

Федеральное государственное унитарное предприятие  
«Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д.И. Менделеева»  
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

СОГЛАСОВАНО

И.о. генерального директора ФГУП  
«ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»



А.Н.Пронин

11 \_\_\_\_\_ 2021 г.

Государственная система обеспечения единства измерений

Масс-спектрометры EVOQ LC-TQ

Методика поверки

МП-242-2438-2021

И.о. руководителя отдела  
Государственных эталонов в области  
физико-химических измерений  
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

\_\_\_\_\_ А.В.Колобова

Ст.научный сотрудник  
ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

\_\_\_\_\_ М.А.Мешалкин

С. Петербург  
2021 г.

Настоящая методика поверки распространяется на масс-спектрометры EVOQ LC-TQ моделей EVOQ LC-TQ Qube и EVOQ LC-TQ Elite и устанавливает методы и средства их первичной поверки до ввода в эксплуатацию, а также после ремонта и периодической поверки в процессе эксплуатации.

Требования по обеспечению прослеживаемости поверяемого хроматографа к государственным первичным эталонам единиц величин выполняются путем реализации на хроматографе методик измерений с применением стандартных образцов утвержденного типа, прослеживаемых к комплексу государственных первичных эталонов единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации по ГОСТ 8.735.0-2011 «Государственная поверочная схема для средств измерений содержания компонентов в жидких и твердых веществах и материалах. Основные положения»:

ГЭТ 217-2018 ГПЭ единиц массовой доли и массовой (молярной) концентрации неорганических компонентов в водных растворах на основе гравиметрического и спектрального методов;

ГЭТ 176-2019 ГПЭ единиц массовой (молярной, атомной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе кулонометрии;

ГЭТ 196 -2019 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе спектральных методов;

ГЭТ 208-2019 ГПЭ единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии.

Методикой поверки не предусмотрена возможность проведения поверки отдельных измерительных каналов и (или) отдельных автономных блоков из состава средства измерений или поверка для меньшего числа измеряемых величин или на меньшем числе поддиапазонов измерений.

## 1 Перечень операций поверки

1.1 При проведении поверки должны выполняться операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта	Проведение операции при поверке	
		первичной	периодической
Внешний осмотр	6	Да	Да
Подготовка к поверке и опробование	7	Да	Да
Проверка программного обеспечения	8	Да	Да
Определение метрологических характеристик	9	Да	Да

## 2 Требования к условиям проведения поверки

2.1 При проведении поверки соблюдают следующие условия:

- температура окружающего воздуха от 15 до 30 °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %.

## 3 Требования к специалистам, осуществляющим поверку

3.1 К работе с масс-спектрометрами и проведению поверки допускаются лица, ознакомленные с руководством по эксплуатации поверяемого масс-спектрометра и инструкциями (руководствами) по применению средств измерений, стандартных образцов и вспомогательных средств поверки и имеющие квалификацию не ниже бакалавра (инженера)

и прошедшие инструктаж по технике безопасности. Для получения данных, необходимых для поверки, допускается участие в поверке оператора, обслуживающего прибор или сервис-инженера (под контролем поверителя).

#### 4 Метрологические и технические требования к средствам поверки

4.1 При проведении поверки применяют средства, указанные в таблице 2.

Таблица 2 – Средства поверки

Номер пункта методики поверки	Наименование эталонного средства измерений или вспомогательного средства поверки, номер документа, регламентирующего технические требования к средству, метрологические и технические характеристики
7, 9	Основные средства поверки: – стандартный образец состава левомицетина ГСО 10165-2012.
7	Растворители: – метанол кв. «хч» по ТУ 6-09-1709-77. – вода для лабораторного анализа 1-ой степени чистоты по ГОСТ Р 52501-2005;
7	Средства измерений: – меры вместимости: пипетки 2 класса точности по ГОСТ 29227-91, колбы наливные 2 класса точности по ГОСТ 1770-74; – дозаторы пипеточные с диапазоном дозирования от 0,5 до 1000 мкл и относительной погрешностью не более $\pm 10\%$ (например, ФИФ №67230-17 или аналогичные); – весы лабораторные высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1-2011.
2	– термогигрометр электронный или гигрометр психрометрический, зарегистрированные в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений (например, ФИФ №22129-09; ФИФ № 69566-17 или аналогичные);
9	Вспомогательные средства поверки: Хроматограф жидкостной, зарегистрированный в Федеральном фонде по обеспечению единства измерений (например ФИФ № 82698-21; ФИФ № 76391-19 и др.) – хроматографическая колонка Bruker Solo 2 100×2,1 мм или аналогичная.

4.2. Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих определение метрологических характеристик поверяемых масс-спектрометров с требуемой точностью.

4.3. Все средства измерений, используемые при поверке, должны быть поверены, а ГСО и химические реактивы (растворители) иметь действующие паспорта.

#### 5 Требования (условия) по обеспечению безопасности проведения поверки

При проведении поверки соблюдают следующие требования безопасности:

5.1 Масс-спектрометр должен быть установлен в хорошо проветриваемом помещении.

5.2. При проведении поверки нельзя прикасаться к частям корпуса масс-спектрометра, на которые нанесены предупреждающие знаки.

5.3. При проведении поверки требуется следовать правилам безопасности, изложенным в разделе 2 Руководства по эксплуатации масс-спектрометров EVOQ LC-TQ Qube, EVOQ LC-TQ Elite.

#### 6 Внешний осмотр средства измерений

6.1 При внешнем осмотре устанавливают соответствие масс-спектрометров следующим требованиям:

- отсутствие внешних повреждений, влияющих на работоспособность;
- исправность органов управления;
- четкость надписей на лицевой панели.

- маркировка должна соответствовать требованиям эксплуатационной документации.

- наличие знака утверждения типа.

Масс-спектрометр считают выдержавшими внешний осмотр, если он соответствует указанным выше требованиям.

## 7 Подготовка к поверке и опробование масс-спектрометров

7.1 Перед проведением поверки выполняют следующие подготовительные работы:

- приготовить по 200 мл подвижных фаз А, Б из воды и метанола соответственно.

Приготовить поверочный раствор, указанный в таблице 3. Методика приготовления раствора приведена в приложении А к настоящей методике поверки.

Таблица 3 – Поверочный раствор

№	Поверочный раствор	Массовая концентрация определяемого компонента (левомицетина)
1	Левомецетин в 50 % водном растворе метанола	5 пг/мкл

7.2. Перед проведением измерений рекомендуется провести кондиционирование хроматографической колонки в соответствии с инструкцией по эксплуатации на жидкостный хроматограф.

7.3. Параметры хроматографа и масс-спектрометра должны быть установлены в соответствии с руководством по эксплуатации. Используют настройки метода указанные в таблице 4, кондиционирование хроматографической колонки и подготовка масс-спектрометра производят в течение 30 минут до начала контрольных измерений.

7.4. Опробование (самотестирование прибора) проводится в автоматическом режиме после включения питания. В случае успешного прохождения тестирования на дисплее появляется стартовое окно программы управления прибором.

## 8 Проверка программного обеспечения средства измерений

8.1. Проверка программного обеспечения (ПО) масс-спектрометров проводится путем установления соответствия ПО, представленных на поверку, тому ПО, которое было зафиксировано (внесено в банк данных) при испытаниях в целях утверждения типа. Проверка проводится только для того автономного ПО, которое установлено в масс-спектрометре, заявленном на поверку.

8.2. Для проверки соответствия автономного ПО выполняют следующие операции

8.2.1. Окно с номером версии модуля Compass HyStar (если установлено) выводится на дисплей с помощью команды Help⇒ About. Вид окна приведен на рисунке 1. Версия ПО приведена в строке Version. ПО MS Workstation (если установлено). Окно с номером версии модуля MS Workstation (если установлено) выводится на дисплей с помощью команды Help⇒ About. Вид окна приведен на рисунке 2. Версия ПО приведена в строке Version.

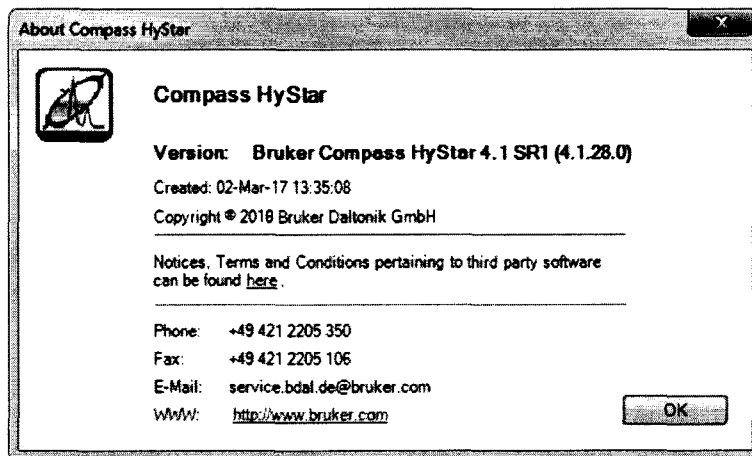


Рисунок 1 – Вид окна с версией модуля HyStar

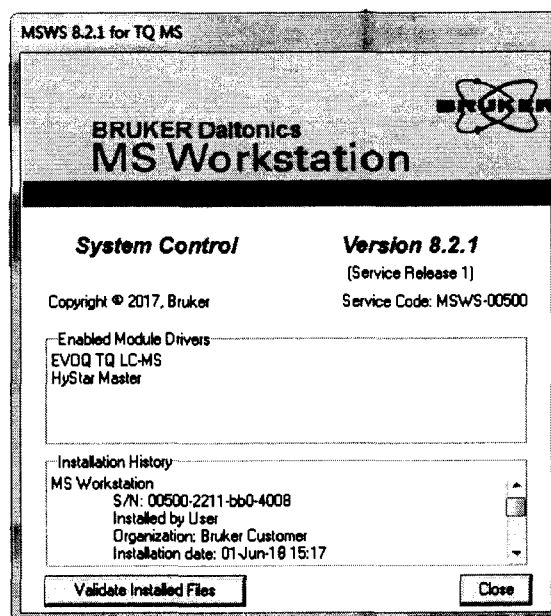


Рисунок 2 – Вид окна с версией модуля MS Workstation

8.2.2. ПО tqControl. Окно с номером версии модуля tqControl (если установлено) выводится на дисплей с помощью команды Help⇒ About. Вид окна приведен на рисунке 3. Версия ПО приведена в строке Version. Окно с номером версии модуля Compass EDM выводится на дисплей с помощью команды About, вид окна приведен на рисунке 4. Версия ПО приведена в строке Version.

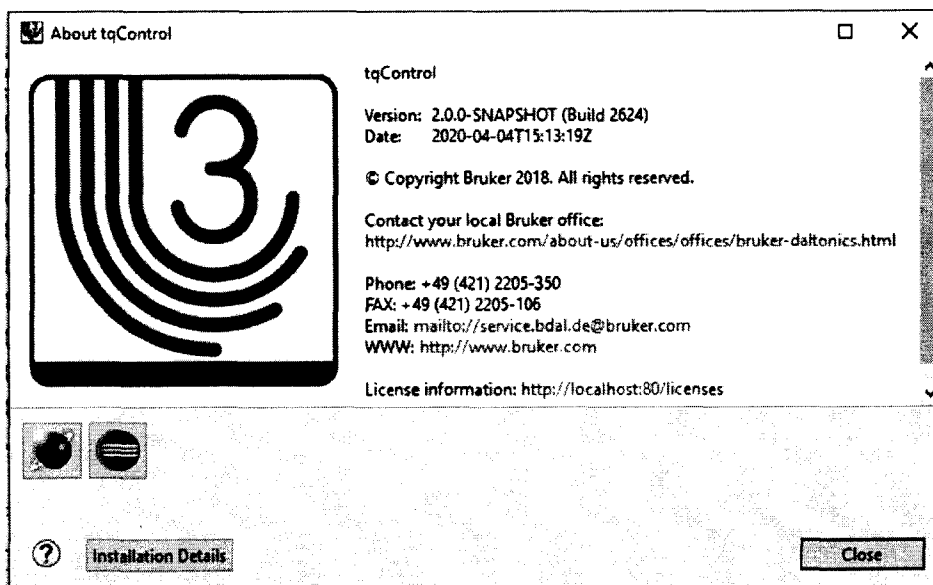


Рисунок 3 – Вид окна с версией модуля tqControl

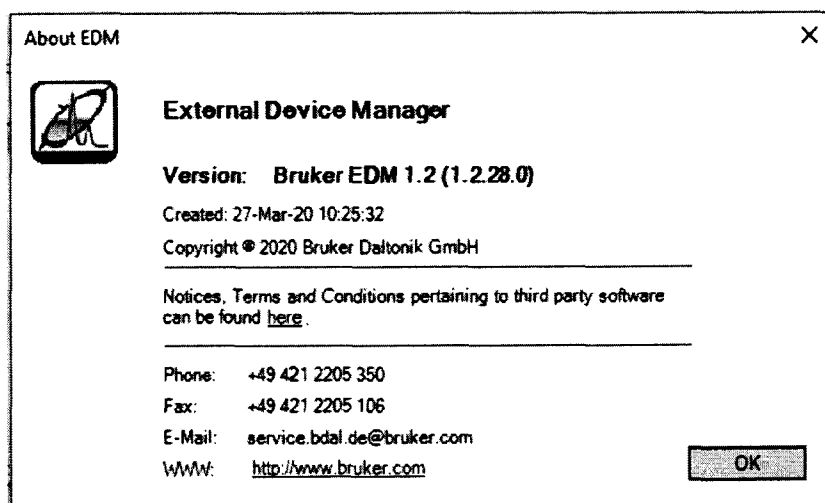


Рисунок 4 – Вид окна с версией модуля Compass EDM

Окно с номером версии модуля TASQ выводится на дисплей с помощью команды Help⇒ About. Вид окна приведен на рисунке 5 Версия ПО приведена в строке Version.

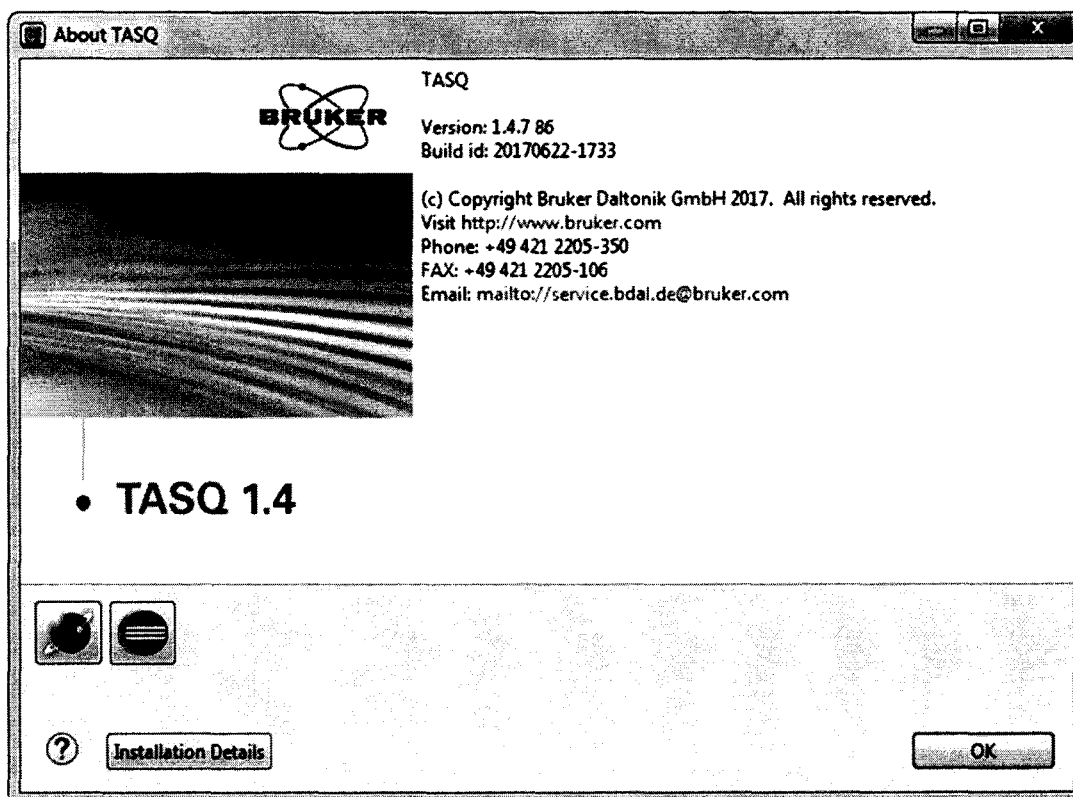


Рисунок 5 – Вид окна с версией модуля TASQ

## 9 Определение метрологических характеристик масс-спектрометра

9.1 Установить параметры масс-спектрометра и хроматографа, указанные в таблице 4. Типичная хроматограмма имеет вид как на рисунке 5.

Таблица 4 - Параметры масс-спектрометра

Подвижная фаза	Подвижная фаза А – вода Подвижная фаза В – метанол
Скорость потока, градиентный режим	300 мкл/мин. *
Соотношение подвижных фаз (по % В)	30→60 0-1 мин; 60→60 1-2 мин; 60→30 2-2,1 мин; 30→30 2,1-4 мин.
Объем дозирования	2 мкл
Температура в термостате колонок	40°C*
Источник ионизации (Source Type)	Нагреваемый электроспрей (HESI)*
Полярность источника ионизации	Отрицательная
Напряжение на распылителе (Spray Voltage)	4500 В*
Поток газа обдува конусов (Cone Gas Flow)	40 ед. *
Температура конусов (Cone Temperature)	250° С*
Поток осушающего газа (Heated Probe Gas Flow) :	20 ед.*
Температура нагревателя осушающего газа (Heated Probe Temperature):	200° С*

Поток распыляющего газа (Nebulizer Gas Flow)	20 ед. *
Активная откачка источника (Exhaust Gas)	Выключена (Off)
Полярность (Polarity)	Отрицательная (negative)
Режим работы масс-спектрометра (Scan Type)	MRM
Время сканирования (Scan Time)	200 мс*
Ион-предшественник (Precursor)	321,0
Ион-продукт (Product)	152,0
Энергия соударений (Collision Energy)	17 эВ*
Разрешение (Resolution) Q1 и Q3	0,9 *
Используемая хроматографическая колонка:	Intensity Solo 2 C18 2.1 мм/100 мм/2.0 микрон или аналогичная

\* - параметры имеют рекомендательный характер и могут быть изменены с целью оптимизации результатов измерения.

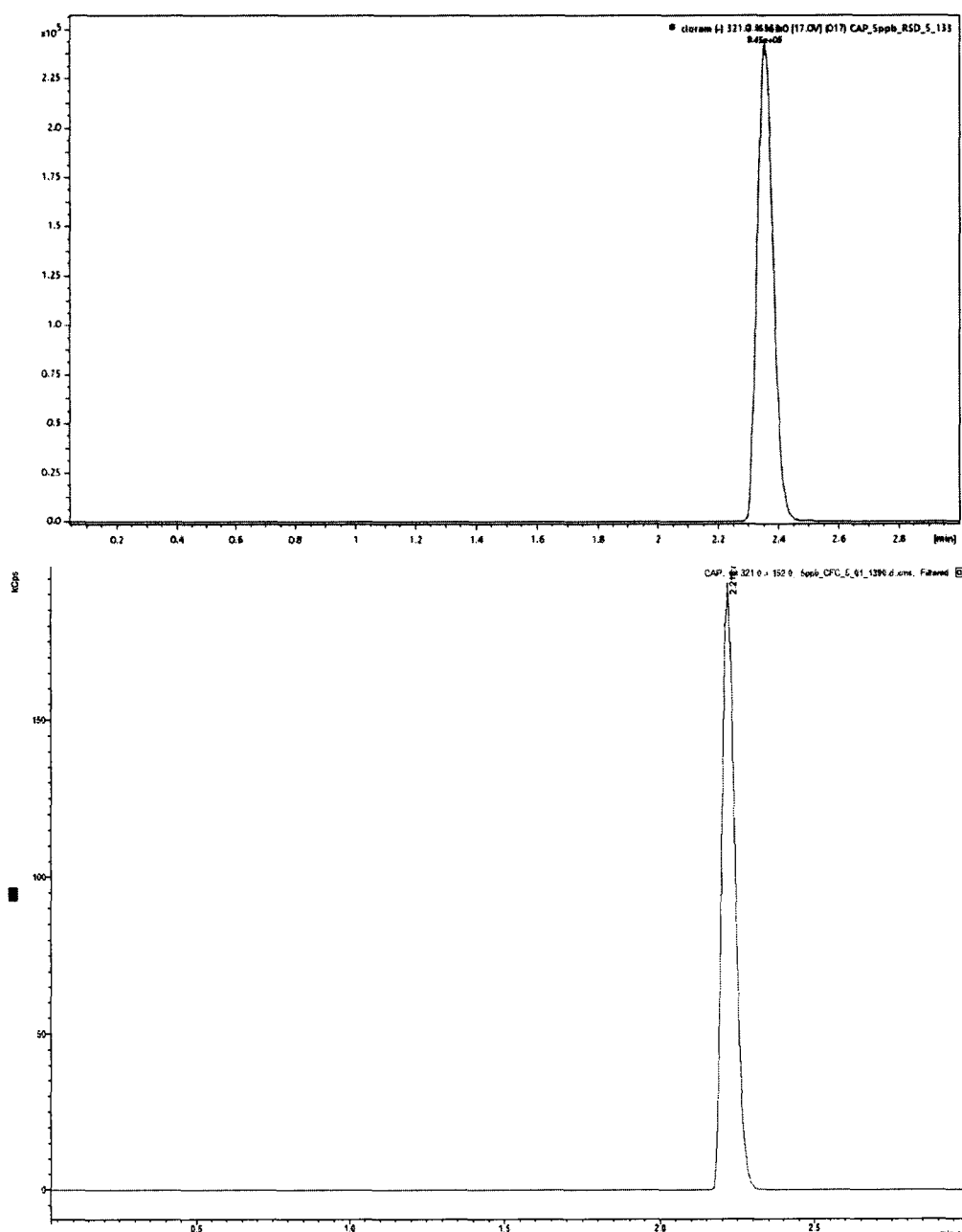


Рисунок 5 - Типичная хроматограмма на EVOQ LC-TQ Elite для ПО tqControl и для ПО MS Workstation.



## 9.2. Определение отношения сигнал/шум

9.2.1. Ввести 2 мкл контрольного раствора с массовой концентрацией 5 пг/мкл левомицетина в 50 % метаноле в прибор и с помощью программного обеспечения определить отношение сигнал/шум для MRM-перехода  $m/z$  321,0 → 152,0. Порядок действий при определении указан в приложении Б настоящей методики.

9.2.2. Повторить действия, указанные в п.9.2.1 еще четыре раза. Полученные результаты зафиксировать.

## 9.3. Определение относительного СКО выходного сигнала

9.3.1. Определение СКО выходного сигнала проводят по контрольному раствору с массовой концентрацией 5 пг/мкл левомицетина в 50% метаноле.

9.3.2. Условия, при которых проводятся определения, указаны в п. 9.1.

9.3.3. Объем вводимой пробы – 2 мкл.

9.3.4. Последовательно ввести пробу в прибор и зафиксировать площадь пика левомицетина. Повторяют операцию пять раз. При этом недостоверные результаты измерений, которые можно оценить как выбросы (см. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002, п. 3.21; ГОСТ Р 8.736-2011), отбраковываются и не учитываются в расчетах. В случае обнаружения выбросов проводят необходимое дополнительное число измерений.

9.3.5. С помощью программного обеспечения определить относительное СКО выходного сигнала по площади пика. Порядок действий при определении указан в приложении А к настоящей методике.

9.3.6. Возможно провести расчет ОСКО с помощью ПО TASQ, таблицы Excel или вручную по формуле:

$$S_r = \frac{100}{N} \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (N - N_k)^2}{n-1}}, \% \quad (1)$$

где:  $N$  – среднее арифметическое результатов  $n$ - измерений;

$N_k$  –  $k$ -е значение результата измерений;

$n$  – число измерений.

Данные для ручного расчета берутся из суммарного рапорта результатов измерений.

## 10 Подтверждение соответствия масс-спектрометра метрологическим требованиям

10.1 Результаты поверки считаются положительными, если полученные значения ОСКО площади пика и отношения сигнал/шум не превышают значений, указанных в таблице 6.

Таблица 6 – Предельные допускаемые значения метрологических характеристик

Наименование модификации	ОСКО площади пика, %, не более	Отношение сигнал/шум, не менее
EVOQ LC-TQ Qube	7,0	4000:1
EVOQ LC-TQ Elite	7,0	20000:1

## **11 Оформление результатов поверки**

11.1 Данные, полученные при поверке, оформляются в форме протокола в соответствии с требованиями, установленными в организации, проводящей поверку. Рекомендуемая форма записи результатов измерений, включаемых в протокол поверки, приведена в приложении В.

11.2 Масс-спектрометр, удовлетворяющий требованиям настоящей методики поверки, признается годным к применению. Масс-спектрометр, не удовлетворяющий требованиям настоящей методики, не допускается к применению.

11.3 Результаты поверки масс-спектрометра подтверждаются сведениями о результатах поверки средств измерений, включенными в Федеральный информационный фонд по обеспечению единства измерений.

11.4 По заявлению владельца масс-спектрометра или лица, представившего его на поверку, на масс-спектрометр оформляется свидетельство о поверке.

11.5 Знак поверки наносится на свидетельство о поверке (при его оформлении).

Приготовление раствора левомицетина.

1. С помощью мерного цилиндра или пипет-дозатора отмеряют 20 мл воды и 20 мл метанола и смешивают. Полученный объём состоит из 50 об.% воды и 50 об.% метанола.
2. В ёмкости для растворения (10 мл) взвешивают 10 мг левомицетина и растворяют в 50% растворе метанола.
3. Доводят раствор до метки, полученный раствор содержит 1 мг/мл левомицетина.
4. В хроматографические вials объёмом 1,8 мл отбирают 5 мкл раствора левомицетина и 995 мкл раствора метанола, полученный раствор содержит 5 мкг/мл левомицетина.
5. В новую виалу отбирают 10 мкл раствора левомицетина 5мкг/мл и добавляют 990 мкл раствора метанола, полученный раствор содержит 50 нг/мл левомицетина.
6. В новую виалу отбирают 100 мкл раствора левомицетина 50 нг/мл и 900 мкл раствора метанола, полученный раствор содержит 5 пг/мкл (5 нг/мл) левомицетина.
7. Последний раствор используют для поверки.

Порядок действий по получению отчета с использованием программы **MS Workstation**.

- В меню MS Workstation нажать кнопку Data Process.
- Откроется окно для обработки результатов.
- В строке меню нажать File-Select File/Chromatogram – загружаем требуемые хроматограммы.
- В строке меню нажать Preferences-Plot View Chromatogram Pane. В открывшемся окне на вкладке Chromatogram Plot выбрать Filtered Data Only в разделе Plot, также выбрать Smooth Data (5 Point Smooth, Smoothing Method- Mean) и Remove Spikes (выбираем параметры сглаживания)
- Используя клавишу Ctrl+левая кнопка мыши выбирают нужные хроматограммы.
- В строке меню нажать Integrate – All plots. – интегрируем хроматограммы. В открывшемся окне выбираем настройки: Integration Parameters – Local, Peak Width – 6 секунд, Slope sensitivity – 100, Tangent - 10, Peak Size Reject – 1000. Также выбираем метод расчета шума: RMS. \*
- Нажимаем Integrate (интегрируем загруженный сигнал) см. Рисунок Б-1.
- Нажимаем Export Results и импортируем в Export to Text File \*.txt
- Вносим полученные данные в сводный лист в Excel.
- В программе Excel рассчитываем с помощью инструментов Excel рассчитываем RSD.

\* - параметры имеют рекомендательный характер и могут быть изменены с целью оптимизации интегрирования.

#	Retention Tl...	Area	% of Total	Signal/Noise	Scan Description
Plot 1	5ppb_CFC_... 1. 2.220	Local Para... 570979	100.000	RMS Noise 3.02e+005	152.0 ((-) 321.0 > 152...
Plot 2	5ppb_CFC_... 1. 2.218	Local Para... 601177	100.000	RMS Noise 2.21e+005	152.0 ((-) 321.0 > 152...
Plot 3	5ppb_CFC_... 1. 2.219	Local Para... 584013	100.000	RMS Noise 4.489e+005	152.0 ((-) 321.0 > 152...
Plot 4	5ppb_CFC_... 1. 2.218	Local Para... 574117	100.000	RMS Noise 2.523e+005	152.0 ((-) 321.0 > 152...
Plot 5	5ppb_CFC_... 1. 2.218	Local Para... 574460	100.000	RMS Noise 3.628e+005	152.0 ((-) 321.0 > 152...

Рисунок. Б-1 Выбранные и обработанные хроматограммы.

Порядок действий по получению отчета с использованием программы **TASQ**. После измерения хроматограмм в программе tqControl данные автоматически импортируются и обрабатываются согласно методу в программе TASQ. Параметры интегрирования см. на рисунке Б-2.

General method settings		Workflow settings		Analytes settings		Quantitation settings		Internal Standards		Number formats		Color	
Analyte Name	RT expected [min]	RT tol. [min] ±	RT Narrow [min]	RT Wide [min] ±	Principal Ion								
1	cloram												

Ions		Ion Ratios		Rules							
Ion	Sens. [%]	Smoothing width [s]	Analyte Name	Integration type							
1	(-) 321.0 > 152.0 [17...	99	0.300	cloram	Peak finder						

Рисунок Б-2. Настройки метода интегрирования в программе TASQ.

В подменю Quantitation автоматически рассчитывается ОСКО (RSD) для площади, а также отношение сигнал к шуму (S/N). Пример приведен на рисунке Б-3.

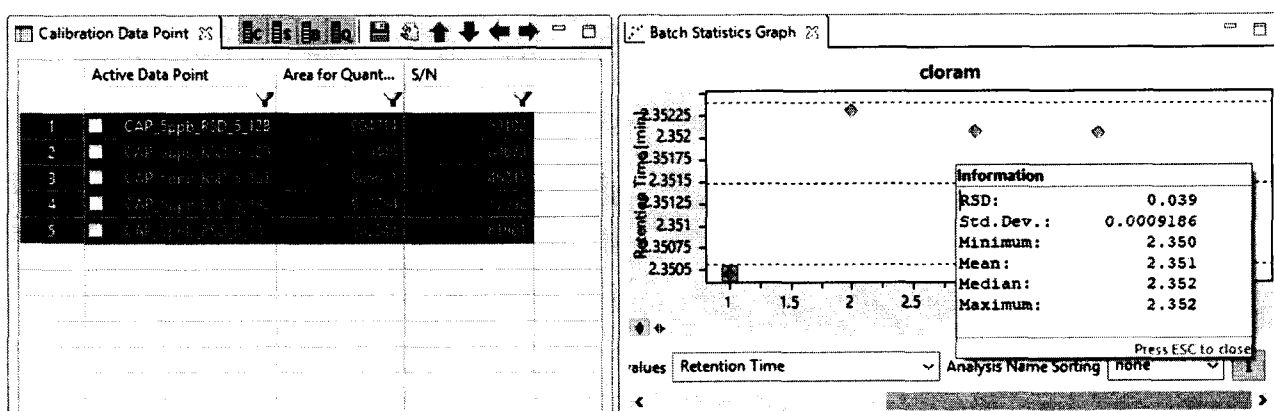


Рисунок Б-3. Пример обработки хроматограмм в программе TASQ.

Протокол измерений

Масс-спектрометр \_\_\_\_\_

Зав. № \_\_\_\_\_

Принадлежит \_\_\_\_\_

ИНН владельца \_\_\_\_\_

Дата выпуска \_\_\_\_\_

Дата поверки \_\_\_\_\_

Условия поверки:

температура окружающего воздуха \_\_\_\_\_ °С;

относительная влажность \_\_\_\_\_ %.

Документ, по которому проведена поверка \_\_\_\_\_

Средства поверки \_\_\_\_\_

Результаты внешнего осмотра и опробования \_\_\_\_\_

Результаты проверки соответствия ПО \_\_\_\_\_

Результаты определения метрологических характеристик

Таблица 1В – Отношение сигнал/шум

№ измерения	Отношение сигнал/шум
1	
2	
3	
4	
5	

Таблица 2В – Относительное СКО выходного сигнала

№ п/п	Площадь пика, S, имп·с
1.	
2.	
3.	
4.	
5.	
6.	
Средн.	
СКО отн.,%	