

**УТВЕРЖДАЮ**

**Заместитель директора по  
производственной метрологии  
ФГУП «ВНИИМС»**



**Н.В. Иванникова**

**29 апреля 2019 г.**

## **ИНСТРУКЦИЯ**

**Хроматографы жидкостные «Chromaster»**

**Методика поверки**

**МП 51035-12**

**с изменением № 1**

**Москва 2019 г.**

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные «Chromaster» (далее – хроматографы) фирмы «Hitachi High-Tech Science Corporation», Япония, и устанавливает методику их первичной и периодической поверки.

Методика распространяется на хроматографы базовой модели (Chromaster) со спектрофотометрическими детекторами 5410 UV, 5420 UV/VIS, детектором на диодной матрице 5430 Diode Array, флуориметрическим детектором 5440 FL, рефрактометрическим детектором 5450 RI, детектором низкотемпературного испарительного светорассеяния VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100 или масс-спектрометрическим 5610 MS и модели Chromaster ULTRA RS со спектрофотометрическим детектором 6420 UV/VIS, детектором на диодной матрице 6430 Diode Array и/или флуориметрическим детектором 6440 FL

Интервал между поверками – 1 год.

*Изменение № 1*

## 1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

1.1 При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методики поверки
Внешний осмотр	4.1
Опробование:	4.2
– определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала;	4.2.1
– определение дрейфа нулевого сигнала;	4.2.2
– определение предела детектирования или чувствительности (отношения сигнал/шум) для детектора 5610 MS;	4.2.3
Определение метрологических характеристик:	4.3
– определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала;	4.3.1 - 4.3.3
– определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы.	4.3.4 - 4.3.5

1.2 Поверку хроматографов выполняют для детектора (детекторов), входящих в комплект поставки хроматографа.

При наличии в комплекте хроматографа нескольких детекторов допускается проведение поверки для части из них (на основании заявления владельца СИ или другого лица, представляющего СИ на поверку) в соответствии с п. 16 «Порядок 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).

1.3 Если при проведении той или иной операции поверки получен отрицательный результат, дальнейшее выполнение поверки прекращают.

1.4 При проведении периодической поверки хроматографов, эксплуатируемых по НД на методики измерений, отвечающим требованиям ГОСТ Р 8.563-2009, проверяют показатели точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в НД на методику измерений.

*Изменение № 1*

## 2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки применяют следующие средства:

- ГСО 8749-2006 состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией антрацена 200 мг/дм<sup>3</sup>;
- весы электронные лабораторные неавтоматического действия X (рег. № 60903-15), НПВ не более 220 г, I (специального) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011.
- колбы мерные 2-50-2, 2-100-2, ГОСТ 1770-74;
- цилиндры мерные 2-500-2, ГОСТ 1770-74;
- пипетки градуированные 1-2-2-1, 1-2-2-2, 1-2-2-5, ГОСТ 29227-91.
- D-глюкоза квалификации «ч.д.а.» по ГОСТ 6038-79;
- резерпин по фармакопейной статье ФС 423267-96;
- ацетон для ВЭЖХ, № CAS № 67-64-1, массовая доля основного вещества не менее 99,9 %, (кат. № 270725 Sigma-Aldrich).
- метанол для HPLC, CAS № 67-56-1, массовая доля основного вещества не менее 99,9 % (кат. № 34860 Sigma-Aldrich).
- ацетонитрил для ВЭЖХ, ТУ 6-09-14-2167-84;
- вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72;
- деионизованная вода с удельным сопротивлением не менее 18 МОм/см, ТОС менее 50 мкг/дм<sup>3</sup>, ГОСТ Р 52501-2005;
- стаканы или бюксы для взвешивания.
- колонки хроматографические обращеннофазные C18 размером 150×4,6 мм, заполненные:

сферическим силикагелем с эффективным диаметром частиц 5 мкм, эффективным диаметром пор (80-100) А и химически модифицированной поверхностью октадецильными группами – для базовой модели;

сферическим силикагелем с непористым ядром («Core-Shell») эффективным диаметром частиц 2,7 мкм, эффективным диаметром пор (80-100) А и химически модифицированной поверхностью октадецильными группами – для модели Chromaster ULTRA RS.

Допускается применение аналогичных средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых СИ с требуемой точностью, в том числе, чистых реактивов (например, D-глюкоза безводная, CAS № 50-99-7, с содержанием основного компонента не менее 98 % (кат. № G8270 Sigma-Aldrich) и резерпин CAS № 50-55-5, массовая доля основного вещества не менее 97,0 %, (кат. № 83580 Sigma-Aldrich) или других с содержанием основного вещества не ниже указанного) и растворителей других производителей с другими каталожными номерами, аналогичные по содержанию основного вещества и по назначению (для ВЭЖХ).

### *Изменение № 1*

## 3 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ, ПРАВИЛА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ПОВЕРКИ.

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- |   |                |
|---|----------------|
| – температура окружающего воздуха, °С   | 20±5           |
| – атмосферное давление, кПа             | от 84 до 106,7 |
| – относительная влажность воздуха, %    | от 30 до 90    |
| – напряжение в сети переменного тока, В | 220±22;        |
| – частота переменного тока в сети, Гц   | 50±1           |

3.1.1 При выполнении измерений соблюдают правила техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007-76, требования электробезопасности при работе с электроустановками.

3.1.2 Помещение должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией и соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004-91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009-83. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005-88.

3.1.3 Поверку выполняет сотрудник юридического лица, аккредитованного на поверку жидкостных хроматографов, аттестованный в качестве поверителя, прошедший инструктаж по технике безопасности, и ознакомленный с документацией на поверяемое СИ.

3.1.4 К приготовлению растворов и выполнению операций с хроматографом допускают операторов или лаборантов, обслуживающих хроматограф, (под наблюдением поверителя) - лиц не моложе 18 лет, имеющих высшее или среднетехническое образование, имеющих опыт проведения химико-лабораторных работ, прошедших инструктаж по технике безопасности.

#### *Изменение № 1*

3.2 Подготовительные работы выполняют в соответствии с Руководством по эксплуатации хроматографа.

3.3 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы, назначение и содержание анализируемых компонентов в которых приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Контрольные растворы, применяемые при поверке

Контрольный раствор	Массовая концентрация контрольного компонента в растворе, мг/дм <sup>3</sup>	Объем пробы, мкл	Элюент	Скорость потока, см <sup>3</sup> /мин	Детектор
№ 1: Антрацен в элюенте	1,0	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1	Спектрофотометрические 5410 UV, 5420 UV/VIS, 6420 UV/VIS; на диодной матрице 5430 Diode Array, 6430 Diode Array
ГСО 8749-2006 Антрацен в ацетонитриле	200,0	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1	Рефрактометрический 5450 RI
№ 2: Антрацен в элюенте	0,1	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1	Флуориметрические 5440 FL
№ 3: Антрацен в элюенте	0,002	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1	Флуориметрические 6440 FL

Продолжение таблицы 2

Контрольный раствор	Массовая концентрация контрольного компонента в растворе, мг/дм <sup>3</sup>	Объем пробы, мкл	Элюент	Скорость потока, см <sup>3</sup> /мин	Детектор
№ 4: Глюкоза в воде	1000	20	Деионизованная вода	1	Детекторы низкотемпературного испарительного светорассеяния VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100
№ 6: Резерпин в метаноле	0,15	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1	Масс-спектрометрический 5610 MS
№ 5: Резерпин в метаноле	10	20	Ацетонитрил-вода, объемное отношение 84:16	1	Масс-спектрометрический 5610 MS

Методика приготовления контрольных растворов приведена в приложении А.  
Изменение № 1

#### 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 и предела детектирования или чувствительности (отношения сигнал/шум) для детектора 5610 MS.

Изменение № 1

4.2.1 Уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала определяют при условиях, указанных в таблице 3.

4.2.2 После выхода хроматографа на режим фиксируют в течение 1 часа нулевой сигнал каждого детектора на шкале с максимальной чувствительностью в координатах сигнал (оптическая плотность, напряжение) – время.

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала ( $\Delta x$ ) принимают равным максимальному значению амплитуды ( $h$ ) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с.

Значение дрейфа нулевого сигнала принимают равным смещению нулевого сигнала в течение 1 часа.

Таблица 3 – Условия хроматографирования

Тип детектора	Контрольный раствор	Объем пробы, мм <sup>3</sup> (мкл)	Элюент (объемное отношение)	Скорость потока, см <sup>3</sup> /мин	Условия
Спектрофотометрический 5410 UV, 5420 UV/VIS, 6420 UV/VIS; на диодной матрице 5430 Diode Array, 6430 Diode Array	№ 1	20	Ацетонитрил: вода (84: 16)	1	Одноволновой режим с длиной волны детектирования 254 нм, постоянная времени 1 с, без термостата
Рефрактометрический 5450 RI	ГСО 8749-2006	20	Ацетонитрил: вода (84: 16)	1	Постоянная времени 1с, температура термостата +25 °С
Флуориметрические 5440 FL	№ 2	20	Ацетонитрил: вода (84: 16)	1	Длина волны возбуждения – 260 нм. Длина волны эмиссии – 420 нм. Постоянная времени 1 с, без термостата.
Флуориметрические 6440 FL	№ 3	20	Ацетонитрил: вода (84: 16)	1	Постоянная времени 1 с, без термостата.
Детекторы низкотемпературные испарительные по светорассеянию VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100	№ 4	20	Деионизованная вода	1	Коэффициент усиления выходного сигнала 10. Постоянная времени 1 сек. Давление газа (азота или воздуха) на входе в детектор 3,5 бар. Температура испарительной трубки +35 °С.
Масс-спектрометрический 5610 MS (определение чувствительности сигнал/шум)	№ 6	Дозирование в детектор со скоростью 2 мм <sup>3</sup> /мин (мкл/мин)	-	1	Измерения производят в режиме SIM, полярность – положительная, m/z 609,3, задержка 1000 мс, время измерений 0,2 мин.
Масс-спектрометрический 5610 MS (определение СКО)	№ 5	20	Ацетонитрил: вода (84: 16)	1	Измерения производят в режиме SIM при делении потока 1:250.

Изменение № 1

4.2.3 Значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала и дрейфа нулевого сигнала не должны превышать значений, указанных в таблице 4.

Таблица 4 - Значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала и дрейфа нулевого сигнала детекторов

Детектор	Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала	Дрейф нулевого сигнала
Спектрофотометрические 5410 UV, 5420 UV/VIS	$5,0 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$1,0 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч
На диодной матрице 5430 Diode Array	$5,0 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$4,0 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч
Рефрактометрический 5450 RI	$2,5 \cdot 10^{-8}$ ед.рефр.	$2,0 \cdot 10^{-7}$ ед.рефр./ч
Флуориметрический 5440 FL	100 мкВ	1000 мкВ/ч
Детекторы низкотемпературного испарительного светорассеяния VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100	$1,0 \cdot 10^{-3}$ е.о.п.	$1,0 \cdot 10^{-3}$ е.о.п.
Спектрофотометрический 6420 UV/VIS	$1,0 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$1,0 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч
На диодной матрице 6430 Diode Array (ячейка с опт.путем 10 мм)	$2,5 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$4,0 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч
На диодной матрице 6430 Diode Array (ячейка с опт.путем 65 мм)	$5,0 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.	$4,0 \cdot 10^{-4}$ е.о.п./ч
Флуориметрический 6440 FL	200 мкВ	500 мкВ/ч

*Изменение № 1*

#### 4.2.4. Определение предела детектирования

Определение предела детектирования выполняют с использованием контрольных растворов и условий, указанных в таблице 2. В хроматограф вводят пробу контрольного раствора, измеряют высоту и ширину пика на половине его высоты ( $\mu_{0,5}$ ). Предел детектирования рассчитывают по формуле

$$C_{\min} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{h \cdot \mu_{0,5} \cdot V} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{S \cdot V},$$

где  $G$  – масса вещества, г;  $G = C \cdot v$  ( $C$  – массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм<sup>3</sup>,  $v$  – объем пробы, дм<sup>3</sup>);

$V$  – скорость потока 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.4.2.2;

$\Delta x$  и  $h$  – измеряют в мм, условных единицах либо в единицах, указанных в п.4.2.3;

$S$  – Площадь пика в единицах измерений площади пика в соответствии с детектором (при обработке хроматограмм с помощью ПО).

*Изменение № 1*

Полученные результаты не должны превышать приведенных ниже значений предела детектирования (таблица 5):

Таблица 5 - Значения пределов детектирования

Детектор	Предел детектирования
Спектрофотометрические 5410 UV, 5420 UV/VIS	$1 \cdot 10^{-9}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
На диодной матрице 5430 Diode Array	$1 \cdot 10^{-8}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
Рефрактометрический 5450 RI	$1 \cdot 10^{-6}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
Флуориметрический 5440 FL	$1 \cdot 10^{-11}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
Низкотемпературного испарительного светорассеяния VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100	$3,0 \cdot 10^{-8}$ г/см <sup>3</sup> глюкозы
Спектрофотометрический 6420 UV/VIS	$2,0 \cdot 10^{-9}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
На диодной матрице 6430 Diode Array (кювета 10 мм)	$1 \cdot 10^{-9}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
На диодной матрице 6430 Diode Array (кювета 65 мм)	$3 \cdot 10^{-10}$ г/см <sup>3</sup> антрацена
Флуориметрический 6440 FL	$1 \cdot 10^{-11}$ г/см <sup>3</sup> антрацена

*Изменение № 1*

4.2.5 Определение чувствительности (отношения сигнал/шум) детекторов масс-спектрометрических 5610 MS выполняют в соответствии с п. 4.1.3 Приложения к РЭ на хроматограф «Cromaster» базовой модели - инструкции к масс-спектрометрическому детектору 5610 MS:

4.2.5.1 Заполняют газонепроницаемый шприц контрольным раствором КР 6 и вводят его со скоростью 2 мм<sup>2</sup>/мин в детектор с помощью шприцевого насоса.

Получают хроматограмму в режиме SIM (отслеживание отдельного иона) в следующих условиях:

Режим измерения	SIM
Полярность	Положительная
Время сбора, мин	0,2
AIF	On
Целевой ион ( <i>m/z</i> )	609,3
Начало, мин	0,0
Окончание, мин	0,2
Время задержки, мс	1000
AIF / Разделение:	Standard

Напряжение регулируется на основании заданных условий проверки чувствительности при установке прибора.

4.2.5.2 Обрабатывают полученные данные за 0,2 минуты. Рассчитывают среднюю интенсивность сигнала SIM-спектра образца.

4.2.5.3 Заполняют газонепроницаемый шприц метанолом и вводят со скоростью 2 мкл / мин в детектор с помощью шприцевого насоса.

4.2.5.4 Хроматограмму в режиме SIM снимают в тех же условиях, как описано выше. Повторяют до полного удаления следов контрольного вещества и стабилизации выходного сигнала.

4.2.5.5 Выполняют операции по п.п. 4.2.5.1 - 4.2.5.2. Рассчитывают среднюю интенсивность сигнала SIM-спектра чистого метанола.

4.2.5.6 Чувствительность (соотношение сигнал/шум, S / N) рассчитывают по формуле:



$$S/N = \frac{|\bar{A}_r - \bar{A}_0|}{\bar{A}_0},$$

где  $\bar{A}_r$  - среднее значение интенсивности сигнала при измерении контрольного раствора, ед. счета,

$\bar{A}_0$  - среднее значение интенсивности сигнала при измерении чистого метанола, ед. счета.

Полученное значение чувствительности S/N должно быть не менее 100.

#### Изменение № 1

### 4.3 Определение метрологических характеристик

4.3.1 Определение относительного среднего квадратичного отклонения выходных сигналов.

Измерения проводят после выхода хроматографа на режим. Условия выполнения измерений должны соответствовать п.3.1.

4.3.2 Контрольный раствор (табл.2) вводят в хроматограф не менее 10 раз, измеряют значения выходных сигналов (времени удерживания, высоты и площади пика), вычисляют среднее арифметическое значение выходных сигналов ( $\bar{X}$ ).

4.3.3 Относительное среднее квадратическое отклонение выходных сигналов рассчитывают по формуле

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

где  $X_i$  – i-тое значение параметра выходного сигнала (площади пика, высоты пика и времени удерживания).

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

4.3.4 Определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы.

Условия проведения измерений описаны в п. 3.1. Проводят операции по п.4.3.2. Через 8 часов непрерывной работы хроматографа повторяют измерения по п. 4.3.2. Относительное изменение выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа рассчитывают по формуле:

$$\partial_i = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}}{\bar{X}} \cdot 100,$$

где  $\bar{X}$  - среднее значение параметра выходного сигнала (площади пика) в серии экспериментов.

4.3.5 Значения относительного изменения выходного сигнала не должны превышать норм, приведенных в таблице 6.

Таблица 6 - Метрологические характеристики

Хроматограф с детекторами	Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала, %			Относительное изменение выходного сигнала (площади пика) за 8 часов непрерывной работы, %
	время удерживания	площадь пика	высота пика	
Спектрофотометрическими 5410 UV, 5420 UV/VIS	0,5	2	3	±2
На диодной матрице 5430 Diode Array	0,5	2	3	±2
Рефрактометрическим 5450 RI	0,5	2	3	±2
Флуориметрическим 5440 FL	0,5	2	3	±2
Низкотемпературного испарительного светорассеяния VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100	0,5	4	4	±2
Масс-спектрометрическим 5610 MS	0,5	3	3	±2
Спектрофотометрическим 6420 UV/VIS	0,5	3	3	±2
На диодной матрице 6430 Diode Array	0,5	3	3	±2
Флуориметрическим 6440 FL	0,5	3	3	±2

*Изменение № 1*

## 5. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

5.1. Результаты поверки хроматографов заносят в протокол.

5.2 Положительные результаты поверки анализатора 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) с указанием поверенного детектора (детекторов).

В соответствии с п. 16 вышеуказанного Порядка при проведении поверки хроматографов жидкостных «Chromaster» в свидетельстве указывают объем поверки (перечень поверенных детекторов).

Знак поверки наносят в свидетельство о поверке.

5.3 На хроматографы, не удовлетворяющие требованиям настоящей методики, 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).

5.4. После ремонта хроматографы подвергают поверке.

*Изменение № 1*

Начальник отдела ФГУП «ВНИИМС»



С.В. Вихрова

Старший научный сотрудник ФГУП «ВНИИМС»



Е.Г. Оленина

## МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления контрольных растворов для поверки хроматографов жидкостных «Chromaster».

## 1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

1.1 ГСО 8749-2006 состава антрацена в ацетонитриле, массовая концентрация антрацена 0,200 мг/см<sup>3</sup>.

1.2 Весы электронные лабораторные неавтоматического действия X (рег. № 60903-15), НПВ не более 220 г, I (специального) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011.

1.3 Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2, ГОСТ 1770-74.

1.4 Цилиндры мерные 2-500-2, 2-1000-2, ГОСТ 1770-74.

1.5 Пипетки, градуированные 1-2-2-1, 1-2-2-2, 1-2-2-5, ГОСТ 29227-91.

1.6 D-глюкоза квалификации «ч.д.а.» по ГОСТ 6038-79 или чистый реактив D-глюкозы безводной, CAS № 50-99-7, массовая доля основного вещества не менее 99,5 %, (кат. № G8270 Sigma-Aldrich).

1.7 Чистый реактив резерпин по фармакопейной статье ФС 423267-96 или чистое вещество CAS № 50-55-5, массовая доля основного вещества не менее 97,0 %, (кат № 83580 Sigma-Aldrich);

1.8 Ацетон для ВЭЖХ, № CAS № 1, массовая доля основного вещества не менее 99,9 %, (кат. № 270725 Sigma-Aldrich).

1.9 Метанол для HPLC, CAS № 67-56-1, массовая доля основного вещества не менее 99,9 % (кат № 34860 Sigma-Aldrich).

1.10 Ацетонитрил для ВЭЖХ, ТУ 6-09-14-2167-84;

1.11 Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72;

1.12 Деионизованная вода с удельным сопротивлением не менее 18 МОм/см, ТОС менее 50 мкг/дм<sup>3</sup>, ГОСТ Р 52501-2005;

1.13 Стаканы или бюксы для взвешивания.

1.14 Стаканы, банки для элюента.

Примечание – допускается применение чистых веществ и растворителей других производителей с другими каталожными номерами, аналогичные по содержанию основного вещества и по назначению (для ВЭЖХ).

## 2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление раствора элюента ацетонитрил : вода с объемным отношением 84 : 16. В стакан или банку вместимостью 1 дм<sup>3</sup> с помощью цилиндра наливают 160 см<sup>3</sup> деионизованной воды, добавляют 840 см<sup>3</sup> ацетонитрила, перемешивают, переливают в банку для хранения элюента.

## 2.2 Приготовление контрольных растворов антрацена

2.2.1 Приготовление контрольного раствора № 1 с массовой концентрацией антрацена 1,0 мг/дм<sup>3</sup>.

0,5 см<sup>3</sup> ГСО состава антрацена в ацетонитриле с массовой концентрацией 200 мг/дм<sup>3</sup> градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки раствором подвижной фазы (ацетонитрил-вода с объемным отношением 84:16). Контрольный раствор используют для определения предела детектирования и метрологических характеристик спектрофотометрических детекторов 5410

UV, 5420 UV/VIS, 6420 UV/VIS, детекторов на диодной матрице 5430 Diode Array, 6430 Diode Array

2.2.2 Приготовление контрольного раствора № 2 с массовой концентрацией антрацена 0,1 мг/дм<sup>3</sup>.

5 см<sup>3</sup> раствора № 1 с массовой концентрацией 1,0 мг/дм<sup>3</sup> градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки раствором подвижной фазы (ацетонитрил-вода с объемным отношением 84:16).

Контрольный раствор используют для определения предела детектирования и метрологических характеристик флуориметрического детектора 5440 FL.

2.2.3 Приготовление контрольного раствора № 3 с массовой концентрацией антрацена 0,002 мг/дм<sup>3</sup>. 1 см<sup>3</sup> раствора № 2 с массовой концентрацией 0,1 мг/дм<sup>3</sup> градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки раствором подвижной фазы (ацетонитрил-вода с объемным отношением 84:16). Контрольный раствор используют для определения предела детектирования и метрологических характеристик флуориметрического детектора 6440 FL.

2.3 Приготовление контрольного раствора глюкозы.

2.3.1 Приготовление контрольного раствора № 4 с массовой концентрацией глюкозы 1000 мг/дм<sup>3</sup>. Взвешивают в стакане (100±1) мг глюкозы, затем количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, многократно оmyвая стакан деионизованной водой, доводят раствор в колбе до метки деионизованной водой, перемешивают. Контрольный раствор используют для определения предела детектирования и метрологических характеристик низкотемпературного испарительного светорассеяния VWR ELSD 90 LT или SEDEX LT-ELSD 100.

2.4 Приготовление контрольных растворов резерпина

2.4.1 Приготовление рабочего раствора резерпина с массовой концентрацией 1000 мг/дм<sup>3</sup> в ацетоне. Взвешивают в стакане (100±1) мг резерпина, затем количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, многократно оmyвая стакан ацетоном, доводят раствор в колбе до метки ацетоном, перемешивают до полного растворения.

2.4.2 Приготовление контрольного раствора резерпина КР 5 с массовой концентрацией 10 мг/дм<sup>3</sup> в метаноле. 1 см<sup>3</sup> рабочего раствора по 4.3.1 с массовой концентрацией 1000 мг/дм<sup>3</sup> градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки раствором метанолом, перемешивают. Контрольный раствор используют для определения метрологических характеристик масс-спектрометрического детектора 5610 MS.

2.4.3 Приготовление контрольного раствора резерпина КР 6 с массовой концентрацией 0,15 мг/дм<sup>3</sup> в метаноле.

1,5 см<sup>3</sup> контрольного раствора КР 4 по 4.3.2 с массовой концентрацией 10 мг/дм<sup>3</sup> градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки раствором метанолом, перемешивают.

Контрольный раствор используют для определения чувствительности (отношения сигнал/шум) масс-спектрометрического детектора 5610 MS.

2.5 Контрольные растворы используют сразу после приготовления, не хранят.

*Изменение № 1*