



## Specifikacija 3.1

### SKLOP 1:

#### Tekočinski kromatograf s tandemskim masnim spektrometrom LC-MS/MS

##### 1. SPLOŠNE ZAHTEVE

Ponujena strojna in programska oprema mora v celoti ustrezati vsem navedenim tehničnim specifikacijam in zahtevam naročnika, pri čemer specifikacije morajo biti razvidne iz priložene dokumentacije, Ponudnik tako mora priložiti dokumentacijo iz katere bo razvidno, da izpolnjuje pogoje/zahteve iz razpisa. Ponudnik mora zagotoviti:

- inštalacijo tekočinskega kromatografa in material potreben za uspešen zagon HPLC sistema ter inštalacijo masnega spektrometra QQQ z vsem potrebnim materialom
- dodatni material in pribor za sprotno oskrbo/vzdrževanje sistema,
- verifikacijo inštalacije (IQ) in GLP validacije (OQ/PV) programske opreme ter HPLC in QQQ sistemov,
- šolanje uporabnika za delo s ponujenima sistemoma vsaj dva dni na lokaciji uporabnika
- garancija na obeh sistemih vsaj 24 mesecev
- Mora programska oprema omogočati polno in brezkompromisno krmiljenje vseh podsistemov HPLC in QQQ sistemov,
- ponudnik zagotavlja s strani proizvajalca izobraženega, certificiranega in slovensko govorečega servisnega inženirja za instalacijo, servis in validacijo,

Vsa oprema mora biti nova. Kakorkoli rabljena oprema ne zadošča zahtevam razpisa.

##### 2. VISOKOZMOGLJIV TEKOČINSKI KROMATOGRAFI (HPLC).

Sistem mora omogočati avtomatizirano obogatitev vzorcev na vsaj dveh SPE kolonah. Uporabnik mora imeti možnost izbire med direktnim injiciranjem vzorca in injiciranjem preko SPE kolon. Vključeni ventili morajo omogočati preklapljanje med različnimi potmi toka glede na izbrani način dela. Sistem mora podpirati kondicioniranje, nalaganje, izpiranje in elucijo SPE kolon brez ročnega posega. Ventili morajo biti večpotni in avtomatsko krmiljeni preko programske opreme. Programska oprema mora omogočati nastavitve različnih delovnih protokolov in polno avtomatizacijo postopkov.

Tekočinski kromatograf naj bo sestavljen iz modulov enega proizvajalca. Vsi eventualni posamezni deli HPLC instrumenta morajo imeti sistem za detekcijo puščanja (ang. Leak detection) in omogočati delo v pH območju od pH 2,5 do pH 12 ter tlakih do vsaj 1.300 bar pri pretokih od vsaj 0,001 ml/min do 2 mL/min ( $\pm 1\%$ ) ter padajoče do 800 bar do pretoka 5 ml/min ob stabilnosti retencijskih časov (RT)  $\leq 0.07\%$ . Zagotovljeno mora biti razplinjevanje vsaj štirih (4) mobilnih faz.

Zanesljivo in ponovljivo ( $< 0.2\%$  RSD RT) mešanje mobilnih faz pri nizkem tlaku (v celotnem območju od 0 % do 100 %) mora biti zagotovljeno z mešalnim ventilom in črpalno glavo, z mrtvim volumnom hidravličnih komponent  $\leq 900$  L. Sistem mora aktivno kompenzirati kompresibilnost uporabljene mobilne faze, tudi tekom spreminjanja sestave med gradientno elucijo. Vgrajena mora biti dodatna črpalna z možnostjo programiranja režima aktivnega odstranjevanja nehlapnih pufrov iz tesnil batov črpalke z izbranim topilom.

V prostor za vzorce, ki naj ga bo možno ohladiti oziroma segreti od 4 °C do vsaj 40 °C, mora biti možno namestiti najmanj 105 2 ml vijal. Prostor za vijale naj bo enostavno naknadno nadgradljiv za kapaciteto do najmanj 420 2 ml vijal. Nastavljen volumen injiciranja od 1 L do



najmanj 1500 L. Napaka injiciranja naj bo  $< 0,25\%$  RSD površine vrhov, z zanemarljivim prenosom med vzorci  $< 0,004\%$  pri volumnih injiciranja  $\leq 100$  L. Spiranje igle naj bo zagotovljeno s svežim topilom, ne le namakanje. Injektorski cikel injiciranja 1 L pri pretoku skozi iglo 200 L/min naj bo krajši od 20 sekund.

V HPLC sistema mora biti možno vgraditi vsaj 4 kolone dolžine 30 cm, dve neodvisni temperaturni območji morata zagotavljati stabilno temperaturo v temperaturnem območju vsaj od  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  do najmanj  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\leq \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) pri stabilnosti  $\pm 0,05\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vgrajen mora biti ventil za izbiro med najmanj 4 kolonami. Pred vstopom na katerokoli kolono mora biti mobilna faza predogrevana (volumen toplotnih izmenjevalcev mora biti  $< 3$  L).

### 3. TANDEMSKI MASNI SPEKTROMETER

Masni spektrometer naj bo v konfiguraciji treh zaporednih masnih filtrov (QQQ) z elektrosprej ionskim izvorom pri atmosferskem tlaku in kemijsko ionizacijo pri atmosferskem tlaku. Uporaba ionskega izvora naj bo z elektrosprej (ESI) konfiguracijo z možnostjo nadgradnje na konfiguracijo kemijske ionizacije (APCI). Ob tem mora biti preklapljanje med konfiguracijami hitro in enostavno.

Poleg standardnega trojnega kvadrupola naj sistem omogoča tudi delovanje v načinu ionske pasti, s čimer je omogočena pridobitev celotnih produktnih spektrov. Ionska past naj omogoča MS fragmentacijo, ki prispeva k večji specifičnosti in zanesljivosti analiz. Možnost zajema informativnih spektrov za vsako tarčno spojino je ključno za uspešno in zanesljivo ujemanje z masno knjižnico.

Specifikacije masnega spektrometra QQQ morajo biti zagotovljene že po samodejni uglasitvi (*angl.* autotune), brez dodatnega ročnega prilagajanja.

Vakuuum v MS sistemu se mora ohraniti tudi v primeru vzdrževanja ionskega izvora – npr. čiščenje oz. menjava vstopne kapilare.

V masnem območju vsaj od  $m/z$  5 do  $m/z$  2.000 mora masni spektrometer zagotavljati stabilnost mas  $\leq 0,1$  Da/24 ur ter široko dinamično območje vsaj  $10^6$ .

Izmenjava polaritete mora biti mogoča v časih  $\leq 5$  ms, medtem, ko je možno kot najkrajši meritveni čas (*dwel time*) nastaviti 0,5 ms ali manj pri 800 MRM meritev v sekundi, hitrost skeniranja masnega območja pa mora biti 12.000 Da/s.

Inštrument mora omogočati časovno programiranje obračanja ventila za preusmerjanje topila na vstopu v masni spektrometer v analitski metodi. V namen pozitivne in negativne uglasitve MS sistema (*angl.* autotune) mora masni spektrometer imeti vgrajen sistem za samodejno optimizacijo ionske optike in kalibracijo masne osi s samodejno infuzijo umeritvenega standarda (AP–ESI ionski izvor) – z integrirano injekcijsko črpalko.

Masni spektrometer mora omogočati različne načine dela, in sicer vsaj MS skeniranje, MS/MS skeniranje produktnih ionov, MRM merjenje MS/MS prehodov večih ionov, SIM merjenje, MS/MS skeniranje nevtralnih izgub/dobitkov, skeniranje prekursorskega iona.

Preklapljanje med različnimi načini mora biti možno znotraj posamezne analitske metode. Inštrument mora zagotavljati delitev metode na več segmentov, znotraj katerih mora biti sposoben pomeriti 800 MRM prehodov.



Poleg segmentiranja metode mora biti omogočeno tudi merjenje z dinamičnim načrtovanjem MRM v časovnih oknih. Za dodatno potrjevanje identitete spojine s pomočjo knjižnic masnih spektrov mora biti na voljo dinamično vključevanje dodatnih (vsaj do 10) MRM prehodov, ko masni spektrometer zazna prisotnost določene spojine v pričakovanem časovnem oknu.

Proizvajalec mora ponujati strokovno revidirane knjižnice masnih spektrov organskih spojin z vključenimi večimi MRM prehodi za posamezno spojino (ne samo t.i. qualifier in quantifier). Knjižnica MS/MS spektrov visoke resolucije v pozitivnem in negativnem načinu ionizacije (odvisno od narave spojine) mora združevati spektre več različnih tipov spojin, in sicer pesticidov, forenzičnih spojin, mikotoksinov, antibiotikov, farmacevtikov, fluoro-kemikalij in drugih spojin z možnostjo nadgradnje.

Pri injiciranju 1 pg rezerpina (ali podobne substance) na kolono, pri pozitivni polarizaciji oziroma pri injiciranju 1 pg kloramfenikola (ali podobne substance) na kolono, pri negativni polarizaciji, naj bo razmerje signal/šum  $\geq 5.000.000 : 1$  RMS.

Pri statističnem izračunu meje detekcije iz več (vsaj 5) zaporednih injiciranj naj bo pri Studentovi t vrednosti za 99% zanesljivost meja detekcije izračunana iz % RSD površine vrhov za rezerpin in kloramfenikol (1 fg na kolono, pozitivna oz. negativna detekcija)  $< 0,14$  fg.

#### 4. RAČUNALNIŠKA OPREMA

Ponudnik mora zagotoviti računalnik za namestitev programske opreme LC-MS/MS sistema, po priporočilih proizvajalca opreme (z mrežnima karticama za priklop v laboratorijsko omrežje) z monitorjem 34"

Programski paket za delo z LC-MS/MS sistemom mora biti popolnoma skladen za vodenje HPLC sistema in QQQ detektorja. Omogočati mora pripravo metod, sekvenc, zajemanje ter kvalitativno in kvantitativno ovrednotenje dobljenih podatkov, samodejni prenos vnesenih podatkov za vzorce iz metode za zajem podatkov v metodo za obdelavo podatkov, utežitve umeritvene krivulje, izbiro izhodišča umeritvene krivulje, oblikovanje in izpis poročila v PDF predlogah.

Programska oprema mora imeti možnost samodejne optimizacije MRM prehodov tako brez kot z kolono. Omogočati mora izdelavo lastne podatkovne baze optimiziranih MRM prehodov in enostavno izbiro le-teh v analitski metodi.

Programska oprema mora vključevati algoritme za samodejno ponovno injiciranje vzorca npr. v primeru zaznanega prenosa med vzorci, ali v primeru, da je zaznana koncentracija spojine izven kalibracijskih meja, ali v primeru, ko je med presejalnim pregledovanjem velikega števila vzorcev, vzorec z zaznano vsebnostjo iskane spojine potrebno podrobneje analizirati.

Programska oprema mora pregledni vmesnik, zmogljivi in uporabni algoritmi, stabilnost in hitrost ter omogočati več nivojski dostop uporabnikov ter zagotavljati integriteto podatkov in elektronsko podpisovanje skladno s FDA 21 CFR part 11 oz. EU Annex 11. Možnost shranjevanja podatkov v elektronsko skladišče podatkov (ECM).

Vključena mora biti dodatna licenca za obdelavo podatkov na drugem računalniku.

Kraj in datum:	Žig:	Podpis pooblaščenice osebe
----------------	------	----------------------------



REPUBLIKA SLOVENIJA  
**MINISTRSTVO ZA ZDRAVJE**

URAD REPUBLIKE SLOVENIJE ZA NADZOR,  
KAKOVOST IN INVESTICIJE V ZDRAVSTVU



**NACIONALNI LABORATORIJ ZA  
ZDRAVJE, OKOLJE IN HRANO**

--	--	--