

ORGANISATION INTERNATIONALE
DE MÉTROLOGIE LÉGALE



RECOMMANDATION INTERNATIONALE

Chromatographes en phase liquide de haute performance
pour la mesure des pesticides et autres substances toxiques

High performance liquid chromatographs for measurement of pesticides and other toxic substances

OIML R 112

Édition 1994 (F)

SOMMAIRE

Avant-propos	3
1 Domaine d'application	4
2 Terminologie	5
3 Description de l'instrument	7
4 Exigences métrologiques	11
5 Exigences techniques	13
6 Instructions pratiques	14
7 Contrôles métrologiques	15
Références	17
Annexe A Références à des méthodes de mesurage	18
Annexe B Conditions d'essai pour les détecteurs de CLHP	19
Annexe C Essai de performance pour un système CLHP	22
Annexe D Format du rapport d'essai	24
Annexe E Procédure de vérification de la disponibilité opérationnelle d'un système CLHP	27

AVANT-PROPOS

L'Organisation Internationale de Métrologie Légale (OIML) est une organisation intergouvernementale mondiale dont l'objectif premier est d'harmoniser les réglementations et les contrôles métrologiques appliqués par les services nationaux de métrologie, ou organismes apparentés, de ses États Membres.

Les deux principales catégories de publications OIML sont:

- 1) les **Recommandations Internationales (OIML R)**, qui sont des modèles de réglementations fixant les caractéristiques métrologiques d'instruments de mesure et les méthodes et moyens de contrôle de leur conformité; les États Membres de l'OIML doivent mettre ces Recommandations en application dans toute la mesure du possible;
- 2) les **Documents Internationaux (OIML D)**, qui sont de nature informative et destinés à améliorer l'activité des services de métrologie.

Les projets de Recommandations et Documents OIML sont élaborés par des comités techniques ou sous-comités composés d'États Membres. Certaines institutions internationales et régionales y participent aussi sur une base consultative.

Des accords de coopération ont été conclus entre l'OIML et certaines institutions, comme l'ISO et la CEI, pour éviter des prescriptions contradictoires; en conséquence les fabricants et utilisateurs d'instruments de mesure, les laboratoires d'essais, etc. peuvent appliquer simultanément les publications OIML et celles d'autres institutions.

Les Recommandations Internationales et Documents Internationaux sont publiés en français (F) et en anglais (E) et sont périodiquement soumis à révision.

Les publications de l'OIML peuvent être obtenues au siège de l'Organisation:

Bureau International de Métrologie Légale
11, rue Turgot - 75009 Paris - France
Téléphone: 33 (1) 48 78 12 82 et 42 85 27 11
Télécopie: 33 (1) 42 82 17 27
Télex: 234 444 SVP SERV F ATTN OIML

*
* *

La présente publication – référence OIML R 112, édition 1994 (F) – a été élaborée par le sous-comité OIML TC 16/SC 3 «Instruments de mesure des polluants: pesticides et autres substances toxiques». Elle a été approuvée par le Comité International de Métrologie Légale en 1993 pour publication définitive et sera présentée à la sanction formelle de la Conférence Internationale de Métrologie Légale en 1996.

CHROMATOGRAPHES en PHASE LIQUIDE de HAUTE PERFORMANCE pour la MESURE des PESTICIDES et AUTRES SUBSTANCES TOXIQUES

1 Domaine d'application

1.1 La présente Recommandation donne les exigences pour la définition, l'évaluation et la vérification de la fiabilité des systèmes chromatographiques en phase liquide de haute performance (CLHP), lorsqu'ils sont utilisés pour la mesure des pesticides et substances toxiques dans le cadre des programmes de contrôle de la pollution et de la qualité des produits alimentaires, comme prescrit par les lois et les réglementations nationales. Il n'est pas question d'exclure tout autre moyen équivalent de mesurage et d'analyse. L'utilisation d'un système CLHP fournit de bons résultats pour l'analyse de toute une gamme d'échantillons, y compris ceux provenant des nappes phréatiques et eaux de surface, des effluents municipaux et industriels, de l'air aux lieux de travail, des sols et des sédiments, des tissus végétaux et animaux, ainsi que des produits alimentaires [1, 2 et 3]. Avant de procéder à l'analyse, il faut faire appel à des techniques de collecte et d'extraction des échantillons, lesquelles dépendent du type d'échantillon. Les techniques d'échantillonnage et les méthodes de mesurage dépassent l'objet de la présente Recommandation; cependant, des méthodes de mesurage applicables sont mentionnées dans les références données en Annexe A.

Note: La chromatographie en phase liquide de haute performance est aussi appelée chromatographie en phase liquide sous haute pression.

1.2 Les exigences métrologiques et techniques sont indiquées pour les principaux éléments d'un système CLHP comprenant la(les) pompe(s), le(s) dispositif(s) d'injection, la(les) colonne(s), le(s) détecteur(s) ainsi que des systèmes pour le contrôle de la température et le traitement des données. Les conditions de fonctionnement d'un instrument individuel ou d'un ensemble constitué de plusieurs éléments séparés sont supposées couvrir les applications pour l'analyse de traces.

1.3 Il existe quatre principes de séparation en chromatographie en phase liquide: partage, adsorption, échange ionique, pénétration d'un colloïde. D'autres termes sont utilisés pour caractériser chaque type. Cependant, le mécanisme réel pour nombre de séparations peut ne pas être clairement défini et peut comprendre l'adsorption ou le partage ou une combinaison des deux. De plus, la polarité de la phase stationnaire peut être plus grande ou plus faible que celle de la phase mobile. La méthode de séparation est dite à phase normale quand la phase stationnaire est plus polaire que la phase mobile et à phase inverse dans le cas contraire. Le système CLHP à phase inverse est devenu la technique la plus courante pour la séparation et l'analyse des composants organiques. Il permet d'effectuer des séparations pour une gamme étendue de composants non ioniques, ionisables et ioniques. Les colonnes à phase inverse sont généralement stables et les séparations peuvent être réalisées avec une excellente répétabilité puisque les phases stationnaires sont chimiquement liées. La présente Recommandation s'applique donc aux systèmes CLHP à phase inverse. Elle ne couvre pas les systèmes CLHP à colonne micro-calibre, à échange ionique et à pénétration de colloïde.

1.4 Le type de détecteur choisi pour le système CLHP dépend généralement de la concentration et des propriétés physiques et chimiques du composant de l'échantillon à mesurer ainsi que de sa matrice. La présente Recommandation concerne les détecteurs suivants: détecteurs spectrophotométriques dans le domaine UV/visible, détecteurs à fluorescence et détecteurs électrochimiques.

Note: Le spectromètre de masse est un détecteur très spécifique et très sensible bien adapté dans ce domaine d'application. Il est normalement couplé au système par l'intermédiaire d'une interface et doit faire l'objet d'une Recommandation séparée, en raison de son caractère spécifique.

1.5 Les catégories suivantes sont des exemples de composants que l'on peut mesurer au moyen d'un système CLHP: carbamates, pyrethroïdes, organophosphates, carbures aromatiques polynucléaires, phénoliques, isocyanates, aflatoxines, herbicides contenant des acides chlorophénoxyques, herbicides triazines et amines. Avant de mesurer certains composants de l'échantillon, il peut être nécessaire de les transformer en dérivés; toutefois, un système CLHP a l'avantage de pouvoir être utilisé pour le mesurage direct des composants thermolabiles ou faiblement volatils ou extrêmement polaires sans transformation en dérivés.

1.6 Une performance de l'instrument supérieure à celle spécifiée pour ces applications peut être obtenue en optimisant la performance de chacun des éléments principaux constituant le système de mesurage. Dans de tels cas, le succès peut dépendre des connaissances, de l'habileté et de l'expérience de l'opérateur.

2 Terminologie

Note: Les références [2], [4] et [5] donnent les définitions de termes applicables à la présente Recommandation. La définition de certains termes présentés ici a cependant été modifiée en vue d'une meilleure compréhension dans le cadre de la présente application.

2.1 Dispositif d'injection

Moyen par lequel un échantillon est introduit dans la colonne.

2.2 Colonne

Tube contenant la phase stationnaire à travers laquelle s'écoule la phase mobile.

2.3 Phase mobile

Liquide (solvant) utilisé pour éluer les composants de l'échantillon à travers et hors de la colonne; elle peut comprendre un ou plusieurs composants.

2.4 Phase stationnaire

Matériau actif et immobile, intégré à la colonne et solidaire du support solide ou constituant celui-ci, qui retarde le passage des composants de l'échantillon par un ou plusieurs procédés possibles ou par une combinaison de ceux-ci.

2.5 Support solide

Matériau à l'intérieur de la colonne, auquel est liée la phase stationnaire (y compris le matériau de remplissage) et par lequel s'écoule la phase mobile. Idéalement le matériau devrait être inerte. Le support solide peut être caractérisé par le diamètre d_p d'une particule, mesuré en μm .

2.6 Elution

Extraction d'un composant de l'échantillon hors de la phase stationnaire par la phase mobile.

2.7 Détecteur

Dispositif détectant la présence de composants de l'échantillon élué hors de la colonne.

2.8 Bruit

Mesure d'une variation dans le signal du détecteur; il peut être divisé en trois composantes:

Bruit à court terme: toutes les variations aléatoires perceptibles du signal du détecteur, dans des fréquences de l'ordre de 10^{-2} Hz à 10^{-1} Hz (un ou plusieurs cycles par minute) et qu'il convient de mesurer pic-à-pic.

Bruit à long terme: toutes les variations aléatoires perceptibles du signal du détecteur, dans des fréquences de l'ordre de 0,1 Hz à 1,0 Hz.

Note: Bien que le bruit à long terme puisse se produire à tout moment pendant une analyse, il arrive qu'on le confonde avec un éluant tardif. Les pics d'élution précédents sont habituellement plus nets et moins facilement confondus avec le bruit à long terme.

Dérive: gradient moyen du signal de base mesuré sur une période d'au moins une demi-heure.

2.9 Limite de détection de l'instrument

Concentration d'un composant de l'échantillon examiné provoquant un signal de sortie du détecteur égal à trois fois le niveau du bruit à court terme.

Note: On trouve aussi le terme «détection minimale» dans quelques unes des références et dans les prospectus des constructeurs. On définit parfois la limite de détection comme un signal de sortie égal à d'autres multiples (par exemple: deux ou dix) du bruit.

2.10 Etendue linéaire d'un détecteur

Étendue des concentrations ou des débits massiques d'un composant de l'échantillon examiné pour laquelle la sensibilité du détecteur est constante à 5 % près. Sa valeur correspond au rapport de la limite supérieure de linéarité à la limite de détection.

2.11 Etendue dynamique d'un détecteur

Étendue des concentrations ou des débits massiques d'un composant de l'échantillon examiné pour laquelle une variation de la quantité d'échantillon produit une variation mesurable du signal de sortie du détecteur. Sa valeur correspond au rapport de la limite supérieure de détection à la limite de détection.

2.12 Sensibilité du détecteur

Signal de sortie par unité de concentration du composant de l'échantillon dans la phase mobile; il peut être exprimé comme suit:

$$S = \frac{A \times F}{M}$$

où:

S = sensibilité

A = surface intégrée du composant de l'échantillon

F = débit

M = masse du composant de l'échantillon injectée

Note: Un détecteur électrochimique du type coulombien n'obéit pas à cette équation.

2.13 Chromatogramme

Enregistrement du signal de sortie du détecteur en fonction du temps, avec des pics spécifiques associés aux composants mesurés de l'échantillon.

2.14 Temps de rétention (t_r) pour un mesurage

Temps passé depuis l'injection de l'échantillon et l'apparition du pic maximal du signal d'émission pour le composant examiné.

Note: Le facteur de capacité k' est apparenté à ce terme et est défini comme suit:

$$k' = \frac{t_r - t_m}{t_m}$$

où

t_m = temps nécessaire pour que la phase mobile passe du point d'injection à celui de détection.

2.15 Répétabilité

Concordance entre les résultats de mesurages consécutifs de la même grandeur de mesure effectués dans les mêmes conditions et dans une période de temps relativement courte.

Note: Il convient de comprendre le terme «les mêmes conditions» comme incluant: la méthode de mesurage, l'opérateur, l'instrument de mesure, le lieu et les conditions d'environnement.

3 Description de l'instrument

3.1 Généralités

3.1.1 La figure 1 montre le schéma d'un système CLHP. La phase mobile en provenance d'un réservoir de solvant est filtrée puis pompée à travers le dispositif d'injection, la colonne et le détecteur, chacun ou tous ces dispositifs pouvant être enfermés dans un four commandé par thermostat. Un échantillon est introduit par le dispositif d'injection dans la colonne puis est séparé en ses divers composants en passant à travers la

colonne. Une colonne de sécurité peut être nécessaire pour retenir les matières qui pourraient altérer la performance de la colonne. De même, un réacteur placé après la colonne peut être nécessaire pour transformer les composants de l'échantillon en dérivés. Un détecteur contrôle l'éluat en détectant les composants de l'échantillon. Le signal de sortie du détecteur est instantanément affiché et/ou mis en mémoire dans un système de traitement des données. L'éluat est enfin recueilli dans un récipient destiné à recevoir les déchets qui doivent être évacués comme il convient.

3.1.2 La séparation des composants d'un échantillon par une colonne dépend de l'interaction entre le remplissage de la colonne (phase stationnaire) et la phase mobile. L'élu-tion isocratique implique que soit maintenue constante la composition de la phase mobile, et l'élu-tion à gradient implique qu'un changement délibéré a été apporté à la composition de la phase mobile en cours de processus chromatographique. L'élu-tion à gradient signifie donc programmation de la phase mobile ou du solvant.

3.1.3 Un détecteur contrôle les composants individuels de l'échantillon, élués de la colonne. Le signal de sortie émis en fonction du temps par le détecteur fournit les aires de pic ou les hauteurs de pic qui peuvent être reliées à la concentration des composants de l'échantillon.

3.1.4 La performance générale d'un système CLHP peut être caractérisée par la répétabilité des mesures du temps de rétention et de la hauteur (ou de l'aire) de pic pour des composants spécifiques de l'échantillon dans des conditions de mesure contrôlées.

3.2 Principaux composants

3.2.1 Phase mobile

La composition de la phase mobile et sa pureté dépendent de la méthode d'analyse et du détecteur utilisés, ainsi que du choix de l'élu-tion isocratique ou de l'élu-tion à gradient. Les phases mobiles les plus couramment utilisées dans un système CLHP à phase inverse consistent en un mélange d'eau et de méthanol ou d'acétonitrile.

3.2.2 Pompes

3.2.2.1 Une pompe à seringue est utilisée pour entraîner la phase mobile à l'aide d'un piston contrôlé mécaniquement et avançant à vitesse constante, dans un réservoir de volume déterminé.

3.2.2.2 Une pompe à mouvement alternatif est utilisée pour entraîner la phase mobile par une ou plusieurs têtes à réservoirs de petite contenance, à l'aide de pistons à mouvement alternatif ou de diaphragmes. Des soupapes de retenue sont synchronisées avec le mouvement du piston (ou du diaphragme) afin d'alterner le remplissage et la vidange de la phase mobile de chaque réservoir.

Note: Pour assurer la régularité du débit, on incorpore souvent des soupapes mécaniques à impulsion et/ou des transducteurs électroniques ou pneumatiques.

3.2.3 Le dispositif d'injection le plus souvent utilisé consiste en une soupape et une boucle par lesquelles l'échantillon contenu dans une seringue est introduit à l'intérieur d'une chambre ou d'une boucle à pression ambiante, et est par la suite déplacé dans la phase mobile s'écoulant sous pression, par un mouvement rotatoire ou coulissant.

Note: On peut utiliser des dispositifs d'injection avec ou sans cloison. Le procédé d'injection est souvent automatisé.

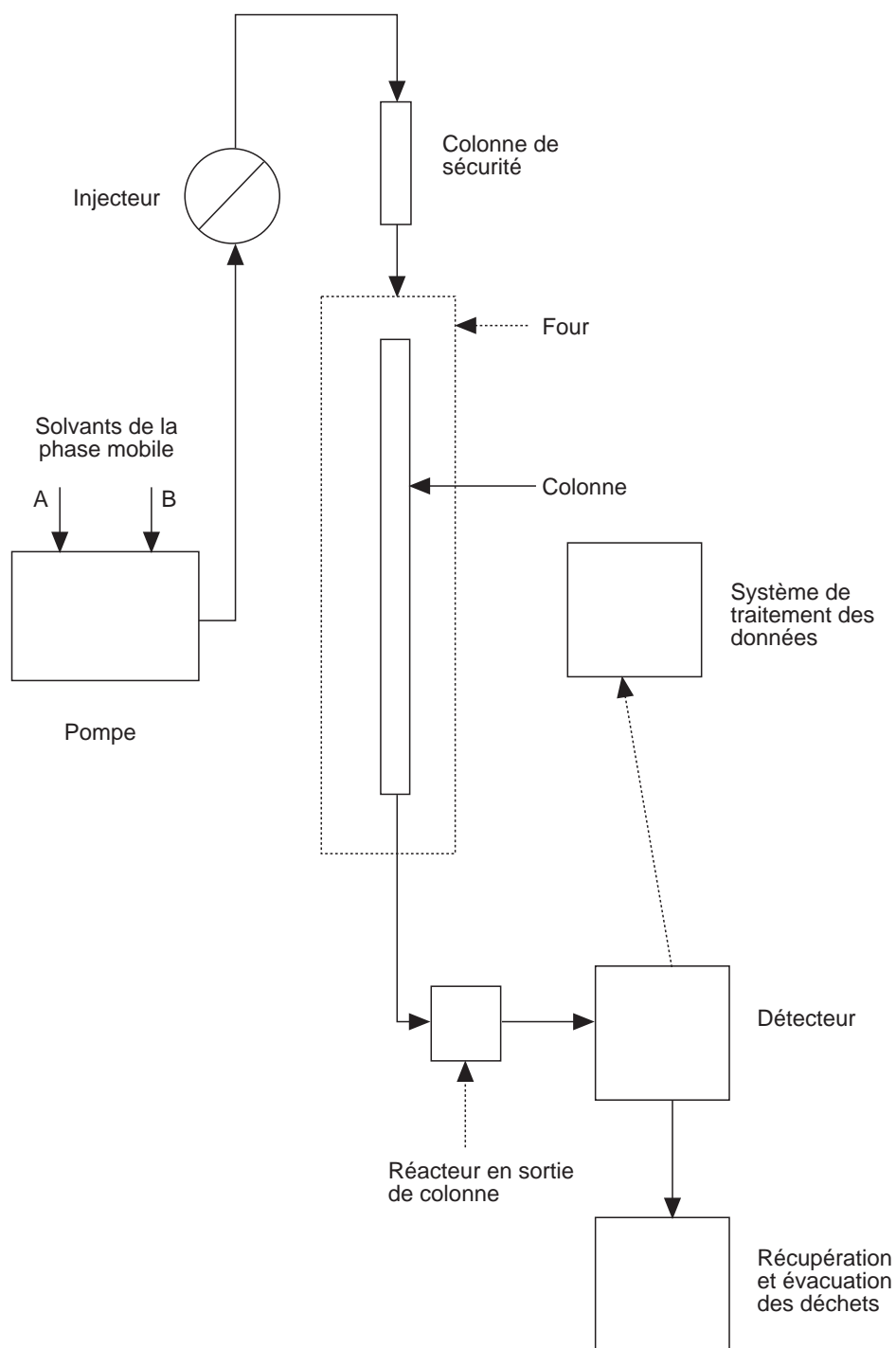


Figure 1

Diagramme schématique d'un système CLHP. Il faut observer que la colonne de sécurité, le four de la colonne et/ou le réacteur placé après la colonne peuvent être inclus ou non, comme exigé par la méthode d'analyse. Le réacteur de la colonne peut être placé juste en avant de la colonne et est alors désigné réacteur de «précolonne».

3.2.4 Colonne de sécurité

On peut placer une colonne de sécurité entre le dispositif d'injection et la colonne afin de la protéger contre une perte d'efficacité que peut causer la présence de macro-particules ou de matériau fortement absorbant provenant de l'échantillon.

Note: S'il n'y a pas de colonne de sécurité, il convient d'ajouter un filtre.

3.2.5 Le type de colonne utilisé dépend de la méthode d'analyse employée. Il convient de choisir cette dernière de façon à obtenir une séparation optimale des composants de l'échantillon examiné.

Note: On utilise de manière courante les silices à phase liée comme remplissage (pour la phase stationnaire et le support). Dans le cas du CLHP à phase inverse, l'octadécylène de silane est la phase stationnaire la plus souvent utilisée bien que l'on puisse aussi utiliser des groupes fonctionnels d'alcoyle, de phényle et de nitrile. On fait en général appel à deux types de remplissage: le remplissage poreux dans lequel on trouve la phase stationnaire à travers chaque particule poreuse et le remplissage pelliculaire dans lequel on ne trouve la phase stationnaire que sur la couche extérieure d'une particule qui, autrement, serait étanche.

3.2.6 Réacteur

Un réacteur placé avant ou après la colonne peut être utilisé pour préparer des dérivés des composants de l'échantillon examinés avant leur détection.

Note: Il est important d'empêcher un refoulement des réactifs soit en sélectionnant les débits ou pressions appropriés soit au moyen de valves de contrôle.

3.2.7 Détecteurs

3.2.7.1 On peut utiliser des détecteurs spectrophotométriques dans le domaine UV/visible pour mesurer l'absorbance de lumière par l'échantillon lorsqu'il a été élué à travers la colonne, si l'absorbance mesurée peut être reliée à la concentration du composant de l'échantillon examiné. La plupart du temps, on se sert de détecteurs à une seule longueur d'onde (fixe) avec une source lumineuse au mercure sous basse pression et à des longueurs d'onde déterminées par les lignes d'émission du mercure et par un filtre optique. Les détecteurs à longueurs d'onde variables utilisables comprennent un monochromateur à réseau pour sélectionner une ou plusieurs longueurs d'onde, et un assemblage à photodiode et lentilles pour sélectionner simultanément plusieurs longueurs d'onde. On utilise d'habitude des lampes au deutérium, au tungstène ou au xénon pulsé comme sources lumineuses afin de couvrir l'étendue de longueurs d'onde pour les détecteurs à longueurs d'onde variables.

3.2.7.2 On peut utiliser des détecteurs à fluorescence pour relier l'émission de fluorescence à la concentration des composants de l'échantillon examinés qui ont été excités par absorption de lumière. Les transitions fluorescentes se traduisent par des spectres de bande puisque les composants de l'échantillon sont d'habitude excités par un spectre de longueurs d'onde provenant d'une source lumineuse; cependant, le détecteur fonctionne souvent à une longueur d'onde correspondant au maximum d'intensité dans les spectres d'excitation et d'émission pour le composant d'échantillon examiné, afin d'obtenir une sensibilité et sélectivité maximales.

3.2.7.3 On peut utiliser des détecteurs électrochimiques pour mesurer la concentration des composants d'échantillon qui peuvent être oxydés ou réduits électrochimiquement sur des électrodes. Un courant de cellule électrochimique à l'intérieur du détecteur est produit par l'éluat sortant de la colonne et mesuré à un potentiel déterminé et ce courant est directement proportionnel à la concentration du composant en cause de l'échantillon.

3.2.8 Système de traitement de données

Le système de traitement de données fournit un moyen d'enregistrer et d'afficher le signal de sortie d'un détecteur de système CLHP en fonction du temps. On peut utiliser à cette fin un enregistreur potentiométrique avec un diagramme à bande, un intégrateur et/ou un calculateur.

4 Exigences métrologiques

4.1 Pompes

4.1.1 La pompe doit pouvoir fonctionner pour une étendue de pression de 0 MPa à 40 MPa.

4.1.2 La pompe doit pouvoir permettre des débits de 0,1 mL/min à 5 mL/min. Lors des essais avec de l'eau, la répétabilité de son débit doit être de $\pm 3 \%$ à un débit de 1 mL/min sur une période de dix minutes et pour une pression globale du système d'au moins 14 MPa.

Note: Certaines pompes permettent des débits supérieurs à cette étendue tout en satisfaisant à cette exigence.

4.1.3 La pulsation de la pompe doit être, en valeur de crête, inférieure à 2 % de la pression quand on la contrôle en utilisant de l'eau à une contre-pression de 14 MPa et à un débit de 1 mL/min sur une période de dix minutes. Ce mesurage doit être effectué au niveau de la pompe, juste en amont de l'injecteur et à la pression de mesurage.

Note: La pression des pulsations au niveau du détecteur doit être nettement inférieure à celle mesurée puisque le détecteur est placé à l'endroit de pression minimale du système. La performance de la pompe peut influencer sur la limite de détection d'un détecteur pour certains composants de l'échantillon; par conséquent, pour optimiser la performance du système, il convient de réduire au minimum le bruit du détecteur généré par la pompe.

4.2 Injecteurs

Les injecteurs doivent permettre de fournir un volume spécifique de l'échantillon avec une répétabilité égale à la plus grande de ces deux valeurs: $\pm 1 \%$ ou $\pm 0,05 \mu\text{L}$, pour un volume compris dans une étendue de 1,0 μL à 1 000 μL . Les injecteurs doivent satisfaire à ces exigences pour des pressions allant jusqu'à 34 MPa.

4.3 Température de la colonne

Pour une colonne disposant d'un moyen de contrôle de la température, la température de la colonne doit être réglable par incréments de 1 °C et maintenue à $\pm 0,1$ °C.

Note: Quand on fait fonctionner la colonne d'un système CLHP à des températures dépassant la température ambiante de 10 °C ou plus, le préchauffage de la phase mobile peut être nécessaire afin d'éviter la formation de bulles.

4.4 Détecteurs

4.4.1 Les détecteurs doivent satisfaire aux exigences minimales de performance pour la limite de détection et l'étendue linéaire lorsqu'ils sont essayés conformément aux conditions prescrites dans ce paragraphe et dans les Annexes B et C. La limite de détection spécifiée est considérée en tant que valeur maximale admise pour cette gran-

deur avec des erreurs maximales tolérées de $\pm 10 \%$, et l'étendue linéaire est considérée comme étendue de fonctionnement de quantification de l'instrument bien que les constructeurs puissent spécifier une étendue dynamique à l'intérieur de limites spécifiées (voir Annexe C). Les étendues de fonctionnement de l'instrument pour la température et l'humidité sont respectivement de $10 \text{ }^\circ\text{C}$ à $35 \text{ }^\circ\text{C}$ et de 60% à 20% .

4.4.2 Les conditions générales d'essai sont les suivantes:

- Choisir une colonne avec un remplissage en suivant les consignes du constructeur
- Choisir la phase mobile et la température de la colonne recommandées par le constructeur pour l'élution isocratique
- Choisir un dispositif d'injection de taille et de type appropriés à la quantité du composant d'essai à injecter
- Contrôler la température du détecteur à $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ à une température spécifique de l'étendue des températures de fonctionnement de l'instrument ou usuellement entre $10 \text{ }^\circ\text{C}$ et $23 \text{ }^\circ\text{C}$.

4.4.3 Détecteur spectrophotométrique UV/visible

- Type: tributaire de la concentration et de la longueur de la cellule, sélectif et applicable à un large domaine
- Composant d'essai: anthracène
- Longueur d'onde: $254 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ en étendue nominale fixe
 $200 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ à $600 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ en étendue nominale variable mesurée à $252 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$
- Conditions d'essai: les conditions doivent être compatibles avec celles données en Annexe B
- Largeur du pic d'émission à mi-hauteur $\leq 2 \times \left[5 \times \frac{t_r^2}{L} \times d_p \right]^{1/2} \times 0,01 \text{ min}$

pour un rapport signal-bruit supérieur à 100

où

t_r = temps de rétention

d_p = diamètre de la particule en μm du remplissage de la colonne

L = longueur de la colonne en cm

Note: Des valeurs pour des spécifications de colonnes particulières sont fournies en B.3.6.

- Limite de détection: 3 ng d'anthracène injectés ($\pm 2 \%$)
- Etendue linéaire: 10^4

Note: Des détails supplémentaires concernant ces essais sont donnés en Annexe C et dans la référence [6].

4.4.4 Détecteur à fluorescence

- Type: tributaire de la concentration, sélectif et composant spécifique tributaire du volume de la cellule
- Composant d'essai: anthracène
- Longueur d'onde: $250 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ en excitation maximale
 $400 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ en émission maximale
- Conditions d'essai: les conditions doivent être compatibles avec celles données en Annexe B

- Largeur du pic d'émission à mi-hauteur: les exigences doivent être les mêmes que celles spécifiées en 4.4.3
- Limite de détection: 1 ng d'anthracène injecté ($\pm 10\%$)
- Etendue linéaire: 10^3

Note: Des détails supplémentaires concernant ces essais sont donnés en Annexe C.

4.4.5 Détecteur électrochimique

- Type: tributaire de la concentration, sélectif
- Composant d'essai: hydroquinone (oxydation)
quinone (réduction)
- Conditions d'essai: elles doivent être compatibles avec celles données en Annexe B
- Largeur du pic d'émission à mi-hauteur $\leq 4 \times \left[5 \times \frac{t_r^2}{L} \times d_p \right]^{1/2} \times 0,01 \text{ min}$
pour un rapport signal-bruit supérieur à 100
- Limite de détection: 50 pg d'hydroquinone injectés ($\pm 10\%$)
Note: La sensibilité du détecteur dépend du débit dans la cellule du détecteur (voir 2.12 et Annexe C)
- Etendue linéaire: 10^3 à 10^4 .

5 Exigences techniques

5.1 Il convient que la phase mobile contienne des produits chimiques de grade réactif (CLHP) pouvant nécessiter une purification complémentaire pour certains mesurages. L'eau utilisée doit être de grande pureté en particulier dans le cas des matières organiques. Avant utilisation, la phase mobile doit être filtrée par porosité et les moyens recommandés par le constructeur de l'instrument. On dégazera aussi, le cas échéant, la phase mobile afin d'empêcher la formation de bulles dans le système CLHP.

5.2 Le système doit être muni, entre la pompe et la colonne, d'un système de contrôle de la pression et d'un commutateur pour limiter cette pression.

5.3 La pompe doit être conçue de façon à débiter une seule phase mobile en régime constant à travers la colonne dans le cas de l'élution isocratique. Dans le cas de l'élution à gradient, les gradients du solvant peuvent être créés soit par un mélange contrôlé des composants de la phase mobile sur l'entrée d'un seul système de pompage soit en combinant avant l'injecteur le débit de deux systèmes de pompage ou plus.

Note: Dans certaines applications à élution à gradient, il peut être nécessaire de prémélanger les solvants afin d'empêcher la formation de bulles et un excès de refroidissement lorsqu'un mélange contrôlé ultérieur se produit pendant le cycle.

5.4 On peut utiliser des filtres supplémentaires de $2 \mu\text{m}$ à $10 \mu\text{m}$ avant la pompe. Il convient d'utiliser une colonne de sécurité ou un filtre après la pompe et le dispositif d'injection afin de retirer les macroparticules.

5.5 Les colonnes doivent être tubulaires et garnies, et faites de métal, de verre ou de plastique; elles doivent pouvoir supporter la pression générée par la pompe.

Note: Il convient que les raccords de colonne soient conçus de façon à être assemblés et désassemblés facilement.

5.6 Tous les raccords de tuyauterie du système CLHP doivent être disposés de façon à réduire au minimum le volume avant et après la colonne («volume mort») du système.

Note: Il convient que les raccords soient choisis de façon à garantir leur étanchéité aux fluides à haute pression et leur inertie réactive par rapport à la phase mobile et à tout autre réactif utilisés.

5.7 On doit disposer d'un moyen de contrôle de la température des détecteurs, pour satisfaire le cas échéant les exigences de 4.4.2.

Note: Un bloc de métal dissipateur de chaleur ou un réchauffeur à résistance peuvent être utilisés comme dispositifs de contrôle de la température.

5.8 Le système de traitement de données doit assurer l'enregistrement et l'affichage exacts du signal d'émission d'un détecteur de système CLHP par rapport au temps.

5.9 Les indications suivantes doivent être fixées de façon apparente sur tous les éléments principaux composant le système CLHP:

- nom du constructeur
- numéros de série et de modèle de l'instrument et date de fabrication
- tension, fréquence et exigences relatives au courant

Note: Il convient que les étiquettes ou avertissements relatifs à la sécurité du personnel et à l'émission de parasites en fréquences radio figurent conformément aux réglementations nationales.

6 Instructions pratiques

6.1 En fonctionnement normal, les systèmes CLHP utilisent une tension élevée et des liquides inflammables et potentiellement toxiques sous haute pression. Des encarts d'avertissement doivent être placés de façon apparente sur l'instrument pour prévenir l'utilisateur contre les dangers mentionnés ci-dessus et autres dangers éventuels. L'installation de l'instrument et son fonctionnement, tout particulièrement en ce qui concerne la ventilation et les moyens d'évacuation des déchets d'échantillon et de solvants, doivent être conformes aux réglementations nationales en matière de sécurité et d'évacuation des déchets dangereux.

6.2 Les fabricants de systèmes CLHP ou de leurs composants doivent fournir un manuel décrivant l'installation, le fonctionnement et l'entretien courant des systèmes ou composants (voir aussi la référence [7]). Des manuels d'utilisation donnant les méthodes d'analyse doivent pouvoir être fournis sur demande.

6.3 Avant installation, tous les facteurs concernant l'environnement du laboratoire doivent être pris en considération. Les constructeurs doivent fournir aux futurs usagers les spécifications de fonctionnement du système CLHP, y compris la consommation électrique, les valeurs nominales supérieures et inférieures de la tension et de la fréquence, ainsi que les étendues de température ambiante et d'humidité.

7 Contrôles métrologiques

7.1 Approbation de modèle

7.1.1 L'essai d'approbation de modèle doit permettre d'assurer la conformité d'un (ou plusieurs) exemplaire(s) d'un modèle ou type d'instrument aux exigences de la présente Recommandation.

7.1.2 Le constructeur doit fournir au service national responsable le nombre nécessaire d'instruments et un manuel d'utilisation. De plus, le constructeur peut fournir ses propres données d'essai et d'étalonnage et autres informations appropriées aidant à déterminer si un modèle d'instrument satisfait ou non aux exigences de la présente Recommandation.

7.1.3 Le manuel d'utilisation des instruments doit être examiné en vue de s'assurer que les instructions sont complètes et claires.

7.1.4 Le service national responsable doit contrôler l'instrument visuellement, conjointement à l'examen du manuel d'utilisation pour vérifier si les exigences relatives aux points suivants sont satisfaites:

- contrôle de la pression et commutateur de limitation (5.2)
- pompe et système de tuyauterie (5.3 et 5.6)
- contrôle de la température des détecteurs (5.7)
- système de traitement des données (5.8)
- marquages (5.9)

7.1.5 Le service national responsable doit effectuer les essais ou peut accepter les données d'essai du constructeur qui attestent que les points suivants satisfont aux exigences de performance:

- pompe (4.1.2 et 4.1.3)
- dispositif d'injection (4.2)
- contrôle de la température (4.3)
- limite de détection (4.4 et Annexe B)
- étendue linéaire et sensibilité du détecteur (Annexes B et C)

7.1.6 Il convient que le rapport sur les essais de l'instrument effectués lors de l'évaluation de modèle comprenne au minimum les rubriques définies dans le format spécifié en Annexe D. Une présentation spécifique peut être développée selon les préférences nationales. Le fabricant doit obtenir les commentaires spécifiques relatifs à chaque échec d'un essai.

7.2 Vérifications primitive et ultérieure

7.2.1 Les vérifications primitive et ultérieure légales traditionnelles peuvent ne pas être applicables à ces instruments. Cependant, il convient que le service national responsable considère l'adoption des procédures de contrôle spécifiées en 7.3 comme un moyen d'assurer dans le temps l'intégrité métrologique d'un système CLHP.

7.2.2 De telles procédures peuvent être établies pour des méthodes d'analyses spécifiques et comporter un moyen d'évaluation des laboratoires utilisant des systèmes CLHP. Les procédures d'évaluation appropriées peuvent comprendre: l'accréditation du laboratoire utilisateur, l'autocertification par le laboratoire utilisateur et le contrôle de compétence par des intercomparaisons entre laboratoires utilisateurs.

7.3 Essais effectués par l'utilisateur et enregistrement

7.3.1 Un système CLHP doit subir un essai initial, effectué selon les instructions du constructeur. Les résultats de cet essai doivent rester dans les limites des spécifications fournies par le constructeur.

7.3.2 Des essais de routine doivent être effectués afin d'établir et de maintenir les conditions de fonctionnement optimales de l'instrument pour une méthode d'analyse donnée. Il convient d'utiliser quotidiennement les matériaux de référence ainsi que les diagrammes de contrôle de la qualité afin de vérifier l'étendue de fonctionnement de l'instrument sur une période prolongée. On trouvera en Annexe E une procédure de vérification de routine de la disponibilité opérationnelle d'un système CLHP.

Note: Des matériaux de référence appropriés peuvent être disponibles comme indiqué dans les références [8], [9] et [10].

7.3.3 Il convient d'effectuer fréquemment un essai global de tout le système CLHP (par exemple, une fois par séance d'utilisation), en utilisant des matériaux de référence appropriés à la méthode d'analyse pour la catégorie des composants de l'échantillon. Il convient que cet essai caractérise de façon spécifique la limite de détection de l'instrument, sa sensibilité et son étendue de fonctionnement. On trouvera en Annexe C un essai de performance pour un système CLHP complet.

7.3.4 Il convient que des procédures éditées par le service national responsable spécifient les essais de performance, les méthodes d'étalonnage et les essais de routine des systèmes CLHP utilisables pour des polluants spécifiques. Il convient de préciser comme approprié l'intervalle de temps entre les essais.

7.3.5 Des enregistrements doivent être tenus à jour pour chaque système CLHP et contenir les renseignements écrits suivants dans l'ordre chronologique:

- résultats des essais de performance initial et global
- résultats des essais de routine renseignant sur le temps de rétention, l'aire ou la hauteur de pic et sur la largeur du pic
- identification de l'échantillon de référence pour chaque analyse effectuée, de la (des) phase(s) mobile(s), de(s) l'injecteur(s), de la (des) colonne(s) (y compris le diamètre des particules), de la méthode d'élution, du (des) détecteur(s) et du (des) système(s) de traitement des données
- description du dysfonctionnement et des mesures correctives apportées.
- importance des travaux d'entretien et/ou de réparation

RÉFÉRENCES

- [1] Poole, Colin F. and Schuette, Sheila A., *Contemporary Practice of Chromatography*, Elsevier, New York (1984).
- [2] Standing Committee of Analysts, Department of the Environment, U.K., *High Performance Liquid Chromatography, Ion Chromatography, Thin Layer and Column Chromatography of Water Samples*, Her Majesty's Stationery Office (1983).
- [3] Lawrence, James F., Editor, *Liquid Chromatography in Environmental Analysis*, Humana Press, Clifton, New Jersey (1984).
- [4] Joint Working Group of BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, and OIML, *International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology*, ISO (1993).
- [5] ASTM E682-79, Practice for *Liquid Chromatography Terms and Relationships*, Annual Book of Standards, Vol. 14.01, ASTM, Philadelphia (1985).
- [6] ASTM E685-79, Practice for *Testing Fixed-Wavelength Photometric Detectors Used in Liquid Chromatography*, Annual Book of Standards, Vol. 14.01, ASTM, Philadelphia (1989). ISBN 0-8031-1367-6
- [7] Runser, D.J., *Maintaining and Troubleshooting HPLC Systems*, John Wiley and Sons, New York (1981).
- [8] International Organization for Standardization, *ISO Directory of Certified Reference Materials*, (Current Directory) Geneva, Switzerland.
- [9] United States Environmental Protection Agency, Quality Assurance Division, Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, *Analytical Reference Standards Supplementary Data: Pesticides and Industrial Chemicals*, Repository, EPA-600/4-84-082, (Current Catalog) Cincinnati, OH 45268, USA.
- [10] United States National Institute of Standards and Technology, NIST Standard Reference Materials Catalog, *NBS Special Publication 260*, (Current Catalog), Gaithersburg, MD 20899, USA.
- [11] Karger, B.L., Snyder, L.R., and Horvath, C., *An Introduction to Separation Science*, pp. 135-138, Wiley Interscience, John Wiley and sons, Inc., New York (1973). ISBN 0-471-45860-0.

ANNEXE A
RÉFÉRENCES A DES MÉTHODES DE MESURAGE

- A.1 U.S. Food and Drug Administration (FDA), *Pesticide Analytical Manual*.
- A.2 U.S. Environmental Protection Agency, *Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants Under the Clean Water Act: Final Rule and Interim Final Rule and Proposed Rule*, 40 CFR Part 136, U.S. Federal Register Notice, Friday, October 26, 1984.
- A.3 Association of Official Analytical Chemists, *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Methods Manual, 14 Edition (1984), Arlington, VA 22209, USA.
- A.4 United Kingdom Health and Safety Executive (HSE), *Methods for Determination of Hazardous Substances*, St. Hugh's House, Stanley Precinct, Bootle L20 3QZ, England.
- A.5 APHA-AWWA-WPFC, American Public Health Association, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 16th Edition, (Revised every three years).
- A.6 ASTM, Annual Book of Standards, *Index*, Vol. 00.01, (Current Edition).
- A.7 International Organization for Standardization (ISO), *Catalogue*, (Current Edition).

ANNEXE B

CONDITIONS D'ESSAI POUR LES DÉTECTEURS CLHP (Obligatoire)

B.1 Cette Annexe donne le détail des essais pour les détecteurs mentionnés en 4.4.

B.2 Détecteur spectrophotométrique UV/visible et détecteur à fluorescence

B.2.1 Il convient que le débit nominal de la phase mobile pour un certain diamètre interne (D.I.) d'une colonne soit:

D.I. (mm)	Débit (mL/min)
4,6	1,0
3,9	0,7
2,0	0,2

Note: Dans le cas d'autres D.I., utiliser un débit égal à $(D.I.)^2/21,2$ mL/min.

B.2.2 Il convient que le temps de rétention du composant d'essai pour une certaine longueur de la colonne soit:

Longueur de colonne (cm)	Étendue du temps de rétention (min)
30	10,6 - 14,0
25	8,8 - 11,7
20	7,0 - 9,3
15	5,3 - 7,0
10	3,5 - 4,7
7,5	2,7 - 3,5
6	2,1 - 2,8

Note: Le temps de rétention rend compte des conditions qui donneraient un facteur de capacité d'une valeur allant de 2 à 3 (voir 2.14). Le temps d'attente t_m est approximativement 0,7 fois le volume de la colonne (c'est-à-dire: la longueur multipliée par π multiplié par le rayon au carré). Cela reflète la pratique courante pour la mesure de ces paramètres.

B.3 Dérivation de l'équation pour la largeur du pic d'émission

B.3.1 La performance du détecteur en ce qui concerne la largeur du pic d'émission dépend principalement des variables suivantes: temps de rétention (t_r), longueur de la colonne (L) et diamètre (d_p) des particules de remplissage de la colonne. De plus, l'importance du débit doit être considérée en spécifiant le débit pour le diamètre interne nominal de la colonne choisie. (Voir B.2.1).

B.3.2 Considérer les équations de base suivantes:

$$N = \left[\frac{t_r}{\sigma_t} \right]^2 ; H = \frac{L}{N} ; h = \frac{H}{d_p}$$

où

N et H = mesures de l'efficacité de la colonne dans le procédé de séparation des composants d'un échantillon (c'est-à-dire: étroitesse des pics)

h = hauteur réduite de la plaque

σ_t = écart-type du pic

B.3.3 Si on utilise les équations données en B.3.2, on en déduit l'équation suivante pour l'écart-type du pic:

$$\sigma_t = \left[h \times d_p \times \frac{t_r^2}{L} \right]^{1/2}$$

B.3.4 Si on considère que la largeur du pic à mi-hauteur peut être calculée approximativement en multipliant l'écart-type du pic par 2, on obtient alors:

$$\text{Largeur du pic à mi-hauteur} \approx 2 \left[h \times d_p \times \frac{t_r^2}{L} \right]^{1/2}$$

3.5 Il convient que les colonnes commercialisées aient une hauteur de plaque réduite (h), égale ou inférieure à 5; c'est-à-dire que plus h se rapproche de l'unité, meilleure est la performance de la colonne. L'équation en B.3.4 devient donc:

$$\text{Largeur du pic à mi-hauteur} \leq 2 \left[5 \times d_p \times \frac{t_r^2}{L} \right]^{1/2} \times 0,01 \text{ min}$$

où L est exprimé en cm et d_p en μm .

Note: Pour plus de détails concernant cette équation, voir référence [11].

B.3.6 En utilisant la formule en B.3.5, il convient que la moyenne d'au moins trois mesurages répétés de la largeur maximale du pic d'émission à mi-hauteur pour le composant d'essai dans le cas de diamètres différents de particules de remplissage ainsi que dans celui de longueurs différentes d'une colonne, ait une des valeurs suivantes:

long. de colonne (cm)	t_r (min)	3 μm (min)	5 μm (min)	10 μm (min)
30	12,3	0,17	0,22	0,32
25	10,2	0,16	0,20	0,29
20	8,2	0,14	0,18	0,26
15	6,2	0,12	0,16	0,22
10	4,1	0,10	0,13	0,18
7,5	3,1	0,09	0,11	0,16
6	2,5	0,08	0,10	0,14

Note: Le temps de rétention indiqué (t_r) est la valeur moyenne de l'étendue évaluée du temps de rétention.

B.4 Détecteur électrochimique

B.4.1 Pour la phase mobile, utiliser une solution tampon décinormale (0,1 N) d'acétate (pH = 4,9 \pm 0,1) avec 15 % en volume de méthanol dans l'eau.

Note: Préparer la solution tampon, ajuster le pH et ensuite ajouter du méthanol pour porter la composition en volume à 15 % de méthanol. La solution tampon sert d'électrolyte de base.

B.4.2 Pour une électrode de mesure, utiliser du carbone vitreux ou du graphite poreux.

B.4.3 Comme potentiel de l'électrode de mesure, utiliser pour l'oxydation + 0,7 V par rapport à une électrode de référence en Ag/AgCl ou + 0,5 V par rapport à une électrode de référence en Palladium, et utiliser pour la réduction - 0,2 V par rapport à une électrode de référence en Ag/AgCl ou - 0,4 V par rapport à une électrode de référence en Palladium.

Note: Le potentiel d'oxydation permet l'oxydation de l'hydroquinone en quinone et le potentiel de réduction permet la réduction de la quinone en hydroquinone.

B.4.4 Il convient que le débit nominal pour un diamètre interne (D.I.) donné d'une colonne soit:

D.I. (mm)	Débit (mL/min)
4,6	2,0
3,9	1,4
2,0	0,4

Note: Dans le cas d'autres D.I., utiliser un débit égal à $(D.I.)^2/10,6$ mL/min

B.4.5 Il convient que l'étendue du temps de rétention pour une longueur donnée de colonne soit:

Long. de colonne (cm)	Étendue du temps de rétention (min)
30	6,6 - 8,7
25	5,5 - 7,2
20	4,4 - 5,8
15	3,3 - 4,4
10	2,2 - 2,9
7,5	1,6 - 2,2
6	1,3 - 1,7

B.4.6 Il convient que la moyenne d'au moins trois mesurages successifs de la largeur maximale du pic d'émission à mi-hauteur pour les différents diamètres des particules de remplissage et pour les différentes longueurs de colonne soit semblable aux valeurs données dans le Tableau en B.3.6 une fois que les valeurs données ont été multipliées par un facteur deux.

ANNEXE C
ESSAI DE PERFORMANCE POUR UN SYSTEME CLHP
(Obligatoire)

C.1 Cet essai fournit un contrôle global de performance d'un système CLHP dans son ensemble. De plus, les résultats de l'essai doivent être compatibles avec les exigences énoncées à l'article 4 de la présente Recommandation et peuvent donc fournir un essai du détecteur utilisé.

Note: Les résultats de cet essai peuvent ne pas permettre de prévoir de façon fiable l'aptitude d'un instrument à détecter des composants d'échantillon nécessaires pour une méthode d'analyse spécifique. Dans certains cas, il convient d'utiliser avec cette procédure un composant d'essai spécifique à la méthode d'analyse, pour l'essai de routine ou comme procédé d'étalonnage d'un instrument (voir 7.3.2).

C.2 Cet essai s'applique à l'utilisation d'un système CLHP à phase inverse et un détecteur spectrophotométrique UV/visible et/ou un détecteur à fluorescence et est recommandé dans le cas d'un essai global avec un composant d'essai d'anthracène dans une solution de méthanol/eau.

C.3 Préparer une solution concentrée d'anthracène dans du méthanol à une concentration de 1,5 mg/mL pour vérifier le détecteur spectrophotométrique UV/visible et celui à fluorescence, respectivement. Ces valeurs sont obtenues à partir du produit de la limite de détection par l'étendue linéaire. Si un détecteur électrochimique doit être essayé, il convient alors que les facteurs de concentration et de dilution pour le composant d'essai, qu'il s'agisse d'hydroquinone ou de quinone, soient les mêmes que ceux exigés pour le détecteur spectrophotométrique UV/visible.

Note: L'anthracène peut éventuellement présenter des dangers pour la santé. Les personnes qui effectuent cet essai doivent donc être informées de ce risque au moyen d'une fiche de sécurité et doivent recevoir une formation quant aux mesures de sécurité utilisées dans les laboratoires.

C.4 Préparer trois solutions de référence supplémentaires de 60 % de méthanol et 40 % d'eau par dilution en série de la solution concentrée par facteurs de 0,1; 0,05; et 0,01 pour le détecteur spectrophotométrique UV/visible et de 0,01; 0,0066; et 0,0033 pour le détecteur à fluorescence, ou par des facteurs tels que la concentration minimale ne soit pas supérieure à 100 fois celle correspondant à la limite de détection du détecteur mis à l'essai.

Note: On peut utiliser de l'eau et de l'acétonitrile.

C.5 Régler au débit approprié pour le diamètre de la colonne tel que fixé en B.2.1. Ajuster la composition de la phase mobile et/ou la température de la colonne afin de satisfaire aux exigences sur le temps de rétention données en B.2.2 pour la longueur de colonne appropriée. Observer les exigences concernant la température données en 4.3 et 4.4.2. Mesurer la largeur du pic à mi-hauteur. Si la largeur du pic à mi-hauteur ne satisfait pas à l'exigence de 4.4.3 ou 4.4.4, remplacer la colonne avant de continuer l'essai. (Voir aussi B.3.6 et E.3.3.)

C.6 Injecter alternativement 20 µL de chaque solution de référence diluée de C.4. Mesurer au moins quatre fois l'absorbance de chaque solution de référence spécifique. Mesurer aussi le niveau de bruit.

C.7 Relever les temps de rétention, les aires de pic, les hauteurs de pic, les niveaux de bruit et les largeurs de pic à mi-hauteur. Calculer le rapport signal-bruit en divisant la hauteur du pic par le niveau de bruit. Calculer l'écart-type relatif pour les aires de pic et les temps de rétention.

C.8 L'écart-type relatif des temps de rétention pour chaque échantillon dilué doit être inférieur à 3 % et il convient que l'écart-type relatif correspondant aux aires de pic ou hauteurs de pic des signaux d'émission soit inférieur à 5 %. Les largeurs de pic à mi-hauteur maximales mesurées doivent satisfaire aux exigences spécifiées en 4.4.3 ou 4.4.4.

C.9 Etablir à partir d'un tracé linéaire la moyenne de l'aire de pic ou de la hauteur de pic obtenue en C.7 en fonction de la quantité en nanogrammes du composant d'essai injectée. Calculer la pente de la courbe s'accordant aux données d'une courbe linéaire selon la méthode des moindres carrés. Tracer une ligne sur ce graphique équivalente à trois fois le niveau de bruit obtenu en C.7. La limite de détection correspond à l'intersection de ces deux lignes et doit satisfaire aux exigences de 4.4. Le résultat de la concordance de la courbe linéaire aux moindres carrés avec les données de quatre mesurages pour chacune des trois concentrations doit avoir un coefficient de corrélation (r^2) de 0,98 ou meilleur.

Note: Le coefficient de corrélation (r^2) peut être calculé à partir de la pente (s) et de l'écart-type de la concentration (σ_x) et du pic d'émission du détecteur (σ_y) comme suit:

$$r^2 = \left(s \times \frac{\sigma_x}{\sigma_y} \right)^2$$

où:

$$s = \frac{\sum x_i^2 \sum y_i - \sum x_i \sum (x_i y_i)}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}$$

$$\sigma_x = \left[\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$$

$$\sigma_y = \left[\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$$

\bar{x} et \bar{y} = valeurs moyennes

n = nombre de données

C.10 On obtient un mesurage direct de la limite de détection en injectant 20 μL d'une solution concentrée diluée par un facteur de 10^{-4} pour un détecteur spectrophotométrique UV/visible, et de $0,33 \times 10^{-4}$ pour un détecteur à fluorescence.

C.11 Répéter encore quatre fois l'injection de 20 μL de solution concentrée d'anthracène. Le rapport entre la valeur moyenne de ces résultats et la limite de détection représente l'étendue linéaire et doit satisfaire aux exigences de 4.4 à ± 5 %.

C.12 La sensibilité de l'instrument est définie par la pente de la courbe obtenue en C.9, ou peut être calculée par l'équation en 2.12.

ANNEXE D

FORMAT DU RAPPORT D'ESSAI

Note: La présente Annexe a un caractère informatif en ce qui concerne la mise en application de la présente Recommandation dans les réglementations nationales; cependant, l'utilisation du format de rapport d'essai est obligatoire pour l'application de cette Recommandation dans le cadre du Système de Certificats OIML.

Un rapport d'essai, destiné à servir entre autres dans le cadre du Système de Certificats OIML doit inclure les renseignements suivants.

D.1 Nom et adresse du(des) laboratoire(s) réalisant l'essai

D.2 Référence à la présente Recommandation (numéro et année d'édition)

D.3 Identification unique du modèle auquel se réfère ce rapport (par exemple: noms courants déposés, modèle, brève description comprenant dessins, diagrammes et inscriptions)

D.4 Nom(s) et adresse(s) du constructeur et du demandeur si différent du constructeur

D.5 Identification de l'(des) exemplaire(s) de l'instrument testé(s):

- modèle et numéro de série:
- date de fabrication
- exigences sur tension:
fréquence:
courant:

D.6 Date du début de mise à l'essai:

D.7 Lieu où les essais ont été réalisés, si différent de l'adresse donnée en D.1:

D.8 Résultat de l'examen du manuel d'utilisation:

correct:

lacunes:

commentaires:

D.9 Résumé des résultats des essais réalisés conformément à 7.1.5 et aux conditions spécifiées dans la présente Recommandation

D.9.1 Conditions et configuration

- Température ambiante: et humidité:
- Phase mobile:

- Colonne:
 - diamètre des particules:
 - longueur:
 - diamètre interne:
 - phase stationnaire:
 - support solide:
- Composition de la phase mobile obtenue:
 - prémélange: _____ ou _____
 - mélange du solvant par l'instrument:
- Phase mobile: _____ % par volume H₂O %:
_____ % par volume
- Débit: _____ et pression dans le système: _____
- Type de détecteur(s) utilisé(s):
 - UV/visible: _____
 - à fluorescence: _____
 - électrochimique: _____
- Contrôle de la température: oui: _____ ; non: _____
- Température du détecteur: _____ ± _____
- Description des principales caractéristiques du système de traitement des données et réglages de contrôle:

Commentaires:

D.9.2 Inspection visuelle

- Contrôle de la pression: oui: _____ non: _____
 - Commutateur de limitation de la pression: oui: _____ non: _____
 - Colonne de sécurité ou filtre (dimension de la maille _____) après la pompe
 - Système de tuyauterie sans fuites: oui: _____ non: _____
- Note: S'il y a une fuite dans le système, arrêter immédiatement l'essai jusqu'à ce que toutes les fuites soient éliminées.

Commentaires:

D.9.3 Résultats de l'essai

Type de détecteur	Limite de détection	Etendue linéaire	Sensibilité
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____
_____	_____	_____	_____

Note: Il convient que le tableau ci-dessus soit complété pour chacun des détecteurs mis à l'essai.

- Joindre les résultats graphiques servant à établir la limite de détection et la sensibilité conformément à C.9.

Commentaires:

D.10 Bref exposé des conclusions indiquant si l'(les) exemplaire(s) d'instrument testé(s) a (ont) satisfait aux exigences de la présente Recommandation.

D.12 Signature du (des) responsable(s), la date de signature et un numéro unique identifiant le rapport.

ANNEXE E

PROCÉDURE DE VÉRIFICATION
DE LA DISPONIBILITÉ OPÉRATIONNELLE
D'UN SYSTÈME CLHP

E.1 Cet essai fournit une procédure pour le conditionnement et la vérification d'un système CLHP avant d'effectuer une analyse (voir aussi la référence [7]).

E.2 Le but de cette procédure est de fournir un contrôle de routine du système CLHP dans son ensemble.

E.3 Procédure de mise en route

E.3.1 Mettre sous tension tous les modules du système CLHP, la (les) pompe(s), le (les) détecteur(s), le four de la colonne et l'appareil enregistreur ou intégrateur.

Note: Il convient aussi de régler l'heure et la date sur les systèmes pilotés par micro-processeurs.

E.3.2 Remplir tous les réservoirs de solvant avec les solvants de phase mobile dégazés appropriés.

E.3.3 Donner une chasse à tous les tuyaux et les dégazer avant de pomper la phase mobile à travers la colonne à un débit de 1 mL/min.

E.4 Procédure de contrôle

E.4.1 Mesurer la stabilité du débit en recueillant en sortie de colonne la phase mobile dans un verre à pied gradué pendant au moins trois périodes successives de dix minutes (voir 4.1.2).

E.4.2 Vérifier la pression du système et les fluctuations de pression du système de distribution de solvant une fois que la colonne a été conditionnée avec la phase mobile. Il convient que les fluctuations de pression soient inférieures à $\pm 0,2$ MPa pour une pression en tête de colonne de 10 MPa.

E.4.3 Vérifier tous les tuyaux en cas de fuites du solvant.

E.4.4 Vérifier la stabilité du détecteur en observant l'affichage numérique ou la réponse de l'appareil enregistreur et/ou intégrateur.

Note: Il convient que cette stabilité soit égale à ± 1 % de l'amortissement maximal à pleine échelle.

E.4.5 S'assurer que tous les éléments contrôlés en température ont atteint les points repères nominaux de l'instrument.

E.5 Conclusion

Si toutes les conditions en E.4 sont acceptables, on peut alors considérer le système CLHP comme prêt à effectuer les mesures.

