

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на Хромато-масс-спектрометр жидкостный G6470B Triple Quadrupole LC/MS System (далее – хромато-масс-спектрометр) зав.№ SG2137G213 и устанавливает методику его первичной и периодических проверок.

Интервал между поверками 1 год.

Используемые средства поверки обеспечивают прослеживаемость хромато-масс-спектрометра к ГПЭ единицы массы (килограмма) ГЭТ 3-2020, что обеспечивается посредством использования поверенных средств измерений: весов и мерных колб через неразрывную цепь поверок в соответствии с ГПС для СИ массы, утвержденной приказом Росстандарта № 2818 от 29.12.2018 г. и ГПС для СИ массы и объема жидкости в потоке, объема жидкости и вместимости при статических измерениях, массового и объемного расхода жидкости, утвержденной приказом Росстандарта № 256 от 07.02.2018 г. Применяемый ГСО прослеживается также к ГПЭ единиц спектральных коэффициентов направленного пропускания, диффузного и зеркального отражений в диапазоне длин волн от 0,2 до 20,0 мкм- ГЭТ 156-2015.

Метод поверки основан на ГОСТ Р 8.772-2011 и включает применение средств измерений и стандартных образцов утвержденных типов, приготовление контрольных растворов с известной концентрацией, чувствительности (отношения сигнал/шум); определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала. Рассчитанные на основании полученных данных метрологические характеристики сравниваются с нормированными в Описании типа. В случае их соответствия средство измерений признается поверенным.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в табл. 1

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методики	При первичной поверке	При периодической поверке
Внешний осмотр	7	Да	Да
Опробование:	8.4	Да	Да
- проверка идентификационных данных программного обеспечения	9	Да	Да
Определение метрологических характеристик:	10	Да	Да
– Определение чувствительности (отношения сигнал/шум)	10.1-10.3	Да	Да
– Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика) при вводе пробы через хроматограф.	10.4	Да	Да
- Подтверждение соответствия метрологическим требованиям	11	Да	Да

Возможность проведения поверки отдельных измерительных каналов для меньшего числа величин или на меньшем числе поддиапазонов измерений для данных СИ не предусматривается.

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С от 15 до 25
- атмосферное давление, кПа от 84 до 106,0
- относительная влажность воздуха, % от 20 до 80

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица, владеющие методом анализа, знающие принцип действия, конструкцию и правила эксплуатации хроматографов.

Для получения данных допускается участие операторов, обслуживающих хромато-масс-спектрометр (под контролем поверителя).

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

5.1 При проведении поверки применяют основные и вспомогательные средства поверки, указанные в таблице 2.

Таблица 2

№ п/п	Основные и вспомогательные средства поверки	Метрологические и технические требования
1	лабораторные весы класса точности 1 - специальный.	ГОСТ OIML R 76-1-2011, с верхним пределом взвешивания 200 г
2	Колбы мерные вместимостью 100 мл, 2-го класса точности с притертой пробкой	ГОСТ 1770-74
3	Стаканы В-1-50ТС	ГОСТ 25336-82
4	Пипетки градуированные 1-1-1-1, 1-2-1-10	ГОСТ 29227-91
5	СО состава левомецетина ГСО № 10165-2012	с аттестованным значением массовой доли
6	вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72 или Бейкер для ВЭЖХ
7	метанол для ВЭЖХ	ТУ 20.14.22-003-62112778-2020 Метанол химически чистый, сухой и особо чистый для газовой хроматографии, жидкостной хроматографии, УФ-спектроскопии, препаративной и градиентной ВЭЖХ
8	Хроматографическая колонка	Zorbax SB-C18 2.1мм/50мм/ 1,8 микрон
9	Магнитная мешалка	-

Допускается применение аналогичных средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых СИ с требуемой точностью.

Металлические нетоковедущие части, которые могут вследствие повреждения изоляции оказаться под электрическим напряжением опасной величины, должны быть заземлены по ГОСТ 12.2.007.0-75.

Подаваемое напряжение питания должно соответствовать указанному на заводской бирке прибора. Аварийный выключатель напряжения питания должен быть четко обозначен и расположен вблизи прибора.

Эксплуатация оборудования, имеющего повреждения, не допускается.

Устранение любых неисправностей должно выполняться только специально обученным персоналом соответствующей квалификации.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности хромато-масс-спектрометра, приведенной в Описании типа;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

8.1 Проводят кондиционирование хроматографической колонки.

8.2 Готовят контрольные растворы. Процедура приготовления контрольных растворов приведена в приложении 1.

8.3 Опробование

Хромато-масс-спектрометр готовят к работе в соответствии с разделом 1 руководства по эксплуатации.

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

При запуске хромато-масс-спектрометра на мониторе отображается название ПО и номер версии – рисунок 1.

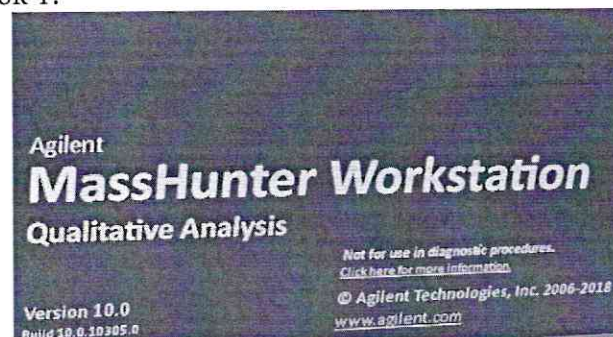


Рисунок 1- Всплывающее изображение ПО при запуске программы

Для вычисления контрольной суммы выделяют значок подпрограммы **Data Acquisition** на рабочем столе и правой кнопкой мыши выбирают вкладку свойства (**Properties**). В свойствах выбирают вкладку **Shortcut**. Из строчки **target** вкладки копируют путь к исполняемому файлу – рисунок 2.

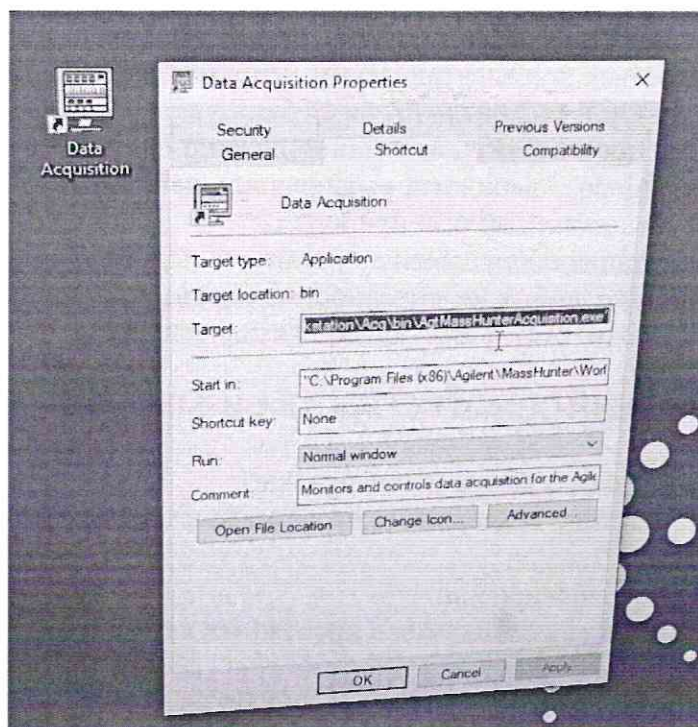


Рисунок 2 – Копирование пути к подпрограмме Data Acquisition

Через кнопку **Пуск** находят папку **Windows Power Shell** и запускают из нее программу **Windows Power Shell ISE** – рисунок 3.

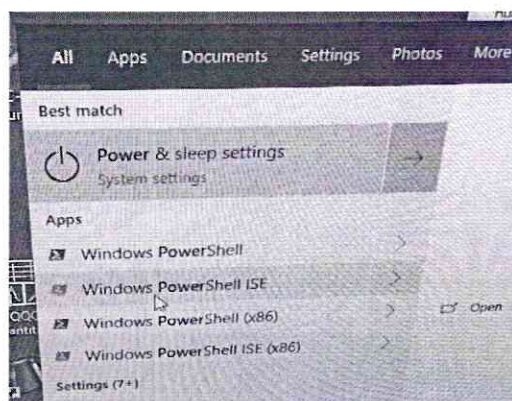


Рисунок 3 – Запуск программы Windows Power Shell ISE

После запуска программы Windows Power Shell ISE во вкладке **Commands** в меню команд кликают строку **Get-FileHash** – рисунок 4.

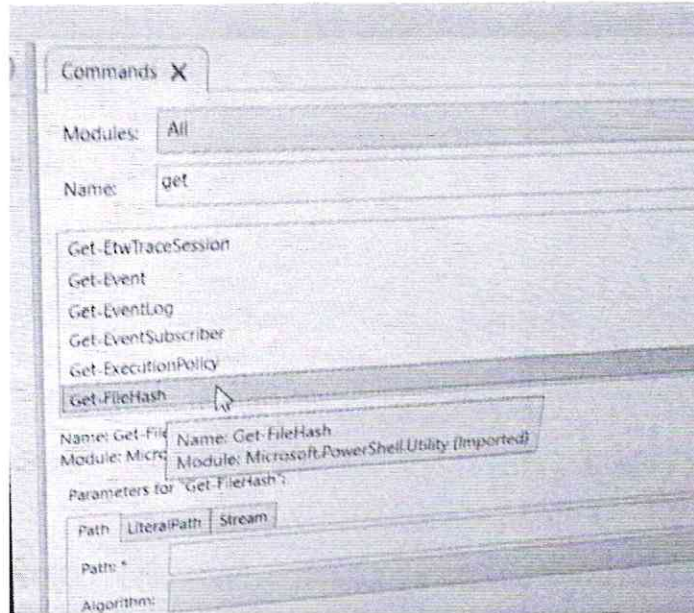


Рисунок 4 – выбор команды из меню программы Windows Power Shell ISE

В открывшемся окне вставляют в строчку **LiteralPath** скопированный ранее путь к файлу – рисунок 5.

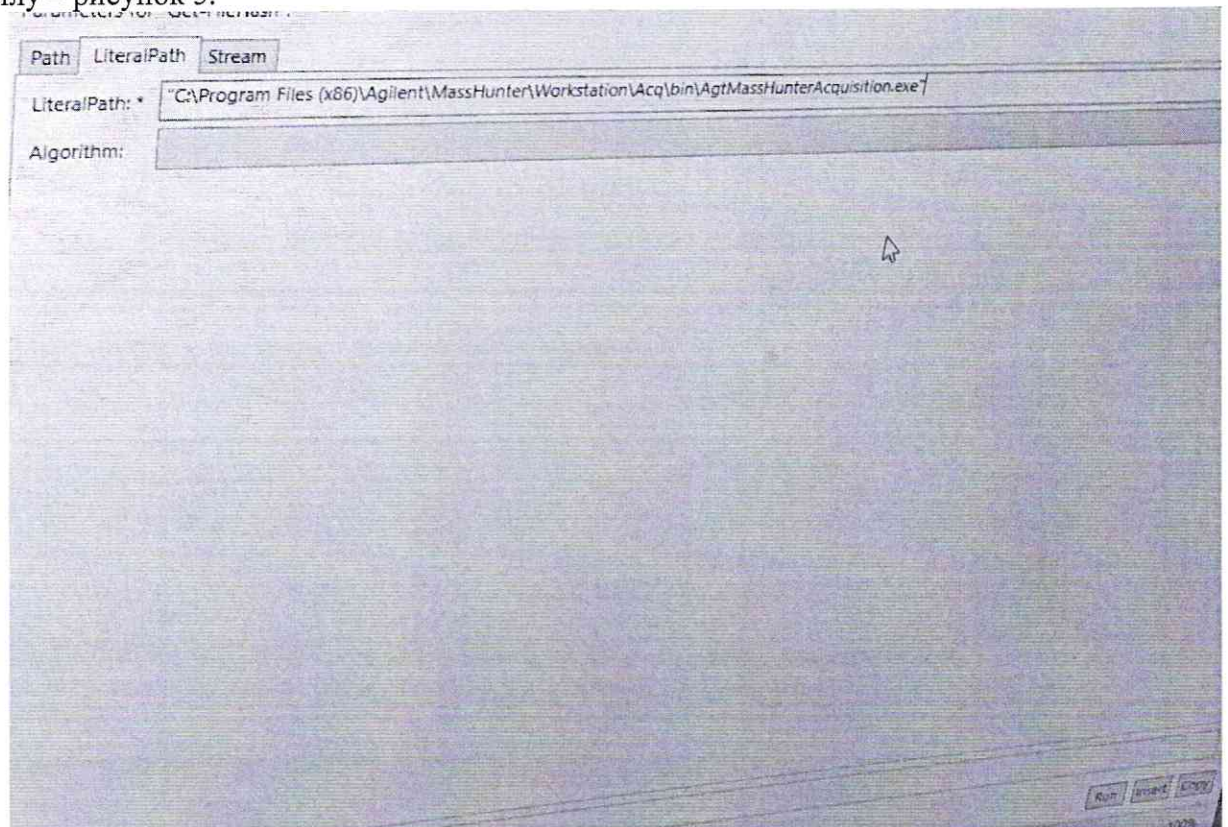


Рисунок 5 – вставка скопированного пути к программе Data Acquisition в строчку **LiteralPath**

Выбирают **Algorithm – SHA256** и нажимают в правом углу кнопку **Run**. В левом окне появляется контрольная сумма – рисунок 6.

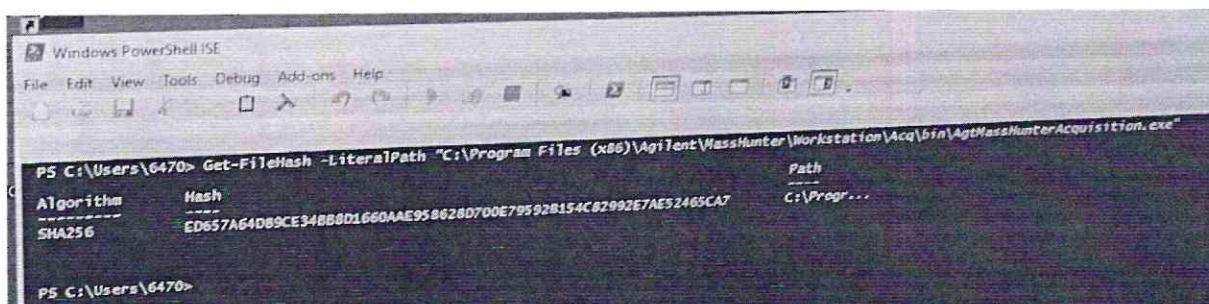


Рисунок 6 – вычисленная программой Windows Power Shell ISE контрольная сумма метрологически значимой подпрограммы Data Acquisition

10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДСТВ ИЗМЕРЕНИЙ

10.1 Определение чувствительности (отношения сигнал/шум).

Измерения проводят после выхода хромато-масс-спектрометра на режим. Условия выполнения измерений должны соответствовать приведенным в таблицах 3-4.

Таблица 3 – Условия измерений

Разрешение второго квадруполь (MS2 Resolution)	Единичное (Unit)
Полярность источника ионизации (Polarity)	Отрицательная (Negative)
Родительский ион (Precursor ion)	321,2 m/z
Дочерний ион (Product ion)	152,0 m/z
Напряжение на фрагменторе (Fragmentor Voltage)	130 В
Время задержки (Dwell time)	200 мс
Энергия ячейки соударения (Collision Cell Energy)	16 В
Напряжения ускорения ячейки соударения (Collision Cell Accelerator Voltage)	3 В

Таблица 4 – Программа градиента в отрицательной области

Время, мин	A, % (Вода)	B, % (Метанол)	Поток, мл/мин
0	90	10	0,5
0,1	90	10	0,5
1	2	98	0,5
3	2	98	0,5
3,01	90	10	0,5

10.2 В хроматограф, подключенный к масс-спектрометру, вводят пробу контрольного раствора. Находят отношения сигнал/шум (S/N) левомицетина для перехода m/z 322,9 > 275,1.

10.3 Значения отношения сигнал/шум рассчитывают с помощью программного обеспечения MassHunter:

- Open Data Files (загружают требуемые сигналы);
- Smoth-Quadratic/Cubic Savitzky-Golay-11 points (сглаживают загруженные сигналы);
- Integrate (MS/MS) (интегрируют загруженный сигнал);
- Calculate signal-to-Noise-Height-RMSx1-Auto RMS 1.000min/0.1min (рассчитывают отношение сигнал/шум)

- Configuration-Chromatogram Display Option-Peak labels Retention Time/Area (выводят данные о времени удерживания и площади пика на экран);
- Вносят полученные данные в файл Excel.

10.4 Определяют относительное СКО выходного сигнала по контрольному раствору с массовой концентрацией 0,5 мг/мл левомецетина в 30 % метаноле.

Условия анализа приведены в таблице 3.

Контрольный раствор вводят в хромато-масс-спектрометр не менее 10 раз, измеряют значения выходных сигналов (времен удерживания и площадей пиков).

Обработку результатов проводят по п. 10.3.

Недостовверные результаты измерений, оцениваемые как выбросы согласно ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 п. 3.21 и ГОСТ Р 8.736-2011, отбраковывают и не учитывают в расчетах.

Вычисляют среднее арифметическое значение выходных сигналов по формуле (1):

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

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

11 ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

Хромато-масс-спектрометр считается прошедшим поверку, если выполняются условия, изложенные в пунктах 11.1-11.3.

11.1 Результаты проверки ПО соответствуют приведенным в таблице 5.

Таблица 5 – Идентификационные данные ПО

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Наименования программного обеспечения	Data Acquisition
Идентификационное наименование ПО	Data Acquisition
Номер версии (идентификационный номер) ПО	10.1
Цифровой идентификатор ПО	ED657A64D89CE34BB8D1660AAE9586 28D70079592B154C82992E7AE52465CA7
Алгоритм вычисления цифрового идентификатора ПО	SHA256

11.2 Отношение сигнал/шум не менее 7000.

11.3 Значения относительного СКО выходного сигнала не превышает 10,0 % по площади пика и 1,0 % по времени удерживания.

12 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

12.1 Положительные результаты поверки хромато-масс-спектрометра оформляют в соответствии с приказом Минпромторга РФ № 2510 от 20.11.2020 г.

12.2 Хромато-масс-спектрометр, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, к эксплуатации не допускается. Сведения о результатах поверки передаются в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. По заявке Заказчика допускается выдача извещения о непригодности с указанием причин непригодности.

12.4 После ремонта хромато-масс-спектрометр подвергают поверке.

Начальник лаборатории



Е.В. Кулябина

Ведущий инженер



О.Н. Мелкова

Приложение 1

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления контрольных растворов левомицетина.

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

- 1.1 СО состава левомицетина ГСО № 10165-2012.
- 1.2 Метанол «хч» по ТУ 25-11-1316-76.
- 1.3 Весы лабораторные по ГОСТ Р 53228-2008, класс точности – I.
- 1.4 Пипетки градуированные вместимостью 1–1–1–1, 1-2-1-10 по ГОСТ 29227-91.
- 1.6 Колбы мерные вместимостью 100 мл, 2-го класса точности с притертой пробкой по ГОСТ 1770-74.
- 1.7 стакан мерный вместимостью 50 мл по ГОСТ 25336-82.
- 1.8 Вода деионизированная, ГОСТ 25661-83.
- 1.9 Магнитная мешалка

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление исходного раствора левомицетина с массовой концентрацией 50 мг/дм³ (50 мг/л) в 30 % метаноле

Взвешивают в стакане 5,0 мг левомицетина. Навеску количественно переносят в колбу мерную вместимостью 100 мл, доводят до метки 30 % раствором метанола, перемешивают до полного растворения.

2.2 Приготовление раствора левомицетина с массовой концентрацией 0,5 мг/л

Из колбы с раствором (п.2.1) отбирают пипеткой 1–1–1–1 1 см³ (1 мл) исходного раствора в колбу мерную вместимостью 100 мл, доводят до метки 30 % раствором метанола, перемешивают.

2.3 Приготовление раствора левомицетина с массовой концентрацией 5 мкг/л

Из колбы с раствором (п.2.2) отбирают пипеткой 1–1–1–1 1 см³ (1 мл) раствора в колбу мерную вместимостью 100 мл, доводят до метки 30 % раствором метанола, перемешивают.

2.4 Приготовление раствора левомицетина с массовой концентрацией 0,5 пг/мм³ (0,5 мкг/л)

Из колбы с раствором (п.2.3) отбирают пипеткой 1–2–1–10 10 см³ (10 мл) раствора в колбу мерную вместимостью 100 мл, доводят до метки 30 % раствором метанола, перемешивают.

Погрешность приготовления контрольного раствора ± 5 %.

Срок хранения раствора в холодильнике составляет не более 7 дней.

