



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. Бульгин

« 14 » _____ 2023 г.



Государственная система обеспечения единства измерений

Детекторы масс-спектрометрические для жидкостных хроматографов
HELICON 5210

Методика поверки

009-42-23 МП

Москва
2023 г.

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на детекторы масс-спектрометрические для жидкостных хроматографов HELICON 5210 (далее – детекторы масс-спектрометрические) и устанавливает методику их первичной и периодических поверок.

Используемые средства поверки обеспечивают прослеживаемость детекторов масс-спектрометрических 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 ГПЭ единицы оптической плотности ГЭТ 206 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, определение чувствительности (отношения сигнал/шум); определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала.

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 электро-спреем при отслеживании множественных реакций (MRM, переход m/z 321 → 152) при дозировании 10 пг левомецетина, не менее	25000:1
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения (ОСКО) выходного сигнала при дозировании 100 пг левомецетина, % - по площади пика - по времени удержания	5,0 1,0

1 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

1.1 При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в таблице 2

Таблица 2

Наименование операции поверки	Обязательность выполнения операций поверки при		Номер пункта методики, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной поверке	периодической поверке	
1. Внешний осмотр	Да	Да	6
2. Подготовка к поверке и опробование	Да	Да	7

Наименование операции поверки	Обязательность выполнения операций поверки при		Номер пункта методики, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной поверке	периодической поверке	
3. Проверка программного обеспечения	Да	Да	8
4. Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям:	Да	Да	9
5. Определение чувствительности (отношение сигнал/шум)	Да	Да	9.1
6. Определение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала (площади пика, времени удержания)	Да	Да	9.2
7. Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	Да	Да	9.3

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 детекторов масс-спектрометрических.

Для получения данных допускается участие операторов, обслуживающих детектор масс-спектрометрический (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, пределы допускаемой погрешности измерений $\pm 0,5$ °С Средства измерений относительной влажности окружающего воздуха в диапазоне от 5% до 95% пределы допускаемой абсолютной погрешности $\pm 2\%$, Средства измерений атмосферного давления в диапазоне от 600 до 1100 мбар предел допускаемой абсолютной погрешности ± 3 мбар	Измеритель комбинированный Testo 176-P1, рег. №48550-11
7.1 Подготовка контрольных растворов – Приложение 1	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
п. 9 Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерения метрологическим требованиям	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 левомецетина, массовая доля левомецетина не менее 95,0 %, допускаемые значения относительной погрешности аттестованного значения $\pm 2\%$ при $P=0,95$	ГСО 10165-2012 состава пестицида левомецетина
	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 детекторы масс-спектрометрические.

6 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

При внешнем осмотре устанавливают:

- соответствие комплектности поверяемого детектора масс-спектрометрического требованиям эксплуатационной документации;
- четкость маркировки;
- исправность механизмов и крепёжных деталей;
- отсутствие видимых механических повреждений, влияющих на работоспособность детекторов масс-спектрометрических.

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.

Детектор масс-спектрометрический 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 в подпапке MassAnalyst папки MassExpert.P004.V005.002.

Расположение файла: «X:\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. Версия ПО должна соответствовать версии, приведенной в таблице 5.

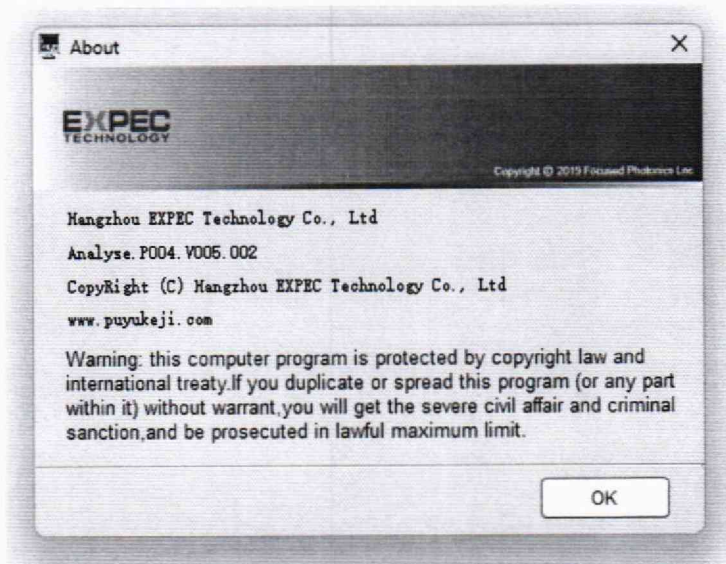


Рисунок 1- Номер версии ПО

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

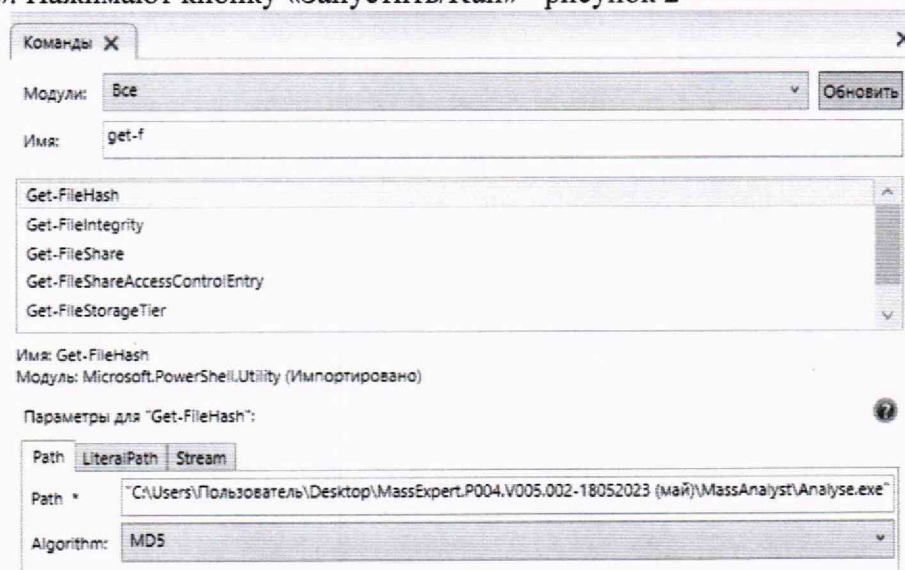


Рисунок 2 – Вычисление контрольной суммы

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

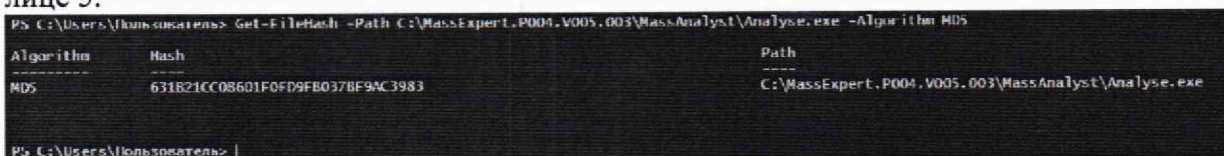


Рисунок 3 – Результат вычисления контрольной суммы метрологически значимого файла Analyse.exe.

9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

9.1 Определение чувствительности (отношение сигнал/шум).

Определение отношения сигнал/шум выполняют на детекторе масс-спектрометрическом с включенным режимом CPS (корректирующий фактор 0,1 для сигнала ниже 599 и корректирующий фактор 1,0 для уровня сигнала более 600). Определение отношения сигнал/шум проводят с использованием контрольного раствора с массовой концентрацией левомецетина 1 мкг/дм³, 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)	6.0*

Режимные параметры	Значение
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/Collision energy	20*
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)	
поток в колонке/Flow rate, мл/мин	0.4*

* - параметры установить опытным путем, при опробовании.

После выхода детектора масс-спектрометрического на режим вводят 10 мм³ контрольного раствора.

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 (по площади пика, по времени удержания).

Определяют относительное СКО выходного сигнала по контрольному раствору с массовой концентрацией 10 мкг/см³ 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 мм³ контрольного раствора. Контрольный раствор вводят в детектор масс-спектрометрический 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 относительное среднее квадратическое отклонение выходного сигнала по формуле (1):

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

где X_i – i -ое значение выходного сигнала (времени удержания или площади пика);
 n – число измерений;

\bar{X} – среднее арифметическое значение параметра выходного сигнала (площади пика, времени удержания).

9.3 Подтверждение соответствия средства измерения метрологическим требованиям.

Детектор масс-спектрометрический 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	631B21CC0B6D1F0FD9FB037BF9AC3983

9.3.3 Отношение сигнал/шум не менее 25000:1.

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

10 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

10.1 Результаты поверки заносят в протокол произвольной формы.

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

10.3 При отрицательных результатах поверки детекторы масс-спектрометрические 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 детектор масс-спектрометрический 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

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/дм³.

В емкость для взвешивания, помещенную на чашу аналитических весов, вносят 10 мг левомицетина. Дозатором пипеточным добавляют в емкость для взвешивания 1 см³ метанола, после чего переливают полученную смесь в мерную колбу вместимостью 100 см³. 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/дм³.

1 см³ раствора А отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.3 Приготовление раствора В с массовой концентрацией левомицетина 1 мг/дм³.

1 см³ раствора Б отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.4 Приготовление раствора Г с массовой концентрацией левомицетина 100 мкг/дм³ (100 нг/мм³).

1 см³ раствора В отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.5 Приготовление раствора Д с массовой концентрацией левомицетина 10 мкг/дм³ (10 нг/мм³).

1 см³ раствора Г отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³. Доводят объем раствора в колбе до метки метанолом.

2.1.6 Приготовление раствора Е с массовой концентрацией левомицетина 1 мкг/дм³ (1 нг/мм³).

1 см³ раствора Д отбирают дозатором пипеточным и переносят в мерную колбу вместимостью 10 см³. 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.

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 (ставятся галочки).
- 5 В окне Результаты графика ТИС/TIC chart result выбирается значок  Наложение графиков/Spectral stacking и закрываются единичные графики.
- 6 В окне Результаты графика ТИС/ TIC chart result выбирается значок  Список с информацией о пике/Peak information list.
- 7 В окне Результаты графика ТИС/ 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.