

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

СОГЛАСОВАНО

**Заместитель директора
по производственной метрологии
ФГБУ «ВНИИМС»**



_____ **А.Е. Коломин**

М.п.

_____ **2024 г.**

**Государственная система обеспечения единства измерений
Хроматограф жидкостный Vanquish
с масс-спектрометрическим детектором Orbitrap Exploris MX
и детектором на диодной матрице**

Методика поверки

МП 205-07-2024

**г. Москва
2024 г.**

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Настоящая методика распространяется на хроматограф жидкостный Vanquish с масс-спектрометрическим детектором Orbitrap Exploris MX и детектором на диодной матрице (далее по тексту – хроматограф), изготовленный фирмой "Thermo Fisher Scientific (Bremen) GmbH", Германия, и устанавливает методы и средства его первичной поверки после выпуска из производства и после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Прослеживаемость поверяемого СИ реализуется посредством применения ГСО:

- к единице молярной концентрации в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений содержания неорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах, утвержденной Приказом Росстандарта от 19.02.2021 г. № 148, подтверждающей прослеживаемость к государственному первичному эталону ГЭТ 176-2019;

- к единице массы (кг) в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений массы, утвержденной Приказом Росстандарта от 04.07.2022 г. № 1622, подтверждающей прослеживаемость к государственному первичному эталону ГЭТ 3-2020;

- к единице объема (m^3) в соответствии с государственной поверочной схемой для средств измерений массы и объема жидкости в потоке, объема жидкости и вместимости при статических измерениях массового и объемного расходов жидкости, утвержденной Приказом Росстандарта от 26.09.2022 г. № 2356, подтверждающей прослеживаемость к государственному первичному эталону ГЭТ 216-2018.

Методы, обеспечивающие реализацию методики проверки – косвенные.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ

2.1 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
Внешний осмотр	7	Да	Да
Проверка программного обеспечения	9	Да	Да
Опробование:	10	Да	Да
- определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала хроматографа с детектором на диодной матрице	10.1	Да	Да
- определение предела детектирования детектором на диодной матрице	10.2	Да	Да
- определение отношения сигнал/шум хроматографа с масс-спектрометрическим детектором	10.3	Да	Да
Определение метрологических характеристик и подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям:	11	Да	Да
- определение относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала	11.1	Да	Да

Наименование операции	Номер пункта методики поверки	Проведение операции при	
		первичной поверке	периодической поверке
- определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы хроматографа	11.2	Да	Да
Оформление результатов поверки	12	Да	Да

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

2.3 Поверка по отдельному измерительному каналу (детектору) в соответствии с порядком, утвержденным Приказом Министерства промышленности и торговли РФ № 2510 от 31.07.2020 г. «Об утверждении порядка проведения поверки средств измерений, требований к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке», проводится на основании письменного заявления владельца средства измерений или лица, предоставившего его на поверку.

Информация об объеме проведенной поверки передается в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений (ФИФОЕИ).

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °C от +18 до +27
- атмосферное давление, кПа от 84,0 до 106,7
- относительная влажность воздуха, % от 20 до 80

4 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.

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

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

Таблица 2 - Средства поверки

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
3.1	Средства измерений температуры окружающей среды в диапазоне измерений от 15 °C до 27 °C с абсолютной погрешностью не более $\pm 1^\circ\text{C}$ Средства измерений относительной влажности воздуха в диапазоне от 15 % до 85 % с абсолютной погрешностью не более $\pm 3\%$	Прибор комбинированный Testo мод. 608-N1 (рег. № 53505-13)

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
	Средства измерений атмосферного давления в диапазоне измерений от 84,0 до 106,7 кПа с абсолютной погрешностью не более ± 3 кПа	Барометр-анероид метеорологический БАММ-1, рег. № 5738-76
10.2	Средства измерений времени в диапазоне измерений от 0 до 60 мин с абсолютной погрешностью не более ± 5 с Номинальная длина шкалы 20 м, цена деления шкалы 1 мм, допускаемое отклонение действительной длины интервалов шкалы $\pm 0,2$ мм	Секундомер механический однострелочный СОСпр-36-2-000 (рег. № 83109-21) Линейки измерительные металлические (рег. № 66266-16)
10.2, 11.1, 11.2	Контрольный раствор с массовой концентрацией кофеина 10 мг/дм ³ Контрольный раствор с массовой концентрацией резерпина 0,01 мг/дм ³	ГСО 12061-2022 ГСО 11872-2022 Контрольные растворы, приготовленные по методике, приведенной в приложении А
	Вспомогательные средства поверки: Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011 с пределом взвешивания 200 г. Колбы мерные наливные 2-100-2, 2-1000-2, ГОСТ 1770-74 Пипетки с одной отметкой 1-2-10, 1-2-25, ГОСТ 29169-91 Пипетки градуированные 1-2-2-10, 1-2-25, ГОСТ 29227-91 Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, ТУ 6-09-14-2167-84 Вода дистиллированная, ГОСТ Р 58144-2018	

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

5.3 Все средства измерений для поверки должны быть утвержденного типа, поверены и соответствовать требованиям методики поверки. Стандартные образцы, используемые при поверке, должны быть утвержденного типа, соответствовать требованиям методики поверки и иметь действующие паспорта.

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

6.1 При проведении поверки выполняют требования безопасности, изложенные в руководствах по эксплуатации хроматографа жидкостного Vanquish, масс-спектрометрического детектора Orbitrap Exploris MX и детектора на диодной матрице.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

При внешнем осмотре устанавливают

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

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

8.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы.

8.1.1 Готовят контрольные растворы, назначение и содержание анализируемых компонентов в которых приведены в таблицах 4 и 5.

8.1.2 Методика приготовления контрольных растворов приведена в приложении А.

8.1.3 Перед проведением поверки хроматограф готовят к работе в соответствии с руководством по эксплуатации.

Хроматограф выдерживают не менее 30 минут после включения для установления динамического равновесия в системе (выхода на режим).

Перед включением детекторов хроматографическую систему промывают подвижной фазой не менее 10 минут.

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

9.1 Запускают ПО хроматографа. На экране 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	Xcalibur
Номер версии (идентификационный номер ПО), не ниже	4.5.455.18
Цифровой идентификатор ПО	-

9.2 Результаты операции поверки считают положительными, если идентификационные данные ПО соответствуют приведенным в таблице 3.

10 ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

10.1 Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала детектора на диодной матрице

10.1.1 Для проверки уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала отключают колонку, водой промывают автосамплер (инжектор) и насос, колонку заменяют на капилляр типа «вайпер» длиной от 30 до 50 см и внутренним диаметром от 0,1 до 0,3 мм.

Определение уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала хроматографа с детектором на диодной матрице проводят после выхода детектора на режим (время прогрева не менее одного часа). В качестве элюента используют раствор ацетонитрила в воде с объемным отношением 80:20. Скорость потока элюента 1 см³/мин. После выхода хроматографа на режим в течение 30 минут записывают нулевой сигнал на шкале с максимальной чувствительностью в координатах «сигнал – время» на длине волны 254 нм.

Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала (ΔX) принимают равным амплитуде (h) повторяющихся колебаний нулевого сигнала с периодом не более 20 с.

Дрейф нулевого сигнала принимают равным наибольшему смещению нулевого сигнала в течение 1 часа. Допускается регистрировать нулевой сигнал в течение 30 мин с последующим пересчетом.

10.1.2 Обработку данных допускается проводить с помощью ПО или вручную.

Автоматическое измерение уровня флуктуационных шумов проводят при помощи программного обеспечения по алгоритму «Пик к Пику».

Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала вручную показано на рис.1.

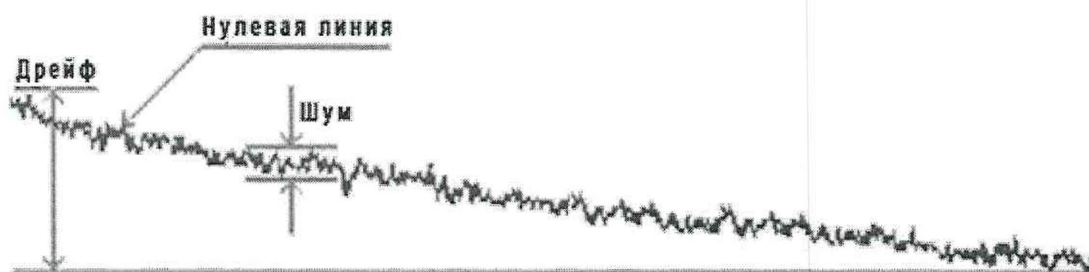


Рисунок 1 – Определение уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала

10.1.3 Результаты операции поверки считают положительными, если полученные значения уровня флуктуационных шумов нулевого сигнала и дрейфа нулевого сигнала соответствуют приведенным в таблице 6

10.2 Определение предела детектирования хроматографа с детектором на диодной матрице

10.2.1 Определение предела детектирования выполняют на хроматографе, укомплектованном аналитической колонкой.

Предел детектирования хроматографа определяют с использованием контрольных веществ, элюентов и условий, указанных в таблице 4.

Таблица 4 - Условия определения предела детектирования и метрологических характеристик хроматографа с детектором на диодной матрице

Контрольное вещество и растворитель	Массовая концентрация контрольного вещества, мг/см ³	Объем вводимой пробы, см ³	Элюент	Скорость потока элюента, см ³ /мин	Режим
Кофеин в воде	0,01	0,02	Ацетонитрил: вода 80 : 20	1	Одноволновой режим с длиной волны детектирования 272 нм, температура колонки 45 °С

В хроматограф вводят пробу контрольного вещества, определяют высоту и ширину пика на половине его высоты $\mu_{0,5}$.

Предел детектирования рассчитывают по формуле

$$C_{\min} = \frac{2 \cdot \Delta x \cdot C_1 \cdot V \cdot 60}{1000 \cdot S \cdot v},$$

где C_1 - массовая концентрация контрольного вещества, мг/см³;

V - объем вводимой пробы, см³;

v - скорость потока элюента, см³/мин;

60 - коэффициент пересчета минут в секунды;

S - площадь пика контрольного вещества, (е.о.п.·с);

Δx - уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, (е.о.п.), определенный после выхода хроматографа на режим по п. 10.1.

10.2.2 Результаты операции поверки считают положительными, если полученное значение предела детектирования соответствует приведенному в таблице 6

10.3 Определение чувствительности (отношения сигнал/шум) хроматографа с масс-спектрометрическим детектором Orbitrap Exploris MX в режиме «электроспрей»

10.3.1 В качестве контрольного раствора используют раствор с массовой концентрацией резерпина в метаноле 0,01 мг/дм³, приготовленный по методике, приведенной в Приложении А. Измерения проводят после выхода хроматографа на режим при условиях, указанных в таблице 5.

Значения отношения сигнал/шум для иона m/z 609,28 рассчитывают с помощью программного обеспечения.

Таблица 5 - Режимные параметры хроматографа жидкостного Vanquish с масс-спектрометрическим детектором Orbitrap Exploris MX

Характеристика*	Значение
Режим ионизации	Электроспрей H-ESI, положительная ионизация
Элюент	Ацетонитрил : вода 50 : 50
Режим элюирования	изократический
Ввод пробы	через колонку
Контрольный раствор	резерпин в метаноле
Массовая концентрация контрольного вещества, мг/л	0,01
Объем пробы контрольного раствора, мкл	5
Скорость потока элюента, мл/мин	0,5
Разрешение	60000
Ион	609,28
Температура колонки, °C	45
Хроматографическая колонка	C18 3,5 мкм 2,1x50 мм
*Параметры имеют рекомендательный характер и могут быть изменены с целью оптимизации результатов измерений.	

10.3.2 Результаты операции поверки считают положительными, если полученное значение отношения сигнал/ шум соответствует приведенному в таблице 7

11 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

11.1 Определение относительного среднего квадратичного отклонения (ОСКО) выходного сигнала

Определение метрологических характеристик выполняют на хроматографе, укомплектованном аналитической колонкой с использованием контрольных растворов, элюентов и условий, указанных в таблице 4 или 5. Скорость потока элюента 1 см³/мин.

Контрольный раствор вводят в хроматограф не менее 6 раз, измеряют значения выходного сигнала (площади пика и времени удерживания) и вычисляют их среднее арифметическое значение \bar{X} .

Относительное среднее квадратичное отклонение выходного сигнала рассчитывают по формуле

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

где X_i – значение выходного сигнала (площади пика, времени удерживания) при i -том измерении;

n – количество измерений.

Полученные значения относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала (площади пика) (σ) хроматографа с соответствующим детектором не должны превышать значений, приведенных в таблицах 6 - 7.

11.2 Определение относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы

Проводят операции, описанные в разделе 11.1. Через 8 часов непрерывной работы повторяют измерения.

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

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

где \bar{X}_t – среднее значение выходного сигнала (площади пика) через 8 часов непрерывной работы;

Полученные значения относительного изменения выходного сигнала (площади пика) (δ) хроматографа за 8 часов непрерывной работы с соответствующим детектором не должны превышать значений, приведенных в таблицах 6 - 7.

11.3 Подтверждение соответствия хроматографа метрологическим требованиям

Хроматограф жидкостный Vanquish с масс-спектрометрическим детектором Orbitrap Exploris MX и детектором на диодной матрице соответствует метрологическим требованиям, указанным в его описании типа, если полученные значения уровня флуктуационных шумов и дрейфа нулевого сигнала, предела детектирования для детектора на диодной матрице, отношения сигнал/шум масс-спектрометрического детектора, относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, относительного изменения выходного сигнала за 8 часов непрерывной работы не превышают значений, указанных в таблицах 6 - 7.

Таблица 6 - Метрологические характеристики хроматографа жидкостного Vanquish с детектором на диодной матрице

Наименование характеристики	Значение
Уровень флуктуационных шумов нулевого сигнала, е.о.п., не более	$1 \cdot 10^{-4}$
Дрейф нулевого сигнала, е.о.п./ч, не более	$2 \cdot 10^{-3}$
Предел детектирования по кофеину, г/см ³ , не более	$1 \cdot 10^{-8}$
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %:	
- площади пика	2
- времени удерживания	1
Пределы допускаемого относительного изменения выходного сигнала (площади пика) за 8 часов непрерывной работы, %	± 3

Таблица 7 - Метрологические характеристики хроматографа жидкостного Vanquish с масс-спектрометрическим детектором Orbitrap Exploris MX

Наименование характеристики	Значение
Чувствительность (отношение сигнал/шум) при дозировании 50 пг резерпина (положительная ионизация в электроспрее, сканирование по иону с m/z 609,28), не менее	100:1
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, %:	
- площади пика	5
- времени удерживания	2
Пределы допускаемого относительного изменения выходного сигнала (площади пика) за 8 часов непрерывной работы, %	± 10

12 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

12.1 Результаты поверки хроматографа 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 хроматограф, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений оформляется извещение о непригодности с указанием причин по письменному заявлению владельца или лица, представившего средство измерений на поверку.

12.4 Знак поверки наносится на свидетельство о поверке (при его оформлении).

Начальник отдела 205 ФГБУ "ВНИИМС"



С.В. Вихрова

Начальник сектора 205 ФГБУ "ВНИИМС", к.х.н.



О.Л. Рутенберг

Инженер 1 категории ФГБУ «ВНИИМС»



Д.Р. Гуммель

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

А.1 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

А.1.1 ГСО 12061-2022 стандартный образец состава резерпина (Рзп-ВНИИМ-ЭС), интервал допускаемых аттестованных значений массовой доли резерпина от 99,3 % до 99,85 %, границы допускаемых значений абсолютной погрешности аттестованного значения СО при $P=0,95 \pm (0,46 \cdot (100-w))$ %, где w – массовая доля резерпина, %.

А.1.2 ГСО 11872-2022 стандартный образец состава кофеина (Кфн СО УНИИМ) с аттестованным значением массовой доли кофеина от 97,00 % до 99,99 % и границами допускаемой абсолютной погрешности ± 1 % при $P=0,95$.

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 1-2-10, 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 Р 58144-2018.

А.1.9 Метанол марки А, ГОСТ 2222-95.

Примечание - Допускается использование иных средств измерений и оборудования с метрологическими и техническими характеристиками не хуже указанных.

А.2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНОГО РАСТВОРА РЕЗЕРПИНА

А.2.1. Приготовление исходного раствора резерпина с массовой концентрацией 10 мг/дм^3

Взвешивают в стакане 10,0 мг резерпина, добавляют 25 см^3 раствора метанола, перемешивают. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см^3 . Ополаскивают стакан метанолом, раствор переносят в мерную колбу, доводят до метки метанолом, перемешивают.

А.2.2 Приготовление раствора резерпина с массовой концентрацией $0,1 \text{ мг/дм}^3$ (100 мкг/дм^3)

1 см^3 раствора, приготовленного по А.2.1, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и доводят до метки метанолом. Тщательно перемешивают.

А.2.3. Приготовление раствора резерпина с массовой концентрацией $0,01 \text{ мг/дм}^3$ (10 мкг/дм^3)

1 см^3 раствора, приготовленного по А.2.2, переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3 и доводят до метки метанолом. Тщательно перемешивают.

А.3 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНОГО РАСТВОРА КОФЕИНА

А.3.1 Приготовление раствора кофеина с массовой концентрацией 100 мг/дм^3

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 помещают 10,0 мг кофеина, растворяют, доводят объём раствора водой до метки, перемешивают.

А.3.2 Приготовление водного раствора кофеина с массовой концентрацией 10 мг/дм^3

1 см^3 раствора кофеина, приготовленного в соответствии с А.3.1, переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3 . Далее доводят до метки водой и перемешивают.