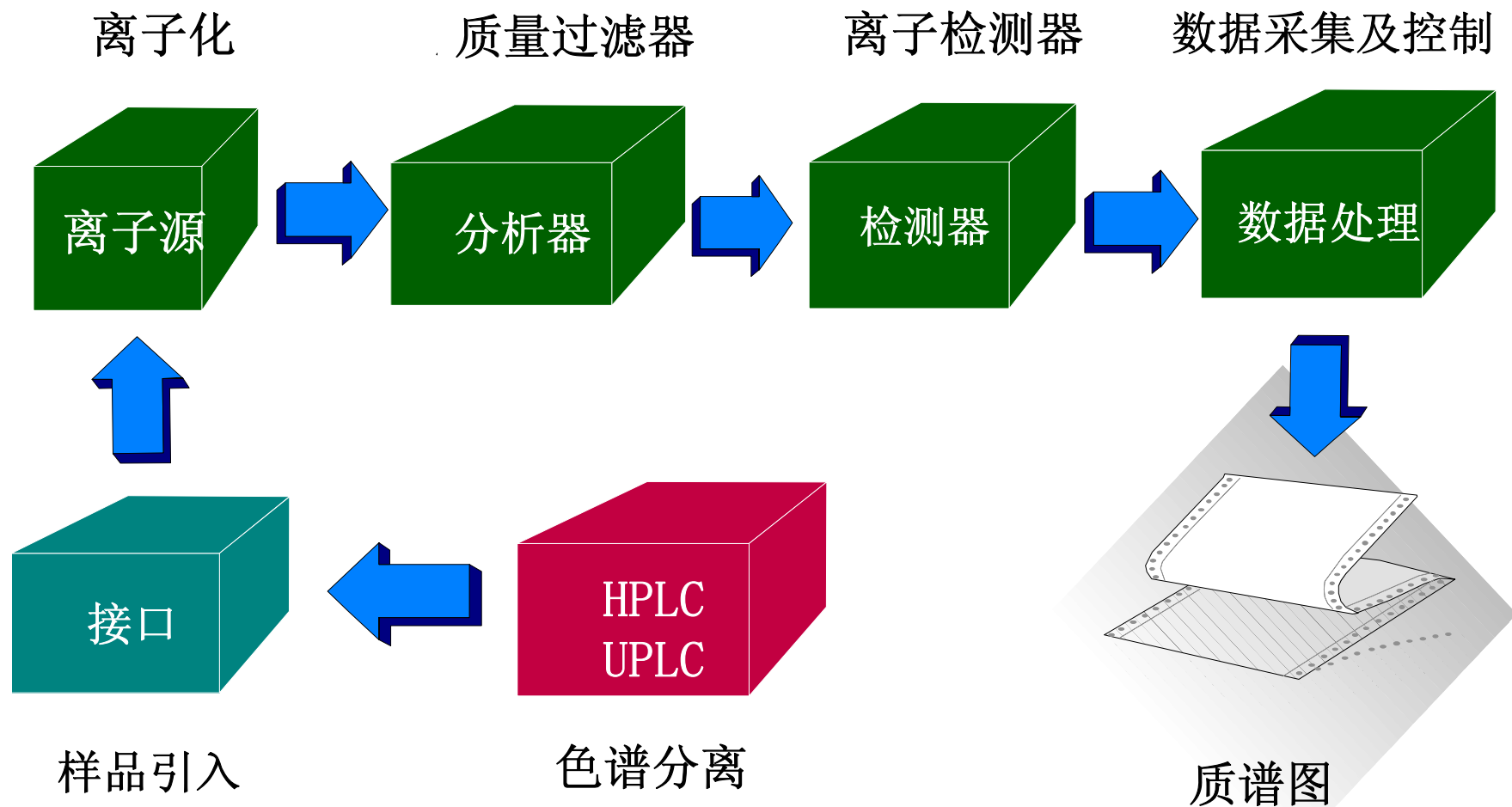


液质联用 基本原理 介绍

液质联用流程图



■ High Performance Liquid Chromatography-高效液相色谱

■ Ultra Performance Liquid Chromatography-超高效液相色谱

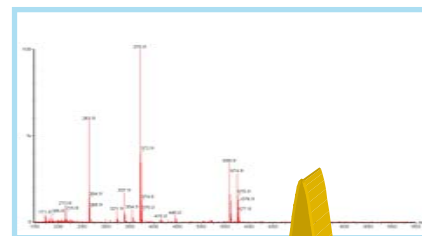
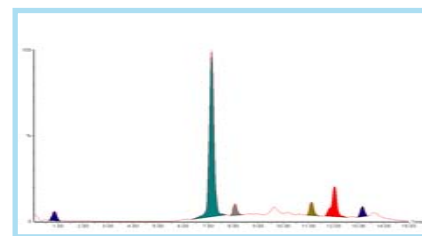
- 液质联用的前提和基础=进样+分离
- 根据化合物的化学特性分离样品(比如极性化合物, 非极性化合物, 酸性化合物, 碱性化合物等等)

• 分离技术

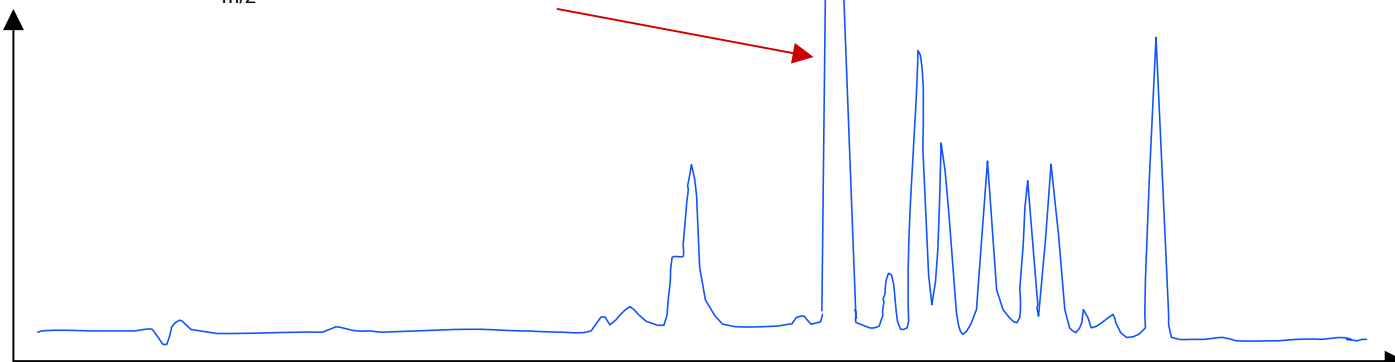
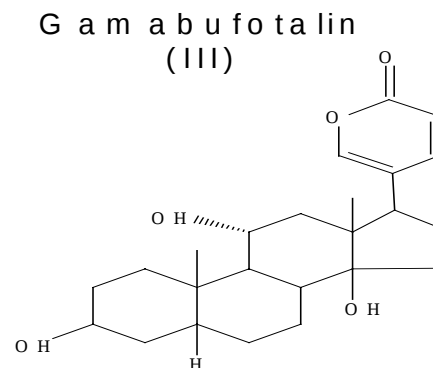
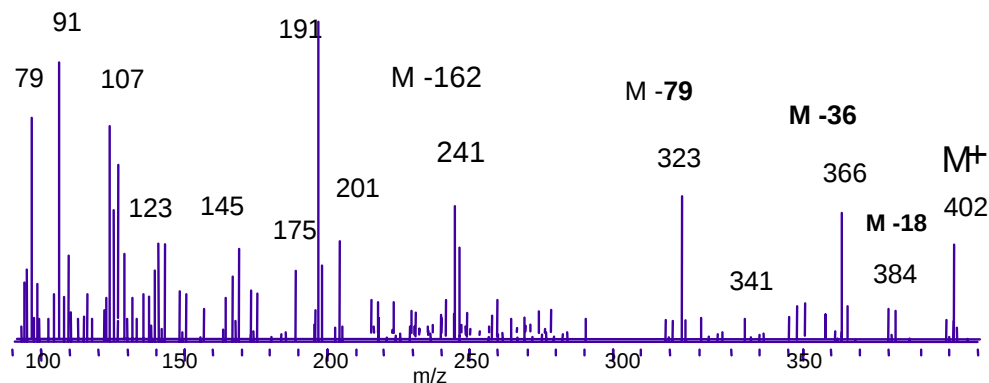
- 分离效率高
- 流动相参与分离
- 连续流出, 峰宽有限
- 有时需要使用缓冲盐提高分离度
- 高压环境工作(> 1000 psi)

■ Mass Spectrometry-质谱

- 质量是物质固有特征之一，不同的物质有不同的质量谱
- 分析物被转化为气相离子而被分析
- 这些离子按其质荷比 (m/z) 被分离而被检测
- 质谱图即是相关的离子流对 m/z 的图



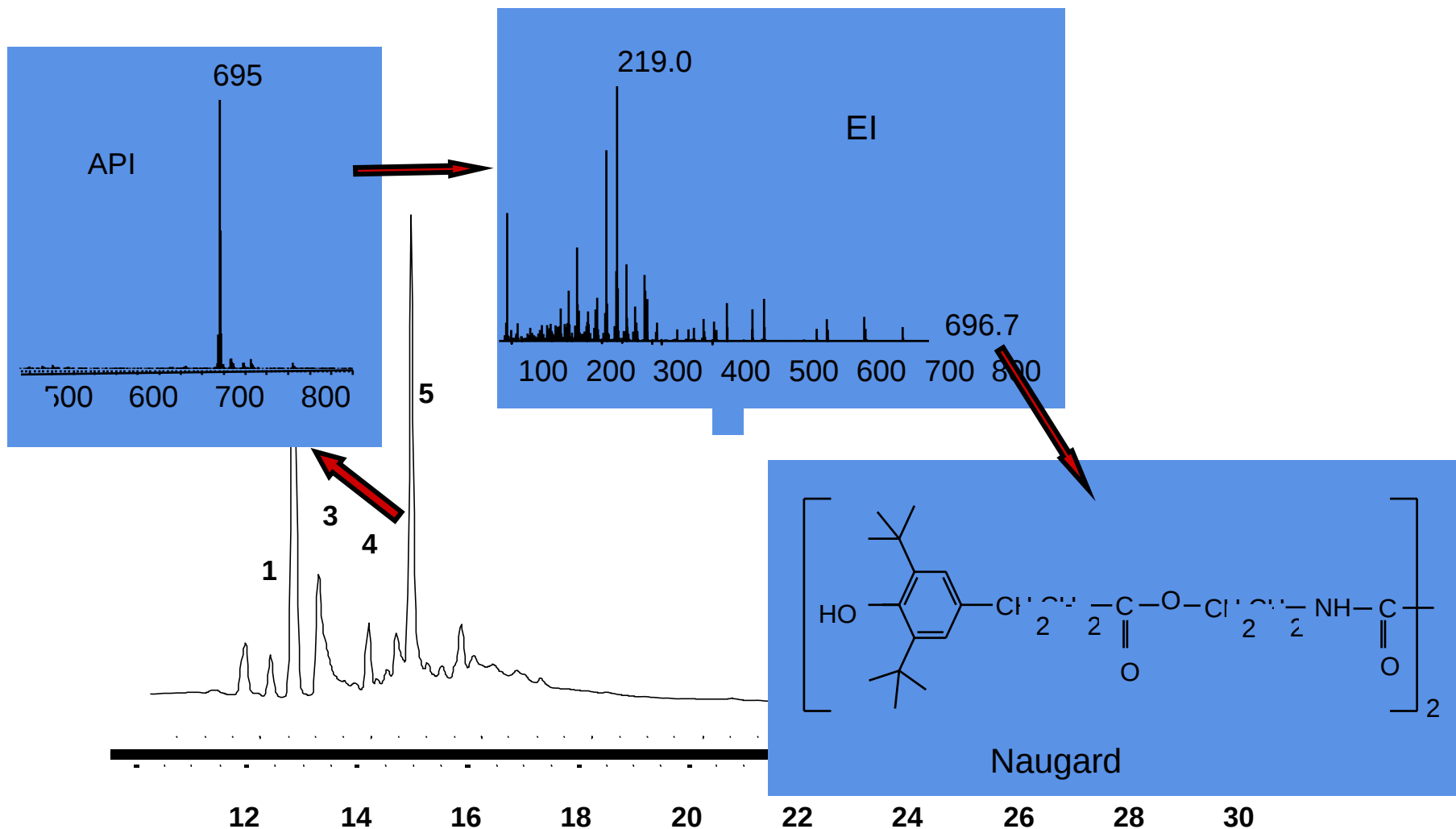
- 灵敏度高
- 定性/定量本领高
- 脉冲扫描采集数据
- 高真空环境工作
- 溶剂参与反应(API 电离源)



TIC 色谱

©2005 Waters Corporation

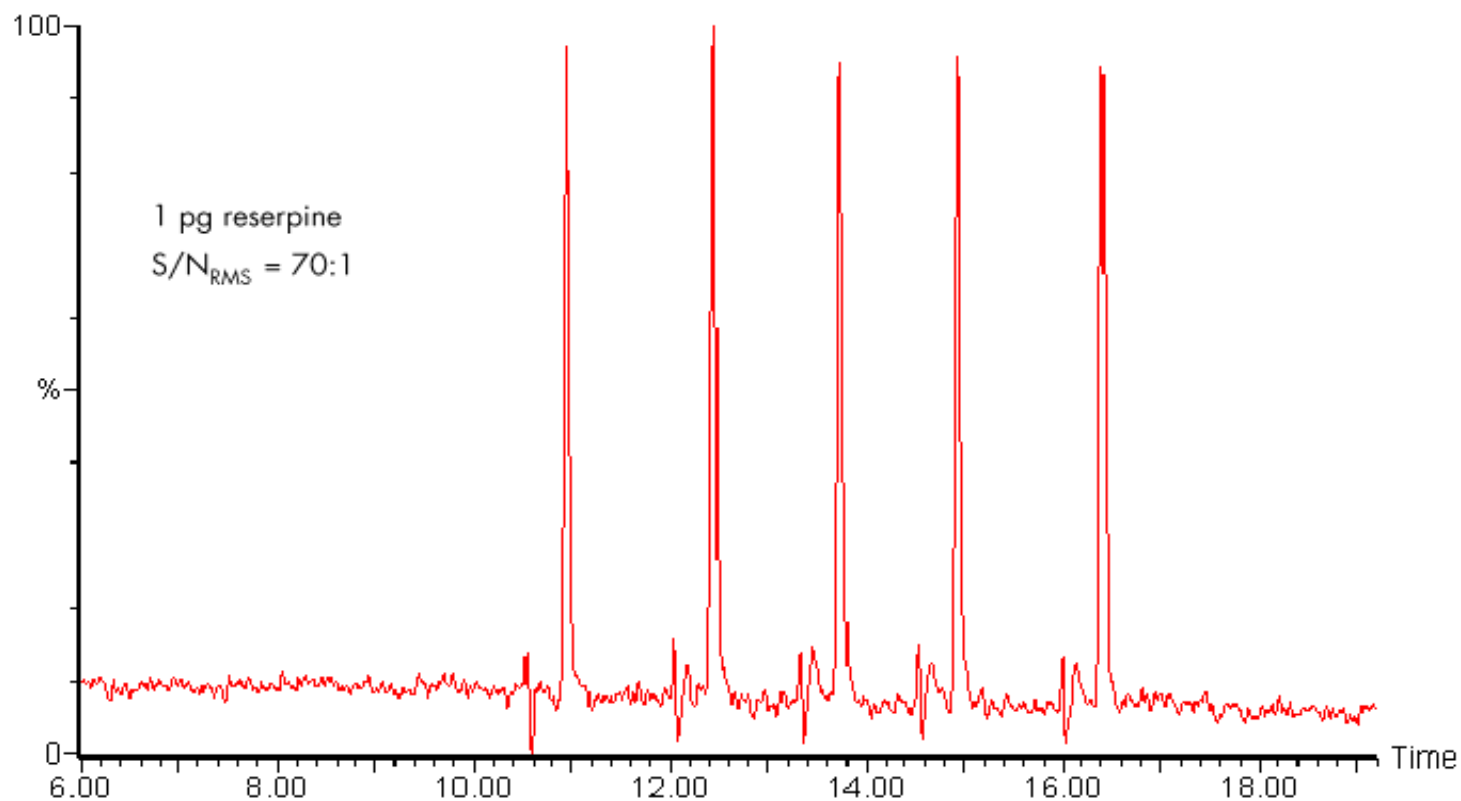




Symmetry C8 3.0mmx15cm at 0.4 ml/min: Water: ACN gradient;
85% to 36% at 45 minutes: PDA scan: 220-400 nm: MS scan: 50-500 m/z

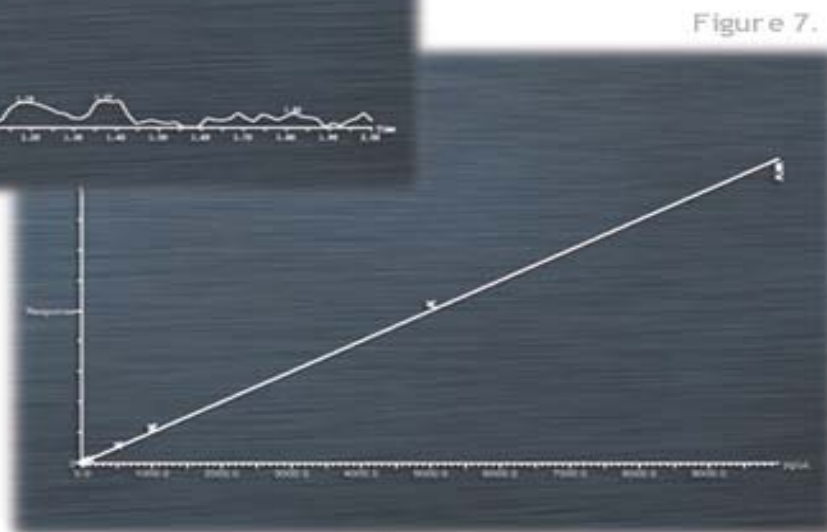
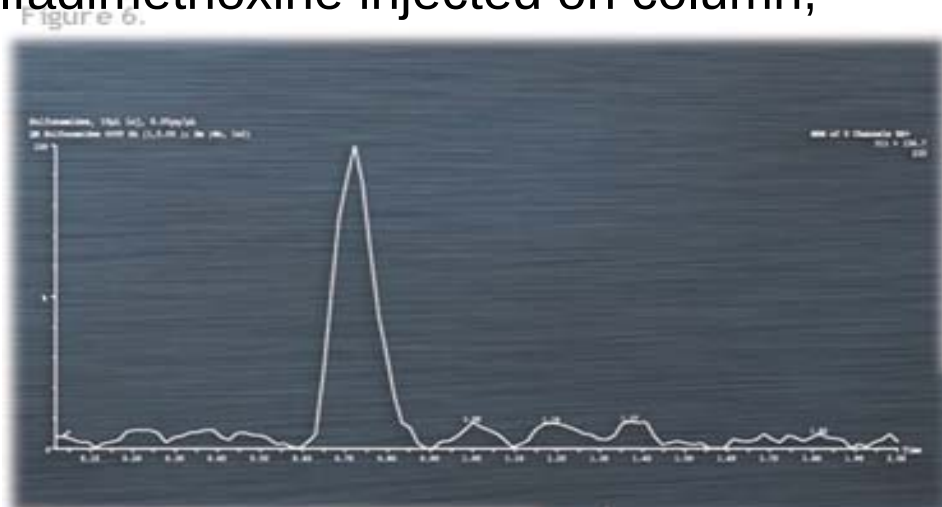
为什么使用 LC/MS? 极高的灵敏度 (2)

©2005 Waters Corporation



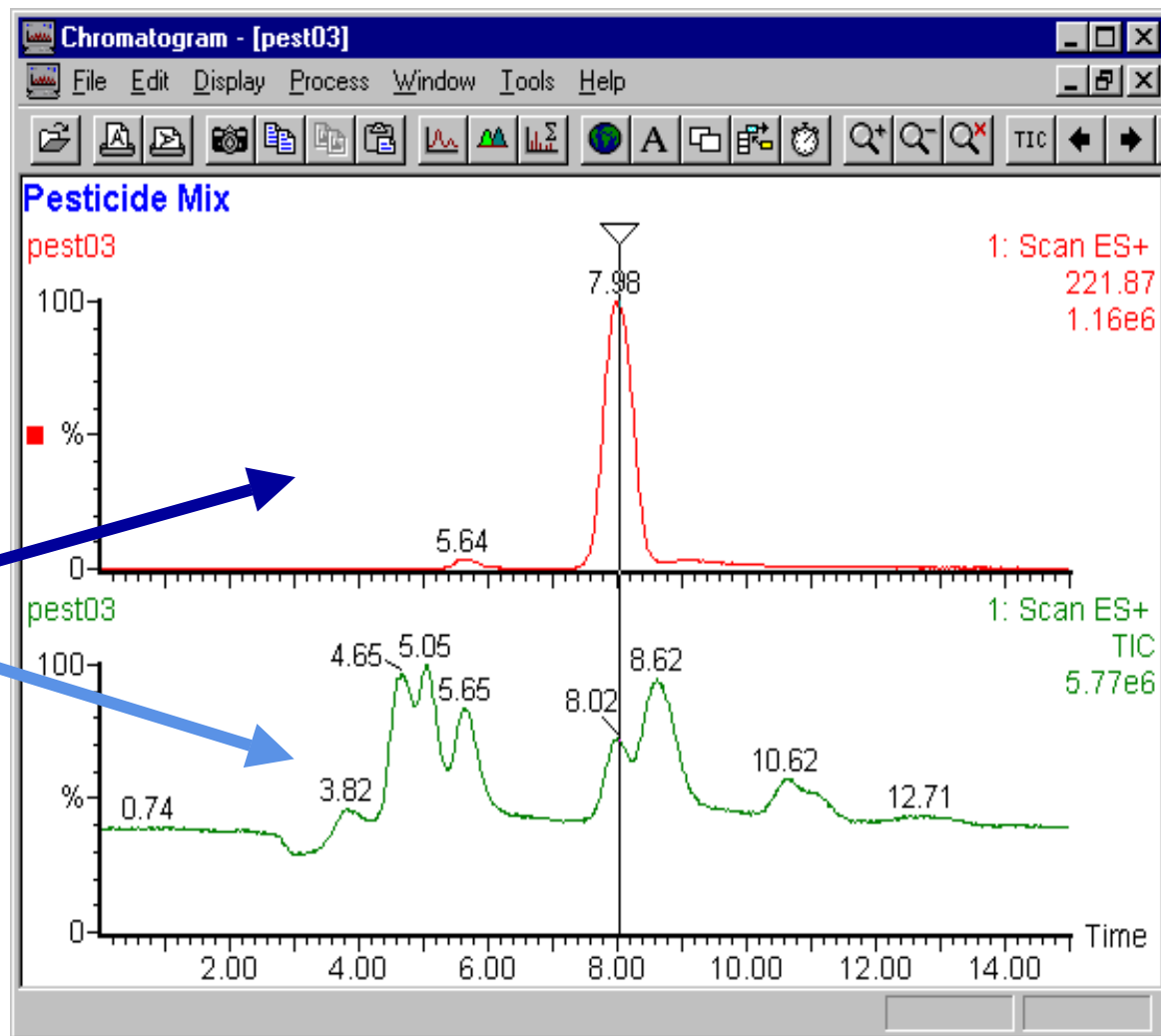
©2005 Waters Corporation

5 orders of magnitude linear dynamic range .
over the concentration range **0.1pg** to **10000pg**,
producing a coefficient of determination of 0.9975
for sulfadimethoxine injected on column,



为什么使用 LC/MS? 进一步增加HPLC的分离能力(4)

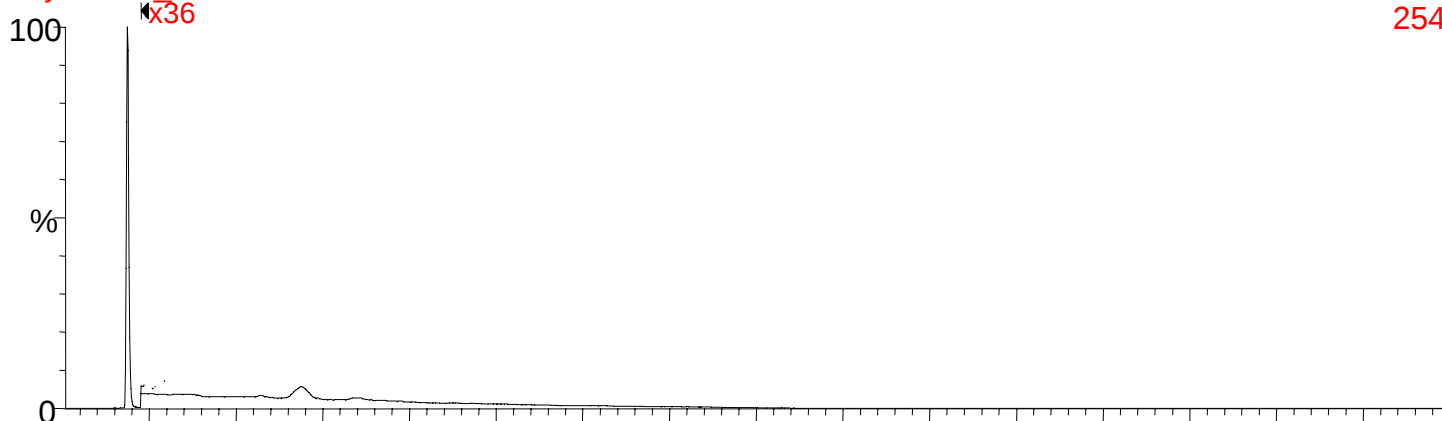
如果让您来选择，您
满意那一种分离度？



LC_MS_OK

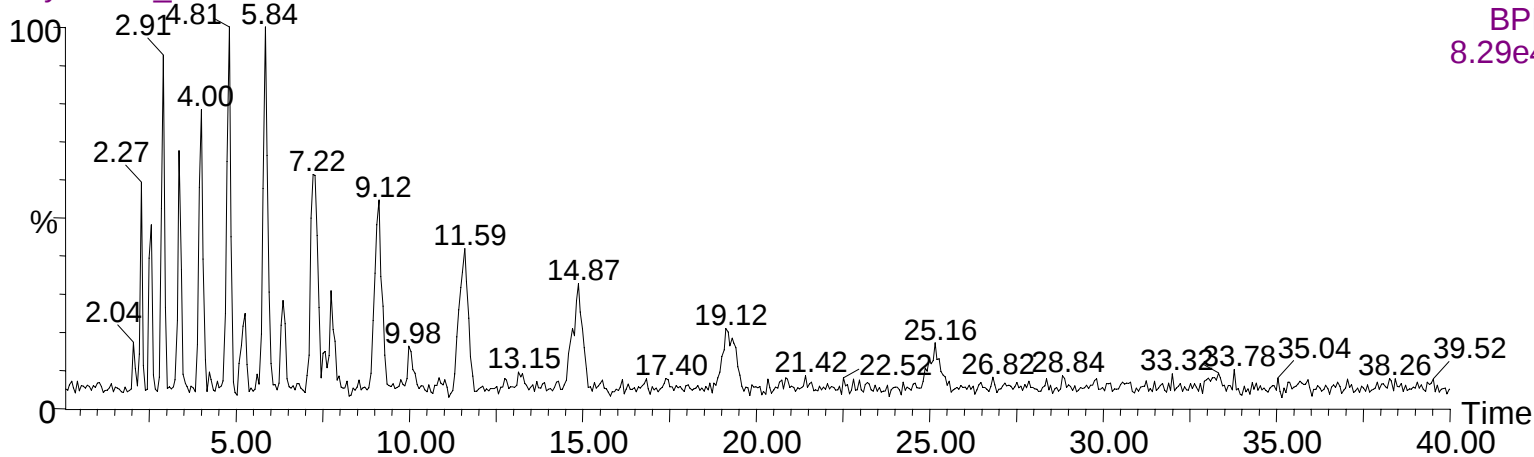
TaiyuanLC_MS5

2: Diode Array
254 1.00Da
1.71e6

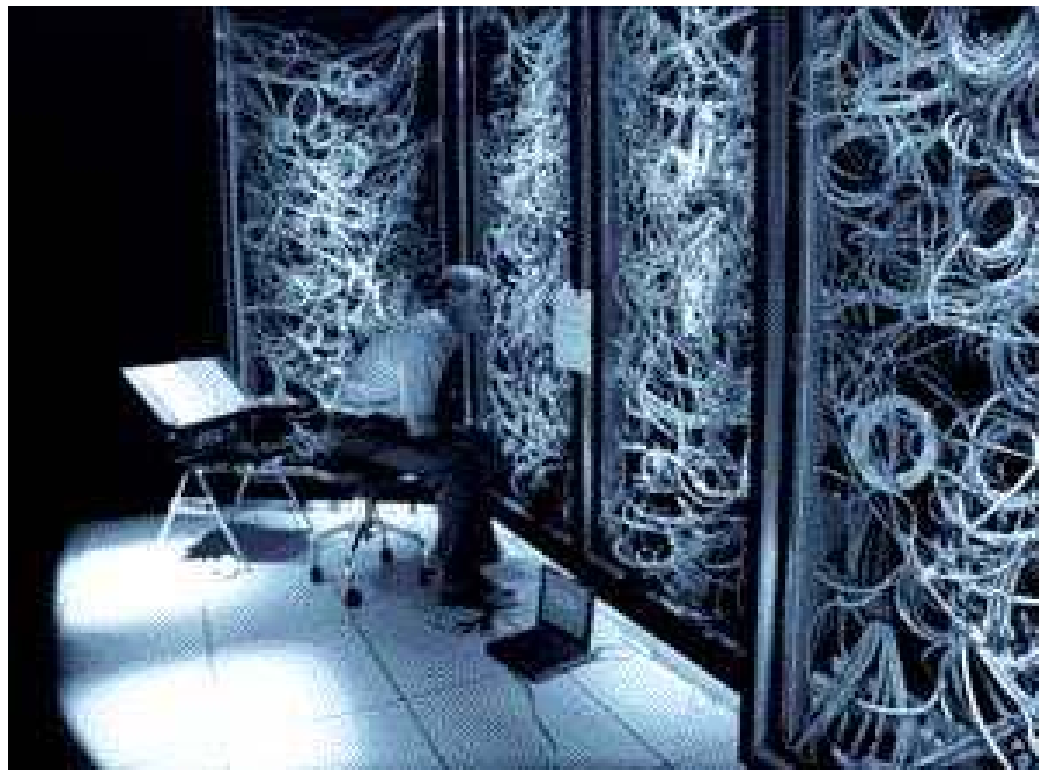


TaiyuanLC_MS5

1: Scan AP+
BPI
8.29e4



- 快速得到丰富的结果
 - 减少时间获得可靠信息
 - 减少过程获得可靠信息
 - 减少分析次数获得可靠信息



©2005 Waters Corporation

- 1910年 世界上第一台现代意义质谱仪在英国剑桥Cavendish实验室出现
- 1917年 电喷雾(Electrospray) 物理现象被发现 (并非为了 MS)
- 1918年 世界上第一台实际意义质谱仪在美国芝加哥大学实验室出现 (扇型磁场MS)
- 1943年 世界上第一台商业质谱仪
- 1953年 四极杆质量分析器质谱仪
- 1955年 飞行时间质量分析器质谱仪
- 1960's 开发GC/MS
- 60's-70's 大气压电离(APCI)源被发现(但并未被广泛应用)
- 70's-80's 开始广泛研究 LC/MS
- 1979年 传送带式 LC/MS 接口成为商业产品
- 1982年 离子束LC/MS接口出现
- 1984年 第一台电喷雾 MS仪宣告诞生
- 1988年 电喷雾离子源 MS 首次应用于蛋白质的分析
-

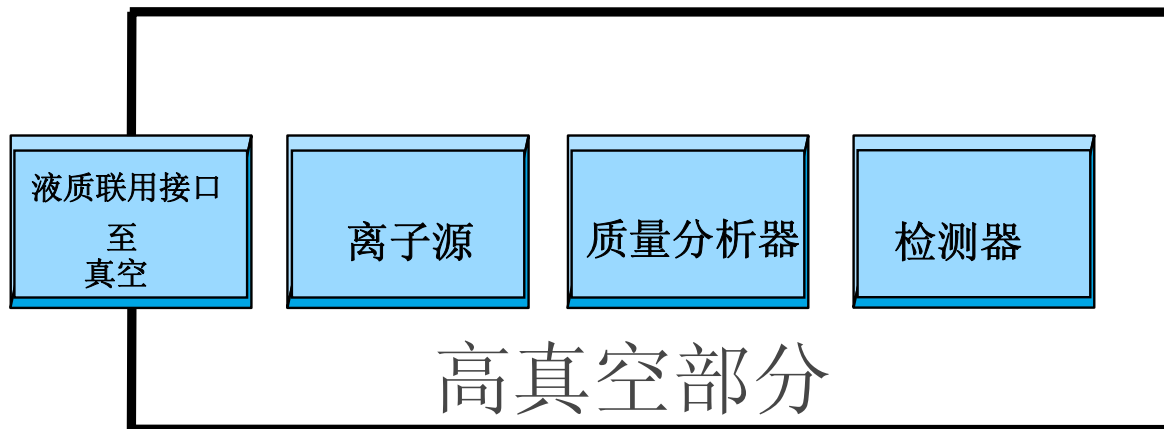
- John Dalton (1766-1844) who gave his name to the unit of mass (Da) lived and worked the city for most of his life.
- J.J. Thompson one of the fathers of MS was born in Manchester in 1856.
- The Metropolitan Vickers Electrical Company produced the first MS instruments in the city in the 1940's.
- Today there are ~20 MS enterprises in Manchester... ..Waters Micromass is the largest & most successful



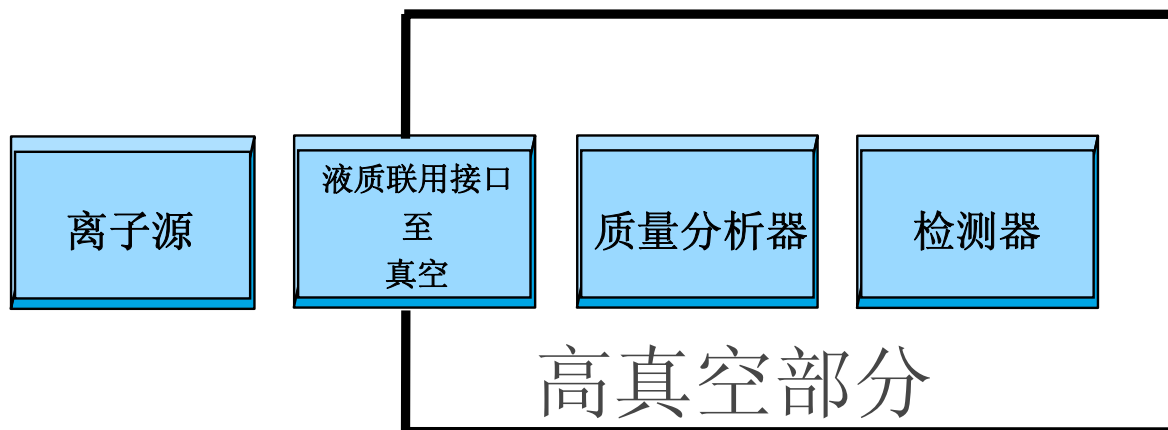


LC/MS 系统构成

EI 电离源
样品引入

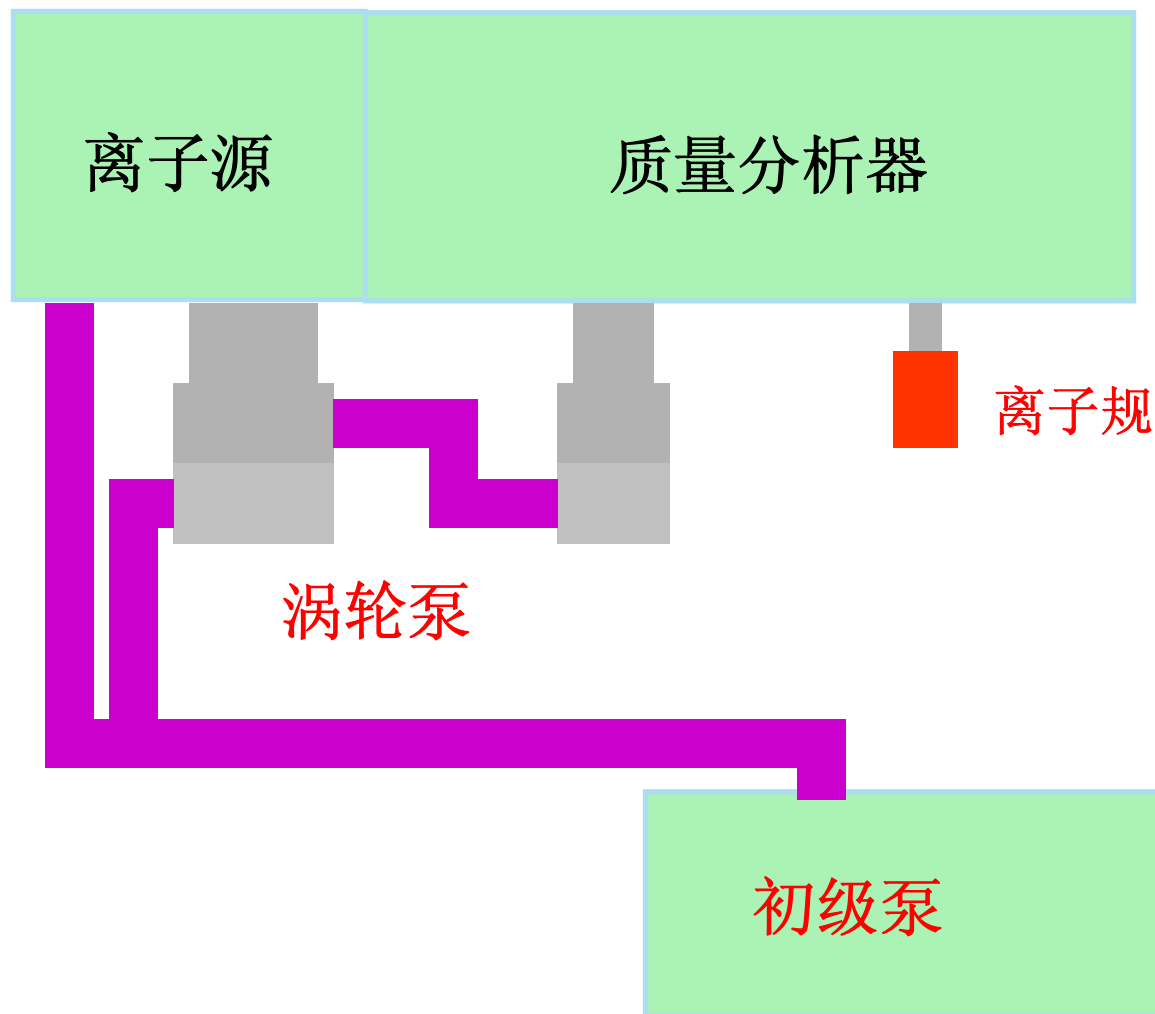


API 电离源
样品引入

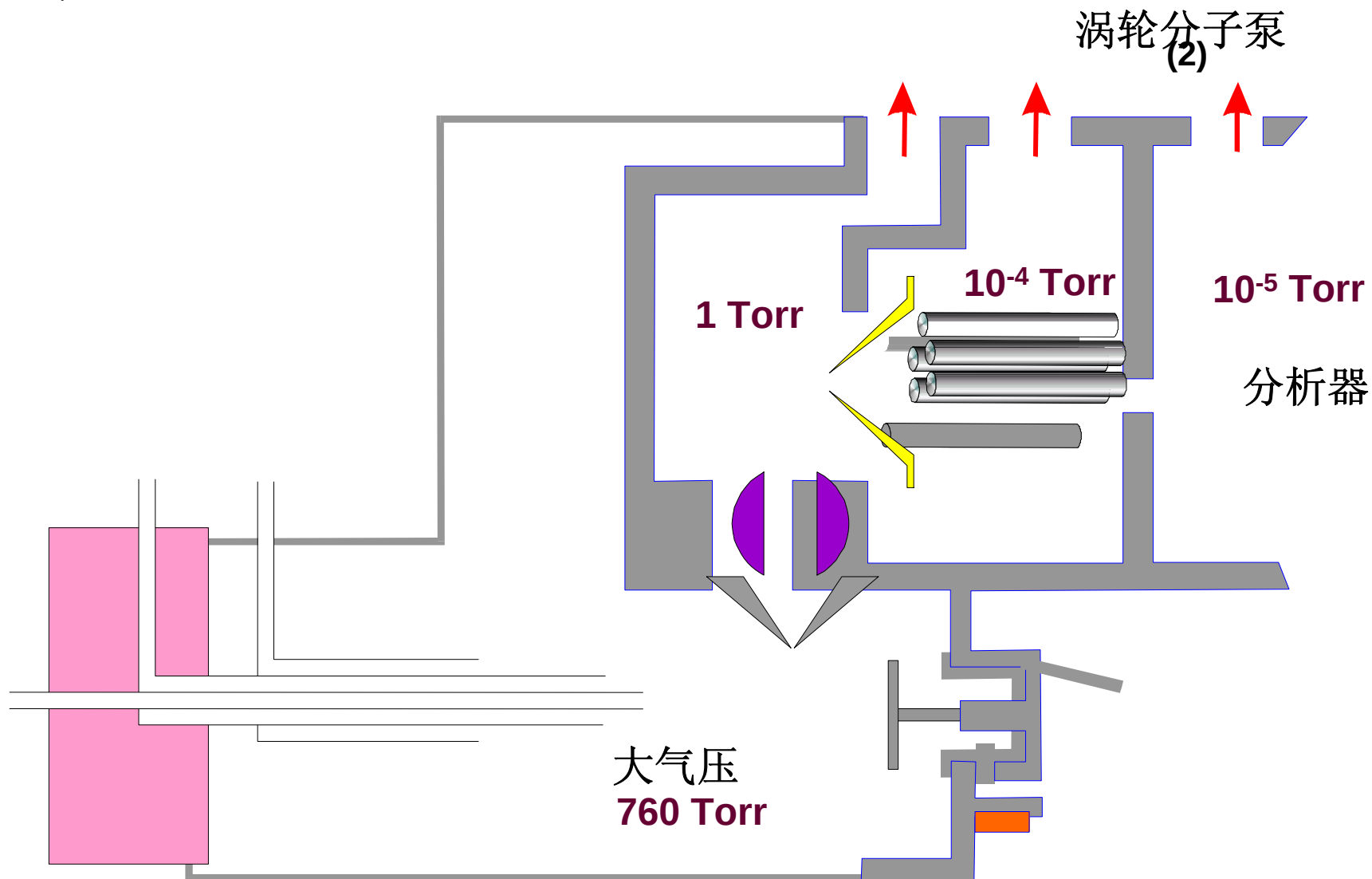


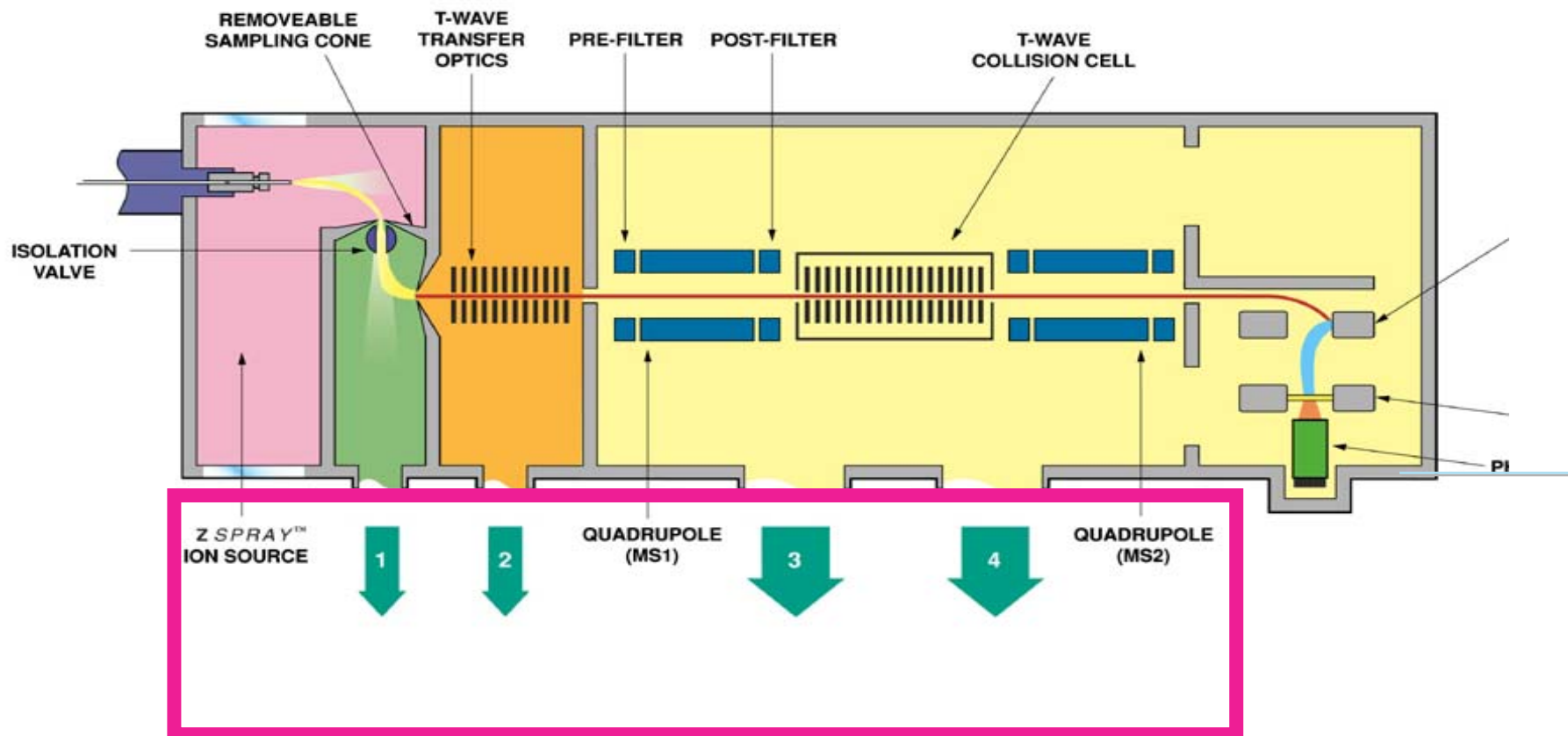
质谱仪之所以在低压下工作是为了 ...

- 尽量减少离子-分子之间的碰撞（即, 得到最大平均自由程）
 - 碰撞可能导致离子偏离所期望的由离子源到检测器的通道
 - 碰撞可能导致产生意外的离子或反应
- 防止在高电压（用于某些离子聚焦）下生成电弧
- 减少污染/化学噪音

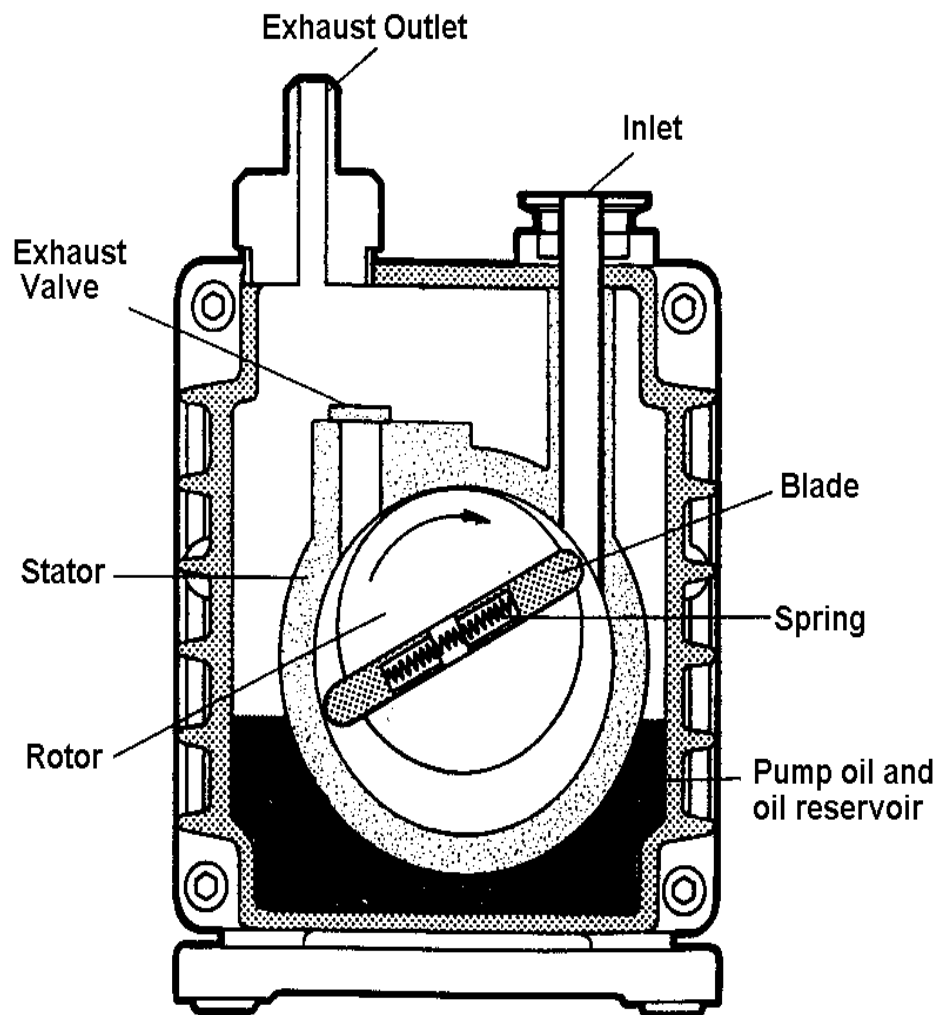


真空系统

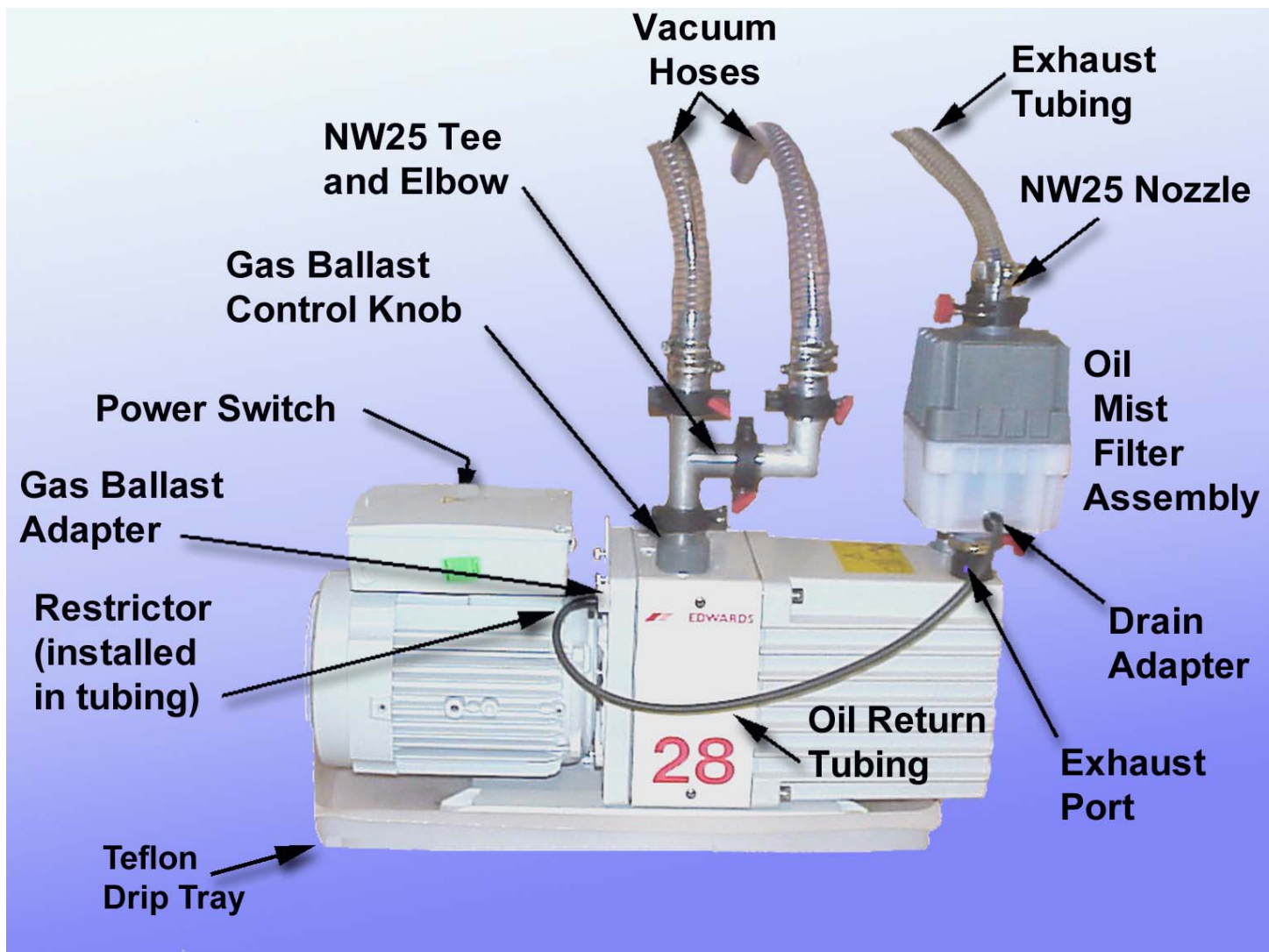


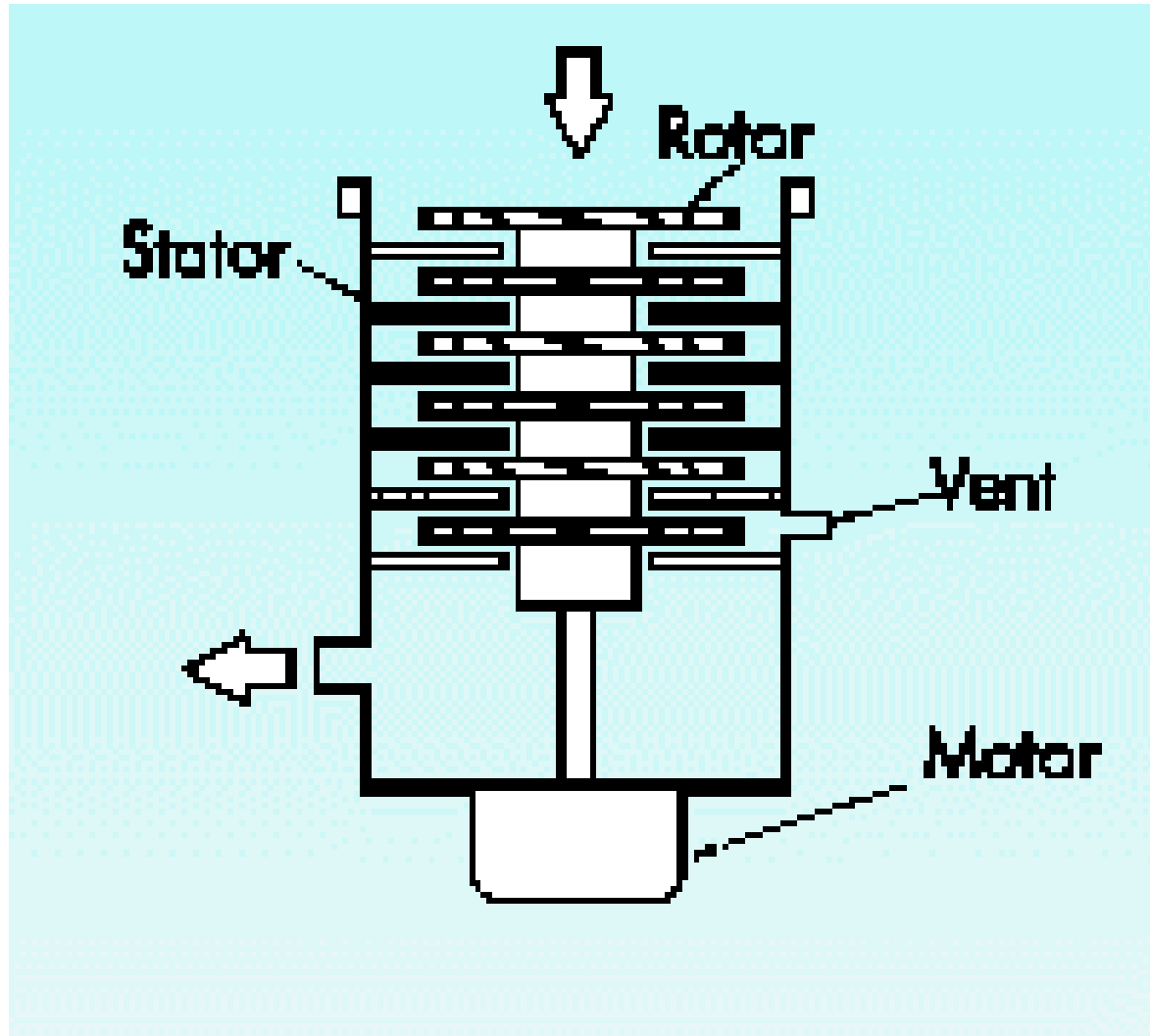


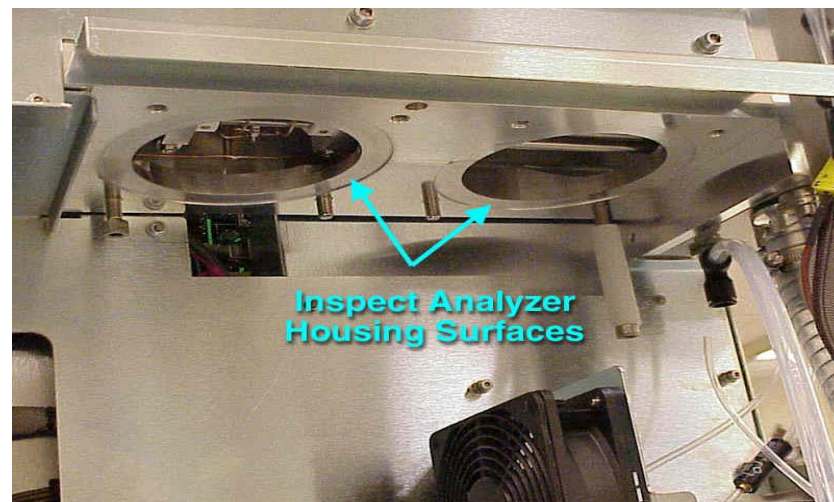
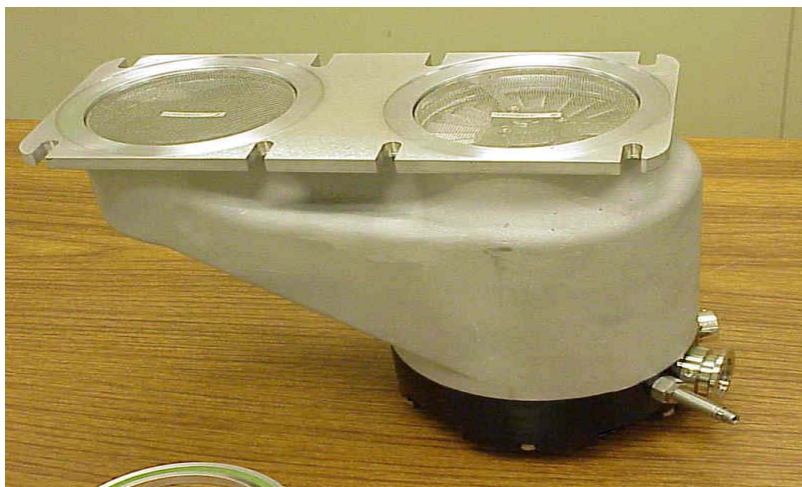
前级泵原理示意图



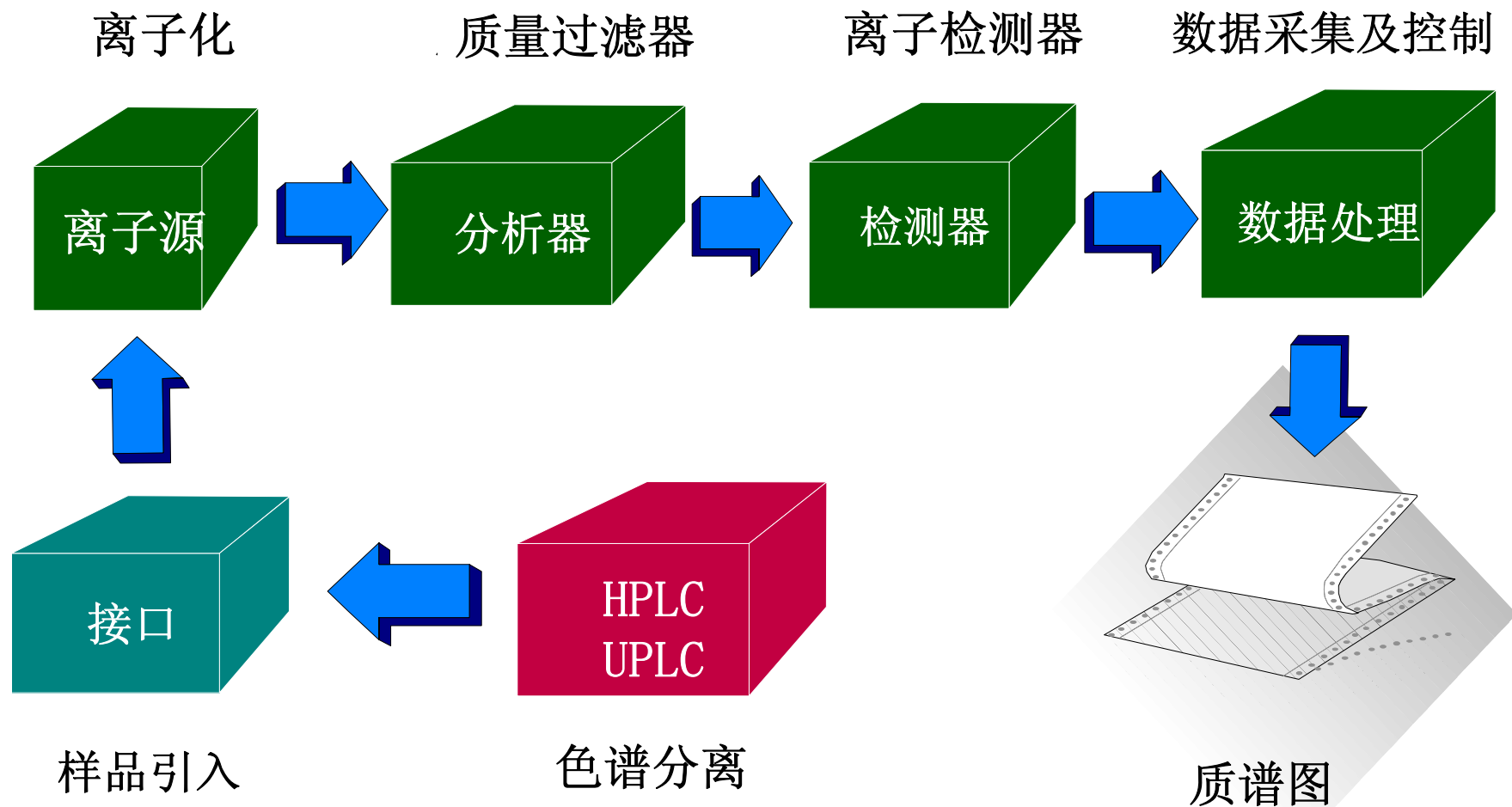
初级泵外观







液质联用的接口技术



- **LC/MS 接口必须使流动的液流达到 MS 可接受的压力 (10^{-5} - 10^{-6} torr) 同时以极小的谱带展宽尽可能多地输送样品到MS**

进样方式比较

对真空泵的要求 * (liters/sec)

毛细管 GC, 1mL/min (气体)	~400
微柱 LC, 10 μ L/min	~5,000
填充柱 LC, 1 mL/min	~50,000

*为了保持 3×10^{-6} torr (4×10^{-6} mbar)的真空

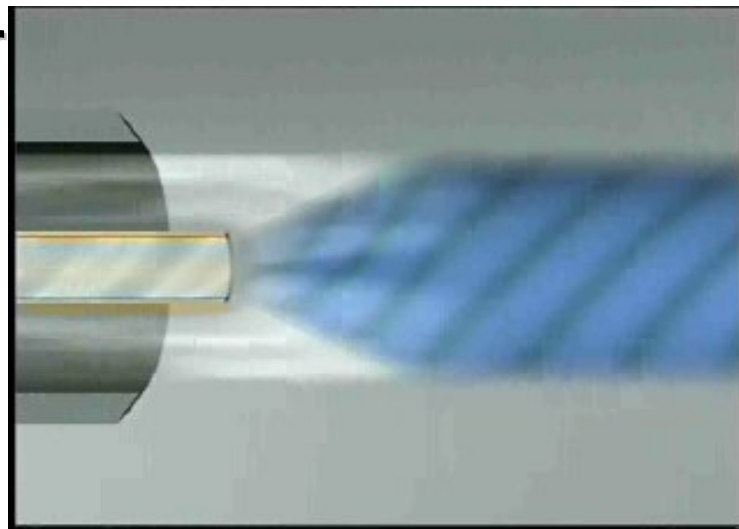
- **液相色谱的现实情况:** 从高效液相色谱流出的化合物存在于大气压条件下的溶液之中
- **质谱的现实情况:** 在高真空工作条件下的质谱仪接受气相的离子
- 因此液质联用的**接口**必须完成:

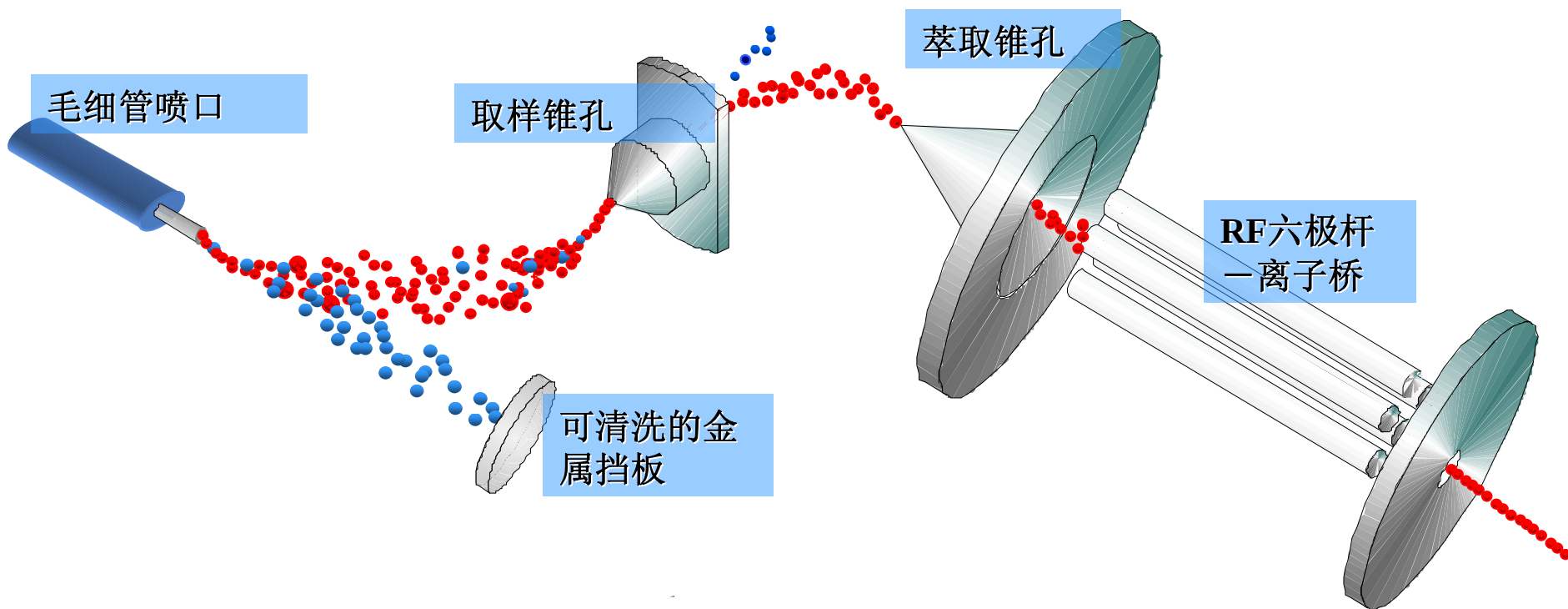
物态转变: 液态 - 气态

带电状态: “中性” - 离子

真空变化: **760 torr - 10^{-5} to 10^{-8} torr**

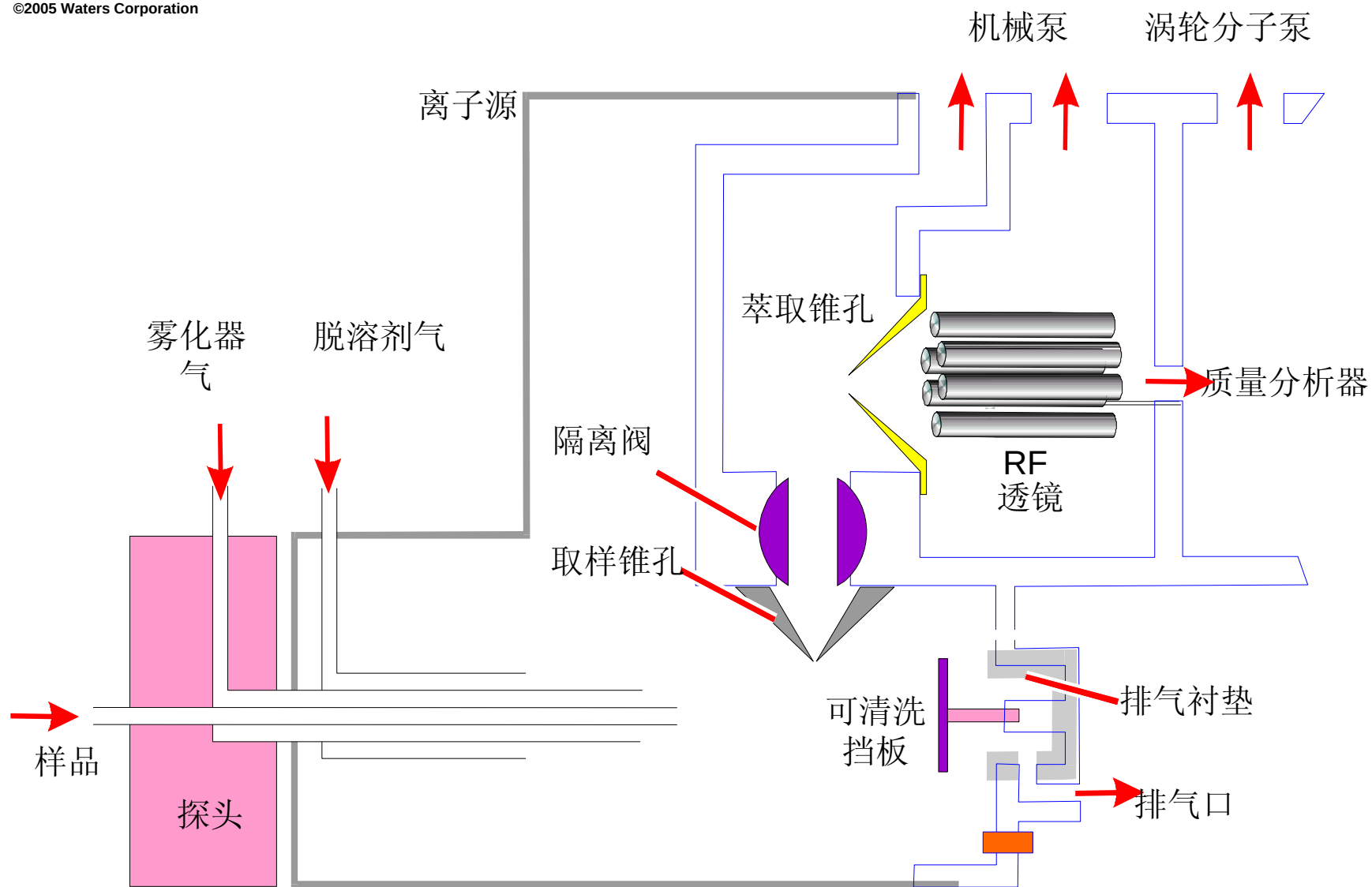
雾化, 去溶剂和电离同时完成

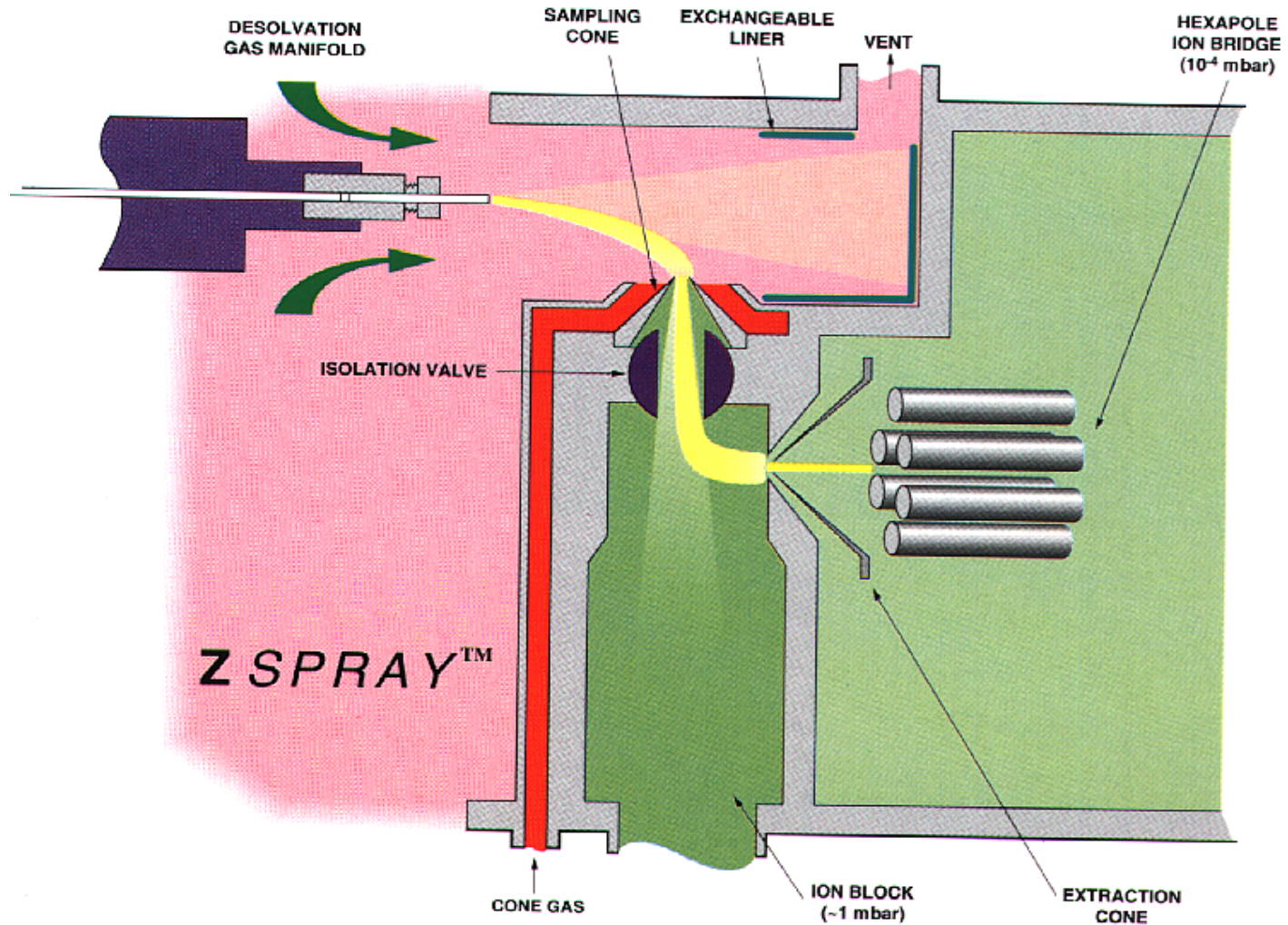


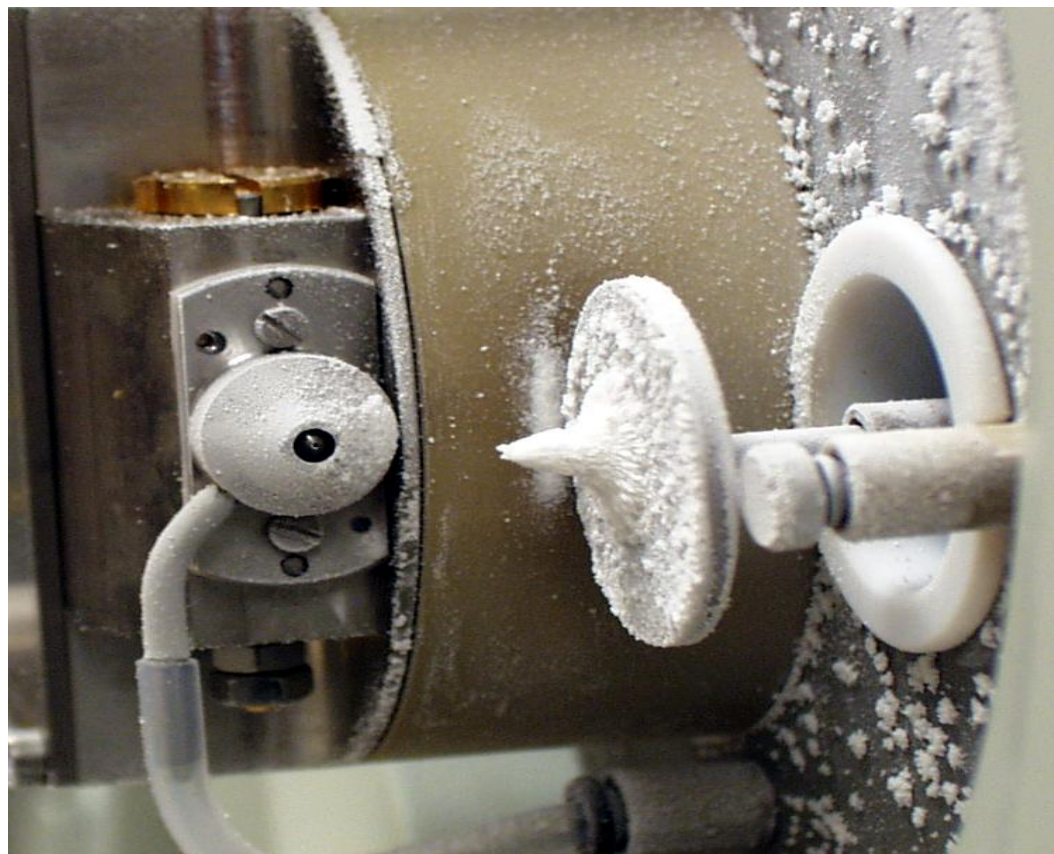
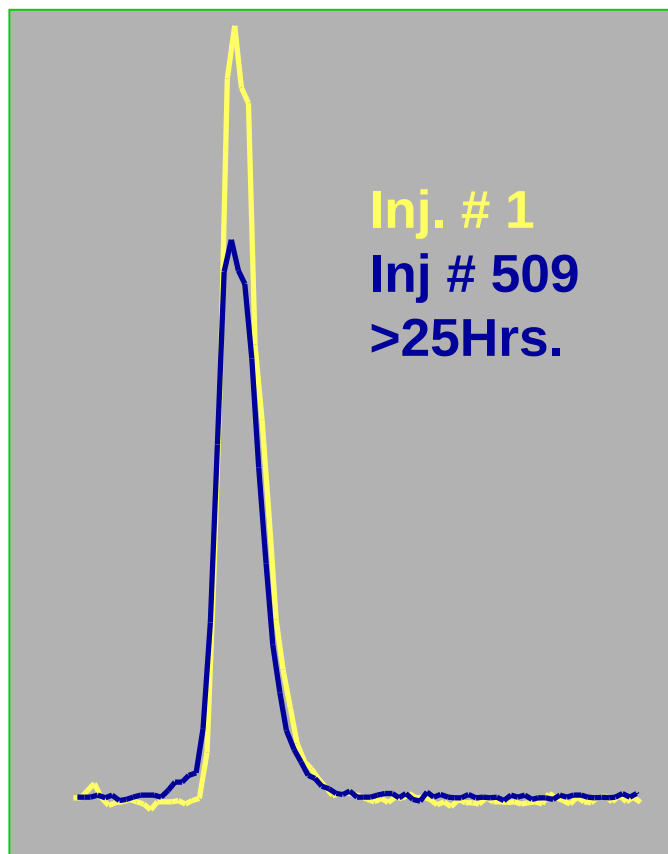


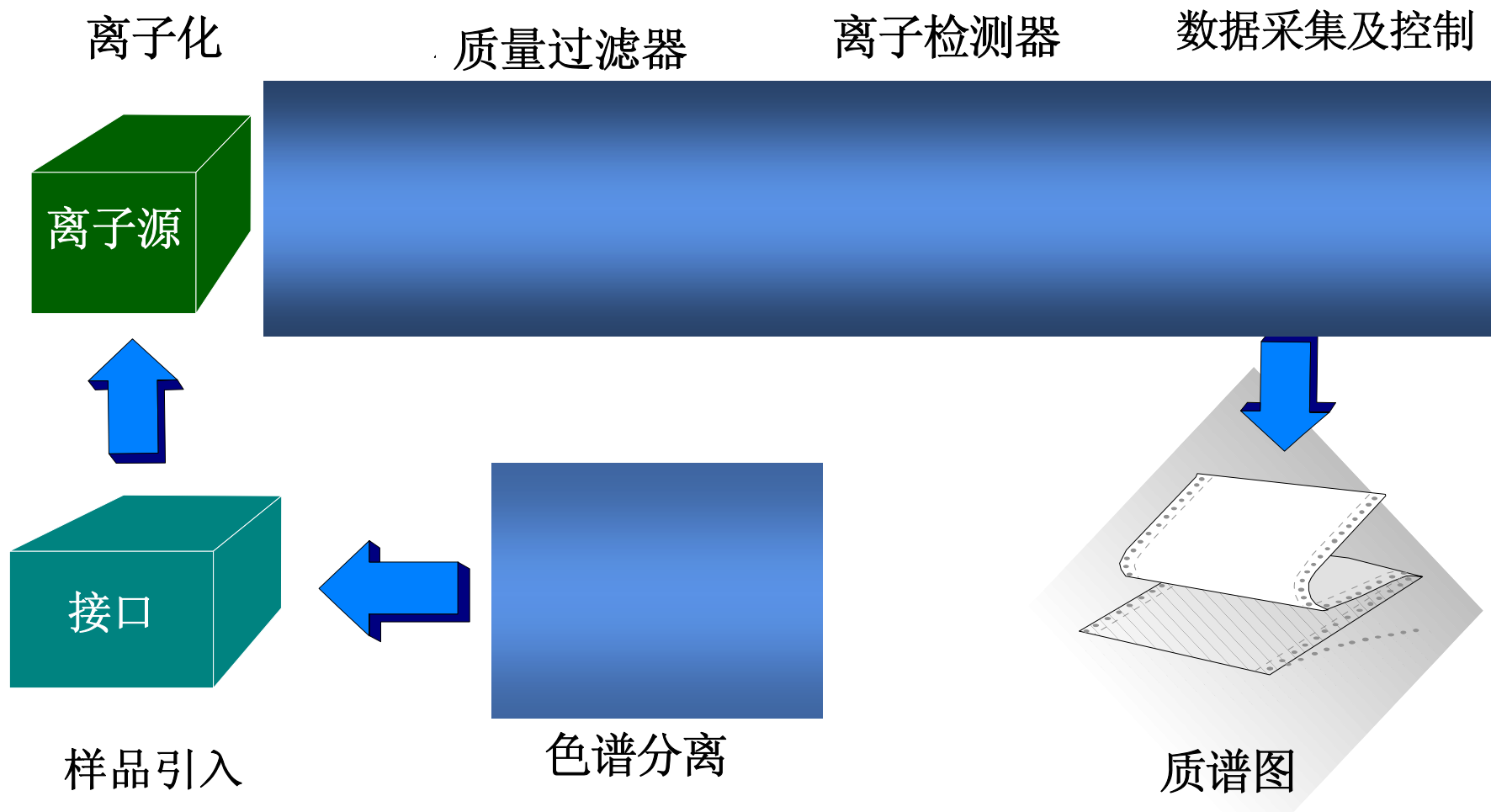
双正交采样技术可避免污染及提高灵敏度

ESI 接口









GC

LC

CE

Flow Inj

Probe

PB/EI

ESI

APCI

TSP

FAB

MALDI

Quadrupole

Magnetic Sector

Time of Flight

Ion Trap

FT-MS

Turbo Mechanical

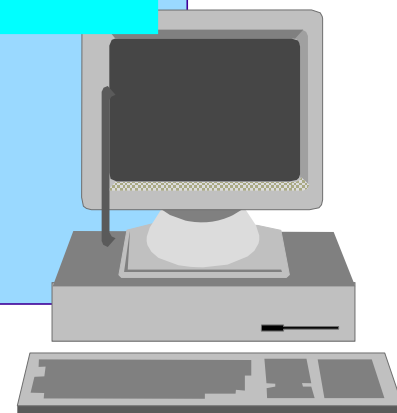
Electron Multiplier

Photomultiplier

Microchannel Plate

- 样品的引入模式
- 溶剂的去除或抽真空方式
- 质子化模式

- 离子分离模式
- 质量分析器
- 离子检测
- 数据的采集及处理



Sample Description

SALICYLAMIDE 1 (0.067) Cn (Cen,2, 80.00, Ar)

Scan ES+
1.19e8

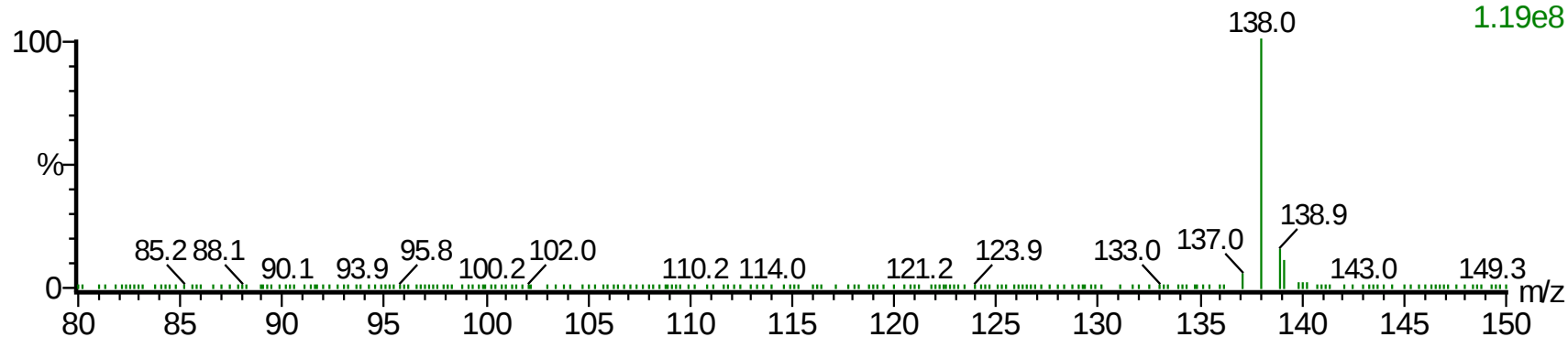
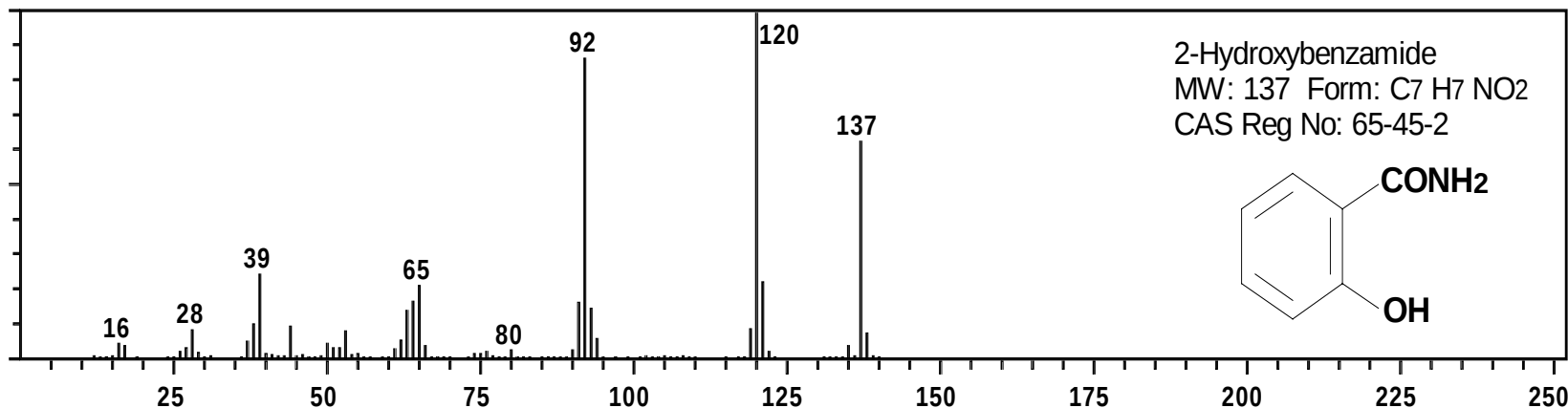
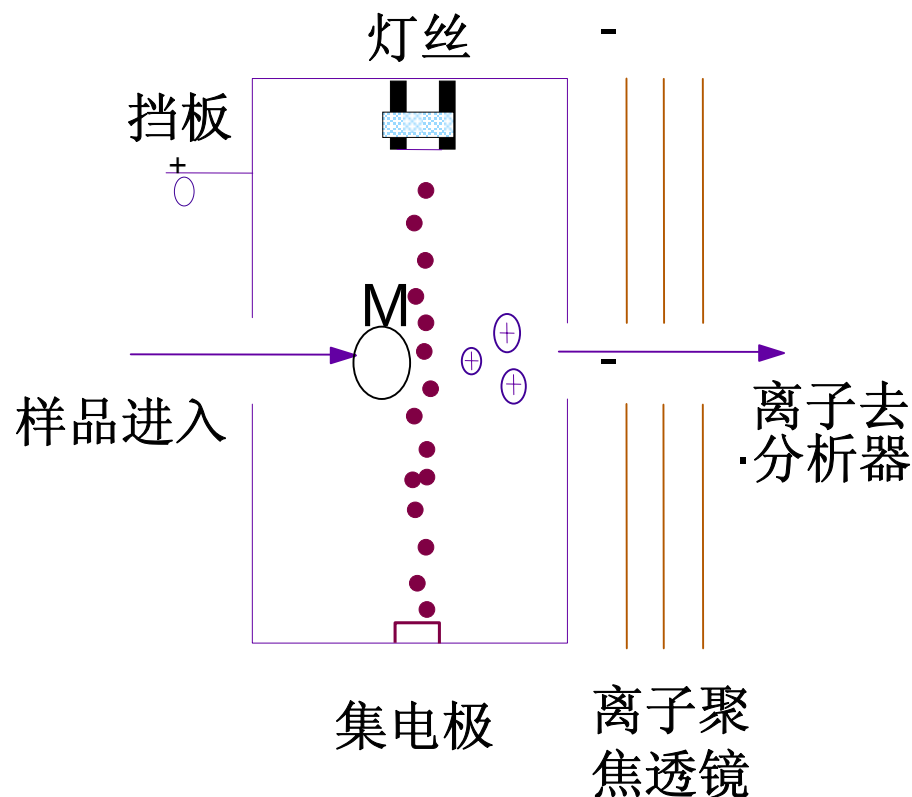


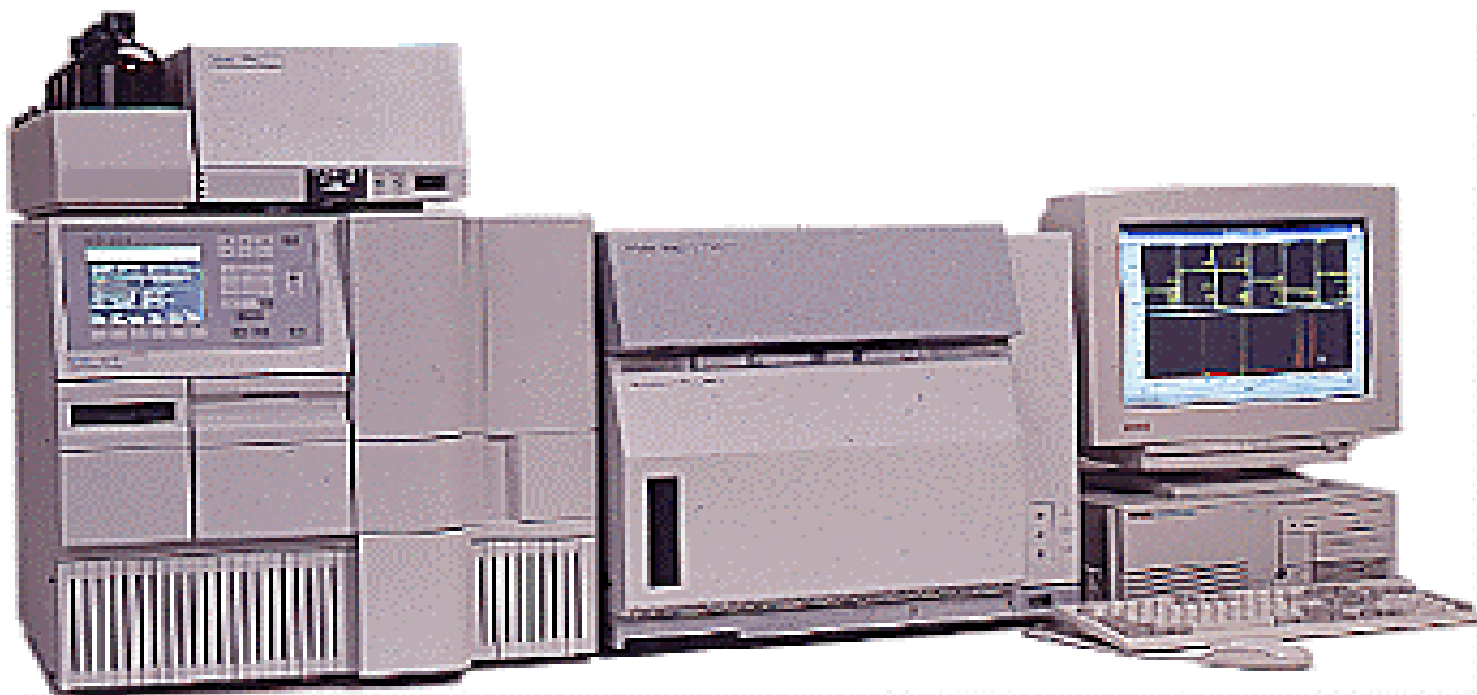
Figure 1. Wiley Library Reference Spectrum of Salicylamide



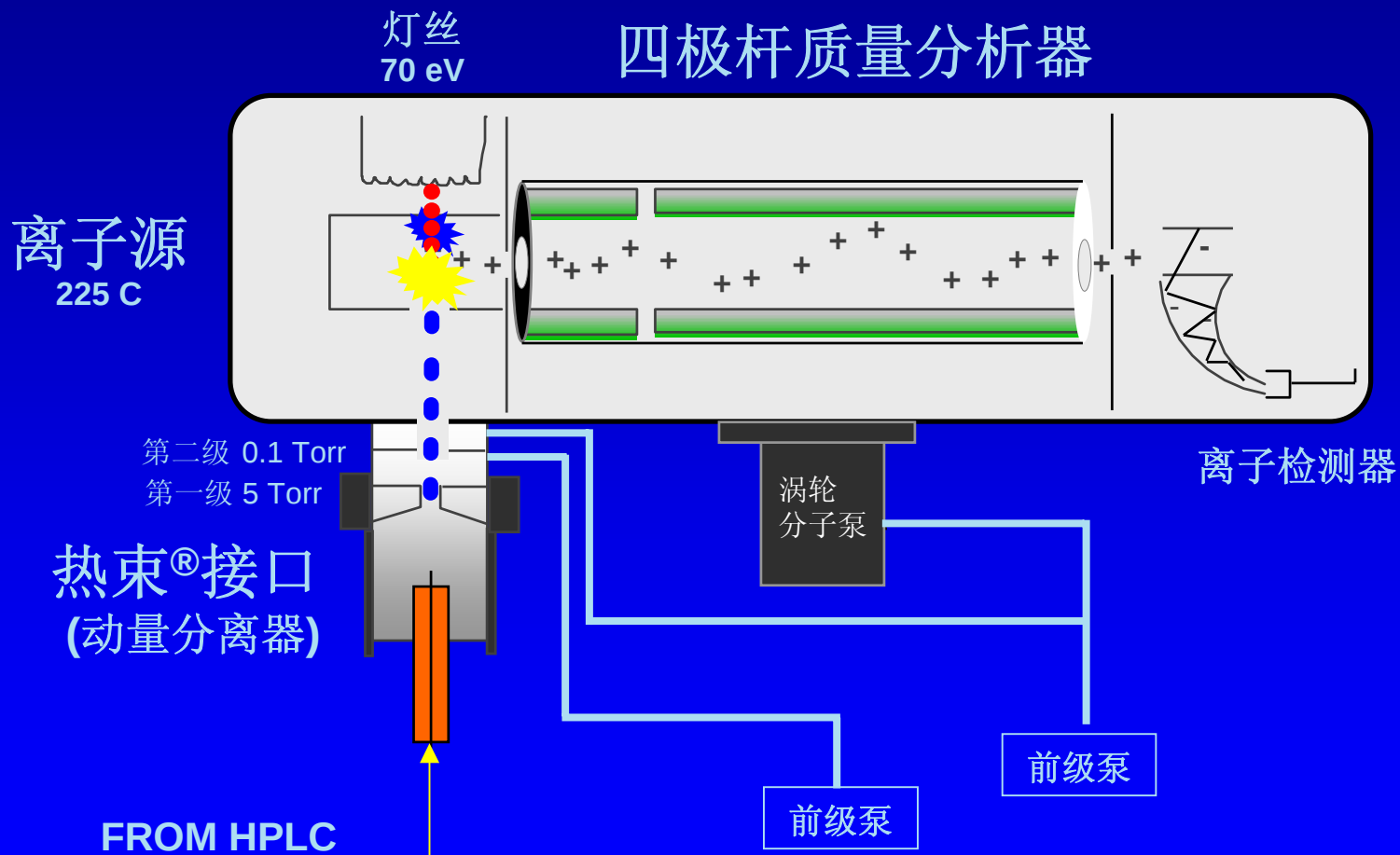


- **EI源：电子轰击电离源**
- 可得经典的质谱谱图
- 可查询质谱库，质谱结果可用工业标准谱库检索，是绝对的化合物鉴定
- 相对易得，耐受性好
- 谱图可解析，阐明结构信息
- 但是，电离效率较差，测定的分子量范围、流速范围有限；可测的化合物类型有限

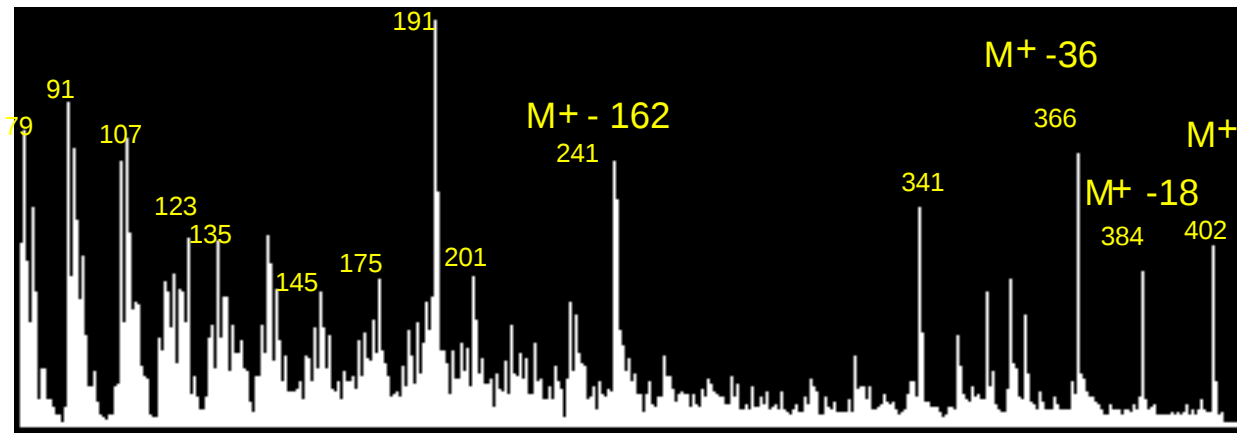
Waters Integrity 系统



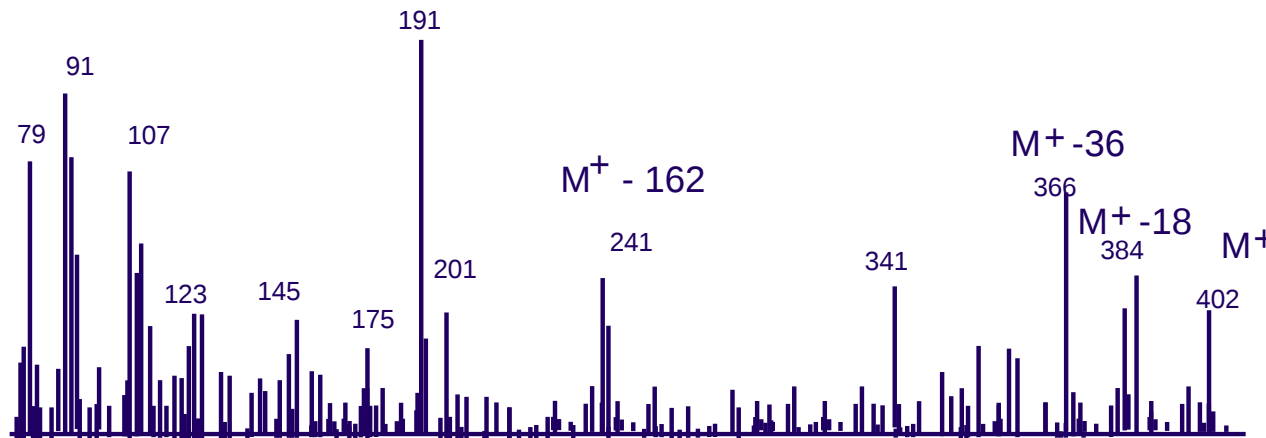
电子轰击电离源 (EI)



EI 谱库：几十年积累的宝贵财富

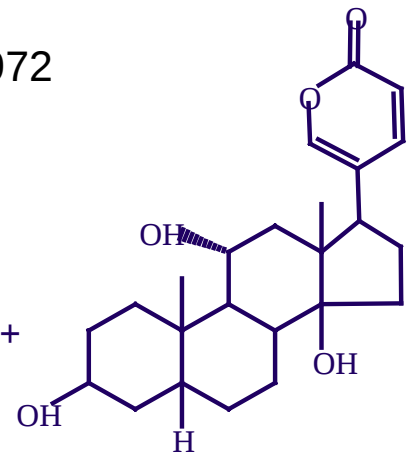


High Res Mass Spec, Brown, Kamano, Pettit, Org. Mass Spec., 1972



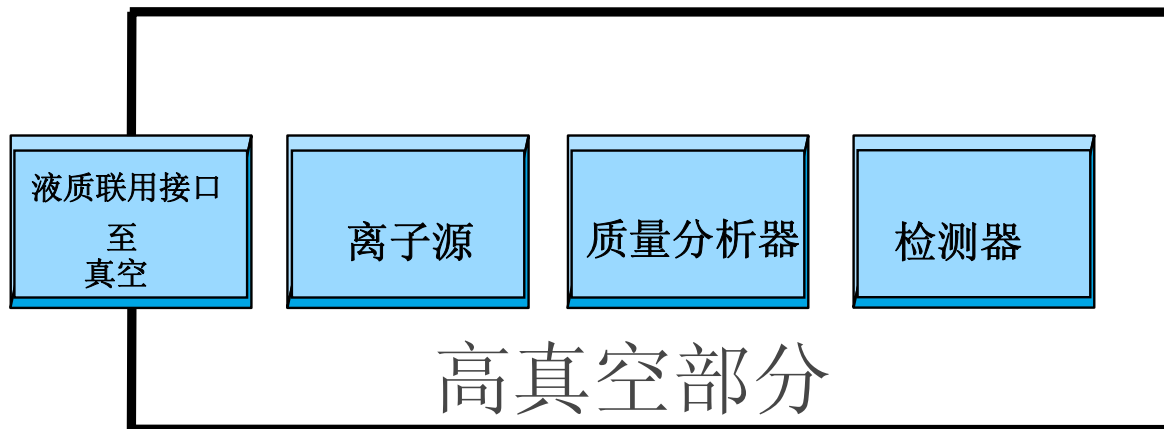
Waters Integrity LC/MS System, Pfizer, 1996

Gamabufotalin
(III)

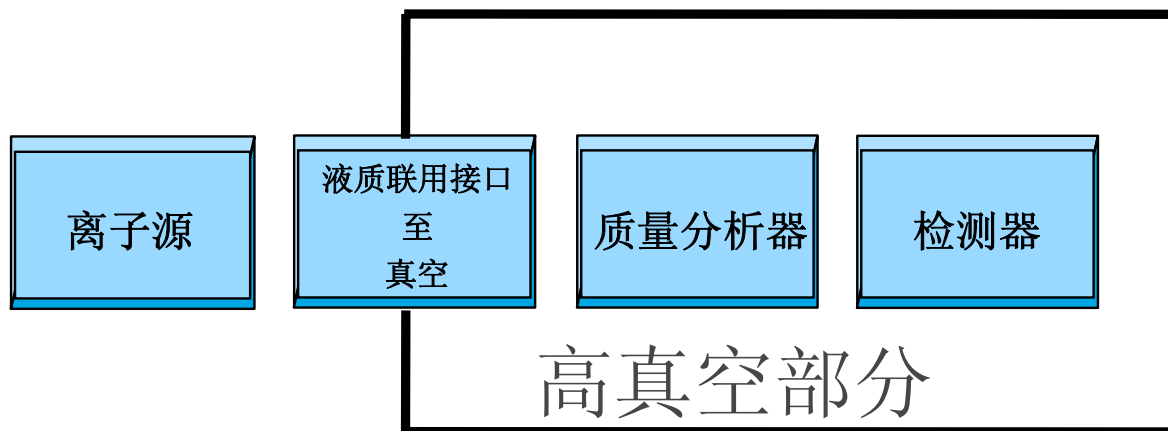


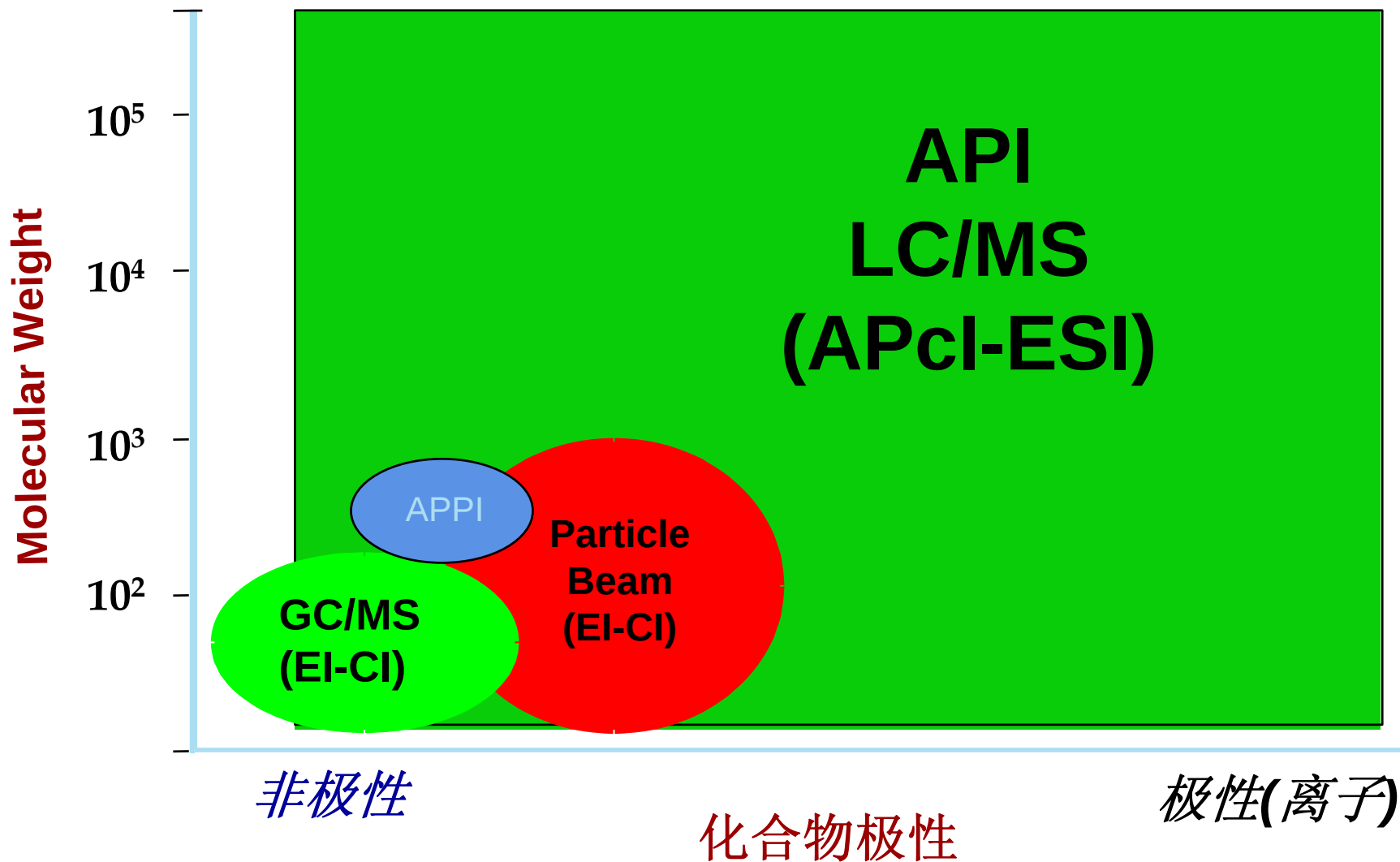
API与传统电离技术的区别

EI 电离源
样品引入

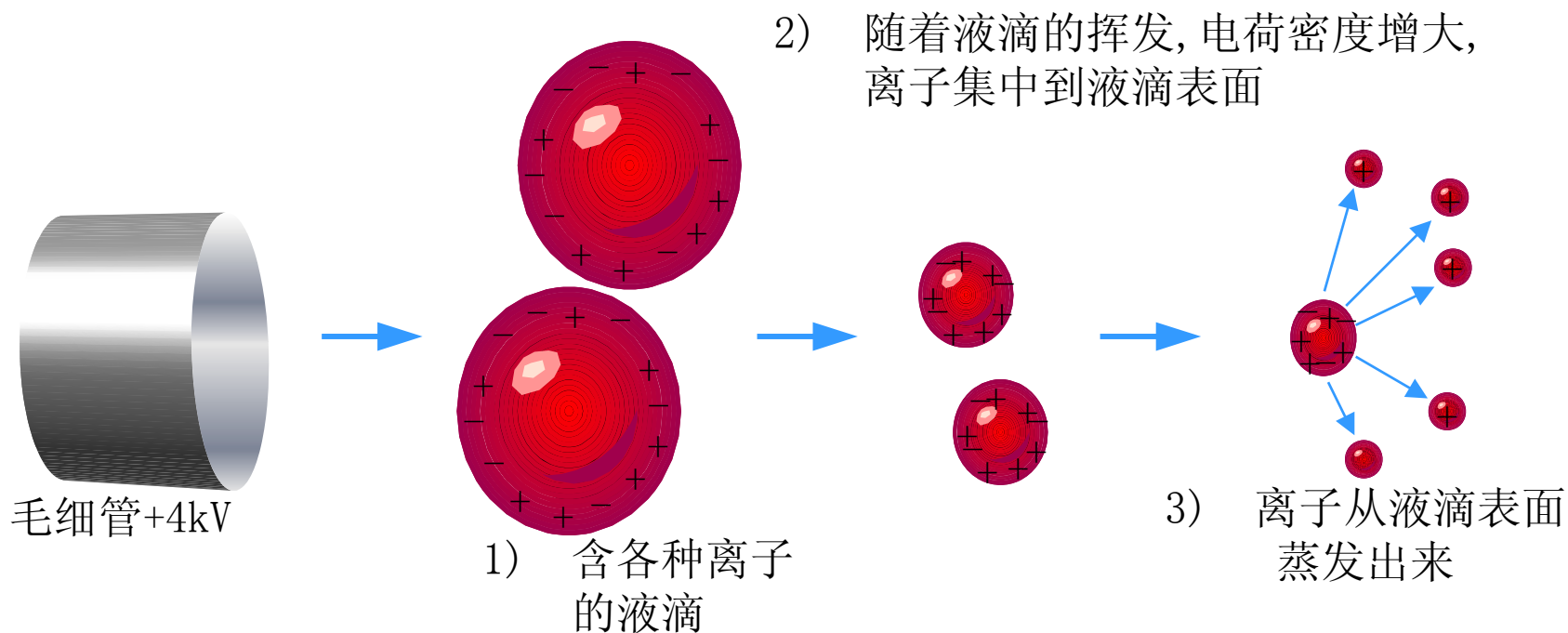


API 电离源
样品引入



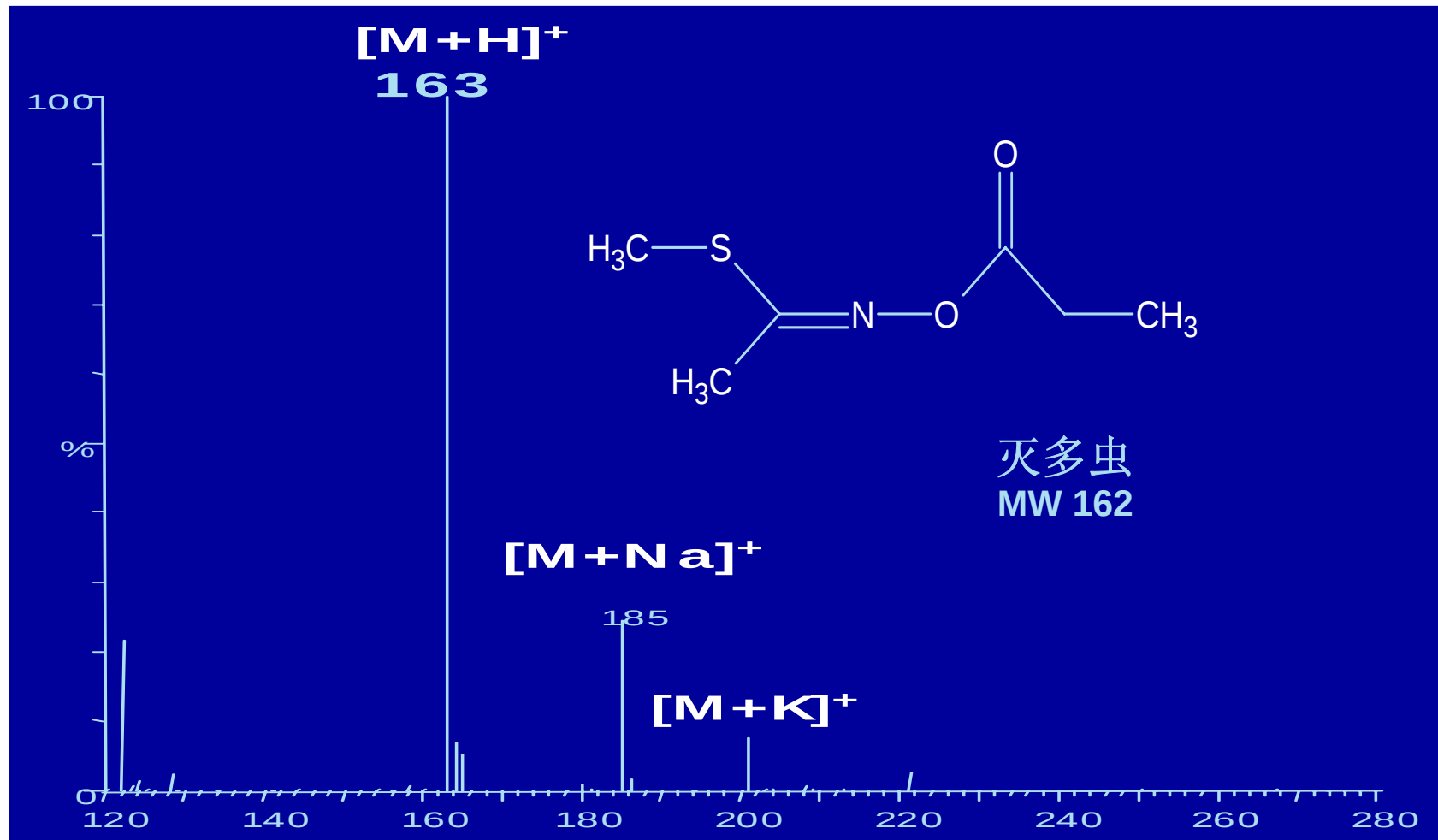


- ❖ 电喷雾电离(**Electrospray Ionization - [ESI](#)**)
- ❖ 大气压化学电离
(**Atmospheric Pressure Chemical Ionization - [APCI](#)**)



ESI+ 电离模式

产生 $[M+H]^+$ 准分子离子峰



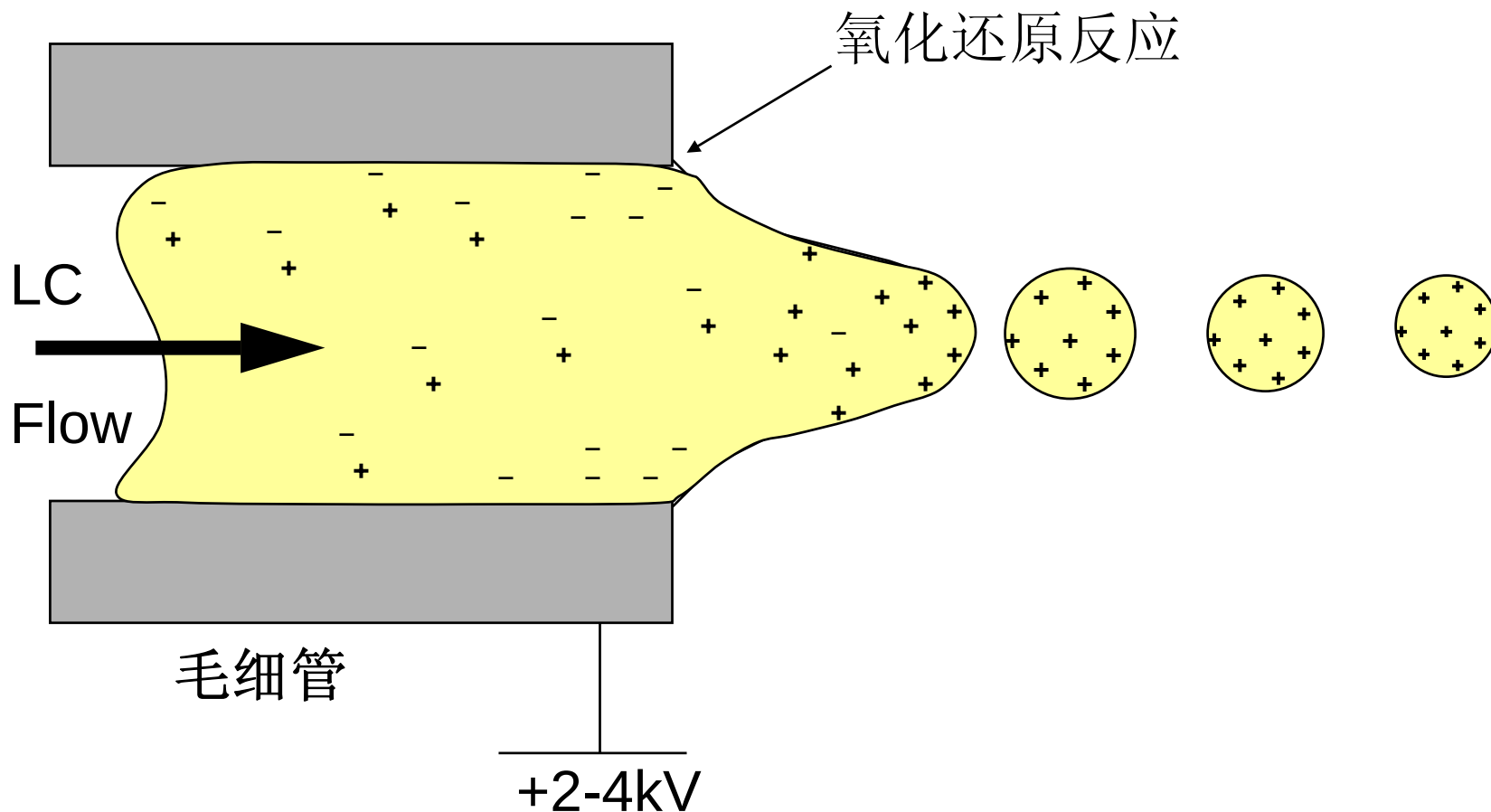
❖ 电喷雾离子化可分为三个过程:

❖ 形成带电小液滴

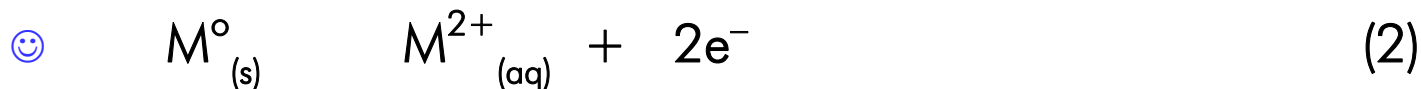
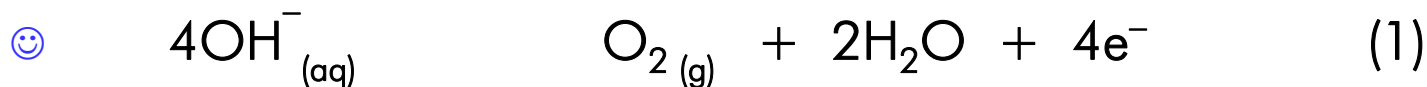
❖ 溶剂蒸发和小液滴碎裂

❖ 最终形成气相离子

1.电喷雾离子化：形成带电液滴



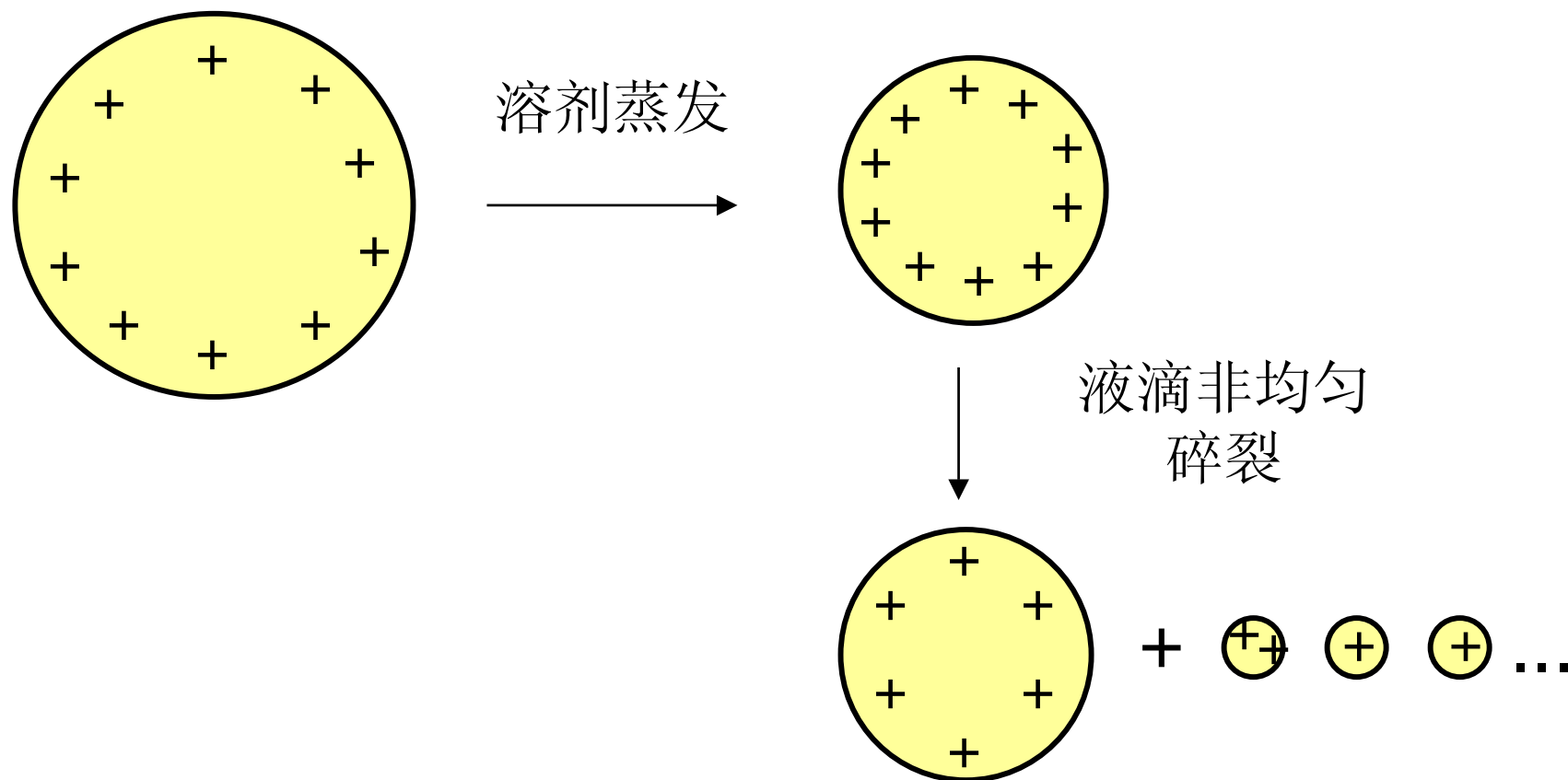
- 在ESI高压电极处施以正的高电压, 小液滴从毛细管高速喷出而带有过量的正电荷. 从而产生电化学反应: 通过溶剂组分氧化而去掉负离子 (反应 1) 或通过毛细管自身的氧化而增加正离子 (反应 2).



- 同样, 当在ESI高压电极处施以负的高电压, 小液滴从毛细管高速喷出而带有过量的负电荷

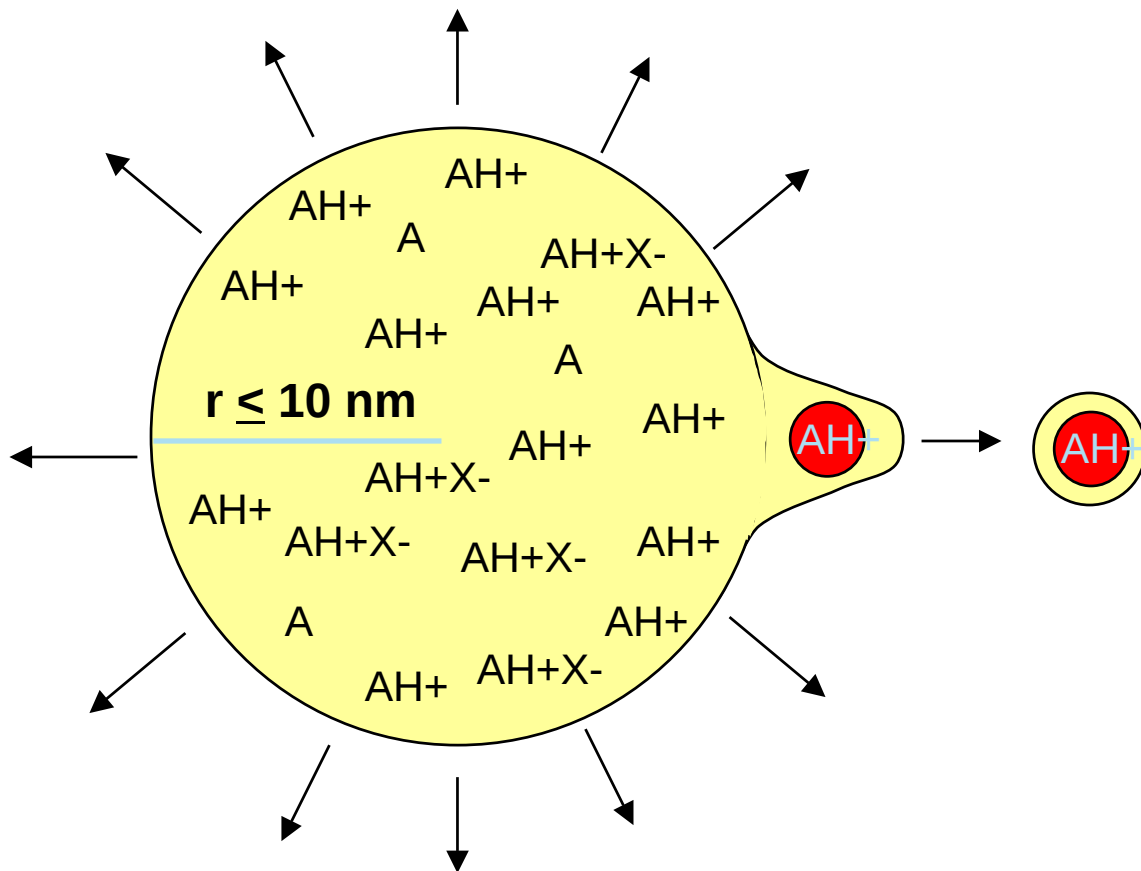
Waters 2. 电喷雾离子化: 溶剂蒸发和小液滴碎裂

©2005 Waters Corporation



3、电喷雾离子化：形成气相离子 离子蒸发模式

©2005 Waters Corporation

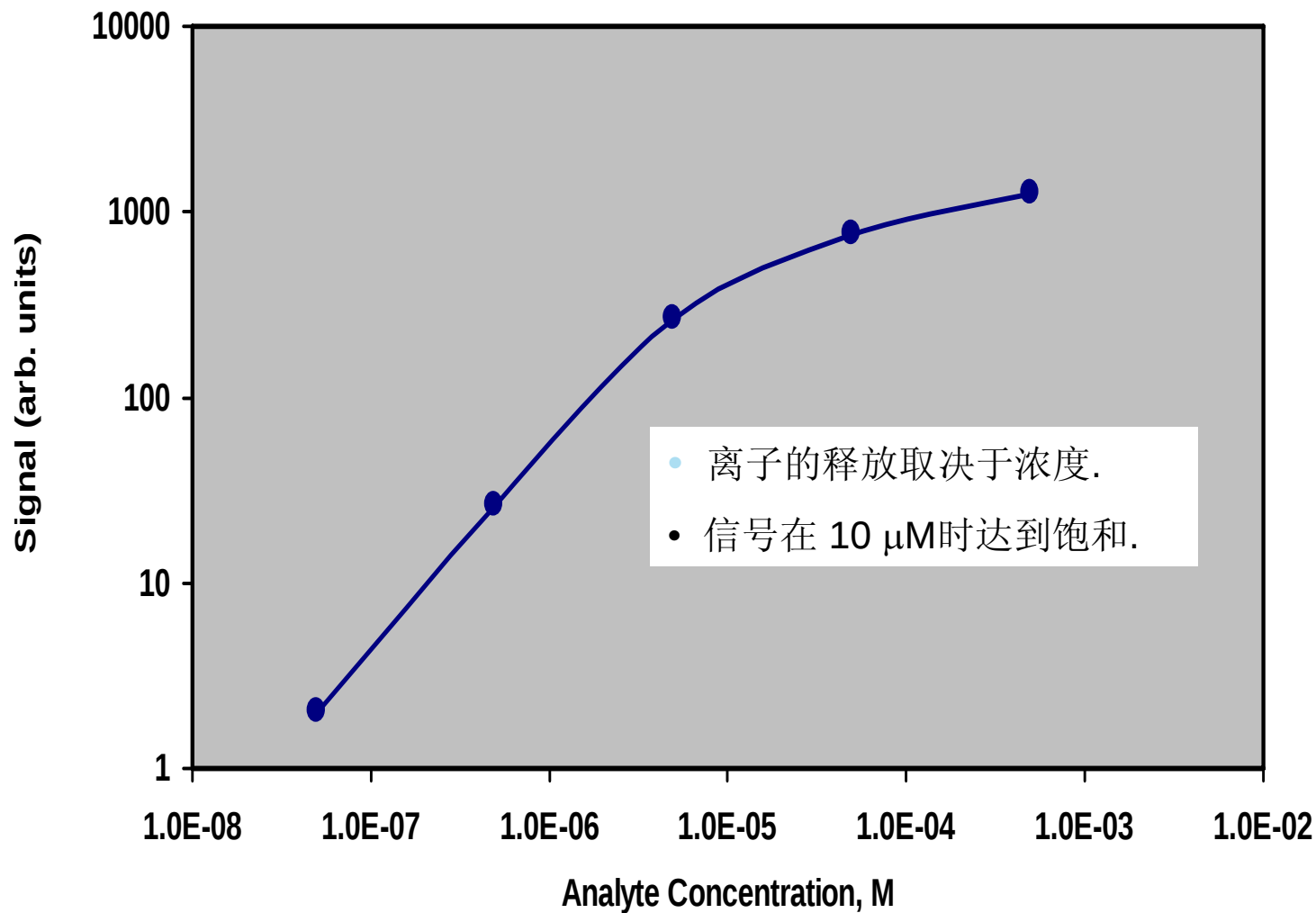


对于半径 $\leq 10\text{nm}$ 的液滴, 电荷的排斥作用导致离子从液滴表面蒸发而不是液滴的分裂.

离子从溶液中转移至气相

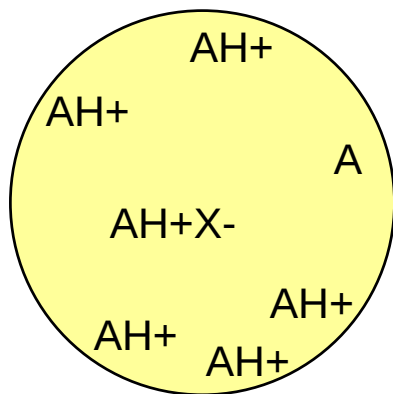
影响化合物ESI电离的几个因素

- A. 化合物的浓度
- B. 基质的性质
- C. pH值的影响
- D. 化合物的表面活性
- E. 流速
- F. 多电荷离子

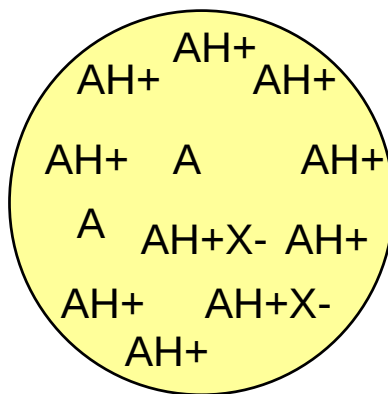


- 信号的饱和归因于离子在液滴表面过于密集,致使某些样品离子不能到达液滴表面.

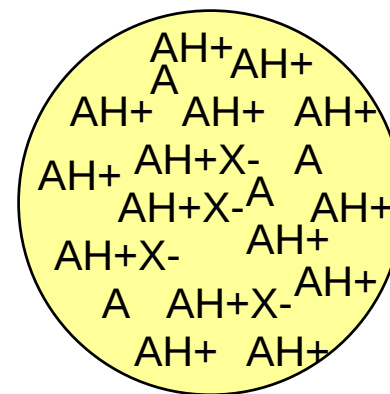
未饱和



刚好饱和



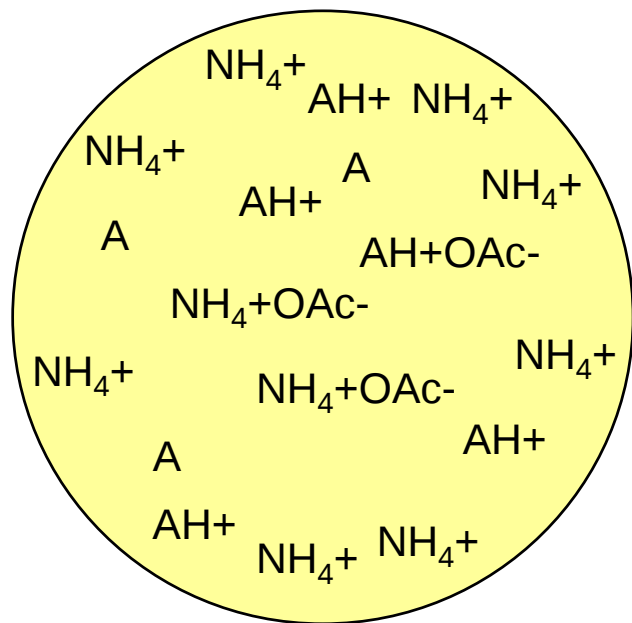
过饱和



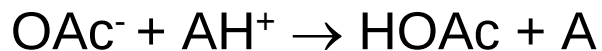
液滴中样品浓度增长的示意图

- 一般而言,样品信号强度响应随着其它电解质浓度的增高而降低
- 这一现象叫作‘离子抑制’
- 样品离子和电解质离子对电荷及占据液滴表面的竞争导致离子抑制

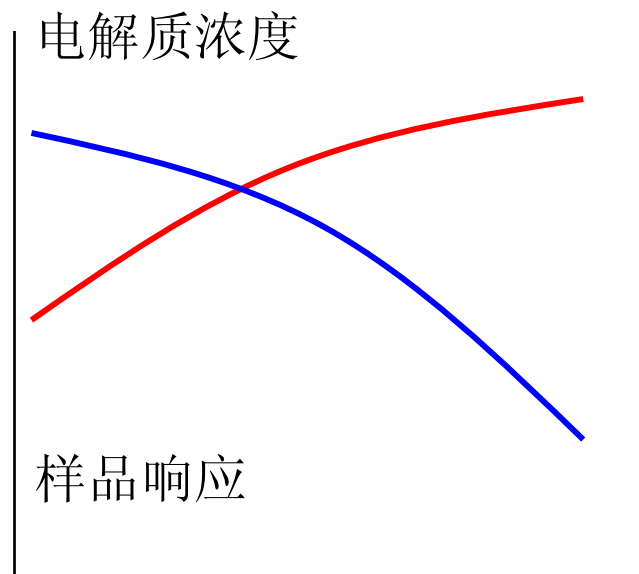
1. 表面竞争



2. 电荷竞争



样品离子与电解质离子竞相转化为气相离子的竞争使样品响应降低。



- 一般而言，对于正离子检测模式，样品必须比基质更具碱性，以便形成 $(M+H)^+$ 或足够的极性去形成稳定的加和离子，例 $(M+NH_4)^+$.
- 对于负离子检测模式，样品必须比基质更具酸性，以便形成 $(M-H)^-$ 或足够的极性去形成稳定的加和离子，例如 $(M+OAc)^-$.
- pH值绝对是影响电离强度的重要因素

样品表面活性的影响

实验测定的相对灵敏度相关指数 K

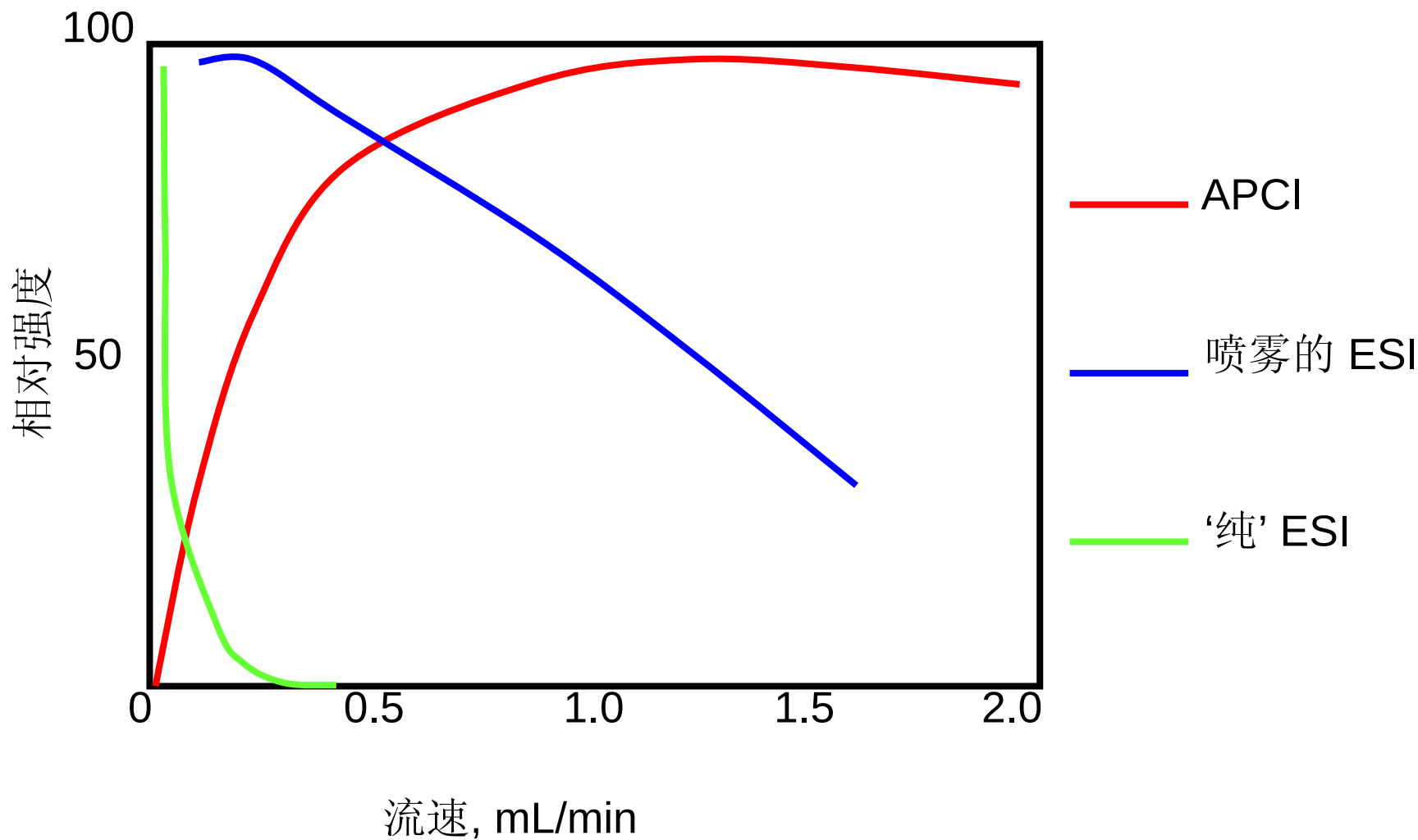
Ion^b	k^a	Ion	k
Cs^+	1	CocH^+	10
Li^+	1.6	$\text{Ni}^{2+}(\text{Tpy})_2$	5
Na^+	1.6	Bu_4N^+	2
K^+	1.0	Et_4N^+	5
NH_4^+	1.3	Pr_4N^+	8
MorH^+	3	Pen_4N^+	14
CodH^+	5	C_7NH_3^+	10
HerH^+	6	$\text{C}_{11}\text{NH}_3^+$	10

^a All coefficients relative to $k_{\text{Cs}^+} = 1$. These coefficients are valid only at concentrations above 10^{-5} M.

^B Abbreviations used: Mor, morphine; Cod, codeine; Her, heroin; Coc, cocaine; Tpy, trypyridyl; Bu, *n*-butyl; Et, ethyl; Pr, *n*-propyl; Pen, *n*-penyl; C_7 , *n*- C_7H_{15} ; C_{11} , *n*- $\text{C}_{11}\text{H}_{23}$.

Reference: Kebarle, P.; Ho, Y. In *Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation & Applications*; Cole, R. B. Ed.; John Wiley & Sons: New York, 1997; p. 31.

- ❖ **ESI 响应随流速的增加而降低**
- ❖ **对 ESI 接口来说,最佳工作流速为100-250 $\mu\text{L}/\text{min}$**



❖ 容易产生多电荷离子是**ESI**的重要特征之一

❖ 影响离子强度

❖ 质谱测定是基于质荷比 (m/z).

❖ 单电荷离子

$$m/z = (M+H)/1$$

❖ 双电荷离子

$$m/z = (M+2H)/2$$

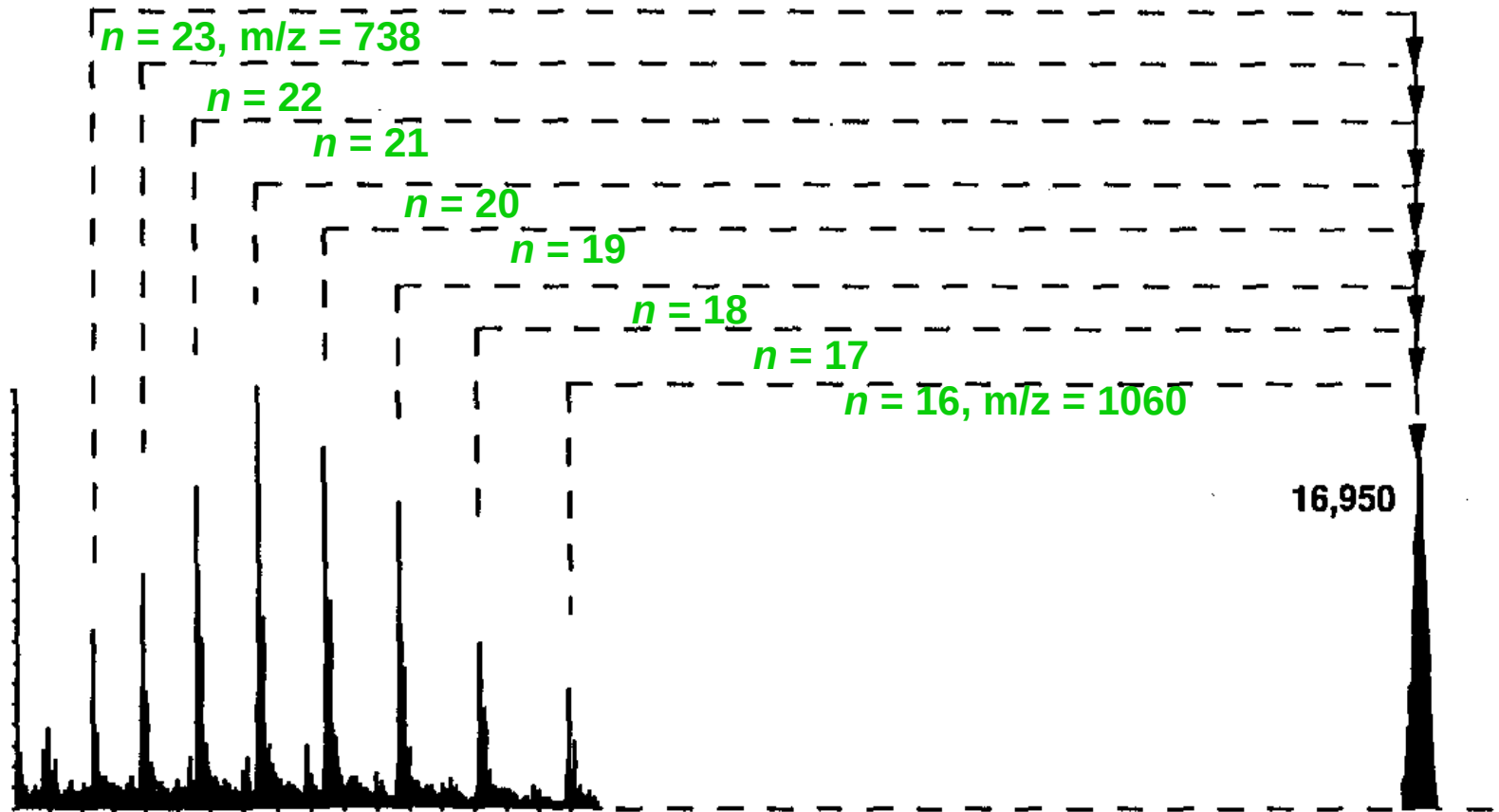
❖ 多电荷离子

$$m/z = (M+nH)/n$$

❖ 多电荷离子可以扩展质谱检测的质量范围.

❖ 多电荷离子的同位素峰之间质量差的倒数等于电荷数,例如双电荷离子的同位素质荷比差等于 **0.5 Da**

Horse Heart Myoglobin(马心肌红蛋白)



- 低分子量化合物一般产生单电荷离子(失去或得到一个质子)
- 高分子量生物大分子和聚合物产生多电荷离子
- 几乎没有碎片离子
- 可能生成加合物和/或多聚体;常见的是溶剂加合物和 $\text{NH}_4^+(\text{M}+18)$, $\text{Na}^+(\text{M}+23)$,和 $\text{K}^+(\text{M}+39)$ 加合物
- 灵敏度取决于化合物本身和基质

➤优点

- 分子量信息
- 适合范围广:挥发性和非挥发性分析物
- 适合于离子型/极性化合物
- 灵敏度高
- 高分子量测定
- 适合毛细管高效液相色谱

➤缺点

- 对LC流速有一定的限制，流速较低
- 在溶液中必须形成离子
- 在高盐浓度的条件下，容易有离子抑制

❖ 典型正离子分析样品

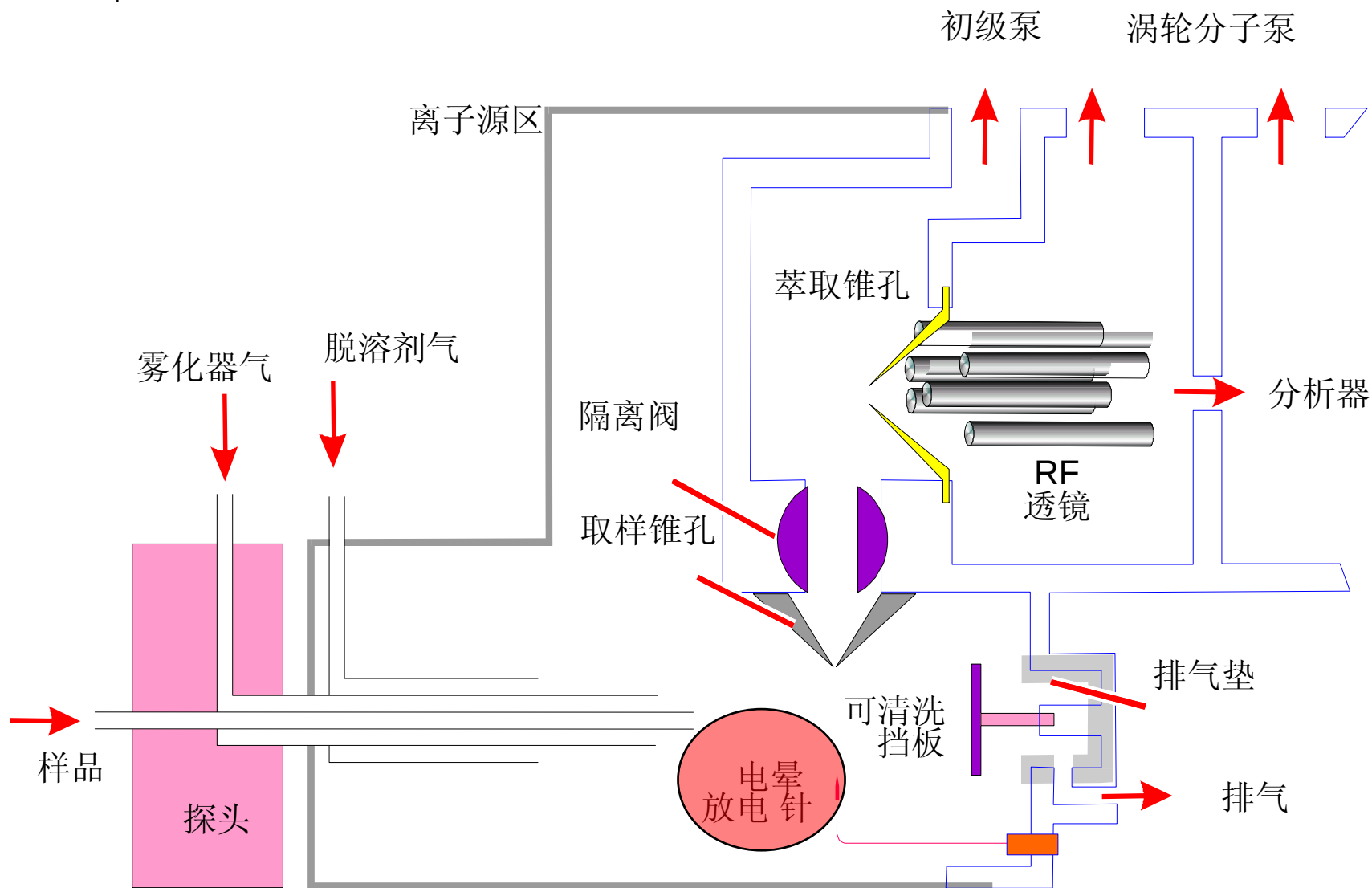
- 肽和蛋白
- 极性化合物
- 环境污染物，
- 例如农药和污染物
- 毒品、违禁物及其代谢产物

❖ 典型负离子分析样品

- 某些蛋白
- 寡核苷酸
- 寡糖和多聚糖，
- 某些药物的代谢物
- 例如：葡糖苷酸复合物

ESI 可分析的样品种类 > 80%

APCI 源（接口）

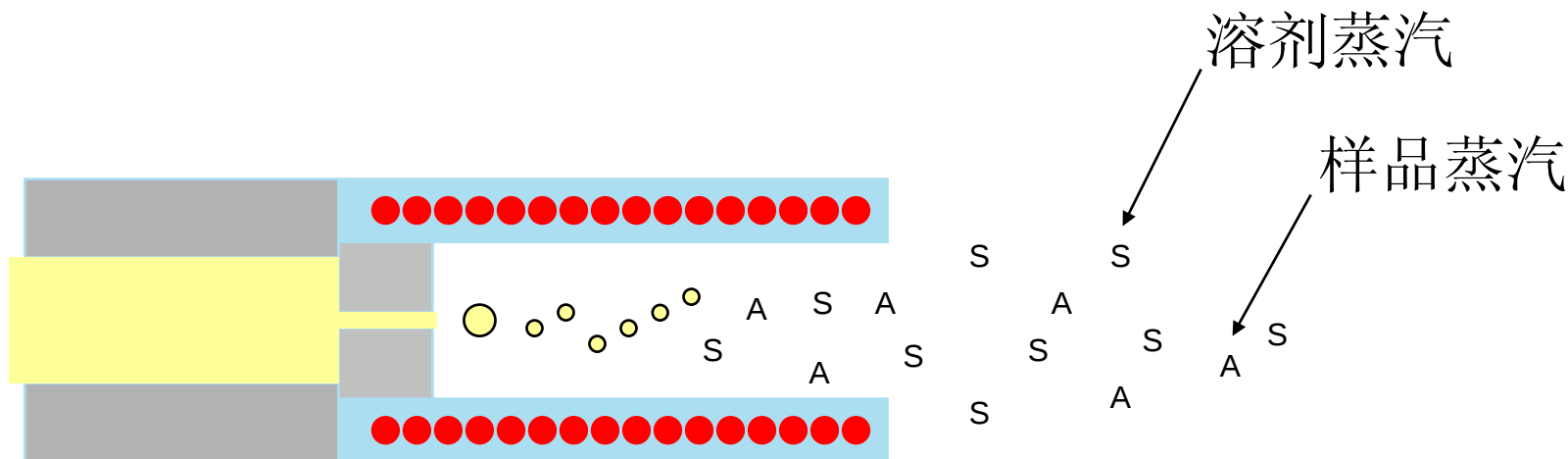


❖ 大气压化学电离可分为以下两个步骤:

❖ 快速蒸发

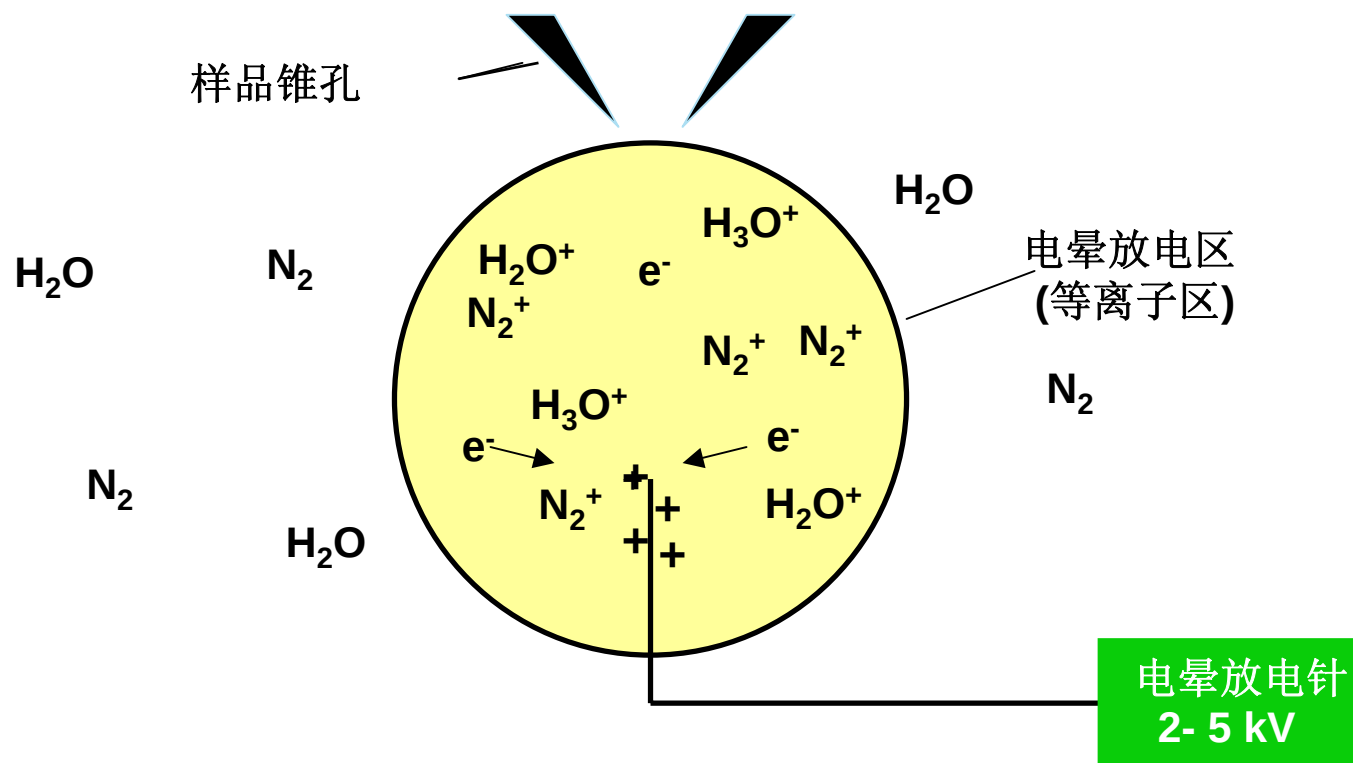
❖ 气相化学电离(电晕放电)

1. APCI: 快速蒸发



- 液流被强迫通过一根窄的管路以使其得到高的线速度
- 高温加热器和喷雾器使液流在脱离管路时蒸发成气体

由于溶剂蒸汽的保护，样品分子较少受热裂解的影响，大量的热量由于溶剂的蒸发而吸收，但是有时也会有热不稳定样品分解



❖ 质子亲合力 (**PA**) 是衡量气相分子碱性的一个指标

❖ 对于下述反应 $\text{SH}^+ + \text{A} \rightarrow \text{AH}^+ + \text{S}$
(**S** = 溶剂, **A** = 样品)

❖ 仅发生质子转移反应

$\text{PA}(\text{A}) > \text{PA}(\text{S})$

常用流动相的质子亲合力 (PA)

溶剂	PA (kcal/mol)	溶剂	PA (kcal/mol)
HCl	140	<i>i</i> -PrOH	192
<i>n</i> -Hexane	<170	Acetone	197
H ₂ O	170	THF	200
TFA	176	EtOAc	201
MeOH	180	DMSO	210
HOAc	183	DMF	224
EtOH	190	TEA	232
<i>n</i> -PrOH	191		
ACN	191		

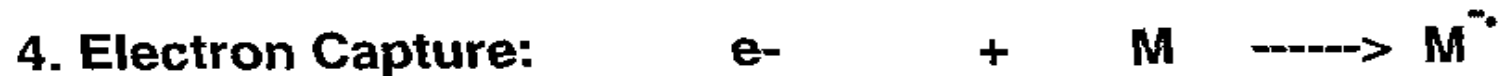
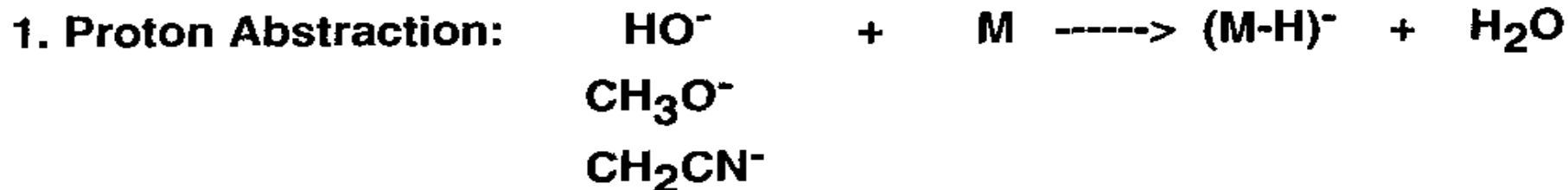
化合物	PA (kcal/mol)	化合物	PA (kcal/mol)
HCN	171	Uracil	208
Formaldehyde	172	Pyridine	221
Furan	192	L-Methionine	221
<i>p</i> -Xylene	192	(C ₆ H ₅) ₃ P	230
Phenol	196	L-Lysine	230
Biphenyl	196	1,7-Diaminoheptane	238
Fluorene	200		
Anisole	200		
(C ₂ H ₅) ₂ S	205		

1. Proton Transfer:

$$\begin{array}{l}
 \text{H}_3\text{O}^+ \\
 \text{CH}_3\text{OH}_2^+ \\
 \text{CH}_3\text{CNH}^+ \\
 \text{NH}_4^+
 \end{array}
 + \text{M} \longrightarrow (\text{M}+\text{H})^+ + \text{H}_2\text{O}$$
2. Adduct Attachment:

$$\begin{array}{l}
 \text{NH}_4^+ \\
 \text{CH}_3\text{CNH}^+ \\
 \text{CH}_3\text{OH}_2^+ \\
 \text{H}_3\text{O}^+
 \end{array}
 + \text{M} \longrightarrow (\text{M}+\text{NH}_4)^+$$
3. Charge Exchange:

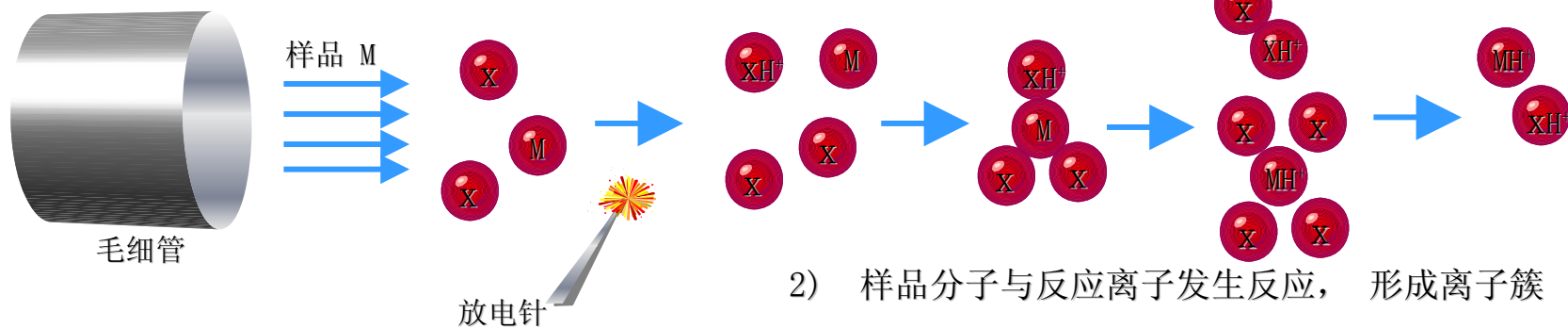
$$\text{benzene}^{\cdot+} + \text{M} \longrightarrow \text{M}^{\cdot+} + \text{benzene}$$



APCI 电离方式产生离子

1) 电离产生起决定作用的溶剂离子

3) 离子去簇后被传输到质谱的质量分析器



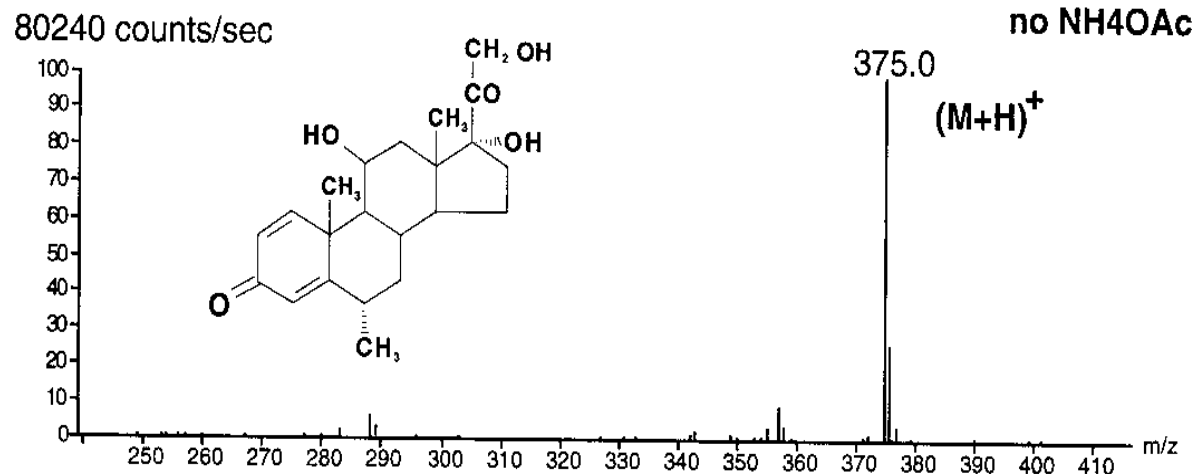
X = 溶剂分子，比如H₂O, NH₃ 等等

甲基氢化强的松APCI 质谱图(正离子)

©2005 Waters Corporation

1/1 CH₃CN/H₂O, 1mL/min FIA ≈5 ng per component

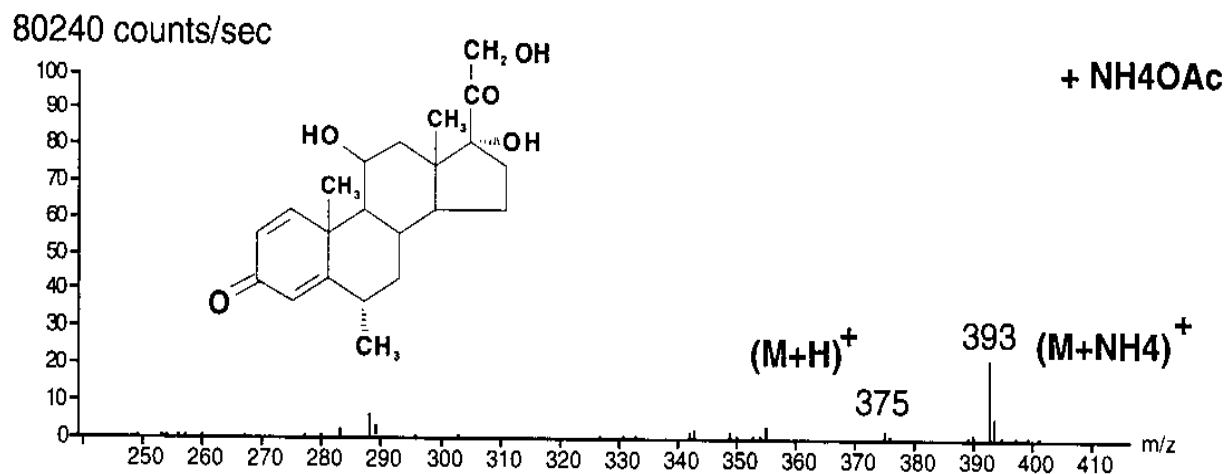
未加醋酸铵



样品比溶剂 CH₃CN/H₂O 具备较大的质子亲和力，而醋酸铵的质子亲和力比样品大

$PA_{\text{醋酸铵}} > PA_{\text{样品}} > PA_{\text{溶剂}}$

加 100 mM醋酸铵

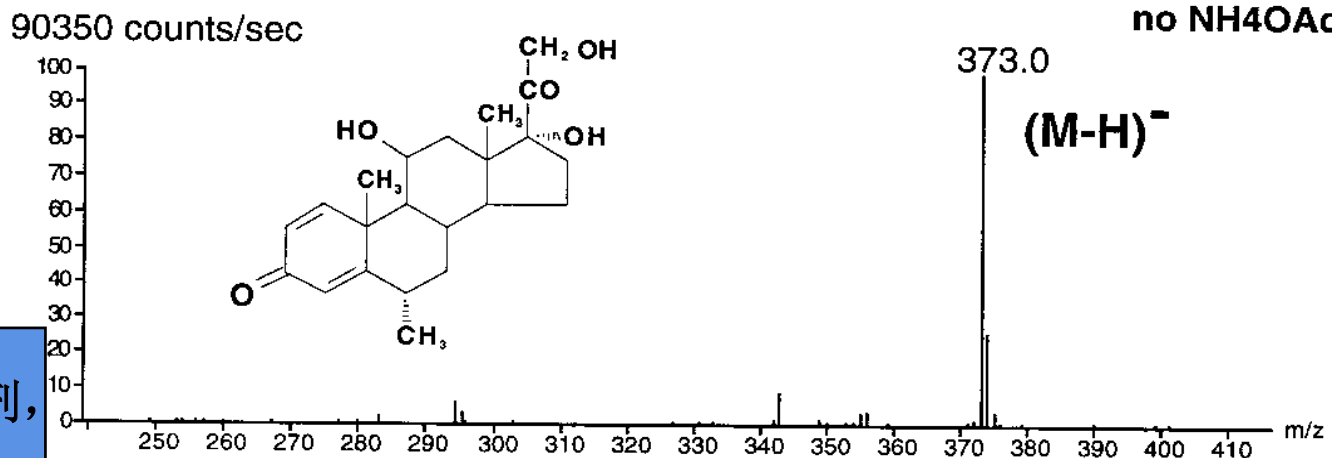


甲基氢化强的松APCI 质谱图(负离子)

1/1 CH₃CN/H₂O, 1mL/min FIA ≈5 ng per component

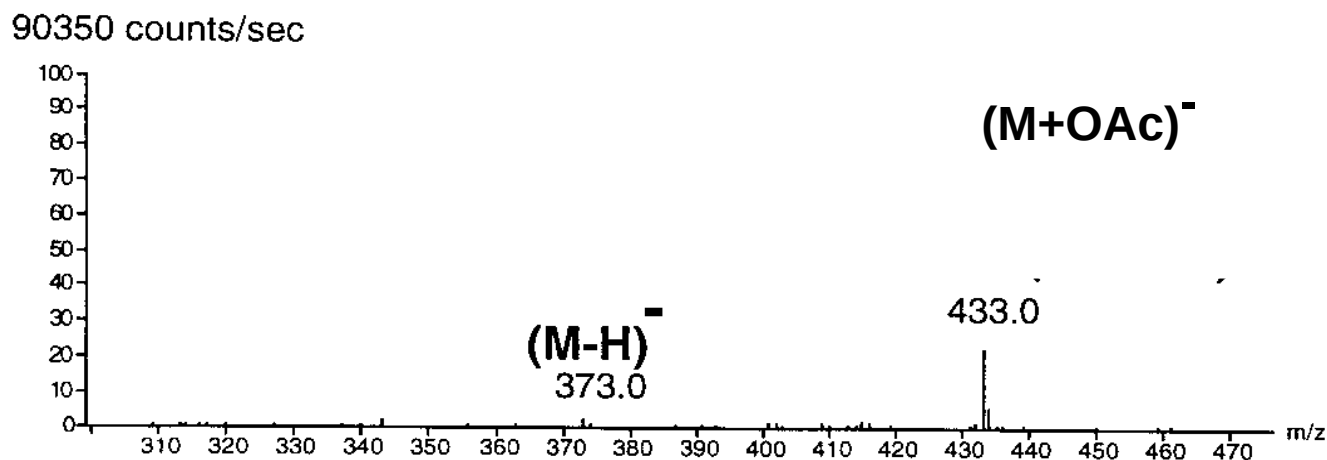
未加醋酸铵

样品的气相酸性大于溶剂，
而小于醋酸铵



+ NH₄OAc

加 100 mM醋酸铵



❖ 优点

- 分子量确认
- 使用方便
- 耐用性好
- 匹配LC高流速 2.0mL/min
- 灵敏度高

❖ 缺点

- 有可能发生热裂解
- 在低质量端的化学噪声大
- 适合分析分子量小于**1000 Da** 的样品

- 一般而言, 只生成单电荷离子
- 几乎没有碎片离子
- 可能生成加合物和/或多聚体; 一般是溶剂加合物及 NH_4^+ ($M+18$), Na^+ ($M+23$), 和 K^+ ($M+39$) 加合物
- 基质影响较小 (相对于 ESI)。 质谱图不受缓冲盐及其缓冲力变化的影响

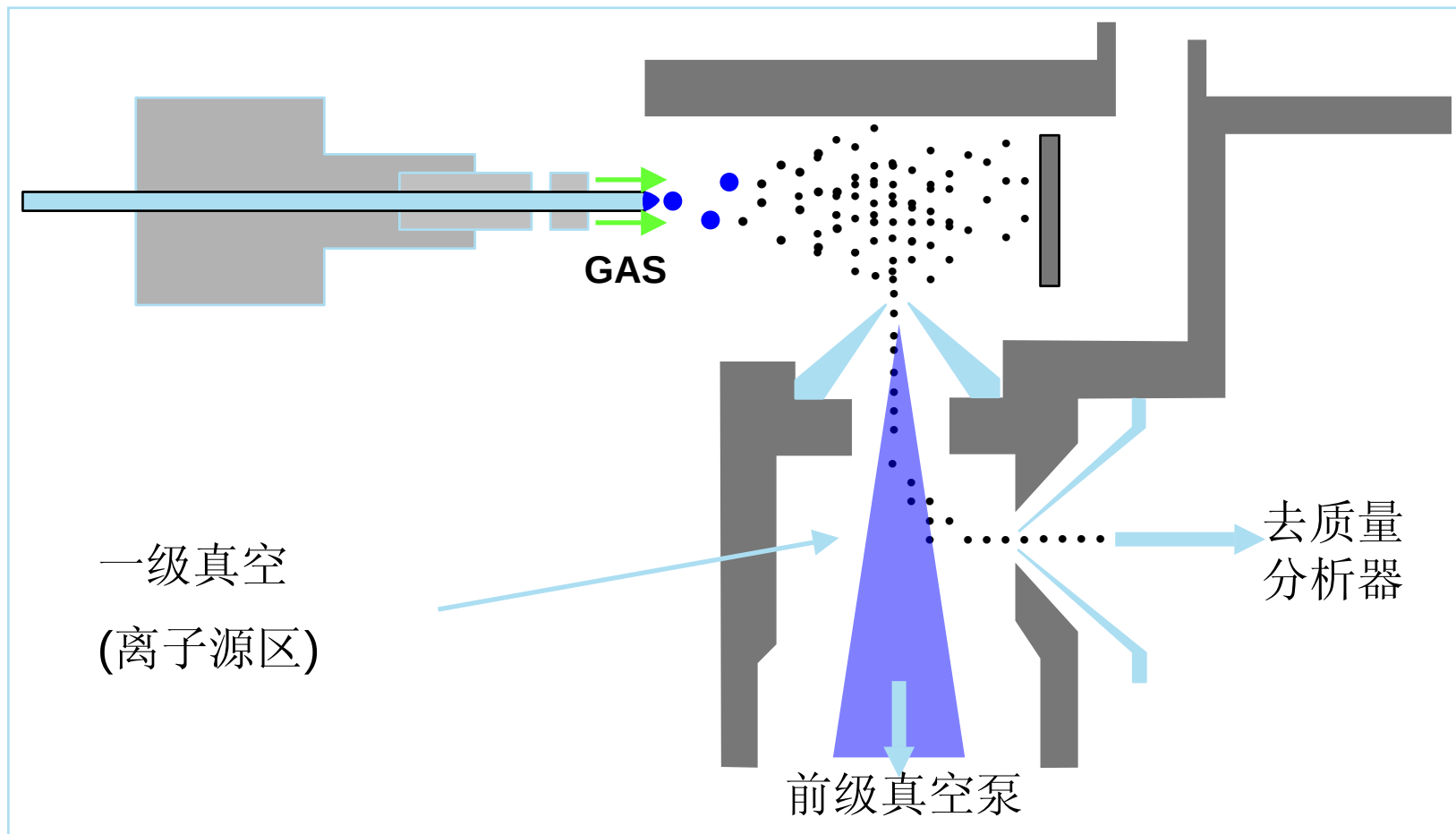
- 芳烃
- 抗生素
- 碱性药物
- 小分子化合物
- 甾族化合物(类固醇), 雌激素类
- 苯并二氮杂(安定类)
- 很多适合**EI** 电离源的样品

❖ ESI 和 APCI 共同点:

- ❖ 使用高电压元件和雾化气喷雾法 产生气相离子
- ❖ 通常产生 $(M+H)^+$ 或 $(M-H)^-$ 等准分子离子
- ❖ 产生极少的碎片，但可以控制产生结构碎片
- ❖ 非常灵敏的电离技术

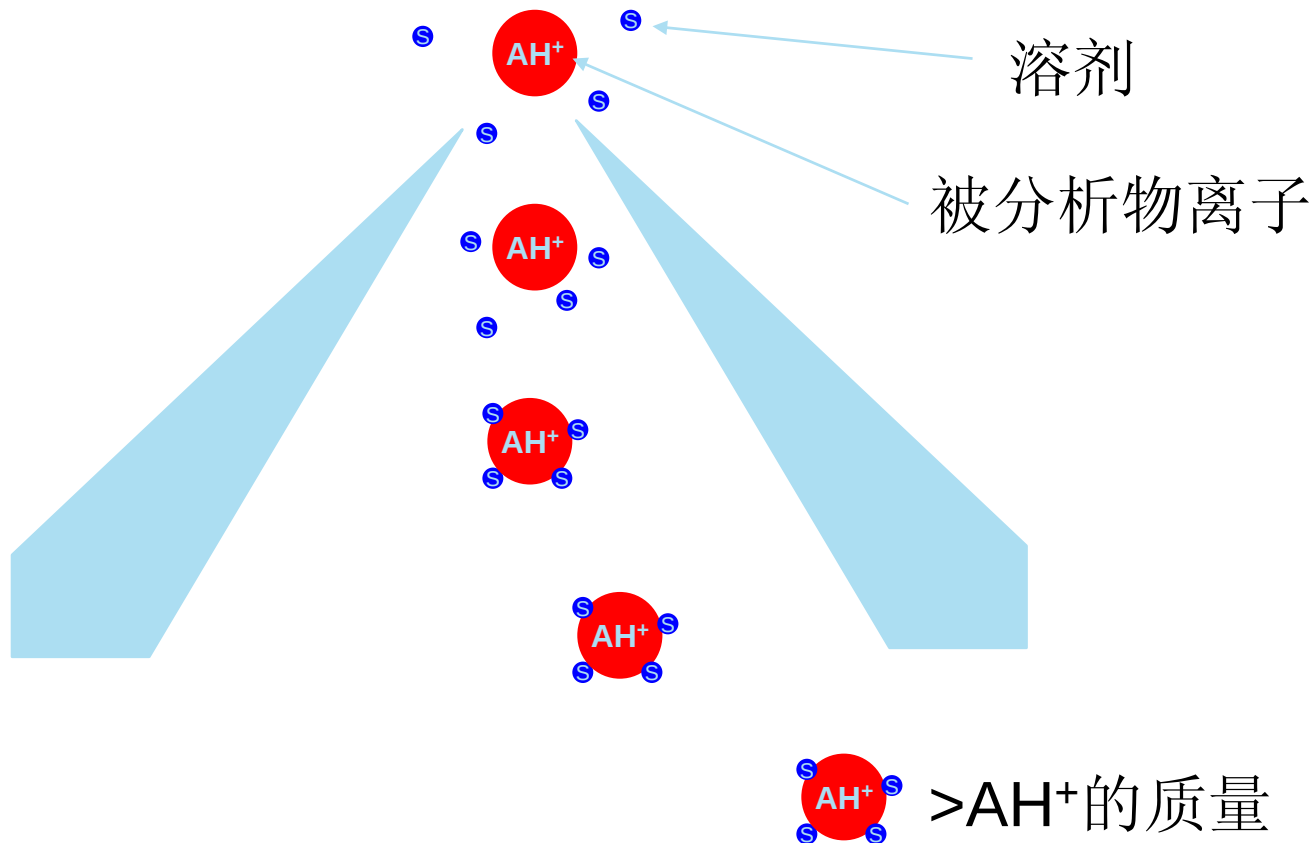
- **ESI 和 APCI 不同点:**
 - 生成离子方式不同
 - **ESI** - 液相离子化
 - **APCI** - 气相离子化
 - 样品兼容性
 - **ESI** - 极性化合物和生物大分子
 - **APCI** - 非极性, 小分子化合物 (相对于用 **ESI** 电离的化合物而言) 且有一定的挥发性
 - 流速兼容性
 - **ESI** - 0.001 到 1 mL/min
 - **APCI** - 0.2 到 2 mL/min

- ❖ 样品已经变成气相离子，仍处于大气压下
- ❖ 必须把样品离子送入质谱高真空环境中
- ❖ 离子通过加热的一级真空区，在静电场作用下通过萃取锥孔或毛细管
- ❖ 样品离子通过萃取锥孔或毛细管后，进入六极杆或八极杆或 **T-Wave**等聚焦透镜系统
- ❖ 从聚焦透镜出来，样品离子进入质量分析器



©2005 Waters Corporation

当蒸气通过取样锥孔进入一级真空区发生膨胀，蒸气在膨胀时会冷却吸热，这种冷却可能导致在被分析物离子上的溶剂冻结从而生成各种质量数的簇离子



■ 问题

- 簇离子会降低所要检测的被分析物质量处的信号
- 簇离子会增加背景信号
- 可作为分子反应研究

■ 解决方法

- 加热一级真空区 (离子源区) 以阻止簇离子的生成,使不带溶剂的样品离子被检测

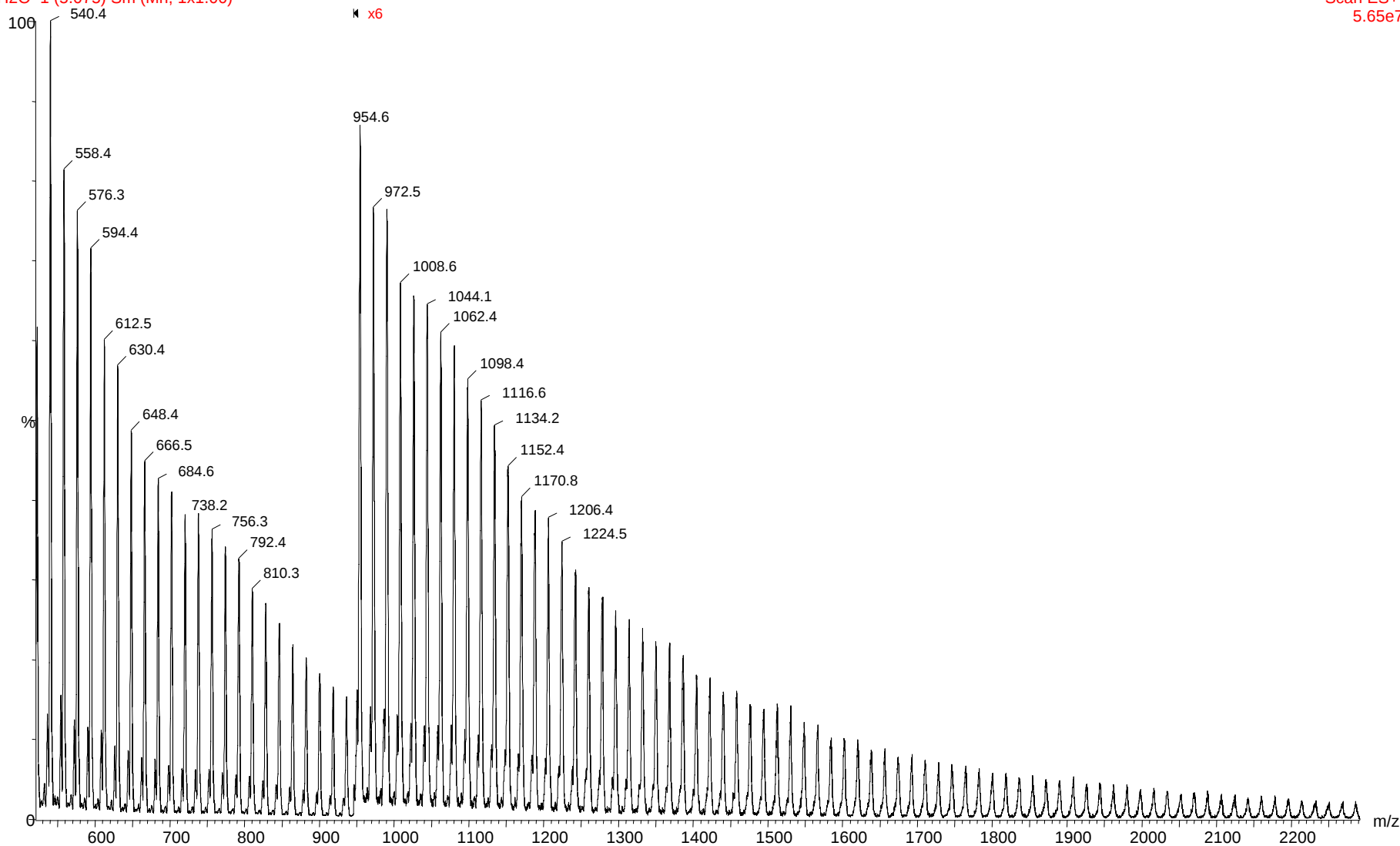
■ 水的簇离子可以用于质量校正

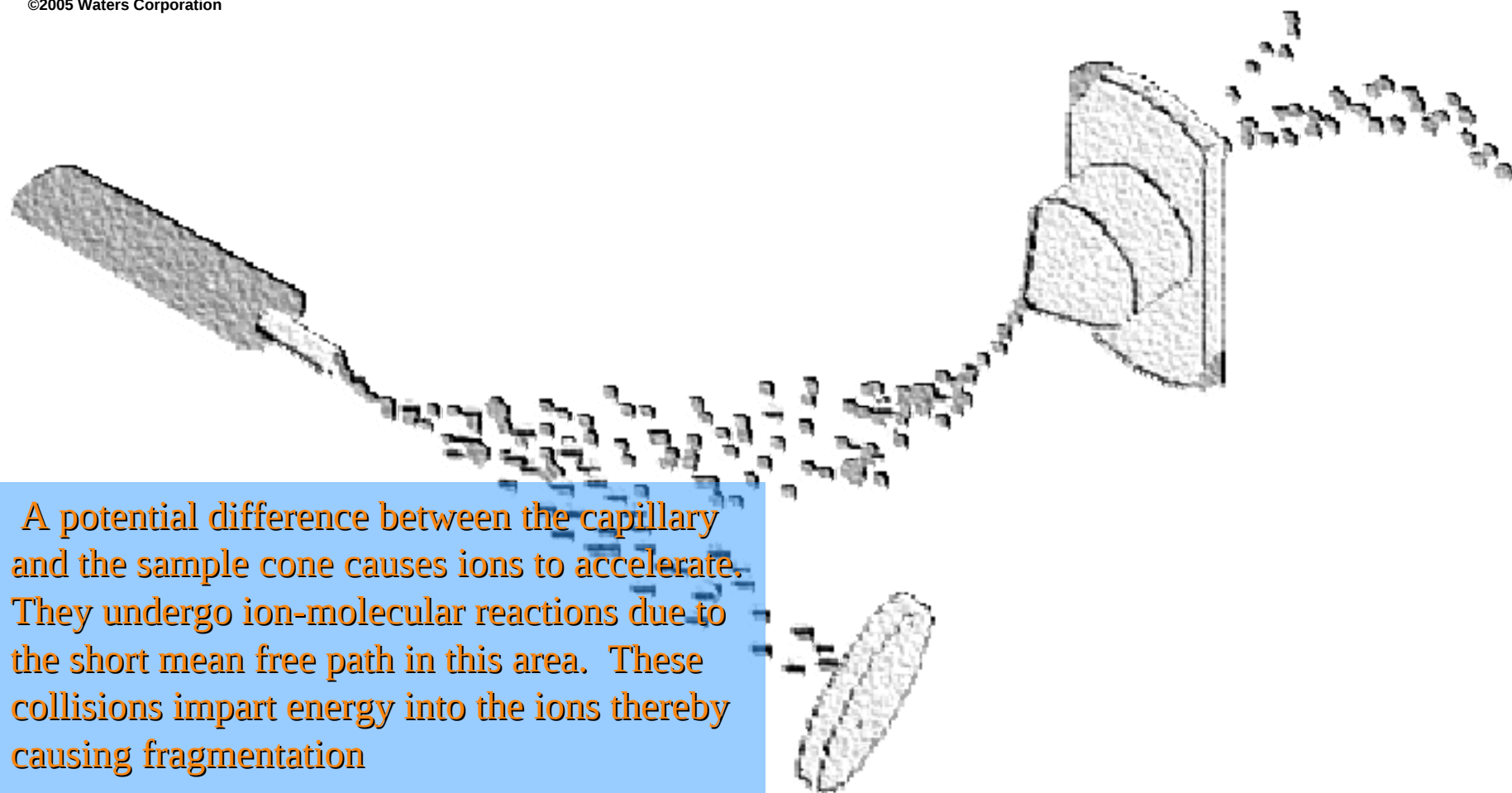
©2005 Waters Corporation

Background

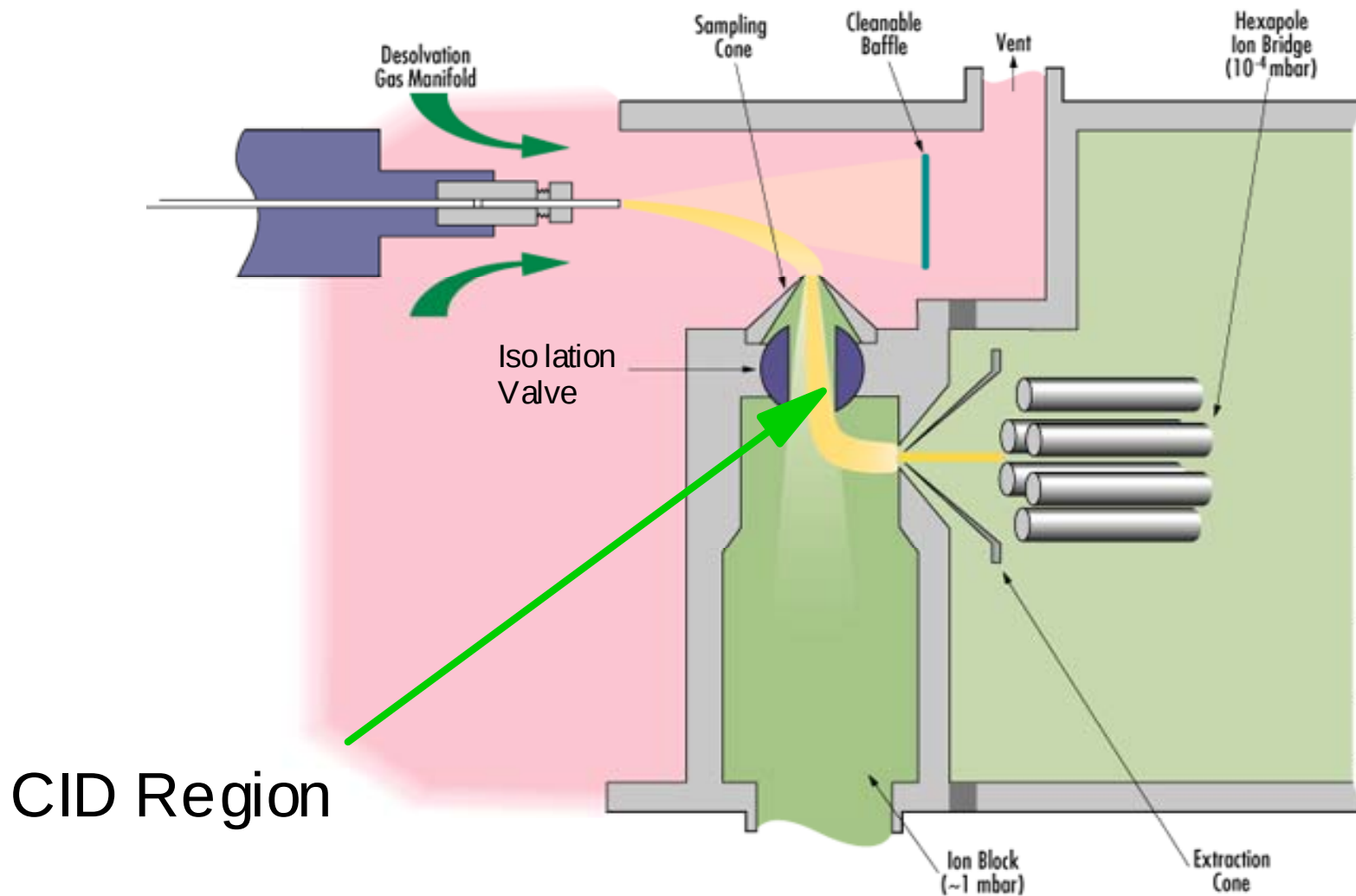
H₂O 1 (5.075) Sm (Mn, 1x1.00)

Scan ES+
5.65e7



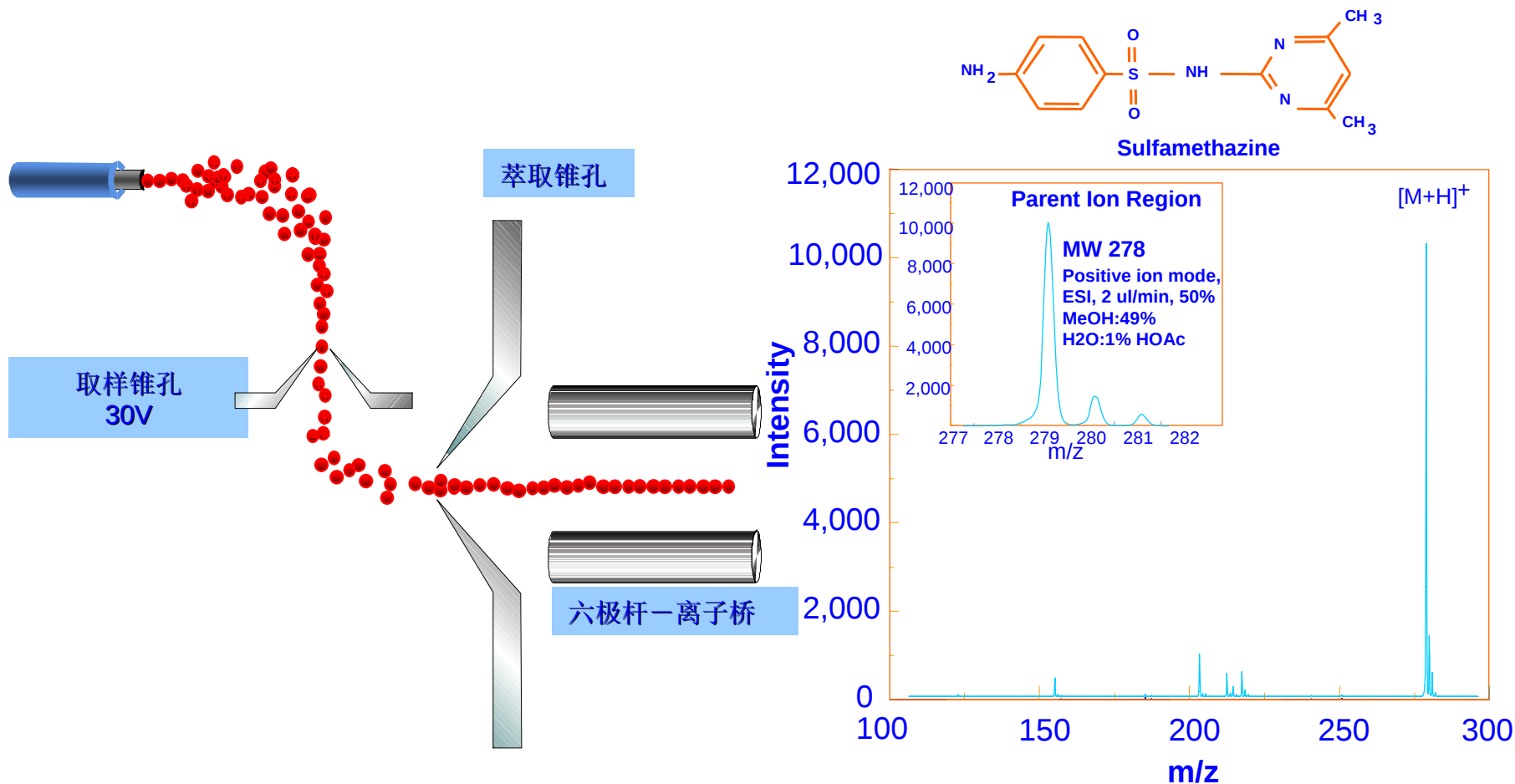


A potential difference between the capillary and the sample cone causes ions to accelerate. They undergo ion-molecular reactions due to the short mean free path in this area. These collisions impart energy into the ions thereby causing fragmentation

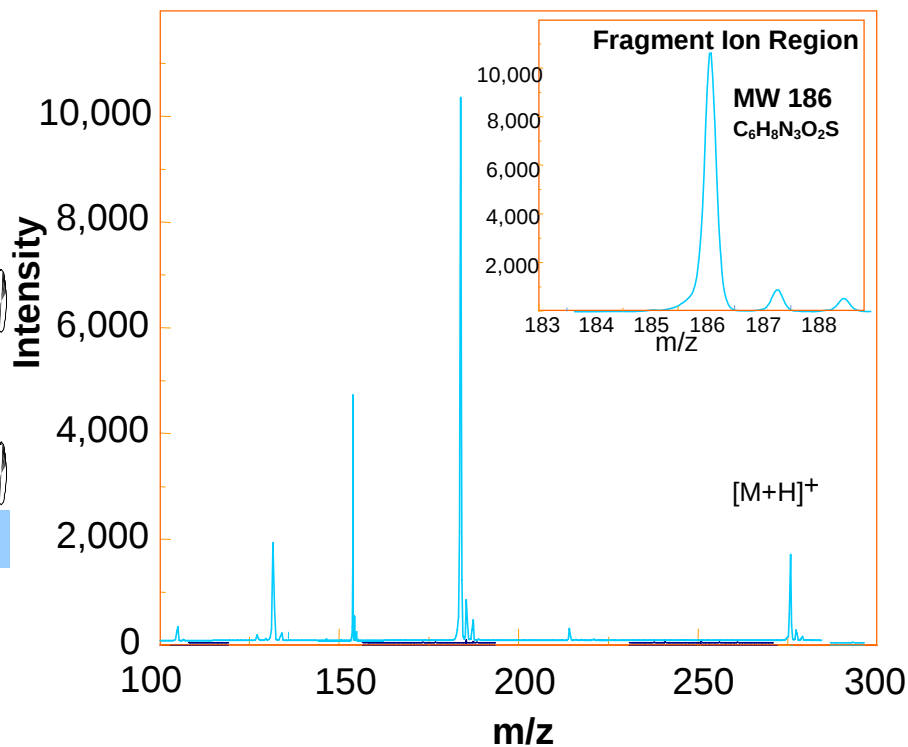
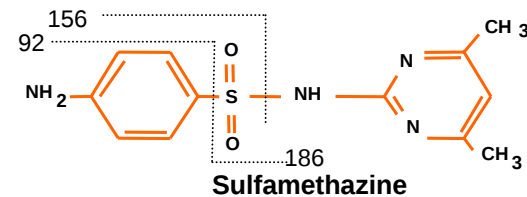
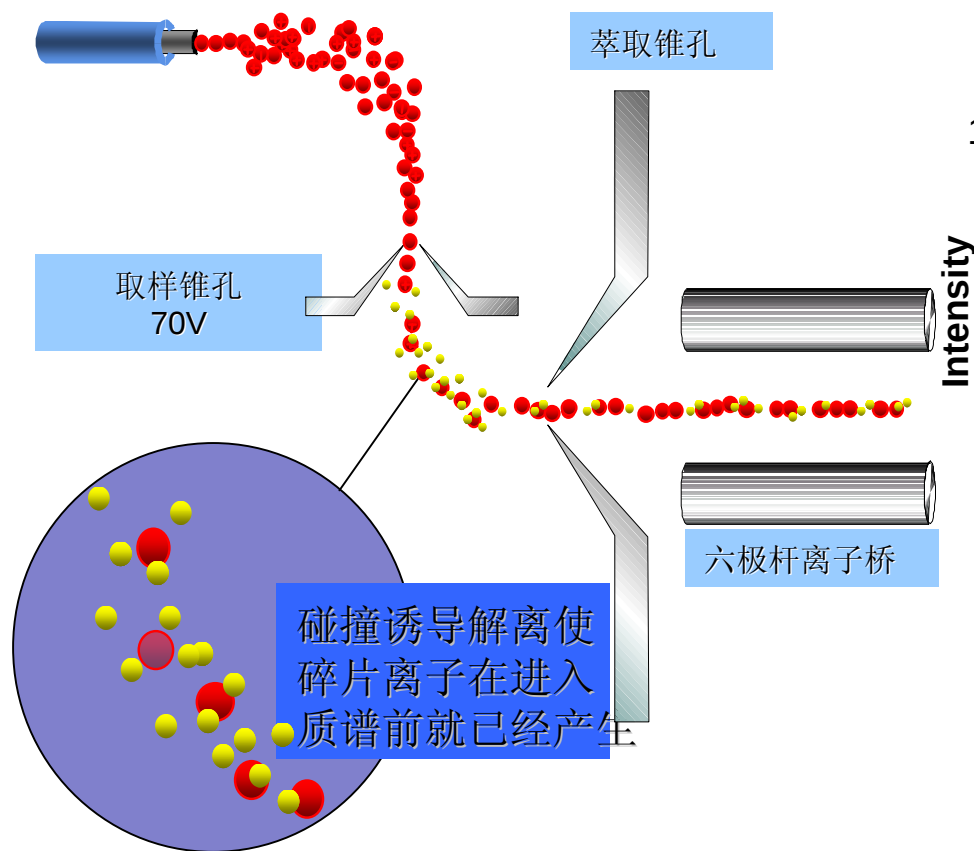


CID产生的过程

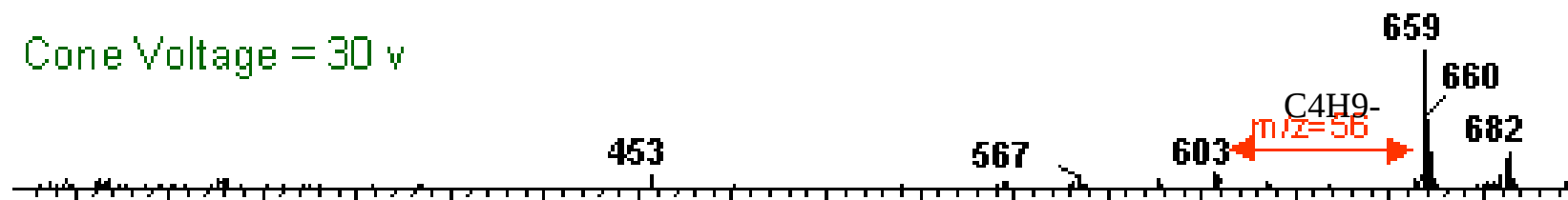
Analysis of Sulfamethazine by Electrospray



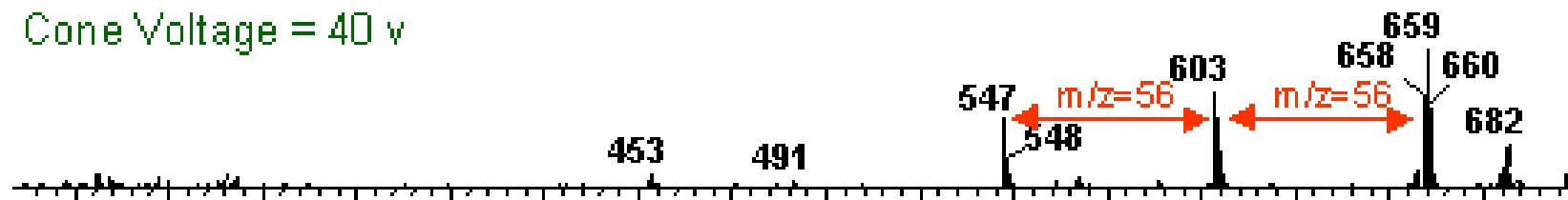
优异的CID技术（可编程） Analysis of Sulfamethazine by Electrospray



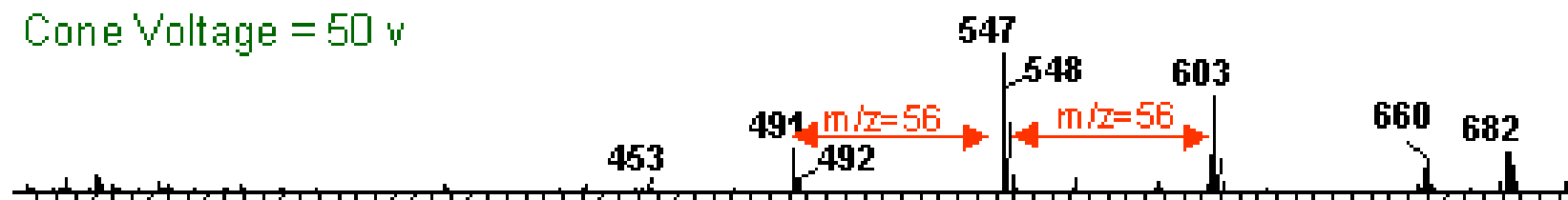
Cone Voltage = 30 v



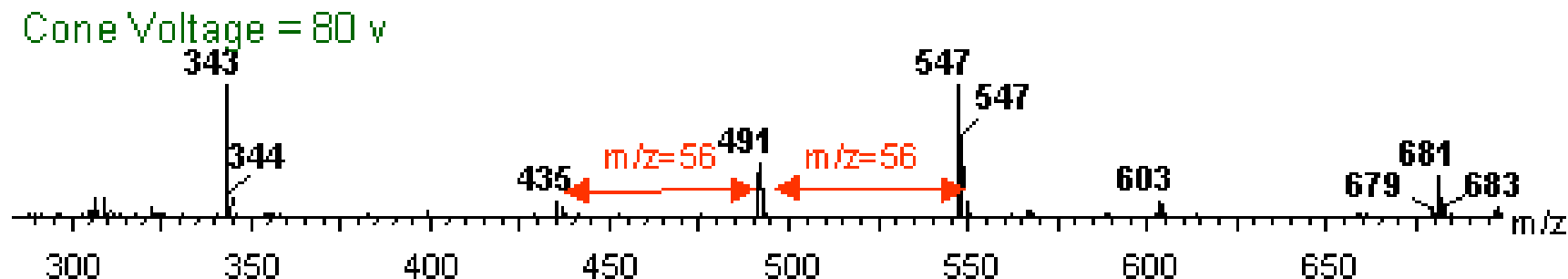
Cone Voltage = 40 v



Cone Voltage = 50 v



Cone Voltage = 80 v

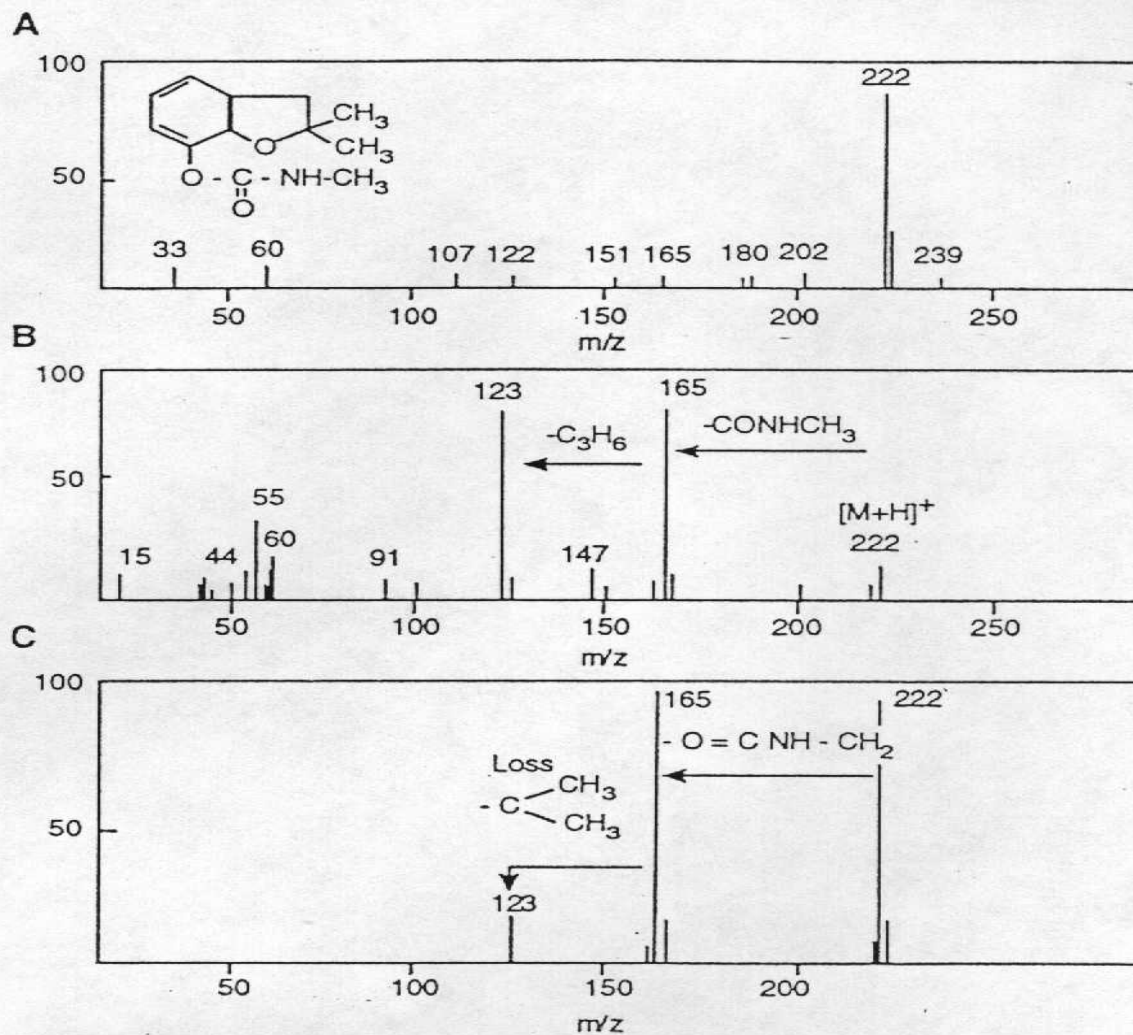


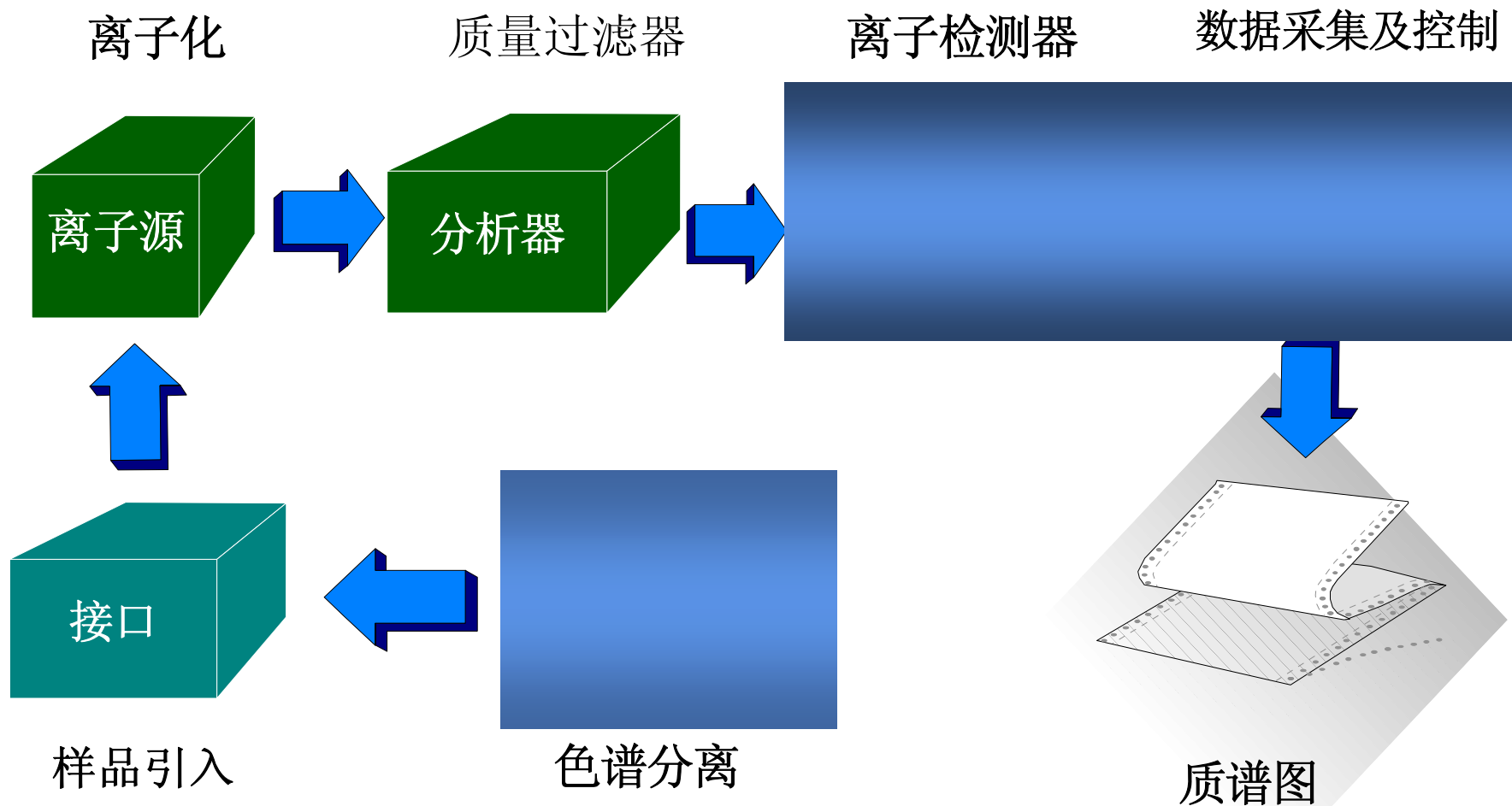
优点：

- 为“软源”离子化技术产生的准分子离子提供结构信息
- 抑制来自溶剂束的化学噪声
- 极其简单的谱图有利于谱图的分解
- 比MS/MS有更好的离子传递

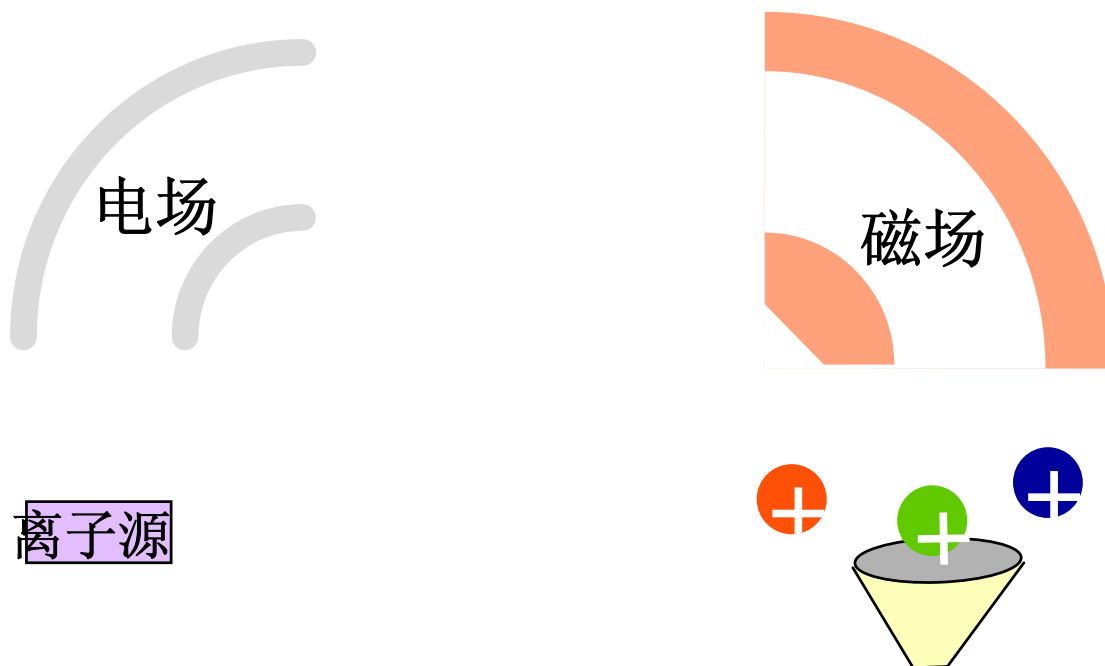
缺点：

- 缺少混合物分析的能力
- 增加噪声
- 难于解析谱图
- 由于接口差异、流动相离子强度、pH值等均对裂解有影响，很难得到重现的谱图





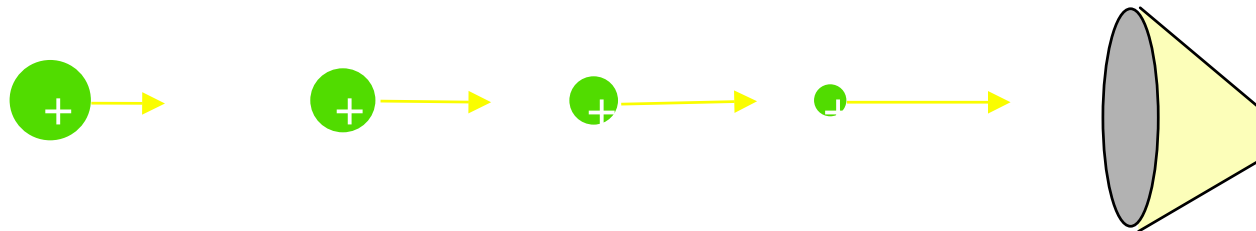
A. 磁质谱



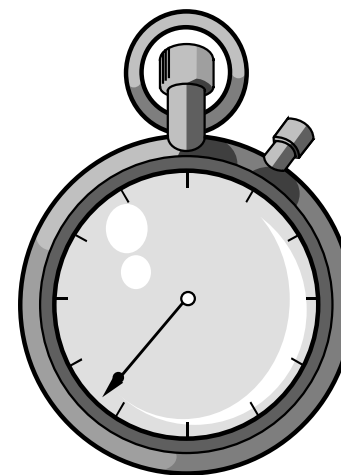
- 通过磁场和电场来传输和选择离子

B. 飞行时间质谱

离子源

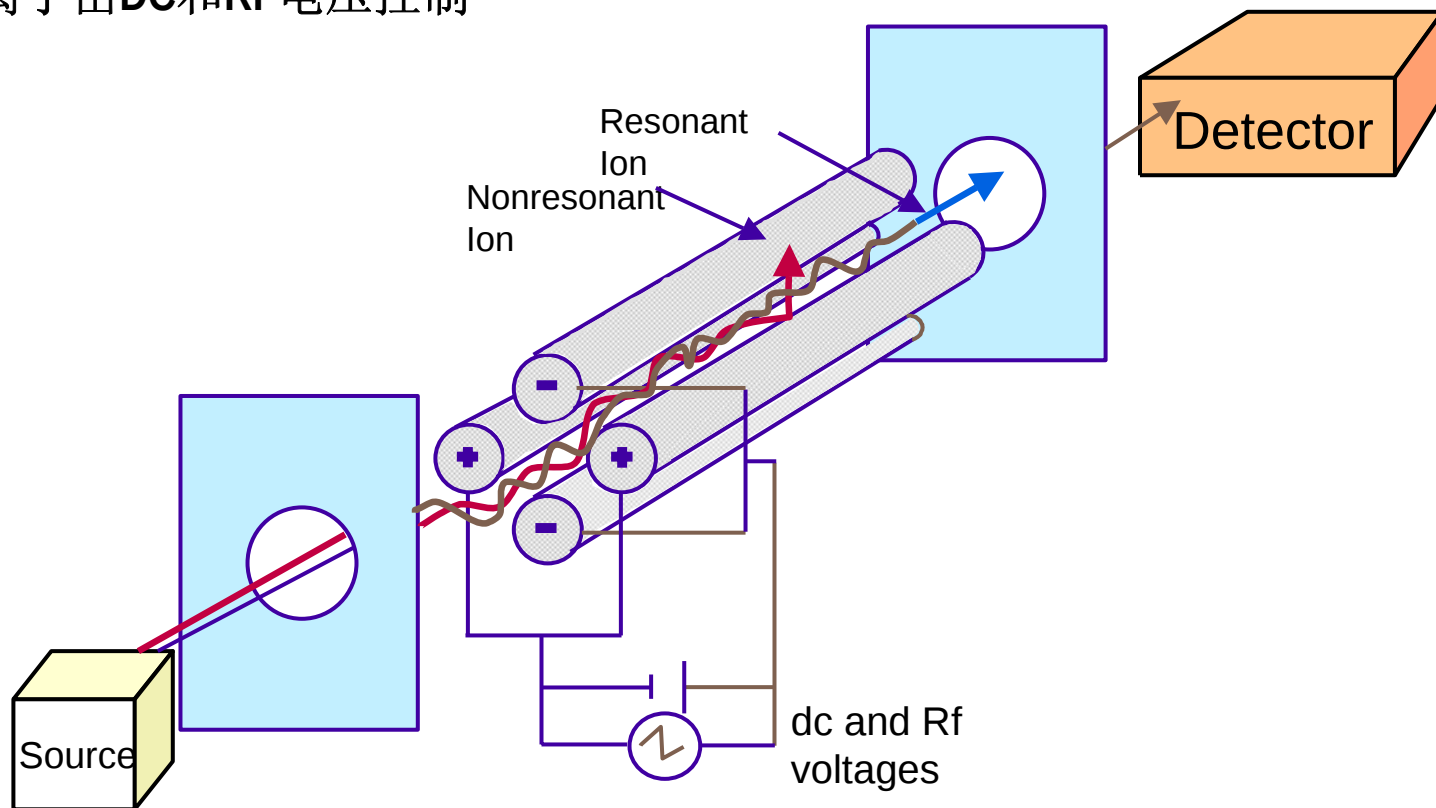


- ◆ 所有离子一同起跑
- ◆ 质量小的跑得快
- ◆ 时间分辨

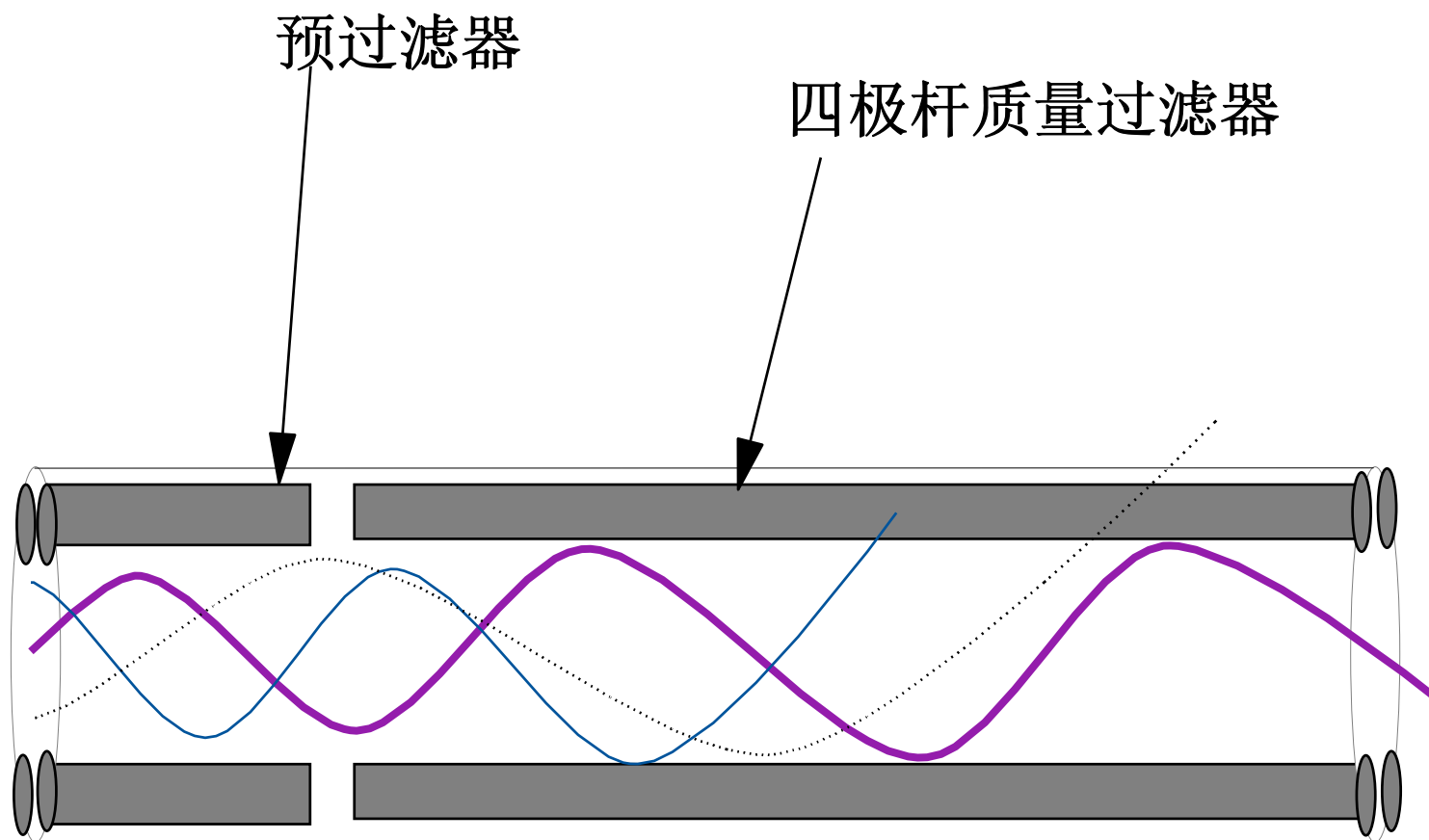


C. 四极杆质量分析器

被分析离子由**DC**和**RF**电压控制

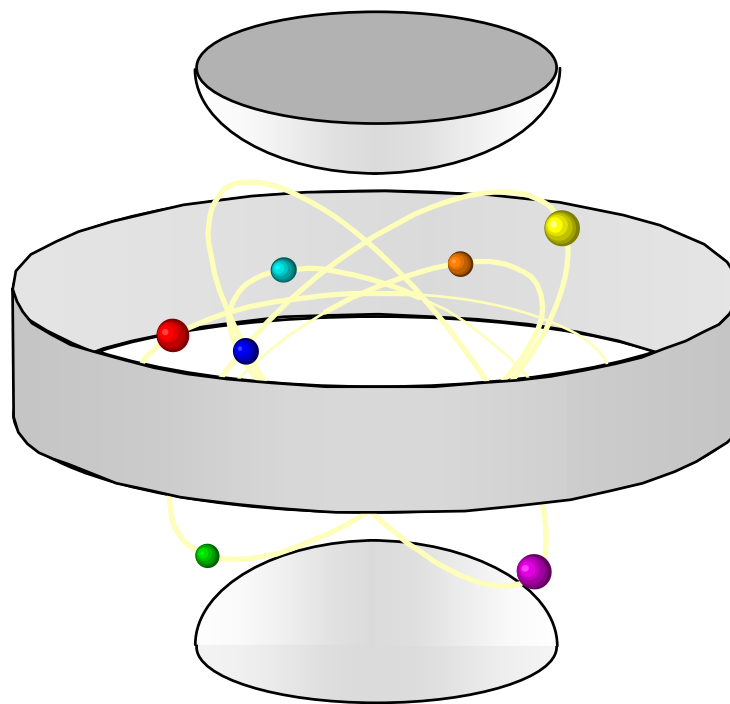


四极杆质量分析器



D. 离子阱

- 原理与四极杆类似
- 离子被 **RF & DC** 电场所储存
- 扫描电场可以释放特定的 **m/z** 离子



质量分析器特性

分析器	m/z范围	分辨率	质量精度	动态范围	真空
四极杆	10^3	10^3	0.1%	10^5	10^{-5}
离子阱	10^3	10^3 – 10^4	0.1%	10^4	10^{-3}
飞行时间	10^6	10^3 – 10^4	0.1–0.01 %	10^4	10^{-6}
扇形磁场	10^4	10^5	< 5ppm	10^7	10^{-6}
回旋共振	10^5	10^6	< 10ppm	10^4	10^{-9}

©2005 Waters Corporation

分辨率：质谱上是指分开相邻离子的能力，分辨率越高，越能区分小的质量差。

传统分辨率的计算公式：

分辨率 $R = m/\Delta m$

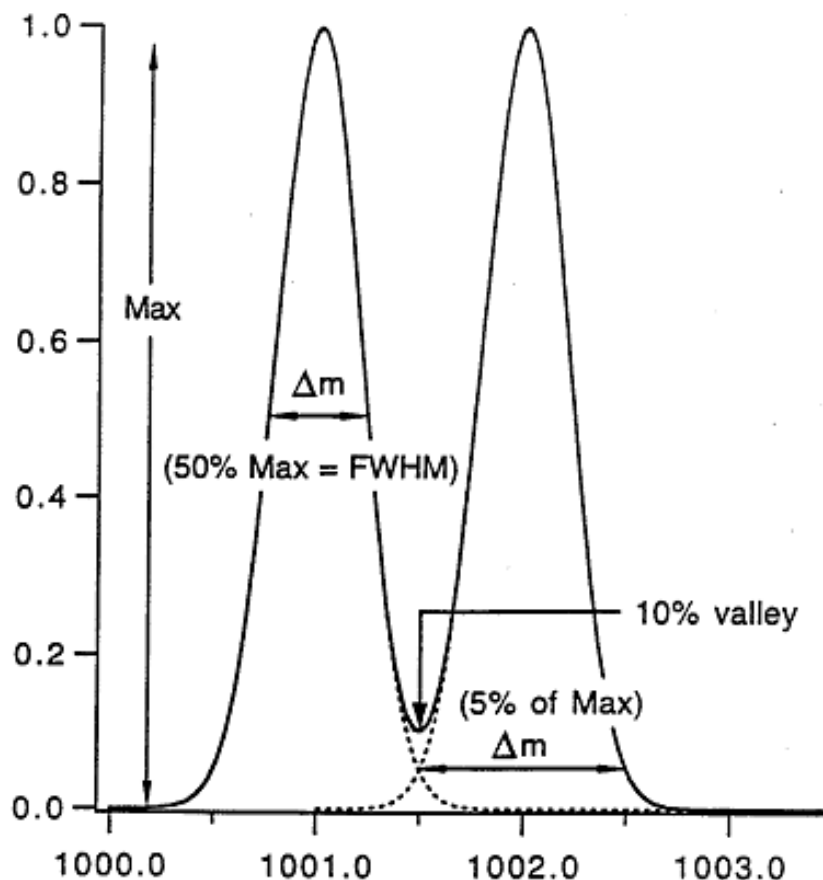
at 5% valley

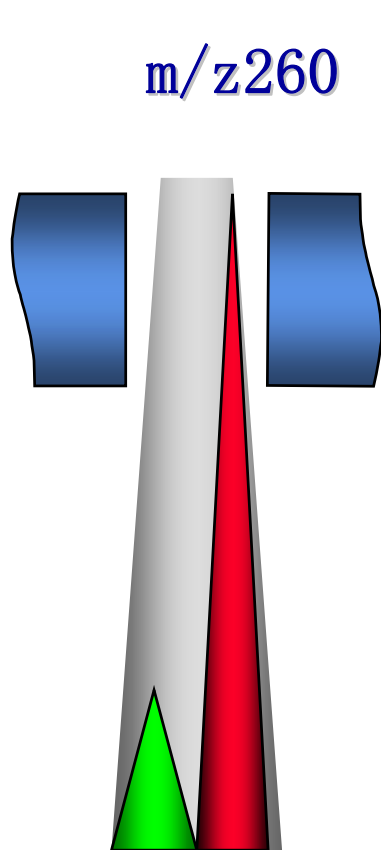
Now: $\Delta m = \text{FWHM}$

单位质量分辨率：

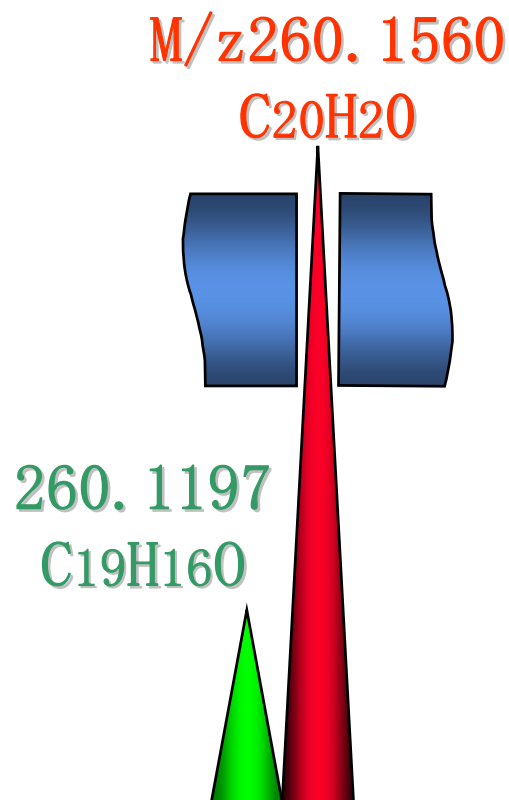
$\text{FWHM} = 0.5 - 0.8 \text{ amu}$

with 10 - 20% valley





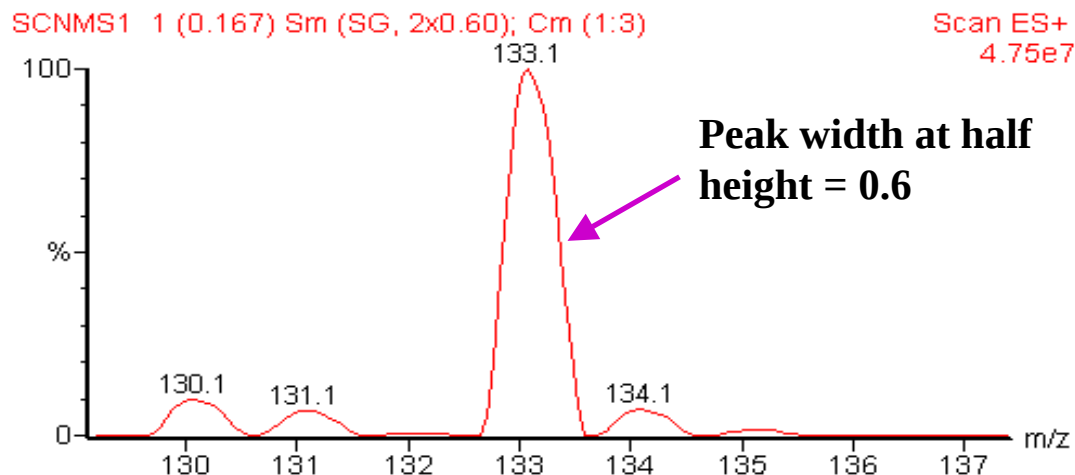
Low Rp



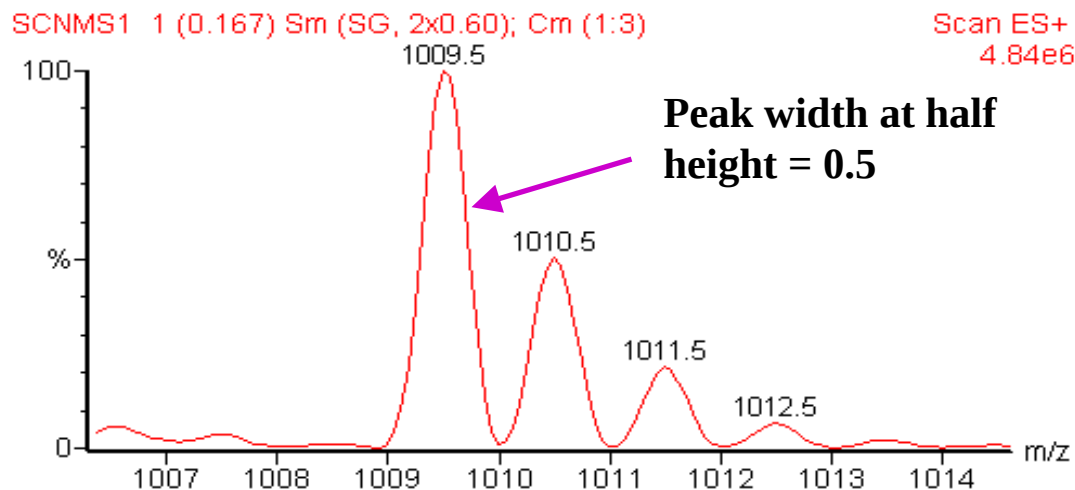
High Rp

©2005 Waters Corporation

半峰高处的峰宽为 0.5 - 0.8 amu

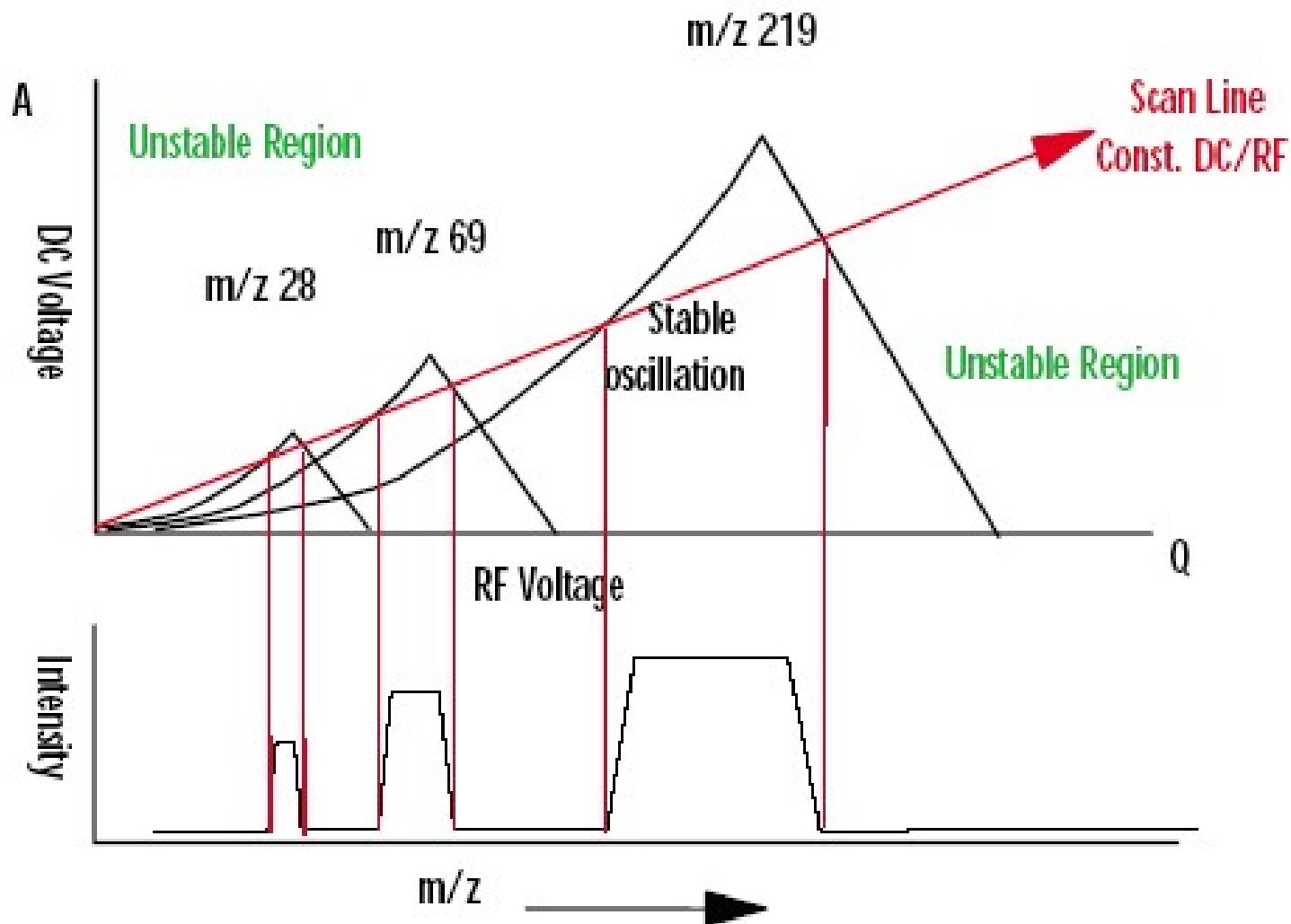


$$\begin{aligned} m/\Delta m &= 133/0.6 \\ &= 222 \end{aligned}$$

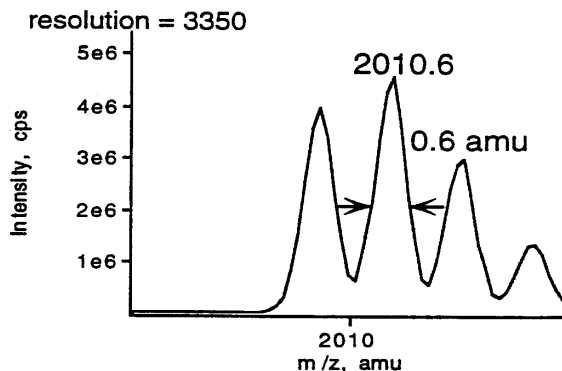
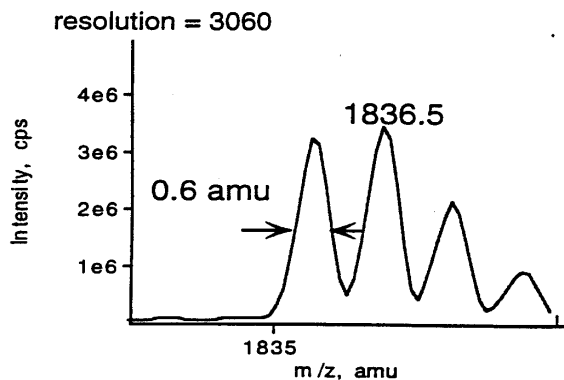
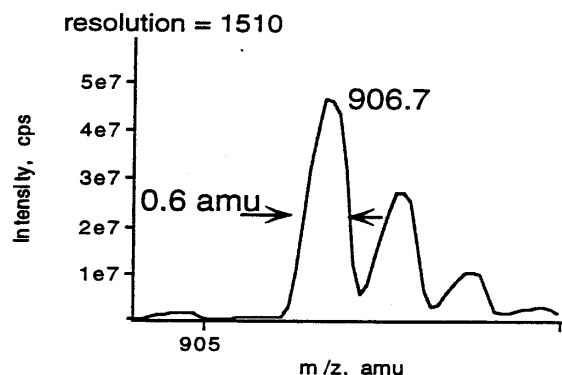
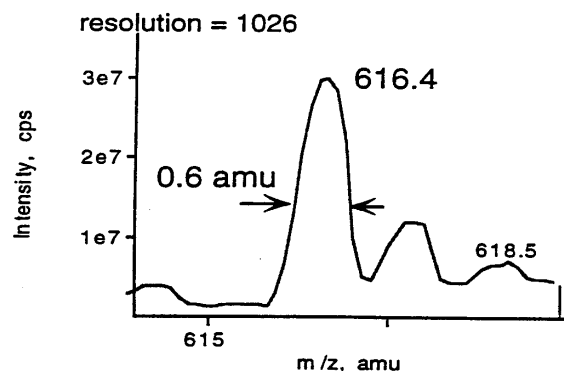
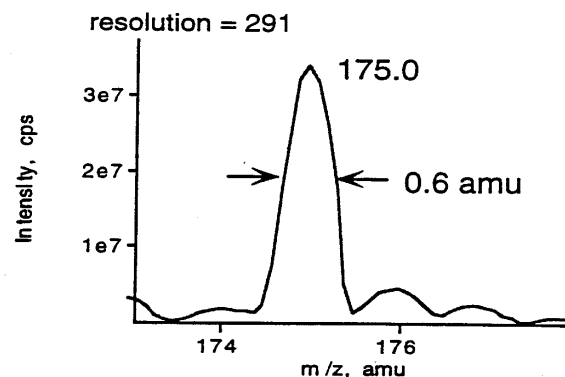
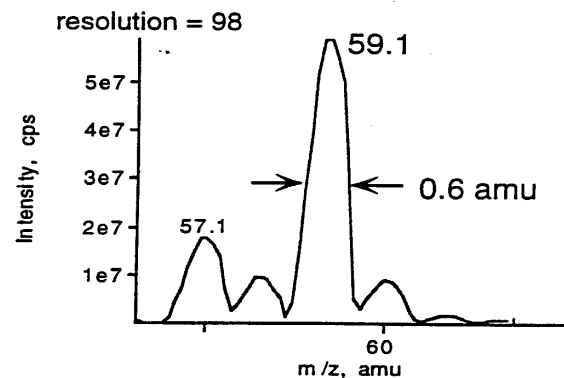


$$\begin{aligned} m/\Delta m &= 1009/0.5 \\ &= 2018 \end{aligned}$$

四极杆分辨率



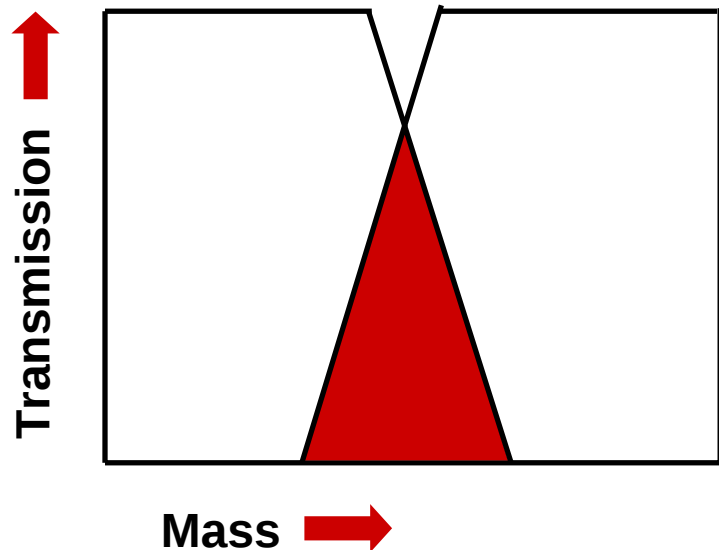
单位质量分辨率



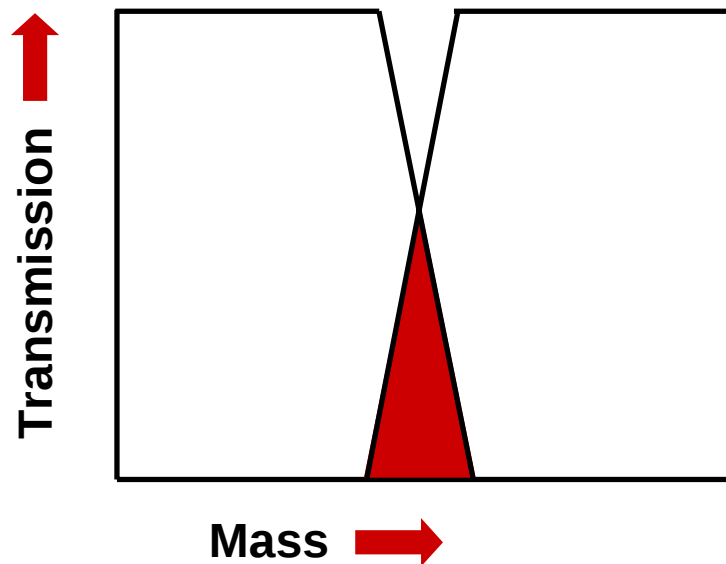
四极杆质量过滤器的特点是以单位质量分辨率运行,这可以通过将某个质量范围的半峰宽调谐到 0.6 amu 来实现

分辨率与灵敏度的关系

低分辨
(灵敏度较高)



高分辨
(灵敏度较低)



Adapted from Willoughby, R.; Sheehan, E.; Mitrovich, S. *A Global View of LC/MS: How to Solve Your Most Challenging Analytical Problems*, 1st ed.; Global View Publishing: Pittsburgh, PA, 1998; p 528.

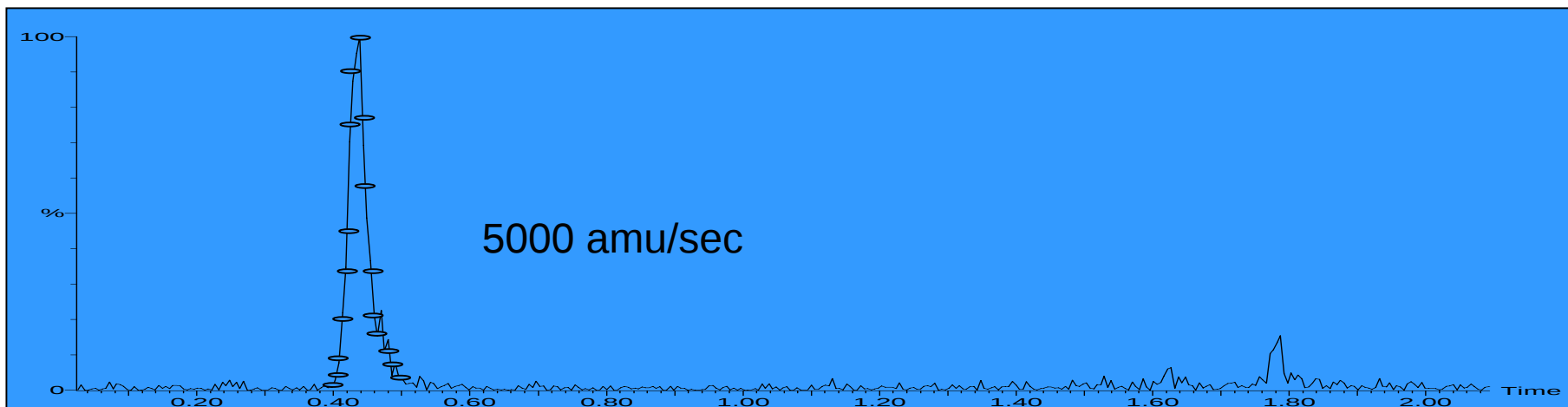
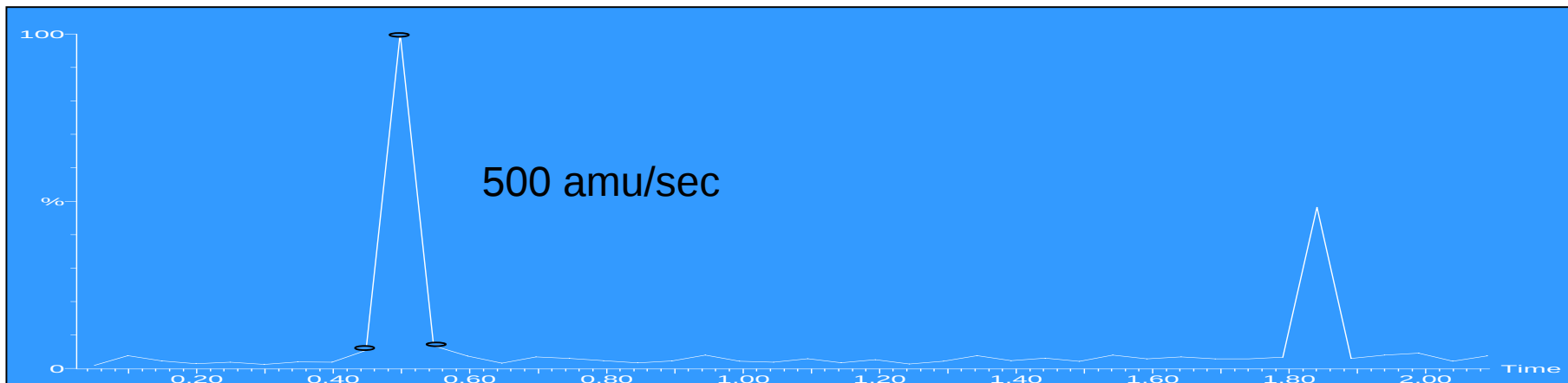
四极杆的长度

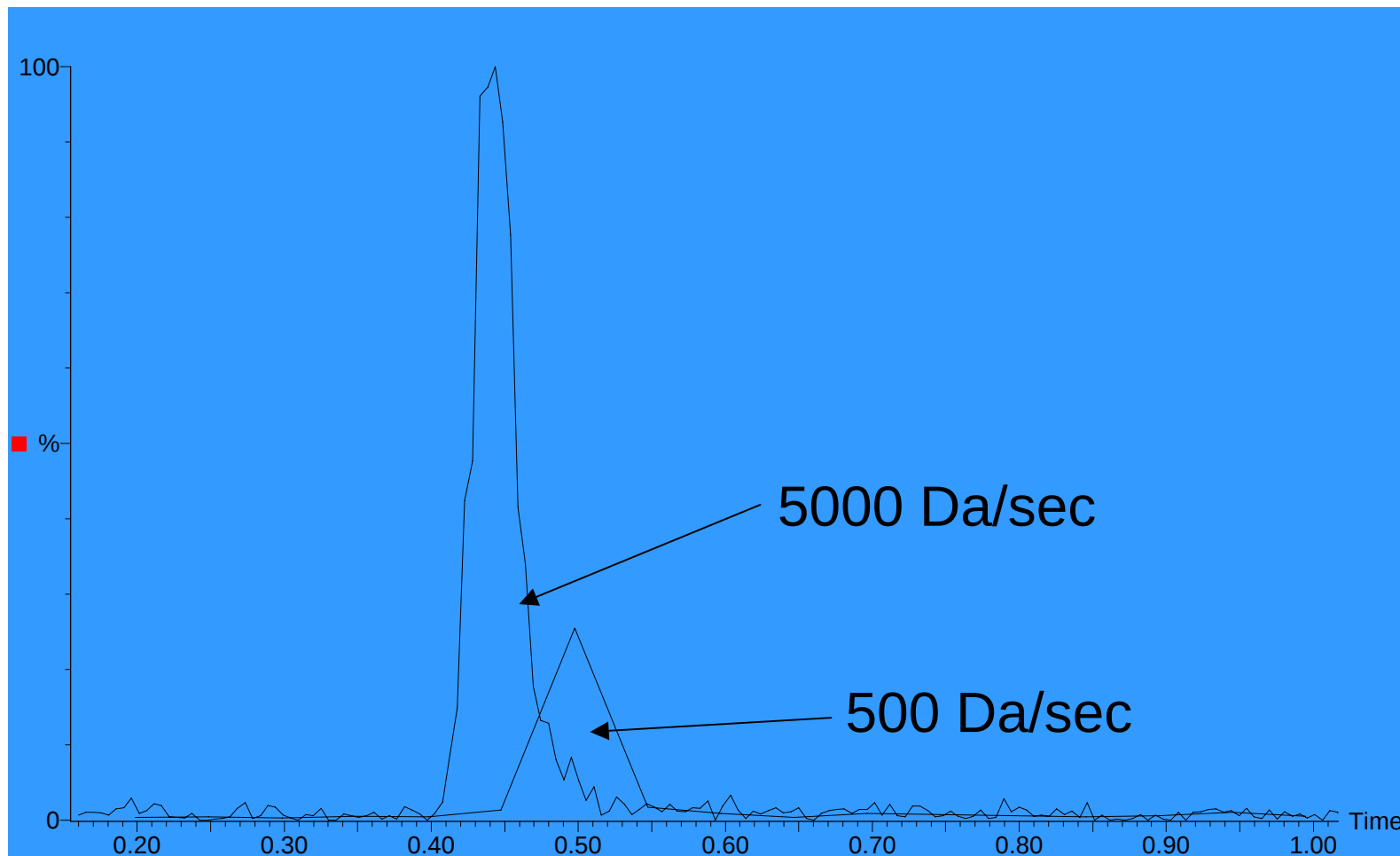
- 射频电压的最大振幅
- 四极杆相对空间位置
- 离子的动能
- 四极杆的加工工艺和排列

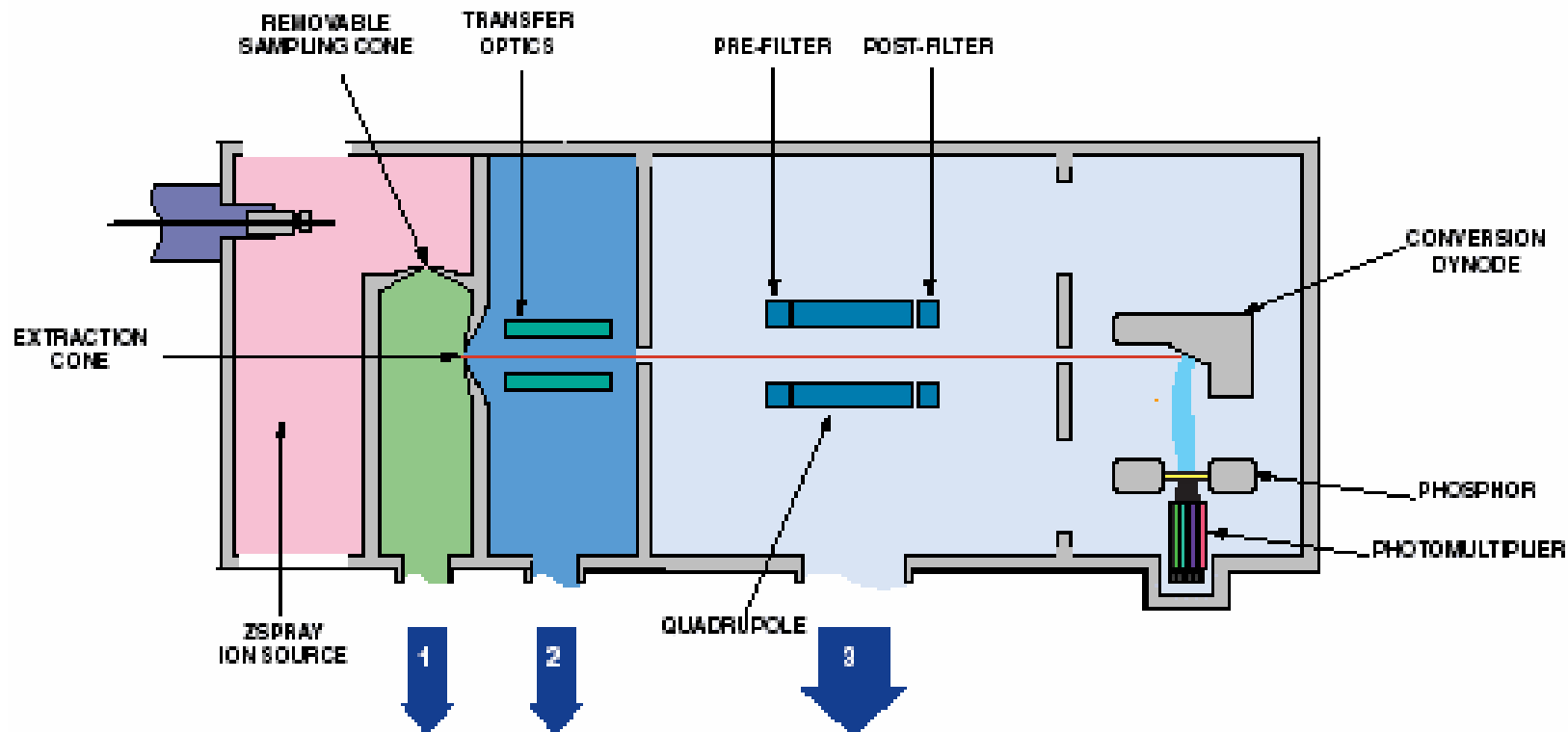
- 内置 PC 技术使单四极杆接口适应快速色谱
- 优点更多:
 - 意味着可“检测”更多的峰 – 基线和共流出物
 - 意味着可“更好”地定量
 - 更多的信息可更快地得到正确答案

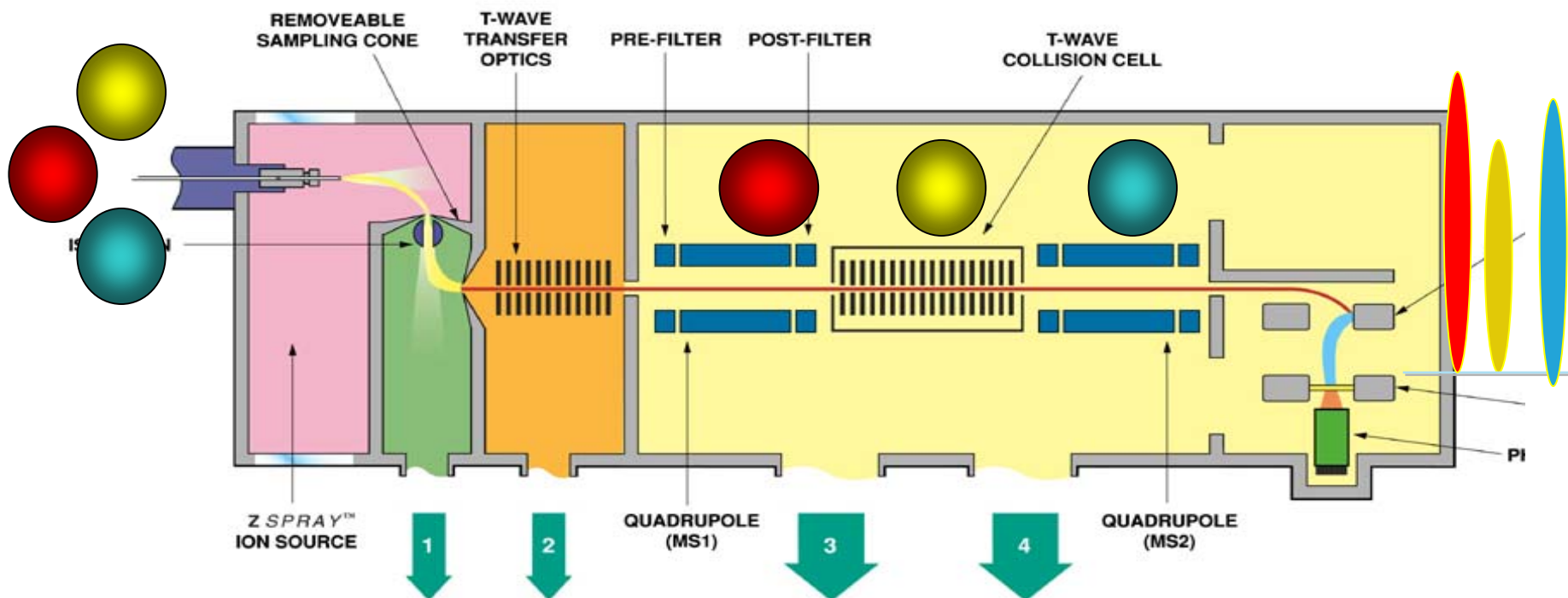
- 随着峰宽降低（例如，高通量）到小于**3秒**（半峰宽），快速扫描变得很重要
- 大多数四极杆设计的扫描速率约 **1000 amu/秒**
- 由于 **ZQ** 能以高达**5000 amu/秒**的速率采集全扫描数据，使得一个色谱峰包含有更多的数据点，对于鉴定未知物提供更优质的谱图

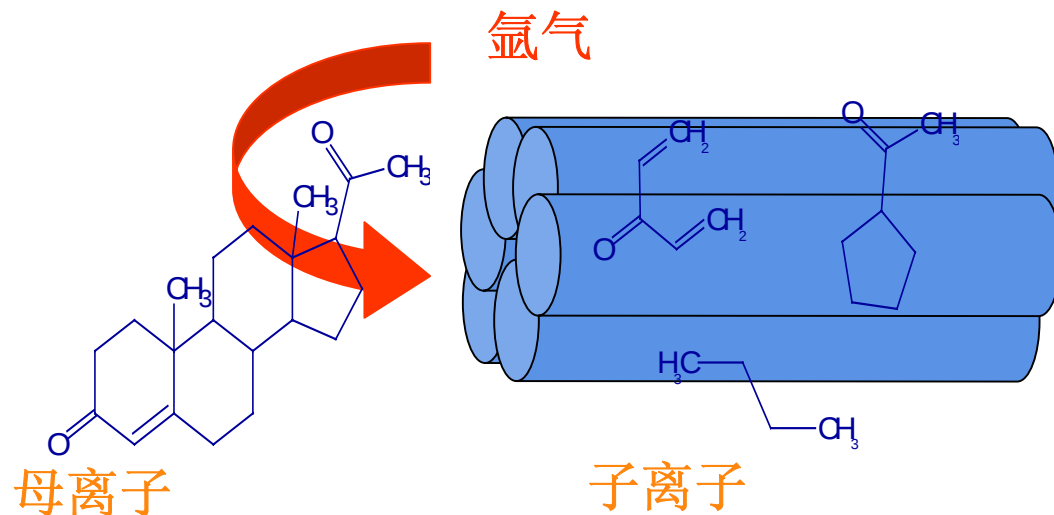
扫描速度对峰型的影响







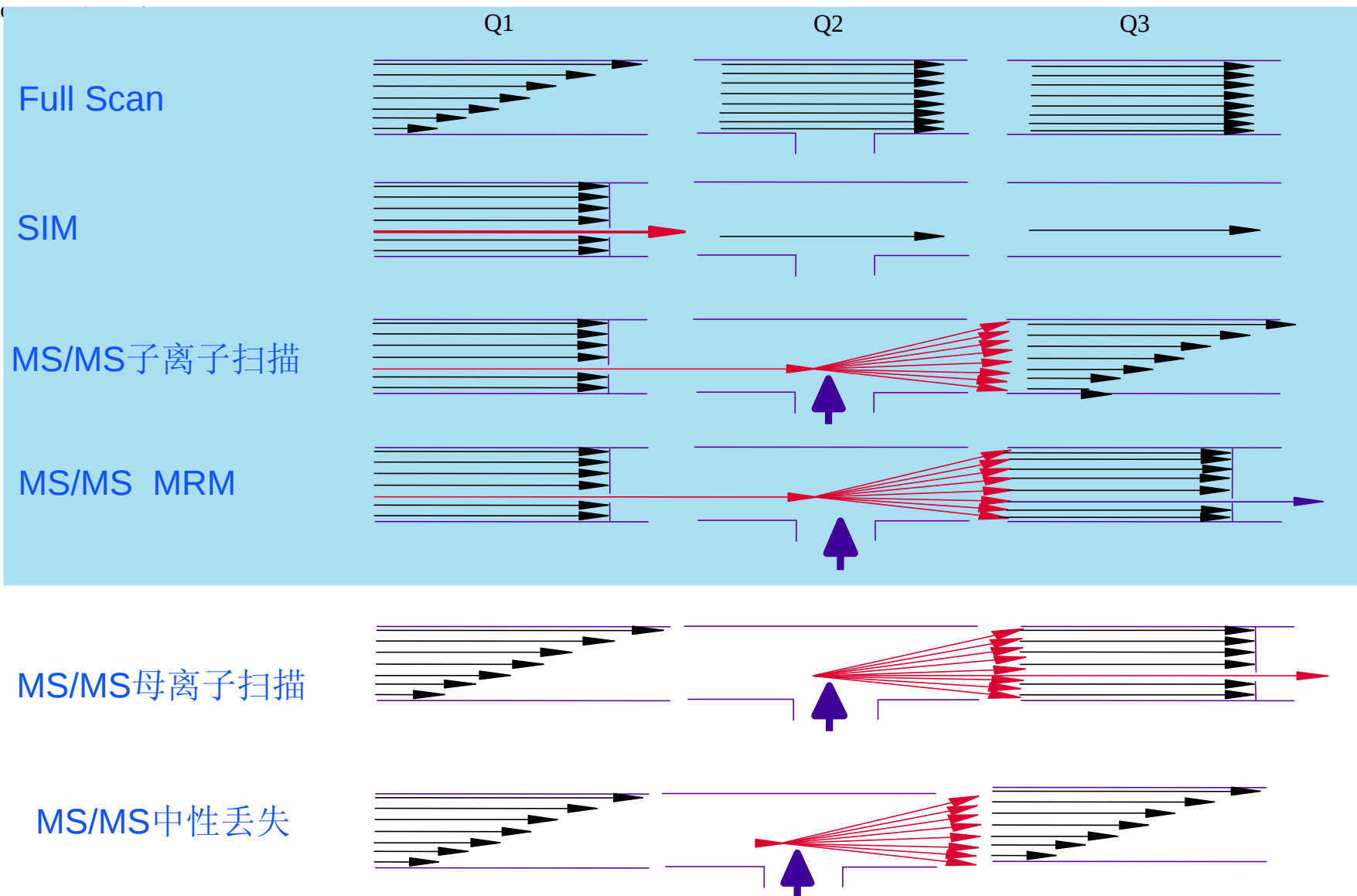


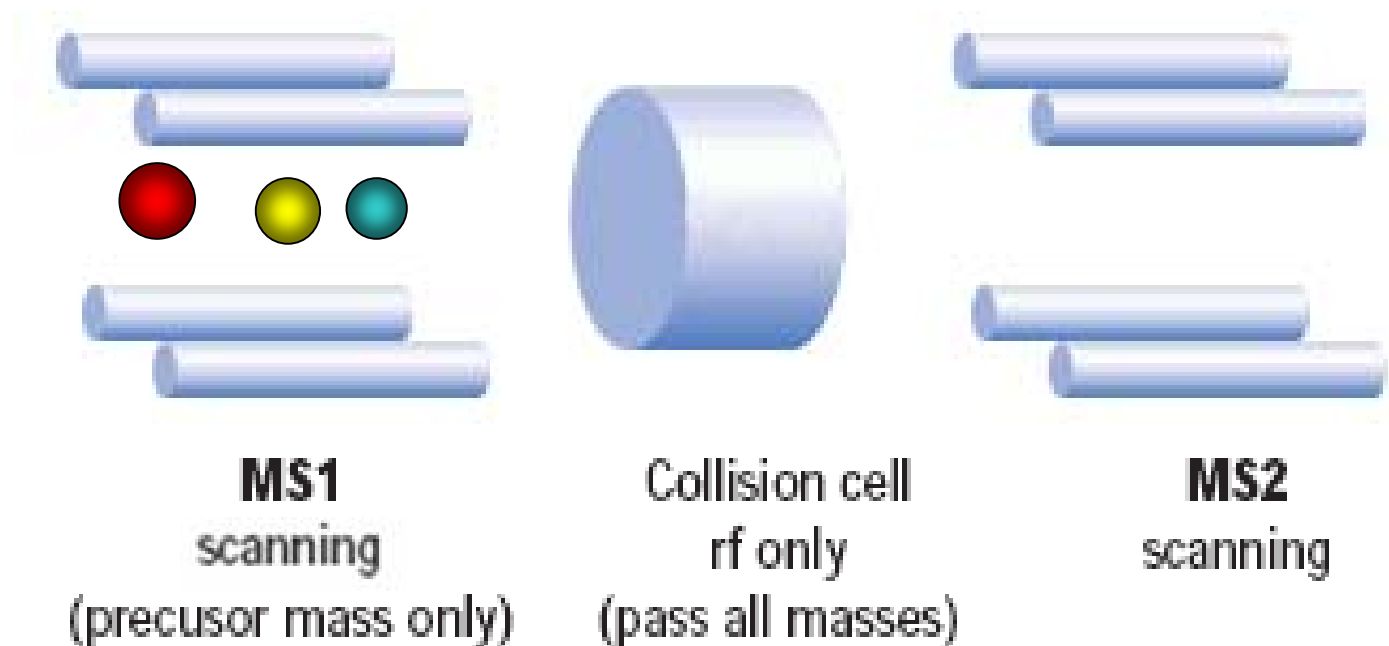


- In the collision cell, the **TRANSLATIONAL ENERGY** of the ions is converted to **INTERNAL ENERGY**.
- Collision conditions (**FRAGMENTATION**) can be controlled by altering:
 - The collision energy (speed of the ions as they enter the cell)
 - Number of collisions undertaken (collision gas pressure)

Waters 串联四极杆质谱 MS/MS 功能

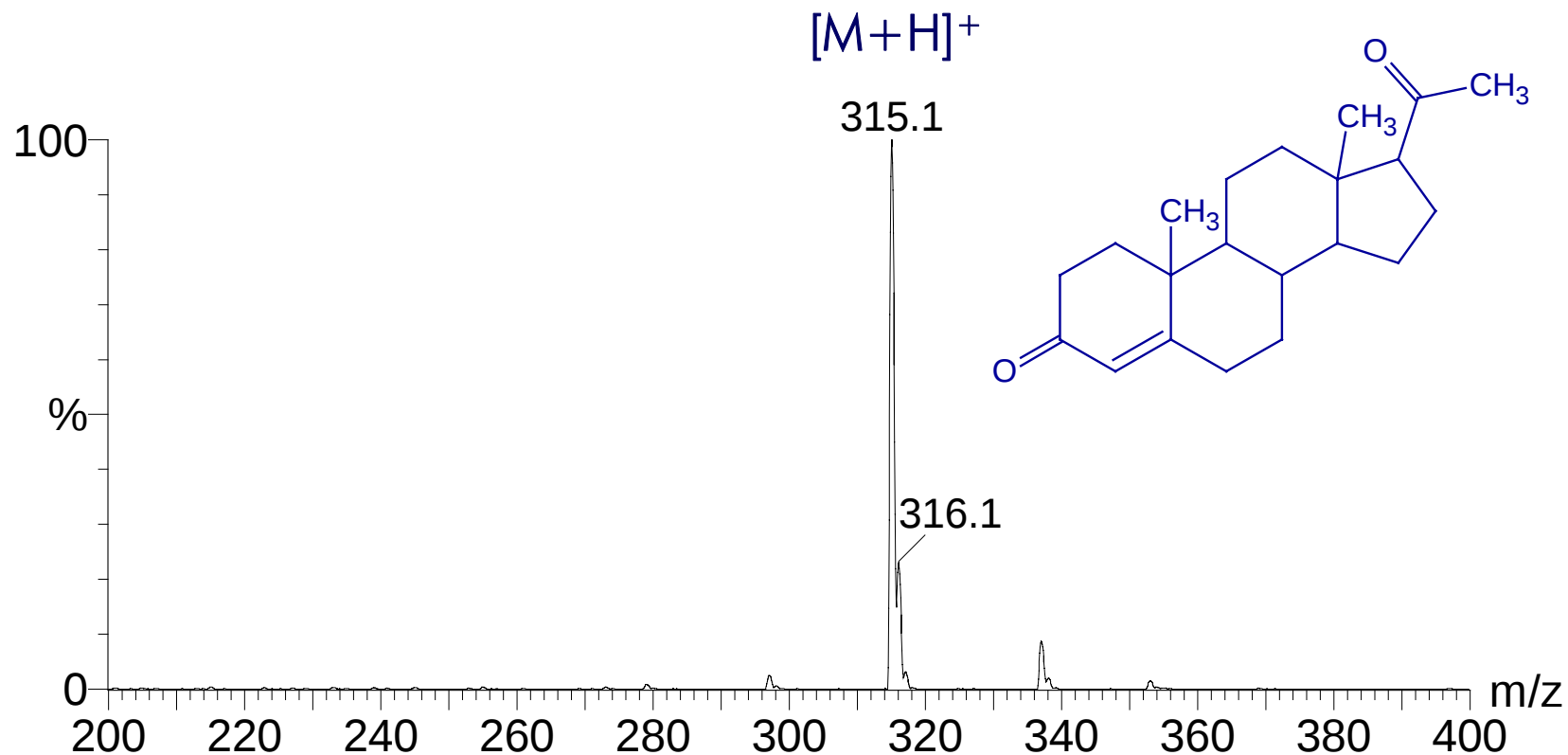
©2011



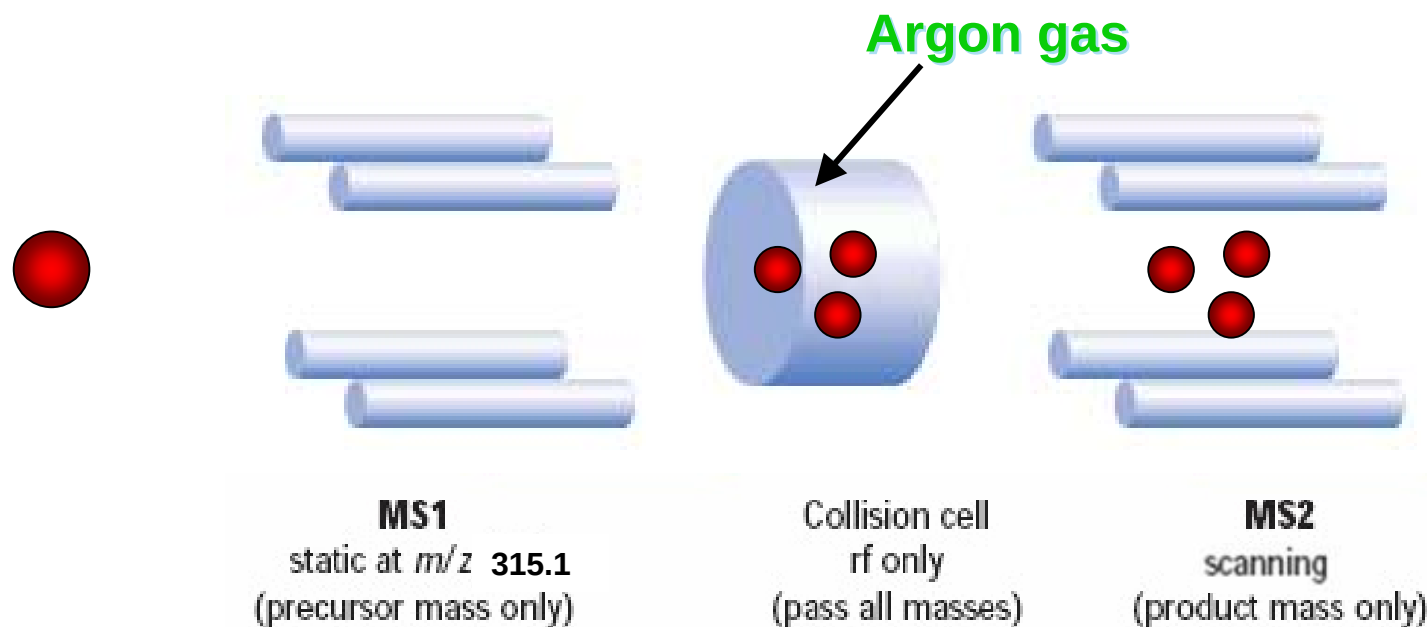


The first quadrupole mass analyzer is *Scanning* over a user-defined mass range. The collision cell and the second quadrupole mass analyzer are operated in the Rf only mode and pass all ions to the detector.

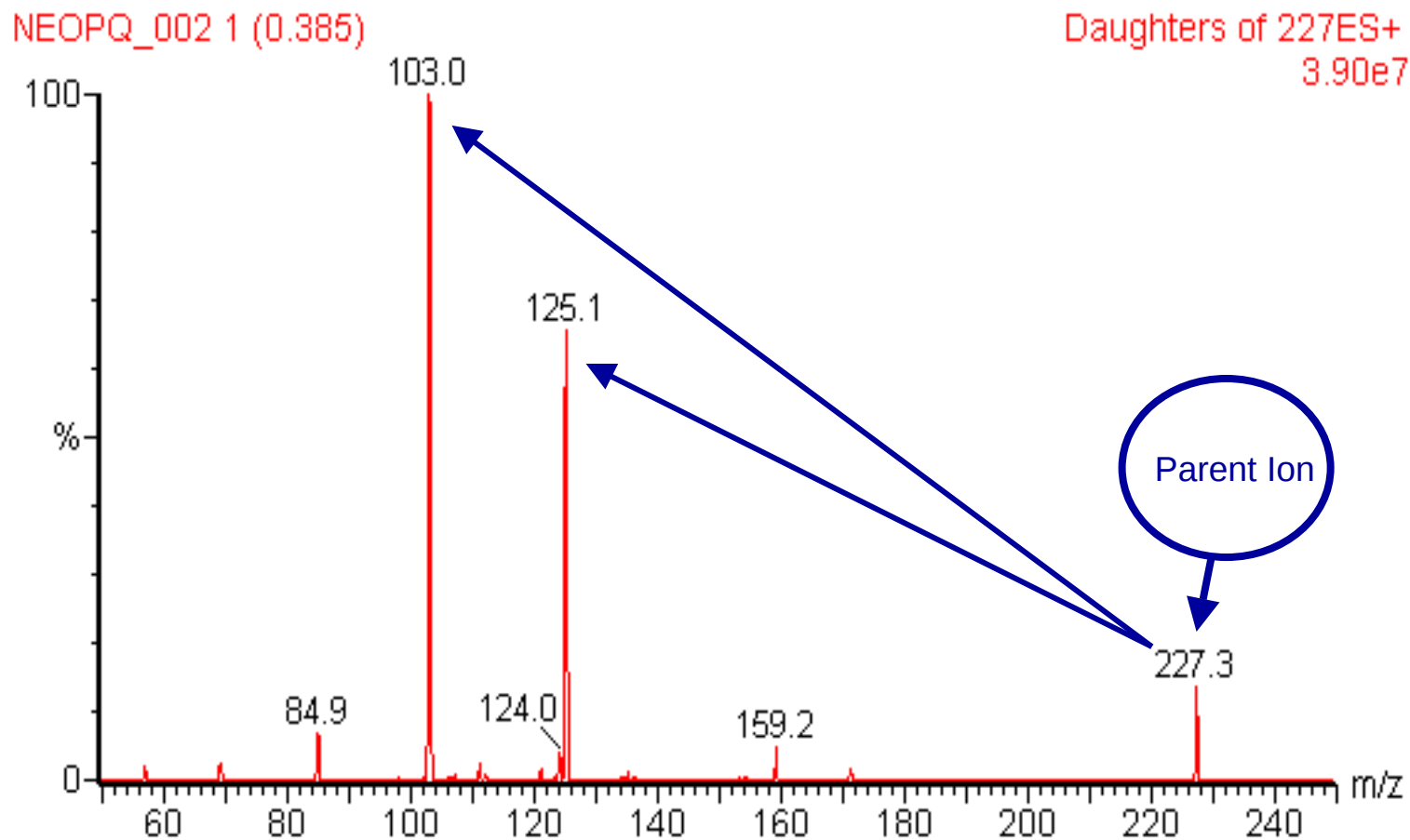
Mass Spectrum: 孕酮



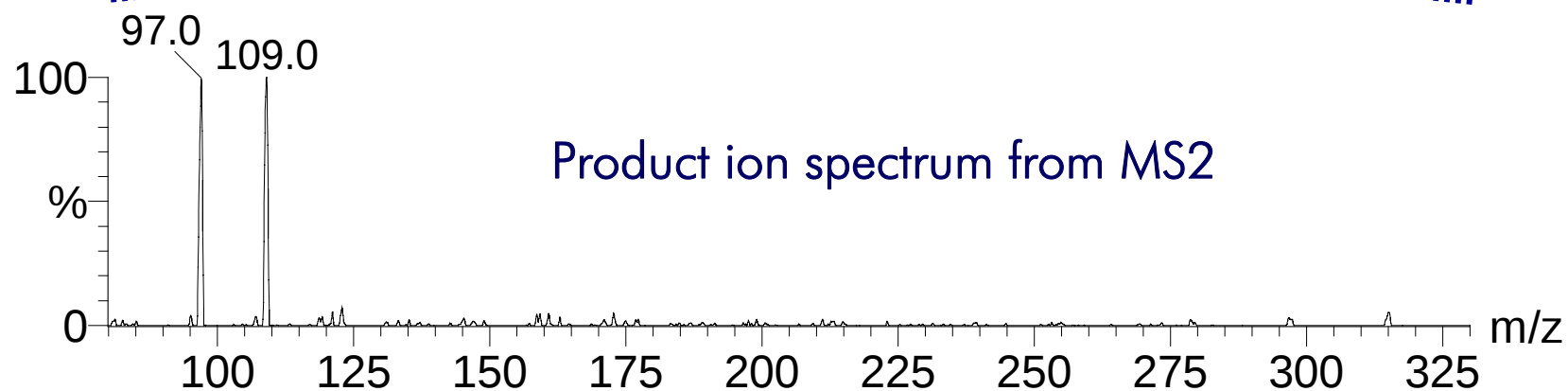
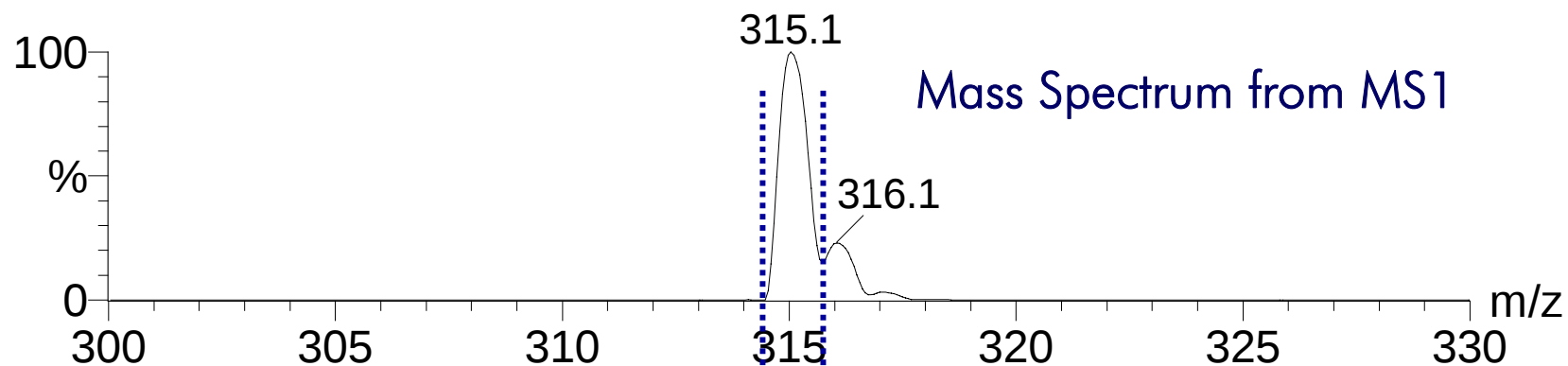
设定的m/z范围为200-400

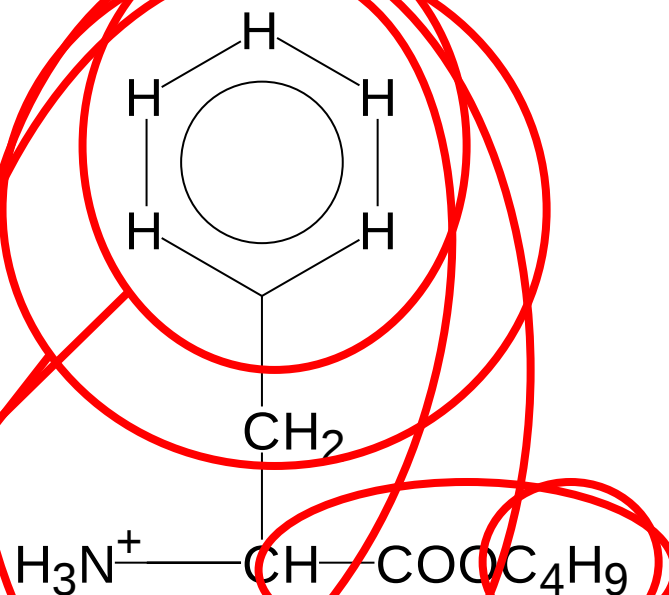


The first quadrupole mass analyzer is fixed, or *Static*, at the mass-to-charge ratio (m/z) of the precursor ion to be interrogated while the second quadrupole is *Scanning* over a user-defined mass range.

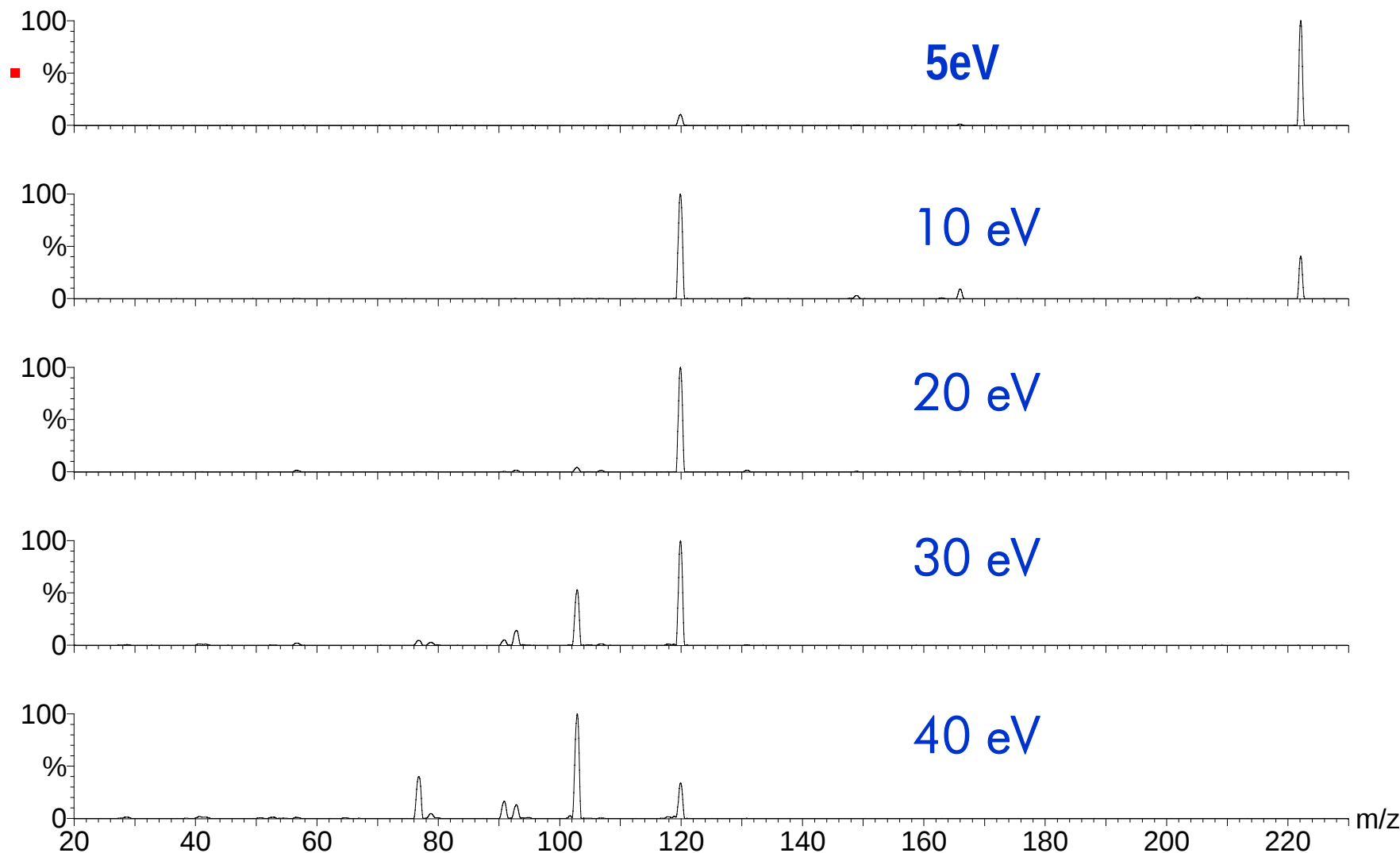


孕酮的子离子质谱图

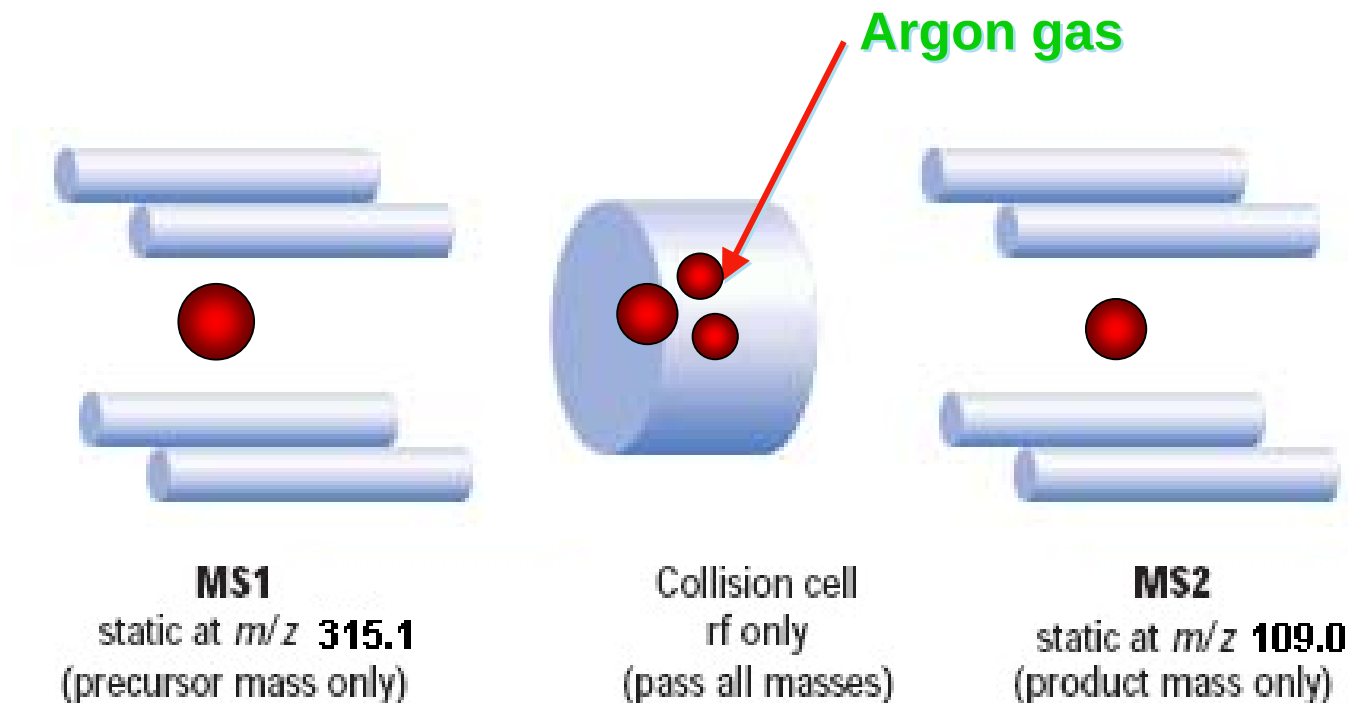




增加碰撞能量,会得到更多的碎片离子

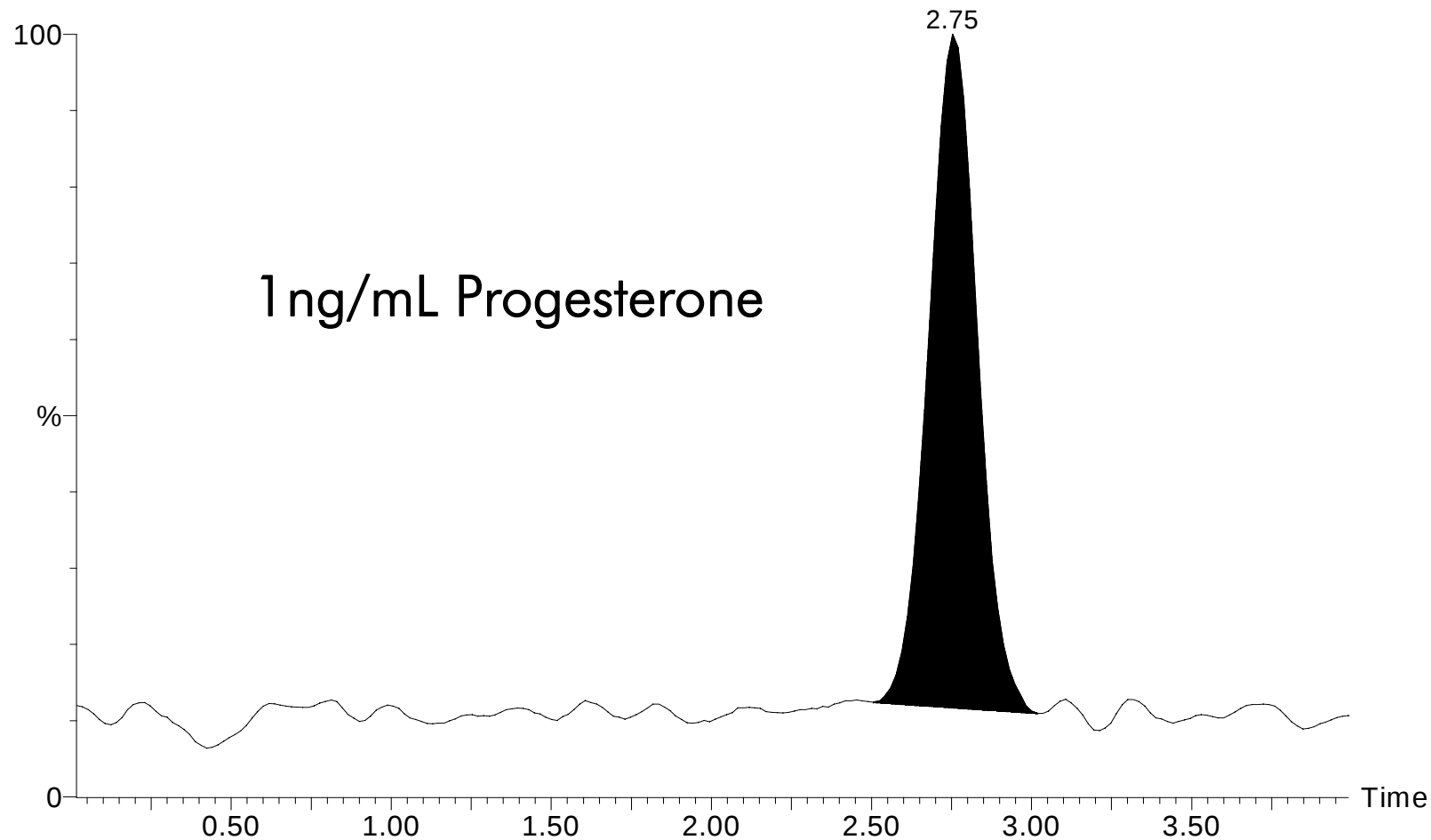


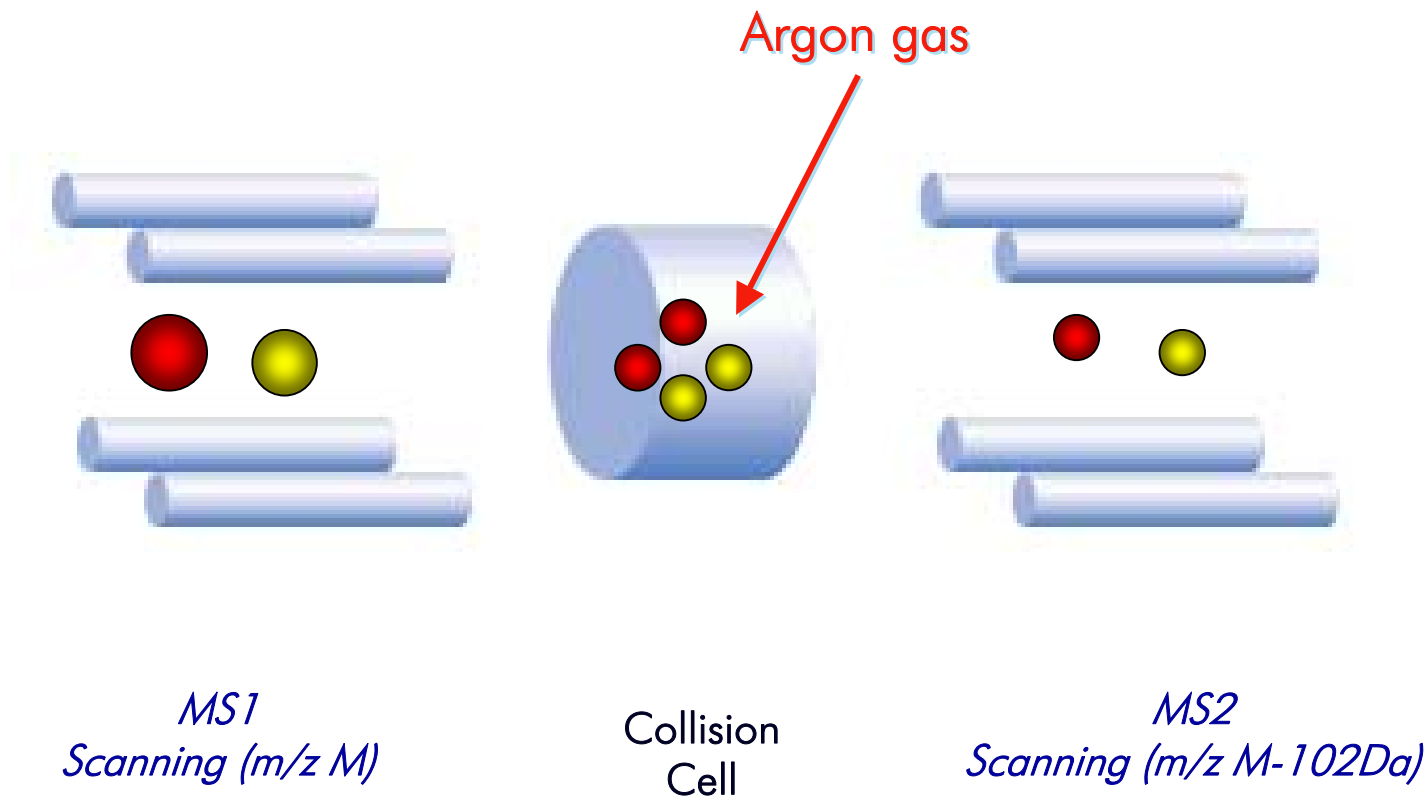
多反应监测—MRM



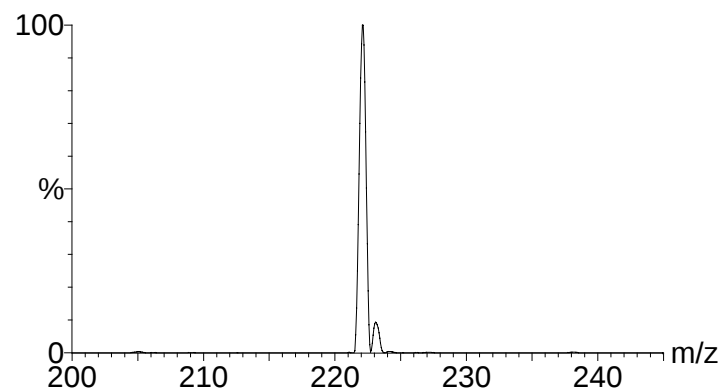
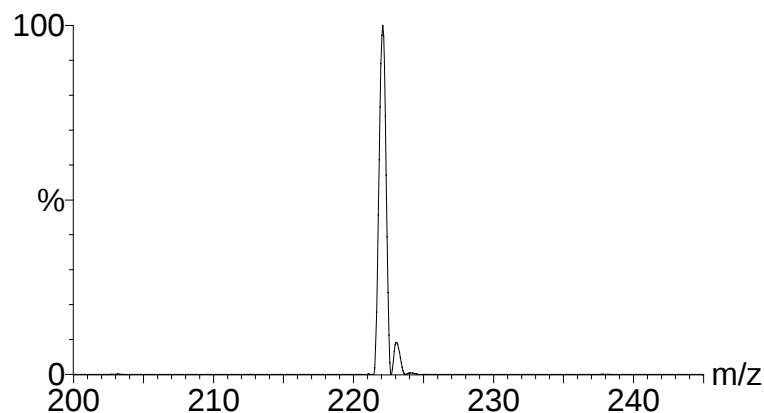
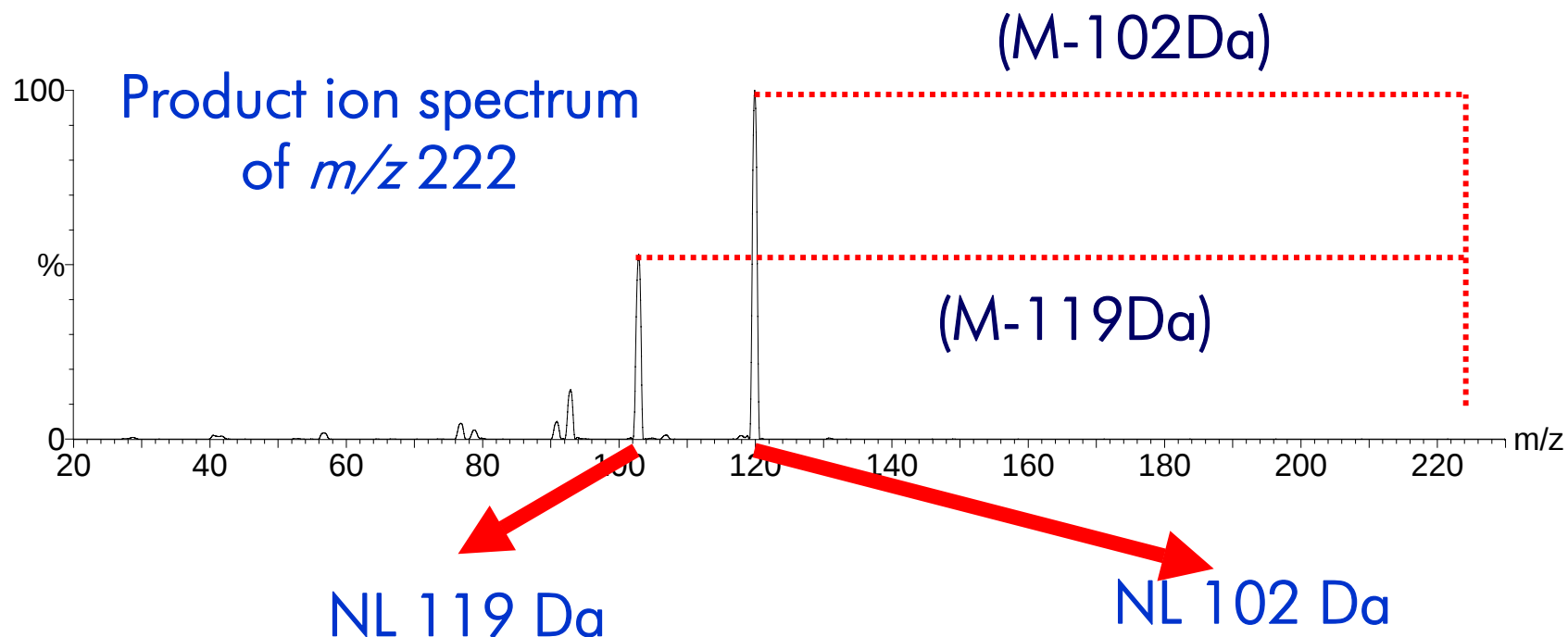
Both the first and second quadrupole mass analyzers are held *Static* at the mass-to-charge ratios (m/z) of the precursor ion and the most intense product ion, respectively.

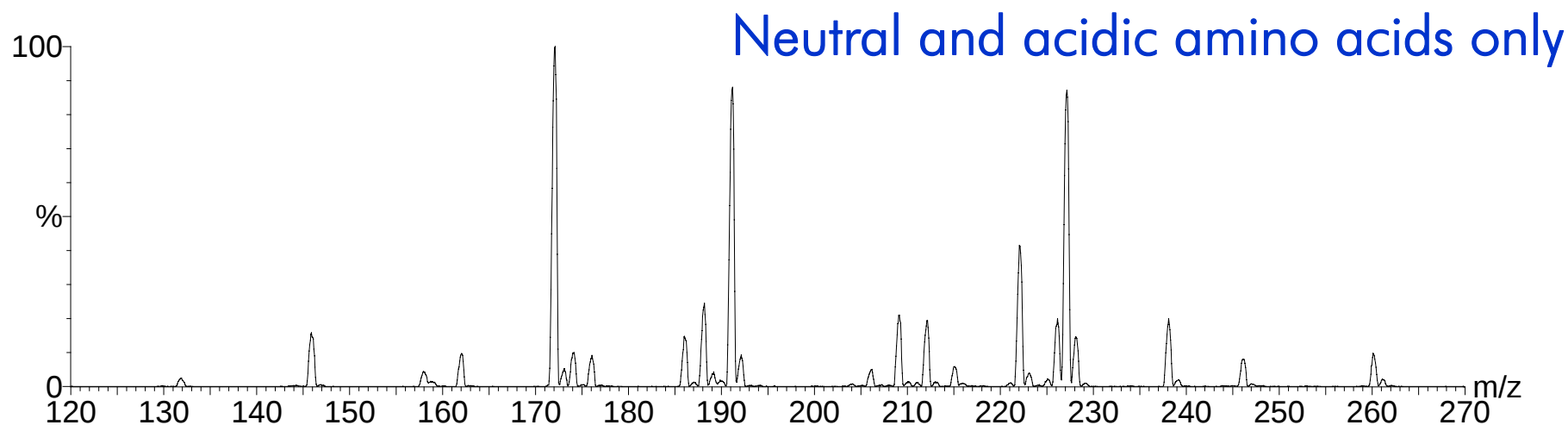
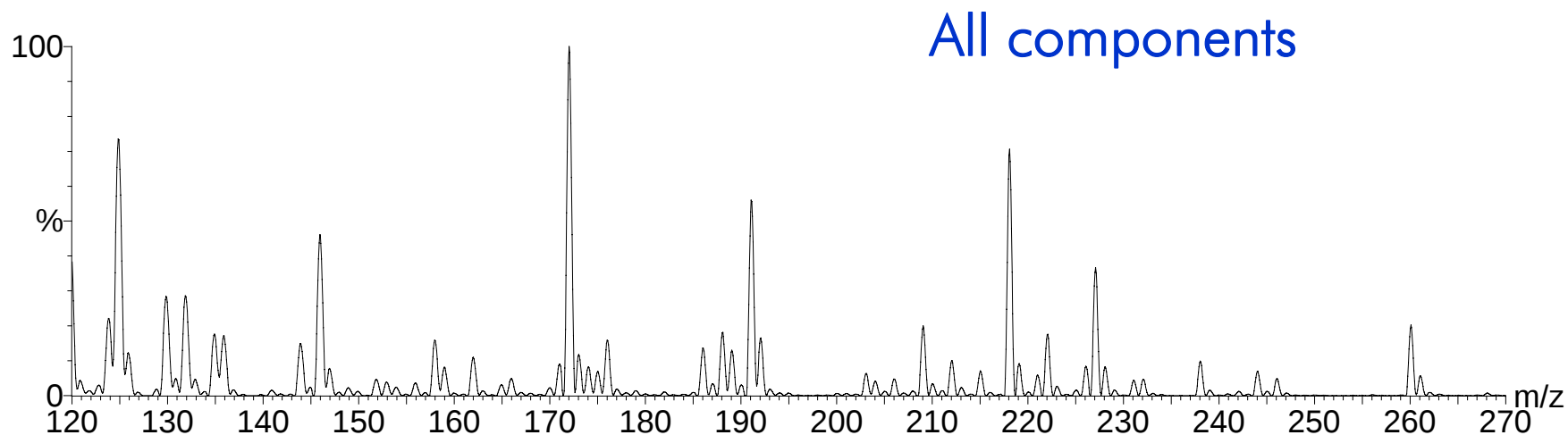
孕酮的MRM 色谱图 m/z 315.1 > 109.0





The first quadrupole mass analyzer is *Scanning*, at the mass-to-charge ratio (m/z) of the precursor ion to be interrogated while the second quadrupole is *Scanning* over a user-defined mass range.

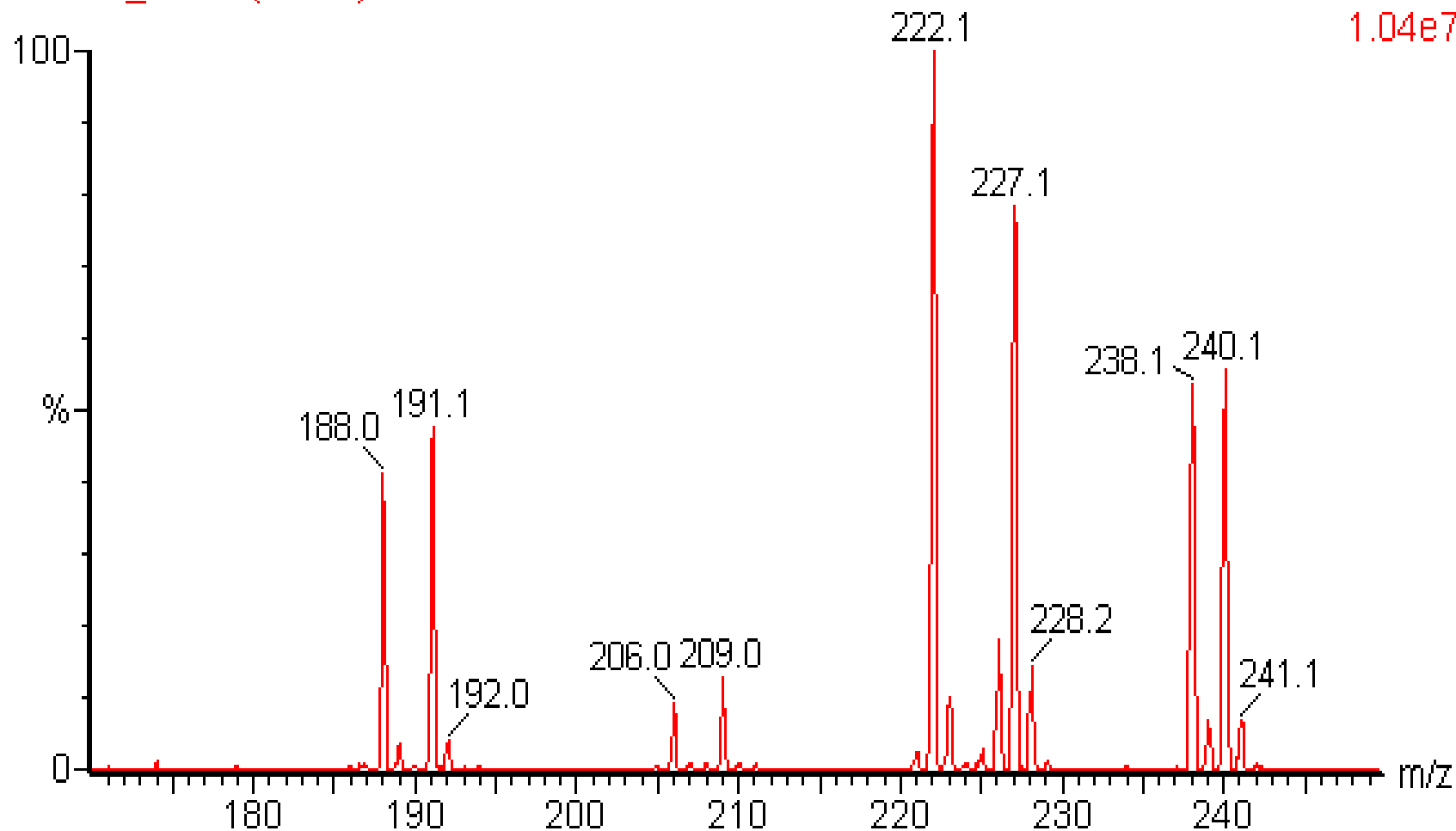


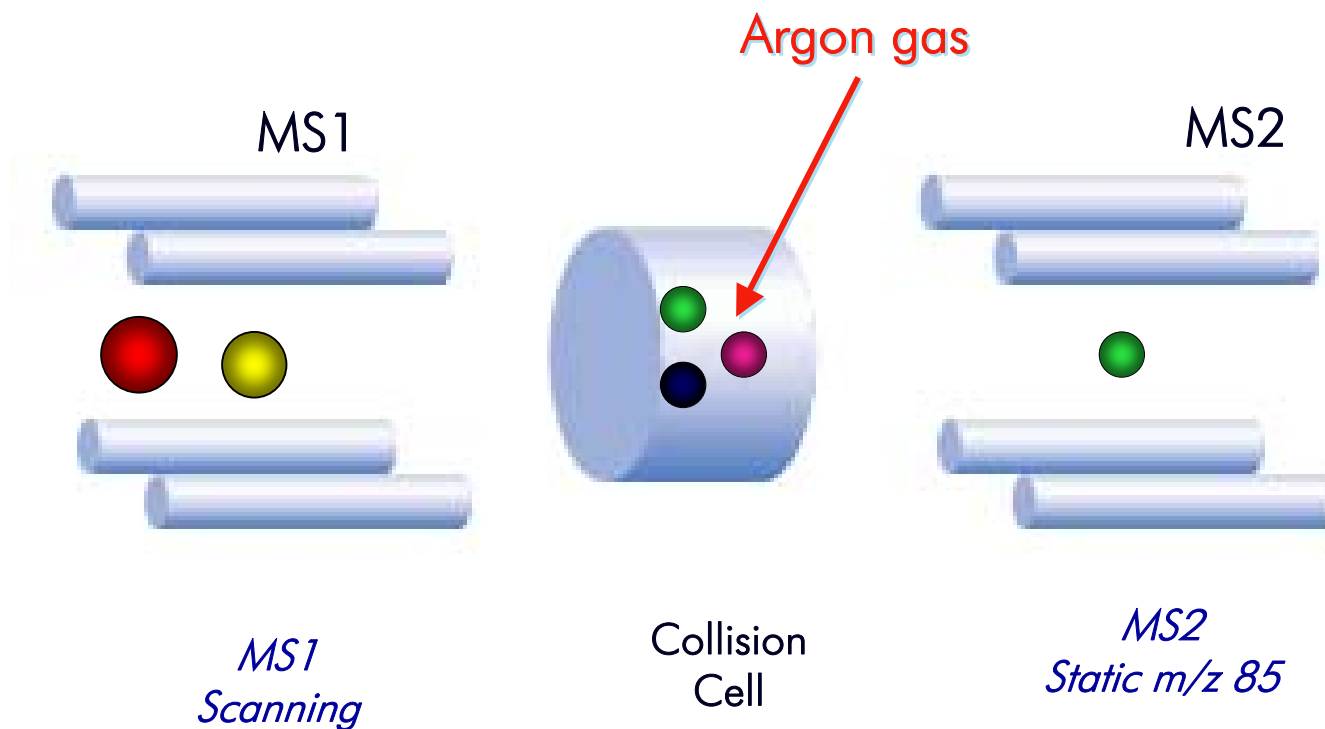


©2005 Waters Corporation

NEOPQ_005 1 (0.560)

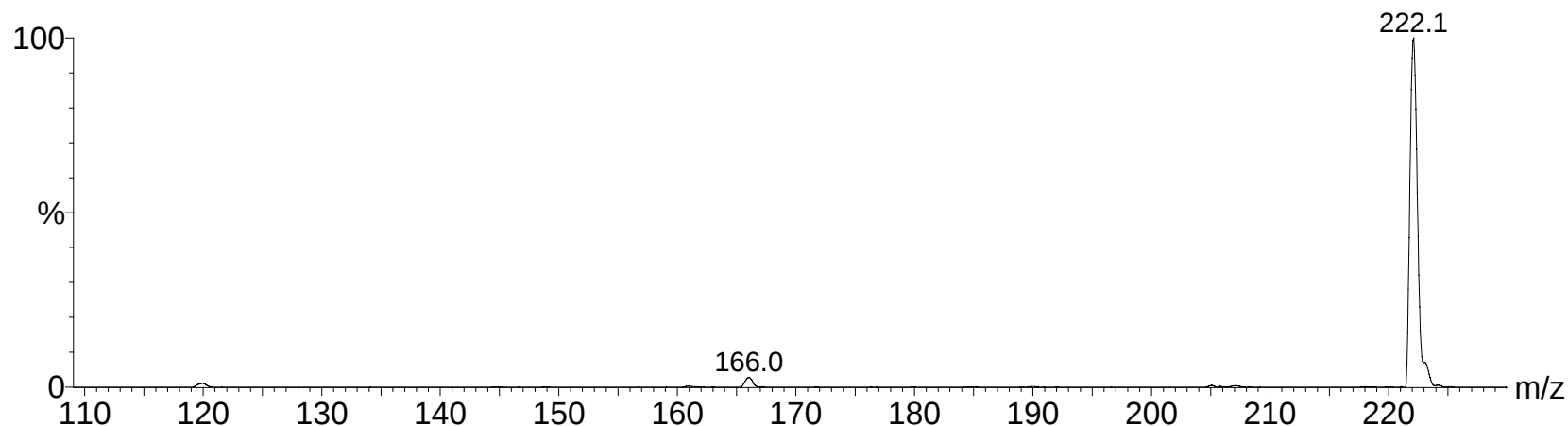
Neutral Loss 102ES+
1.04e7





The first quadrupole mass analyzer is *Scanning* at the mass-to-charge ratio (m/z) of the precursor ion to be interrogated while the second quadrupole is *Static* over a user-defined mass.

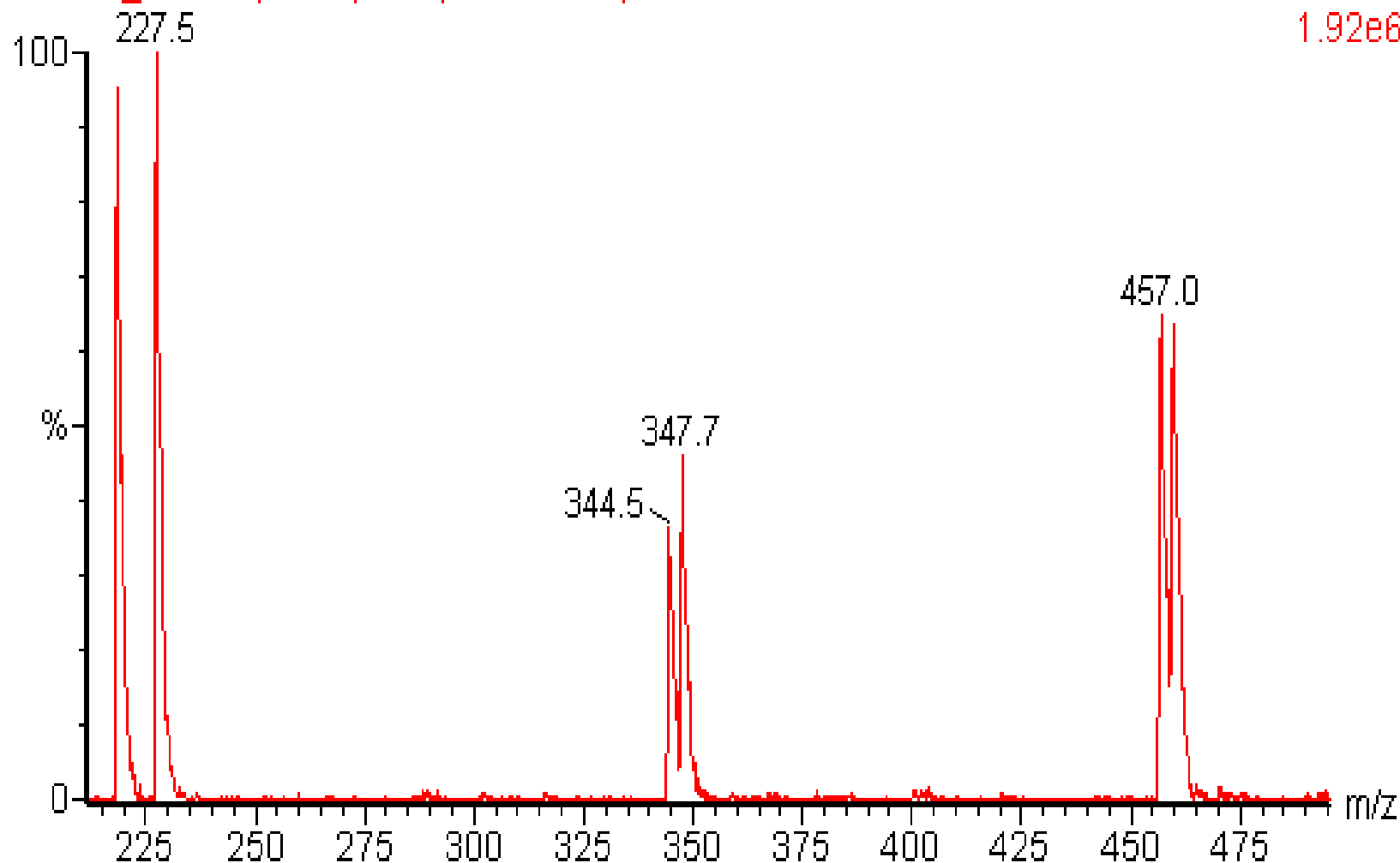
- Predominant precursor of m/z 103 is m/z 222.1 (i.e. protonated butylated phenylalanine)
- Approximately 2% comes from the $(M+H-C_4H_8)^+$
- Less than 1% comes from the immonium ion (m/z 120) through loss of ammonia

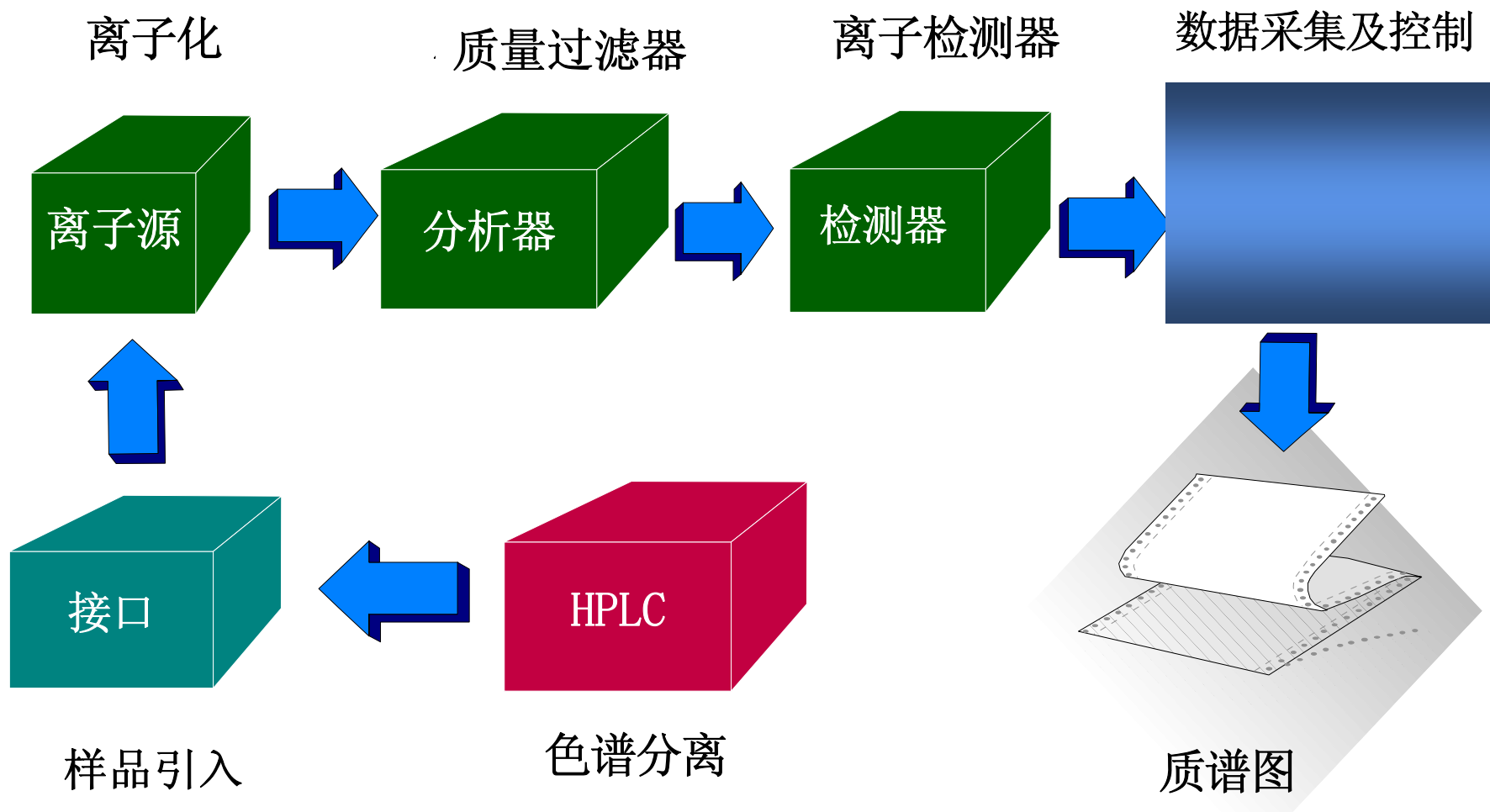


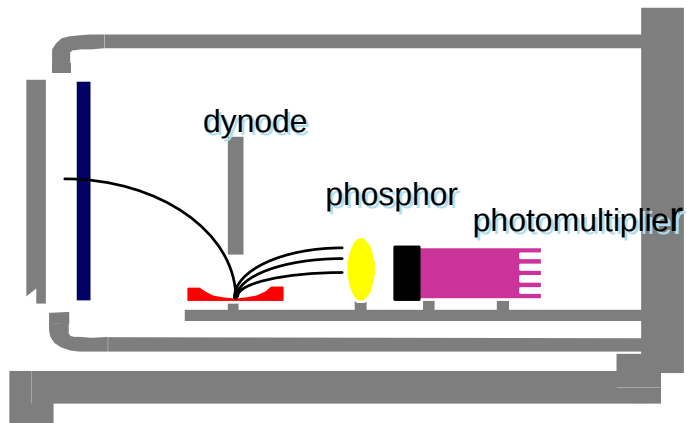
©2005 Waters Corporation

NEOPQ_004 1 (0.385) Sm (SG, 2x0.80)

Parents of 85ES+
1.92e6







- 配有高压打拿极的光电倍增器，灵敏度高，线性范围广，可快速的正、负离子检测
- 10年的使用寿命

