

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель ГЦИ СИ ФГУП
«ВНИИМ им Д.И.Менделеева»



« _____ » _____ г.


СИСТЕМЫ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
« КАПЕЛЬ »
МЕТОДИКА ПОВЕРКИ
МП-242-1205-2011

Руководитель отдела
ГЦИ СИ "ВНИИМ им.Д.И.Менделеева"



Л.А.Конопелько

Старший научный сотрудник
ГЦИ СИ "ВНИИМ им.Д.И.Менделеева"



М.А.Мешалкин

Санкт - Петербург
2011

Содержание

1	Операции поверки	3
2	Средства поверки	3
3	Требования безопасности.....	4
4	Условия поверки	4
5	Подготовка к проведению поверки	5
6	Проведение поверки	5
6.1	Внешний осмотр и опробование.....	5
6.2	Определение предела обнаружения.....	5
6.3	Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (по площади пика)	9
7	Оформление результатов поверки	10
	ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное) Приготовление поверочных растворов	11
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б (рекомендуемое) Подготовка капилляра.....	18
	ПРИЛОЖЕНИЕ В (обязательное) Обработка данных.....	20
	ПРИЛОЖЕНИЕ Г (обязательное) Форма протокола поверки	25

Настоящая методика поверки распространяется на системы капиллярного электрофореза «Капель» (далее – системы «Капель»), как вновь, так и ранее выпущенные из производства, предназначенные для количественного и качественного определения состава проб веществ в водных и водно-органических растворах.

Межповерочный интервал – 1 год.

1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

При проведении поверки должны быть выполнены операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методики	Проведение операций	
		Первичная поверка	Периодическая поверка
Внешний осмотр и опробование	6.1	Да	Да
Определение предела обнаружения	6.2	Да	Да
Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (по площади пика)	6.3	Да	Да
<p>П р и м е ч а н и е - При периодической поверке систем «Капель» допускается проводить операции по п.п. 6.2 и 6.3 с источником высокого напряжения одной полярности, при этом право выбора полярности принадлежит потребителю.</p>			

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки должны быть применены средства поверки со следующими характеристиками:

- государственный стандартный образец удельной энергии сгорания ГСО 5504-90 (бензойная кислота молярной доли не

менее 99,99 %) или бензойная кислота по ГОСТ 10521-78, ч.д.а. или бензоат натрия по ТУ 6-09-2785-78, ч.

- государственный стандартный образец состава раствора хлорид-ионов ГСО 6687-93 (1 мг/см³, ПГ ± 1 %)

2.2 Все применяемые средства измерений должны быть поверены в установленном порядке и иметь действующие свидетельства о поверке. Средства измерений и стандартные образцы могут быть заменены аналогичными, обеспечивающими требуемую точность и пределы измерений, а вспомогательное оборудование, химические реактивы и материалы – обладающими аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

3 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

При проведении поверки систем «Капель» необходимо соблюдать требования «Межотраслевых правил по охране труда (правила безопасности) при эксплуатации электроустановок» ПОТ Р М-016-2001, правила техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007-76, а также требования, изложенные в Руководстве по эксплуатации систем «Капель».

4 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки должны соблюдаться следующие условия:

- температура окружающей среды (20 ± 5)°С;
- относительная влажность воздуха не более 80%;
- атмосферное давление от 84 до 106 кПа;
- напряжение сети питания (220 ± 22) В, частота (50 ± 1) Гц;
- содержание вредных веществ в воздухе помещения, где проводится поверка, не должно превышать установленных по ГОСТ 12.1.005-88 значений предельно допустимых концентраций.

Допускается участие в поверке операторов, обслуживающих систему.

Перед проведением поверки необходимо изучить Руководство по эксплуатации систем «Капель» и настоящую методику, и обеспе-

чить выполнение условий поверки и требований техники безопасности.

5 ПОДГОТОВКА К ПРОВЕДЕНИЮ ПОВЕРКИ

При подготовке к проведению поверки выполняют следующие операции:

- подготавливают систему «Капель» к работе согласно Руководству по эксплуатации;
- устанавливают в систему «Капель» кассету с капилляром (**внутренний диаметр 75 мкм, общая длина 60 см**) и высоковольтный блок выбранной полярности;
- подготавливают средства поверки, перечисленные в разделе 2;
- готовят буферные и поверочные растворы согласно Приложению А.

6 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

6.1 Внешний осмотр и опробование

6.1.1 При внешнем осмотре устанавливают отсутствие механических и электрических повреждений, влияющих на нормальную работу системы.

6.1.2 Включают систему «Капель» и прогревают ее в течение 30 минут в соответствии с Руководством по эксплуатации.

6.2 Определение предела обнаружения

6.2.1 В зависимости от полярности источника напряжения системы «Капель» измерения проводят с использованием различных буферных растворов и рабочих веществ:

- бензойной кислоты и тетраборатного буферного раствора для систем «Капель» с положительной полярностью источника высокого напряжения;
- хлорид-ионов и хроматного буферного раствора для систем «Капель» с отрицательной полярностью источника высокого напряжения.

6.2.2 Перед измерением все растворы фильтруют через целлюлозно-ацетатные фильтры, входящие в комплект системы «Ка-

пель» и/или дегазируют центрифугированием (скорость вращения – 5000 об/мин, время 5 мин).

6.2.3 Перед началом проведения измерений промывают капилляр согласно Приложению Б.

6.2.4 Рекомендуется перед началом проведения поверки получить пробную электрофореграмму, по которой можно определить время миграции пика рабочего вещества.

В зависимости от выбранной полярности источника высокого напряжения регистрируют пробную электрофореграмму раствора № 3 бензойной кислоты (п.А.3.5) в условиях согласно п.6.2.5 (табл.2) или раствора № 2 хлорид-ионов (п.А.4.6) в условиях согласно п.6.2.7 (табл.3).

Время миграции ($T_{\text{миг}}$, мин) пика бензойной кислоты не должно превышать 10 мин, пика хлорид-ионов 5 мин. При невыполнении этих условий промывку капилляра продолжают.

После регистрации пробной электрофореграммы промывают капилляр в соответствии с Приложением Б и переходят к п.6.2.5 в случае положительной полярности источника напряжения системы «Капель» или к п.6.2.7 в случае отрицательной полярности источника напряжения системы «Капель».

Проведение поверки при положительной полярности источника высокого напряжения

6.2.5 В соответствии с Руководством по эксплуатации системы «Капель» регистрируют по две электрофореграммы каждого из поверочных растворов бензойной кислоты №№ 3-6, приготовленных по п.А.3.5 - А.3.6 в условиях, указанных в таблице 2.

После регистрации каждой электрофореграммы капилляр промывают по п.Б.3.

Таблица 2 - Условия проведения измерений при положительной полярности источника высокого напряжения

Рабочее вещество	Бензойная кислота	
Исполнения систем	«Капель-103РТ», «Капель-104Т»	«Капель-105М»
Длина волны, нм	254	220
Температура, °С	20	
Ввод пробы	Давление 30 мбар, время 30 с	
Напряжение, кВ	20	
Ведущий электролит	Буферный раствор по п.А.3.2	
Время анализа, мин	$T_{\text{миг}} + 1$	

6.2.6 Далее переходят к обработке результатов.

Проведение поверки при отрицательной полярности источника высокого напряжения

6.2.7 В соответствии с Руководством по эксплуатации системы «Капель» регистрируют по две электрофореграммы каждого из поверочных растворов хлорид-ионов №№ 2-5, приготовленных по п.п.А.4.6 - А.4.7 в условиях, указанных в таблице 3.

После регистрации каждой электрофореграммы капилляр промывают по п.Б.3.

6.2.8 Далее переходят к обработке результатов.

Таблица 3 – Условия проведения измерений при отрицательной полярности источника высокого напряжения

Рабочее вещество	Хлорид-ионы	
Исполнения систем	«Капель-103РТ», «Капель-104Т»	«Капель-105М»
Длина волны, нм	254	370
Температура, °С	20	
Ввод пробы	Давление 30 мбар, время 10 с	
Напряжение, кВ	минус 17	
Ведущий электролит	Буферный раствор по п.А.4.4	
Время анализа, мин	$T_{\text{миг}} + 1$	

Обработка результатов

6.2.9 На полученных электрофореграммах проверяют правильность автоматической разметки пиков рабочих веществ и, если необходимо, корректируют её.

6.2.10 Используя программное обеспечение, находят:

- высоту пика H_i рабочего вещества;
- максимальную величину уровня флуктуации шумов нулевого сигнала H_{sh} на участке с минимальным количеством выбросов; этот участок должен быть не менее 30 с для хлорид-ионов и не менее 60 с для бензойной кислоты (см. Приложение В).

П р и м е ч а н и е - Кратковременные изменения выходного сигнала, имеющие характер одиночных импульсов, при оценке уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала не учитывают.

6.2.11 Вычисляют отношение сигнал/шум (H_i / H_{sh}) для всех электрофореграмм. Для каждого значения массовой концентрации рабочего вещества вычисляют среднее арифметическое двух полученных значений отношения сигнал/шум. Результаты сводят в таблицу 4.

Таблица 4

№ раствора	Высота пика H_i	H_{sh}	Концентрация рабочего вещества (мкг/см ³)	Отношение сигнал / шум	Среднее отношение сигнал/ шум

6.2.12 Строят график зависимости среднего отношения сигнал/шум от концентрации рабочего вещества, используя данные из таблицы 4, в виде линейной функции

$$R = a + b \cdot C \quad (1)$$

где R - отношение сигнал/шум (H_i / H_{sh});

C - массовая концентрация рабочего вещества, мкг/см³;

a, b - параметры линейной функции.

и находят угловой коэффициент b . Некоторые рекомендации по использованию для этой цели программного продукта MS Excel и ручной обработке данных приведены в Приложении В.

6.2.13 Рассчитывают предел обнаружения рабочего вещества ($C_{мин}$, мкг/см³) по формуле

$$C_{мин} = \frac{3}{b} \quad (2)$$

6.2.14 Система считается прошедшей поверку, если полученное значение не превышает 0,8 мкг/см³ при использовании бензойной кислоты (для положительной полярности источника высокого напряжения) и 0,5 мкг/см³ при использовании хлорид-ионов (для отрицательной полярности источника высокого напряжения).

6.3 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (по площади пика)

Регистрируют пять раз электрофореграмму поверочного раствора бензойной кислоты (в случае положительной полярности) или хлорид-ионов (в случае отрицательной полярности) массовой концентрации 4 мкг/см³ в условиях, приведенных в таблицах 2 (п.6.2.5) или 3 (п. 6.2.7) соответственно. На полученных электрофореграммах

проверяют правильность автоматической разметки пиков и, если необходимо, корректируют её.

Используя программное обеспечение, вычисляют площади пика рабочего вещества на каждой электрофореграмме.

Вычисляют среднее арифметическое A_{cp} полученных значений (A_i) и относительное среднее квадратическое отклонение (S_A) по формулам:

$$A_{cp} = \frac{\sum A_i}{N} \quad (3)$$

$$S_A = 100 \cdot \frac{\sqrt{\frac{\sum (A_i - A_{cp})^2}{N - 1}}}{A_{cp}} \quad (4)$$

где N - число измерений.

Система считается прошедшей поверку, если относительное среднее квадратическое отклонение не превышает 5 %.

7 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

7.1 Результаты поверки системы заносят в протокол по форме Приложения Г.

7.2 Система, прошедшая поверку с положительными результатами, признается годной и допускается к дальнейшему использованию. На нее оформляется свидетельство о поверке установленного образца.

7.3 Система, прошедшая поверку с отрицательным результатом, к дальнейшей эксплуатации не допускается, и на нее оформляется извещение о непригодности.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

Приготовление поверочных растворов**А.1 Средства измерений, вспомогательное оборудование и реактивы для приготовления растворов**

А.1.1 Для приготовления поверочных и вспомогательных растворов применяют следующие средства измерений и вспомогательное оборудование:

Колбы мерные 2-го класса точности вместимостью 25, 50, 100 см ³	ГОСТ 1770-74
Пипетки градуированные, 2-го класса точности вместимостью 1, 5, 10 см ³	ГОСТ 29227-91
Дозаторы пипеточные переменного объема 100 - 1000 мм ³ (допускаемая систематическая составляющая основной погрешности измерений не более ± 2 %, СКО случайной составляющей погрешности не более 2 %)	ТУ 9452-001-33189998-95
Весы лабораторные специального класса точности с ценой деления не более 0,1 мг, наибольшим пределом взвешивания не более 220 г	ГОСТ Р 53228-2008
Стаканы химические вместимостью 200 см ³	ГОСТ 25336-82
Дистиллятор	ТУ 25.11-1592-81
Центрифуга лабораторная с частотой вращения не менее 5000 оборотов в минуту	ТУ 5-375-4261-76
Пробирки одноразовые (типа Эппендорф) вместимостью 1,5 см ³	ТУ 62-2-300-80
Шприц медицинский одноразовый типа «Луер» вместимостью 10, 20 см ³	ГОСТ 24861-91
Фильтры целлюлозно-ацетатные, размер пор 0,2 мкм, диаметр 25 мм	ТУ 6-55-221-879-88

Оправа для фильтра, например, производства фирмы «SARTORIUS STEDIM», каталожный номер 16517

А.1.2 Для приготовления поверочных и вспомогательных растворов используют следующие реактивы:

Вода дистиллированная ГОСТ 6709-72

Соляная кислота, х.ч. ГОСТ 3118-77

Гидроксид натрия, х.ч. ГОСТ 4328-77

Хрома (VI) оксид, ч.д.а. ГОСТ 3776-78

Цетилтриметиламмония гидроксид, (ЦТА-ОН), импортный, квалификации р.а., например, производства фирмы «Fluka», Швейцария, кат. номер 52385

или цетилтриметиламмония бромид (ЦТАБ), импортный, например, производства фирмы «Fluka», Швейцария, кат. номер 52369

Диэтаноламин (бис(2-оксиэтил)амин), квалификации р.а., например, производства фирмы «Fluka», Швейцария, кат. номер 31589

Натрий тетраборнокислый, стандарт-титр ТУ 6-09-2540-87

А.2 Приготовление растворов для промывки капилляра

Все растворы готовят на свежей дистиллированной воде, соответствующей ГОСТ 6709-72.

А.2.1 Раствор гидроксида натрия для промывки капилляра

В стакан из термостойкого стекла помещают 2 г гидроксида натрия и растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Молярная концентрация раствора приблизительно 0,5 моль/дм³.

Срок хранения в посуде из полиэтилена 6 месяцев.

А.2.2 Раствор соляной кислоты для промывки капилляра

В стакан из термостойкого стекла помещают 100 см³ дистиллированной воды, затем приливают 8 см³ концентрированной соляной кислоты и перемешивают. Молярная концентрация раствора приблизительно 1 моль/дм³.

Срок хранения не ограничен.

А.3 Приготовление растворов для проведения поверки при ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ полярности источника высокого напряжения

А.3.1 Раствор натрия тетраборнокислого, молярная концентрация 0,05 моль/дм³

Раствор готовят из стандарт-титра по прилагаемой к нему инструкции. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде в условиях, исключающих поглощение диоксида углерода.

Срок хранения – 6 месяцев.

А.3.2 Раствор натрия тетраборнокислого, молярная концентрация 0,01 моль/дм³ (буферный раствор)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 10 см³ раствора натрия тетраборнокислого, приготовленного по п.А.3.1, и доводят до метки дистиллированной водой. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде в условиях, исключающих поглощение диоксида углерода.

Срок хранения – 2 месяца.

А.3.3 Приготовление запасного раствора бензойной кислоты №1 (массовая концентрация 1000 мкг/см³)

Навеску бензойной кислоты массой 100 мг растворяют в дистиллированной воде при нагревании на водяной бане, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, охлаждают до комнатной температуры, доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в холодильнике – 1 месяц.

П р и м е ч а н и е - Допускается приготовление раствора № 1 из бензоата натрия, навеска которого составляет 118 мг. При его использовании нагревание для полного растворения, как правило, не требуется.

А.3.4 Приготовление запасного раствора бензойной кислоты №2 (массовая концентрация 100 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 5 см³ запасного раствора №1 (п.А.3.3), доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в холодильнике – 1 неделя.

А.3.5 Приготовление поверочного раствора бензойной кислоты №3 (массовая концентрация 4 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 1 см³ запасного раствора №2 (п.А.3.4), доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Раствор используют в день приготовления.

А.3.6 Приготовление поверочных растворов бензойной кислоты №№ 4 - 6

В чистые сухие пробирки типа «Эппендорф» помещают объемы растворов, указанные в таблице А.1 и перемешивают.

Растворы используют в день приготовления.

Таблица А.1 – Приготовление поверочных растворов бензойной кислоты

Раствор бензойной кислоты	Массовая концентрация, мкг/см ³	Исходные растворы	Объемы исходных растворов, мм ³
Раствор № 4	2,0	Раствор № 3	400
		Дистиллированная вода	400
Раствор № 5	1,0	Раствор № 3	200
		Дистиллированная вода	600
Раствор № 6	0,5	Раствор № 3	100
		Дистиллированная вода	700

П р и м е ч а н и е – При отсутствии дозаторов допускается увеличение объемов и использование для приготовления поверочных растворов градуированных пипеток и мерных колб.

А.4 Приготовление растворов для проведения поверки при ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ полярности источника высокого напряжения

А.4.1 Раствор оксида хрома (VI), молярная концентрация 0,05 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают навеску 0,50 г оксида хрома (VI), растворяют в 50 - 60 см³ дистиллированной воды, затем доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в плотно закрытом полиэтиленовом сосуде не ограничен.

А.4.2 Раствор диэтанолamina (ДЭА), молярная концентрация 0,1 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 0,263 г диэтанолamina, предварительно замороженного (при необходимости) до кристаллического состояния, растворяют в дистиллированной воде и доводят до метки дистиллированной водой.

Срок хранения раствора в полиэтиленовой посуде в условиях, исключающих поглощение диоксида углерода из воздуха – 1 месяц.

А.4.3 Раствор цетилтриметиламмония гидроксида (ЦТА-ОН), молярная концентрация 0,01 моль/дм³

В мерную колбу вместимостью 25 см³, содержащую 4 – 5 см³ дистиллированной воды, помещают 0,75 см³ 10%-ного раствора ЦТА-ОН. Объем раствора в колбе доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Срок хранения раствора в пластиковой посуде в условиях, исключающих поглощение углекислого газа из воздуха, в холодильнике – 6 месяцев.

П р и м е ч а н и е – При отсутствии ЦТА-ОН раствор можно приготовить из ЦТАБ. Для этого в мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 0,091 г ЦТАБ, добавляют 15 см³ дистиллированной воды, выдерживают на водяной бане при 30°С до полного растворения, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Молярная концентрация ЦТАБ - 0,01 моль/дм³.

А.4.4 Хроматный буферный раствор

В чистый сухой стакан вместимостью 50 см³ помещают 2,0 см³ раствора оксида хрома (VI), приготовленного по п.А.4.1, 3,0 см³ раствора ДЭА, приготовленного по п.А.4.2, и 3,0 см³ дистиллированной воды. Тщательно перемешивают, затем добавляют 2,0 см³ ЦТА-ОН, приготовленного по п.А.4.3. Сразу после смешения раствор фильтруют через мембранный фильтр, используя медицинский шприц, в пластиковую посуду с закрывающейся крышкой.

Приготовленный раствор содержит 10 ммоль/дм³ оксида хрома (VI), 30 ммоль/дм³ ДЭА и 2,0 ммоль/дм³ ЦТА-ОН.

Буферный раствор используется для проведения поверки при отрицательной полярности источника высокого напряжения.

Срок хранения – 1 неделя.

А.4.5 Приготовление запасного раствора хлорид-ионов №1 (массовая концентрация 100 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 5,0 см³ государственного стандартного образца состава раствора хлорид-ионов, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Срок хранения раствора – 1 месяц.

А.4.6 Приготовление поверочного раствора хлорид-ионов №2 (массовая концентрация 4 мкг/см³)

В мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 1,0 см³ государственного стандартного образца состава раствора хлорид-ионов, доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают.

Раствор используют в день приготовления

А.4.7 Приготовление поверочных растворов хлорид-ионов №№ 3-5

В чистые сухие пробирки типа «Эппендорф» помещают объемы растворов, указанные в таблице А.2 и перемешивают.

Растворы используют в день приготовления

Таблица А.2 – Приготовление поверочных растворов хлорид - ионов

Раствор хлорид-ионов	Концентрация, мкг/см ³	Исходные растворы	Объемы исходных растворов, мм ³
Раствор № 3	2,0	Раствор № 2	400
		Дистиллированная вода	400
Раствор № 4	1,0	Раствор № 2	200
		Дистиллированная вода	600
Раствор № 5	0,5	Раствор № 2	100
		Дистиллированная вода	700

П р и м е ч а н и е – При отсутствии дозаторов допускается увеличение объемов и использование для приготовления поверочных растворов градуированных пипеток и мерных колб.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(рекомендуемое)
Подготовка капилляра

Б.1 Подготовка нового капилляра к работе

Новый капилляр последовательно промывают:

- 2 минуты дистиллированной водой;
- 10 минут раствором соляной кислоты по п.А.2.2;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут раствором гидроксида натрия по п.А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут буферным раствором по п.А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого источника напряжения.

Все промывочные растворы собирают в сливную пробирку, не погружая в неё выходной конец капилляра.

Б.2 Промывка капилляра, ранее использованного в работе

Подготовка капилляра, ранее находившегося в работе, зависит от состава ранее использованного буферного раствора.

Если использовали буферные растворы без модифицирующих добавок, то капилляр промывают по следующей схеме:

- 5 минут дистиллированной водой;
- 10 минут буферным раствором по п.А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого источника напряжения.

Если использовали буферные растворы, содержащие добавки ЦТАБ, ЦТАОН, β -циклодекстрина, то необходимо провести промывку по следующей схеме:

- 2 минуты дистиллированной водой;
- 5 минут раствором соляной кислоты по п.А.2.2;
- 5 минут дистиллированной водой;

- 5 минут раствором гидроксида натрия по п.А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут буферным раствором по п.А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого источника напряжения.

Если использовали буферные растворы, приготовленные на основе бензимидазола или содержащие добавки додецилсульфата натрия, то капилляр промывают по следующей схеме:

- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут раствором гидроксида натрия по п.А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут буферным раствором по п.А.3.2 или А.4.4 в зависимости от полярности используемого источника напряжения.

В случае отсутствия пика рабочего вещества на электрофореграмме необходимо промыть капилляр серной кислотой, разбавленной дистиллированной водой в объемном соотношении 1:1 в течение 10 - 15 минут. После этого необходима тщательная промывка капилляра дистиллированной водой по длительности большая, чем промывка кислотой. Далее капилляр промывают раствором гидроксида натрия по п.А.2.1, дистиллированной водой и соответствующим буферным раствором, как указано выше.

Б.3 Промывка капилляра между измерениями и по окончании поверки

Непосредственно перед измерением капилляр промывают соответствующим буферным раствором в течение 3 минут.

После каждого измерения капилляр промывают соответствующим буферным раствором в течение 2 минут.

По окончании поверки капилляр промывают по схеме:

- 2 минуты дистиллированной водой;
- 5 минут раствором гидроксида натрия по п.А.2.1;
- 5 минут дистиллированной водой;
- 5 минут раствором соляной кислоты по п.А.2.2;
- 5 минут дистиллированной водой и оставляют в дистиллированной воде, подняв пробирки с водой на входе и выходе.

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(обязательное)
Обработка данных

В.1.1 Принцип нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала показан на рис.В.1.

В.1.2 Для нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала выбирают участок электрофореграммы требуемой ширины (п.6.2.10) и, если программное обеспечение позволяет непосредственно определить уровень флуктуационных шумов на этом участке, то находят его в соответствии с Руководством пользователя (ПО «Эльфоран»).

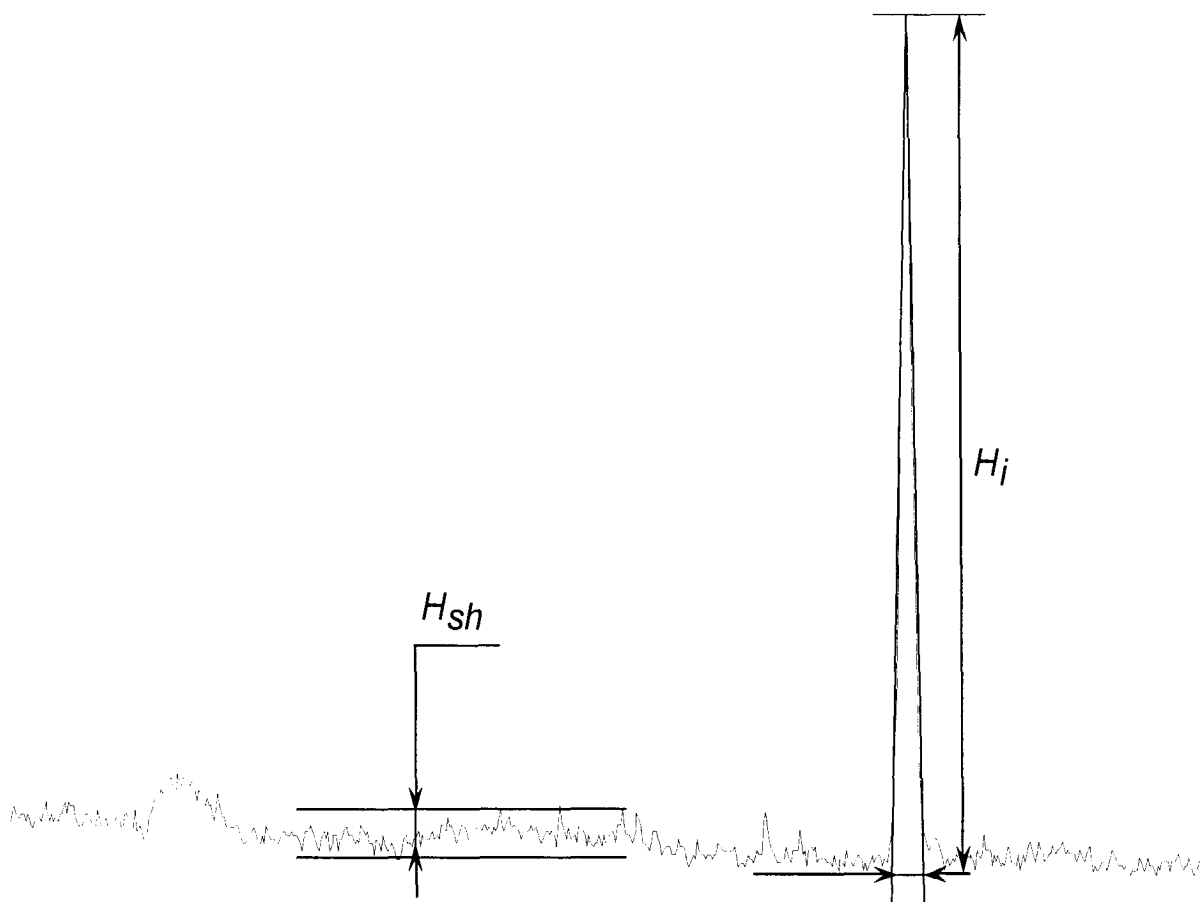


Рис.В.1 - Пример оценки высоты пика и уровня флуктуации шума

H_i - высота пика, отсчитываемая от линии нулевого сигнала;

H_{sh} - уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала.

В.1.3 При отсутствии такой возможности (ПО «МультиХром») распечатывают листинг электрофореграммы, выбрав масштаб по оси Y таким образом, чтобы вертикальный размер распечатки визуально не превышал ширину шумовой дорожки более чем в 5-7 раз. При распечатке электрофореграмм поверочных растворов не обращают внимания на то, что пик рабочего вещества при этом «срезается». Рекомендуется при распечатке вывести координатную сетку.

В.1.4 На рис.В.2 приведен пример нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала при отсутствии значимого дрейфа, а на рис.В.3 - при его наличии.

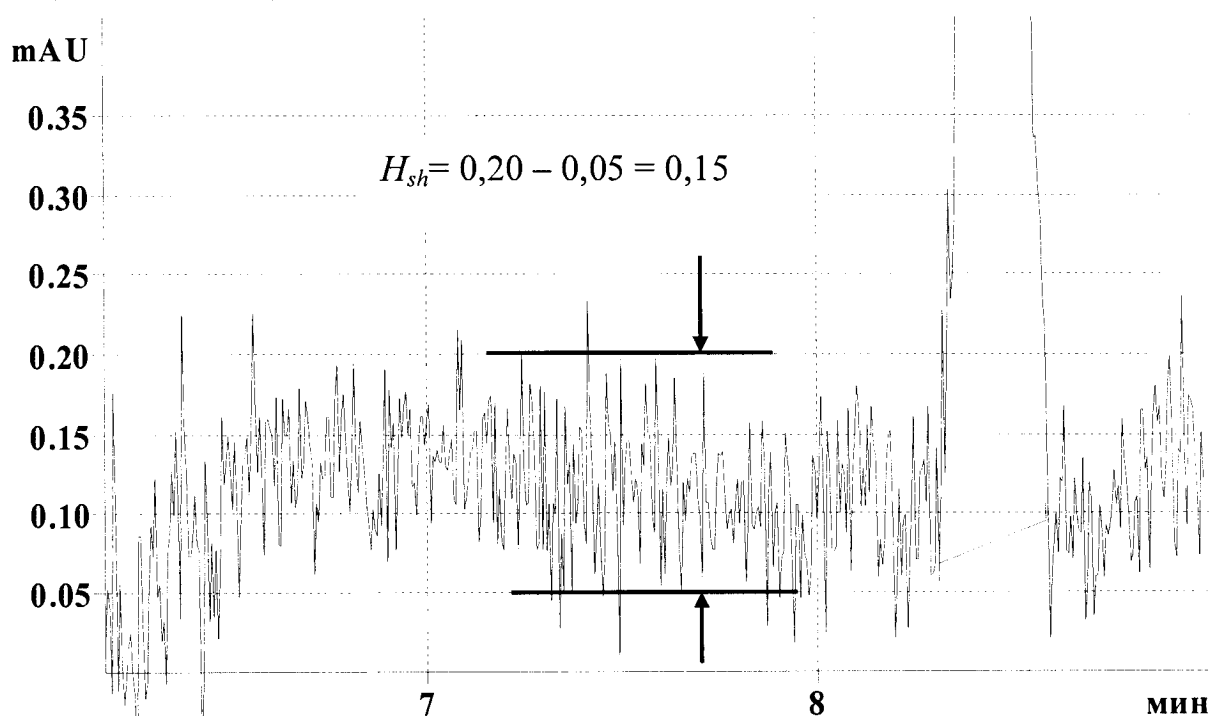


Рис. В.2 - Пример нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала при отсутствии значимого дрейфа

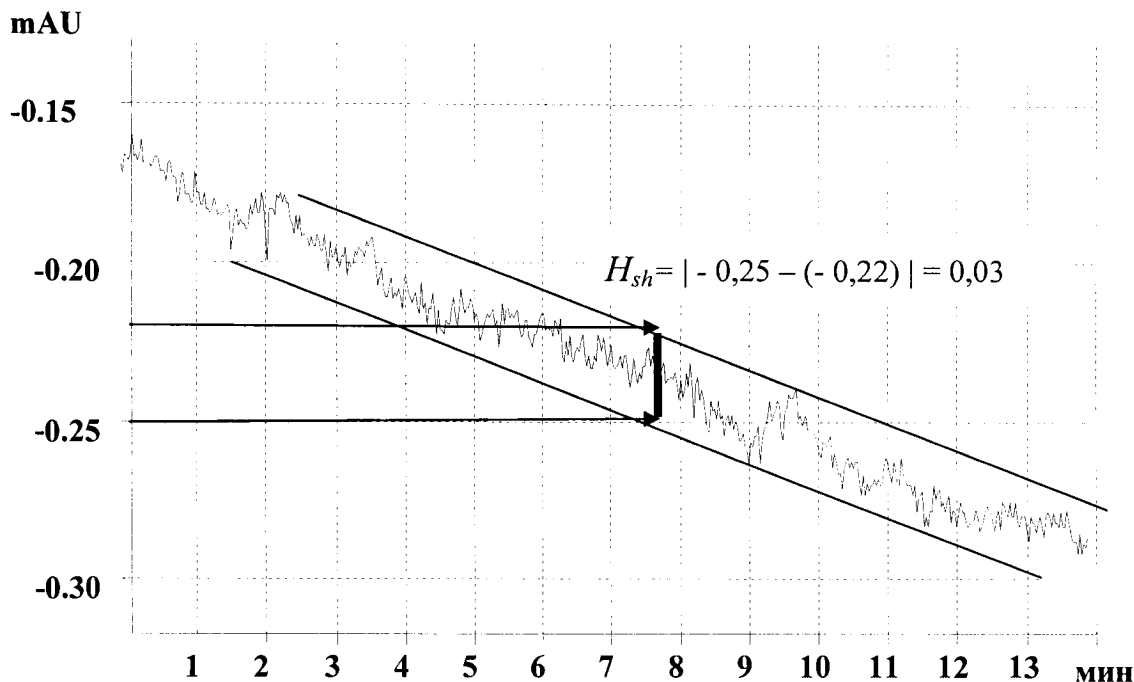


Рис. В.3 - Пример нахождения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала при наличии дрейфа

В.1.5 После того, как таблица 4 (п.6.2.11) заполнена, строят график зависимости отношения сигнал/шум от концентрации поверочного раствора, используя соответствующие программные продукты, например MS Excel. Рекомендуется использовать диаграмму типа «Точечная», на которую помещают линейную линию тренда и включают опцию «Показывать уравнение на диаграмме» (рис.В.4). Опция «Пересечение кривой с осью Y в точке 0» должна быть отключена! Численные данные (пример) приведены ниже:

$C, \text{ мкг/см}^3$	$R = H/H_{sh}$
0,5	8,75
1,0	18
2,0	39
4,0	68.

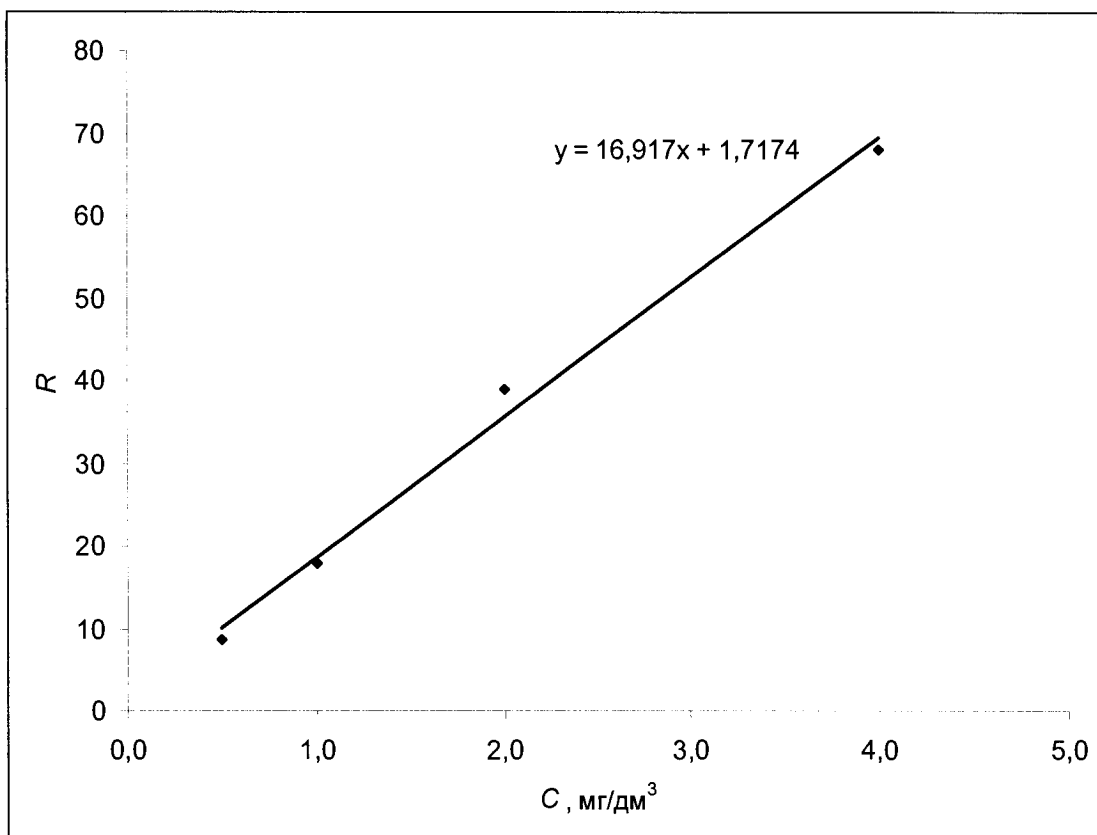


Рис. В.4 - Пример построения графика с использованием программного продукта MS Excel

В.1.6 Угловой коэффициент b используют для расчета предела обнаружения по формуле (2) из п.6.2.13. В нашем случае $C_{\text{мин}} = 3/16,917 = 0,18 \text{ мкг/см}^3$.

П р и м е ч а н и е – По умолчанию в программном продукте MS Excel для обозначения переменной по оси абсцисс используется обозначение «x», а по оси ординат - «y».

В.1.7 Допускается вместо программного продукта использовать ручную обработку данных. Для этого нумеруют пары значений C, R в порядке возрастания массовой концентрации вещества в поверочном растворе и вычисляют угловой коэффициент для соседних пар значений по формулам:

$$b_1 = \frac{R_2 - R_1}{C_2 - C_1} \quad (\text{B.1})$$

$$b_2 = \frac{R_3 - R_2}{C_3 - C_2} \quad (\text{B.2})$$

$$b_3 = \frac{R_4 - R_3}{C_4 - C_3}. \quad (\text{B.3})$$

Вычисляют среднее арифметическое полученных значений, которое используют для расчета предела обнаружения по формуле (2):

$$b = \frac{b_1 + b_2 + b_3}{3}. \quad (\text{B.4})$$

В нашем примере

$$b_1 = \frac{18 - 8,75}{1,0 - 0,5} = 18,5 \quad (\text{B.5})$$

$$b_2 = \frac{39 - 18}{2,0 - 1,0} = 21,0 \quad (\text{B.6})$$

$$b_3 = \frac{68 - 39}{4,0 - 2,0} = 14,5. \quad (\text{B.7})$$

Следовательно, $b = 18,0$, откуда $C_{\text{мин}} = 3/18,0 = 0,17 \text{ мкг/см}^3$.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г
(обязательное)
Форма протокола поверки

Протокол № _____ от _____

поверки системы капиллярного электрофореза Капель № _____

Средства поверки: кислота бензойная (ч.д.а.) ГОСТ 10521-78, ГСО состава раствора хлорид-ионов ГСО 6687-93

Условия поверки: _____

Внешний осмотр: _____

Результаты опробования: _____

Определение предела обнаружения бензойной кислоты:

№ раствора	Высота пика H_i	Уровень флуктуации H_{sh}	Концентрация рабочего вещества (мкг/см ³)	Отношение сигнал / шум	Среднее отношение сигнал / шум

Предел обнаружения бензойной кислоты: _____ мкг/см³

Определение предела обнаружения хлорид-ионов:

№ раствора	Высота пика H_i	Уровень флуктуации H_{sh}	Концентрация рабочего вещества (мкг/см ³)	Отношение сигнал / шум	Среднее отношение сигнал / шум

Предел обнаружения хлорид-ионов: _____ мкг/см³

Определение СКО выходного сигнала (по площади пика) для бензойной кислоты

№	Площадь пика,	Среднее значение площади пика	Относительное СКО выходного сигнала

Определение СКО выходного сигнала (по площади пика) для хлорид-ионов

№	Площадь пика,	Среднее значение площади пика	Относительное СКО выходного сигнала

Заключение _____

Поверитель _____

Примечание - При проведении периодической поверки протокол заполняют только для использованного рабочего вещества.