

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора ФГУП "ВНИИМС"



В.Н. Яншин

20 ноября 2014 г.

ИНСТРУКЦИЯ

**Хроматографы жидкостные UltiMate 3000 с масс-спектрометрическими
детекторами Orbitrap Fusion, TSQ Quantiva, TSQ Endura**

Методика поверки

Москва 2014 г.

Настоящая методика распространяется на хроматографы жидкостные UltiMate 3000 с масс-спектрометрическими детекторами Orbitrap Fusion, TSQ Quantiva, TSQ Endura фирмы "Thermo Fisher Scientific", США, фирмы "Thermo Fisher Scientific" (Bremen) GmbH, Германия, и устанавливает методику их первичной и периодической поверки.

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 из ремонта	периодической поверке
Внешний осмотр	6.1	Да	Да
Опробование:	6.2		
- определение отношения сигнал/шум	6.2.2	Да	Да ¹⁾
Определение метрологических характеристик:	6.3		
- определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала	6.3.1	Да	Да ¹⁾
- определение относительного изменения параметров выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа	6.3.2	Да	Да ¹⁾
- определение показателей точности результатов измерений	6.3.3	Нет	Да ²⁾

¹⁾При отсутствии НД на МИ, утвержденной в установленном порядке по ГОСТ Р 8.563

²⁾При наличии НД на МИ.

2 СРЕДСТВА ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки применяют следующие средства поверки:

- резерпин по ФС № 423267-96;
- колбы мерные наливные 2–100–2, 2-50-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74;
- пипетки градуированные 6–2–1, 6–2–5 по ГОСТ 29227-91(I);
- весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011 с пределом взвешивания 20 или 200 г.;
- ацетонитрил для жидкостной хроматографии, LC-MS № 34967 по каталогу Fluka.
- дистиллированная вода LC-MS № 39253 по каталогу Fluka;

- хроматографическая колонка- Hypersil Gold C-18 5 мкм 250x4,6 мм (допускается использовать аналогичные колонки других типоразмеров, при этом необходимо произвести корректировку скорости потока элюента);

- инъекционный вентиль с петлей 2, 5 и 10 мкл.

Все средства измерений, используемые при поверке, должны иметь свидетельства о поверке, ГСО - паспорта.

Допускается применение других средств поверки с метрологическими характеристиками не хуже указанных.

3 УСЛОВИЯ ПОВЕРКИ И ПОДГОТОВКА К НЕЙ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С	от 15 до 25;
- атмосферное давление, кПа	от 84 до 107;
- относительная влажность воздуха, %	от 30 до 80;
- напряжение питания переменного тока, В	220 ⁽⁺¹⁵⁾ ₍₋₁₀₎ %
- частота переменного тока, Гц	от 49 до 51.

3.2. Подготовку хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами к поверке выполняют в соответствии с руководством по их эксплуатации.

3.3 Перед проведением поверки готовят контрольные растворы, назначение и содержание анализируемых компонентов в которых приведены в таблице 2.

Таблица 2

Контрольное вещество/растворитель	Массовая концентрация контрольного вещества	Объем пробы, мкл	Режим ионизации	Детектор
Резерпин/ацетонитрил	0,05 мкг/л	2	Электроспрей	Orbitrap Fusion
	1 мкг/л	2	Электроспрей	TSQ Quantiva
	1 мкг/л	2	Электроспрей	TSQ Endura

4 ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

4.1 Требования безопасности должны соответствовать рекомендациям, изложенным в Руководстве по эксплуатации жидкостных хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами.

5 ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ПОВЕРИТЕЛЕЙ

5.1 К проведению поверки допускаются лица, имеющие опыт работы с жидкостными хроматографами с масс-спектрометрическими детекторами и изучившие руководство по их эксплуатации и методику поверки.

6 ПРОВЕДЕНИЕ ПОВЕРКИ

6.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности приборов требованиям технической документации;
- отсутствие внешних повреждений, влияющих на работоспособность хроматографов и детекторов;
- исправность механизмов и крепежных деталей;
- четкость надписей на лицевой панели.

6.2 Опробование

6.2.1 Запускают программу автоматического тестирования. Хроматографы допускаются к дальнейшей поверке, если результаты автоматического тестирования положительные.

6.2.2. Определение чувствительности (отношение сигнал/шум).

В соответствии с руководством по эксплуатации на встроенный инжекционный вентиль устанавливают инжекционную петлю согласно таблицы 3.

Устанавливают скорость потока элюента 400 мкл/мин. В качестве элюента применяют смесь ацетонитрил/вода в объемном соотношении 50/50.

Устанавливают согласно руководству по эксплуатации режимы сканирования, при которых проводится определение чувствительности прибора (таблица 3)

Таблица 3

Модель масс-спектрометрического детектора	Режим сканирования	Родительский ион	Контрольное вещество/растворитель	Масса вводимого контрольного вещества	Контрольная смесь/объем петли
Orbitrap Fusion	MS/MS полное сканирование в диапазоне 165-615 а.е.м.	609,2	Резерин/ацетонитрил	100 фг	Д 2 мкл
TSQ Quantiva	Мониторинг выбранных реакций (SRM) (609,2→195 а.е.м)	609,2	Резерпин/ацетонитрил	2 пг	Г 2 мкл
TSQ Endura	Мониторинг выбранных реакций (SRM) (609,2→195 а.е.м)	609,2	Резерпин/ацетонитрил	2 пг	Г 2 мкл

Шприцом вместимостью 5 или 10 мкл вводят в петлю контрольный раствор согласно таблице 3.

С помощью системы обработки данных определяют:

- высоту пика H_{pik} контрольного вещества;
- среднее квадратическое значение амплитуды шума (H_n).

Отношение сигнал/шум (N) вычисляют по формуле

$$N = \frac{5 \cdot H_{\text{пик}}}{H_n}.$$

Прибор считается выдержавшим поверку, если полученные значения отношения сигнал/шум удовлетворяют требованиям, приведенным в таблице 4.

Таблица 4

Контрольное вещество/растворитель	Отношение сигнал/шум не менее	Режим ионизации	Детектор
Резерпин/ацетонитрил	100:1	Электроспрей	Orbitrap Fusion
	100000:1		TSQ Quativa
	10000:1		TSQ Endura

6.3 Определение метрологических характеристик

6.3.1 Определение СКО выходного сигнала

Контрольный раствор (табл.2.) вводят в хроматограф не менее 6 раз, измеряют значения выходных сигналов (площадей пиков и времен удерживания) и вычисляют их среднее арифметическое значение \bar{X} .

Относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле

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

где X - значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удерживания).

Найденные значения σ площади пика и времени удерживания при ручном дозировании пробы не должны превышать для хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами 5 % и 2 % соответственно.

6.3.2 Определение относительного изменения параметров выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы.

Условия измерения аналогичны, описанным в разделе 6.3.1. Проводят операции, описанные в 6.3.1. Через 8 часов непрерывной работы повторяют измерения по п.6.3.1.

Относительное изменение параметров выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа рассчитывают по формуле

$$\delta = \frac{|\bar{X}_t - \bar{X}|}{\bar{X}} \cdot 100.$$

Значения относительного изменения площади пика и времени удерживания не должны превышать для хроматографов с масс-спектрометрическими детекторами 10 % и 5 % соответственно.

7 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

7.1 Результаты поверки хроматографов заносят в протокол.

7.2 Положительные результаты поверки хроматографов оформляют выдачей свидетельства в соответствии с ПР 50.2.006-94.

7.3 Хроматографы, не удовлетворяющие требованиям настоящих рекомендаций, к эксплуатации не допускаются. Хроматографы изымаются из обращения. Свидетельство о поверке изымают и выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с ПР 50.2.006-94.

7.4 После ремонта хроматографы подвергают поверке.

Начальник сектора ФГУП "ВНИИМС"



О.Л. Рутенберг

ПРИЛОЖЕНИЕ 1**МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ****1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ**

- 1.2 Резерпин по ФС № 423267-96.
- 1.3 Колбы мерные наливные 2-100-2, 2-50-2 по ГОСТ 1770-74.
- 1.4 Пипетки градуированные 6-2-1, 6-2-5 по ГОСТ 29227-91(И).
- 1.5 Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011 с пределом взвешивания 20 или 200 г.
- 1.6 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, LC-MS № 34967 по каталогу Fluka.
- 1.7 Дистиллированная вода LC-MS № 3925 3 по каталогу Fluka.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ**2.1 Приготовление растворов резерпина в ацетонитриле****2.1.1 Приготовление контрольного раствора "А"**

10 мг резерпина помещают в бюкс, взвешивают.

Градуированной пипеткой добавляют в бюкс 2 мл ацетонитрила, после чего сливают полученную смесь в мерную колбу вместимостью 100 мл. Повторяют данную операцию 2-3 раза для полного переноса контрольного вещества в колбу. Доводят объем смеси в колбе до метки ацетонитрилом.

Массовая концентрация резерпина в растворе "А" составляет 100 мг/дм^3 .

2.1.2 Приготовление контрольного раствора "Б"

1 мл контрольного раствора "А" градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Массовая концентрация резерпина в растворе "Б" составляет 1 мг/дм^3 .

2.1.3 Приготовление контрольного раствора "В".

1 мл контрольного раствора "Б" градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Массовая концентрация резерпина в растворе "В" составляет 10 мкг/дм^3 .

2.1.4 Приготовление контрольного раствора "Г"

10 мл контрольного раствора "В" градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом

Массовая концентрация резерпина в растворе "Г" составляет 1 мкг/дм^3 .

2.1.5 Приготовление контрольного раствора "Д"

5 мл контрольного раствора "Г" градуированной пипеткой помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки ацетонитрилом.

Массовая концентрация резерпина в растворе "Д" составляет $0,05 \text{ мкг/дм}^3$.

Контрольные растворы "А", "Б" и "В" могут храниться в закрытом сосуде при температуре 4°C не более 30 дней; контрольные растворы "Г" и "Д" - не более 10 дней.