

Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»
УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

СОГЛАСОВАНО

Директор УНИИМ – филиала
ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»

Е.П. Соби́на



12 2024 г.

«ГСИ. Масс-спектрометры Agilent 6475.
Методика поверки»

МП 94-241-2024

Екатеринбург

2024

ПРЕДИСЛОВИЕ

- 1 РАЗРАБОТАНА** Уральским научно-исследовательским институтом метрологии – филиалом Федерального государственного унитарного предприятия «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева» (УНИИМ – филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»)
- 2 ИСПОЛНИТЕЛЬ** с.н.с. лаборатории 241 Крашенинина М.П.
- 3 СОГЛАСОВАНА** директором УНИИМ - филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева» в декабре 2024 г.

СОДЕРЖАНИЕ

1	ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ.....	4
2	НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	5
3	ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ	5
4	ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ.....	6
5	ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ	6
6	МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ	6
7	ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ	7
8	ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ.....	7
9	ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ	8
10	ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ	8
11	ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ	9
12	ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ.....	11
13	ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ	12
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	13

Государственная система обеспечения единства измерений. Масс-спектрометры Agilent 6475. Методика поверки	МП 94-241-2024
---	----------------

1 Общие положения

1.1 Настоящая методика поверки распространяется на масс-спектрометры Agilent 6475 (далее – масс-спектрометры) и устанавливает методы и средства первичной и периодической поверок. Поверка масс-спектрометров должна осуществляться в соответствии с требованиями настоящей методики поверки.

1.2 При проведении поверки обеспечивается прослеживаемость масс-спектрометров к государственному первичному эталону единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии ГЭТ 208-2024 согласно государственной поверочной схемы, утвержденной приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10.06.2021 года № 988.

Настоящей методикой поверки предусмотрена поверка методом прямых измерений.

1.3 Настоящая методика поверки применяется для поверки масс-спектрометров, используемых в качестве рабочих средств измерений. В результате поверки должны быть подтверждены метрологические требования, приведенные в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики

Наименование характеристики	Значение
Отношение сигнал/шум при дозировании 1 пг резерпина в режиме "электроспрей", положительная ионизация, при отслеживании множественных реакций (MRM) по пику дочернего иона m/z 195,1 (родительского иона m/z 609,3), не менее	6000
Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения (СКО) выходного сигнала по площади пика, %	8

2 Нормативные ссылки

2.1 В настоящей методике поверки использованы ссылки на следующие документы:

Приказ Минпромторга России от 31.07.2020 г. №2510 «Об утверждении Порядка проведения поверки средств измерений, требований к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке»

Приказ Минпромторга России от 28.08.2020 г. № 2906 «Об утверждении порядка создания и ведения Федерального информационного фонда по обеспечению единства измерений, передачи сведений в него и внесения изменений в данные сведения, предоставления содержащихся в нем документов и сведений»

Приказ Минтруда России от 15.12.2020г. №903н «Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок»

Приказ Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10.06.2021 г. № 988 «Об утверждении Государственной поверочной схемы для средств измерений содержания органических и элементарноорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах»

ГОСТ 12.2.007.0–75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ Р 58144-2018 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия

ГОСТ R OIML 76-1-2011 ГСИ. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2222-95 Метанол технический. Технические условия

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 29169-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

3 Перечень операций поверки

3.1 При поверке должны быть выполнены операции, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Операции поверки

Наименование операции	Обязательность проведения операций при		Номер раздела (пункта) методики поверки, в соответствии с которым выполняется операция поверки
	первичной поверке	периодической поверке	
Внешний осмотр	да	да	8
Подготовка к поверке и опробование	да	да	9
Проверка программного обеспечения	да	да	10
Определение метрологических характеристик:			
- определение отношения сигнал/шум;	да	да	11.1
- определение относительного СКО выходного сигнала	да	да	11.2
Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	да	да	12

3.2 В случае невыполнения требований хотя бы к одной из операций поверка прекращается, масс-спектрометр бракуется.

3.3 Проведение поверки в сокращенном объеме не допускается.

4 Требования к условиям проведения поверки

При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С от +15 до +25;
- относительная влажность воздуха, %, не более 80;
- атмосферное давление, кПа от 84 до 106.

5 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

К проведению работ по поверке масс-спектрометра допускаются лица, прошедшие специальное обучение в качестве поверителя, инструктаж и обученные работе с масс-спектрометром.

6 Метрологические и технические требования к средствам поверки

6.1 При проведении поверки применяют средства поверки, приведенные в таблице 3.

Таблица 3 – Средства поверки

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
Раздел 9 Подготовка к поверке и опробование	Диапазоны измерений температуры и относительной влажности не менее требуемых по п.4. Допускаемая абсолютная погрешность измерений температуры ± 2 °С, относительной влажности $\pm 5,0$ %.	Гигрометр Rotronic HygroPalm, рег. № 26379-04

Операции поверки, требующие применения средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
	Диапазон измерений давления от 84 до 106 кПа, пределы допускаемой погрешности измерений $\pm 0,2$ кПа	Барометр-анероид метеорологический БАММ-1, рег. 5738-76
Раздел 11 Определение метрологических характеристик средства измерений	Контрольный раствор резерпина, приготовленный по методике, приведенной в приложении А. Стандартный образец утвержденного типа состава резерпина с массовой долей резерпина от 99,3 % до 99,85 %, границы допускаемых значений абсолютной погрешности $0,46 \cdot (100 - \omega)$, где ω - аттестованное значение стандартного образца.	Стандартный образец состава резерпина (Рзп-ВНИИМ-ЭС) ГСО 12061-2022
	Весы I (специального) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с абс. погрешностью $\pm 1,0$ мг	Весы лабораторные электронные LE 225D, рег. 28158-04
	Колбы мерные 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770 Пипетки с одной меткой 1-2-1, 1-2-25 по ГОСТ 29169 Стакан В-1-150ТС по ГОСТ 25336 Вода для лабораторного анализа по ГОСТ 52501 Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144 Ацетонитрил LC-MS, CAS 78-05-8 Метанол марки А по ГОСТ 2222	

6.2 Средства измерений, применяемые при поверке, должны быть поверены, стандартный образец должен иметь действующий паспорт.

6.3 Допускается применение аналогичных средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемого масс-спектрометра с требуемой точностью.

7 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

7.1 При проведении поверки должны быть соблюдены «Правила по охране труда при эксплуатации электроустановок», утвержденные Приказом Минтруда России №903н от 15 декабря 2020 г., требования ГОСТ 12.2.007.0.

8 Внешний осмотр средства измерений

8.1 При внешнем осмотре установить:

- соответствие внешнего вида масс-спектрометра сведениям, приведенным в описании типа;
- отсутствие видимых повреждений масс-спектрометра;

- соответствие комплектности, указанной в эксплуатационной документации (далее – ЭД);
- четкость обозначений и маркировки.

8.2 В случае, если при внешнем осмотре масс-спектрометра выявлены повреждения или дефекты, способные оказать влияние на безопасность проведения поверки или результаты поверки, то поверка может быть продолжена только после устранения этих повреждений или дефектов.

9 Подготовка к поверке и опробование средства измерений

9.1 Подготовка к проведению поверки

9.1.1 Провести контроль условий поверки с помощью гигрометра и барометра в соответствии с таблицей 3.

9.1.2 Перед проведением поверки масс-спектрометр подготовить к работе в соответствии с руководством по эксплуатации (далее – РЭ).

9.1.3 Подготовить контрольный раствор с массовой долей резерпина в ацетонитриле 0,001 мг/дм³. Методика приготовления контрольного раствора приведена в приложении А.

9.2 Опробование

9.2.1 При опробовании проверить работоспособность органов управления и регулировки масс-спектрометра при помощи встроенных систем контроля в соответствии с РЭ. Рекомендуется провести кондиционирование хроматографической колонки в соответствии с руководством по эксплуатации жидкостного хроматографа, используемого для ввода пробы в масс-спектрометры.

10 Проверка программного обеспечения средства измерений

10.1 Провести проверку идентификационных данных программного обеспечения (далее – ПО) масс-спектрометра. Для однозначной идентификации ПО достаточно определения только номера версии (идентификационного номера). Номер версии ПО может быть выведен в окне ПО масс-спектрометра при обращении к подпункту «i» – «Информация», которое расположено в правом верхнем углу.

Идентификационные данные ПО должны соответствовать указанным в таблице 4.

Таблица 4 – Идентификационные данные ПО

Идентификационные данные (признаки)	Значение
Идентификационное наименование ПО	MassHunter
Номер версии (идентификационный номер) ПО	12.X ¹⁾
Цифровой идентификатор ПО	–
¹⁾ X относится к метрологически незначимой части ПО и принимает значения от 0 до 99	

11 Определение метрологических характеристик средства измерений

11.1 Определение отношения сигнал/шум масс-спектрометра

При определении отношения сигнал/шум используют хроматографическую колонку, указанную в таблице 5. Отношение сигнал/шум определяют с использованием контрольного раствора при условиях¹, приведенных в таблице 5.

Таблица 5 – Условия проведения измерений

Наименование характеристики	Значение
Полярность источника ионизации (Polarity)	Положительный (Positive)
Источник ионизации	Электроспрей при атмосферном давлении (ESI/AJS или ESI)
Контрольный раствор	Раствор резерпина в метаноле или ацетонитриле, приготовленный по методике, приведенной в приложении А
Массовая концентрация контрольного раствора, мг/дм ³	0,001
Объем пробы контрольного раствора, мкл	1
Раствор для промывки иглы автосэмплера	Метанол/вода 75:25 или ацетонитрил/вода 75:25
Режим подачи элюента	Программирование элюента по таблице 6
Температура термостата автосэмплера*, °C	4
Скорость потока элюента, см ³ /мин	0,4
Время измерений (Stop Time), мин	5
Температура осушающего газа (Drying Gas Temperature), °C	325
Скорость потока осушающего газа (Drying Gas Flow), см ³ /мин	10
Давление распылителя (Nebulizer Pressure), psi	20
Температура фокусирующего газа (Sheat Gas Flow), °C	400
Скорость потока фокусирующего газа (Sheat Gas Flow)	12
Напряжение сопла (Nozzle voltage), В	0
Напряжение на капилляре (Capillary voltage), В	3000
Напряжение на электронном умножителе (Delta EMV), В	200 Delta EMV (+)
Временной фильтр (Time Filtering), мин	0,03
Сканирование (Scan)	MRM

¹ Параметры имеют рекомендательный характер и могут быть изменены с целью оптимизации результатов измерений

Наименование характеристики	Значение
Разрешение первого квадруполь (MSI Resolution)	Широкое (Wide)
Разрешение второго квадруполь (MS2 Resolution)	Единичное (Unit)
Родительский ион (Precursor ion)	609,3 m/z
Дочерний ион (Product ion)	195,1 m/z
Напряжение на фрагменторе (Fragmentor Voltage), В	195
Время задержки (Dwell time), м с	200
Энергия соударительной ячейки (Collision Cell Energy), В	42
Напряжение ускорения соударительной ячейки (Collision Cell Accelerator Voltage), В	4
Напряжение на воронке RF низкого давления (Low Pressure Funnel RF), В	110
Напряжение на воронке RF высокого давления (High Pressure Funnel RF), В	200
Используемая хроматографическая колонка	Zorbax SB-C 18 2,1мм/50мм/ 1,8 микрон или аналогичная
* При наличии термостата автосэмплера.	

Таблица 6 – Программа градиента в режиме положительной ионизации

Время, мин	А, %	В, %	Скорость потока, см ³ /мин
	Вода и раствор муравьиной кислоты с молярной концентрацией 5 моль/дм ³ в объемном соотношении (99,9:90,1)	Метанол или ацетонитрил и раствор муравьиной кислоты с молярной концентрацией 5 моль/дм ³ в объемном соотношении (99,9:0,1)	
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) резерпина для перехода m/z 609,3>195,1. Значения отношения сигнал/шум рассчитывают с помощью программного обеспечения MassHunter.

11.2 Определение относительного среднего квадратического отклонения (ОСКО) выходного сигнала масс-спектрометра

11.2.1 Определение ОСКО провести с использованием контрольного раствора резерпина с массовой концентрацией 0,001 мг/дм³, приготовленного в соответствии с приложением А.

11.2.2 Измерения проводят после выхода масс-спектрометра на режим. Режим измерений устанавливают в соответствии с таблицами 5, 6.

11.2.3 В хроматограф, подключенный к масс-спектрометру, вводят не менее 6 раз контрольный раствор и измеряют значения площадей пиков. Результаты измерений заносят в протокол.

12 Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям

12.1 Для результатов измерений, полученных по 11.1, определяют отношение сигнал/шум с помощью ПО MassHunter по следующей схеме:

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

Результаты определения отношения сигнал/шум масс-спектрометра считают положительными, если наименьшее значение отношения сигнал/шум, полученное для контрольного раствора из серии трех измерений, не менее значения, приведенного в таблице 1.

12.2 Для результатов измерений, полученных по 11.2, рассчитывают ОСКО по формуле:

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

где $\bar{S}$, S_i , - среднее арифметическое и i-ое измеренное значение площади пика соответственно, усл.ед.;

n – количество измерений.

Результаты операции считают положительными, если полученное значение относительного среднего квадратического отклонения выходного сигнала, полученное для контрольного раствора резерпина, не превышает значения, приведенного в таблице 1

13 Оформление результатов поверки

13.1 Оформляют протокол проведения поверки в произвольной форме.

13.2 При положительных результатах поверки масс-спектрометр признают пригодным к применению.

13.3 Нанесение знака поверки и пломбирование масс-спектрометра не предусмотрено.

13.4 При отрицательных результатах поверки масс-спектрометр признают непригодным к дальнейшей эксплуатации.

13.5 Сведения о результатах поверки передают в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений в соответствии с Приказом Минпромторга России от 28.08.2020 г. № 2906.

13.6 По заявлению владельца масс-спектрометра или лица, представившего масс-спектрометр на поверку, при положительных результатах поверки оформляется свидетельство о поверке в соответствии с Приказом Минпромторга России от 31.07.2020 г. № 2510, при отрицательных – извещение о непригодности к применению масс-спектрометра.

С.н.с. лаб. 241 УНИИМ – филиала
ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»



М.П. Крашенинина

Приложение А
(рекомендуемое)
Методика приготовления контрольного раствора

А.1 Средства измерений, посуда, реактивы

А.1.1 ГСО 12061-2022 состава резерпина (Рзп-ВНИИМ-ЭС), интервал допускаемых аттестованных значений СО от 99,3 % до 99,85 %, границы допускаемых значений абсолютной погрешности $0,46 \cdot (100 - \omega)$, где ω - аттестованное значение стандартного образца;

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

А.1.3 Колбы мерные 2-100-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74.

А.1.4 Пипетки с одной меткой 1-2-1, 1-2-25 по ГОСТ 29169-91.

А.1.5 стакан В-1-150ТС по ГОСТ 25336-82.

А.1.6 Вода для лабораторного анализа по ГОСТ 52501-2005.

А.1.7 Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018.

А.1.8 Ацетонитрил LC-MS, CAS 78-05-8.

А.1.9 Метанол марки А по 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 раствора 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 ± 11 %.