

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ»
(ФГБУ «ВНИИМС»)

СОГЛАСОВАНО

Заместитель директора

по производственной метрологии
ФГБУ «ВНИИМС»



А.Е. Коломин

«18» января 2022 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

**Масс-спектрометры Agilent 6400
МЕТОДИКА ПОВЕРКИ**

МП 205-01-2022

г. Москва
2022 г.

Настоящая методика поверки распространяется на масс-спектрометры Agilent 6400 (далее – масс-спектрометры), изготовленные фирмой «Agilent Technologies, Inc.», США, на заводе-изготовителе «Agilent Technologies Singapore Pte Ltd.», Сингапур, и устанавливает методы и средства их первичной поверки после выпуска из производства и после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Прослеживаемость поверяемого СИ реализуется посредством применения ГСО:

- к единице массы – килограмм – в соответствии с поверочной схемой ГОСТ 8.021-2015 «ГСИ. Государственная поверочная схема для средств измерений массы». ГЭТ 3-2020, утвержденный Приказом Ростехрегулирования от 23.12.2020 г. № 2180;

- к единице оптической плотности в соответствии с поверочной схемой ГОСТ 8.557-2007 «ГСИ. Государственная поверочная схема для средств измерений спектральных, интегральных и редуцированных коэффициентов направленного пропускания и оптической плотности в диапазоне длин волн от 0,2 до 50,0 мкм, диффузного и зеркального отражений в диапазоне длин волн от 0,2 до 20,0 мкм». ГЭТ 156-2015, утвержденный Приказом Росстандарта от 29.01.2016 г. № 41.

Интервал между поверками – 1 год.

1 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

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

Таблица 1 - Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта методики поверки	Проведение операции при	
		первичной поверке	периодической поверке
1 Внешний осмотр	6	да	да
2 Проверка идентификационных данных (ПО)	8	да	да
3 Опробование:	9	да	да
- определение чувствительности (отношения сигнал/шум)	9.2	да	да
4 Определение метрологических характеристик:	10	да	да
- определение относительного СКО выходного сигнала	10.1	да	да

1.2 Если при проведении той или иной операции поверки получен отрицательный результат, дальнейшее выполнение поверки прекращают.

1.3 Проведение поверки по меньшему числу величин измерений в соответствии с пунктом 18 Приказа Министерства промышленности и торговли РФ № 2510 от 31.07.2020 г. «Об утверждении порядка проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке» не предусмотрено.

2 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

2.1 При проведении поверки применяют средства, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 - Средства поверки

Номер пункта документа по поверке	Наименование и тип основного или вспомогательного средства поверки, обозначение нормативного документа, регламентирующего технические требования к СИ, основные технические и (или) метрологические характеристики
9; 10.2	Контрольный раствор резерпина, приготовленный по методике, приведенной в приложении А. Контрольный раствор левомецитина, приготовленный по методике, приведенной в приложении А. ГСО 10165-2012 состава левомецитина (рег. № 5221), интервал допускаемых аттестованных значений СО от 95,0 % до 100,0 %, границы допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения при $P = 0,95 \pm 2,0$ %. Резерпин с содержанием основного вещества не менее 98,0, CAS 50-55-5
4.1	Прибор комбинированный TESTO мод. 608-H1 (рег. № 53505-13), диапазон измерений температуры от 0 °С до 50 °С, пределы абсолютной погрешности измерений $\pm 0,5$ °С, диапазон измерений относительной влажности от 15 % до 85 %, пределы абсолютной погрешности измерений ± 3 %
4.1	Барометр-анероид БАММ-1, (рег. № 5738-76) диапазон измерений давления от 80 до 106 кПа, пределы абсолютной погрешности измерений $\pm 0,2$ кПа

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

2.3 Все средства поверки должны иметь действующие свидетельства о поверке, ГСО действующие паспорта.

3 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

3.1 Требования безопасности должны соответствовать рекомендациям, изложенным в РЭ по эксплуатации масс-спектрометров Agilent 6400.

4 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

4.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, С от 15 до 25;
- атмосферное давление, кПа от 84 до 106;
- относительная влажность воздуха, % , не более до 80;
- напряжение питания, В 220^{+22}_{-33}
- частота напряжения питания, Гц 50 ± 1 .

5 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

К проведению поверки допускаются поверители средств измерений в соответствии с областью аккредитации организации, аккредитованной в национальной системе аккредитации на проведение поверки средств измерений согласно законодательству Российской Федерации об аккредитации, прошедшие инструктаж по технике безопасности и ознакомленные с эксплуатационными документами.

6 ВНЕШНИЙ ОСМОТР

При внешнем осмотре устанавливают

- соответствие комплектности поверяемого спектрометра требованиям технической документации;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепежных деталей;
- отсутствие видимых механических повреждений, влияющих на работоспособность спектрометра.

7 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ

7.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

7.1.1 Приготавливают контрольный раствор левометицина в воде с массовой концентрацией 0,001 мг/дм³ и/или контрольный раствор резерпина в ацетонитриле с массовой концентрацией 0,001 мг/дм³. Методика приготовления контрольных растворов приведена в приложении А.

7.1.2 Перед проведением поверки рекомендуется провести кондиционирование хроматографической колонки в соответствии с руководством по эксплуатации жидкостного хроматограф.

8 ПРОВЕРКА ИДЕНТИФИКАЦИОННЫХ ДАННЫХ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ (ПО)

Запускают ПО масс-спектрометра. При включении высвечивается наименование ПО и номер версии.

Идентификационные данные ПО должны соответствовать значениям, приведенным в таблице 3.

Таблица 3 - Идентификационные данные программного обеспечения

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Идентификационное наименование ПО	MassHunter
Номер версии (идентификационный номер) ПО	не ниже 1.0
Цифровой идентификатор ПО	-

9 ОПРОБОВАНИЕ

9.1 Запускают программу управления масс-спектрометром, проводят операции по автоматическому тестированию.

Результаты опробования считают положительными, если автоматическое тестирование прошло успешно.

9.2 Определение чувствительности (отношения сигнал/шум) масс-спектрометра Agilent 6400

При определении отношения сигнал/шум используют хроматографическую колонку, указанную в таблице 4. Отношение сигнал/шум определяют с использованием контрольных растворов и при условиях*, указанных в таблице 4.

Таблица 4

Наименование характеристики	Значение	
	Отрицательная (Negative)	Положительная (Positive)
Полярность источника ионизации (Polarity)	Отрицательная (Negative)	Положительная (Positive)
Источник ионизации	Электроспрей при атмосферном давлении (ESI/AJS или ESI)	Электроспрей при атмосферном давлении (ESI/AJS или ESI)
Контрольный раствор	Раствор левомецетина в метаноле или ацетонитриле, приготовленный по методике, являющейся приложением А к Программе испытаний.	Раствор резерпина в метаноле или ацетонитриле, приготовленный по методике, являющейся приложением А к Программе испытаний.
Массовая концентрация контрольного вещества, мг/дм ³	0,001	0,001
Объем пробы контрольного раствора, мкл	1	1
Раствор для промывки иглы автосэмплера	Метанол/вода 75:25 или ацетонитрил/вода 75:25	Метанол/вода 75:25 или ацетонитрил/вода 75:25
Режим подачи элюента	Программирование элюента по таблице 4	Программирование элюента по таблице 4
Температура термостата автосэмплера**, °С	4	4
Скорость потока элюента, см ³ /мин	0,5	0,4
Время измерений (Stop Time), мин	8	5
Температура осушающего газа (Drying Gas Temperature), °С:		
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI)	200	350
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ	200	325
- Agilent 6495 LC/TQ	210	130
Скорость потока осушающего газа (Drying Gas Flow), см ³ /мин:		
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI), Agilent Ultivo, LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ	10	10
- Agilent 6495 LC/TQ	17	11
Давление распылителя (Nebulizer Pressure), psi:		
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ	15	20
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI)	50	60

Наименование характеристики	Значение	
- Agilent 6495 LC/TQ	25	25
Температура фокусирующего газа (Sheath Gas Temperature), °C: - Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ, Agilent 6495 LC/TQ	400	400
- Agilent Ultiv LC/TQ (ESI)	350	350
Скорость потока фокусирующего газа (Sheath Gas Flow), л/мин: - Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ, Agilent 6495 LC/TQ	12	12
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI)	11	11
Напряжение сопла (Nozzle voltage), В: - Agilent Ultivo LC/TQ (ESI), Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ	2000	0
- Agilent 6495 LC/TQ	500	0
Напряжение на капилляре (Capillary voltage), В: - Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ	2500	3000
- Agilent Ultivo LC/TQ (ESI)	5000	5000
- Agilent 6495 LC/TQ	3000	3500
Напряжение на электронном умножителе (Delta EMV), В	200 Delta EMV (-)	200 Delta EMV (+)
Временной фильтр (Time Filtering), мин Peak Width	0,03	0,03
Сканирование (Scan)	MRM	MRM
Разрешение первого квадруполь (MS1 Resolution)	Широкое (Wide)	Широкое (Wide)
Разрешение второго квадруполь (MS2 Resolution)	Единичное (Unit)	Единичное (Unit)
Родительский ион (Precursor ion)	321,2 m/z	609,3 m/z
Дочерний ион (Product ion)	152,0 m/z	195,1 m/z
Напряжение на фрагменторе (Fragmentor Voltage), В: - Agilent Ultivo LC/TQ (ESI), Agilent Ultivo LC/TQ (ESI/AJS), Agilent 6470 LC/TQ	130	195
- Agilent 6495 LC/TQ	166	166
Время задержки (Dwell time), мс	200	200

Наименование характеристики	Значение	
Энергия соударительной ячейки (Collision Cell Energy), В	16	42
Напряжение ускорения соударительной ячейки (Collision Cell Accelerator Voltage), В	3	4
Напряжение на воронке RF низкого давления (Low Pressure Funnel RF), В - только для Agilent 6495 LC/TQ	60	110
Напряжение на воронке RF высокого давления (High Pressure Funnel RF), В - только для Agilent 6495 LC/TQ	150	200
Используемая хроматографическая колонка	Zorbax SB-C18 2,1мм/50мм/ 1,8 микрон или аналогичная	Zorbax SB-C18 2,1мм/50мм/ 1,8 микрон или аналогичная
Примечания. * - параметры имеют рекомендательный характер и могут быть изменены с целью оптимизации результатов измерений ** - при наличии термостата автосэмплера.		

Таблица 5 - Программа градиента в режиме отрицательной ионизации

Время, мин	А, % (Вода)	В, % (Метанол или Ацетонитрил)	Скорость потока, см ³ /мин
0	90	10	0,5
0,1	90	10	0,5
1	2	98	0,5
3	2	98	0,5
3,01	90	10	0,5

Таблица 6 - Программа градиента в режиме положительной ионизации

Время, мин	А, % Вода и раствор муравьиной кислоты с молярной концентрацией 5 моль/дм ³ в объемном соотношении (99,9:0,1)	В, % Метанол или ацетонитрил и раствор муравьиной кислоты с молярной концентрацией 5 моль/дм ³ в объемном соотношении (99,9:0,1)	Скорость потока, см ³ /мин
0	90	10	0,4
0,2	90	10	0,4
1,5	2	98	0,4
2,5	2	98	0,4
2,51	90	10	0,4

В хроматограф, подключенный к масс-спектрометру, вводят пробу контрольного раствора. Находят отношение сигнал/шум (S/N) левомецетина для перехода m/z 321,2>152,0 или резерпина для перехода m/z 609,3>195,1. Значения отношения сигнал/шум рассчитывают с помощью программного обеспечения MassHunter.

Порядок действий для получения отчета с использованием ПО MassHunter приведен в приложении Б.

Результаты проверки считают удовлетворительными, если наименьшее значение отношения сигнал/шум, полученное для одного из контрольных растворов (резерпина или левомецетина) в серии из трех измерений, не менее значения, приведенного в таблице 7.

10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК

10.1 Определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала масс-спектрометров Agilent 6400.

Измерения проводят после выхода масс-спектрометров на режим. Элюент, колонку и контрольный раствор выбирают по таблицам 4, 5, 6.

В хроматограф, подключенный к масс-спектрометру, вводят не менее 6 раз контрольный раствор и измеряют значения площади пиков.

Рассчитывают значения относительного СКО площади пика (σ_s) по формуле

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

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

n – число измерений, $n \geq 6$.

Таблица 7

Наименование характеристики	Значение			
	Модель			
	Agilent 6470 LC/TQ	Agilent 6495 LC/TQ	Agilent Ultivo LC/TQ	
Источник ионизации	ESI/AJS		ESI/AJS	ESI
Диапазон массовых чисел, а.е.м.	от 5 до 3000		от 5 до 1400	
Чувствительность (отношение сигнал/шум), не менее [^] - при дозировании 1 пг резерпина в режиме "электроспрей", положительная ионизация, при отслеживании множественных реакций (MRM) по пику дочернего иона m/z 195,1 (m/z родительского иона 609,3)	7000	15000	3000	600
- при дозировании 1 пг левомецетина в режиме "электроспрей", отрицательная ионизация при отслеживании множественных реакций (MRM) по пику дочернего иона m/z 152,0 (m/z родительского иона 321,2)	3500	7500	1500	300
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала выходного сигнала, %, не более - по площади пика	8			

Результаты проверки считают удовлетворительными, если полученное значение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, полученное для одного из контрольных растворов (резерпина или левомецетина), не превышает значения, указанного в таблице 7.

10.2 При проведении периодической поверки хроматографов, эксплуатируемых по НД на методики, отвечающим требованиям ГОСТ Р 8.563-2009, проверяют показатели точности результатов измерений в соответствии с процедурами и нормативами контроля, регламентированными в методике измерений.

11 ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

В результате анализа характеристик, полученных в результате поверки, делается вывод о пригодности дальнейшего использования средства измерений. Критериями пригодности являются соответствие полученных значений чувствительности (отношения сигнал/шум), относительного СКО выходного сигнала масс-спектрометра установленным нормам (9.2, 10.1 и таблицы 7 настоящей методики поверки).

12 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

12.1 Результаты поверки масс-спектрометра заносят в протокол произвольной формы.

12.2 Результаты поверки передаются в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений. При положительных результатах поверки оформляют свидетельство о поверке в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений по письменному заявлению владельца или лица, представившего средство измерений на поверку.

12.3 На масс-спектрометр, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений оформляется извещение о непригодности с указанием причин.

12.4 Знак поверки наносится на свидетельство о поверке.

Начальник отдела 205 ФГБУ «ВНИИМС»



С.В. Вихрова

Начальник сектора 205/1 ФГБУ «ВНИИМС», к.х.н.



О.Л. Рутенберг

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

А.1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

А.1.1 ГСО 10165-2012 состава левомецетина, интервал допускаемых аттестованных значений СО от 95,0 % до 100,0 %, границы допускаемых значений относительной погрешности аттестованного значения при $P=0,95 \pm 2,0$ %.

А.1.2 Резерпин с содержанием основного вещества не менее 98,0, CAS 50-55-5.

А.1.3 Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011, с наибольшим пределом взвешивания 200 г.

А.1.4 Колбы мерные наливные 2-100-2, 2-1000-2, ГОСТ 1770-74.

А.1.5 Пипетки с одной отметкой 1-2-1, 1-2-25, ГОСТ 29169-91.

А.1.6 Стаканы В-1-50ТС, ГОСТ 25336-82.

А.1.7 Вода для лабораторного анализа, ГОСТ Р 52501-2005.

А.1.8 Дистиллированная вода, ГОСТ 6709-72.

А.1.9 Ацетонитрил LC-MS Grade, CAS 75-05-8.

А.1.10 Метанол марки А, ГОСТ 2222-95.

А.2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРОВ ЭЛЮЕНТОВ

А.2.1 Приготовление раствора ацетонитрила с объемной долей 75 %
25 см³ дистиллированной воды вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки ацетонитрилом. Тщательно перемешивают содержимое колбы.

А.2.2 Приготовление раствора метанола с объемной долей 75 %
25 см³ дистиллированной воды вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки метанолом. Тщательно перемешивают содержимое колбы.

А.3 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНОГО РАСТВОРА РЕЗЕРПИНА

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

Взвешивают в стакане 10,0 мг резерпина, добавляют 25 см³ раствора ацетонитрила с объемной долей 75 % или раствором метанола с объемной долей 75 %, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Ополаскивают стакан раствором ацетонитрила с объемной долей 75 % или раствором метанола с объемной долей 75 %, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки раствором ацетонитрила с объемной долей 75 % или раствором метанола с объемной долей 75 %, перемешивают.

А.3.2 Приготовление раствора резерпина с массовой концентрацией 0,1 мг/дм³
1 см³ раствора, приготовленного по А.3.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки раствором ацетонитрила с объемной долей 75 % или раствором метанола с объемной долей 75 %. Тщательно перемешивают.

А.3.3 Приготовление контрольного раствора резерпина с массовой концентрацией 0,001 мг/дм³
1 см³ раствора, приготовленного по А.3.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки раствором ацетонитрила с объемной долей 75 % или раствором метанола с объемной долей 75 %. Тщательно перемешивают.

Погрешность приготовления контрольного раствора ± 5 %.

А.4 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНОГО РАСТВОРА ЛЕВОМИЦЕТИНА

А.4.1. Приготовление исходного раствора левомецетина с массовой концентрацией 10 мг/дм^3

Взвешивают в стакане 10 мг левомецетина, добавляют 25 см^3 раствора ацетонитрила с объемной долей 75% или раствора метанола с объемной долей 75% , перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 . Ополаскивают стакан дистиллированной водой, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки раствором ацетонитрила с объемной долей 75% или раствором метанола с объемной долей 75% , перемешивают.

А.4.2 Приготовление раствора левомецетина с массовой концентрацией $0,1 \text{ мг/дм}^3$

1 см^3 раствора, приготовленного по А.4.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки раствором ацетонитрила с объемной долей 75% или раствором метанола с объемной долей 75% . Тщательно перемешивают.

А.4.3 Приготовление контрольного раствора левомецетина с массовой концентрацией $0,001 \text{ мг/дм}^3$

1 см^3 раствора, приготовленного по А.4.2, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки раствором ацетонитрила с объемной долей 75% или раствором метанола с объемной долей 75% . Тщательно перемешивают.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ Б**ФОРМИРОВАНИЕ ОТЧЕТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПО MassHunter
(Qualitative Analysis)**

- Б.1 Open Data Files (загрузка требуемых сигналов).
- Б.2 Smooth – Quadratic/Cubic Savitzky-Golay-11 points (сглаживание загруженных сигналов).
- Б.3 Integrate (MS/MS) (интегрирование загруженных сигналов).
- Б.4 Calculate signal-to-Noise – Height – Auto-RMS – Noise Region Width 1,0 min.
- Б.5 View – Integration Peak List (вывод данных о времени удерживания и площади пика на экран в виде таблицы).
- Б.6 File – Print – Print Workflow Report (вывод отчета с хроматограммой и результатом расчета на принтер или в PDF).
- Б.7 Внесите данные в сводный отчет Excel.