



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ
В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
И ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ»
(ФГБУ «ВНИИИМТ» РОСЗДРАВНАДЗОРА)**

СОГЛАСОВАНО

**Заместитель генерального директора
ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора**



Р.Н. Кашапов

М.п.

«26» ноября 2024 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Хромато-масс-спектрометр жидкостный 6475 LC/TQ

Методика поверки

ИМТ-МП-0059-2024

**г. Москва
2024 г.**

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1 Настоящая методика поверки распространяется на хромато-масс-спектрометр жидкостный 6475 LC/TQ (далее по тексту – хромато-масс-спектрометр), серийный № SG2321S001, и устанавливает порядок и объём его первичной и периодической поверки.

1.2 При проведении поверки прослеживаемость обеспечивается к:

- ГЭТ 208-2024 согласно государственной поверочной схемы, утвержденной Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10.06.2021 № 988 «Об утверждении Государственной поверочной схемы для средств измерений содержания органических и элементарноорганических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах»;

- ГЭТ 156-2015 согласно государственной поверочной схемы, утвержденной Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27.11.2018 № 2517 «Об утверждении Государственной поверочной схемы для средств измерений спектральных, интегральных, редуцированных коэффициентов направленного пропускания, диффузного и зеркального отражений и оптической плотности в диапазоне длин волн от 0,2 до 20,0 мкм»;

- ГЭТ 3 посредством применения стандартных образцов утвержденных типов, метрологические характеристики которых определены по расчетно-экспериментальной процедуре с применением поверенных весов, прослеживаемых к ГЭТ 3 согласно государственной поверочной схемы, утвержденной Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 07.07.2022 № 1622 «Об утверждении Государственной поверочной схемы для средств измерений массы».

1.3 Метод, обеспечивающий реализацию методики поверки – метод прямых измерений.

1.4 Поверка хромато-масс-спектрометра должна проводиться в соответствии с требованиями настоящей методики поверки.

1.5 В результате поверки должны быть подтверждены метрологические требования, приведенные в Приложении А.

2 ПЕРЕЧЕНЬ ОПЕРАЦИЙ ПОВЕРКИ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

2.1 При проведении поверки выполняют операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

Номер раздела (пункта) методики поверки, в соответствии с которым выполняется операция поверки	Наименование операции	Обязательность выполнения операций поверки при	
		первичной поверке	периодической поверке
7	Внешний осмотр средства измерений	Да	Да
8	Подготовка к поверке и опробование средства измерений	Да	Да
9	Проверка программного обеспечения средства измерений	Да	Да
10	Определение метрологических характеристик средства измерений	Да	Да
11	Подтверждение соответствия средства измерений метрологическим требованиям	Да	Да

3 ТРЕБОВАНИЯ К УСЛОВИЯМ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

3.1 При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:

- | | |
|--------------------------------------|---------------|
| – температура окружающей среды, °С | от +15 до +35 |
| – относительная влажность воздуха, % | не более 85 |
| – атмосферное давление, кПа | от 85 до 106 |

4 ТРЕБОВАНИЯ К СПЕЦИАЛИСТАМ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИМ ПОВЕРКУ

4.1 К поверке хромато-масс-спектрометра допускаются специалисты, изучившие эксплуатационные документы на поверяемое средство измерений, средства поверки, настоящую методику поверки.

4.2 Минимальное количество специалистов для выполнения данной методики поверки – один.

4.3 К проведению поверки допускаются лица, соответствующие требованиям, изложенным в статье 41 Приказа Минэкономразвития России от 26.10.2020 года № 707 (ред. от 30.12.2020 года) «Об утверждении критериев аккредитации и перечня документов, подтверждающих соответствие заявителя, аккредитованного лица критериям аккредитации».

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

5 МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К СРЕДСТВАМ ПОВЕРКИ

Таблица 2 – Средства поверки

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
Основные средства поверки		
р. 10 Определение метрологических характеристик	Стандартный образец с аттестованным значением массовой доли левомицетина, массовая доля левомицетина не менее 95,0 %, допускаемые значения относительной погрешности аттестованного значения ± 2 % при $P=0,95$	Стандартный образец состава левомицетина ГСО 10165-2012
Приложение Б - Подготовка контрольных растворов	Стандартный образец с аттестованным значением массовой доли резерпина, массовая доля левомицетина не менее 95,0 %, допускаемые значения относительной погрешности аттестованного значения ± 2 % при $P=0,95$	Стандартный образец состава резерпина (Рзп-ВНИИМ-ЭС), ГСО 12061-2022
	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 неавтоматического действия МВ 210-А, рег. № 61317-15
	Колбы мерные вместимостью 10 и 100 мл, 2-го класса точности с притертой пробкой по ГОСТ 1770-74	
	Стаканы В-1-50ТС по ГОСТ 25336-82	
Вспомогательные средства поверки		
р. 8 Контроль условий поверки (при подготовке)	Диапазон измерений температуры окружающей среды от +15 °С до +35 °С, пределы допускаемой абсолютной погрешности измерений ± 2 °С,	Измеритель параметров микроклимата

Операции поверки, требующие применение средств поверки	Метрологические и технические требования к средствам поверки, необходимые для проведения поверки	Перечень рекомендуемых средств поверки
к поверке и опробовании средства измерений)	диапазон измерений относительной влажности от 20 % до 85 %, пределы допускаемой абсолютной погрешности измерений ± 3 %, диапазон измерений атмосферного давления от 85 до 106 кПа, пределы допускаемой абсолютной погрешности измерений ± 1 кПа	МЕТЕОСКОП-М, рег. № 32014-11
Приложение Б - Подготовка контрольных растворов	Ацетонитрил CAS номер 75-05-8, стандарт Q/12KKDT002-2018, квалификация ВЭЖХ	
	Кислота муравьиная, квалификация Ч, по ГОСТ 5848-73	
	Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018	

5.1 При проведении поверки рекомендуется применять средства поверки (эталон), указанные в таблице 2.

5.2 Допускается применение средств поверки с метрологическими и техническими характеристиками, обеспечивающими требуемую точность передачи единиц величин поверяемому средству измерений, указанную в таблице 2.

5.3 Применяемые средства поверки должны быть исправны и поверены, применяемые средства поверки утвержденного типа в качестве эталонов единиц величин должны быть исправны и поверены с присвоением соответствующего разряда по требованию государственных поверочных схем.

6 ТРЕБОВАНИЯ (УСЛОВИЯ) ПО ОБЕСПЕЧЕНИЮ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ПОВЕРКИ

6.1 При проведении поверки необходимо соблюдать требования безопасности, установленные ГОСТ 12.2.003-91 «Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Оборудование производственное. Общие требования безопасности». Также должны быть соблюдены требования безопасности, изложенные в эксплуатационных документах на поверяемый хромато-масс-спектрометр и применяемые средства поверки.

7 ВНЕШНИЙ ОСМОТР СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

7.1 При внешнем осмотре убедиться в:

- соответствии комплектности хромато-масс-спектрометра, приведенной в руководстве по эксплуатации на хромато-масс-спектрометр;
- отсутствии механических повреждений, препятствующих нормальной работе;
- наличии маркировки на блоках хромато-масс-спектрометра, маркировка должна быть хорошо различима и содержать товарный знак изготовителя, наименование и обозначение блоков хромато-масс-спектрометра, серийного номера на передней панели масс-спектрометрического детектора G6475A.

Результаты внешнего осмотра считать положительными, если хромато-масс-спектрометр удовлетворяет вышеперечисленным требованиям.

Хромато-масс-спектрометр, имеющий дефекты, к поверке не допускается.

8 ПОДГОТОВКА К ПОВЕРКЕ И ОПРОБОВАНИЕ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

8.1 Перед проведением поверки необходимо выполнить следующие подготовительные работы:

- изучить эксплуатационную документацию на поверяемый хромато-масс-спектрометр

и на применяемые средства поверки;

- подготовить к работе средства поверки в соответствии с указаниями их эксплуатационной документации;
- провести контроль условий поверки на соответствие требованиям, указанным в разделе 3, с помощью оборудования, указанного в таблице 2;
- приготовить контрольные растворы. Процедура приготовления контрольных растворов приведена в приложении Б;
- провести кондиционирование хроматографической колонки.

8.2 Опробование хромато-масс-спектрометра проводить в следующей последовательности:

- включить электропитание хромато-масс-спектрометра и в соответствии с руководством по эксплуатации подготовить хромато-масс-спектрометр к выходу на режим;
- убедиться в отсутствии функциональных ошибок.

Хромато-масс-спектрометр допускается к дальнейшей поверке, если при опробовании успешно выполнены условия п. 8.3 и не выявлено функциональных ошибок.

9 ПРОВЕРКА ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

Проверку идентификационных данных программного обеспечения (далее – ПО) проводить путем сличения идентификационных данных ПО, указанных в описании типа на хромато-масс-спектрометр, с идентификационными данными ПО, считанными с помощью автономного ПО Qualitative Analysis. Номер версии (идентификационные данные ПО) отображается в меню «About» вкладки «Help».

Хромато-масс-спектрометр допускается к дальнейшей поверке, если программное обеспечение соответствует требованиям, указанным в описании типа.

10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

10.1 Определение чувствительности (отношение сигнал/шум (S/N)).

10.1.1 При определении отношения сигнал/шум (S/N) используют хроматографическую колонку, указанную в таблице 3.

Определение отношения сигнал/шум (S/N) проводят с использованием контрольных растворов, указанных в таблице 3.

Настройки режимов ионизации, сканирования, детектирования, при которых проводят определение отношения сигнал/шум (S/N), приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Условия измерений

Режимные параметры	Значение	
Полярность источника ионизации (Polarity)	Отрицательная (Negative)	Положительная (Positive)
Источник ионизации	Электроспрей при атмосферном давлении (AJS ESI)	Электроспрей при атмосферном давлении (AJS ESI)
Контрольный раствор	Раствор левомецитина в ацетонитриле, приготовленный по методике, указанной в приложении Б	Раствор резерпина в ацетонитриле, приготовленный по методике, указанной в приложении Б
Массовая концентрация контрольного вещества, мг/л	0,001	0,001
Объем пробы контрольного раствора, мкл	1	1

Режимные параметры	Значение	
Режим подачи элюента	Программирование элюента по таблице 4	Программирование элюента по таблице 4
Скорость потока элюента, мл/мин	0,5	0,5
Время измерений (Stop Time), мин	5	5
Температура осушающего газа (Gas Temperature), °C	200	325
Скорость потока осушающего газа (Gas Flow (L/min)), л/мин	10	10
Давление распылителя (Nebulizer Pressure (psi)), psi	15	20
Температура фокусирующего газа (Sheath Gas Temperature), °C	400	400
Скорость потока фокусирующего газа (Sheath Gas Flow (L/min)), л/мин	12	12
Напряжение сопла (Nozzle voltage (V)), В	2000	0
Напряжение на капилляре (Capillary voltage (V)), В	2500	3000
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 Res)	Широкое (Wide)	Широкое (Wide)
Разрешение второго квадруполь (MS2 Res)	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 (V)), В	130	195
Время задержки (Dwell (ms)), мс	200	200
Энергия соударительной ячейки (CE (V); Collision Cell Energy), В	16	42
Напряжение ускорения соударительной ячейки (CAV (V); Collision Cell Accelerator Voltage), В	3	4
Используемая хроматографическая колонка	Zorbax SB-C18 2,1 мм/50 мм/1,8 мкм или аналогичная	Zorbax SB-C18 2,1 мм/50 мм/1,8 мкм или аналогичная
Примечание – Параметры установить опытным путем, при опробовании.		

Таблица 4 – Программа градиента

Время, мин	А, % (Вода и раствор муравьиной кислоты в объемном соотношении 99,9:0,1)	В, % (Ацетонитрил)	Скорость потока, мл/мин
0	50	50	0,5

Время, мин	A, % (Вода и раствор муравьиной кислоты в объемном соотношении 99,9:0,1)	B, % (Ацетонитрил)	Скорость потока, мл/мин
5	50	50	0,5

10.1.2 После выхода хромато-масс-спектрометра на режим, при помощи автосемплера вводят пробу контрольного раствора. Находят отношение сигнал/шум (S/N) левомецетина для перехода m/z 321,2>152,0 и резерпина для перехода m/z 609,3>195,1.

10.1.3 Значение отношения сигнал/шум (S/N) рассчитывают с помощью подпрограммы Qualitative Analysis:

- Open Data Files (загружают требуемые сигналы);
- Smooth Chromatogram: Smoothing function = «Gaussian»; Function width = 15; Gaussian = 5 (сглаживают загруженные сигналы);
- Integrate (MS/MS) (интегрируют загруженный сигнал);
- Calculate signal-to-Noise-Haigh-RMSx1-Auto (рассчитывают отношение сигнал/шум);
- Configuration-Chromatogram Display Option-Peak labels Retention Time/Area (выводят данные о времени удержания и площади пика на экран).

10.2. Определение относительного среднего квадратичного отклонения выходного сигнала (по площади пика, по времени удержания).

10.2.1 Определение относительного среднего квадратичного отклонения (ОСКО) выходного сигнала проводят после выхода хромато-масс-спектрометра на режим по контрольному раствору левомецетина для перехода m/z 321,2>152,0 и контрольному раствору резерпина для перехода m/z 609,3>195,1.

Условия измерений, элюент, колонку и контрольный раствор выбирают по таблицам 3 и 4.

Пробу контрольного раствора вводят последовательно не менее 6 раз при помощи автосемплера.

Обработку результатов проводят по п. 10.1.3.

Недостовверные результаты измерений, оцениваемые как выбросы согласно ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 п. 3.21 и ГОСТ Р 8.736-2011, отбраковывают и не учитывают в расчетах.

11 ПОДТВЕРЖДЕНИЕ СООТВЕТСТВИЯ СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ

11.1 Рассчитать относительное среднее квадратичное отклонение (ОСКО) выходного сигнала по формуле:

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

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).

11.2 Для результатов измерений, полученных по п. 10.1, определяют отношение сигнал/шум (S/N), рассчитанное с помощью подпрограммы Qualitative Analysis в соответствии с п. 10.1.3.

11.3 Хромато-масс-спектрометр подтверждает соответствие метрологическим требованиям, если полученные значения относительного среднего квадратичного отклонения (ОСКО) выходного сигнала не превышают пределов, указанных в Приложении А, и наименьшее значение отношения сигнал/шум (S/N) не менее значений приведенных в Приложении А.

При невыполнении любого из вышеперечисленных условий (когда хромато-масс-спектрометр не подтверждает соответствие метрологическим требованиям), поверку хромато-масс-спектрометра прекращают, результаты поверки признают отрицательными.

12 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ПОВЕРКИ

12.1 Результаты поверки хромато-масс-спектрометра подтверждаются сведениями, включенными в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений, в соответствии с порядком, установленным действующим законодательством в области обеспечения единства измерений.

12.2 По заявлению владельца хромато-масс-спектрометра или лица, представившего его на поверку, положительные результаты поверки (когда хромато-масс-спектрометр подтверждает соответствие метрологическим требованиям) оформляют свидетельством о поверке по форме, установленной в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений.

12.3 По заявлению владельца хромато-масс-спектрометра или лица, представившего его на поверку, отрицательные результаты поверки (когда хромато-масс-спектрометр не подтверждает соответствие метрологическим требованиям) оформляют извещением о непригодности к применению средства измерений по форме, установленной в соответствии с действующим законодательством в области обеспечения единства измерений.

12.4 Протоколы поверки хромато-масс-спектрометра оформляются по произвольной форме.

Ведущий инженер-метролог

И.И. Буров

ПРИЛОЖЕНИЕ А (ОБЯЗАТЕЛЬНОЕ)
ОСНОВНЫЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРА

Таблица А.1 – Метрологические характеристики

Наименование характеристики	Значение
Чувствительность (отношение сигнал/шум), не менее:	
– в режиме «электроспрей», отрицательная ионизация, при отслеживании множественных реакций (MRM) по пику дочернего иона m/z 152,0 (m/z родительского иона 321,2) при вводе 1,0 пг левомицетина	3500
– в режиме «электроспрей», положительная ионизация, при отслеживании множественных реакций (MRM) по пику дочернего иона m/z 195,1 (m/z родительского иона 609,3) при вводе 1,0 пг резерпина	3500
Предел допускаемого относительного среднего квадратичного отклонения (ОСКО) выходного сигнала, %:	
– по площади пика	8,0
– по времени удержания	1,0

ПРИЛОЖЕНИЕ Б (ОБЯЗАТЕЛЬНОЕ)

МЕТОДИКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

Методика предназначена для приготовления контрольных растворов левомицетина и резерпина.

1. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ, ПОСУДА, РЕАКТИВЫ

Весы лабораторные по ГОСТ OIML R 76-1-2011 с пределом взвешивания 200 г класса точности 1 – специальный

Колбы мерные наливные 2-10-2, 2-100-2 и 2-1000-2 по ГОСТ 1770-74

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

ГСО 10165-2012 Стандартный образец состава левомицетина

ГСО 12061-2022 Стандартный образец состава резерпина (Рзп-ВНИИМ-ЭС)

Ацетонитрил LC-MS Grade, CAS 75-05-8

Муравьиная кислота для ЖХ-МС (LC-MS), CAS 64-18-6

Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144-2018

2 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАСТВОРОВ

2.1. Раствор с массовой концентрацией 1 мг/см³ приготавливают объемно-весовым методом. Массовую концентрацию контрольного компонента (C_i) определяют по формуле:

$$C_0 = \frac{m_i}{V} \quad (A.1)$$

где:

m_i – масса контрольного компонента, мг;

V – объем приготовленной смеси, см³.

2.2. Определяют массу m_1 мерной колбы вместимостью 100 мл. Результат взвешивания записывают до третьего десятичного знака.

2.3. В мерную колбу вносят 100 мг контрольного компонента и вновь взвешивают колбу (m_2).

2.4. Вычисляют массу контрольного компонента (m_i) в мг.

$$m_i = m_2 - m_1 \quad (A.2)$$

2.5. В колбу с контрольным компонентом вводят от 20 до 25 мл растворителя, перемешивают содержимое и доводят объем раствора до 100 мл. Тщательно перемешивают раствор.

2.6. Рассчитывают массовую концентрацию контрольного компонента по п.2.1.

2.7. Растворы с массовой концентрацией контрольного компонента менее 1 мг/см³ приготавливают объемным методом путем последовательного разбавления более концентрированных растворов. Массовую концентрацию контрольного компонента рассчитывают по формулам:

$$C_1 = \frac{C_0 \cdot V_1}{100} \quad (A.3)$$

$$C_2 = \frac{C_1 \cdot V_2}{100} \quad (A.4)$$

$$C_n = \frac{C_{n-1} \cdot V_n}{100} \quad (A.5)$$

где:

n – номер ступени разбавления исходного контрольного раствора с массовой концентрацией C_0 ;

V_1, V_2, V_n – аликвоты раствора с концентрацией C_0, C_1, C_{n-1} соответственно, см³.

2.8. Перед каждым разбавлением рассчитывают значение аликвоты растворов (V_1, V_2, V_n), исходя из заданного значения концентрации контрольного компонента (C_0, C_1, C_{n-1}) и концентрации разбавляемого раствора.

2.9. В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят аликвоту разбавляемого раствора, доводят объем приготавливаемого раствора до 100 мл и тщательно перемешивают.

3. Хранение контрольных растворов

3.1 Контрольные растворы хранятся при температуре от 4 °С до 8 °С. Перед введением в хромато-масс-спектрометр растворы выдерживают при комнатной температуре не менее 1 часа. Срок хранения контрольных растворов не более 5 дней.

4 ПРОЦЕДУРА ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЭЛЮЕНТА

4.1. Приготовление воды и раствора муравьиной кислоты в объемном соотношении 99,9:0,1

В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 200 мл воды, добавляют 1 мл муравьиной кислоты, доводят объем приготавливаемого раствора до 1000 мл и тщательно перемешивают.