



**ALLEGATO B**

**ALLEGATO TECNICO  
AL DISCIPLINARE DI CONDIZIONI**

Il presente allegato riporta tutte le caratteristiche e le specifiche tecniche minime richieste per la fornitura relativa all'insieme strumentale LC-MS costituito da:  
**SPETTROMETRO DI MASSA LCMS A TRASFORMATA DI FOURIER ACCOPPIATO A  
POMPA U-HPLC E CORREDATO DI SISTEMA DI PREPARAZIONE ON-LINE DEL  
CAMPIONE**  
per l'analisi delle tossine algali nelle acque dei laghi gestiti dall'Ente.

Caratteristiche generali:

La strumentazione deve essere in grado effettuare l'analisi qualitativa e quantitativa di microinquinanti organici nelle acque ed in particolare delle tossine algali presenti oltre che in matrici acquose (tossine extracellulari) anche in matrici complesse (derivanti da estrazioni da bloom algali) attraverso l'uso di tecniche che permettano il riconoscimento univoco delle tossine ricercate, la misura della concentrazione anche a livelli molto bassi (nell'ordine di parti per bilione), informazioni strutturali per l'identificazione di nuove tossine, analoghi di tossine note e metaboliti, con possibilità di delucidazione sulla struttura molecolare. Il sistema deve avere la possibilità di conservare spettri relativi ad analisi effettuate in precedenza. Inoltre il sistema deve poter essere in grado di semplificare le laboriose tecniche di messa a punto delle condizioni strumentali di analisi notoriamente laboriose in dipendenza della tecnica di rivelazione utilizzata. Deve poter semplificare anche le laboriose tecniche di preparazione del campione attraverso l'utilizzo di tecnologia hardware e software che consenta di risparmiare tempo e lavoro nella preparazione del campione, e contemporaneamente abbassare i limiti di rilevabilità della tecnica.

La strumentazione LC-MS oggetto della gara è costituita dalle seguenti parti strumentali:

- A) Spettrometro di massa LCMS a trasformata di Fourier ad alta risoluzione FTMS;
- B) Sistema Pompa U-HPLC corredata di apparato di preparazione on-line del campione;
- C) Sistema Gestione Strumentale - Elaborazione dati;
- D) Generatore di Azoto e Gruppo di continuità con stabilizzatore di corrente.

**A. Spettrometro di massa LCMS a trasformata di Fourier ad alta risoluzione FTMS**

Lo spettrometro di massa LCMS a trasformata di Fourier deve essere corredata dalle seguenti parti con le caratteristiche tecniche minime riportate:

1. Sorgenti e Interfaccia

Lo strumento deve disporre delle seguenti sorgenti e relativa interfaccia:

- a) Sorgente ESI (Electrospray)



- Sistema ortogonale con possibilità di variare la distanza del cono di nebulizzazione dal Capillare d'ingresso sui tre assi .
  - Nebulizzazione a Temperatura Ambiente oppure a T elevata (fino a 450°C) a scelta dell'utente assistita pneumaticamente (gas . AZOTO -Purezza 99%) completamente controllata da computer in grado di poter operare con flussi da 1 uL sino ad 2.0 mL con 100% di soluzioni acquose senza splittaggio
  - Sistema automatico di controllo del potenziale di ionizzazione applicato al nebulizzatore (+/- 8Kv) e del gas di nebulizzazione;
  - Possibilità di allineamento manuale della sorgente;
  - La sostituzione della Sorgente ESI con altre sorgenti quali ad esempio APCI o APPI non deve richiedere la sostituzione dell'intera sorgente ma solo del Probe.
  - Possibilità di Ingresso aggiuntivo per l'infusione post-colonna di calibranti e/o reagenti.
- b) Sorgente APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization)
- Sistema Ortogonale completamente controllato da computer in grado di poter operare con flussi da 50uL a 2mL, comprendente un sistema di controllo a feed back del sistema di riscaldamento del vaporizzatore in modo da poter garantire una maggior stabilità della temperatura di vaporizzazione regolabile fino a 700 °C .
  - Corona discharge fissa controllata in corrente dal computer.
  - Sorgente regolabile sui due assi
- c) Interfaccia - API (Atmospheric Pressure Ionization)
- Sistema di trasferimento degli ioni dalla sorgente all'analizzatore tramite un sistema composto da uno Skimmer d'ingresso con geometria fuori asse per ridurre il noise chimico, una camera di separazione e da un capillare (removibile senza togliere il vuoto) in grado di garantire una completa desolvatazione del composto in analisi e una alta efficienza di trasmissione degli ioni dalla Sorgente all'analizzatore, una lente d'ingresso e uno Skimmer in Titanio per garantire una elevata riproducibilità;
  - Sistema automatico per l'ottimizzazione dei gas di nebulizzazione e dei potenziali applicati alle lenti di ingresso e nella zona ad alto vuoto;
  - Capillare di trasferimento removibile senza interruzione del vuoto;
  - Sistema di introduzione con spray fuori asse rispetto al cono di entrata;
  - Possibilità di intercambiare i probe ESI, APCI sullo stesso blocco della sorgente, senza utilizzare strumenti, con riconoscimento Plug&Play da parte del software;
  - Possibilità di posizionamento dello spray lungo i tre assi x, y e z per una ottimizzazione totale della nebulizzazione a flussi diversi;



### 2. Spettrometro di massa a trasformata di Fourier ad alta risoluzione (FTMS)

Caratteristiche tecniche principali:

Lo spettrometro di massa a trasformata di Fourier deve essere costituito da un analizzatore con tecnologia che garantisca l'identificazione veloce e sensibile di composti (tossine algali, antiparassitari, ecc.) in miscele complesse compatibilmente all'utilizzo di tecniche U-HPLC. Deve essere in grado di assicurare eccellente definizione del picco ed accuratezza di massa per poter effettuare lo screening di un elevato numero di composti presenti in tracce e poter all'occorrenza effettuare l'identificazione strutturale di analiti incogniti.

Caratteristiche tecniche minime:

- Range di massa:  $m/z$  50 . 4000
- Massa Accurata : Inferiore a 5 ppm senza calibrazione Interna  
Inferiore a 2 ppm con calibrazione Interna
- Risoluzione di Massa ( $m/ m$ ): 100.000 FWHM per FTMS a 200  $m/z$
- Intervallo dinamico:  $> 1 \cdot 10^3$
- Velocità di scansione: Da 1 scan/sec fino a 10 scan/sec
- Metodo di frammentazione: source CID (collision induced dissociation)
- Sensibilità: 2pg/uL di Reserpina iniettati in un loop di 5uL (10 pg di reserpina come quantità assoluta) utilizzando una fase mobile composta da 50% H<sub>2</sub>O e 50% IPA con un flusso di 0.4 mL/min, producendo un rapporto segnale disturbo S/N almeno di 10:1 per il profilo ionico dello ione molecolare protonato a  $m/z$  609.
- Modalità di scansione: Full Scan MS

Lo spettrometro deve essere dotato di un sistema di controllo del vuoto costituito da un sistema di pompaggio per alto vuoto che preveda il monitoraggio in continuo di alcuni parametri di controllo del vuoto e delle pompe quali:

- Temperatura di lavoro
- Potenza in Watt dissipata
- Velocità di rotazione
- Ore totali di lavoro

In modo da poter facilmente individuare una eventuale anomalia del sistema di pompaggio e poter programmare le visite di manutenzione ordinarie.

Deve essere corredato di un sistema di protezione contro la mancanza di corrente elettrica.



### B. Sistema Pompa U-HPLC corredata di apparato di preparazione on-line del campione

Caratteristiche principali:

Il sistema Pompa U-HPLC deve essere un sistema automatico che consenta di prelevare direttamente il campione di acqua, e automaticamente, on-line, possa eseguire l'arricchimento, la purificazione e l'analisi attraverso l'utilizzo del rivelatore di massa FTMS oggetto della gara. Tale configurazione deve poter consentire di risparmiare tempo e lavoro nella preparazione del campione, e contemporaneamente abbassare i limiti di rilevabilità della tecnica.

Deve essere un sistema che da un lato è dedicato alla preparazione on-line per l'analisi di campioni acquosi, dall'altro deve essere in grado di eseguire analisi in U-HPLC nella configurazione richiesta LCMS con spettrometro di massa a trasformata di Fourier oggetto della gara.

L'hardware deve essere composto da:

- una colonna HPLC di carico ed una analitica;
- 2 pompe HPLC;
- un autocampionatore capace di iniettare grandi volumi;

Il tutto deve essere supportato da un sistema di gestione strumentale che automatizza e controlla direttamente da PC tutte le condizioni operative a partire dal sistema combinato U-HPLC fino alla conclusione dell'analisi in LC-MS.

Inoltre non deve essere un sistema bloccato infatti l'operatore dovrà essere in grado di scollegare la colonna di carico ed usare una sola delle due pompe U-HPLC.

Il Sistema Pompa U-HPLC deve essere composto da la seguente strumentazione:

1. Pompa a gradiente quaternario per HPLC con degasatore a membrane a 4 vie incorporato (600 bar)

Caratteristiche tecniche minime:

- La pompa quaternaria deve essere in grado di raggiungere pressioni fino a 600 bar, consentendo di erogare flussi fino ad un massimo di 5000 uL/min
- Volume morto: m90 ul;
- Sistema di degasaggio meccanico integrato;
- 4 linee indipendenti di degasaggio integrate all'interno del modulo, una per linea di solvente, di bassissimo volume morto per un cambio rapido dei solventi;
- monitoraggio e self-adjusting del livello del gas disciolto;
- sistema di degasaggio a membrana capace di rimuovere completamente l'ossigeno disciolto nella fase mobile;

2. Pompa a gradiente quaternario per U-HPLC con degasatore a membrane a 4 vie incorporato

Caratteristiche tecniche minime:



- La pompa quaternaria deve essere in grado di raggiungere pressioni fino a 1250 bar (18.130 psi), consentendo di erogare flussi fino ad un massimo di 2000 uL/min
- Volume morto: m70 ul;
- Sistema di degasaggio meccanico integrato;
- 4 linee indipendenti di degasaggio integrate all'interno del modulo, una per linea di solvente, di bassissimo volume morto per un cambio rapido dei solventi;
- monitoraggio e self-adjusting del livello del gas disciolto;
- sistema di degasaggio a membrana capace di rimuovere completamente l'ossigeno disciolto nella fase mobile;

Entrambi le pompe di cui sopra devono possedere un sistema che possa assicurare le seguenti caratteristiche di funzionamento:

- Flusso accurato ad ogni pressione (precompressione);
- Accuratezza nella formazione del gradiente (decompressione);
- Linea di base stabile senza necessità di pulse-dampener;
- Flusso volumetrico accurato e costante indipendente dalla contropressione o composizione del solvente;
- Erogazione del flusso rapida e stabile in ogni modalità HPLC e UHPLC.

Inoltre tutto il sistema deve essere completo di colonne HPLC e altro eventuale materiale di consumo (aghi, vials, ecc.) necessario allo svolgimento delle analisi di microinquinanti organici quali tossine algali (microcistine, nodularine ecc.) e pesticidi da ricercare nelle acque.

### 3. Autocampionatore

Deve essere perfettamente integrato alle pompe HPLC sopra riportate e possedere una adeguata flessibilità e automazione richiesta dai sistemi LC/MS con le seguenti caratteristiche tecniche minime:

- dimensioni della siringa: 100 L standard; opzionali 10, 25, 250, 1000, 2500, 5000 L;
- Volumi iniettabili: da 0.1 a 5000 L;
- Velocità di iniezione: da 0.01 a 250 L/sec;
- Iniettore LC: 1 valvola di switching attuata elettricamente;
- Capacità: fino a 400 micro-vials da 1 mL, 648 vials standard da 2 mL, 64 vials da 10 o 20 mL, 12 deep-well plates (da 96 o 384 posizioni) oppure 24 well-plates standard (96 o 384);
- Pulizia di ago, siringa e valvola di iniezione: stazione di lavaggio veloce a 2 solventi;



- Deve poter avere il controllo completo di tutte le sue funzioni all'interno del software di controllo del PC.

### C. Sistema Gestione Strumentale - Elaborazione dati

Il sistema deve possedere un programma di controllo strumentale in grado di poter soddisfare tutte le esigenze di del sistema di analisi LC/MS oggetto della gara:

- Sistema multi-tasking in grado di gestire ed elaborare dati già acquisiti o in fase di acquisizione simultaneamente;
- Programma automatico per l'ottimizzazione e il controllo dei parametri delle sorgenti;
- Sistema in grado di poter eseguire in completo automatismo sequenze di analisi diverse sia nel tempo che nel tipo di scansione;
- Sistema in grado di controllare automaticamente Pompe HPLC , Autocampionatore, eventuali Detector UV o DAD con possibilità di acquisire fino a 4(quattro) ingressi Analogici;
- Sistema di introduzione diretta del campione (FIA) mediante pompa a siringa singola controllata mediante software;
- Valvola a sei porte elettronica controllata dal computer via software utilizzabile sia come iniettore che come solvent diverter;
- Ingressi Analogici  
Lo spettrometro disporre di almeno n. 4 ingressi analogici (0-1 Volt Inputs).

Il sistema di elaborazione dati deve possedere le seguenti caratteristiche minime o equivalenti:

- Processore Intel Core Duo E6300, 1,85GHz/1066 MHz/2Mb L2/Dual Core/VT
- Disco Fisso 250Gb SATA 3.0 Gb/s
- Memoria 2Gb Ram 533MHz, DDR2 SDRAM ECC
- Masterizzatore / Lettore DVD R/W
- Monitor colore 19+
- Schede LAN (2)
- Tastiera e MS Mouse
- Stampante Laser 600 dpi alta risoluzione
- Sistema operativo Windows XP Professionale (con Licenza)
- Microsoft Office XP (con Licenza)



- Software per il controllo dello strumento per l'elaborazione dati deve che essere in grado seguire in tempo reale sia il controllo strumentale che l'elaborazione dei dati già acquisiti o quelli in fase di acquisizione.
- Il sistema operativo deve poter comprende tutte le funzioni di elaborazione dati quali:

Display sia del cromatogramma ricostruito della corrente ionica totale (RIC) che dei cromatogrammi delle correnti di singoli ioni fino ad un massimo di otto.

Display del cromatogramma di uno o più ingressi analogici (massimo 4) quali ad esempio detector UV o DAD.

Possibilità di integrare automaticamente o manualmente sia picchi cromatografici di massa che picchi UV o DAD.

Display dello spettro di massa con possibilità di espansione sui due assi, di selezione automatica dal cromatogramma dello spettro di massa mediante mouse e sottrazione automatica del fondo.

Programma automatico per l'analisi quantitativa sia con standard interno che esterno con possibilità di effettuare il calcolo del fattore di risposta in Quadratico, Lineare o Mediato in modo da garantire una massima accuratezza e flessibilità.

Tutti i dati acquisiti devono poter contenere oltre al cromatogramma ed allo spettro di massa i dati riguardanti:

- Tipo di sorgente utilizzata
- Tipo di colonna , diametro e lunghezza
- Tipo di fase usata per l'analisi
- Tipo di gradiente se utilizzato
- Parametri strumentali
- Tipo di scansione/i effettuate

Inoltre il sistema deve avere le seguenti caratteristiche:

- Possibilità di esportare dati di analisi quantitativa direttamente su fogli elettronici standard;
- Possibilità di visualizzare e stampare i cromatogrammi in formato tridimensionale;
- Possibilità di visualizzare dati provenienti da altra strumentazione utilizzando un apposito convertitore;
- Diagnostica completa via Software delle principali Funzioni dello spettrometro;
- Possibilità di personalizzare I report dei dati precedentemente Acquisiti.

Sistema deve poter essere predisposto per la Validazione IQ/OQ e per utilizzo dello spettrometro in GLP.

### D. Generatore di Azoto e Gruppo di Continuità



## Ente acque della Sardegna



La strumentazione deve essere fornita di generatore di azoto di adeguata portata per la strumentazione di gara e di un gruppo di continuità adeguato, con stabilizzatore di corrente, che garantisca un'autonomia di almeno mezz'ora.