



中华人民共和国国家标准

GB/T 35410—2017

液相色谱-串联四极质谱仪 性能的测定方法

Method of performance testing for liquid chromatography-tandem quadrupole
mass spectrometry

2017-12-29 发布

2018-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出。

本标准由全国仪器分析测试标准化技术委员会(SAC/TC 481)归口。

本标准起草单位:中国计量科学研究院。

本标准主要起草人:戴新华、邵明武、何海红、江游、王卫华、张伟、宋德伟、苏福海。

液相色谱-串联四极质谱仪 性能的测定方法

1 范围

本标准规定了液相色谱-串联四极杆质谱仪性能的测试方法。

本标准适用于液相色谱-串联四极杆质谱仪性能的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 32264 气相色谱 单四极质谱仪性能测定方法

GB/T 32267 分析仪器性能测定术语

3 术语和定义

GB/T 32264、GB/T 32267 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

线性相关系数 linear correlation coefficient

表征响应面积与被测物浓度之间线性相关程度的一个参数。

4 试剂和标准物质

除非另有规定,所有溶剂均为色谱级级别。宜使用以下试剂,使用时根据仪器状况稀释至合适浓度。

4.1 利血平溶液标准物质,1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

4.2 聚丙二醇(简称 PPG)450 溶液,3.6 $\mu\text{g/mL}$ 。

4.3 PPG1000 溶液,3.6 $\mu\text{g/mL}$ 。

4.4 PPG2000 溶液,3.6 $\mu\text{g/mL}$ 。

4.5 氯霉素,99.7%。

4.6 甲醇、乙腈、异丙醇、甲酸。

4.7 水,Millipore 超纯水。

4.8 溶液稀释和配制方法参见 A.3。

5 实验室环境条件

5.1 应清洁无尘,无易燃、易爆和强腐蚀性气体或试剂,排风良好。

5.2 室内温度:15 $^{\circ}\text{C}$ ~30 $^{\circ}\text{C}$;相对湿度不大于 75%。

5.3 仪器工作台应平稳,周围无强烈机械振动和电磁干扰源。

5.4 电源电压 $220\text{ V} \pm 22\text{ V}$, $50\text{ Hz} \pm 1\text{ Hz}$ 。

6 性能指标的测定

6.1 测定通用条件

开机抽真空,直到真空正常,进行调谐,通过后参照附录 A 条件进行测定。

6.2 分辨率

使用调谐用溶液进行调谐,直到调谐通过,打印调谐报告,得到半峰宽 FWHM。调谐的质量数范围应覆盖仪器的低、中、高质量数范围,所得结果的半峰宽在 $0.6\text{ u} \sim 0.8\text{ u}$ 之间。

注:除特殊说明外,均采用电喷雾电离源(ESI)正离子模式(简称 ESI+)。下面 ESI-同此)进行测试,u 为原子质量单位。

6.3 质量范围

在调谐或监测界面下,将质量数设在仪器可测范围,注入满足仪器分子量测量范围的 PPG 混合溶液,进行全质量范围扫描,记录信噪比满足 ≥ 3 的特征离子,通常包括 m/z 59、175、616、906、1 254、1 545 等质谱峰。对于强度低的离子,可以采用局部扫描方式观察,用 $m/z:n_1 \sim n_2$ 表示。

注 1:可以采用仪器自带的调谐液,采用与 PPG 混合溶液相同的检测方法观察仪器可检测的最大质荷比数;

注 2: n_1 、 n_2 分别代表最低质荷比数和最高质荷比数。

6.4 灵敏度

6.4.1 ESI+

注入适当浓度(例如 $10\text{ pg}/\mu\text{L}$)的利血平溶液 $5.0\text{ }\mu\text{L}$,采用多反应监测(Multiple Reaction Monitoring,MRM;有时也叫选择反应监测 Selected Reaction Monitoring,SRM)采集模式,采集离子 $609 \rightarrow 195$,得到质量色谱图,根据式(1)计算 S/N 。

$$S/N = \frac{H_{m/z}}{H_{\text{噪声}}} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$H_{m/z}$ ——子离子 m/z 195 的峰高,指对 195 离子进行积分后的峰高;

$H_{\text{噪声}}$ ——基线噪声,宜在利血平峰后的 $0.5\text{ min} \sim 1.0\text{ min}$ 范围内选择。

6.4.2 ESI-

注入适当浓度(例如 $10\text{ pg}/\mu\text{L}$)的氯霉素溶液 $5.0\text{ }\mu\text{L}$,采用 MRM(或 SRM)采集模式,采集离子 $(321 \rightarrow 152)$,得到质量色谱图,根据式(1)计算 S/N 。

6.4.3 大气压化学电离源(APCI)正离子模式(简称 APCI+)

注入适当浓度(例如 $10\text{ pg}/\mu\text{L}$)的利血平溶液 $5.0\text{ }\mu\text{L}$,采用 MRM(或 SRM)采集模式,采集离子 $609 \rightarrow 195$,得到质量色谱图,根据式(1)计算 S/N 。

6.5 线性相关系数

从低到高注入不同浓度的利血平溶液,计算测试浓度范围内,响应面积与利血平浓度间的线性相关系数 R 。使用的利血平溶液最高浓度一般不超过 $5.0\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$,最低浓度应满足 10 倍信噪比。

注:一般采用 MRM(或 SRM)检测方式, m/z 可以设定为 195、397、448 三个离子,选择其中离子强度最大一个计算。

6.6 质量稳定性

注入适当浓度(例如 1.2 $\mu\text{g/mL}$)的 PPG450、PPG1000、PPG2000 混合溶液,每隔 8 h 进一次样,共 7 次。分别记录 m/z :59、175、616、906、1 254、1 545 等离子的测量值,分别计算每个离子实际测量值极差,取其中最大的一个作为稳定性测试结果。

注:可根据用户对所选择仪器性能的要求以及仪器本身最大扫描范围,选择分子量范围满足日常检测的 PPG 溶液,考察低质量段、中间质量段或高质量段的稳定性。

6.7 质量准确性

注入适当浓度(例如 1.2 $\mu\text{g/mL}$)的 PPG450、PPG1000、PPG2000 混合溶液 1 次。分别记录 m/z :59、175、616、906、1 254、1 545 等离子的测量值,计算实测值与理论值(参见表 B.1)之差。

注:可根据用户对所选择仪器性能的要求以及仪器本身最大扫描范围,选择分子量范围满足日常检测的 PPG 溶液,考察低质量段、中间质量段或高质量段的准确性。

6.8 面积重复性

6.8.1 连续重复性

注入适当浓度(例如 10 $\text{pg}/\mu\text{L}$)的利血平溶液或氯霉素溶液,5.0 μL ,连读进样六次。采用 MRM(或 SRM)采集模式,采集离子(609 $\rightarrow$ 195、397、448)或(321 $\rightarrow$ 152、194、257),提取 m/z 195 或 152 子离子质量色谱图,按质量色谱峰进行面积积分,根据式(2)计算 RSD:

$$\text{RSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \times \frac{1}{\bar{x}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

RSD —— 相对标准偏差;

x_i —— 利血平样品子离子 195 或氯霉素样品子离子 152 峰第 i 次测量峰面积;

$\bar{x}$ —— 利血平样品子离子 195 或氯霉素样品子离子 152 峰 n 次测量峰面积算术平均值;

i —— 测量序号;

n —— 测量次数。

6.8.2 日内重复性

注入适当浓度(例如 10 $\text{pg}/\mu\text{L}$)的利血平溶液 5.0 μL 。先连续进样 3 次作为第一组测试,然后每隔 4 h 连续进样 3 次,共测试 7 组,采用 MRM(或 SRM)采集模式,采集离子(609 $\rightarrow$ 195、397、448),提取 m/z 195 子离子质量色谱图,按质量色谱峰进行面积积分,分别取每组 3 次进样所得平均值作为一次测量结果,根据式(2)计算 RSD,作为日内重复性。

6.9 定性重复性

6.9.1 连续重复性

分别注入适当浓度(例如 10 $\text{pg}/\mu\text{L}$)的利血平溶液或氯霉素溶液 5.0 μL ,连续进样 6 次,采用 MRM(或 SRM)采集模式,采集离子(609 $\rightarrow$ 195、397、448),提取 m/z 195 或 152 子离子质量色谱图,分别逐个计算 m/z 397、448 与 195 强度的比值以及 194、257 与 152 强度的比值,然后按照式(3),分别计算两个子离子强度比值的 RSD。

$$\text{RSD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \times \frac{1}{\bar{x}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

RSD——子离子 m/z 397、448 与 m/z 195 或 m/z 194、257 与 m/z 152 强度比的相对标准偏差;

x_i ——第 i 次测量子离子 m/z 397、448 与 m/z 195 或 m/z 194、257 与 m/z 152 强度比值;

$\bar{x}$ —— n 次测量子离子 m/z 397、448 与 m/z 195 或 m/z 194、257 与 m/z 152 强度比值的算术平均值;

i ——测量序号;

n ——测量次数。

6.9.2 日内重复性

注入适当浓度(例如 10 pg/ μL)的利血平溶液 5.0 μL , 先进样 1 次, 然后每隔 4 h 测试一次, 共测试 7 次, 分别记录子离子 m/z 195 (基峰)、397、448 的强度, 按照式(3)分别逐个计算 m/z 397、448 与 m/z 195 比值的 RSD, 作为日内的重复性。

6.10 保留时间重复性

根据 6.8.1 质量色谱图, 记录 m/z 609 $\rightarrow$ 195 子离子色谱峰的保留时间, 按式(4)计算相应化合物的保留时间极差。

$$\Delta = t_{\max} - t_{\min} \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

$t_{\max}$ —— m/z 195 子离子色谱峰的最大保留时间, 单位为秒(s);

$t_{\min}$ —— m/z 195 子离子色谱峰的最小保留时间, 单位为秒(s)。

6.11 扫描速度

在不进样的条件下, 设定质荷比 m/z 从 50~650, 扫描速度设定到最大值, 连续扫描 5 min, 根据式(5) 计算实测扫描速度。

$$V_{\text{sp}} = \frac{M_r \times N_s}{T_s} \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

V_{sp} ——扫描速度, 单位为原子质量单位每秒(u/s);

M_r ——扫描范围, 单位为原子质量单位(u);

N_s ——扫描次数;

T_s ——扫描时间, 单位为秒(s)。

附录 A

(资料性附录)

性能测试参数条件

A.1 质谱条件

A.1.1 分辨率:半峰宽 $0.6\text{ u}\sim 0.8\text{ u}$ 。

A.1.2 扫描速度:设定好扫描模式与扫描范围后仪器自动得出的值。

A.1.3 阈值(threshold):0

A.1.4 扫描范围:

利血平, $m/z\ 604\sim 614$;

PPG450(设定 3 段范围), $m/z\ 54\sim 64$ 、 $m/z\ 171\sim 181$ 、 $m/z\ 611\sim 621$;

PPG1000(设定 5 段范围), $m/z\ 54\sim 64$ 、 $m/z\ 171\sim 181$ 、 $m/z\ 611\sim 621$ 、 $m/z\ 901\sim 911$ 、 $m/z\ 1\ 251\sim 1\ 261$;

PPG2000(设定 6 段范围), $m/z\ 54\sim 64$ 、 $m/z\ 171\sim 181$ 、 $m/z\ 611\sim 621$ 、 $m/z\ 901\sim 911$ 、 $m/z\ 1\ 251\sim 1\ 261$ 、 $m/z\ 1\ 541\sim 1\ 551$ 。

A.1.5 离子源温度、毛细管电压、锥孔电压、雾化气流速、干燥气流速、碰撞能量、透镜参数等根据厂家推荐值和测定样品时的调谐值进行设定。

A.2 色谱条件

A.2.1 ESI+、APCI+流动相:乙腈/水=70/30(混合液中含甲酸 0.1%, 体积比)。

A.2.2 ESI-流动相:乙腈/水=70/30(体积比)。

A.2.3 ESI+、ESI-流动相流速:0.2 mL/min $\sim$ 0.8 mL/min, 恒定流速。

A.2.4 APCI+流动相流速:0.4 mL/min $\sim$ 1.2 mL/min, 恒定流速。

A.2.5 柱箱温度:设定为室温以上 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 有制冷功能的仪器可以根据仪器性能自行设定柱温。

A.2.6 进样器温度:根据仪器功能自行设定。

A.2.7 进样体积:5.0 μL 。

A.2.8 进样方式:不分流进样。

A.2.9 色谱柱(只在测试本标准 6.4、6.5、6.8、6.9 项目时使用), 参考规格如下:

对于常规液相色谱仪: C_{18} 柱, $2.1\times 50\text{ mm}$, $3.5\text{ }\mu\text{m}$ 或性能相当的色谱柱;

对于超高压液相色谱仪: C_{18} 柱, $2.1\times 50\text{ mm}$, $1.7\text{ }\mu\text{m}$ 或性能相当的色谱柱。

A.2.10 其他要求如下所示:

a) 对于灵敏度测试, 要求保留时间控制在 0.5 min $\sim$ 1.5 min。

b) 质量准确性, 可以采用流动注射、在不连接色谱柱的情况下自动或手动将样品注入质谱的方法进行测试。

A.3 溶液配制和稀释

适当浓度指根据仪器灵敏度状况, 采用 100 μL 和 1 000 μL 移液器、10 mL 和 100 mL 容量瓶, 对标准物质或溶液进行必要的稀释, 直到满足使用要求, 制备和稀释用混合溶剂以及制备和稀释步骤见

表 A.1 及表 A.2。建议稀释时,每级母液取样量不少于 100 μL 、称样量不小于 0.01 g,所使用的移液器与容量瓶需经过检定或校准。

表 A.1 制备和稀释用混合溶剂

序号	溶剂体系	所需体积/mL
A.3.1	70 : 30(体积比)的乙腈 : 水混合溶剂,含甲酸 0.1%(体积比)	约 100
A.3.2	70 : 30(体积比)的乙腈 : 水混合溶剂	约 300
A.3.3	1 : 1(体积比)的甲醇 : 水混合溶剂,含甲酸 0.1%(体积比)与乙酸铵 2 mmol/L	约 300

表 A.2 制备和稀释步骤

序号	样品与浓度	稀释步骤
A.3.4	100 pg/ μL ,利血平溶液	用 1 000 μL 移液器吸取 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 利血平溶液 1 000 μL 到 10 mL 容量瓶中,用 A.3.1 中溶剂定容到刻度
A.3.5	10 pg/ μL ,利血平溶液	用 100 μL 移液器吸取 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 利血平溶液 100 μL 到 10 mL 容量瓶中,用 A.3.1 中溶剂定容到刻度
A.3.6	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,氯霉素溶液	称 0.01 g 氯霉素固体样品到 100 mL 容量瓶中,然后用 A.3.2 中溶剂定容到刻度
A.3.7	1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$,氯霉素溶液	用 1 000 μL 移液器吸取 1 000 μL 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氯霉素溶液到 100 mL 容量瓶中,用 A.3.2 中溶剂定容到刻度
A.3.8	100 pg/ μL ,氯霉素溶液	用 1 000 μL 移液器吸取 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氯霉素溶液 1 000 μL 到 10 mL 容量瓶中,用 A.3.2 中溶剂定容到刻度
A.3.9	10 pg/ μL ,氯霉素溶液	用 100 μL 移液器吸取 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 氯霉素溶液 100 μL 到 10 mL 容量瓶中,用 A.3.2 中溶剂定容到刻度
A.3.10	360 $\mu\text{g}/\text{mL}$, PPG450、PPG 1000、PPG 2000 溶液	分别称取 0.036 g PPG450、PPG 1000、PPG 2000 到三个 100 mL 容量瓶中,用 A.3.3 中溶剂定容到 100 mL
A.3.11	3.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$, PPG450、PPG 1000、PPG 2000 溶液	用 100 μL 移液器分别吸取 360 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PPG450、PPG 1000、PPG 2000 溶液 100 μL 到三个 10 mL 容量瓶中,用 A.3.3 中溶剂定容到刻度
A.3.12	1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, PPG450、PPG 1000、PPG 2000 混合溶液	用 1 000 μL 移液器分别吸取 3.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 PPG450、PPG 1000、PPG 2000 溶液 1 000 μL 到 10 mL 容量瓶中,混合均匀即可

附录 B

(资料性附录)

PPG450、PPG1000、PPG2000 离子理论值(ESI+)

PPG450、PPG1000、PPG2000 离子理论值(ESI+)见表 B.1。

表 B.1 离子理论值(ESI+)

1		2		3		4	
离子	理论值	离子	理论值	离子	理论值	离子	理论值
$[A_1 + NH_4]^+$	94.09	$[A_{20} + NH_4]^+$	1 196.88	$[M_1 + H]^+$	59.05	$[M_{20} + H]^+$	1 161.85
$[A_2 + NH_4]^+$	152.13	$[A_{21} + NH_4]^+$	1 254.92	$[M_2 + H]^+$	117.09	$[M_{21} + H]^+$	1 219.89
$[A_3 + NH_4]^+$	210.17	$[A_{22} + NH_4]^+$	1 312.97	$[M_3 + H]^+$	175.13	$[M_{22} + H]^+$	1 277.93
$[A_4 + NH_4]^+$	268.21	$[A_{23} + NH_4]^+$	1 371.01	$[M_4 + H]^+$	233.18	$[M_{23} + H]^+$	1 335.97
$[A_5 + NH_4]^+$	326.25	$[A_{24} + NH_4]^+$	1 429.05	$[M_5 + H]^+$	291.22	$[M_{24} + H]^+$	1 394.01
$[A_6 + NH_4]^+$	384.30	$[A_{25} + NH_4]^+$	1 487.09	$[M_6 + H]^+$	349.26	$[M_{25} + H]^+$	1 452.05
$[A_7 + NH_4]^+$	442.34	$[A_{26} + NH_4]^+$	1 545.13	$[M_7 + H]^+$	407.30	$[M_{26} + H]^+$	1 510.10
$[A_8 + NH_4]^+$	500.38	$[A_{27} + NH_4]^+$	1 603.18	$[M_8 + H]^+$	465.34	$[M_{27} + H]^+$	1 568.14
$[A_9 + NH_4]^+$	558.42	$[A_{28} + NH_4]^+$	1 661.22	$[M_9 + H]^+$	523.38	$[M_{28} + H]^+$	1 626.18
$[A_{10} + NH_4]^+$	616.46	$[A_{29} + NH_4]^+$	1 719.26	$[M_{10} + H]^+$	581.43	$[M_{29} + H]^+$	1 684.22
$[A_{11} + NH_4]^+$	674.51	$[A_{30} + NH_4]^+$	1 777.30	$[M_{11} + H]^+$	639.47	$[M_{30} + H]^+$	1 742.26
$[A_{12} + NH_4]^+$	732.55	$[A_{31} + NH_4]^+$	1 835.34	$[M_{12} + H]^+$	697.51	$[M_{31} + H]^+$	1 800.31
$[A_{13} + NH_4]^+$	790.59	$[A_{32} + NH_4]^+$	1 893.38	$[M_{13} + H]^+$	755.55	$[M_{32} + H]^+$	1 858.35
$[A_{14} + NH_4]^+$	848.63	$[A_{33} + NH_4]^+$	1 951.43	$[M_{14} + H]^+$	813.59	$[M_{33} + H]^+$	1 916.39
$[A_{15} + NH_4]^+$	906.67	$[A_{34} + NH_4]^+$	2 009.47	$[M_{15} + H]^+$	871.64	$[M_{34} + H]^+$	1 974.43
$[A_{16} + NH_4]^+$	964.71	$[A_{35} + NH_4]^+$	2 067.51	$[M_{16} + H]^+$	929.68	$[M_{35} + H]^+$	2 032.47
$[A_{17} + NH_4]^+$	1 022.76	$[A_{36} + NH_4]^+$	2 125.55	$[M_{17} + H]^+$	987.72	$[M_{36} + H]^+$	2 090.51
$[A_{18} + NH_4]^+$	1 080.80	$[A_{37} + NH_4]^+$	2 183.59	$[M_{18} + H]^+$	1 045.76	$[M_{37} + H]^+$	2 148.56
$[A_{19} + NH_4]^+$	1 138.84	$[A_{38} + NH_4]^+$	2 241.64	$[M_{19} + H]^+$	1 103.80	$[M_{38} + H]^+$	2 206.60

注: M_n 代表 $[OC_3H_6]_n$; A_n 代表 $H-M_n-OH$, n 从 1 到 38。