

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГУП «ВНИИМ
им.Д.И.Менделеева»



К.В.Гоголинский

15.05.2016 г.

Хромато-масс-спектрометры жидкостные
моделей
6470 Triple Quadrupole LC/MS System и 6495 Triple Quadrupole
LC/MS System

МЕТОДИКА ПОВЕРКИ

МП-242-1967 -2016

ч.р. 65320-16

Руководитель отдела
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

A blue ink signature of D.A. Konopelko.

Д.А.Конопелько

Ст. научный сотрудник
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

A blue ink signature of M.A. Meshalkin.

М.А.Мешалкин

С. Петербург
2016 г.

Настоящая методика распространяется на хромато-масс-спектрометры жидкостные моделей 6470 Triple Quadrupole LC/MS System и 6495 Triple Quadrupole LC/MS System, изготавливаемые компанией «Agilent Technologies Singapore Pte Ltd», Сингапур и устанавливает методы и средства их первичной поверки (до ввода в эксплуатацию и после ремонта) и периодической поверки (в процессе эксплуатации).

Интервал между поверками - 1 год.

Операции поверки

Таблица 1 – Операции поверки

№ п/п	Наименование операций	Номер пункта методики	Обязательность проведения	
			при вводе в эксплуатацию	при эксплуатации и после ремонта
1.	Подготовка к поверке.	5	да	да
2.	Внешний осмотр.	6.1	да	да
3.	Опробование.	6.2	да	да
4.	Подтверждение соответствия программного обеспечения	6.2.2	да	да
5.	Определение метрологических характеристик.	6.3	да	да

2. Средства поверки

1. Колба Кн 01-100-14/23-ТСХ, ГОСТ 25336-82.
2. Колба мерная 2(4)-50-2 ГОСТ 1770-74.
3. Пипетка вместимостью 0,5 см³ по ГОСТ 29227-91.
4. Весы лабораторные высокой точности по ГОСТ 53228-2008 с максимальной нагрузкой 20 или 200 г;
5. Мешалка ММ-5 ТУ25-11-834-80.
6. Вода 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005.
7. Стандартный образец состава левомецетина ГСО 10165-2012.
8. Метанол кв. «хч» по ТУ 6-09-1709-77.
9. Барометр-анероид М-98 ТУ 25-11-1316-76.
10. Термогигрометр электронный

Все средства измерений, используемые при поверке, должны иметь свидетельства о поверке, а ГСО и химические реактивы - действующие паспорта.

Допускается применение других средств поверки, допущенных к применению в РФ, с метрологическими характеристиками не хуже указанных.

Контрольные растворы готовятся согласно Приложению А к настоящей методике.

3. Условия поверки

- 3.1. При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:
- температура окружающего воздуха, °С от 15 до 25;
 - допустимое изменение температуры в помещении, °С/час не более 1,0
 - атмосферное давление, кПа от 84 до 107;
 - относительная влажность воздуха, %, не более 80;
 - напряжение питания переменного тока, В 220⁺²²-33;
 - частота переменного тока, Гц от 49 до 51.

3.2. Перед проведением поверки прибор следует подготовить к работе в соответствии с руководством по эксплуатации.

4. Требования безопасности

Требования безопасности должны соответствовать рекомендациям, изложенным в Руководстве по эксплуатации

5. Подготовка к поверке и требования к квалификации поверителей

5.1. Приготовить поверочный раствор с массовой концентрацией левомицетина 0,5 мг/мл. Методика приготовления поверочного раствора приведена в приложении Б.

5.2. Перед проведением измерений рекомендуется провести кондиционирование хроматографической колонки в соответствии с руководством по эксплуатации на жидкостный хроматограф.

5.3. К проведению измерений по поверке допускаются лица, изучившие техническое описание, руководство по эксплуатации и методику поверки хромато-масс-спектрометра и аттестованные в качестве поверителей.

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

6. Проведение поверки

6.1. Внешний осмотр.

При проведении внешнего осмотра проверяют:

- отсутствие механических повреждений;
- надежность крепления соединительных элементов.

6.2. Опробование.

6.2.1. Запустить программу управления прибором, дождаться завершения операции по автоматическому тестированию. Результат автотестирования должен быть положительный.

6.2.2 Подтверждение соответствия программного обеспечения

6.2.2.1. Определение осуществляется следующим образом:

- в главном окне программы в строке команд щелкнуть мышью на команде Help. В открывшемся окне щелкнуть мышью по строке About, в результате чего откроется окно, в котором приведены идентификационное название ПО и номер версии. Кроме этого версия ПО указана в стартовом окне программы, приведенном на рисунке 1.

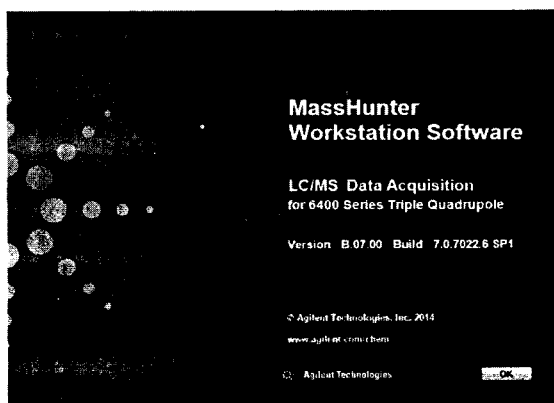


Рис.1 Окно с идентификационными данными ПО.

6.2.2.3. Хромато-масс-спектрометр считается выдержавшим поверку по п. 6.2, если номер версии ПО - В.07.00 или выше.

6.3. Определение метрологических характеристик.

6.3.1. Установить параметры* хромато-масс-спектрометра, указанные в табл. 2.

Таблица 2 - Параметры хромато-масс-спектрометра

Источник ионизации	Электроспрей при атмосферном давлении (ESI/AJS)	Электроспрей при атмосферном давлении (ESI/AJS)
Загружаемый метод	6495 Neg MRM Checkout.m	6470 Neg MRM Checkout.m
Раствор для промывки иглы автосамплера	Метанол/вода 75:25	Метанол/вода 75:25
Режим подачи элюента	Программирование градиента, см. Табл.3	Программирование градиента, см. Табл.3
Температура термостата автосамплера	4 °С	4 °С
Скорость потока элюента	0,5 мл/мин	0,5 мл/мин
Время измерения (Stop Time)	3,7 мин	3,7 мин
Температура осушающего газа (Drying Gas Temperature)	210 °С	200°С
Скорость потока осушающего газа (Drying Gas Flow)	17 л/мин	6 л/мин
Давление распылителя (Nebulizer Pressure)	173 кПа (25,0 psi)	241 кПа (35,0 psi)
Температура фокусирующего газа (Sheath Gas Temperature)	400 °С	400°С
Скорость потока фокусирующего газа (Sheath Gas Flow)	12 л/мин	12 л/мин
Напряжение сопла (Nozzle voltage)	2000 В	1000 В
Напряжение на капилляре (Capillary voltage)	3000 В	2500 В
Напряжение на электронном умножителе (Delta EMV)	200 В	200 В
Временной фильтр (Time Filtering)	Peak Width 0,03 min	Peak Width 0,03 min
Сканирование (Scan)	MRM	MRM
Разрешение первого квадруполя (MS1 Resolution)	Широкое (Wide)	Широкое (Wide)
Разрешение второго квадруполя (MS2 resolution)	Единичное (Unit)	Единичное (Unit)
Полярность источника ионизации (Polarity)	Отрицательная (Negative)	Отрицательная (Negative)
Родительский ион (Precursor ion)	321,2 m/z	321,2 m/z
Дочерний ион (Product ion)	152,0 m/z	152,0 m/z
Напряжение на фрагментаторе (Fragmentor voltage)	380 В	130 В
Время задержки (Dwell time)	200 мс	200 мс
Энергия ячейки соударения (Collision cell energy)	14 В	14 В
Напряжение ускорения ячейки соударения (Collision Cell Accelerator Voltage)	3 В	3 В
Напряжение на воронке RF низкого давления (Low Pressure Funnel RF)	60 В	–
Напряжение на воронке RF высокого давления (High Pressure Funnel RF)	150 В	–
Используемая хроматографическая колонка	Zorbax SB-C18 2.1 мм/50 мм/1,8 микрон или аналогичная	

* - параметры имеют рекомендательный характер и могут быть изменены с целью оптимизации результатов измерения.

Таблица 3- Временная программа градиента

Время, мин	А (вода)	В (метанол)	Поток
0	90 %	10 %	0,5 мл/мин
0,1	90 %	10 %	0,5 мл/мин
1,0	2 %	98 %	0,5 мл/мин
2,0	2 %	98 %	0,5 мл/мин
2,01	90 %	10 %	0,5 мл/мин

6.3.2. Определение чувствительности (отношение сигнал/шум) хромато-масс-спектрометра

6.3.2.1 Ввести 2 мкл контрольного раствора с массовой концентрацией 0,5 пг/мкл левомицетина в 30 % метаноле в прибор и с помощью программного обеспечения определить отношение сигнал/шум¹ для перехода m/z 321,2 → 152,0. Порядок действий при определении указан в приложении А к настоящей методике.

6.3.2.2. Повторить действия, указанные в п.6.3.2.1 еще два раза.

6.3.2.3. Результаты поверки по п 6.3.2 считаются положительными, если в серии из трех определений наименьшее значение отношения сигнал/шум не менее, чем указано в табл. 4.

Таблица 4 - Отношение сигнал/шум

Наименование модели хромато-масс-спектрометра	Сигнал/шум, не менее
-модель 6470 Triple Quadrupole LC/MS System	7000
-модель 6495 Triple Quadrupole LC/MS System	30000

6.3.3 Определение относительного СКО выходного сигнала.

6.3.3.1. Определение СКО выходного сигнала проводят по контрольному раствору с массовой концентрацией 0,5 пг/мкл левомицетина в 30 % метаноле.

6.3.3.2. Условия, при которых проводятся определения, указаны в п. 6.3.1.

6.3.3.3. Объем вводимой пробы – 2 мкл.

6.3.3.4. Последовательно ввести пробу в прибор и зафиксировать время удерживания и площадь пика левомицетина. Повторяют операцию пять раз. При этом недостоверные результаты измерений, которые можно оценить как выбросы (см. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002, п. 3.21; ГОСТ Р 8.736-2011), отбраковываются и не учитываются в расчетах. В случае обнаружения выбросов проводят необходимое дополнительное число измерений.

6.3.3.5. С помощью программного обеспечения определить относительное СКО выходного сигнала по площади пика и времени удерживания. Порядок действий при определении указан в приложении А к настоящей методике.

6.3.3.6. Возможно провести расчет СКО вручную по формуле:

$$S_r = \frac{100}{N} \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (N - N_k)^2}{n-1}}, \% \quad (1)$$

где: N – среднее арифметическое результатов n - измерений;

N_k – k -е значение результата измерений;

n – число измерений.

Данные для ручного расчета берутся из суммарного рапорта результатов измерений.

¹ в расчете используется среднеквадратическое значение шума (RMS).

6.3.3.7. Результаты поверки по п.6.3.3 считаются положительными, если значение относительного СКО выходного сигнала не превышает 7,0 % по площади пика и 1,0 % по времени удерживания.

7.Оформление результатов поверки

7.1. Результаты поверки считаются положительными, если хромато-масс-спектрометр удовлетворяет требованиям настоящей методики поверки. При поверке заполняется протокол, форма которого приведена в приложении В.

7.2. Положительные результаты поверки оформляются путем выдачи свидетельства о поверке по установленной форме. Знак поверки наносится на лицевую панель хромато-масс-спектрометра.

7.3. Результаты поверки считаются отрицательными, если при проведении поверки установлено несоответствие прибора хотя бы одному требованию настоящей методики поверки.

7.4. Отрицательные результаты поверки оформляются путем выдачи извещения о непригодности с указанием причин непригодности.

Порядок действий по получению отчета с использованием программы

MassHunter /Qualitative Analysers :

- Open Data Files (загружаем требуемые сигналы).
- Smoth-Quadratic/Cubic Savitzky-Golay-11 points (сглаживаем загруженные сигналы)
- Integrate (MS/MS) (интегрируем загруженный сигнал)
- Calculate signal-to-Noise-Height-RMSx1-Automatic noise region detection 1.000min/0.1min (рассчитываем отношение сигнал/шум)
- Configuration-Chromatogram Display Option-Peak labels Retention Time/Area (выводим данные о времени удерживания и площади на экран)
- вносим данные в сводный отчет Excel.

Методика приготовления поверочных растворов

1. Для приготовления поверочного раствора применяют следующее оборудование и реактивы:

- Колбы мерные 2-го класса точности с притёртой пробкой по ГОСТ 1770-74.
- Пипетки мерные 2-го класса точности по ГОСТ 29228-91.
- ГСО 10165-2012 Стандартный образец состава левомецетина.
- Метанол кв. «ХЧ» по ТУ 6-09-1709-77.
- Вода 1-ой степени очистки по ГОСТ Р 52501-2005.
- Весы лабораторные высокой точности по ГОСТ 53228-2008 с максимальной нагрузкой 20 или 200 г;

2. Приготовление раствора 10 мг/л (раствор «А»).

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают навеску левомецетина (1,00±0,05) мг, доводят до метки метанолом. Срок хранения 7 дней в холодильнике.

3. Приготовление раствора 0,5 пг/мкл.

Раствор «А» с массовой концентрацией 10 мг/л левомецетина используется для приготовления поверочного раствора 0,5 мкг/л (0,5 пг/мм³) методом последовательного объемного разбавления 30% раствором метанола в воде (при необходимости в два этапа). Количество растворителя, необходимое для получения раствора требуемой концентрации, вычисляют используя следующую формулу:

$$C_{li} = C_{oi} \cdot \frac{V_{oi}}{V_k}, \quad (\text{Б.1})$$

где C_{oi} - действительное значение концентрации компонента в растворе, используемом в качестве исходного для разбавления мг/дм³.

V_{oi} - объем раствора, используемом в качестве исходного для разбавления.

V_k - общий объем приготовленного раствора

C_{li} - расчетная (требуемая) концентрация компонента в контрольном растворе.

4. При использовании средств измерений, стандартных образцов и реактивов, указанных в п.1. настоящего приложения, относительная погрешность поверочного раствора, приготовленного по данной методике, не превышает ±5 %.

ПРОТОКОЛ

Хромато-масс-спектромер _____
 Принадлежит _____ ИНН _____
 ЗАВ.№ _____

Поверка проведена по :
 Методике поверки _____

Средства поверки _____

Условия поверки
 Температура окружающего воздуха, °С
 Относительная влажность окружающего воздуха
 Атмосферное давление, кПа

Внешний осмотр _____

Опробование _____

Проверка соответствия ПО _____

Определение отношения сигнал/шум

№ измерения	Результат определения значения отношения сигнал/шум	Допускаемое значение отношения сигнал/шум, не менее
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		

Определение относительного СКО выходного сигнала (S_r)

№ измерения	Время удерживания (t)	Площадь пика (S)
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		

Результаты расчета относительного СКО выходного сигнала (по площади пика)

Допускаемое значение (S_r), %, не более	Результат определения значения (S_r), %

Результаты расчета относительного СКО выходного сигнала (по времени удерживания)

Допускаемое значение (S_r), %, не более	Результат определения значения (S_r), %

Поверитель _____

Дата поверки _____