3</sup>/мин;

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



- $\Delta x$  – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, определенный по п.4.2.1;
- $H$  – высота пика контрольного вещества;
- $\Delta X$  и  $H$  – измеряют в мм, условных единицах, мВ, либо в единицах, указанных в п.4.2.2.

Полученные результаты не должны превышать приведенных ниже значений предела детектирования:

Детектор спектрофотометрический с изменяемой длиной волны	$1,5 \cdot 10^{-9}$ г/см <sup>3</sup> кофеина
✓ Детектор на диодной матрице; многоволновый спектрофотометрический детектор	$2 \cdot 10^{-9}$ г/см <sup>3</sup> кофеина
Детектор рефрактометрический	$1 \cdot 10^{-6}$ г/см <sup>3</sup> кофеина

#### 4.3 Определение метрологических характеристик

4.3.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходных сигналов.

Измерения проводят после выхода хроматографа на режим. Условия выполнения измерений должны соответствовать приведенным в разделе 3.

4.3.2 Контрольный раствор (табл.3.) вводят в хроматограф не менее 6 раз, измеряют значения выходных сигналов (высот, площадей пиков и времен удерживания) и вычисляют их среднее арифметическое значение.

4.3.3 Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле

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

где  $\bar{X}_i$  – значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания).

$\bar{X}$  ср. арифм. знач. вых. сигнала.

4.3.4. Значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания), %, не должны превышать данных, приведенных в таблице 5.

Таблица 5

	При автоматическом дозировании		При ручном дозировании	
	по площади пика	по времени удерживания	по площади пика	по времени удерживания
Детектор спектрофотометрический с изменяемой длиной волны	1	0,3	2	1
Детектор на диодной матрице, многоволновый спектрофотометрический детектор	✓ 1	✓ 0,3	2	1
Детектор рефрактометрический	2	0,3	3	0,3
Детектор флуориметрический	2	0,3	4	0,3

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

Условия измерения аналогичны, описанным в разделе 3. Проводят операции, описанные в п.4.3.2. Через 8 часов непрерывной работы повторяют измерения по п.4.3.2.

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

$$\delta = \frac{|\bar{X}_t - \bar{X}|}{\bar{X}} \cdot 100$$

4.3.6 Значения относительного изменения выходных сигналов (по площади пика) не должны превышать значений, приведенных в таблице 6.

Таблица 6

	При автоматическом дозировании	При ручном дозировании
Детектор спектрофотометрический с изменяемой длиной волны	2	3
Детектор на диодной матрице, многоволновый спектрофотометрический детектор	2	3
Детектор рефрактометрический	5	6
Детектор флуориметрический	2	4

## 5 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

5.1 Результаты поверки хроматографа заносят в протокол.

При использовании системы Agilent ChemStation протоколы с результатами поверки распечатываются автоматически.

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.

Начальник сектора ФГУП "ВНИИМС"



О.Л.Рутенберг

Инженер ФГУП "ВНИИМС"



Т.О.Никифоров