

УТВЕРЖДАЮ

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



Н.В. Иванникова

"16" марта 2020 г.

**Хромато-масс-спектрометры жидкостные
LCMS-9030**

Методика поверки

МП 205-07-2020

**г. Москва
2020 г.**

Настоящая методика распространяется на хромато-масс-спектрометры жидкостные LCMS-9030 (далее – хромато-масс-спектрометры), разработанные и изготовленные фирмой "SHIMADZU CORPORATION", Япония, фирмой "SHIMADZU U.S.A.MANUFACTURING, INC.", США, и устанавливает методику их первичной и периодической поверок.

Допускается проводить:

- первичную поверку хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-9030 с детекторами, входящими в комплект хроматографа, в соответствии с заказом;
- периодическую поверку хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-9030 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).

Интервал между поверками – 1 год.

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 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 дрейфа и уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала спектрофотометрических детекторов SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических детекторов на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A;	4.2.2	Да	Да ¹⁾
- определение предела детектирования спектрофотометрических детекторов SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических детекторов на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A.	4.2.3	Да	Да ¹⁾
Определение метрологических характеристик:	4.3		
- определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала	4.3.1	Да	Да ¹⁾
- определение показателей точности результатов измерений	4.3.2	Нет	Да ²⁾

Примечания:

¹⁾ При отсутствии НД на методики измерений (МИ), утвержденных в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563-2009.

²⁾ При наличии НД на МИ.

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

При проведении поверки применяют следующие средства поверки.

- 2.1 ГСО 10165-12 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 (ВЭЖХ), применяемая для варианта обращенно-фазовой ВЭЖХ, например, Shim-pack VP-ODS (150 мм x 2,0 мм, средний размер частиц 5 мкм), Shim-pack XR-ODS III (50 мм x 2,0 мм) или Shim-pack XR-ODSII (50 мм x 2,0 мм).
 - 2.9 Термометр типа ТЛ4 № 2 по ГОСТ 215-73.
 - 2.10 Психрометр типа ПГ-1БМ по ГОСТ 6353-85.
 - 2.11 Барометр-анероид БАММ-1 по 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 окружающего воздуха, °С | от 18 до 28 |
| - относительная влажность, % | от 20 до 70 |
| - атмосферное давление, кПа | 101,3 ± 4 |
| - напряжение питания, В | 230 ± 6 |
| - частота напряжения питания, 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 1).

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 и спектрофотометрических диодноматричных детекторов.

4.2.1 Определение отношения сигнал/шум хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-9030.

При определении отношения сигнал/шум хроматографическую колонку заменяют капилляром (материал PEEK) длиной (30 – 50) см и внутренним диаметром 0,13 мм. Капилляр устанавливают между автодозатором SIL и масс-спектрометром.

Отношение сигнал/шум определяют с использованием контрольных растворов и при условиях, указанных в таблице 2.

Таблица 2

Режим	Электроспрей, MS/MS	
	положительная ионизация	отрицательная ионизация
Элюент	Вода/ацетонитрил с объёмным соотношением 10/90 *)Вода (0,01% муравьиная кислота)/ацетонитрил с объёмным соотношением 30/70	Вода/ацетонитрил с объёмным соотношением 10/90 *)Вода/ацетонитрил с объёмным соотношением 30/70
Режим	Изократический	Изократический
Контрольный раствор	Резерпин в ацетонитриле	Левомецетин в воде
Массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм ³	0,001	0,001
Объём пробы контрольного раствора, мкл	1 (5) ^{*)}	1 (10) ^{*)}
m/z прекурсор-иона	609,30	321,1
TOF _{start} – TOF _{end} , m/z	190 - 200	147 - 157
Скорость потока элюента, см ³ /мин	0,4 (0,2) ^{*)}	0,4 (0,2) ^{*)}
Максимальное давление, МПа	В зависимости от применяемого типа хроматографической колонки	
Температура DL, °C	250	250
Температура интерфейса, °C	300	300
Температура блока нагревателя, °C	400	400
Расход газа-распылителя, дм ³ /мин	3	3
Расход осушающего газа, дм ³ /мин	10	10
Расход нагревающего газа	10	10
Хроматографическая колонка ^{*)} (длина x внутренний диаметр)	Shim-pack XR-ODSII (50 мм x 2,0 мм) или другая в соответствии с п. 2.8	
Примечание: - ^{*)} применяют при определении СКО.		

4.2.1.1 В хромато-масс-спектрометр вводят пробу контрольного раствора. Находят значение отношения сигнал/шум (S/N) левомецетина для перехода m/z 321,1 > 152,0 или резерпина для перехода m/z 609,3 > 195,1 (точные значения масс ионов-продуктов устанавливают, исходя из отображаемых значений в масс-спектре).

Значения отношения сигнал/шум рассчитывают с помощью программного обеспечения "LabSolutions LCMS".

Значение S/N должно быть не менее соотношения 3000:1.

4.2.2 Определение дрейфа и уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала спектрофотометрических SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических на диодной матрице SPD-M20A/SPD-M30A детекторов. Измерения проводят при условиях, указанных в таблице 3.

Таблица 3

Наименование детектора	Элюент	Скорость потока элюента, мл/мин	Параметры детектора
Спектрофотометрические SPD-20A/SPD-20AV. Спектрофотометрические 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 спектрофотометрических детекторов SPD-20A/SPD-20AV и спектрофотометрических диодноматричных детекторов SPD-M20A/SPD-M30A хроматографическую колонку заменяют на стальной или полиэтиленовый капилляр (сталь марки 316 или материал PEEK) 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 20с при непрерывной записи в течение 15 мин.

4.2.3 Определение предела детектирования

Предел детектирования определяют при условиях, указанных в таблице 4.

Таблица 4

Наименование детектора	Контрольный раствор	Массовая концентрация кофеина, мг/дм ³	Объем вводимой 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

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

или

$$C_{\text{мин}} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot G \cdot 60}{S \cdot V}$$

где G – масса введенного контрольного вещества; $G = C \cdot v$;

C – массовая концентрация контрольного вещества (кофеина), мг/дм³;

v – объем введенной пробы, мкл;

V – скорость потока элюента, см³/мин.

4.3 Определение метрологических характеристик

4.3.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала хромато-масс-спектрометров жидкостных LCMS-9030 с масс-спектрометрическим, спектрофотометрическими детекторами и спектрофотометрическими детекторами на диодной матрице

Измерения проводят после выхода хромато-масс-спектрометров на режим. Элюент, колонка и контрольные вещества указаны в таблицах 2, 4.

На вход прибора подают не менее 6 раз контрольный раствор и измеряют значения площади пика контрольного вещества.

Значения относительного СКО выходного сигнала (площади пика (σ_s) и времени удерживания (σ_t)) рассчитывают по формулам

$$\sigma_s = \frac{100}{S} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - S)^2}{n-1}},$$

$$\sigma_t = \frac{100}{t} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (t_i - t)^2}{n-1}},$$

где S, S_i – среднее арифметическое и i -тое измеренное значение площади пика соответственно;

t, t_i – среднее арифметическое и i -тое измеренное значение времени удерживания;

n – число измерений, $n \geq 6$.

Полученные значения относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала не должны превышать значений, приведенных в таблице 5.

Таблица 5

Наименование детектора	Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала	
	по площади и высоте пика	по времени удерживания
Масс-спектрометрический	7 (по площади пика)	1
Спектрофотометрический детектор SPD-20A/SPD-20AV	1,5	1

Наименование детектора	Предел допускаемого относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала	
	по площади и высоте пика	по времени удерживания
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 Р 8.563–2009, 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 Знак поверки наносят на боковую поверхность хромато-масс-спектрометра в виде наклейки.

5.4 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 сектора ФГУП "ВНИИМС", к.х.н.



О.Л. Рутенберг

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

1.1 ГСО 10165-12 состава левомецетина.

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, класс точности I (специальный), поверочный интервал 1 мг.

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/дм^3
Взвешивают в стакане 10,0 мг резерпина, добавляют 25 см^3 ацетонитрила, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 . Ополаскивают стакан ацетонитрилом, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки ацетонитрилом, перемешивают.

2.2 Приготовление раствора резерпина с массовой концентрацией $0,1 \text{ мг/дм}^3$
 1 см^3 раствора, приготовленного по п. 2.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки ацетонитрилом.

2.3 Приготовление контрольного раствора резерпина с массовой концентрацией $0,001 \text{ мг/дм}^3$
 1 см^3 раствора, приготовленного по п. 2.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки ацетонитрилом.

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

3 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНОГО РАСТВОРА ЛЕВОМИЦЕТИНА

3.1. Приготовление исходного раствора левомецетина с массовой концентрацией 10 мг/дм^3

Взвешивают в стакане 10 мг левомецетина, добавляют 25 см^3 дистиллированной воды, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 . Ополаскивают стакан дистиллированной водой, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают.

3.2 Приготовление раствора левомецетина с массовой концентрацией $0,1 \text{ мг/дм}^3$
 1 см^3 раствора, приготовленного по п. 3.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой.

3.3 Приготовление контрольного раствора левомецетина с массовой концентрацией $0,001 \text{ мг/дм}^3$

1 см^3 раствора, приготовленного по п. 3.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки водой.

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

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, $V = 100$ см³.

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 $\pm 1,5$ %.