

УТВЕРЖДАЮ



**Заместитель директора
по производственной метрологии
ФЕУП "ВНИИМС"**

Н.В Иванникова

8 декабря

2018 г.

**Хромато-масс-спектрометры жидкостные
LCMS-8045**

Методика поверки

МП 205-15-2018

**г. Москва
2018 г.**

Настоящая методика распространяется на хромато-масс-спектрометры жидкостные LCMS-8045 фирмы "SHIMADZU CORPORATION", Япония, фирмы "SHIMADZU U.S.A. MANUFACTURING, INC.", США, фирмы "SHIMADZU SUZHOU INSTRUMENTS MGF.CO.LTD", Китай (далее – хрома-масс-спектрометры) и устанавливает методику их первичной и периодической поверок.

Допускается проводить:

- первичную поверку хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-8045 с детекторами, входящими в комплект хроматографа, в соответствии с заказом;
- периодическую поверку хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-8045 на основании письменного заявления владельца с детектором (-ами), с которым (-и) хроматограф эксплуатируется;
- применять для поверки масс-спектрометрического детектора контрольные растворы левомицетина или резерпина (по выбору).

1 ОПЕРАЦИИ ПОВЕРКИ

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

Таблица 1

Наименование операции	Номер пункта методики	Обязательность проведения операции при	
		выпуске из производства и из ремонта	периодической поверке
Внешний осмотр	4.1		
Опробование:	4.2		
- определение чувствительности (отношения сигнал/шум) масс-спектрометрического детектора	4.2.1	Да	Да ¹⁾
- определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала спектрофотометрических детекторов SPD-20A/SPD-20AV и детекторов на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A	4.2.2	Да	Да ¹⁾
- определение предела детектирования спектрофотометрических детекторов SPD-20A/SPD-20AV и детекторов на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A	4.2.3	Да	Да ¹⁾
Определение метрологических характеристик:	4.3		
- определение относительного среднего квадратического отклонения (ОСКО) выходного сигнала	4.3.1	Да	Да ¹⁾
- определение показателей точности результатов измерений	4.3.2	Нет	Да ²⁾

¹⁾ При отсутствии НД на методики измерений (МИ), утвержденных в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563

²⁾ При наличии НД на МИ.

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

При проведении поверки применяют следующие средства:

- 2.1 ГСО 10165-2012 состава левомицетина.
- 2.2 Резерпин, ФС № 423267-96 или резерпин с содержанием основного вещества не менее 99,0, CAS 50-55-5.
- 2.3 Кофеин, ФС 42-0248-07 или кофеин с содержанием основного вещества не менее 98%.
- 2.4 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, ТУ 6-09-14-2167-84.
- 2.5 Вода для лабораторного анализа (бидистиллированная), ГОСТ Р 52501-2005.

2.6 Азот газообразный очищенный, ГОСТ 9293-74, высший сорт.

2.7 Аргон, ГОСТ 10157-2016.

2.8 Колонка для высокоэффективной жидкостной хроматографии, применяемая для варианта обращенно-фазовой ВЭЖХ, например, например, Shim-pack VP-ODS (150 x 2,0 мм, средний размер частиц 5 мкм) или Shim-pack XR-ODSII (50 x 2,0 мм).

2.9. Колонка для высокоэффективной жидкостной хроматографии Kinetex 1,3 мкм C18 100A (50 x 2,1 мм).

2.10 Термометр типа ТЛ-4 № 2, ГОСТ 215-73.

2.11 Психрометр типа ПГ-1БМ, ГОСТ 6353-85.

2.12 Барометр-анероид БАММ-1, ТУ 25-04-1618-72.

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

3 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

– температура окружающей среды, °С	от +18 до +28
– относительная влажность (без конденсации), %	от 40 до 70
– атмосферное давление, кПа	от 84 до 106
– напряжение переменного тока, В	220 ⁻²² ₊₃₃
– частота переменного тока, Гц	50 ± 1

3.2 Подготовительные работы выполняют в соответствии с руководством по эксплуатации хромато-масс-спектрометра.

3.3 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы (методика приготовления контрольных растворов приведена в приложении А).

4 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

4.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности хромато-масс-спектрометра требованиям технической документации;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей;
- отсутствие внешних повреждений, влияющих на работоспособность хромато-масс-спектрометров.

4.2 Опробование

При опробовании определяют отношение сигнал/шум масс-спектрометрического детектора; уровень флуктуационных шумов и дрейф нулевого сигнала, предел детектирования спектрофотометрических SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A детекторов.

4.2.1 Определение отношения сигнал/шум хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-8045 при дозировании контрольного раствора резерпина в ацетонитриле или контрольного раствора левомецетина в воде в масс-спектрометр без хроматографической колонки при условиях, указанных в таблице 2.

Таблица 2

Режим	Электроспрей, MRM, положительная ионизация,	
	Изократический	Изократический
Контрольный раствор	Резерпин в ацетонитриле	Левомецетин в воде

Режим	Электроспрей, MRM, положительная ионизация,	
Массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм ³	0,001	0,1
Объем пробы контрольного раствора, мкл	5	1
Элюент	Вода +0,01% муравьиная кислота/ацетонитрил с объемным соотношением 30/70	Вода/ацетонитрил с объемным соотношением 30/70
Скорость потока элюента, см ³ /мин	0,6	0,2
Температура термостата колонки, °С	50	40
Переход m/z, а.е.м	609,2>195,1	322,9>275,1
Температура DL, °С	125	250
Температура интерфейса, °С	300	350
Температура блока нагревателя, °С	400	350
Расход газа-распылителя, дм ³ /мин	3	3
Расход осушающего газа, дм ³ /мин	3	4
Расход нагревающего газа	17	12
Тип сканирования	MRM	
Хроматографическая колонка (длина x внутренний диаметр)*	Shim-pack XR-ODSII (50 мм x 2,0 мм)	
Примечание - *применяют при определении СКО.		

В хромато-масс-спектрометр вводят пробу контрольного вещества. Находят значение отношения сигнал/шум (S/N) левомецетина для перехода m/z 322,9 > 275,1 или резерпина для перехода m/z 609,2 > 195,1. Значения отношения сигнал/шум рассчитывают с помощью программного обеспечения "LabSolutions LCMS".

Пробу вводят через капилляр (материал PEEK) длиной (30 – 50) см и внутренним диаметром 0,13 мм, подключенный от автодозатора SIL или ручного инжектора непосредственно к масс-спектрометру. Находят значение отношения сигнал/шум (S/N) для пика со значением m/z 609,2>195,1, используя программное обеспечение LabSolutions LCMS.

Полученные значения отношения сигнал шум должны быть не менее:

- 3000:1 при дозировании контрольного раствора резерпина;
- 1000:1 при дозировании контрольного раствора левомецетина.

4.2.2*) Определение отношения сигнал/шум хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-8045 при дозировании контрольного раствора резерпина в ацетонитриле или контрольного раствора левомецетина в воде на хроматографическую колонку хромато-масс-спектрометра при условиях, указанных в таблице 3.

Таблица 3

Режим	Электроспрей, MRM, положительная ионизация,	
Режим	Градиент 0 мин–20% В 0,01 мин –20% В 0,5 мин –90% В 1,00 мин – 90%В 1,05 мин –100%В 2,00 мин -100%В 10,00 мин –20% В 20,00 мин –20% В	Изократический 60% В

Режим	Электроспрей, MRM, положительная ионизация,	
	Резерпин в ацетонитриле	Лвомицитин в воде
Контрольный раствор		
Массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм ³	0,001	0,1
Объем пробы контрольного раствора, мкл	1	1
Элюент Мобильная фаза А Мобильная фаза В	Вода+ 0,01% муравьиная кислота Ацетонитрил	Вода+ 0,1% муравьиная кислота Ацетонитрил + 0,1% муравьиная кислота
Соотношение фазы	30/70	30/70
Скорость потока элюента, см ³ /мин	0,6	0,2
Температура термостата колонки, °С	50	40
Переход m/z, а.е.м	609,2>195,1	322,9>275,1
Температура линии десольватации (DL), °С	125	250
Температура интерфейса, °С	400	350
Температура блока нагревателя, °С	400	350
Расход газа-распылителя, дм ³ /мин	3	3
Расход осушающего газа, дм ³ /мин	3	4
Расход нагревающего газа	17	12
Тип сканирования	MRM	
Хроматографическая колонка (длина x внутренний диаметр)	Kinetex 1,3 мкм C18 100A (50 мм x 2,1 мм)	

Поверку по п. 4.2.2 выполняют при комплектации хромато-масс-спектрометра хроматографической колонкой Kinetex.

В хромато-масс-спектрометр через хроматограф вводят пробу контрольного вещества. Находят значение отношения сигнал/шум (S/N) для пика резерпина и пика лвомицитина. Отношение сигнал/шум рассчитывают с помощью программного обеспечения "LabSolutions LCMS".

Полученные значения отношения сигнал/шум должны быть не менее 100000:1 при дозировании резерпина и лвомицитина.

4.2.3 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала спектрофотометрических SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A детекторов. Измерения проводят при условиях, указанных в таблице 4.

Таблица 4

Наименование детектора	Элюент	Скорость потока элюента, мл/мин	Параметры детектора
Спектрофотометрические SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрические детекторы на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A	вода	1	Длина волны 250 нм Постоянная времени 2 с

При определении уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала хроматографическую колонку заменяют на стальной или полиэтиленовый капилляр (сталь марки 316 или материал РЕЕК) длиной 30-50 см и внутренним диаметром (0,1-0,3) мм.

Нулевой сигнал регистрируется на самом чувствительном диапазоне в течение 1 часа.

Дрейф рассчитывают как максимальное значение одностороннего смещения нулевой линии в течение 1 часа.

За уровень флуктуационных шумов принимают максимальную амплитуду повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с при непрерывной записи в течение 15 мин.

Полученные значения уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала не должны превышать значений указанных в таблице 4.

Таблица 4

Наименование детектора	Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, е.о.п	Дрейф нулевого сигнала, е.о.п./ч
Спектрофотометрические SPD-20A/ SPD-20AV	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-4}$
Спектрофотометрические на диодной матрице - SPD-M20A	$5 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-3}$
- SPD-M30A	$4 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-4}$

4.4 Определение предела детектирования спектрофотометрических SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A детекторов.

Предел детектирования определяют при условиях, указанных в таблице 5.

Таблица 5

Наименование детектора	Контрольный раствор	Массовая концентрация, мг/дм ³	Объем пробы, мкл	Элюент	Скорость потока элюента, см ³ /мин	Параметры детектора
Спектрофотометрические SPD-20A/SPD-20AV Спектрофотометрические на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A	Раствор кофеина в воде	10	10	ацетонитрил/вода 2:8 (для колонки с обращенной фазой)	1	Длина волны 272 нм Постоянная времени 2 с

В хроматограф вводят пробу контрольного вещества, определяют высоту (h) и ширину пика на половине его высоты или площадь пика (S).

Предел детектирования рассчитывают по формуле

$$C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G}{h \cdot \mu_{0,5} \cdot V} \text{ или } C_{\text{мин.}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G \cdot 60}{S \cdot V}$$

Полученные значения предела детектирования не должны превышать значений указанных в таблице 6.

Таблица 6

Наименование детектора	Предел детектирования (по кофеину), г/см ³
Спектрофотометрические SPD-20A/ SPD-20AV	3·10 ⁻⁹
Спектрофотометрические на диодной матрице - SPD-M20A	3·10 ⁻⁹
- SPD-M30A	2·10 ⁻⁹

4.3 Определение метрологических характеристик

4.3.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-8045 со спектрофотометрическими SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрическими на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A детекторами.

Измерения проводят после выхода хромато-масс-спектрометров на режим. Элюент, колонка и контрольные вещества указаны в таблицах 2, 3, 5.

На вход прибора подают не менее 6 раз контрольный раствор и измеряют значения площадей пиков.

Относительное СКО выходного сигнала хромато-масс-спектрометров рассчитывают по формуле

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

Полученные значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала не должны превышать значений, приведенных в таблице 7.

Таблица 7

Наименование детектора	Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %	
	площади и высоты пика	времени удерживания
Масс-спектрометрический	7 (по площади пика)	1
Спектрофотометрические SPD-20A/SPD-20AV	1,5	1
Спектрофотометрические на диодной матрице SPD-M20A	1,5	1
SPD-M30A	1	0,5

4.3.2 При проведении периодической поверки хроматографов, эксплуатируемых по НД на МИ, отвечающим требованиям ГОСТ 8.563-09, проверяют показатели точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в НД на МИ.

5 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

5.1 Результаты поверки хромато-масс-спектрометров заносят в протокол произвольной формы.

5.2 Положительные результаты поверки хромато-масс-спектрометров оформляют выдачей свидетельства в соответствии с Порядком проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке (утв. приказом Минпромторга России № 1815 от 02.07.2015 г.).

5.3 На хромато-масс-спектрометры, не удовлетворяющие требованиям настоящей методики поверки, 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 Минпромторга России № 1815 от 02.07.2015 г.).

Начальник отдела ФГУП "ВНИИМС"



С. В. Вихрова

Начальник сектора ФГУП "ВНИИМС", к.х.н.



О. Л. Рутенберг

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

1 Средства измерений, посуда, реактивы

1.1 ГСО 10165-12 состава левомецитина.

1.2 Резерпин, ФС № 423267-96 или резерпин с содержанием основного вещества не менее 99,0, CAS 50-55-5.

1.3 Кофеин, ФС 42-0248-07 или кофеин с содержанием основного вещества не менее 98%.

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

1.5 Колбы мерные наливные 2-100-2, 2-200-2, 2-1000-2, ГОСТ 1770-74.

1.6 Пипетки с одной отметкой 1-2-1, 1-2-25, ГОСТ 29169-91.

1.7 Стаканы В-1-50ТС, ГОСТ 25336-82.

1.8 Вода для лабораторного анализа, ГОСТ Р 52501-2005.

1.9 Дистиллированная вода, ГОСТ 6709-72.

2 Процедура приготовления контрольного раствора резерпина

2.1. Приготовление исходного раствора резерпина с массовой концентрацией 10 мг/дм³

Взвешивают в стакане 10,0 мг резерпина, добавляют 25 см³ ацетонитрила, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Ополаскивают стакан ацетонитрилом, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки ацетонитрилом, перемешивают.

2.2 Приготовление раствора резерпина с массовой концентрацией 0,1 мг/дм³

1 см³ раствора, приготовленного по п.2.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки ацетонитрилом.

2.3 Приготовление контрольного раствора резерпина с массовой концентрацией 0,001 мг/дм³

1 см³ раствора, приготовленного по п.2.1.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки ацетонитрилом.

Погрешность приготовления контрольного раствора $\pm 5\%$.

3 Процедура приготовления контрольного раствора левомецитина

3.1 Приготовление исходного раствора левомецитина с массовой концентрацией 10 мг/дм³.

Взвешивают в стакане 10 мг левомецитина, добавляют 25 см³ дистиллированной воды, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Ополаскивают стакан дистиллированной водой, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

3.2 Приготовление раствора левомецитина с массовой концентрацией 0,1 мг/дм³

1 см³ раствора, приготовленного по п.3.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки дистиллированной водой.

4 Приготовление контрольного раствора кофеина

4.1 Взвешивают в стакане около 200 мг кофеина, добавляют в стакан 25 мл дистиллированной воды, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³. Ополаскивают стакан дистиллированной водой, переносят ее в мерную колбу, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

Содержание кофеина в исходном растворе (C_0 , мг/дм³) рассчитывают по формуле

$$C_0 = \frac{m}{V_{100} \cdot 10^{-3}} = \frac{m}{0,1},$$

где m – масса кофеина, мг;

V_{100} – вместимость мерной колбы, $V = 100 \text{ см}^3$.

4.2 Приготовление контрольного раствора кофеина с массовой концентрацией 10 мг/дм³
1 см³ исходного раствора кофеина переносят пипеткой вместимостью 1 см³ в мерную колбу вместимостью 200 см³. Доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают.

Погрешность приготовления контрольного раствора $\pm 1,5 \%$.