

CAPITOLATO TECNICO QUALITATIVO PER LA FORNITURA DI N. 4 CROMATOGRAFI LIQUIDI ABBINATI A SPETTROMETRI DI MASSA A TRIPLO QUADRUPOLO (SISTEMA LC-MS/MS) DI CUI N. 2 DA ASSEGNARE AL REPARTO CHIMICO DEGLI ALIMENTI DI BOLOGNA E N. 2 AL REPARTO CHIMICA DEGLI ALIMENTI E MANGIMI DELLA SEDE DI BRESCIA

1 RELAZIONE INTRODUTTIVA DEI CRITERI ADOTTATI

Il capitolato di gara ha ad oggetto la fornitura di n. 4 cromatografi liquidi abbinati a spettrometri di massa ed è articolata in due lotti, in particolare:

- **lotto 1**: fornitura di n. 2 cromatografi liquidi abbinati a spettrometri di massa a triplo quadruplo (sistema LC-MS/MS) da destinare al Reparto Chimico degli alimenti di Bologna;

- **lotto 2**: fornitura di n. 2 cromatografi liquidi abbinati a spettrometri di massa a triplo quadruplo (sistema LC-MS/MS) da destinare al Reparto Chimico degli Alimenti e Mangimi della Sede di Brescia.

La scelta di articolare la gara in due diversi lotti è giustificata dalla circostanza per cui le apparecchiature di cui ai due diversi lotti sono destinate ad applicazioni diverse.

In particolare, le apparecchiature destinate alla Sede di Bologna sono destinate alla determinazione delle tossine vegetali naturali rientranti nell'attività del Laboratorio Nazionale di Riferimento

Invece, le apparecchiature destinate alla Sede di Brescia sono dedicate alla determinazione dei residui di farmaci ed anabolizzanti negli alimenti di origine animale.

Tale diversificazione di destinazione d'uso si riflette, come si vedrà nel prosieguo, anche nella definizione dei criteri di attribuzione del punteggio tecnico con particolare riferimento alle prove tecniche da eseguirsi.

La valutazione dei parametri qualitativi e l'assegnazione dei punteggi ai singoli parametri derivano dall'esperienza che l'IZS ha acquisito in quasi 20 anni di utilizzo dei sistemi UHPLC accoppiati a rivelatori di massa a triplo quadrupolo per lo sviluppo di metodi analitici interni ed accreditati che richiedono strumenti con determinate caratteristiche tecniche. In particolare i sistemi oggetto di valutazione dovranno soddisfare tutti i requisiti richiesti dalla normativa vigente nell'ambito dell'analisi di residui di farmaci, di micotossine e di tossine naturali. Infatti gli strumenti saranno destinati allo sviluppo di

nuove metodiche analitiche ed all'applicazione routinaria di metodi in screening e conferma già in essere ed accreditati dal reparto.

I sistemi dovranno replicare, per quanto possibile, l'attività attualmente eseguita su spettrometri di massa a triplo quadrupolo già presenti.

L'assegnazione dei punti, sotto il profilo tecnico avverrà in base a parametri qualitativi e prove tecniche.

Il sopralluogo preventivo per verificare la sede ed il posizionamento da parte delle ditte partecipanti sarà obbligatorio.

In particolare, per entrambi i lotti saranno assegnati 40 punti per i parametri qualitativi, come di seguito dettagliati:

- 8 punti per le caratteristiche dell'UHPLC/UPLC;
- 21 punti per le caratteristiche del rivelatore triplo quadrupolo, 3 punti per le caratteristiche del software di acquisizione;
- 8 punti da assegnare per caratteristiche specifiche attribuibili in base alle esigenze di applicazione.

Le ditte che avranno ottenuto un punteggio inferiore a 24 punti non saranno ammesse alla successiva fase di valutazione delle prove tecniche.

Per entrambi i lotti, infatti, saranno assegnati 30 punti per le prove tecniche da attribuire secondo quanto indicato nell'allegato I per il lotto 1 e nell'allegato 2 per lotto 2.

Le ditte che avranno ottenuto un punteggio inferiore a 18 nelle prove tecniche non saranno ammesse alla successiva fase di valutazione economica.

Sono di seguito indicate le caratteristiche tecniche essenziali dei cromatografi, comuni ad entrambi i lotti di gara.

Negli allegati I e II sono, invece, riportate le caratteristiche delle prove tecniche rispettivamente per i lotti 1 e 2 sulla base delle quali verranno attribuiti gli ulteriori 30 punti riferiti al punteggio tecnico.

2 CARATTERISTICHE TECNICHE ESSENZIALI PER I LOTTI 1 E 2

Le caratteristiche che seguono sono da intendersi quali requisiti minimi di base pena di esclusione dalla gara.

2.1 Caratteristiche generali

Per ciascuna delle caratteristiche/prestazioni elencate, sia per i requisiti essenziali sia per le valutazioni a punteggio, le ditte dovranno presentare documentazione tecnica esaustiva a supporto, indicando nel dettaglio dove ciascuna caratteristica richiesta sia reperibile fra i propri documenti (brochure o documentazione tecnica originale) ed evidenziandola chiaramente. Tale documentazione sarà verificata preventivamente.

Successivamente all'installazione, dovranno essere verificate *in loco* le specifiche tecniche dichiarate e saranno ripetute le prove tecniche effettuate in sede di gara che dovranno rispettare i requisiti dichiarati. Tutto ciò a supporto dell'attendibilità delle documentazioni presentate pena la risoluzione del contratto.

- Gli strumenti dovranno essere nuovi.
- Ciascun sistema deve essere costituito da un CROMATOGRAFO LIQUIDO (UPLC/UHPLC) abbinato ad uno SPETTROMETRO DI MASSA/MASSA da banco esclusivamente a triplo quadrupolo.
- Tutti i moduli del sistema UHPLC (UPLC) e spettrometro di massa di ciascun strumento oggetto di fornitura devono essere sviluppati e prodotti dalla stessa azienda fornitrice.
- Ciascun sistema dovrà essere pienamente automatizzabile, gestibile da software, di elevata robustezza, mantenere una risposta stabile ed equipaggiato con efficienti sistemi sia per la messa a punto dei metodi, sia per i processi di controllo di qualità e l'analisi statistica sui dati analitici.
- Ciascun sistema dovrà essere dotato di un unico software gestionale dedicato che permetta di effettuare tutte le operazioni necessarie alle attività di messa a punto, di raccolta dati, della loro elaborazione (quantificazione) e della loro archiviazione: tale software dovrà essere certificato rispetto alle conformità di parametri di calcolo e quantificazione. Tale software dovrà permettere di effettuare il check in maniera automatica di tutti i parametri strumentali senza l'ausilio di tastiere aggiuntive a bordo macchina.
- Installazione, familiarizzazione e corso di addestramento dovranno essere effettivamente distinti e compresi nel prezzo di offerta. Si richiede un corso base di almeno 3 giorni ed un corso avanzato di almeno 3 giorni da concordare con ciascuna struttura destinataria.

-Deve essere assicurata la presenza sul territorio italiano di una sede della ditta offerente in grado di garantire l'assistenza tecnica on site entro 72 ore dalla chiamata

2.2 Caratteristiche relative al sistema UHPLC (UPLC)

- Il sistema deve operare come U-HPLC utilizzando colonne impaccate con particelle anche di diametro $< 2 \mu\text{m}$

2.2.1 Pompa

- Pompa a miscelazione binaria in alta pressione in grado di gestire almeno 4 solventi diversi
- Possibilità di raggiungere una pressione $> 1000 \text{ bar}$.
- Presenza di un sistema di lavaggio automatico delle guarnizioni
- Il range di flusso applicabile senza necessità di splittare solvente verso il detector deve essere compreso fra 0,2 e 2 mL/min con una precisione $\leq 0,1\% \text{ RSD}$ ed un'accuratezza $\leq 1\%$.
- La precisione della miscelazione della fase mobile (almeno fra 0,2 e 2 mL/min) deve essere $\leq 0,3\% \text{ RSD}$ e l'accuratezza della composizione deve essere $\leq 0,5\%$
- Il sistema dovrà essere dotato di sensori di perdita dei solventi e diagnostica automatica
- Il sistema dovrà essere equipaggiato di un sistema di degasaggio solventi di tipo a permeazione sottovuoto senza necessità di gas ausiliari integrato nel modulo di pompaggio
- Il volume morto (escluso eventuale mixer) deve essere $\leq 20 \mu\text{L}$

2.2.2 Comparto colonna

- Il comparto colonne dovrà prevedere una termostatazione almeno da 5°C a 80°C
- Il sistema dovrà essere dotato di sensori di perdita dei solventi e diagnostica automatica
- Il sistema dovrà essere dotato di un sistema per il preriscaldamento (precisare se attivo o passivo e le principali caratteristiche) della fase mobile prima dell'ingresso in colonna.

2.2.3 Campionatore automatico

- Il campionatore automatico dovrà avere capacità di alloggiare almeno 80 vials da 2 mL
- Il campionatore dovrà essere utilizzabile anche con vial a volume ridotto, con vial dotate di inserti a volume ridotto e con piastre a 96 pozzetti

- Il range del volume di iniezione deve essere compreso tra un valore minimo $\leq 0,2 \mu\text{L}$ e un valore massimo $\geq 20 \mu\text{L}$
- La precisione del volume iniettato ($V_{inj} \geq 5 \mu\text{L}$) deve essere $\leq 0,5 \% \text{ RSD}$
- La durata del ciclo di iniezione deve essere $\leq 30 \text{ sec}$
- Il carryover dovrà essere comunque non superiore allo 0,005%
- Deve essere presente la possibilità di regolare dal software la profondità dell'ago e la velocità di aspirazione del campionatore
- Il campionatore automatico dovrà essere provvisto di un modulo di termostatazione di tipo elettrico almeno nell'intervallo compreso fra 4 e 40°C.
- Il sistema dovrà essere dotato di sensori di perdita dei solventi e diagnostica automatica

2.3 Caratteristiche generali relative allo spettrometro di massa

- Lo strumento dovrà essere dotato di sorgente ESI
- La sorgente dovrà essere riscaldata e posta in maniera ortogonale all'entrata alla zona di analisi
- Il cromatografo liquido deve essere interfacciato con la sorgente ESI senza necessità di ripartizione di flusso (splittaggio)
- Lo spettrometro dovrà essere in grado di invertire la polarità di ionizzazione (ESI+/ESI-)
- La sensibilità in modalità MRM (ESI+) deve essere tale che 1 pg di reserpina iniettato in colonna in gradiente deve generare un rapporto s/n non inferiore a 500000:1 ($m/z \ 609 > 195$) con un noise espresso come $\text{RMS} \times 1$
- La sensibilità in modalità MRM (ESI-) deve essere tale che 1 pg di cloramfenicolo iniettato in colonna in gradiente deve generare un rapporto s/n non inferiore a 500000:1 ($m/z \ 321 > 152$) con un noise espresso come $\text{RMS} \times 1$
- Lo strumento dovrà essere dotato di almeno le seguenti modalità di acquisizione: MS, MS/MS, Product e Parent ion scanning, Neutral loss, SIM e MRM
- La velocità di scansione (amu/s) in modalità triplo quadrupolo dovrà essere almeno 10.000 amu/s .
- Lo strumento dovrà essere dotato di una valvola "waste" integrata controllata direttamente dal software che possa consentire di gestire il flusso in uscita dalla colonna introducendolo a seconda delle necessità verso lo spettrometro o verso lo scarico in modo da ridurre al minimo le eventuali contaminazioni/sollecitazioni allo spettrometro.

- Lo strumento dovrà essere privo di capillari di trasferimento in materiale metallico dalla zona di ionizzazione alla zona di alto vuoto.
- La pulizia della sorgente esterna e dell'eventuale capillare dovrà poter essere eseguita in modo rapido e semplice senza necessità di interrompere il vuoto (presenza di una valvola di isolamento fra la sorgente esterna e la zona di alto vuoto o sistema equivalente).
- Tutti i gas dovranno essere erogati da valvole a flusso controllate da software
- Lo strumento dovrà essere dotato di un sistema integrato od esterno per l'infusione diretta delle soluzioni di tuning/calibrazione.

2.4 Caratteristiche generali relative all'hardware e al software di gestione e acquisizione per ciascuno strumento

- Il PC deve essere dotato di: doppio disco fisso (fisico) da almeno 1 TB, doppia scheda di rete, masterizzatore DVD, monitor da almeno 21", sistema operativo Windows 10 o superiore, Microsoft Office (word, excel, powerpoint) installato
- L'interfaccia deve essere semplice ed intuitiva per permettere l'ottimizzazione dei parametri di acquisizione on-line del flusso, della miscela della fase mobile, del controllo delle temperature, del volume d'iniezione, dei parametri di massa ecc;
- Facilità d'utilizzo: sequenza delle impostazioni per creare metodi di acquisizione intuitiva e con possibilità di una procedura guidata e interattiva;
- Il software deve possedere un'applicazione per il "tuning" in automatico di tutti i parametri strumentali;
- Deve essere possibile lo sviluppo del metodo di massa in automatico, per ottimizzare le condizioni di analisi e di frammentazione dei composti di interesse allo scopo di consentire la creazione di metodi MRM dei campioni;
- Il sistema deve poter quantificare campioni oggetto di interesse mediante acquisizione dei picchi, integrazione, calibrazione e quantificazione degli stessi;
- Deve essere possibile, nell'ambito della stessa sequenza analitica, (senza necessità di ripetizione dell'iniezione) poter quantificare un composto sia mediante la tecnica dello standard interno, sia mediante la calibrazione esterna;
- Deve essere possibile estrapolare dal software di quantificazione la concentrazione presente nei diversi campioni con possibilità, in fase di stesura di sequenza o di elaborazione di quantificazione, di poter variare i parametri di estrazione quali peso dei campioni e volume finale di ripresa;

- Deve essere possibile valutare in fase di quantificazione per ciascun analita la presenza di almeno un picco quantificatore, due picchi qualificatori, il rapporto ionico fra due di essi e deve essere possibile impostare un range di accettabilità di tale rapporto ionico;
- Deve essere possibile valutare il rapporto segnale/rumore per ciascuno degli analiti sottoposti ad analisi;
- Tutti i parametri precedente descritti devono essere esportabili dal software e stampabili in formati coerenti.

3 CRITERI DI VALUTAZIONE LOTTI 1 E 2 - PARAMETRI QUALITATIVI: MAX PUNTI 40/100

Criteri di valutazione e subcriteri	Punteggi assegnati	punti
Caratteristiche del sistema UHPLC	Max punti 8	
Numero di curve di gradiente programmabili a seconda delle esigenze (lineari concave, convesse, a segmenti)	Numero ≥ 10	1
	Numero < 10	0
Sistema di pompaggio in grado di operare in un range di pH	- compreso tra 1 e >12	1
	- compreso tra 1 e 12	0
Presenza (compreso nella fornitura) di un dispositivo elettronico che consenta oltre al riconoscimento della colonna, anche di memorizzare le informazioni relative alla storia della colonna (data di produzione, batch, lotto, certificati di analisi, ecc.) e per tutta la sua vita (numero di iniezioni, pressioni operative, eluenti, ecc.)	Si	2
	No	0
Carryover	$< 0,001\%$	3
	$\geq 0,001\%$ e $\leq 0,004\%$	1
	$> 0,004\%$	0
Possibilità di eseguire programmi di iniezioni pre-colonna (derivatizzazioni, diluizioni, aggiunta di standard ecc) senza modifiche hardware	Si	1
	No	0
Caratteristiche del Rivelatore a triplo	Max punti 21	

quadrupolo:		
Modalità di trasferimento degli ioni dalla zona a pressione atmosferica alla zona di misura ad alto vuoto:	Mediante coni di convogliamento ed immissione diretta	2
	Mediante capillari o tubicini di materiale non metallico	1
Tempo necessario a passare da MS (full scan) a MS/MS (che include MRM, "product ion scanning" e "neutral loss scanning")	≤ 3 ms	3
	> 3 ms e ≤ 4 ms	1
	> 4 ms	0
Velocità di inversione della polarità (pos/neg)	≤ 15 ms	2
	> 15 ms e ≤ 25 ms	1
	> 25 ms	0
Velocità di scansione (amu/s) in modalità triplo quadrupolo (almeno 10.000 amu/s)	≥ 17.000 amu/s	5
	> 12.000 amu/s e < 17.000 amu/s	1
	≥ 10.000 amu/s e ≤ 12.000 amu/s	0
Intervallo di massa analizzabile in un'unica modalità full sensitivity su tutto l'intervallo (senza necessità di individuare preventivamente la modalità di analisi in funzione della massa)	Da m/z 5 a m/z 2000	4
	Da m/z 5 a m/z 1500	1
	Da m/z 5 a m/z 1250	0
Possibilità di effettuare le operazioni di pulizia della sorgente senza attrezzi limitando il fermo macchina.	Sì	1
	No	0
Presenza di una modalità che consente di acquisire uno spettro di massa in Product Ion Scan all'interno di un'acquisizione in MRM senza ripetere l'iniezione (o funzionalità equivalente-specificare)	Sì	1
	No	0
Operatività della cella di collisione	Ad accelerazione lineare ad alta pressione	1
	A bassa pressione	0
Numero di gas utilizzati dallo spettrometro di massa	Un solo gas	2
	Due gas	1
	Più di due gas	0
Caratteristiche del Software di	Max punti 3	

acquisizione:		
Conferma automatica del rapporto ione qualificatore/ione quantificatore in MRM	Presente Non presente	2 0
Database integrato con libreria di transizioni MRM e metodi cromatografici e di processamento per analisi quantitative in UHPLC-MS/MS di pesticidi e di altre classi di composti inerenti alla sicurezza alimentare	Presente Non presente	1 0

Criteri di valutazione e subcriteri	Punteggi assegnati: max 8 punti	punti
Presenza rivelatore a fotomoltiplicatore	Si No	4 0
Presenza di una funzione integrata nel software che consenta la quantificazione automatica di uno o più analiti presenti nella matrice mediante il metodo delle aggiunte di concentrazioni note di standard (se compreso nella fornitura)	Presente Non presente	1 0
Possibilità di integrare il numero di vial alloggiato ad almeno 400 anche mediante l'installazione di moduli aggiuntivi	Si No	1 0
Possibilità di interfacciare al sistema LC-MS/MS una sorgente per analisi di composti gassosi mediante ionizzazione a pressione atmosferica in modo da poter usare alternativamente lo spettrometro anche come rivelatore gascromatografico	Presente Non presente	2 0

4 APPARECCHIATURE A SUPPORTO

- Per ogni sistema due PC di ultima generazione e relativi monitor, 2 tastiere italiane, 2 mouse e 1 stampante laser. I PC dovranno essere entrambi in grado di supportare il software per il completo controllo di tutti i componenti del sistema e delle loro funzioni: dovranno essere idonei alla gestione quali-quantitativa dei dati spettrometrici ed equipaggiati con schede di rete idonee per il collegamento alla rete aziendale
- Sarà necessaria la fornitura aggiuntiva di un sistema di produzione di azoto mediante filtrazione dell'aria senza compressore.

5 PARAMETRI QUANTITATIVI: MAX PUNTI 30/100

Saranno assegnati 30 punti massimo all'offerta economica – prezzo – del sistema, espressa in euro al ribasso sulla base d'asta.

5.1 GARANZIA E ASSISTENZA

Deve essere corrisposto un periodo di garanzia decorrente dalla data di collaudo dello spettrometro di massa pari a 24 mesi. La garanzia deve coprire tutte le parti fornite, i costi di prestazione tecnica ed essere erogata presso i laboratori dell'Ente, senza spese aggiuntive (costo di missione del tecnico, etc.) ed il servizio di assistenza dovrà essere fornito entro le 72 ore.

5.2 INSTALLAZIONE E COLLAUDO

I sistemi devono essere forniti, trasportati ed installati a carico della ditta vincitrice (spese doganali, scarico, allocazione, montaggio) presso ciascuna sede di destinazione. Saranno compresi collegamenti o quant'altro sia necessario affinché l'installazione possa considerarsi a regola d'arte, in conformità con il presente disciplinare di gara.

In fase di collaudo dovranno essere effettuate tutte le prove necessarie a dimostrare la sua funzionalità rispetto alle specifiche e capacità tecniche dichiarate come indicato precedentemente– nessuna esclusa.

5.3 DIMENSIONI E UTENZE

Ciascuna Ditta dovrà documentare per ciascuna parte componente la strumentazione: le dimensioni ed il peso, la potenza elettrica impegnata, il calore dissipato, il rumore prodotto l'intervallo di temperatura ambiente di esercizio necessario per ben operare e tutti i servizi (acqua, gas, ecc...) per una corretta installazione dello strumento.

5.4 CORSO DI ADDESTRAMENTO E FORMAZIONE DEL PERSONALE

Dopo essere stato installato e collaudato, deve essere compreso un corso di formazione presso la sede di destinazione dell'LC-MS/MS, per n° 2- 3 persone. Dovrà prevedere un corso base ed

esercitazioni pratiche sullo spettrometro ed il relativo materiale didattico (specificare le ore totali di corso che verranno effettuate e la loro distribuzione temporale). Dare una dettagliata descrizione del corso (tipo, durata, materiale didattico disponibile, lingua del materiale didattico).

5.5 MANUALE OPERATIVO

Dovranno essere forniti i manuali in ITALIANO ed Inglese completi, dell'intero sistema sia per la parte Hardware che per la parte Software. Dare una indicazione delle pagine per singolo manuale.