ВНИИМС

Федеральное государственное
бюджетное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологической службы»

119361, г. Москва, вн. тер. г. муниципальный округ Очаково-Матвеевское, ул. Озерная, д. 46

Тел.: (495) 437 55 77
E-mail: Office@vniims.ru

Факс: (495) 437 56 66
www.vniims.ru

СОГЛАСОВАНО
Заместитель директора ФГБУ «ВНИИМС»
_____ Ф.В. Булыгин
«28» 08 2023 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Хромато-масс-спектрометры жидкостные EXPEC 5210

Методика поверки

009-39-23 МП

Москва
2023 г.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на хромато-масс-спектрометры жидкостные EXPEC 5210 зав. № 250P22A0004, зав. № 250P2270001 и зав. № 250P2280005 (далее – хромато-масс-спектрометры) и устанавливает методику их первичной и периодических поверок.

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 № 1622 от 04.07.2022 г.; к единице оптической плотности в соответствии с ГПС для СИ спектральных, интегральных, редуцированных коэффициентов направленного пропускания, диффузного и зеркального отражений и оптической плотности в диапазоне длин волн от 0,2 до 20,0 мкм, утвержденной приказом Росстандарта № 2517 от 27.11.2018 г.

Метод поверки включает применение средств измерений и стандартного образца утвержденного типа, 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 результате поверки должны быть подтверждены следующие метрологические требования, приведенные в таблице 1.

Таблица 1

Наименование характеристики	Значение
Чувствительность (отношение сигнал/шум) в режиме ионизации электроспреем при отслеживании множественных реакций (MRM, переход m/z 321 → 152) при дозировании 10 пг левомицетина, не менее	500:1
Предел допускаемого относительного среднего квадратичного отклонения (ОСКО) выходного сигнала при дозировании 100 пг левомицетина, % - по площади пика - времени удержания	 10 1,5

1 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

1.1 При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в табл. 2

Таблица 2

Наименование операции	Номер пункта методики	При первичной поверке	При периодической поверке
1. Внешний осмотр	6	Да	Да
2. Подготовка к поверке и опробование	7	Да	Да
3. Проверка программного обеспечения	8	Да	Да
4. Определение метрологических характери-	9	Да	Да

Наименование операции	Номер пункта методики	При первичной поверке	При периодической поверке
стик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям:			
5. Определение чувствительности (отношение сигнал/шум)	9.1	Да	Да
6. Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) при вводе пробы через хроматограф	9.2	Да	Да
7. Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	9.3	Да	Да

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

2 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки соблюдают следующие условия:

– температура окружающего воздуха, °С от 18 до 25
– атмосферное давление, кПа от 84 до 106,0
– относительная влажность воздуха, % от 20 до 60

3 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

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

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

4 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

При проведении поверки применяют основные и вспомогательные средства поверки, указанные в таблице 3.

Таблица 3

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
п. 7.2 Проверка условий проведения поверки	Средства измерений температуры окружающего воздуха в диапазоне от 0 до + 50 °С, предел допускаемой погрешности измерений ± 0,5 °С Средства измерений относительной влажности окружающего воздуха в диапазоне от 5 % до 95 % предел допускаемой абсолютной погрешно-	Измеритель комбинированный Testo 176-P1, рег. №48550-11

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
	сти ±2 %, Средства измерений атмосферного давления в диапазоне от 600 до 1100 мбар предел допускаемой абсолютной погрешности ±3 мбар	
7.1 Подготовка контрольных растворов – Приложение 1 п. 9 Определение метрологических характеристик средств измерений	Средства измерений переменного объема от 100 до 1000 мкл, предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения фактического объема дозы 1,0 %	Дозаторы пипеточные Eppendorf Research Plus одноканальные с переменным объемом дозирования от 100 до 1000 мкл Рег. №55543-13
	Средство измерений массы по ГОСТ OIML R 76-1-2011 с верхним пределом взвешивания 200 г класса точности 1 – специальный	Весы CPA225D-0CE, рег. №54391-13
	Средства измерений объема вместимостью 10 и 100 мл, 2-го класса точности с притертой пробкой по ГОСТ 1770-74	Колбы мерные вместимостью 10 и 100 мл
	Средства измерений объема вместимостью 50 мл со шкалой по ГОСТ 25336-82	Стаканы В–1–50ТС
	СО с аттестованным значением массовой доли левомицетина, массовая доля левомицетина не менее 95,0 %, допускаемые значения относительной погрешности аттестованного значения ±2% при Р=0,95	ГСО 10165-2012 состава пестицида левомицетина
	Вспомогательное оборудование:	
	Метанол «о.с.ч.» по ТУ 20.14.22-003-62112778-2020 Магнитная мешалка	
Примечание - допускается использовать при поверке другие утвержденные и аттестованные эталоны единиц величин, средства измерений утвержденного типа и поверенные, утвержденного типа стандартные образцы, удовлетворяющие метрологическим требованиям, указанным в таблице.		

5 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

При проведении поверки выполняют требования безопасности, изложенные в руководстве по эксплуатации на хромато-масс-спектрометр.

6 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности поверяемого хромато-масс-спектрометра требованиям эксплуатационной документации;

- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепёжных деталей;
- отсутствие видимых механических повреждений, влияющих на работоспособность хромато-масс-спектрометра.

7 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

7.1 Готовят контрольный раствор. Процедура приготовления контрольного раствора приведена в приложении 1.

7.2 Проверяют условия проведения поверки.

7.3 Опробование.

Хромато-масс-спектрометр готовят к работе в соответствии с разделом 4 руководства по эксплуатации. Результаты опробования считают положительными, если после выхода на режим не появляются информационные сообщения программного обеспечения, указывающие на возникновение фатальных ошибок.

8 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ

Метрологически значимым файлом является файл Analyse.exe, расположенный на рабочем столе (Desktop) в папке MassExpert.P004.V005.002. Расположение файла: «X:\User\Admin\Desktop\MassExpert.P004.V005.002…\MassAnalyst\Analyse.exe».

Запускают ПО Analyse software. Название ПО указано в верхней части открывшегося окна. Открывают вкладку Help/About. В открывшемся окне высвечивается номер версии ПО – рисунок 1

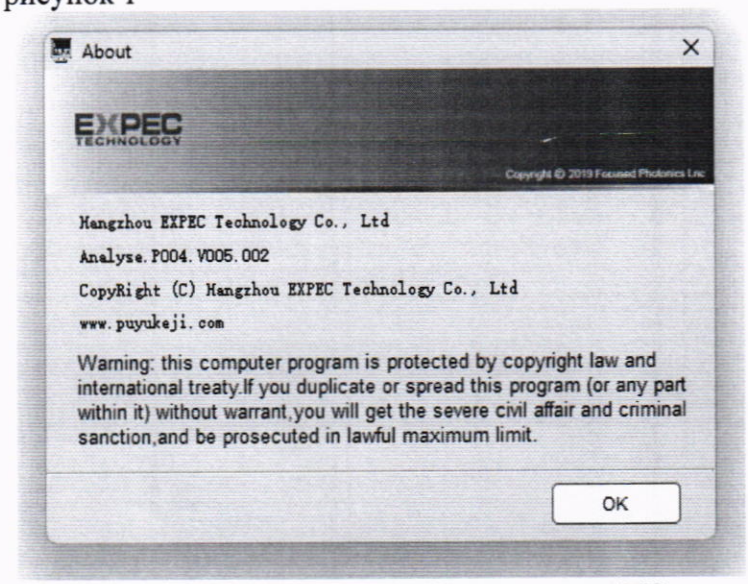

Рисунок 1- Номер версии ПО

Запускают интегрированную среду сценариев Windows PowerShell ISE (Пуск/Windows PowerShell ISE), во вкладке «Команды/Commands» выбирают команду Get-FileHash, в параметрах для «Get-FileHash» в строке «Path*» задают путь к файлу Analyse.exe заключенный в кавычки, в строке «Algorithm» выбирают алгоритм вычисления «MD5». Нажимают кнопку «Запустить/Run» - рисунок 2

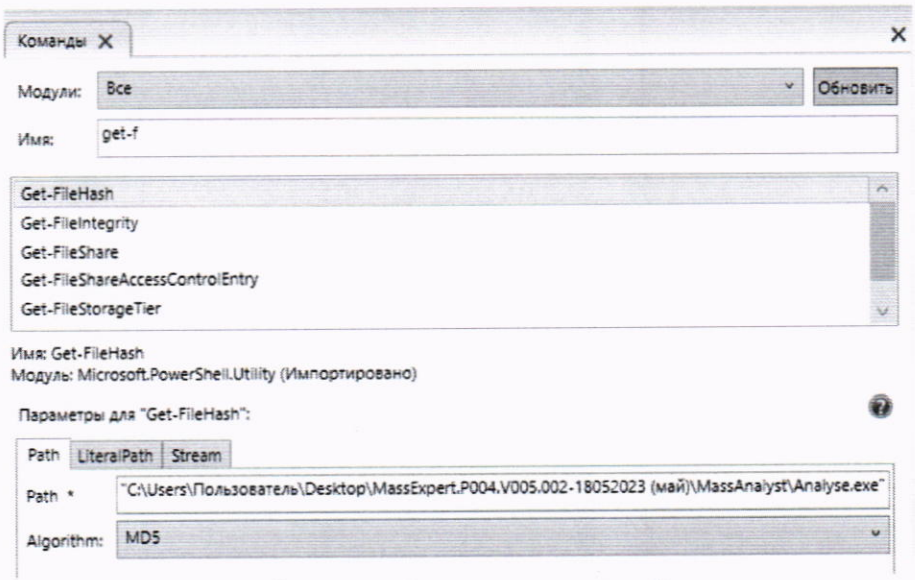

Рисунок 2 – вычисление контрольной суммы

В окне «Сценарий/Script» выводится цифровой идентификатор ПО (Hash) – рисунок 3. Цифровой идентификатор ПО должен соответствовать приведенным в таблице 5.

Рисунок 3 – результат вычисления контрольной суммы метрологически значимого файла Analyse.exe.

9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДСТВ ИЗМЕРЕНИЙ И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СИ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

9.1 Определение чувствительности (отношение сигнал/шум).

Определение отношения сигнал/шум выполняют на хромато-масс-спектрометре с отключенной аналитической колонкой. Определение отношения сигнал/шум проводят с использованием контрольного раствора с массовой концентрацией левомицетина 1 мкг/дм^3, приготовленного по методике, указанной в приложении 1. Настройки режимов ионизации, сканирования, детектирования, при которых проводят определение отношения сигнал/шум, приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Условия измерений

Режимные параметры	Значение
Настройки для масс-спектрометра (вкладка MS)	
Режим сканирования/Scan mode	MRM
Режим ионизации/Ionization mode	ESI-
Открыть газ соударения/Turn on CID gas	Да
Время окончания (min)/ End time (min)	1.5*
Название компонента/Compound name	CHL
Масса иона прекурсора/Precursor ion weight	321
Масса дочернего иона/Product ion weight	152
Время удержания/Dwell time	0.5
Напряжение конуса/Cone voltage	50
Энергия соударения/Collison energy	20

Режимные параметры	Значение
Коэффициент разрешения/Resolution ratio	Unit-Unit
Пустое время/Blank time	5
Время задержки/Delay time	5
Диапазон сканирования/Inler scan time	0.05
Тип данных/Data type	Continuous graph/ непрерывный график
Настройка для жидкостного хроматографа (вкладка LC)	
Вкладка Инфузионный насос/Infusion pump:	
поток в колонке/Flow rate, мл/мин	0.4
Вкладка Автодозатор/Auto-sampler:	
скорость отбора/Sampling speed	Нормально/Normal
параметры ввода/	Частичный ввод из петли/ Partial ring injection
объем ввода/Injection volume, мкл	10
объем промывки/Flushing volume, мкл	30
Вкладка Термостат колонок/Column oven:	
Использование контроля температуры колонки/Using column temperature control	нет
* - время установить опытным путем, при опробовании.	

После выхода хромато-масс-спектрометра на режим вводят 10 мм^3 контрольного раствора автоматически при помощи автосамплера.

Вычисление отношения сигнал/шум производится во вкладке Хроматограмма/Chromatogram, тип вычисления отношения сигнал/шум: RMS (режим среднеквадратичного значения выходного сигнала).

9.2 Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) при вводе пробы через хроматограф.

Определяют относительное СКО выходного сигнала по контрольному раствору с массовой концентрацией 10 мкг/см^3 левомицетина, приготовленного по методике, указанной в приложении 1, и при условиях, указанных в таблице 4, и в соответствии с руководством по эксплуатации.

Последовательно вводят 10 мм^3 контрольного раствора. Контрольный раствор вводят в хромато-масс-спектрометр не менее 6 раз.

С помощью программного обеспечения Analyse software определить относительное среднее квадратичное отклонение выходного сигнала по площади пиков и времени удержания. Порядок действий при определении указан в приложении 2 к настоящей методике. Операцию по вводу контрольных растворов повторяют несколько раз до получения шести достоверных результатов измерений.

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

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

где X_i – i-ое значение выходного сигнала (времени миграции или площади пика);

n – число измерений;

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

9.3 ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СИ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБВАНИЯМ

Хромато-масс-спектрометр считается прошедшим поверку, если выполняются условия, изложенные в пунктах 9.3.1-9.3.4.

9.3.1 Условия поверки соответствуют п. 2.

9.3.2 Результаты проверки ПО соответствуют приведенным в таблице 5.

Таблица 5 – Идентификационные данные программного обеспечения

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Наименования программного обеспечения	Analyse software
Идентификационное наименование ПО	Analyse
Номер версии (идентификационный номер) ПО	P004.V005.002 и выше
Цифровой идентификатор ПО	D4A3DA687CF7040182F977323E5B530F
Алгоритм вычисления цифрового	MD5

9.3.3 Отношение сигнал/шум не менее 500:1.

9.3.4 Значения относительного СКО выходного сигнала не превышают 10,0 % по площади пика и 1,5 % по времени удерживания.

10 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

10.1 Результаты поверки заносят в протокол произвольной формы.

10.2 Положительные результаты поверки хромато-масс-спектрометров оформляют в соответствии с приказом Минпромторга РФ № 2510 от 31.07.2020 г.

10.3 При отрицательных результатах хромато-масс-спектрометры признаются непригодными к применению в сфере государственного регулирования обеспечения единства измерений и оформляют результаты поверки в соответствии с приказом Минпромторга РФ № 2510 от 31.07.2020 г.

10.4 Сведения о результатах поверки передаются в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений.

10.5 При наличии письменного заявления владельца или лица, предоставляющего хромато-масс-спектрометр на поверку, свидетельство о поверке СИ или извещение о непригодности к применению СИ оформляются на бумажном носителе или в виде электронного документа (при наличии технической возможности).

Начальник лаборатории Е.В. Кулябина

Ведущий инженер О.Н. Мелкова

Приложение 1
(обязательное)

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления контрольных растворов левомицетина.

1. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

1.1 ГСО 10165-2012 Стандартный образец состава пестицида левомицетина.

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

1.3 Колбы мерные наливные 2-50-2, 2-100-2 по ГОСТ 1770-74.

1.4 Дозаторы пипеточные Eppendorf Research Plus одноканальные с переменным объемом дозирования от 100 до 1000 мкл.

1.5 Метанол «о.с.ч.» по ТУ 20.14.22-003-62112778-2020.

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ

2.1 Приготовление контрольных растворов левомицетина

2.1.1 Приготовление раствора А с массовой концентрацией левомицетина 100 мг/дм^3.

В емкость для взвешивания, помещенную на чашу аналитических весов, вносят 10 мг левомицетина. Дозатором пипеточным добавляют в емкость для взвешивания 1 см^3 метанола, после чего переливают полученную смесь в мерную колбу вместимостью 100 см^3. Повторяют данную операцию 2-3 раза для полного переноса контрольного вещества в колбу. Доводят объем смеси в колбе до метки метанолом.

2.1.2 Приготовление раствора Б с массовой концентрацией левомицетина 10 мг/дм^3.

1 см^3 раствора А отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.3 Приготовление раствора В с массовой концентрацией левомицетина 1 мг/дм^3.

1 см^3 раствора Б отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.4 Приготовление раствора Г с массовой концентрацией левомицетина 100 мкг/дм^3 (100 пг/мм^3).

1 см^3 раствора В отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.5 Приготовление раствора Д с массовой концентрацией левомицетина 10 мкг/дм^3 (10 пг/мм^3).

1 см^3 раствора Г отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.6 Приготовление раствора Е с массовой концентрацией левомицетина 1 мкг/дм^3 (1 пг/мм^3).

1 см^3 раствора Д отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

3 ХРАНЕНИЕ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

3.1 Контрольный раствор А может храниться в герметично закрытом сосуде не более 30 дней; контрольные растворы Б, В и Г не более 10 дней.

3.2 Контрольный раствор Д и Е хранению не подлежит.

Приложение 2
(обязательное)

ПОРЯДОК
действий по получению отчета с использованием программы

1 В программе MassExpert запускается Программное обеспечение для анализа/Analyse software.

2 В Analyse software выбирается Количественный анализ/Qualitative Analysers.

3 Во вкладке Браузер данных/Data browser выбирается значок Open Data files (загружаем требуемые сигналы).

4 Во вкладке Браузер данных/ Data browser выбираются требуемые данные (ставится галочки).

5 В окне Результаты графика TIC/TIC chart result выбирается значок Наложение графиков/Spectral stacking и закрываются единичные графики.

6 В окне Результаты графика TIC/ TIC chart result выбирается значок Список с информацией о пике/Peak information list.

7 В окне Результаты графика TIC/ TIC chart result выбирается значок Автоинтегрирование/Automatic integration.

В окне Список хроматографических пиков/List of chromatogram peaks выводится информация о выходных сигналах по площади пиков и времени удержания.

Примечание: при необходимости осуществляется настройка параметров интегрирования (значок) и настраиваются параметры минимальной ширины пика, площади пика, начальное и конечное время интегрирования пика.

8 В области окна Список хроматографических пиков/ List of chromatogram peaks при нажатии правой клавиши мыши выбирается RSD Calculate.

9 В окне Рассчитать СКО/Select object выбирается объект Отклик/Peak area или Время удержания/Retain time и нажимается кнопка Вычислить/Calculate RSD. Выводятся данные об ОСКО выходного сигнала по площади пиков и времени удержания на экран.

10 Данные вносим в протокол.