



AB SCIEX 4500 QTRAP®

液相色谱质谱联用系统基础应用培训

龙志敏

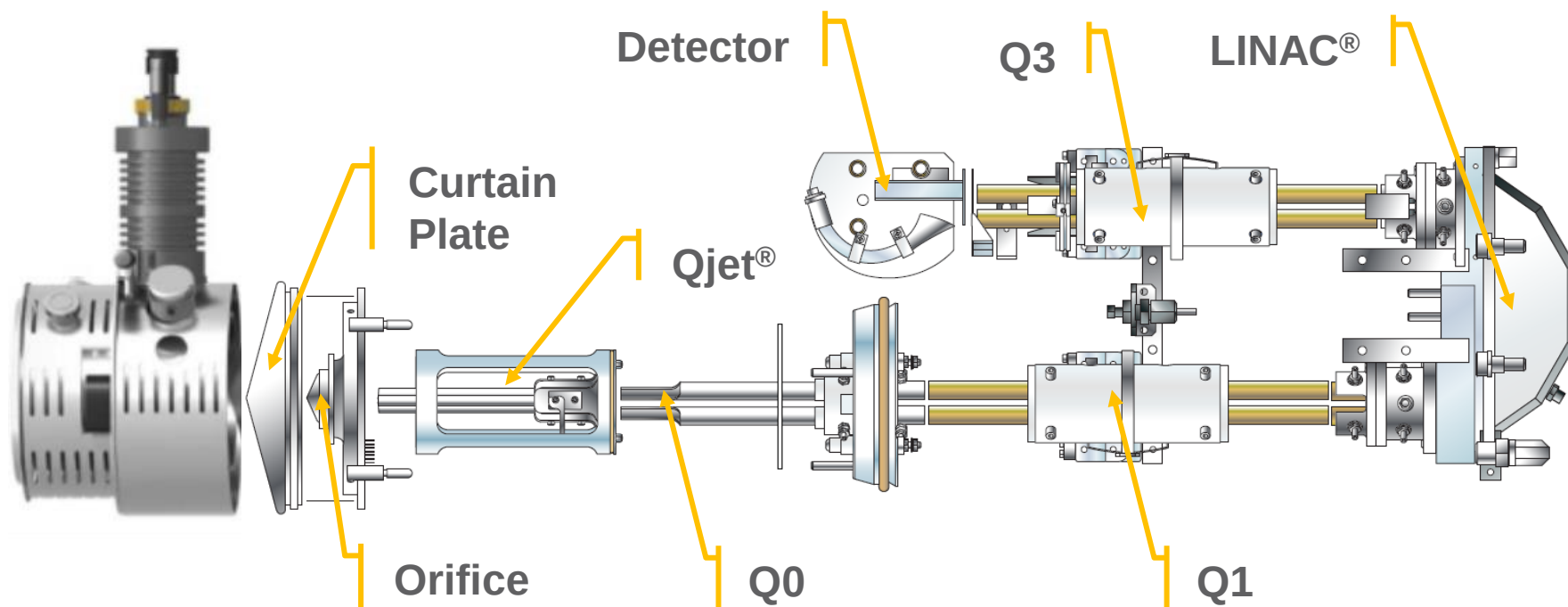
AB SCIEX 亚太区技术支持中心

中国上海 田林



QTRAP[®] 4500和QTRAP[®] 5500系统

基本结构



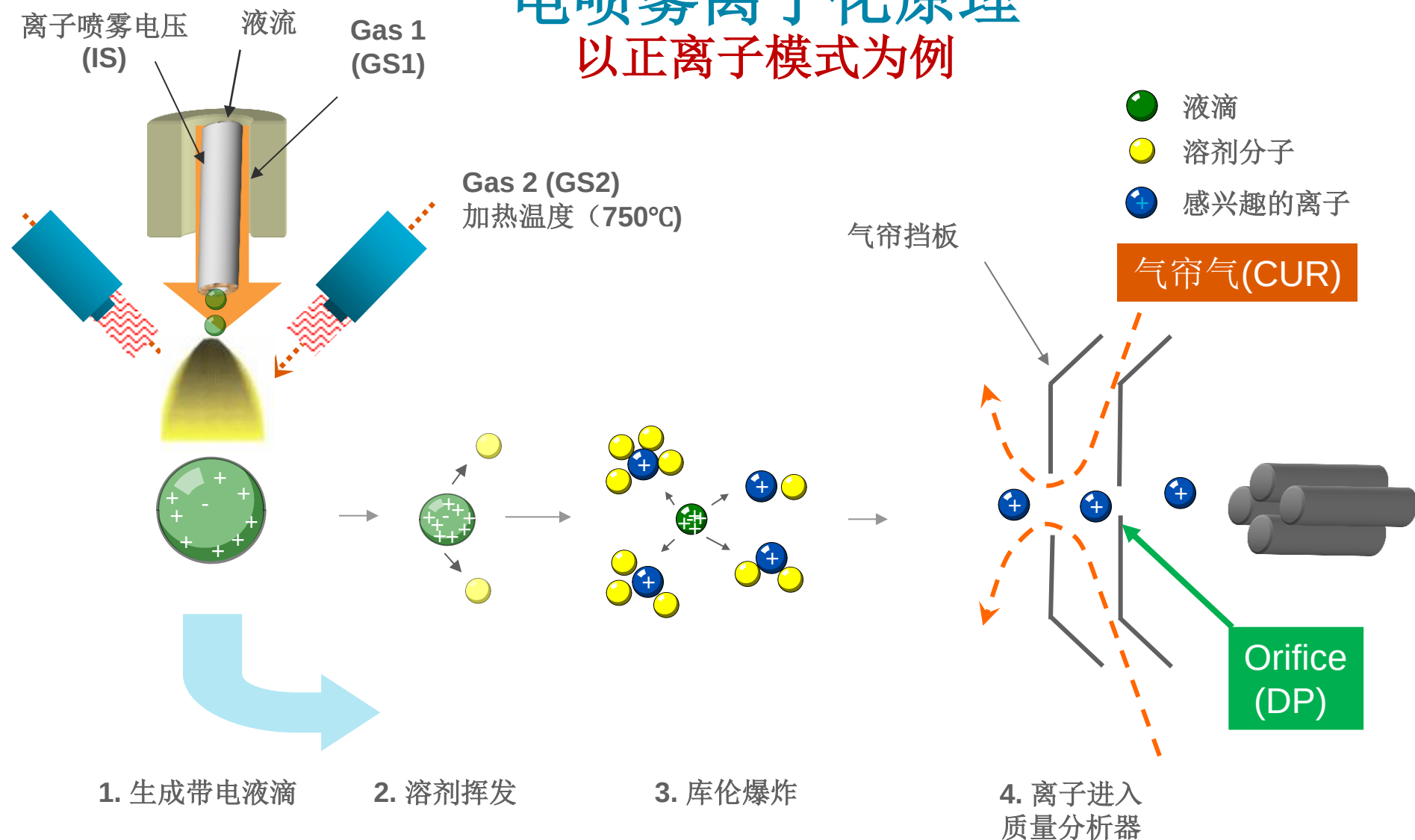
常见液相色谱串联质谱系统离子源

大气压离子源 (API)

- ❑ 电喷雾电离 (ESI)，样品通过保持在高压下的电喷雾针喷射出带电荷的液滴，最终演变成气态离子。此源是化合物在液相中离子化。ABSCIEX的TurbolonSpray (TIS) 离子源使用加热辅助气，保证了高流速。
- ❑ 大气压化学电离 (APCI)，样品被喷雾到加热室中，在电晕针帮助下使化合物在气相中离子化。ABSCIEX称为Heated Nebulizer (HN)
- ❑ 大气压光电离 (APPI)，是化合物在气相中离子化。ABSCIEX的PhotoSpray离子源也有加热的雾化气并使用UV辐射和掺杂剂 (dopant) 来诱导离子化。

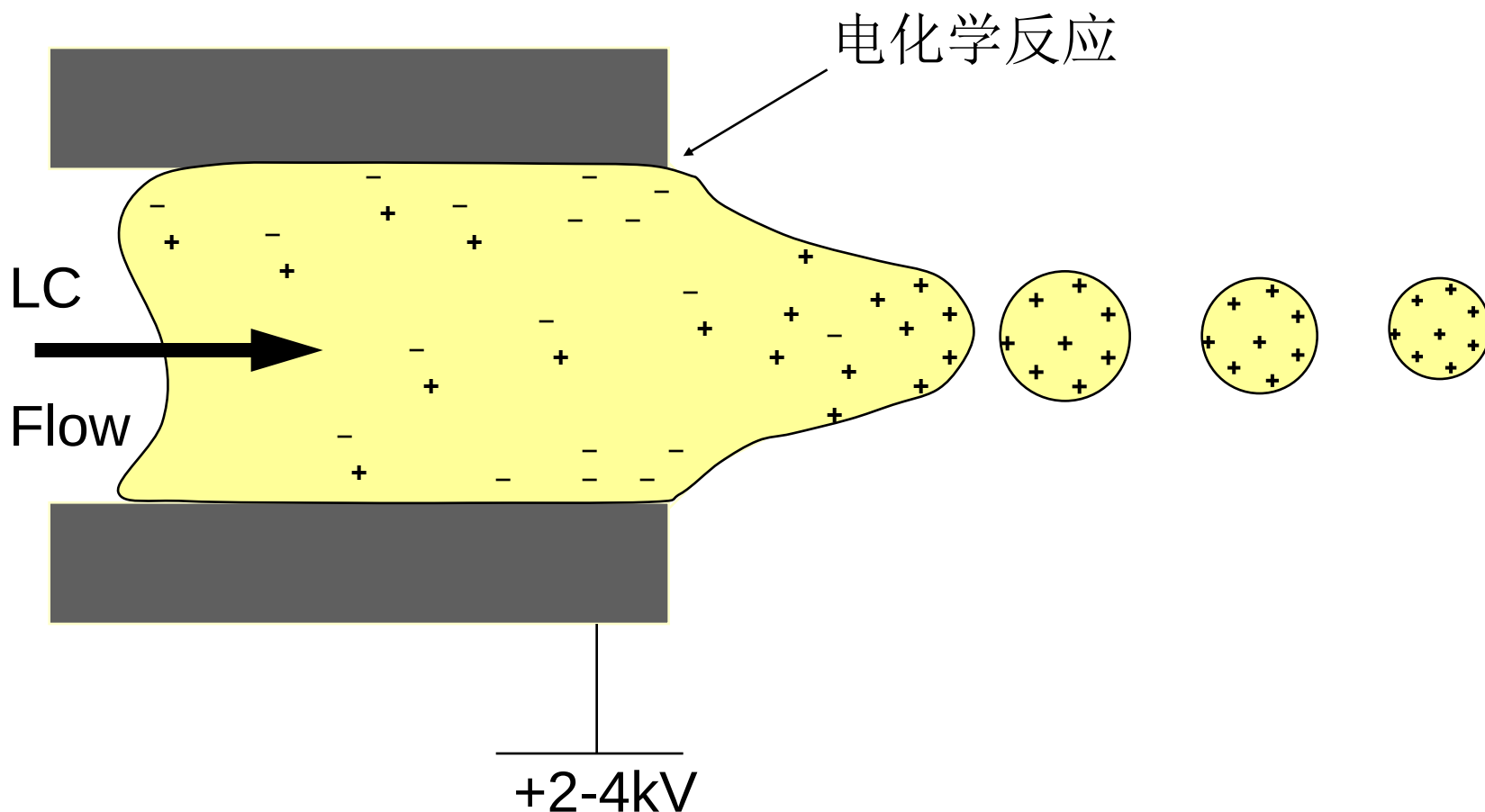
电喷雾离子化原理

以正离子模式为例



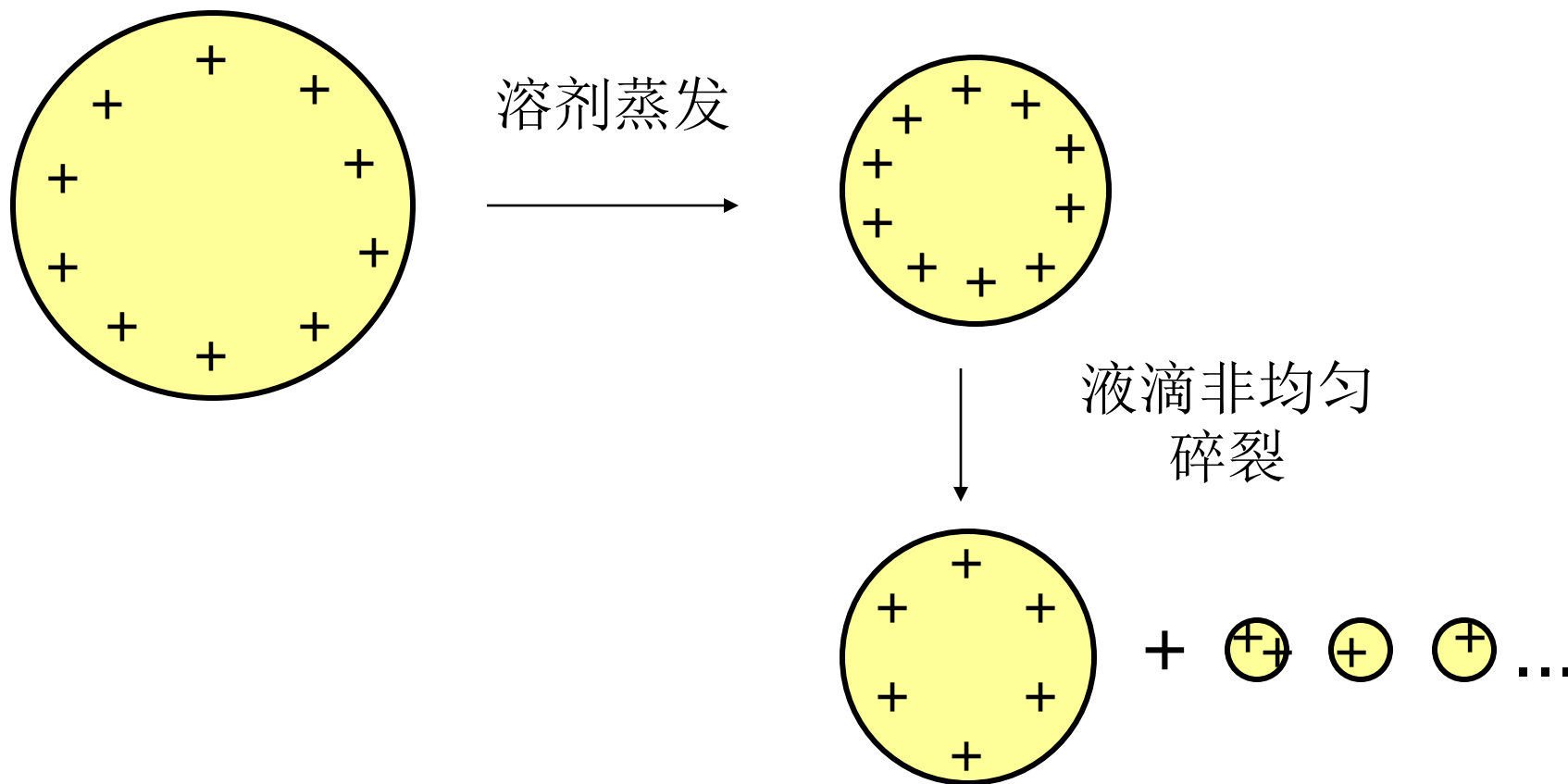
电喷雾离子化原理

形成带电液滴



电喷雾离子化原理（续）

溶剂蒸发和小液滴碎裂



电喷雾离子源

优、缺点

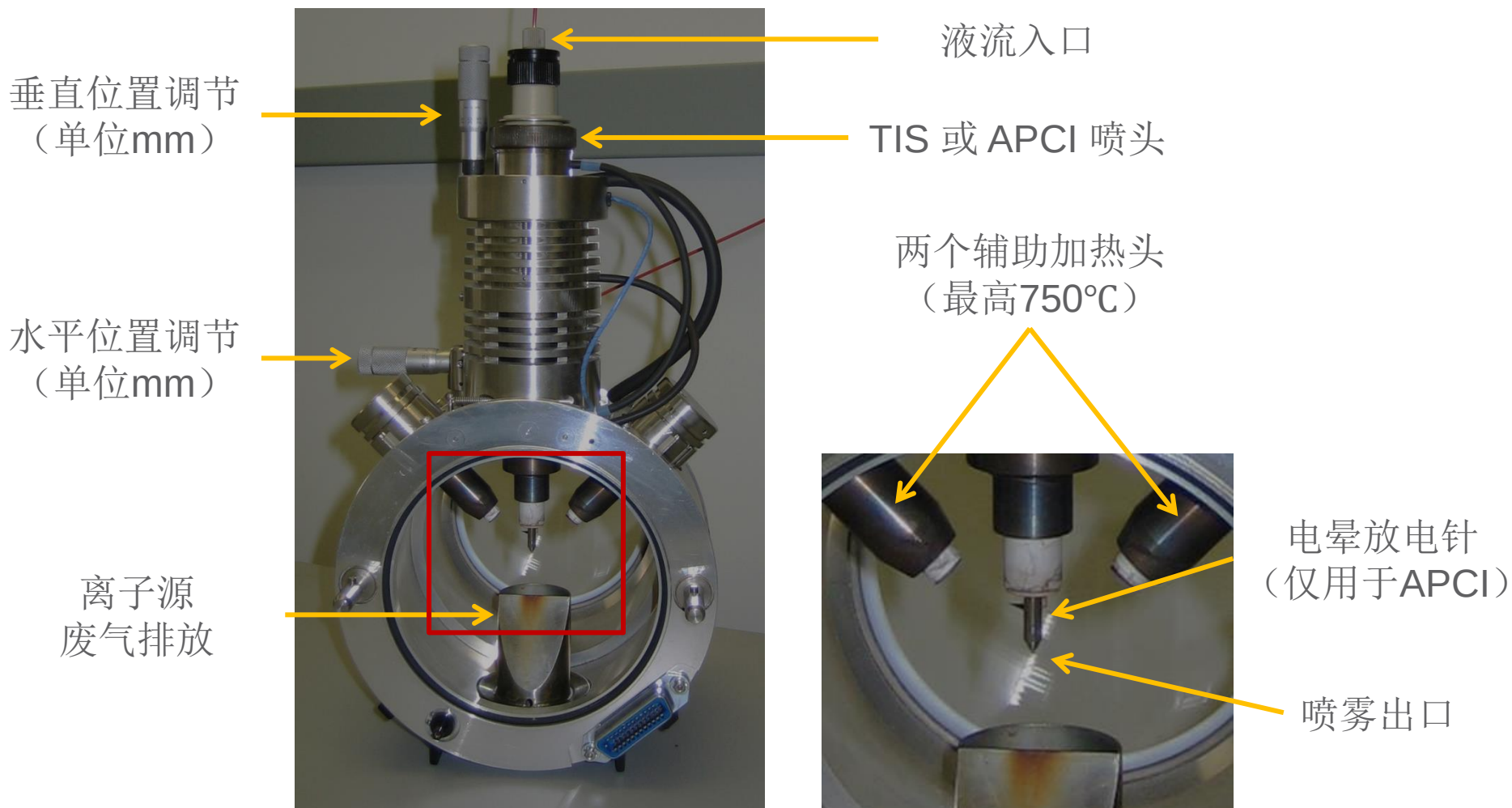
□ 优点

- ✓ 适合范围广:分析离子型/极性化合物、难挥发或热不稳定性化合物
- ✓ 多电荷离子的形成, 可以分析高分子量化合物
- ✓ 灵敏度高

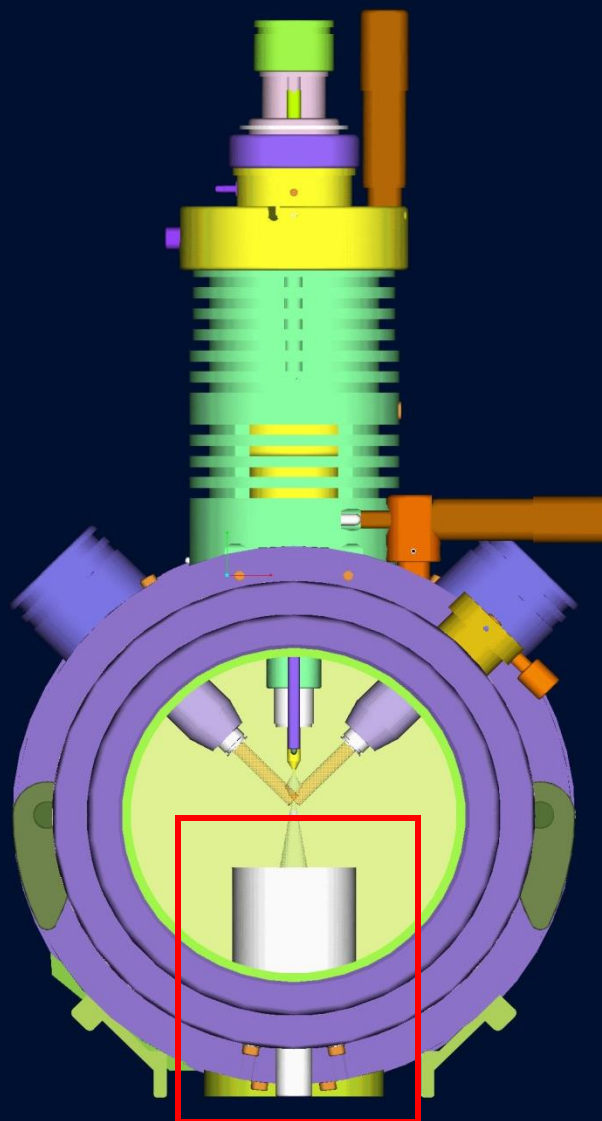
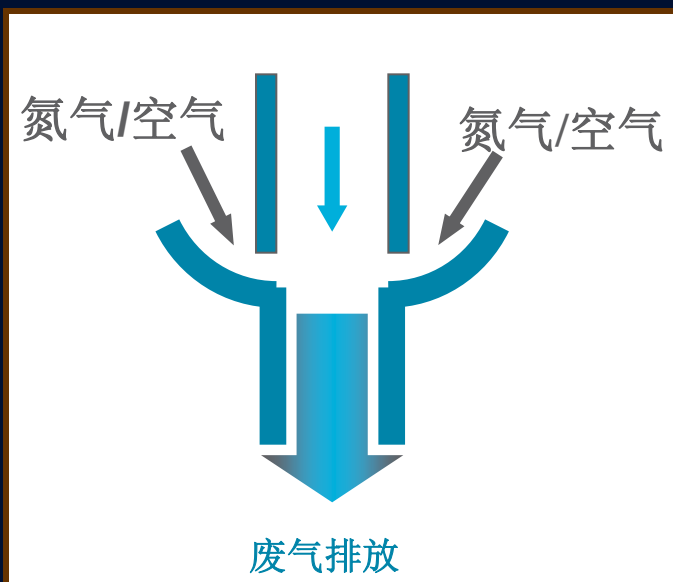
□ 缺点

- ✓ 在溶液中必须形成离子
- ✓ 流动相中缓冲盐的种类和浓度对灵敏度均有显著影响, 因此流动相的选择非常重要
- ✓ 具有流速依赖性
- ✓ 基质抑制现象较为明显
- ✓ 可能产生放电现象

Turbo V™ 离子源结构



废气排放装置



Turbo V™ 离子源推荐参数

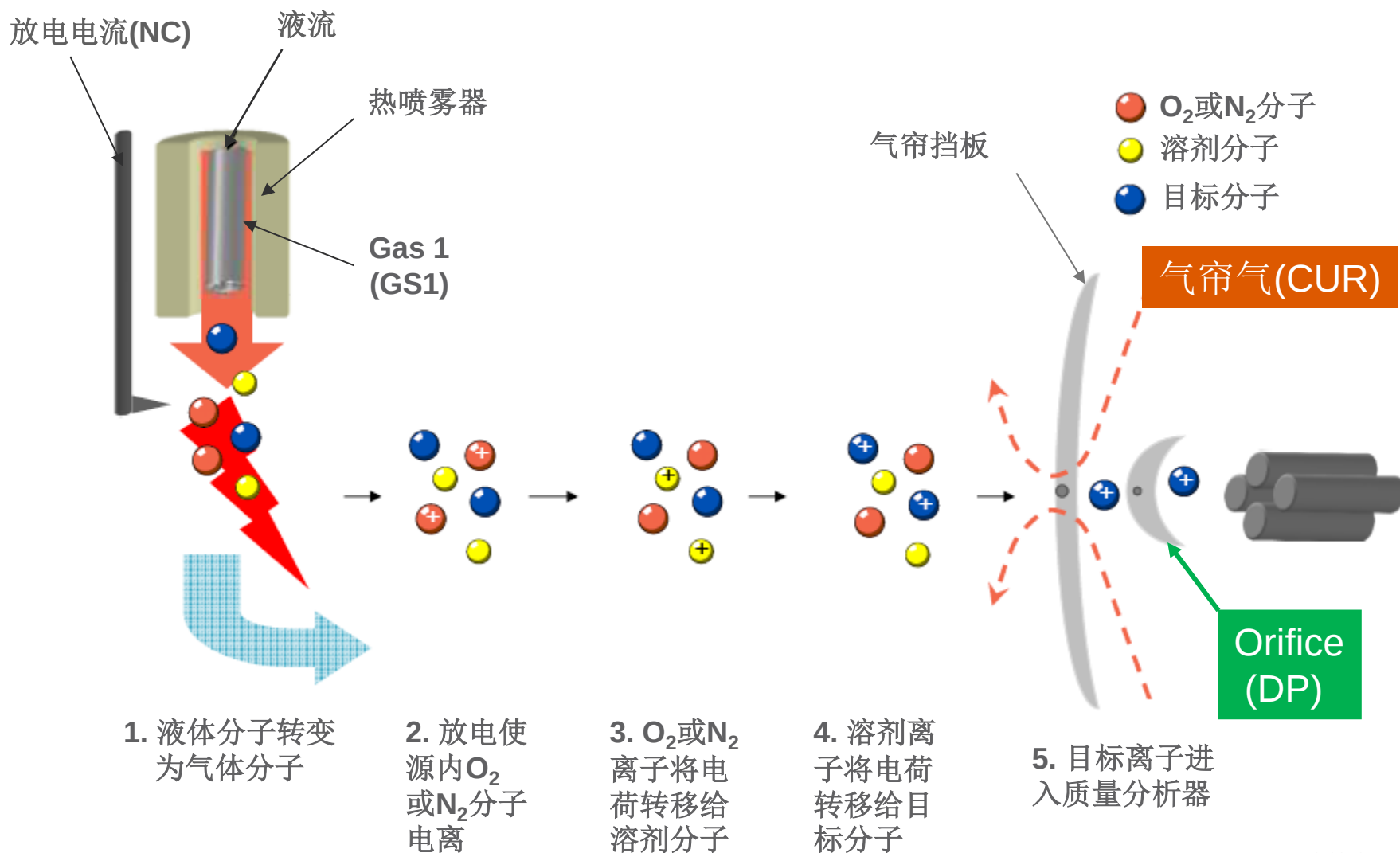
Turbolonspray (ESI) 部分

英文名 (简称)	中文译名 (单位)	推荐值 (6500和5500系列)		
		低流速 约5~100 $\mu\text{L}/\text{min}$	中等流速 约200~600 $\mu\text{L}/\text{min}$	高流速 800 $\mu\text{L}/\text{min}$ 以上
Curtain Gas (CUR)	气帘气 (psi)	15~20	35~40\$	40\$
IonSpray Voltage (IS)	离子化电压 (V)	+5500 -4500	+5500 -4500	+5500 -4500
Temperature (TEM)	温度 ($^{\circ}\text{C}$)	0	450~550	≥ 550
Ion Source Gas1 (GS1)	喷雾气 (psi)	15~20	40~55	55~70
Ion Source Gas2 (GS2)	辅助加热气 (psi)	0	40~60	50~70
Collision Gas* (CAD)	碰撞气	Medium	Medium	Medium

*不同扫描方式可能不同；\$3200与4000系列调整为25

大气压化学离子化原理

以正离子模式为例



大气压化学电离源

优、缺点

□ 优点

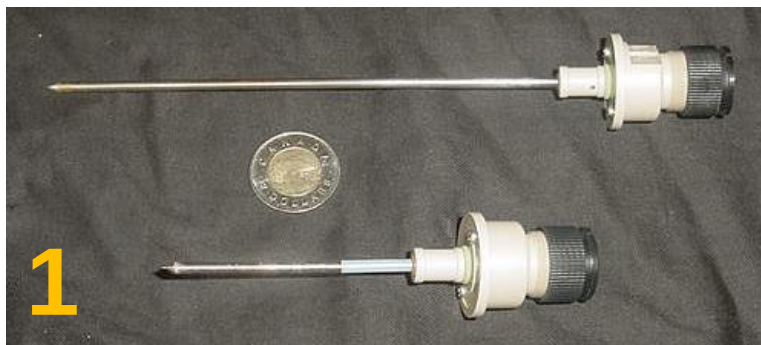
- ✓ 有一定挥发性的中等极性
或低极性的小分子化合物
- ✓ 对溶剂选择、流速和添加
物的依赖性较小

□ 缺点

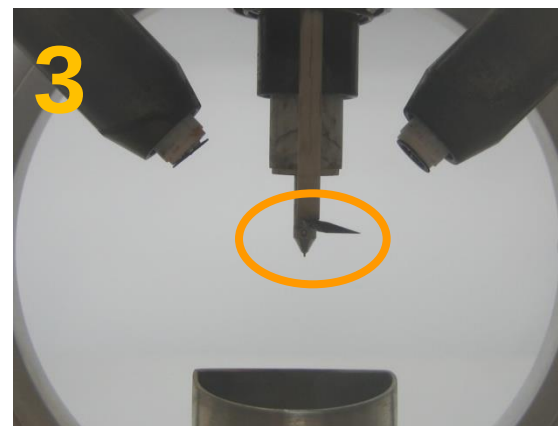
- ✓ 有可能发生热裂解
- ✓ 样品需要有一定的挥发性
- ✓ 适合分析分子量小于
2000 Da 的样品

离子源互换

TurbolonSpray和Heated Nebulizer



1. 一个不用使用工具，只要换探针就可以切换ESI和APCI的离子源
2. 用手或螺丝起子就可调节的电晕针
3. 电晕针一直在离子源中



Turbo V™ 离子源推荐参数

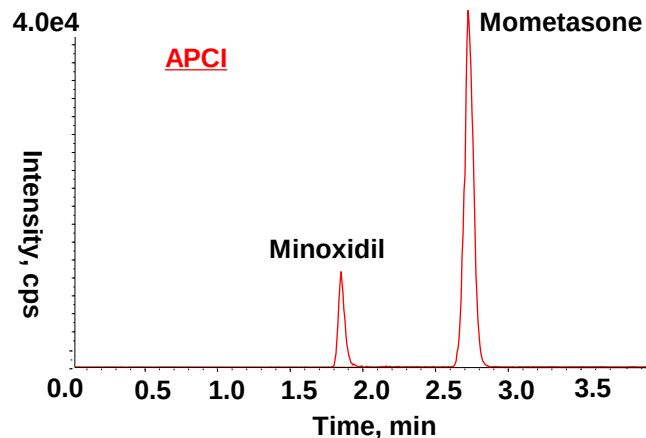
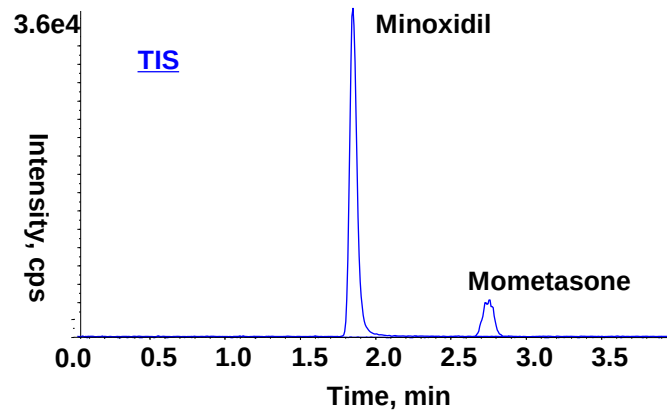
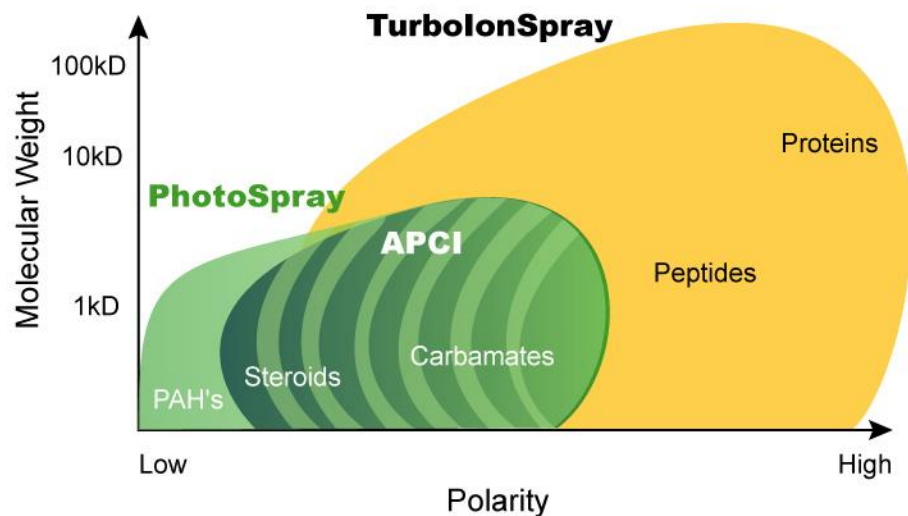
Heated Nebulizer (APCI) 部分

英文名 (简称)	中文译名 (单位)	推荐值
		≥600 µL/min
Curtain Gas (CUR)	气帘气 (psi)	40 ^{\$}
IonSpray Voltage (IS)	离子化电压 (V)	+5500 -4500
Temperature (TEM)	温度 (°C)	150~550
Ion Source Gas1 (GS1)	喷雾气 (psi)	≥40
Ion Source Gas2 (GS2)	辅助加热气 (psi)	N/A
Interface Heater (ihe)	接口加热	On
Collision Gas* (CAD)	碰撞气	Medium

*不同扫描方式可能不同；\$3200与4000系列调整为25

离子源的选择

基于目标化合物属性



Turbo V™ 离子源

使用中应避免的事

❑ 盐

- ✓ 干扰离子化并成簇，使质谱图变得复杂

❑ 强碱或季铵

- ✓ 如三乙胺，在正离子模式下引起信号抑制

❑ 强酸

- ✓ 如磺酸、硫酸和三氟乙酸 可能在负离子模式下引起信号抑制

❑ 非挥发性添加剂或缓冲液

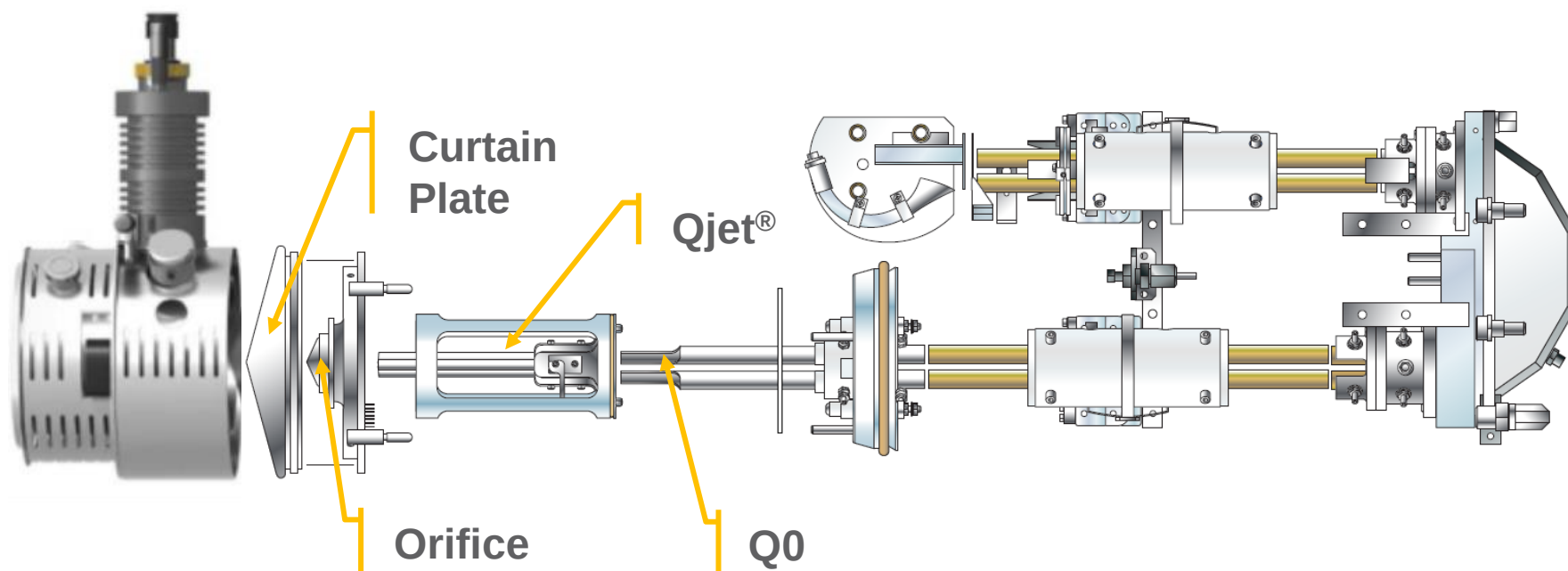
- ✓ 如磷酸盐导致加合物的产生，且污染物离子源

❑ 非挥发离子对试剂

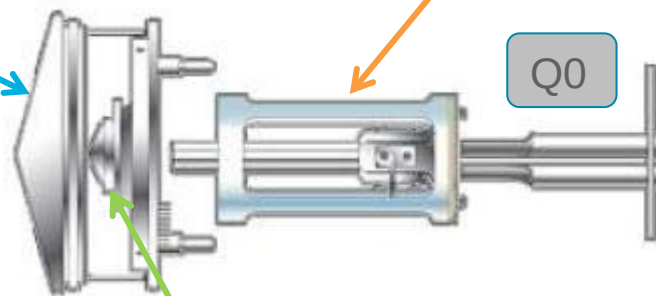
- ✓ 如十二烷基硫酸钠（SDS）引起严重的离子抑制，且污染物离子源

QTRAP[®] 4500和QTRAP[®] 5500系统

离子传输



离子传输部分结构

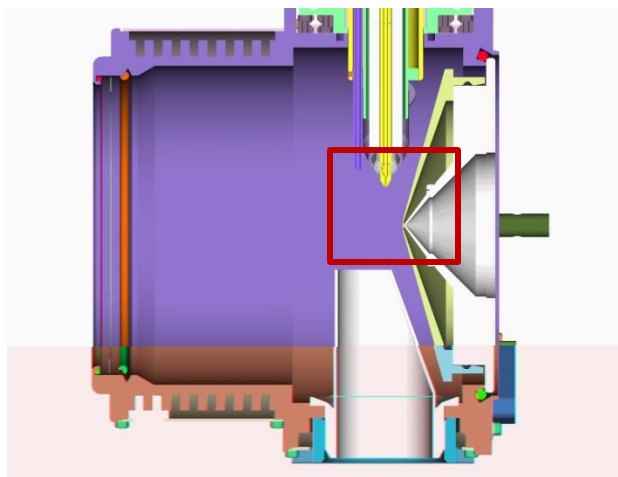


- ❑ 离子产生后，通过Orifice Plate 上的DP电压捕获
- ❑ 经过Qjet聚焦后进入Q0



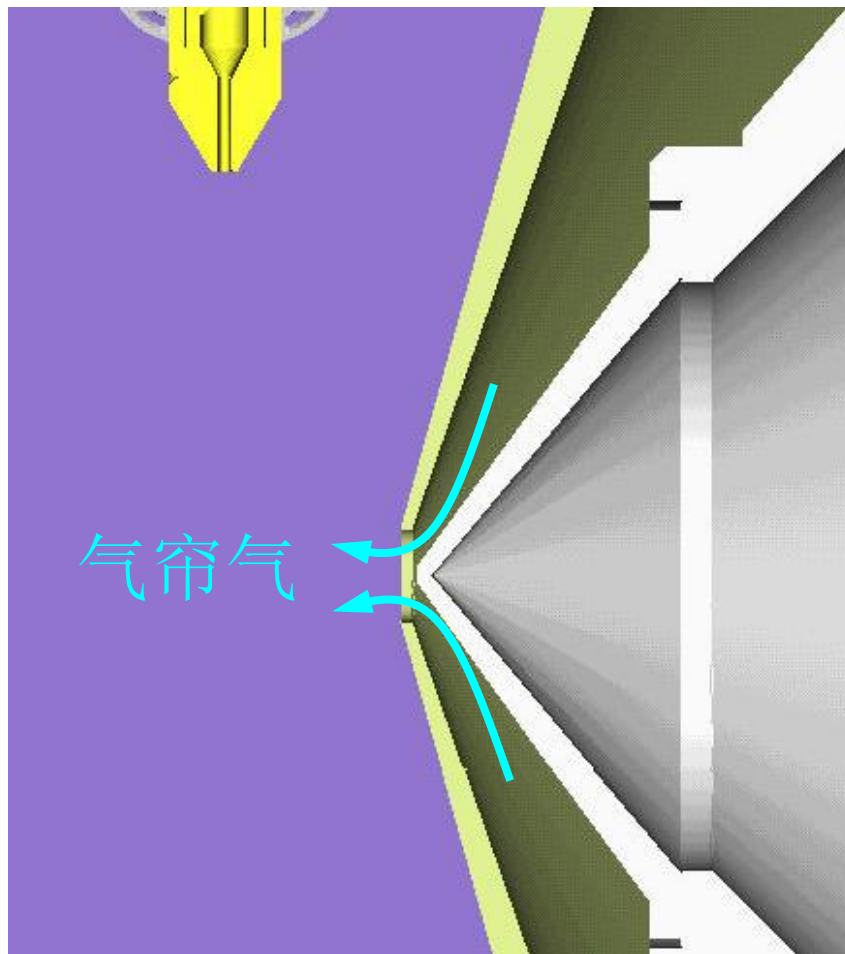
离子传输部分结构

气帘气



□ 作用

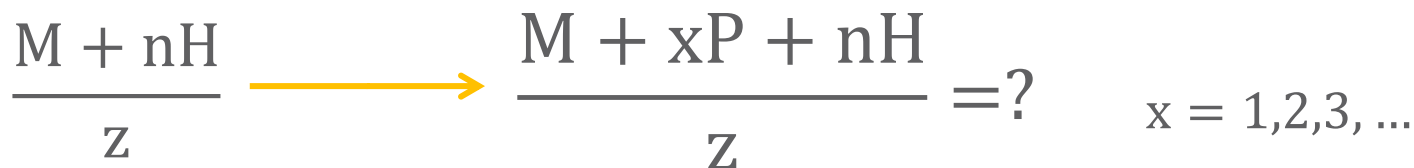
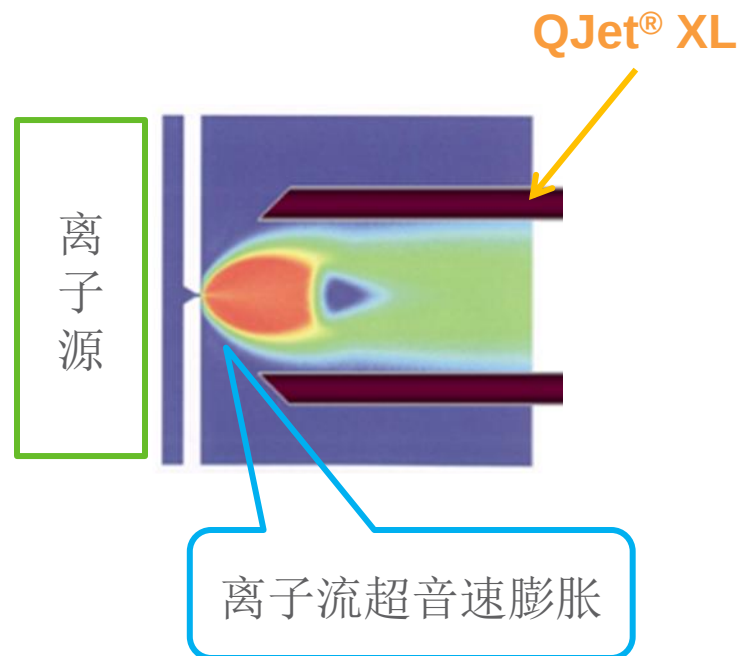
- ✓ 阻挡杂质离子
- ✓ 尽可能避免成簇



簇离子 形成的原理

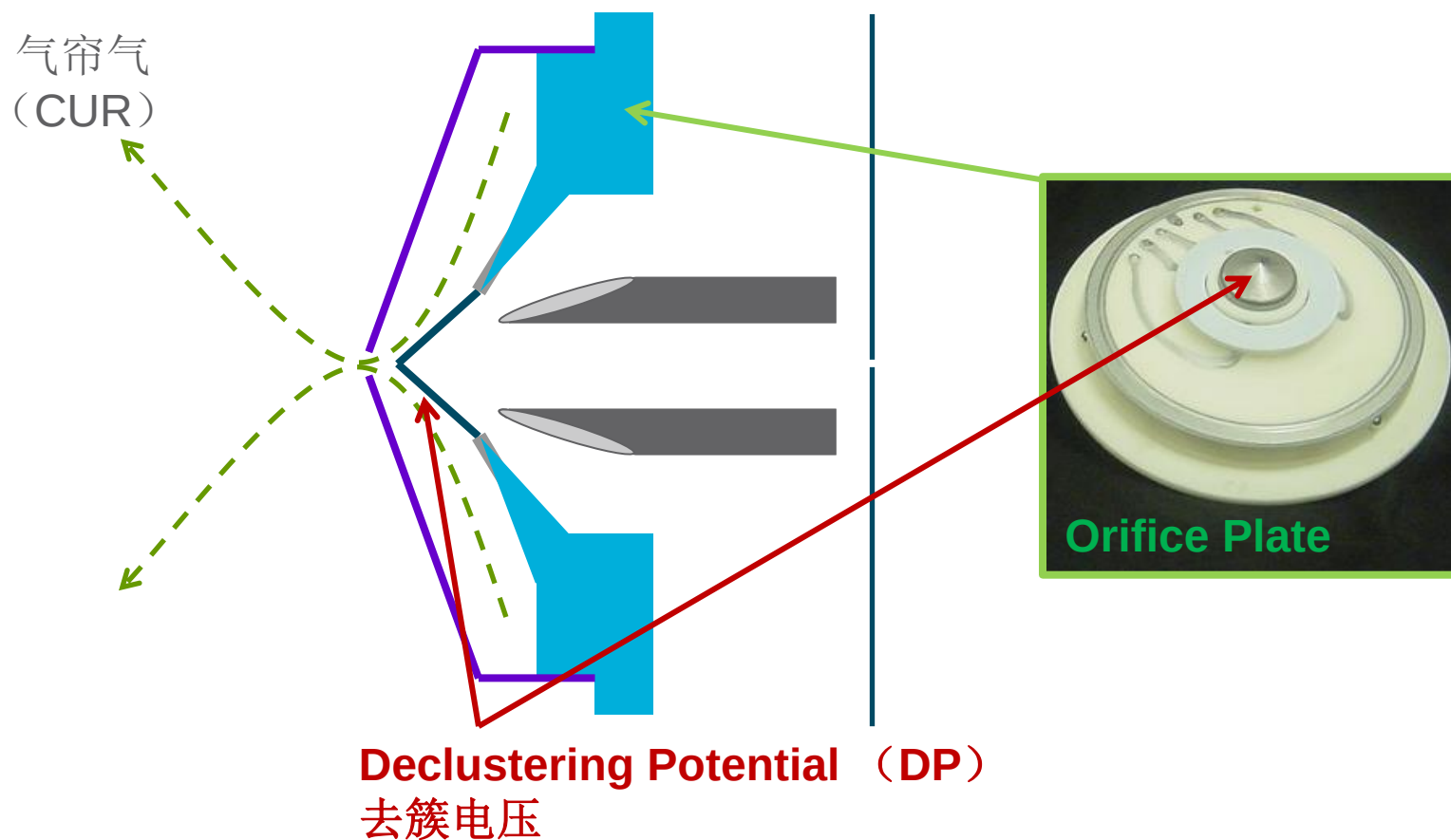
□ 形成

- ✓ 离子源（常压）和离子传输单元（数个mTorr）间的真空度差异，导致离子流发生超音速膨胀
- ✓ 离子流的膨胀致冷凝
- ✓ 冷凝过程中，离子吸附溶剂分子（P）形成一系列簇离子



簇离子

去簇与源内裂解



利用DP电压，给予离子一定共振能量，阻止溶剂分子的吸附，实现去簇。当DP过大时，离子因共振而碎裂，导致源内裂解（CID）。

液相色谱串联质谱系统基本理论体系

三个重点

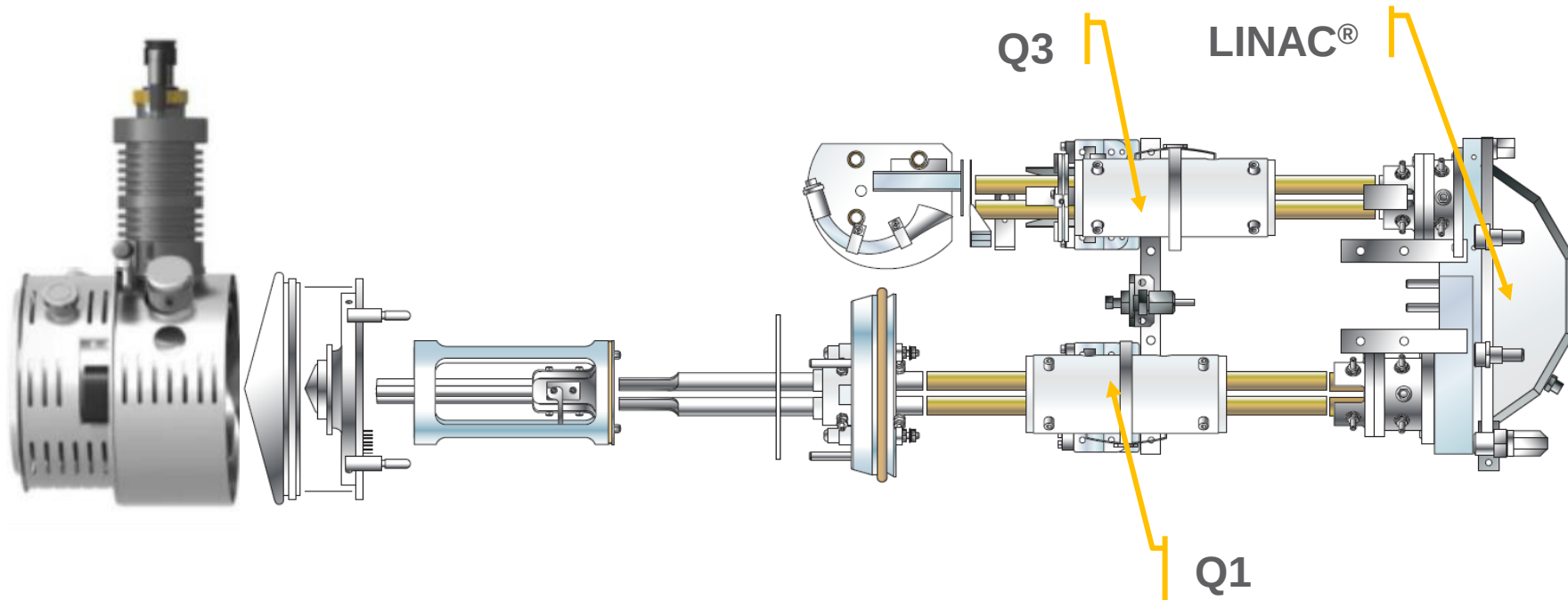
□ 液相色谱原理与应用

□ 液相色谱-质谱离子化接口原理

✓ 质量分析器工作原理

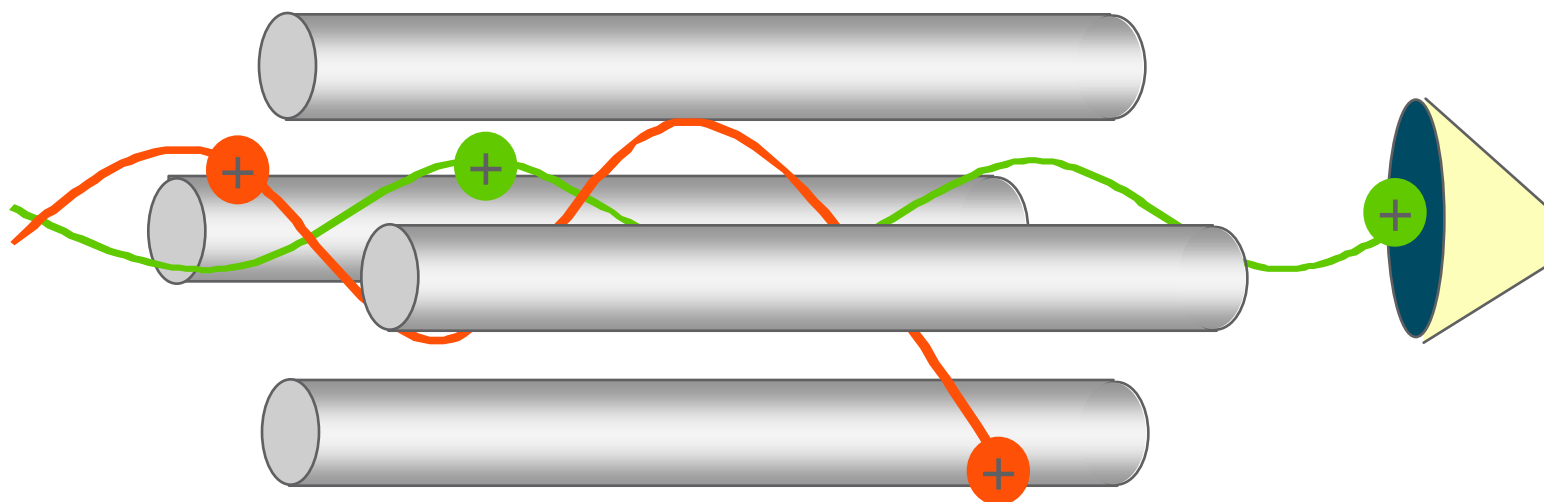
QTRAP[®] 4500和QTRAP[®] 5500系统

质量分析器



四极杆质量分析器

基本工作原理



□ 特定的DC/RF 电场选择过滤特定的离子

四极杆质量分析器

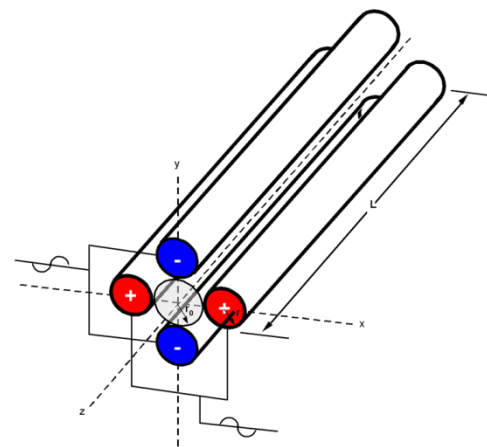
工作原理详解，四级杆的两种工作模式

□ 四级杆上加载三组电场（电压）

- ✓ **RF** —— 射频电场（聚焦离子），通过固定频率的振荡电压，为离子提供稳定的飞行轨迹；
- ✓ **Filtering DC (FDC或 U)** —— 过滤直流电场（选择离子），通过家在于两对电极杆上的特定直流电压（随RF改变方向）选择离子，并帮助调整分辨率；
- ✓ **Rod Offset Voltage (ROF)** —— 轴向补偿电压，通过较低的直流电压，为离子提供轴向飞行的能量；

□ “RF only” 模式

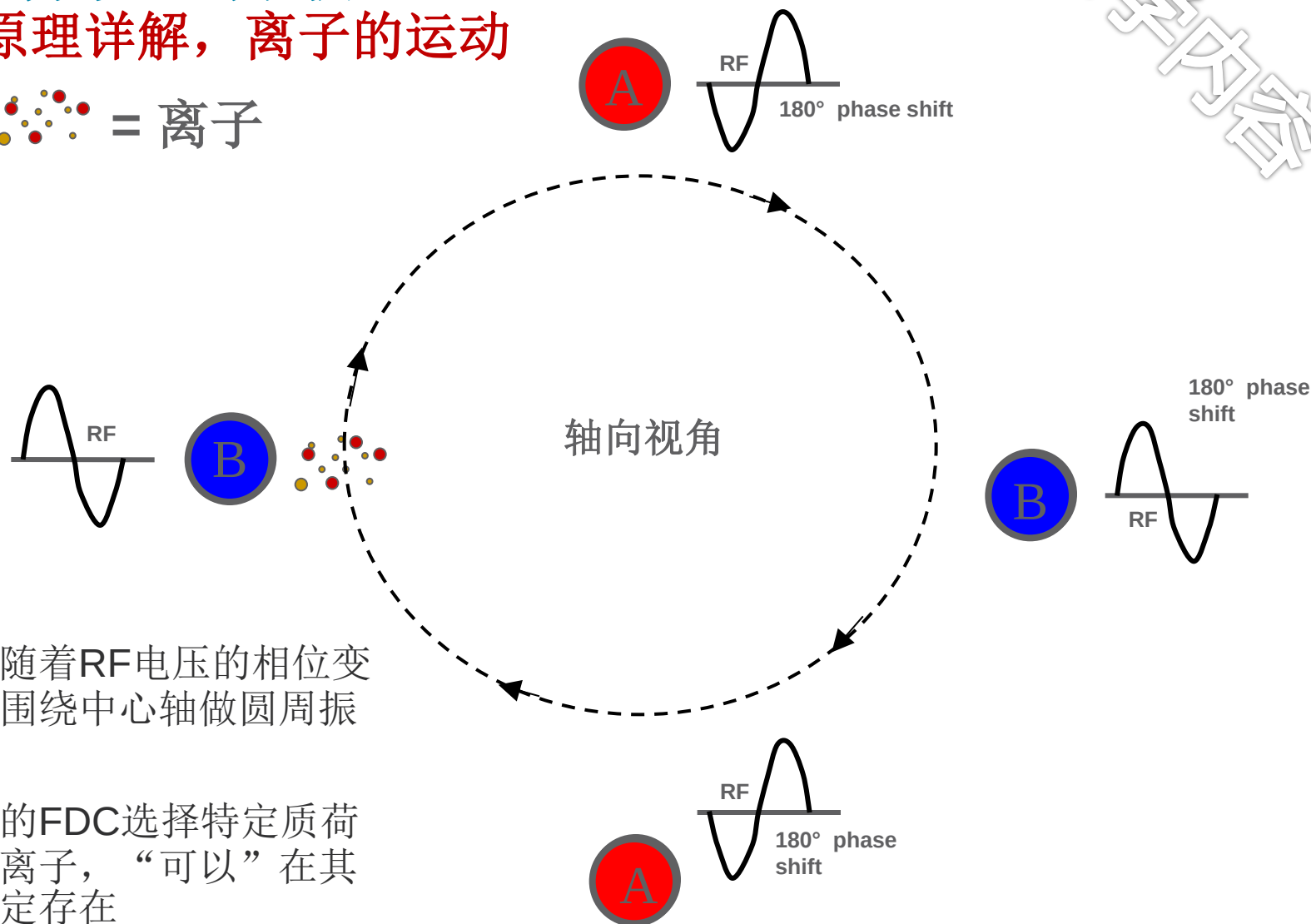
- ✓ 没有FDC，仅有RF和ROF；
- ✓ 四级杆以“全通过模式”工作，不再选择离子；



四极杆质量分析器

工作原理详解，离子的运动

 = 离子

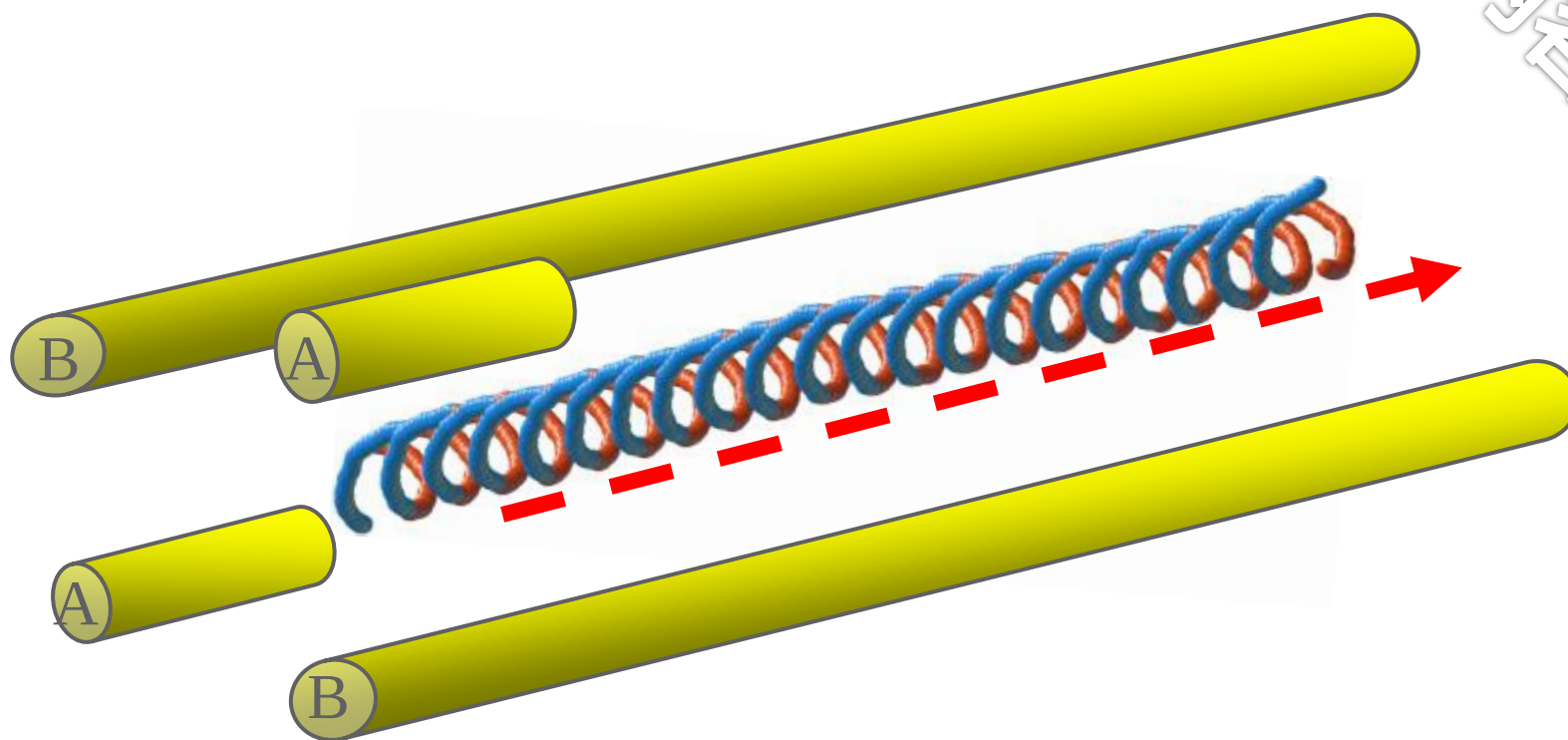


- ❑ 离子随着RF电压的相位变化，围绕中心轴做圆周振荡
- ❑ 特定的FDC选择特定质荷比的离子，“可以”在其中稳定存在

四极杆质量分析器

工作原理详解，离子传输通路

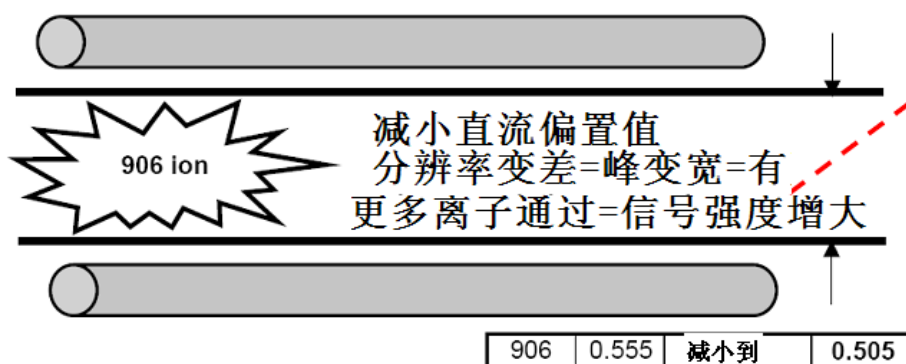
选学内容



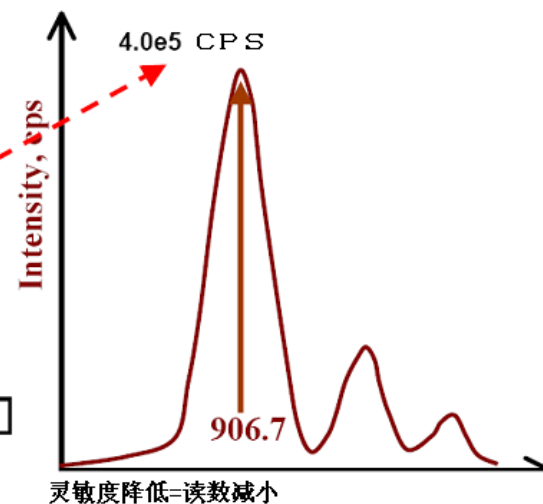
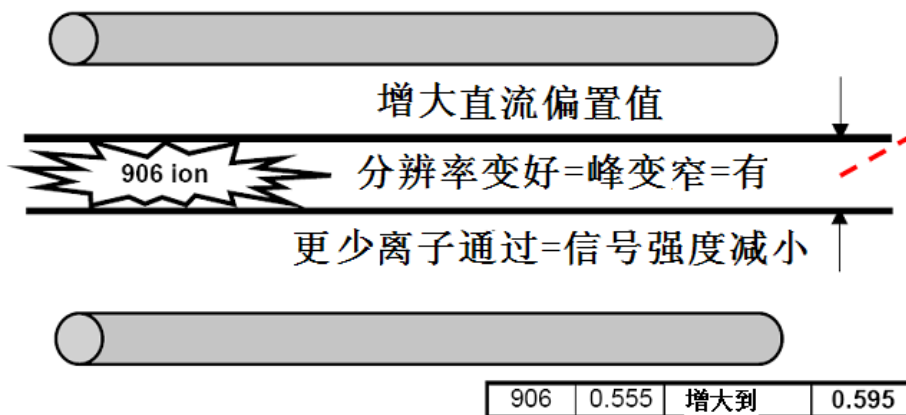
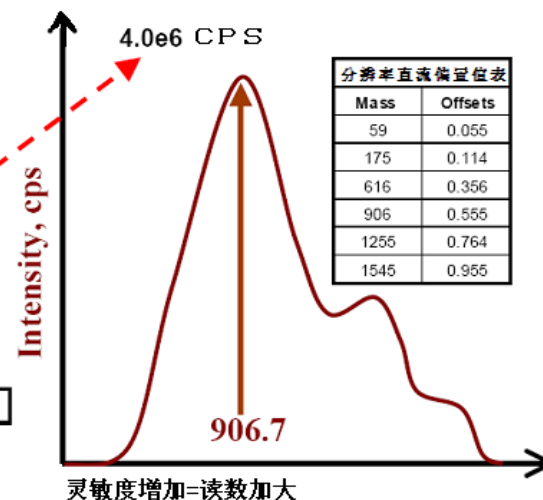
□ 离子螺旋前进

四极杆原理之FDC

RF + DC (分辨率直流偏置)



典型的PPG906的质谱峰



四极杆工作原理之ROV(IE)

□ 离子能量(IE)

✓ 影响分辨率和峰形

➤ 降低IE = 分辨率变好,灵敏度降低

➤ 提高IE = 分辨率变差,灵敏度提高

□ Q1离子能量 = $n(Q0 - RO1)$; n—电荷数

✓ Q1 IE1 = $Q0 - RO1 = 0.5 - 2\text{eV}$

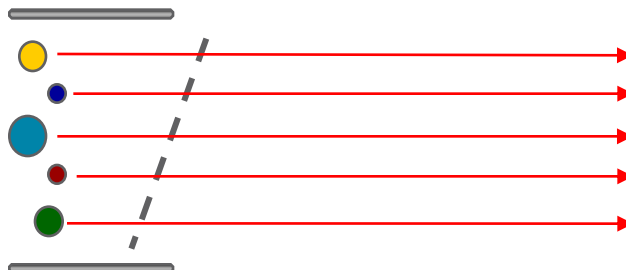
□ Q1离子能量 = $n(RO2 - RO3)$; n—电荷数

✓ Q3 IE3 = $RO2 - RO3 = (1 - 6\text{eV})$

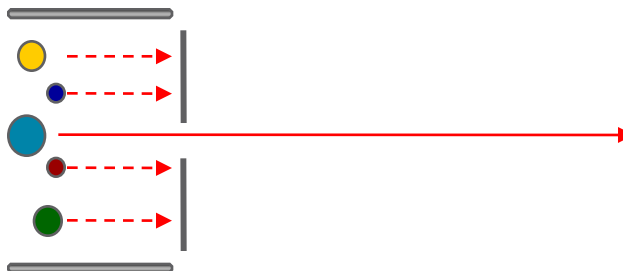
四极杆质量分析器

单级四级杆的扫描模式

全扫描 (SCAN)



选择离子监测 (SIM)



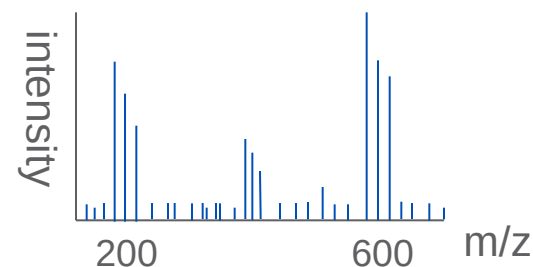
Analyst中的单级四级杆扫描模式

Scan type: **Q1 MS (Q1)** **Q1 MS**

Scan rate: 200 (Da/s)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

	Start (Da)	Stop (Da)	Time (sec)
1	100.000	500.000	2.0005
2			

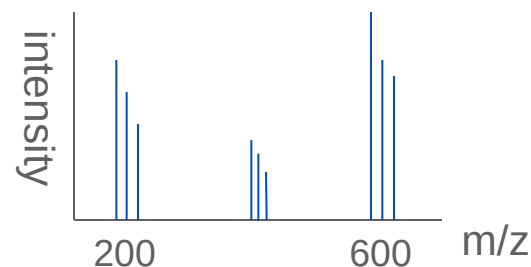


Scan type: **Q1 MS (Q1)** **Q1 MS Center/Width**

Scan rate: 10 (Da/s)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

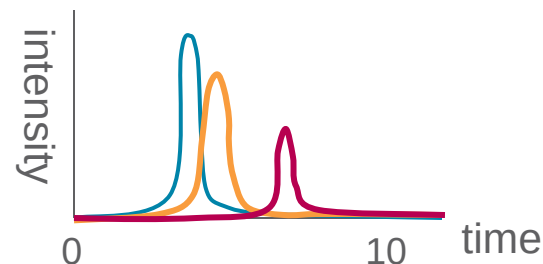
	Center (Da)	Width (Da)	Time (sec)
1	200.000	6.000	0.6100
2	400.000	6.000	0.6100
3	600.000	6.000	0.6100
4			



Scan type: **Q1 Multiple Ions (Q1 MI)** **Q1 MI**

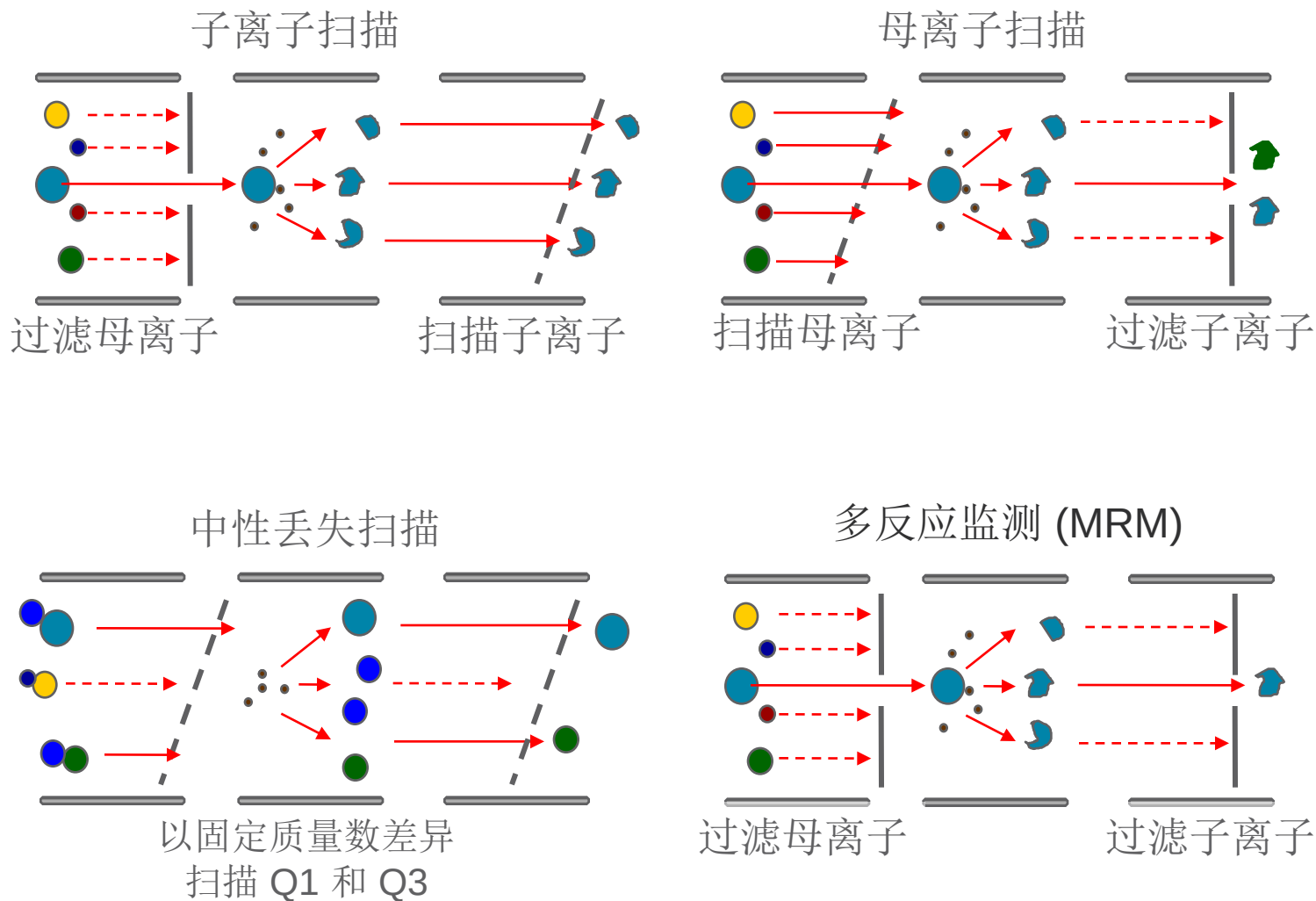
Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

	Q1 Mass (Da)	Time (msec)
1	200	100
2	400	100
3	600	100
4		



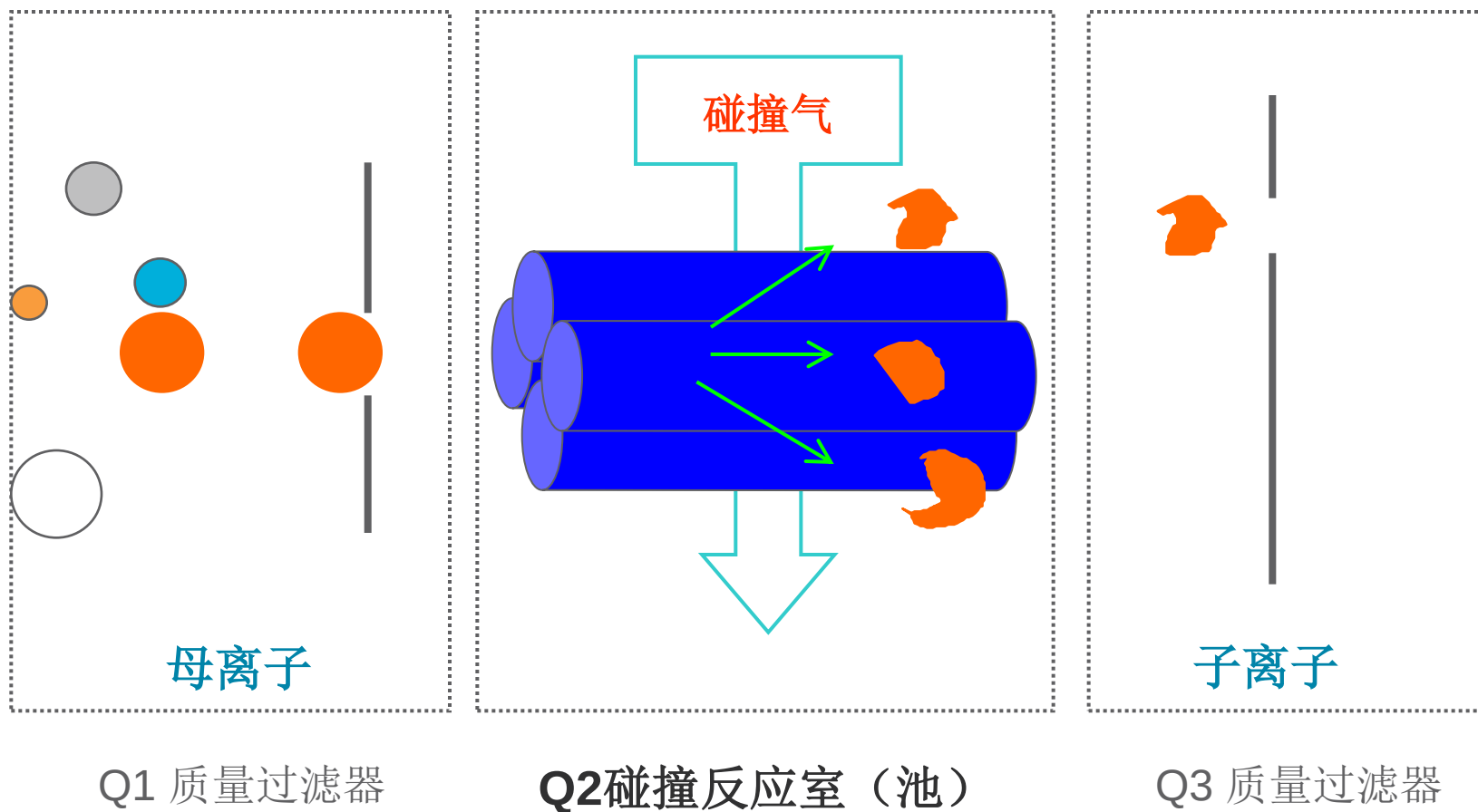
Q3 MS, Q3 MS Center/Width, Q3 MI 三种扫描方式的操作方法与Q1完全相同

串联四极杆质谱的工作模式



串联四极杆质谱的工作模式

MRM

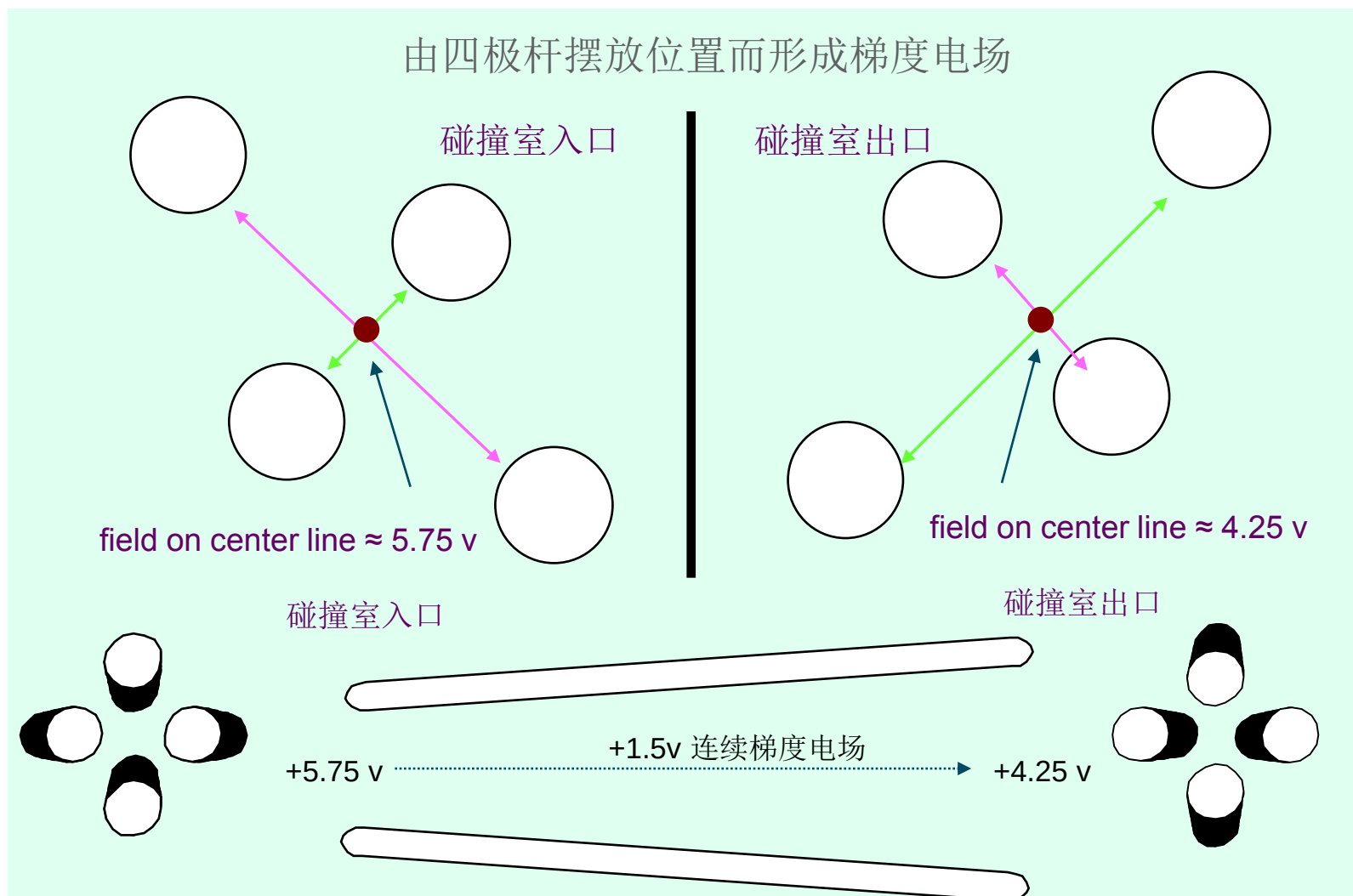


串联四极杆质谱的核心技术

碰撞反应池

- 对于串联四极杆质谱，单位时间内监测的MRM通道的多少，即在一次采样中可同时测定MRM的数目，被认为是仪器效率高低的标志。
- 事实上，“可同时测定MRM的数目”就是通常所说的串联四极杆质谱的“快慢”。一台串联四极杆质谱更“快”，就是指在单位时间内能监测的MRM数目更多。
- 而且，一台更快的串联四极杆质谱仪，就要求碰撞反应池足够快地将前一个母离子产生的子离子“赶”出去，并允许下一个母离子进入。
- 如果，碰撞反应池没来得及将前一个母离子产生的子离子“赶”出去，就把下一个母离子放入，那么我们就无从分辨哪些子离子是前一个母离子产生的，而哪些是后者产生的。这就被称为串联四极杆质谱仪的交叉干扰。
- 归根结底，串联四极杆质谱仪MRM工作的快慢与四极杆质量扫描速度没有任何直接关联，决定MRM工作效率的瓶颈在于碰撞反应池！

线性离子加速技术 LINAC

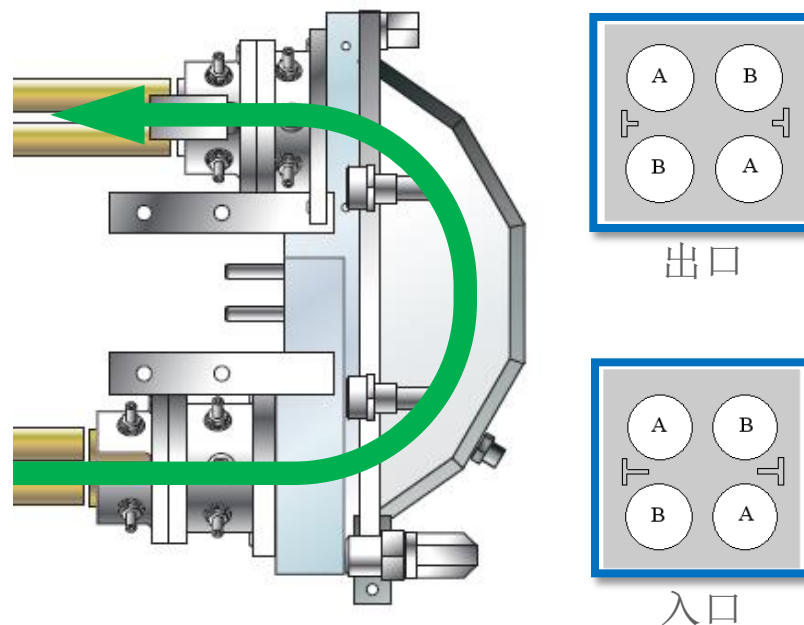


串联四极杆质谱的核心技术

弯曲的LINAC®碰撞池，加速的质谱反应区间

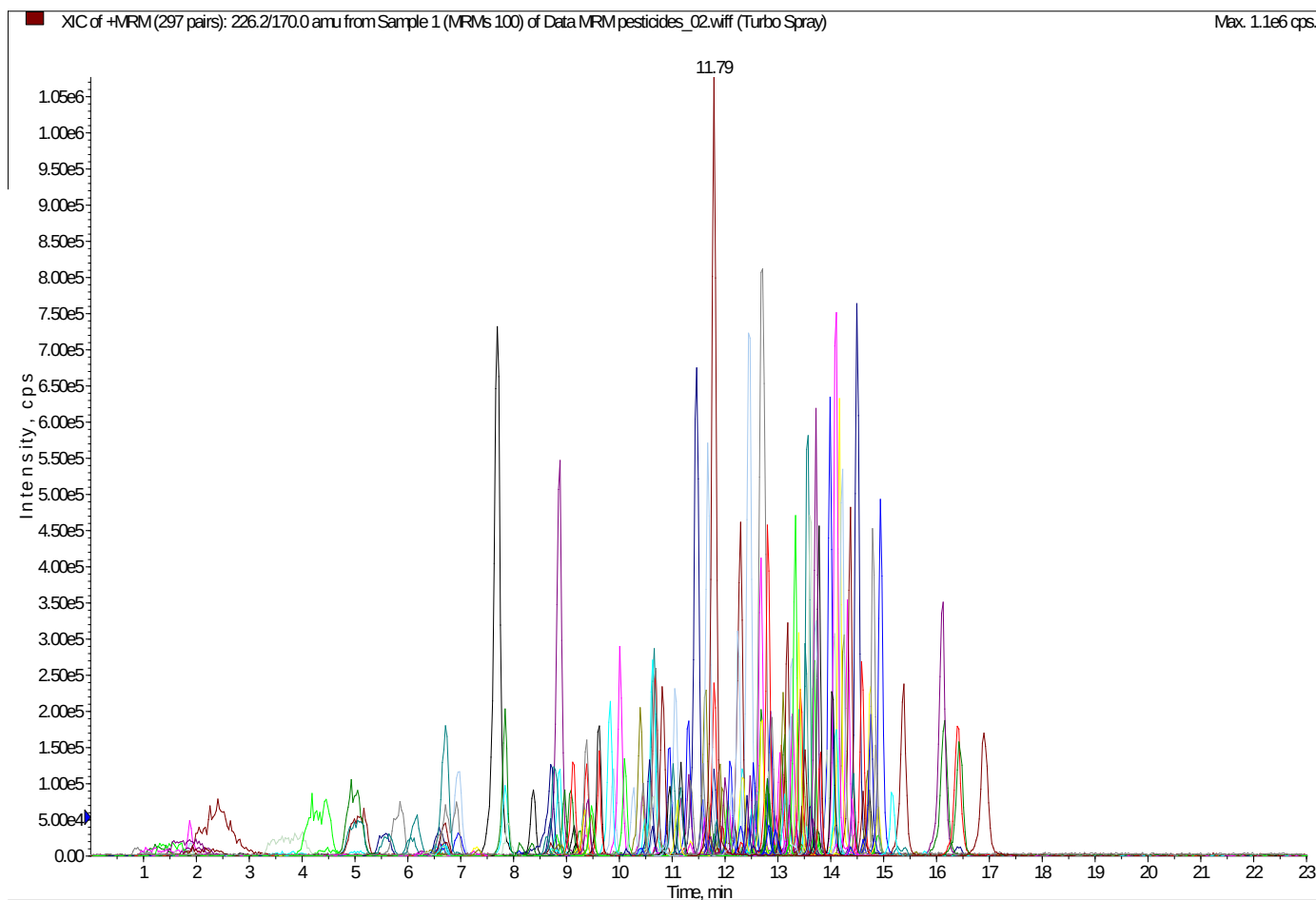
□ 在整个Q2（碰撞反应池）内部，
形成180° 弯曲且连续的梯度电场

- ✓ 梯度：允许单位时间内监测更多的离子通道，即更多的MRM
- ✓ 连续：离子在Q2内的飞行和质谱反应完全受控，保证重现性
- ✓ 弯曲，尽可能赶走中性粒子



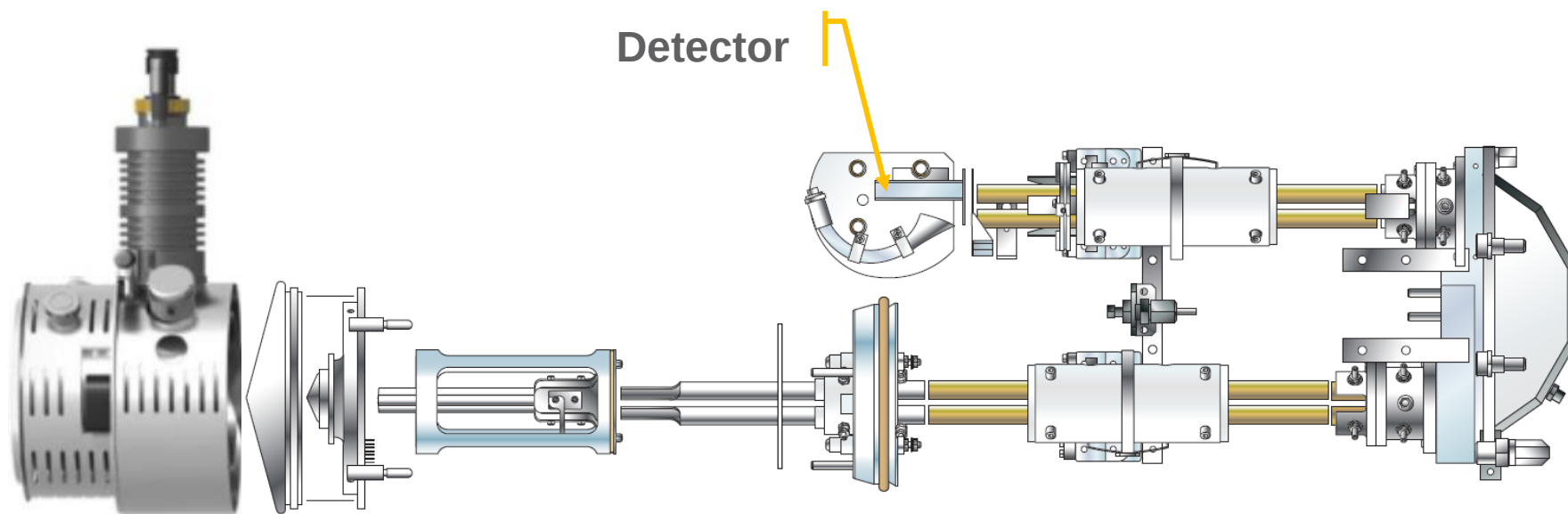
MRM工作效率的提高

~300MRM不分时间窗口



QTRAP[®] 4500和QTRAP[®] 5500系统

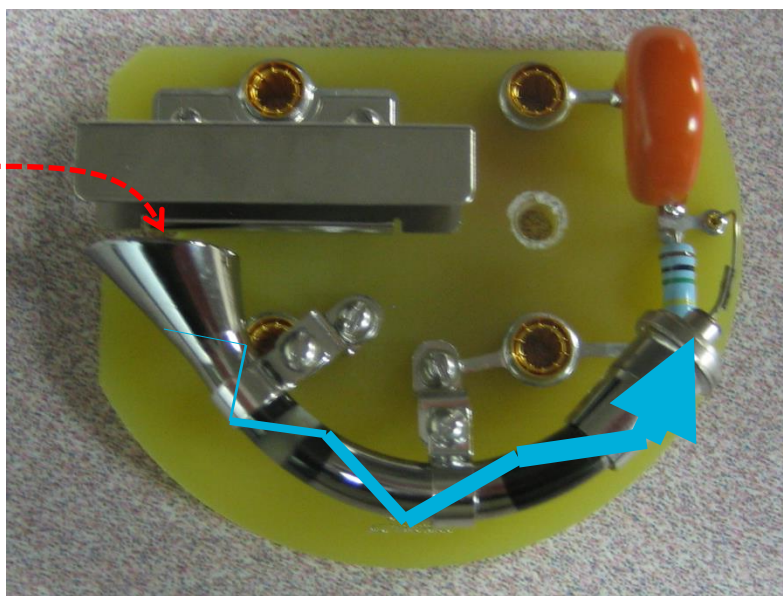
检测器



数字式信号检测器

电子倍增器

离子流



脉冲信号输出

❑ 数字信号导出，无滤噪功能

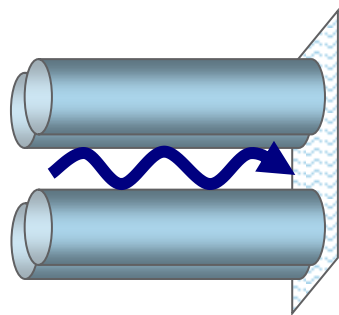






QTRAP[®]系统原理

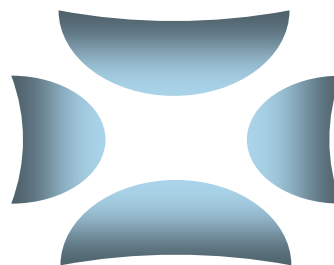
复合型质谱QTRAP能够实现一针进样，同时完成定量定性



三重四极杆

完成国标法定检测MRM
两对MRM&比值Ratio

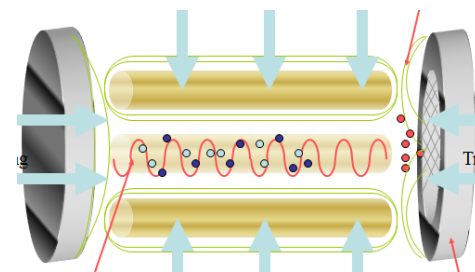
+



离子阱

能够储存离子，灵敏度提高
增强型的二级能够满足要求

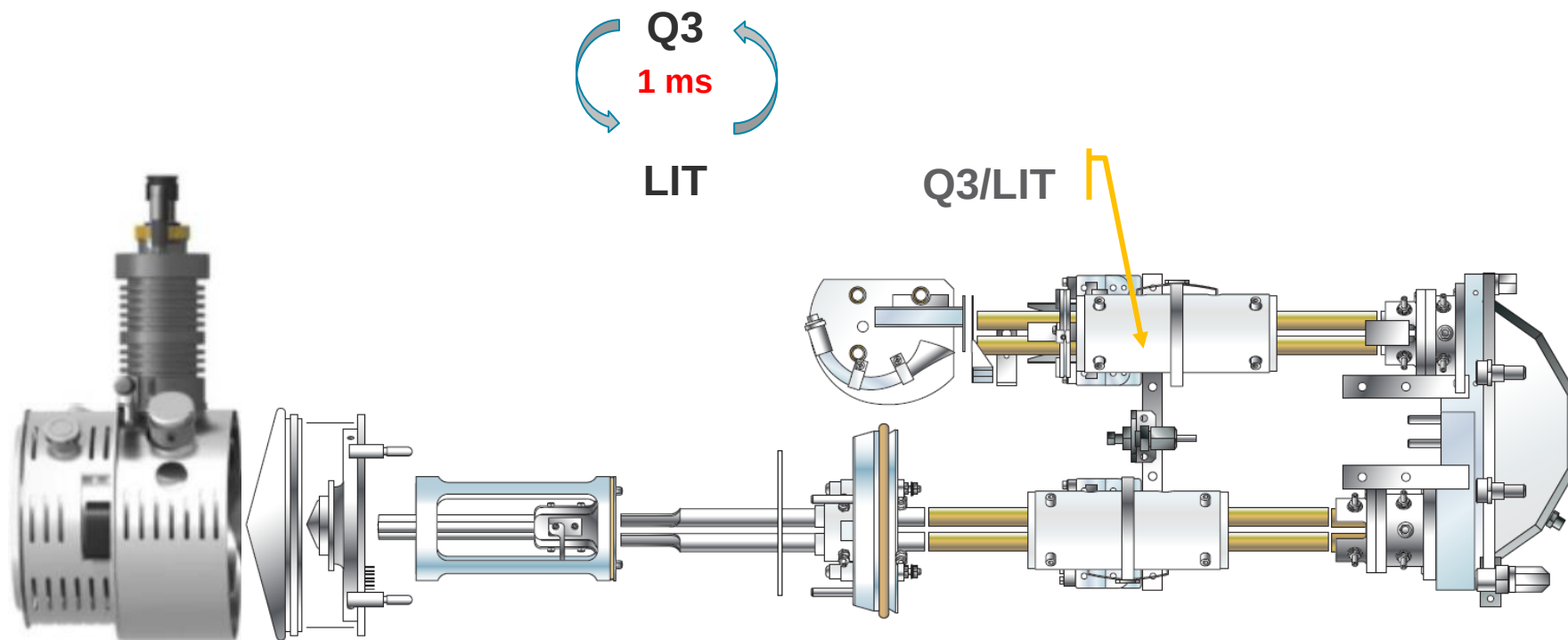
=

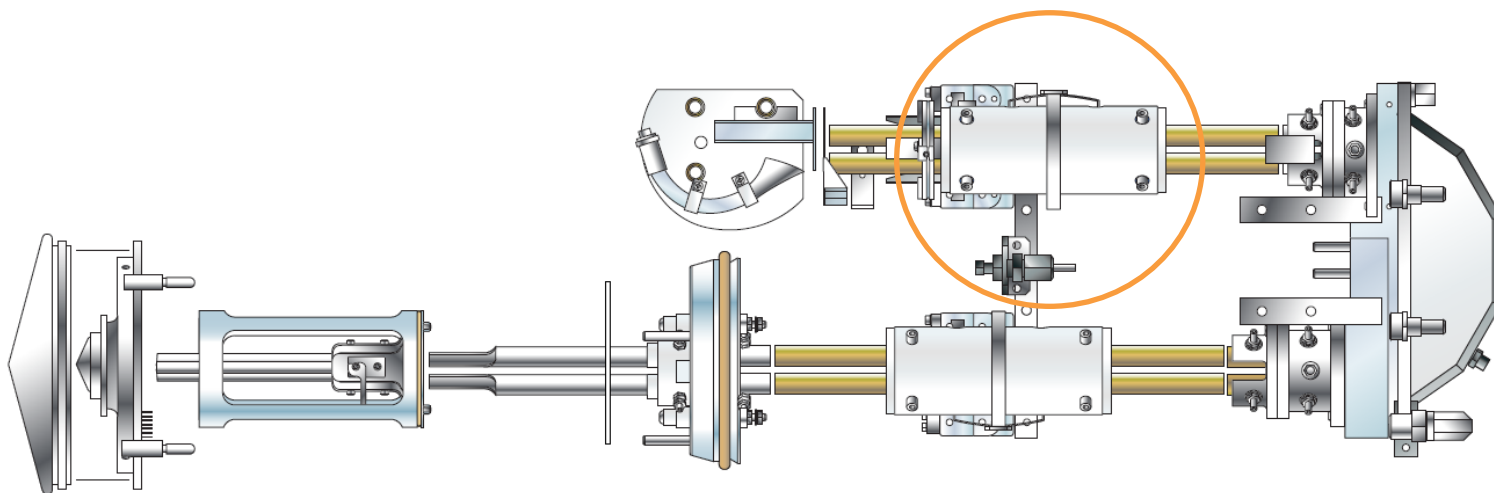


QTRAP

同时定量定性
一机两用

QTRAP[®] 5500和QTRAP[®] 4500系统基本结构





6种扫描方式

三重四极杆串联质谱

- 多反应离子监测 MRM
- 子离子扫描
- 母离子扫描
- 中性丢失扫描
- 全扫描
- SIM

>20种扫描方式

复合扫描方式

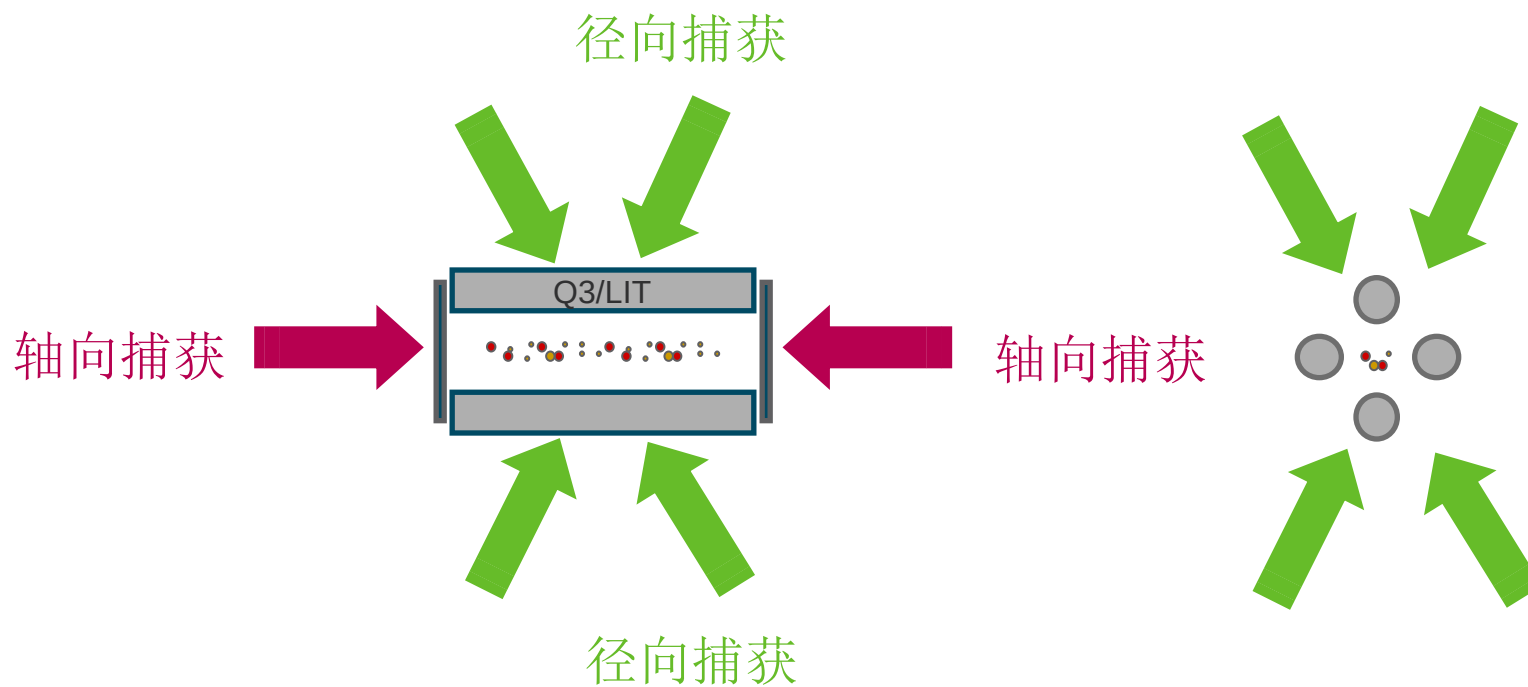
- MRM-EPI (子离子扫描)
- MRM-MS³
- 母离子扫描-EPI
- 中性丢失扫描-EPI
- EMS-EPI
-

6种扫描方式

线性离子阱质谱

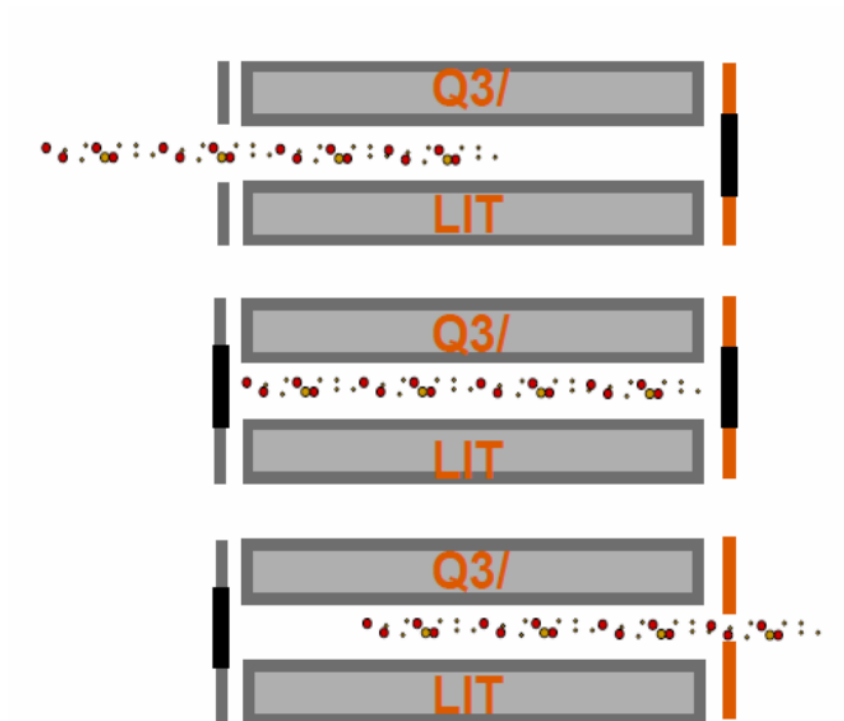
- 增强子离子扫描 (EPI)
- MS³
- 增强全扫描 (EMS)
- 增强多电荷扫描 (EMC)**
- 增强高分辨扫描
- 时间延迟碎裂扫描 (TDF)**

线性离子阱工作原理



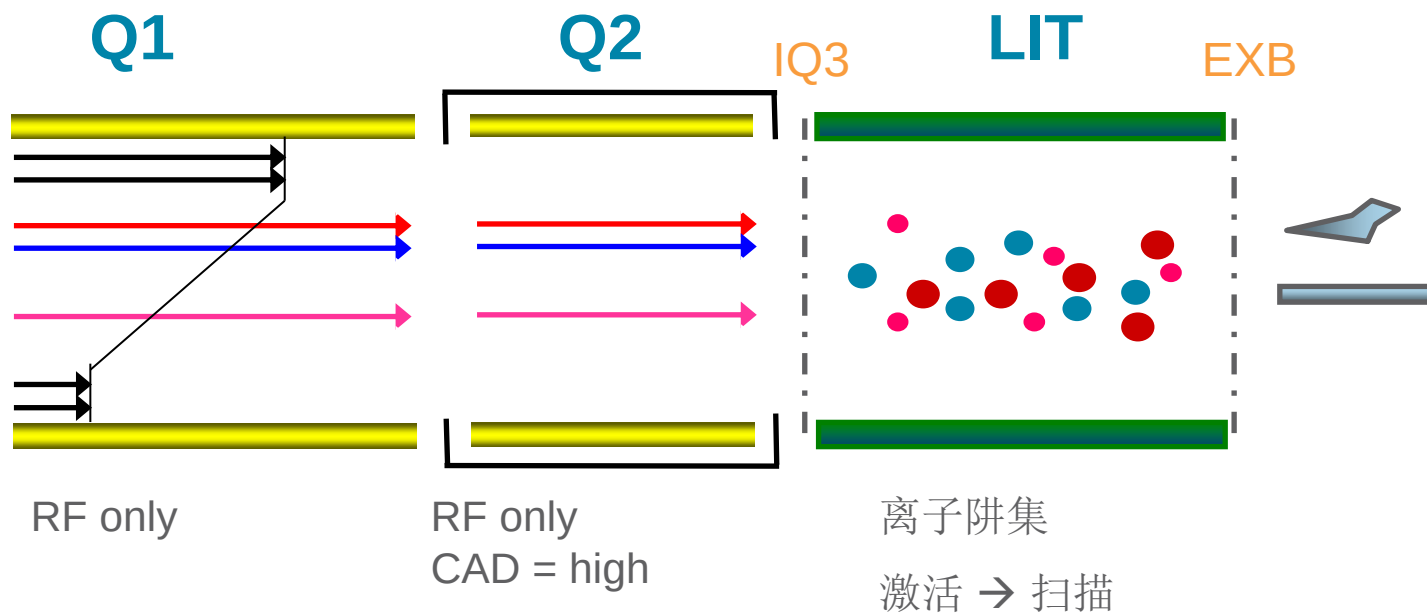
线性离子阱工作原理

- 打开入口，关闭出口，允许离子阱捕集离子；
- 关闭入口出口，阱集离子；
- 打开出口扫描离子



QTRAP[®]扫描模式

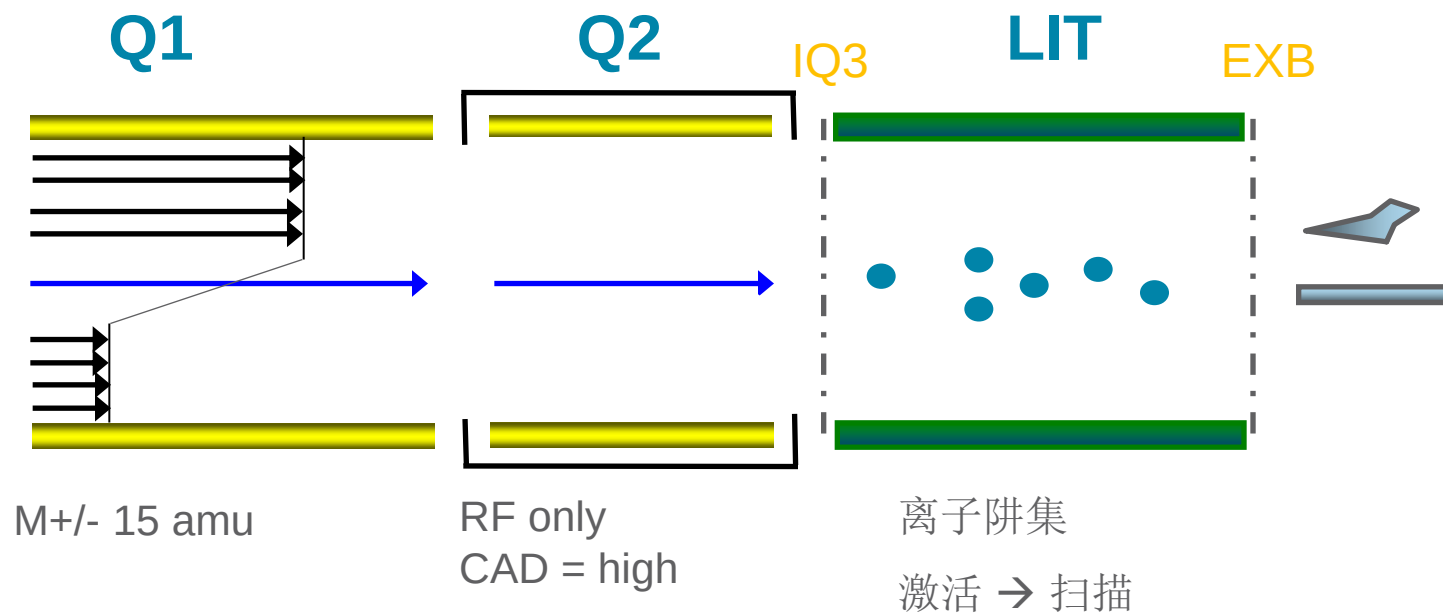
增强质谱扫描 (EMS)



1. Q1和Q2 允许一定质荷比范围的离子通过
2. 所有通过的离子在LIT中阱集
3. LIT做质谱扫描

QTRAP[®]扫描模式

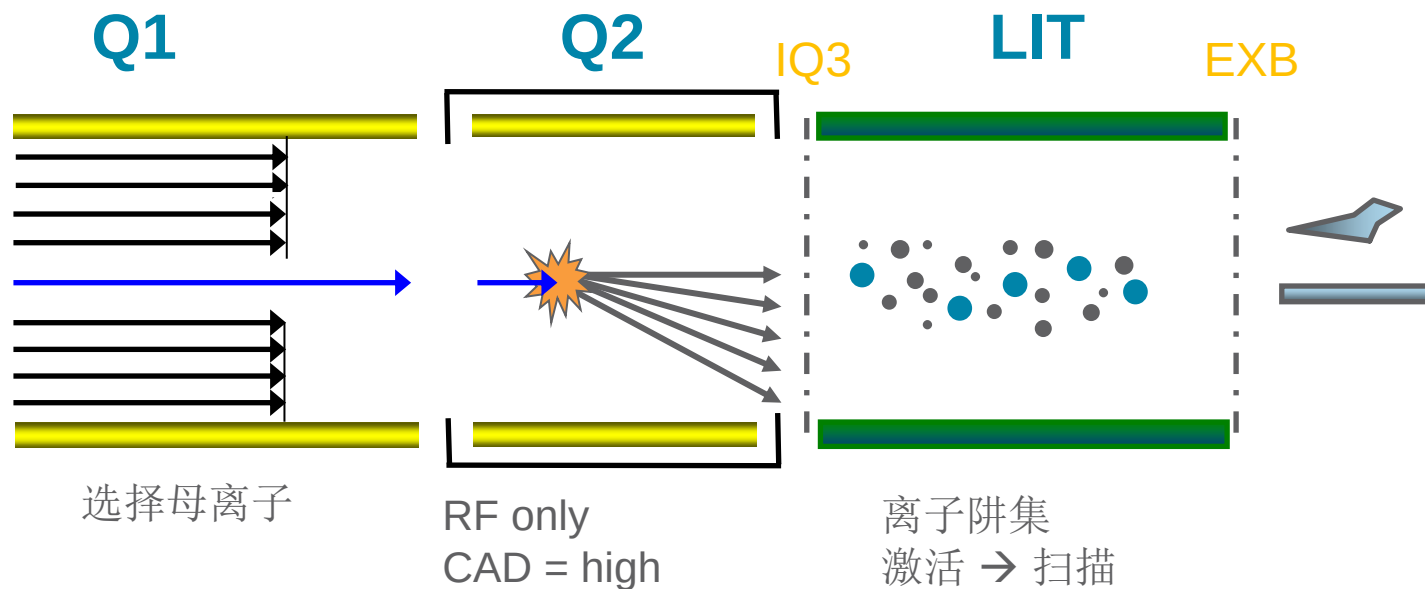
增强分辨率扫描 (ER)



1. Q1允许目标离子质荷比 ± 15 Da范围内的离子通过
2. LIT做离子阱集
3. LIT 做质谱扫描

QTRAP®扫描模式

增强子离子扫描 (EPI)



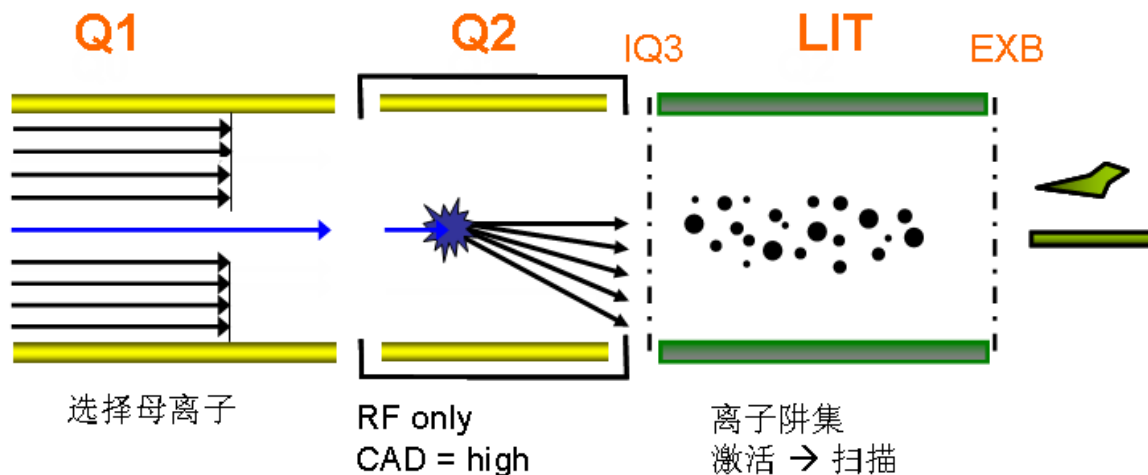
1. Q1选择母离子
2. 母离子在 Q2中裂成碎片离子
3. LIT阱集碎片离子
4. LIT做质谱扫描

QTRAP®和串联四级杆工作原理的比较

EPI和Product Ion

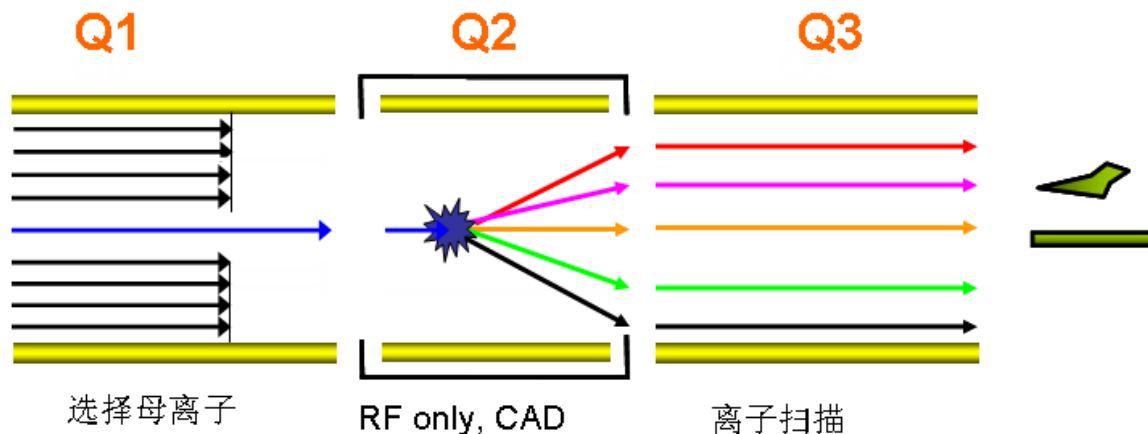
增强子离子扫描

EPI



子离子扫描

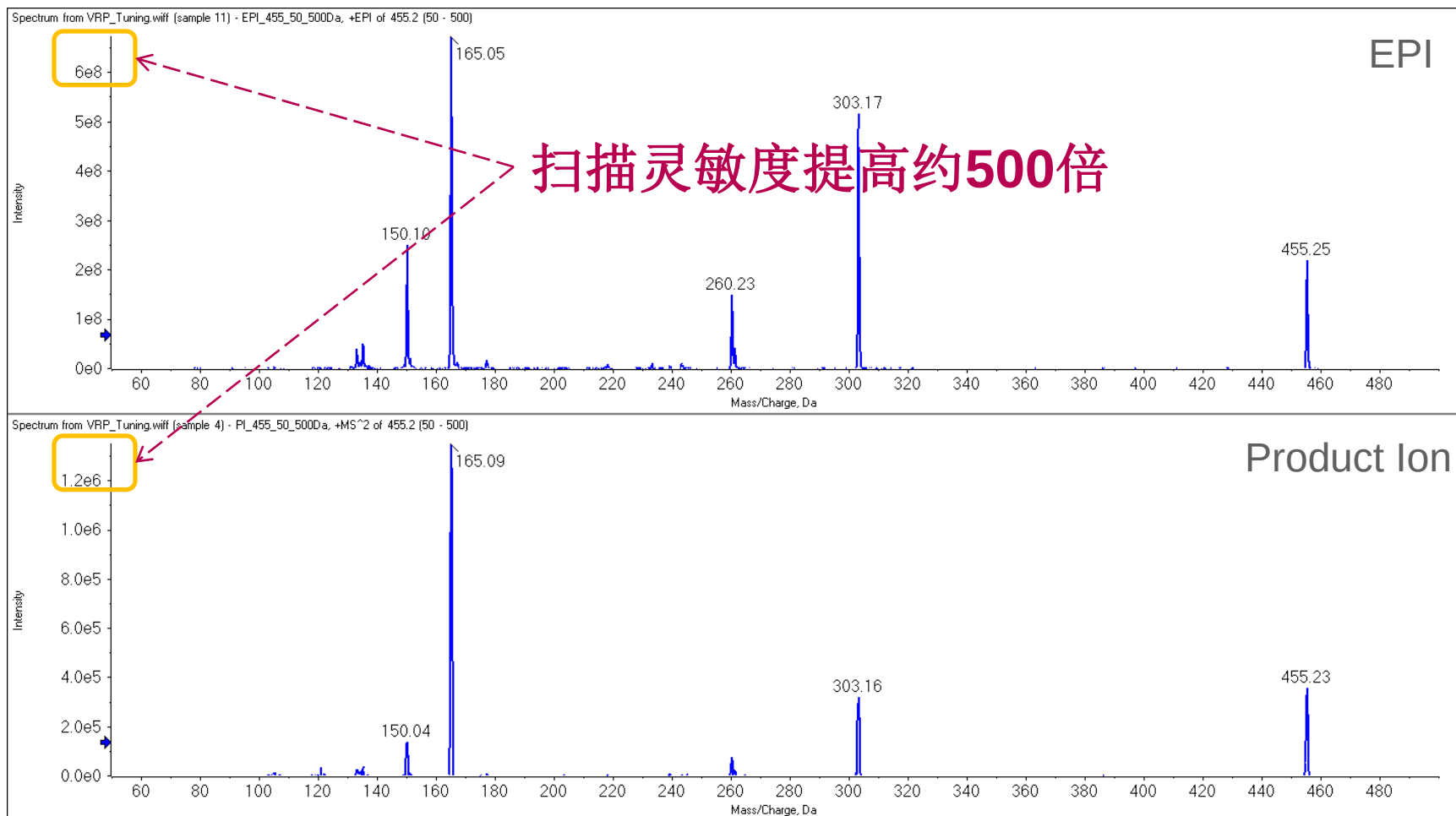
Product Ion



QTRAP®的优势

EPI vs. Product Ion

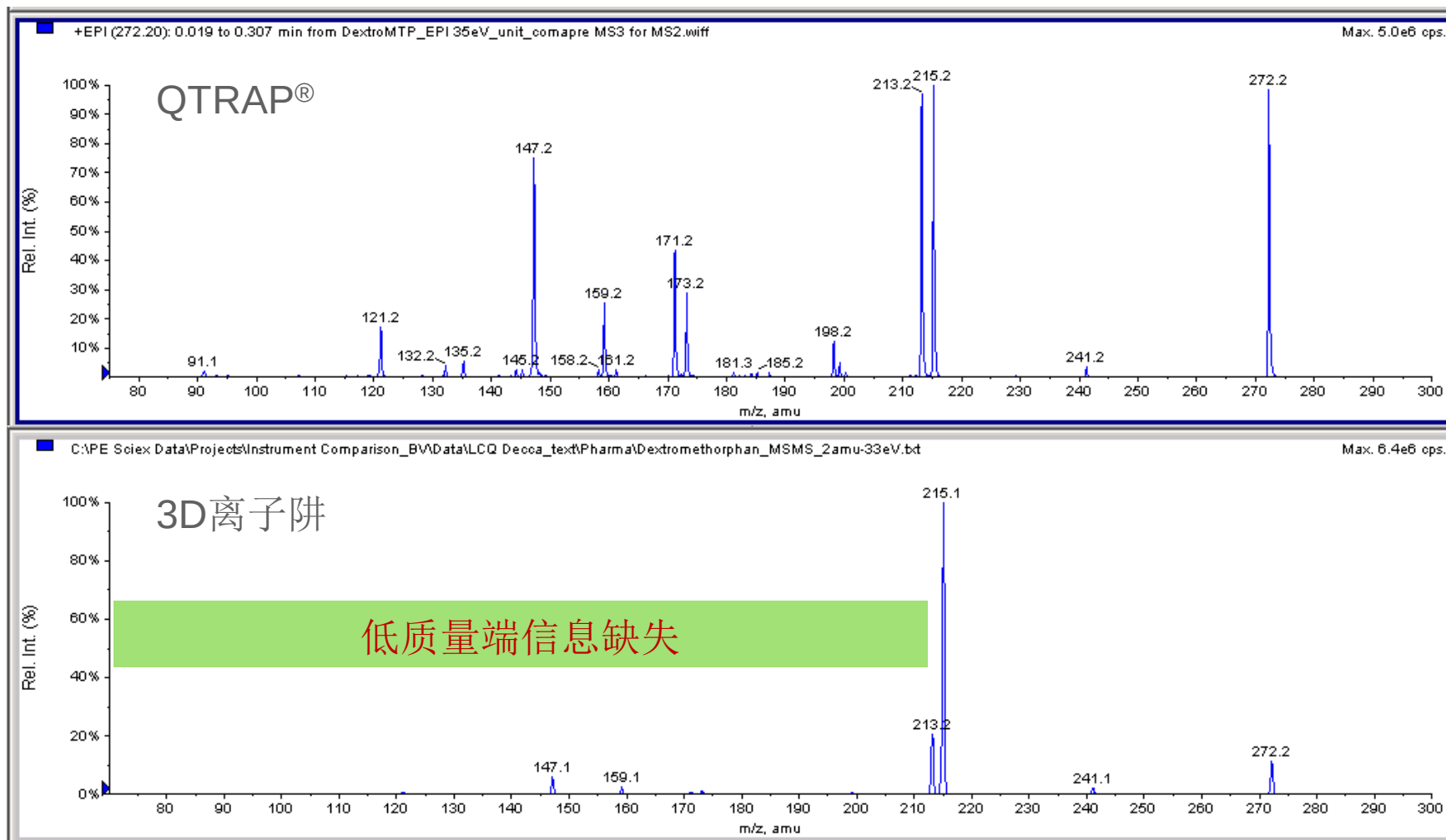
维拉帕米



QTRAP®的优势

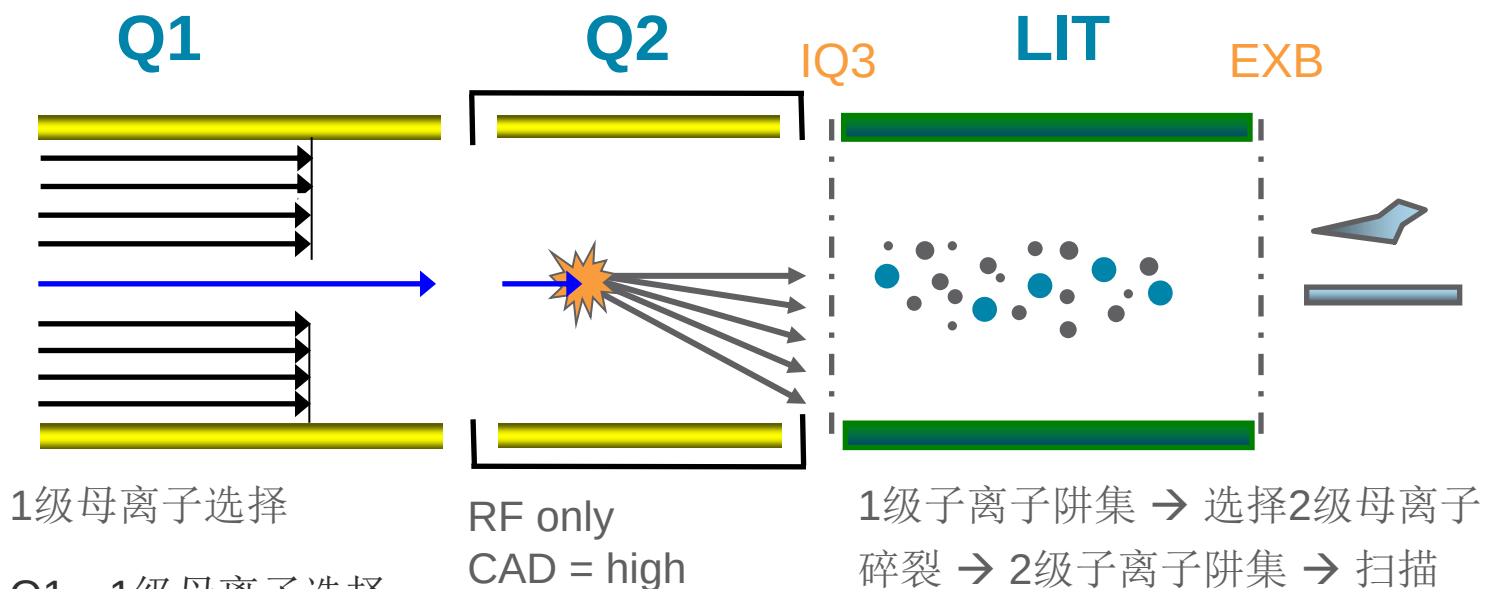
EPI vs. 3D离子阱

右美沙芬



QTRAP[®]扫描模式

MS³扫描



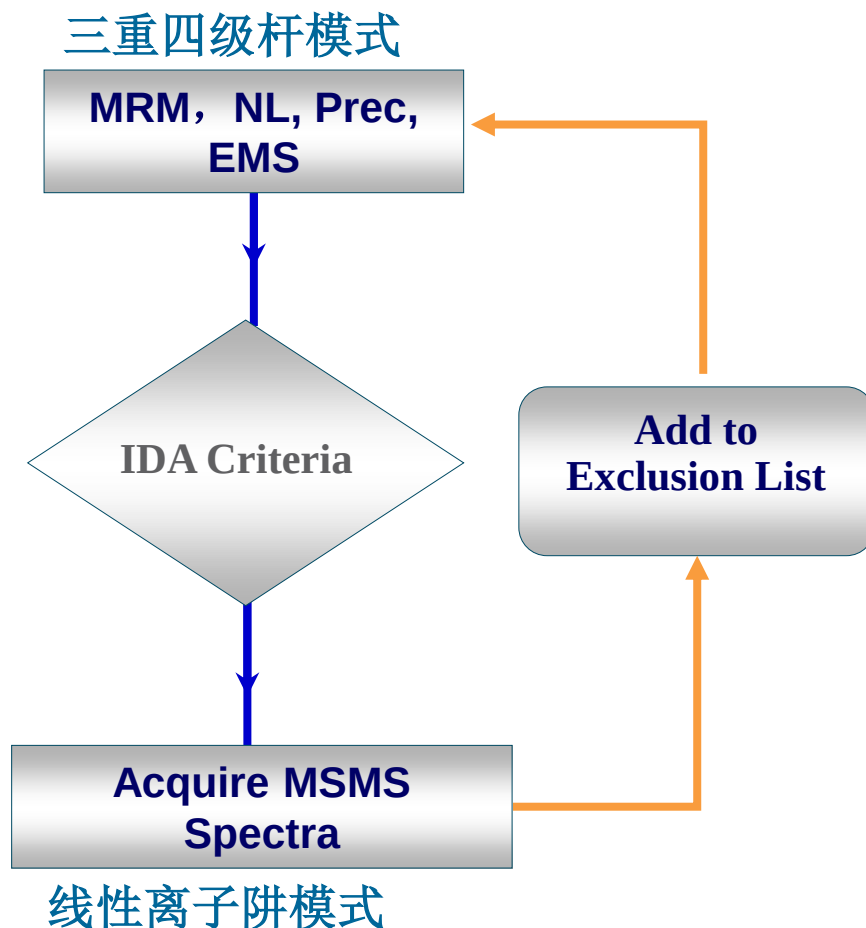
1. Q1, 1级母离子选择
2. 母离子在 Q2中裂成碎片离子
3. LIT1级子离子阱集
4. LIT选择2级母离子（即选择某个1级子离子），并击碎
5. LIT2级子离子阱集
6. LIT做质谱扫描





IDA

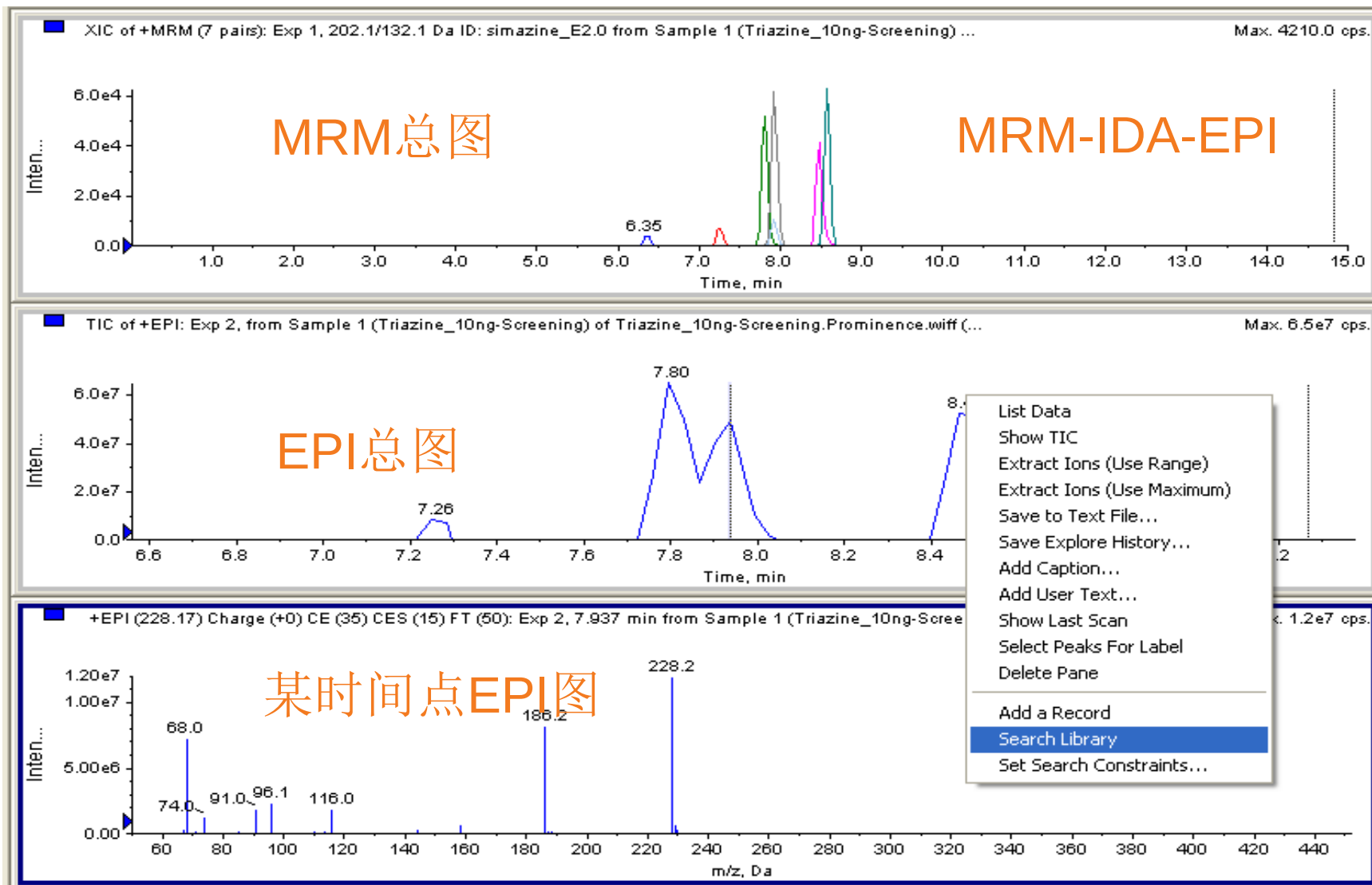
Information Dependent Acquisition



- 步骤1:若干个**MRM** , **NL**, **Prec**, **EMS** 同时采集
- 步骤2:系统自动判断: 某个**MRM**通道采集到的信号强度超过预设值 (即出现色谱峰)
- 步骤3:当步骤2的条件满足时, 系统自动切换 (<1ms) 为线性离子阱模式, 进行增强子离子扫描 (EPI), 获得对应**MRM**通道之母离子的MSMS谱图; 返回步骤1。

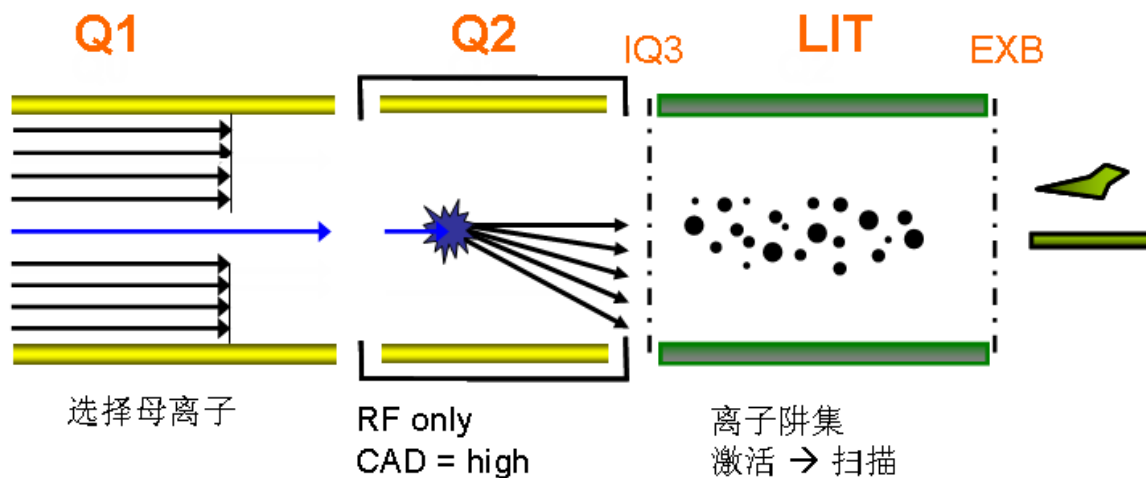
MRM-IDA-EPI: 定量分析同时, 进行定性验证

样品在进行MRM定量分析的同时，采集EPI谱图，然后可进一步定性分析

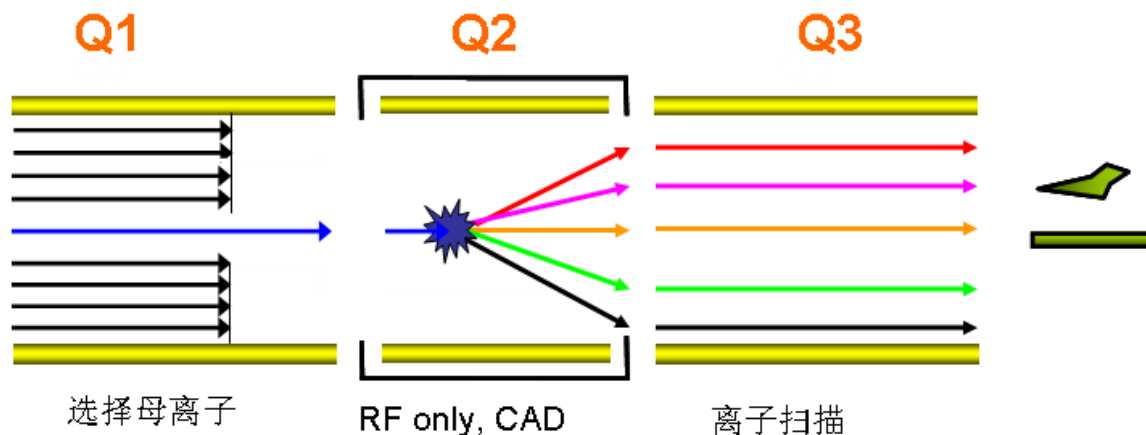


QTRAP和四极杆系统典型工作原理的比较

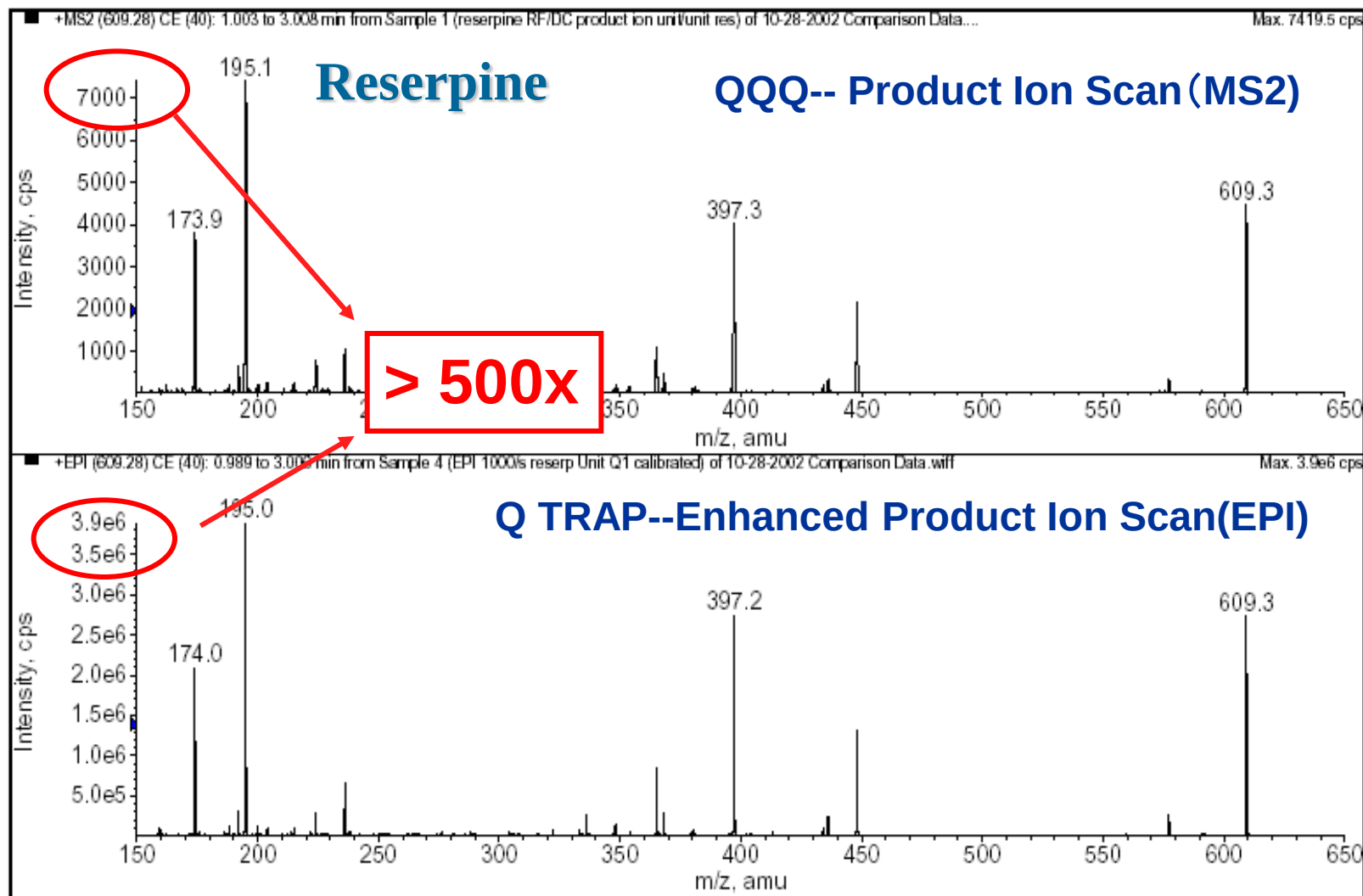
增强子离子扫描
EPI



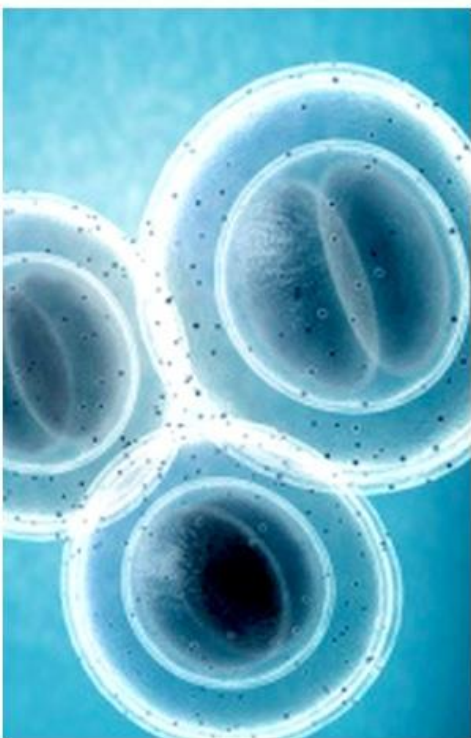
子离子扫描
MS2



对比三重四极杆：灵敏度的增强







结束