

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора по производственной

метрологии ФГУП «ВНИИМС»

Н. В. Иванникова

10 октября 2016 г.



Хроматографы жидкостные Waters

Методика поверки

МП 205-14-2016

г. Москва, 2016 г.

Настоящая инструкция распространяется на хроматографы жидкостные Waters с детекторами абсорбционными (Waters 2487, Waters 2489 Platinum и Waters 2489 Blue, Waters 996, Waters 2996, Waters 2998 Platinum и Waters 2998 Blue), флуориметрическими (Waters 2475 Platinum и Waters 2475 Blue), рефрактометрическими (Waters 2414 Platinum и Waters 2414 Blue), испарительного светорассеяния (Waters 2424 Platinum и Waters 2424 Blue), электрохимическими (Waters 2465), кондуктометрическими (Waters 432, Waters 2432) фирмы «Waters Corporation», США (далее хроматографы) и устанавливает методику их первичной и периодической поверки.

Интервал между поверками – 1 год.

1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методики	Обязательность проведения операции при	
		выпуске из производства и из ремонта	периодической поверке
1 Внешний осмотр	6.1	Да	Да
2 Опробование – определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала; – определение предела детектирования.	6.2	Да	Да ¹⁾
3 Определение метрологических характеристик: – определение относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания); – определение относительного изменения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания) за 8 часов непрерывной работы хроматографа.	6.3 6.3.1 6.3.2	Да Да Да	Да ¹⁾ Да ¹⁾ Да ¹⁾
– определение показателей точности результатов измерений	6.3.3	нет	Да ²⁾

Примечания:

¹⁾ При отсутствии НД на МИ, утвержденной в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563 2009.

²⁾ При наличии НД на МИ.

1.2 Допускается проводить первичную и периодическую поверку по письменному заявлению владельца с детекторами, с которыми хроматограф будет эксплуатироваться.

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

- 2.1 При проведении поверки применяют следующие средства поверки.
- 2.2 ГСО 8749-2006 раствора антрацена в ацетонитриле с аттестованным значением массовой концентрации $0,2 \text{ мг/см}^3$, границы допускаемого значения относительной погрешности $\pm 2 \%$ ($P=0,95$).
- 2.3 ГСО 7436-98 (МСО 1125:2005) состава водного раствора хлорид-ионов с аттестованным значением массовой концентрации 10 мг/см^3 , границы допускаемого значения относительной погрешности $\pm 1 \%$ ($P=0,95$).
- 2.4 Кофеин безводный по ФС 42-0249-07 (содержание основного вещества не менее 98 %).
- 2.5 Парацетамол (Ацетаминофен, N-(4-Гидроксифенил)ацетамид) по ФС 42-0268-07 (содержание основного вещества не менее 99 %).
- 2.6 Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011, с наибольшим пределом взвешивания 200 г.
- 2.7 Пипетки градуированные 1–1–2–1, 1–1–2–5 по ГОСТ 29227-91.
- 2.8 стакан В–1–50ТС по ГОСТ 25336-82.
- 2.9 Колбы 2-10-2, 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74.
- 2.10 Цилиндр 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74.
- 2.11 Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная), ГОСТ Р 52501-2005.
- 2.12 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии по ТУ 6-09-14-2167-84 или с аналогичными характеристиками чистоты и оптического поглощения.
- 2.13 Метанол по ГОСТ 6995-77 или с аналогичными характеристиками чистоты и оптического поглощения.
- 2.14 н-Бутанол по ГОСТ 5208-81, марка А, сорт высший
- 2.15 Ледяная уксусная кислота химически чистая (х.ч. ледяная) по ГОСТ 61-75.
- 2.16 Хлорид калия (класс чистоты ХЧ).
- 2.17 Ацетат натрия (класс чистоты ХЧ).
- 2.18 Глюконат натрия (класс чистоты ХЧ).
- 2.19 Борная кислота (класс чистоты ХЧ).
- 2.20 Тетраборат натрия декагидрат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (класс чистоты ХЧ).
- 2.21 Глицерин чистый для анализа (ч.д.а.) по ГОСТ 6259-75.
- 2.22 Хроматографические колонки:
- для абсорбционных детекторов XBridge C18, 4.6 x 50 мм. 3.5 μm , № 186003031 по каталогу Waters;
 - для кондуктометрических детекторов IC-Pak Anion HR 4.6x75mm № WAT026765 по каталогу Waters;
 - для электрохимического детектора Symmetry C18 4.6x75mm № WAT066224 по каталогу Waters или Symmetry C18 4.6x75mm № 186002133 по каталогу Waters.
- 2.23 Ячейка для электрохимического детектора
- рабочий электрод 2 мм из стеклоглерида с электродом сравнения Ag/AgCl № 205004215 по каталогу Waters или
 - рабочий электрод 2 мм из стеклоглерида с электродом сравнения «Salt Bridge Ag/AgCl», заполненным насыщенным раствором KCl с кристаллами KCl № 205004115 по каталогу Waters;
 - шунтирующая ячейка для детектора 2465, № 700001943 по каталогу Waters.

Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик с требуемой точностью.

3 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

3.1 Требования безопасности должны соответствовать рекомендациям, изложенным в руководстве по эксплуатации хроматографа.

3.2 При выполнении поверки соблюдают правила техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007-76, требования электробезопасности по ГОСТ 12.1.019-79 и пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004-91.

4 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающей среды, °С от +15 до +30
- относительная влажность, % до 80

5 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ

5.1 Хроматограф готовят к работе в соответствии с его руководством по эксплуатации.

5.2 Перед проведением поверки готовят элюенты (подвижные фазы) и контрольные растворы по приложению 1 в соответствии с таблицей 2. Погрешность приготовления контрольных растворов не более $\pm 10\%$.

Таблица 2

Контрольный компонент	Массовая концентрация компонента, мг/дм ³ в контрольном растворе	Объем пробы, мм ³	Элюент (подвижная фаза)	Скорость потока, мл/мин	Детекторы
Антрацен	1	20	Ацетонитрил:вода в соотношении 80:20 («раствор В» по приложению 1)	1	Абсорбционные Waters 2487, Waters 2489 Platinum, Waters 2489 Blue, Waters 996, Waters 2996, Waters 2998 Platinum, Waters 2998 Blue
Антрацен	0,1	10	Ацетонитрил:вода в соотношении 80:20 («раствор В» по приложению 1)	1	Флуориметрические Waters 2475 Platinum, Waters 2475 Blue
Кофеин	2000	10	Ацетонитрил:вода в соотношении 20:80 («раствор А» по при-	1	Рефрактометрические

			ложению 1)		Waters 2414 Platinum, Waters 2414 Blue
Ацетаминофен (парацетамол)	250	10	Метанол:вода в соотношении 10:90 («раствор С» по приложению 1)	1	Испарительного светорассеяния Waters 2424 Platinum Waters 2424 Blue
Ацетаминофен (парацетамол)	0.1	20	Ацетат натрия (0,05М), уксусная кислота (0,05М), хлорид калия (0,005М) в растворе метанол:вода в соотношении 10:90 («раствор D» по приложению 1)	1	Электрохимические Waters 2465
Хлорид-ион	10	20	Борат/глюконат натрия в растворе вода: ацетонитрил:бутанол в соотношении 86:12:2 («раствор E» по приложению 1)	1	Кондуктометрические Waters 432, Waters 2432

5.3 Подготовка колонки Symmetry C18 4.6 x 75 мм для работы с электрохимическим детектором 2465:

- готовят раствор метанола в воде в объемном соотношении 80:20, для чего смешивают в стеклянной емкости 800 мл метанола и 200 мл воды;
- приготовленный раствор отфильтровывают через мембранный фильтр;
- аккуратно переносят раствор в чистую бутылку для ВЭЖХ;
- раствор дегазируют, используя вакуумную дегазацию или дегазацию в ультразвуке;
- на бутылку для ВЭЖХ наклеивают этикетку «метанол:вода/80:20»;
- на входную линию устанавливают фильтр и помещают его в бутылку;
- бутылку размещают выше уровня насоса хроматографической системы;
- колонку устанавливают в соответствии с руководством по эксплуатации хроматографа;
- устанавливают скорость потока 2 мл/мин;
- колонку Symmetry C18 4.6 x 75 мм № 186002133 промывают приготовленным раствором метанола в воде в течение 30 – 60 минут, колонку Symmetry C18 4.6 x 75 мм № WAT066224 промывают не менее 4-х часов.

6 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

6.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности хроматографа технической документации;
- четкость маркировки;

- исправность механизмов и крепежных деталей.
- отсутствие дефектов, которые могут повлиять на работоспособность хроматографа.

6.2 Опробование

При опробовании проводят определение уровня флуктуационных шумов, дрейфа нулевого сигнала и предела детектирования.

Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала определяют при условиях, указанных в таблице 3, после выхода детектора на режим. Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала измеряют в динамическом режиме.

Таблица 3.

Детектор	Элюент	Параметры	Скорость потока, мл/мин	Постоянная времени, с
Waters 2487, Waters 2489 Platinum, Waters 2489 Blue, Waters 996, Waters 2996, Waters 2998 Platinum, Waters 2998 Blue.	Ацетонитрил :вода/ 80:20	Длина волны 254 нм	1	1
Waters 2475 Platinum, Waters 2475 Blue	Ацетонитрил:вода/ 80:20	Длина волны 251 нм (возбуждение), 402 нм (эмиссия), ре- жим EmissionUnits; коэффициент. усиле- ния 1 (1 EU = 10 мВ).	1	1
Waters 2414 Platinum, Waters 2414 Blue	Ацетонитрил:вода/ 20:80	Чувствительность 64, температура ячейки 35°C.	1	1
Waters 2424 Platinum Waters 2424 Blue	Метанол:вода/ 10:90	Коэффициент усиле- ния 135, давление газа 25 psi, мощность небулай- зера 59 %, темпера- тура испарителя 50 °C.	1	1
Waters 2465	Шунтирующая ячейка, № 700001943 по ка- талогу Waters	Режим DC, поляр- ность +, потенциал 0,65 В, диапазон 500 нА, смещение 0 %, компенсация вкл.	1	1
Waters 432, Waters 2432	Борат/глюконат натрия вода:ацетонитрил: бутанол/86:12:2	Диапазон 200 мкСм, чувствительность 0,005	1	Fast

При наличии термостата колонок устанавливается температура термостата 35 °С, при отсутствии термостата колонок, температура колонки комнатная.

6.2.1. Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала измеряют в течение 15 минут на наиболее чувствительной шкале в координатах единиц детекции (оптическая плотность, ток, напряжение, проводимость) – время. Расчет ведется в интервале времени со 2-ой по 15-ю минуты. Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала принимают равным усредненной амплитуде (Average Peak-to-Peak Noise) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с.

Дрейф (Detector Drift) рассчитывают как максимальное значение одностороннего смещения нулевой линии в течение 15 минут и выражают в ед. физической величины в час.

6.2.2. Средние значения уровня флуктуационных шумов (Average Peak-to-Peak Noise) и значения дрейфа нулевого сигнала (Detector Drift) не должны превышать значений, приведенных в таблице 4:

Таблица 4

Детектор	Уровень флуктуационных шумов	Дрейфа нулевого сигнала	Предел детектирования
Waters 2487, Waters 2489 Platinum, Waters 2489 Blue	$6 \cdot 10^{-5}$ е.о.п. одноволновой режим	$1 \cdot 10^{-2}$ е.о.п./ч одноволновой режим	$1 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ антрацена
Waters 996, Waters 2996, Waters 2998 Platinum, Waters 2998 Blue.	$8 \cdot 10^{-5}$ е.о.п. одноволновой режим	$1 \cdot 10^{-2}$ е.о.п./ч одноволновой режим	$2 \cdot 10^{-9}$ г/см ³ антрацена
Waters 2475 Platinum, Waters 2475 Blue	50 мВ	100 мВ/ч	$1 \cdot 10^{-11}$ г/см ³ антрацена
Waters 2414 Platinum, Waters 2414 Blue	$2 \cdot 10^{-8}$ ед. рефр.	$1 \cdot 10^{-5}$ ед. рефр./ч	$1 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ кофеина
Waters 2424 Platinum Waters 2424 Blue	$1 \cdot 10^{-1}$ ед. светорас.	$1 \cdot 10^{-3}$ ед. светорасс./ч	$1 \cdot 10^{-6}$ г/см ³ ацетаминофена
Waters 2465	1 нА	10 нА/ч	$5 \cdot 10^{-11}$ г/см ³ ацетаминофена
Waters 432, Waters 2432	$5 \cdot 10^{-3}$ мкСм/см	$4 \cdot 10^{-1}$ мкСм/(см·ч)	$5 \cdot 10^{-8}$ г/см ³ хлорид-иона

6.2.3. Предел детектирования определяют с использованием контрольных растворов (таблица 2) при условиях, указанных в таблице 3.

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

Предел детектирования в г/см³ рассчитывают по формулам:

$$C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{H \cdot \mu_{0,5} \cdot V} \quad \text{или} \quad C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G \cdot 60}{S \cdot V}, \quad (1)$$

где V – скорость элюента, см³/мин;

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

Δx – уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, определенный до ввода контрольного вещества;

H – высота пика контрольного вещества;
 Δx и H – измеряют в мм, условных единицах либо в единицах детекции (е.о.п., мВ, нА, ед. рефр, ед. светорасс, мкСм/см);
 S – площадь пика контрольного вещества, мм·с, условных единицах·с, либо е.о.п·с, мВ·с, нА·с, ед. рефр·с, ед. светорасс·с, (мкСм/см)·с;
 G – количество контрольного вещества, г;

$$G = 10^{-9} C \cdot V_{\text{доз.}}, \quad (2)$$

где C – массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм³;
 $V_{\text{доз.}}$ – объем введенной пробы контрольного вещества, мм³
 10^{-9} –пересчетный множитель.

Полученные результаты не должны превышать значений предела детектирования, приведенных в таблице 4.

6.3. Определение метрологических характеристик

6.3.1. Определение относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания).

После выхода прибора на режим в хроматограф вводят контрольную смесь (таблица 2) не менее 6 раз и измеряют значения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания) при условиях, указанных в таблице 3.

Относительное среднее квадратичное отклонение выходного сигнала σ_x , %, рассчитывают по формуле (2)

$$\sigma_x = \frac{100}{\bar{X}} \cdot \sqrt{\frac{\sum_i (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}, \quad (3)$$

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

\bar{X} – среднее арифметическое значение выходного сигнала (площади пика, времени удерживания);

n – количество инъекций.

Значения относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала не должны превышать значений, указанных в таблице 5.

6.3.2. Определение относительного изменения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания) за 8 часов непрерывной работы хроматографа.

Через 8 часов непрерывной работы хроматографа измерения по п. 6.3.1 повторяют. Относительное изменение выходного сигнала (площади пика и времени удерживания) за 8 часов непрерывной работы прибора δ_t , %, рассчитывают по формуле (3)

$$\delta_t = \frac{\bar{X}_t - \bar{X}}{\bar{X}} \cdot 100, \quad (4)$$

где \bar{X} – среднее арифметическое значение выходного сигнала (площади пика, времени удерживания).

\bar{X}_t - среднее арифметическое значение выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) через 8 часов непрерывной работы хроматографа.

Полученные значения относительного изменения выходного сигнала хроматографа не должны превышать значений, приведенных в таблице 5.

Таблица 5

Детектор	Предел допускаемого относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала, %		Пределы допускаемого относительного изменения выходного сигнала, %	
	площади пика	времени удерживания	площади пика	времени удерживания
Waters 2487, Waters 2489 Platinum, Waters 2489 Blue Waters 996, Waters 2996, Waters 2998 Platinum, Waters 2998 Blue. Waters 2475 Platinum, Waters 2475 Blue Waters 2414 Platinum, Waters 2414 Blue	1,5	1,0	± 2,0	± 2,0
Waters 2424 Platinum Waters 2424 Blue	5,0	3,0	± 5,0	± 3,0
Waters 2465	2,0	2,0		
Waters 432, Waters 2432				

6.3.3 При проведении периодической поверки хроматографов, эксплуатируемых по НД на МИ, отвечающие требованиям ГОСТ Р 8.563-2009, проверяют показатели точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в МИ 2531-99.

7 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

7.1 Результаты поверки хроматографа заносят в протокол.

7.2 Положительные результаты поверки хроматографа оформляют выдачей свидетельства о поверке в соответствии с «Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке» (утв. приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 2 июля 2015 г. № 1815).

7.3 Анализаторы, не удовлетворяющие требованиям настоящих рекомендаций, к эксплуатации не допускаются. Свидетельство о поверке изымают и выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с «Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке» (утв. приказом Министерства промышленности и торговли РФ от 2 июля 2015 г. № 1815).

Начальник сектора ФГУП «ВНИИМС», к.х.н.



О. Л. Рутенберг

Инженер 3-й кат. ФГУП «ВНИИМС»



С. З. Карданов

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ
ПОДВИЖНЫХ ФАЗ И КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления подвижных фаз и контрольных растворов антрацена, кофеина, парацетамола (ацетаминофена), хлорид-иона в соответствующих растворителях.

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

1.1 ГСО 8749-2006 раствора антрацена в ацетонитриле с аттестованным значением массовой концентрации $0,2 \text{ мг/см}^3$, границы относительной погрешности содержания антрацена $\pm 2 \%$.

1.2 ГСО 7436-98 (МСО 1125:2005) состава раствора иона хлорида в воде с аттестованным значением массовой концентрации 10 мг/см^3 , границы относительной погрешности содержания иона хлорида $\pm 1 \%$.

1.3 Кофеин безводный по ФС 42-0249-07 (содержание основного вещества не менее 98%).

1.4 Парацетамол (Ацетаминофен, N-(4-Гидроксифенил)ацетамид) по ФС 42-0268-07 (содержание основного вещества не менее 99%).

1.5 Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011, с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

1.6 Пипетки градуированные 1–1–2–1, 1–1–2–5 по ГОСТ 29227-91.

1.7 стакан В–1–50ТС по ГОСТ 25336-82.

1.8 Колбы 2-10-2, 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74.

1.9 Цилиндр 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74.

1.10 Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная или деионизованная), ГОСТ Р 52501-2005.

1.11 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии по ТУ 6-09-14-2167-84 или с аналогичными характеристиками чистоты и оптического поглощения.

1.12 Метанол по ГОСТ 6995-77 или с аналогичными характеристиками чистоты и оптического поглощения.

1.13 н-Бутанол по ГОСТ 5208-81, марка А, сорт высший

1.14 Ледяная уксусная кислота химически чистая (х.ч. ледяная) по ГОСТ 61-75.

1.15 Хлорид калия (класс чистоты ХЧ).

1.16 Ацетат натрия (класс чистоты ХЧ).

1.17 Глюконат натрия (класс чистоты ХЧ).

1.18 Борная кислота (класс чистоты ХЧ).

1.19 Тетраборат натрия декагидрат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (класс чистоты ХЧ).

1.20 Глицерин чистый для анализа (ч.д.а.) по ГОСТ 6259-75.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление подвижных фаз

2.1.1 Для обеспечения требуемой чувствительности хроматографов жидкостных Waters применяют растворители и воду в соответствии с пунктом 1. Все используемые растворители фильтруют через мембранный фильтр непосредственно перед употреблением. Для предотвращения загрязнений изделий из стекла мерную посуду не моют моющими средствами. Посуду промывают растворителями, которые будут использоваться при поверке.

2.1.2 Приготовление раствора А (для поверки систем с детекторами Waters 2414 Platinum, Waters 2414 Blue)

В колбу вместимостью 1000 см³ помещают 200 см³ ацетонитрила, добавляют примерно 600 см³ дистиллированной воды, перемешивают и оставляют на несколько минут до восстановления температуры раствора до комнатной. Полученный раствор доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают, переливают в бутылку и закрывают крышкой. На бутылку наклеивают этикетку «Раствор А – ацетонитрил:вода/20:80».

2.1.3 Приготовление раствора В (для поверки систем с детекторами Waters 2487, Waters 2489 Platinum, Waters 2489 Blue, Waters 996, Waters 2996, Waters 2998 Platinum, Waters 2998 Blue, Waters 2475 Platinum, Waters 2475 Blue).

В колбу вместимостью 1000 см³ помещают 200 см³ воды, добавляют примерно 600 см³ ацетонитрила, перемешивают и оставляют на несколько минут до восстановления температуры раствора до комнатной. Полученный раствор доводят до метки ацетонитрилом, перемешивают, переливают в бутылку и закрывают крышкой. На бутылку наклеивают этикетку «Раствор В – ацетонитрил:вода / 80:20».

2.1.4 Приготовление раствора С (для поверки систем с детектором Waters 2424 Platinum, Waters 2424 Blue)

В колбу вместимостью 1000 см³ помещают 100 см³ метанола, добавляют примерно 700 см³ дистиллированной воды, перемешивают и оставляют на несколько минут до восстановления температуры раствора до комнатной. Затем доводят раствор до метки дистиллированной водой, перемешивают, переливают в бутылку и закрывают крышкой. На бутылку наклеивают этикетку «Раствор С – метанол:вода/10:90».

2.1.5 Приготовление раствора D (для поверки систем с детектором Waters 2465)

Альтернативно может использоваться готовая подвижная фаза №700002287 по каталогу Waters.

2.1.5.1 Приготовление буферного раствора

В колбу вместимостью 1000 см³ вносят 4,1 г ацетата натрия и 0,3225 г хлорида калия, добавляют примерно 500 см³ деионизованной воды и тщательно перемешивают до полного растворения. В полученный раствор добавляют 2,9 см³ ледяной уксусной кислоты, доливают до метки деионизованной водой и тщательно перемешивают.

2.1.5.2 Приготовление раствора подвижной фазы

В колбу вместимостью 1000 см³ помещают 100 см³ метанола, добавляют примерно 700 см³ буферного раствора по 2.1.5.1, перемешивают и оставляют на несколько минут до восстановления температуры раствора до комнатной. Доводят полученный раствор до метки буферным раствором, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр пористостью 0,22 мкм. Профильтрованный раствор переливают в пластиковый бутыль объемом 1 дм³, закрывают крышкой и помечают как «Раствор D – 0,05М ацетат натрия, 0,05М уксусная кислота, 0,005М хлорид калия в растворе метанол:вода/10:90»

2.1.6 Приготовление раствора Е (для поверки систем с детекторами Waters 432, Waters 2432).

Альтернативно может использоваться готовая подвижная фаза №700002310 по каталогу Waters

2.1.6.1. Приготовление концентрата бората/глюконата натрия подвижной фазы

В колбу вместимостью 1000 см³ помещают 16 г глюконата натрия, 18 г борной кислоты и 25 г тетрабората натрия декагидрата (Na₂B₄O₇·10H₂O), добавляют примерно 500 см³ деионизованной воды и тщательно перемешивают до полного растворения. В полученный раствор добавляют 250 см³ глицерина, доливают до метки деионизованной водой и тщательно перемешивают. Раствор переливают в пластиковую бутылку вместимостью 1 дм³, закрывают крышкой и помечают как «Концентрат раствора бората/глюконата натрия в воде». Концентрат может храниться до 6 месяцев после приготовления при температуре 5 °С.

2.1.6.2. Приготовление раствора подвижной фазы

В колбу вместимостью 1000 см³ вносят примерно 500 см³ деионизованной воды, добавляют 20 см³ концентрата бората/глюконата натрия приготовленного по 2.1.6.1., 20 см³ н-бутанола и 120 см³ ацетонитрила, доливают до метки деионизованной водой и тщательно перемешивают. Раствор фильтруют через мембранный фильтр пористостью 0,22 мкм. Раствор переливают в пластиковую бутылку вместимостью 1 дм³, закрывают крышкой и помечают как «Раствор E – борат/глюконат натрия в растворе вода:ацетонитрил:бутанол/86:12:2»

2.2 Приготовление контрольного раствора кофеина

2.2.1 Приготовление контрольного раствора кофеина с массовой концентрацией 2000 мг/дм³.

Взвешивают в стакане 200 мг кофеина, добавляют 25 мл раствора А, приготовленного по 2.1.2, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Ополаскивают стакан раствором А, переносят его в колбу с кофеином, доводят до метки раствором А, перемешивают. Колбу закрывают и помещают в ультразвуковую ванну на 15 минут при комнатной температуре.

2.3 Приготовление контрольных растворов антрацена

2.3.1. Приготовление контрольного раствора антрацена с массовой концентрацией 1 мг/дм³.

1 см³ ГСО 8749-2006 состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией 0,2 мг/см³ помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят раствором В, приготовленным по 2.1.3, до метки, перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят раствором В, приготовленным по 2.1.3, до метки, перемешивают.

2.3.2. Приготовление контрольного раствора антрацена с массовой концентрацией 0,1 мг/дм³.

1 см³ раствора, приготовленного по 2.3.1, помещают в мерную колбу вместимостью 10 см³, доводят раствором В, приготовленным по 2.1.3, до метки, перемешивают.

2.4 Приготовление контрольных растворов ацетаминофена

2.4.1. Приготовление контрольного раствора ацетаминофена с массовой концентрацией 250 мг/дм³.

Взвешивают в стакане 25 мг ацетаминофена, добавляют 10 см³ метанола, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Ополаскивают стакан деионизованной водой, переносят воду в колбу с ацетаминофеном, доводят до метки деионизованной водой, перемешивают. Колбу закрывают и помещают в ультразвуковую ванну на 15 минут при комнатной температуре.

2.4.2. Приготовление контрольного раствора ацетаминофена с массовой концентрацией 0,1 мг/дм³.

Взвешивают в стакане 0,1 мг ацетаминофена, добавляют в стакан 10 см³ метанола, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000

см³. Ополаскивают стакан деионизованной водой, переносят воду в колбу с ацетаминофеном, доводят до метки деионизованной водой, перемешивают. Колбу закрывают и помещают в ультразвуковую ванну на 15 минут при комнатной температуре.

2.5 Приготовление контрольного раствора иона хлорида с массовой концентрацией 10 мг/дм³.

В колбу вместимостью 1000 см³ помещают 1 мл ГСО 7436-98 (МСО 1125:2005) состава раствора иона хлорида в воде с аттестованным значением массовой концентрации 10 мг/см³, доводят до метки деионизованной водой, перемешивают.