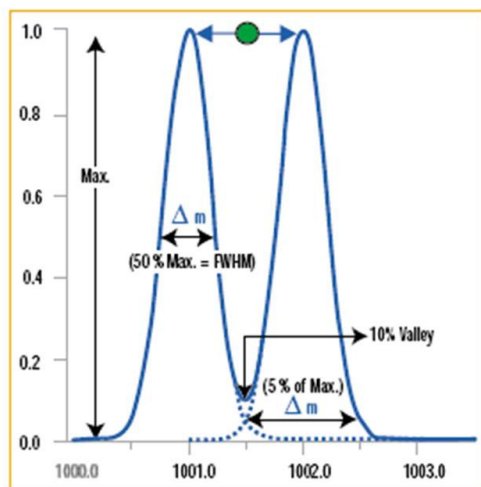


第一章 基础理论

- 基本名词
- 三重四极杆质谱仪的结构及介绍
- 三重四极杆质谱仪的扫描模式

◆ 基本名词

- 质荷比 (m/z): 以原子质量单位表示的离子质量与其电荷数的比值。
- 基峰 (base peak): 在质谱图中, 指定质荷比范围内强度最大的离子峰称作基峰。
- 原子质量单位 (u): 用来衡量原子或分子质量的单位, 它被定义为碳 12 原子质量的 1/12。
- 同位素 (Isotopes): 具有相同质子数, 不同中子数的同一元素的不同核素。
- 总离子流谱图 (TIC, Total Ion Chromatogram): 对一定质荷比范围内的离子流总和进行连续检测与记录的色谱图。
- 提取离子流谱图 (EIC, Extracted Ion Chromatogram): 对某一质荷比的离子流进行连续检测与记录的色谱图。
- 分辨率: 质谱图上两个相邻离子峰分离的程度 (如下图)



磁质谱通常用10%谷来定义分辨率

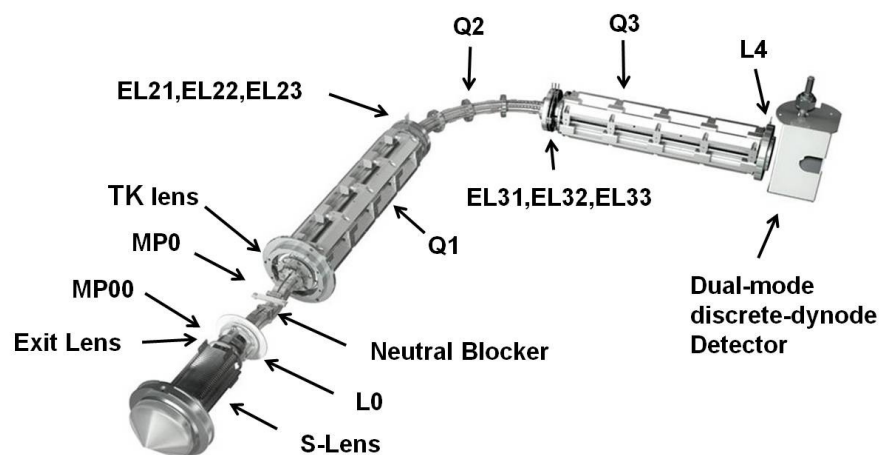
四极杆, 离子阱, 飞行时间质谱通常用半峰宽来定义分辨率。对于不同 m/z 的离子, Δm 不变, R 改变。

在 m 处的分辨率 $R_m = m/\Delta m$

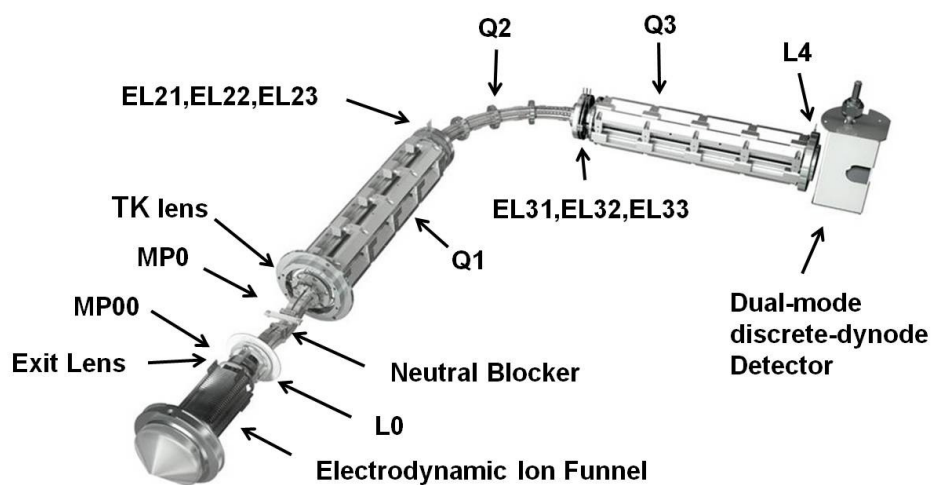
m = measured mass (m/z)

Δm = 指定峰高处的峰宽或相邻两峰之间的质量数差

◆ 三重四极杆质谱仪的结构及介绍



TSQ Endura 的基本结构



TSQ Quantiva 的基本结构

- 基本组成部分包括：
 - (1) 离子源 (Ion Source)
 - (2) 离子透镜系统 (Ion Optics): 离子传输毛细管 (Capillary), S-Lens (TSQ Quantiva 为 Ion Funnel), 预四极杆 MP00&MP0, 透镜 Exit Lens、L0、TK11&TK12、EL2、EL3
 - (3) 质量分析器: 四极杆 (Quadrupole)
 - (4) 检测器 (Detector): 电子倍增器, 打拿极

以下分别介绍各部分的作用及特点

- 离子源

作用：（1）将中性的待测物电离为带电荷的离子；
（2）真空过渡；
（3）去除多余的溶剂；
（4）去除干扰。

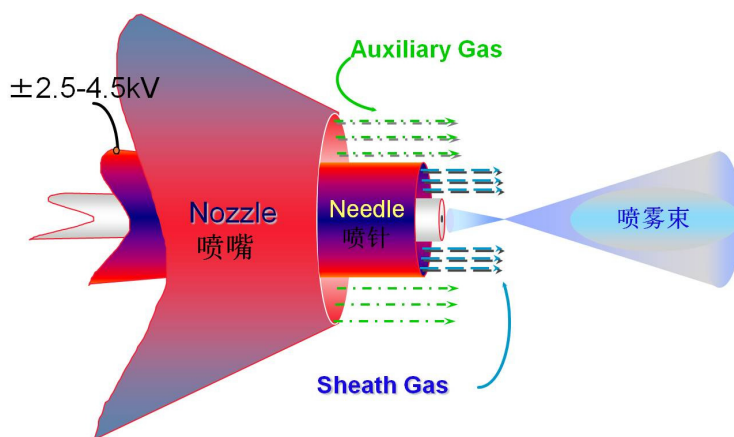
与 LC 相连接的电离源主要为大气压电离源（API, Atmospheric Pressure Ionization），包括：电喷雾电离源、大气压化学电离源、大气压光学电离源

● 电喷雾电离源（ESI, Electrospray Ionization）

主要特点：

- ✓ 离子在液相状态形成
- ✓ 对热不稳定化合物首选
- ✓ 对中高极性化合物首选
- ✓ 可形成多电荷离子，分析蛋白质、多肽等大分子物质
- ✓ 最佳使用流速：200 - 400ul/min
- ✓ 一般来说，流速越高，需要越高的毛细管温度和气体流速。

在离子源中，设计了两路气体帮助样品电离，分别为内层的鞘气（Sheath Gas）和外层可加热的辅助气（Auxiliary Gas），如下图：

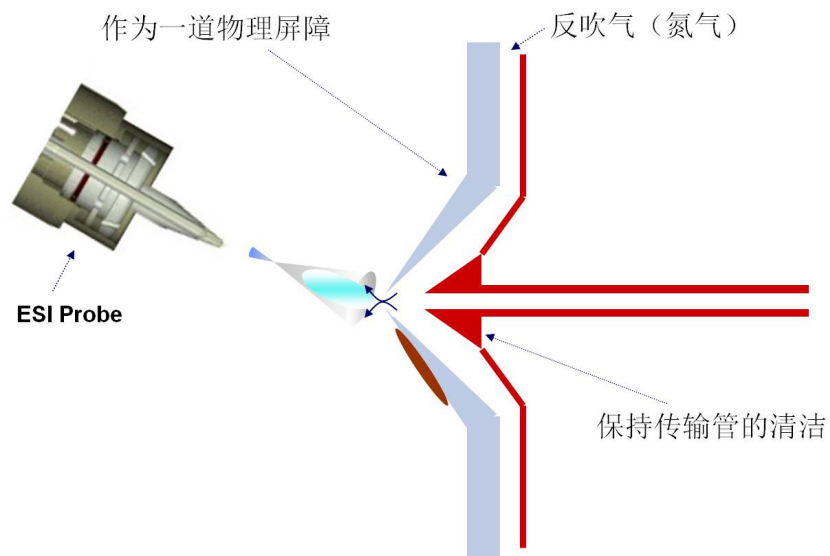


鞘气和辅助气示意图

两路气体均为氮气，其作用分别为：

- ✓ 鞘气：帮助液滴挥发，产生离子；
- ✓ 辅助气：帮助液滴挥发，产生离子；离子导向作用，聚焦离子

此外还有一路反吹气（Sweep Gas），平时可以不开，当液相流动相中添加有难挥发性盐时，可打开该气体（通常设为 2-5），其作用是避免难挥发性盐进入毛细管，残留导致毛细管堵塞，如下图



反吹气示意图

HESI-II 源的操作条件参考值

液体流速 Rate ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Probe 位置	离子传输管 或金属毛细 管 ($^{\circ}\text{C}$)	H-ESI加热 温度($^{\circ}\text{C}$)	鞘气压力 (psi)	辅助气 压力 (arb)	Spray Voltage 喷雾电压 (KV)
5	A~B	300	Off to 50	5	0	+3-3.5 (-2.5-3*)
200	C	350	250 to 300	35	15	+3-3.5 (-2.5-3*)
500	C~D	380	300 to 400	60	30	+3-3.5 (-2.5-3*)
1000	D	400	350 to 450	75	50	+3-3.5 (-2.5-3*)

- 大气压化学电离源 (APCI, Atmospheric Pressure Chemical Ionization)
主要特点:
 - ✓ 离子在气相状态形成
 - ✓ 对易挥发、热稳定的化合物首选
 - ✓ 对低极性化合物首选
 - ✓ 只可形成单电荷离子, 可分析小分子化合物
 - ✓ 最佳使用流速: $500 \mu\text{L}/\text{min}$
 - ✓ 一般来说, 高流速需要更高的鞘气和辅助气流量, 但不需要提高毛细管温度。

APCI 源的操作条件参考值

液体流速 ($\mu\text{L}/\text{min}$)	Probe 位置	离子传输 管或金属 毛细管 ($^{\circ}\text{C}$)	鞘气压力 (arb)	辅助气 压力 (arb)	电晕针电 压 (kV)	蒸发温度 ($^{\circ}\text{C}$)
200~400	B~D	250~350	30~60	0-5	+4 (-5*)	300~400
200~1000	C~D	250~350	75	10~20	+4.5 (-5*)	400~500

- 大气压光学电离源 (APPI, Atmospheric Pressure Photo Ionization)

主要特点:

- ✓ 离子在气相状态形成
- ✓ 适合化学结构中有发色团的化合物

- 流动相的注意事项

常用试剂:

- (1) 水相
- (2) 有机相 (甲醇, 乙腈)

常用添加剂及其量:

- (1) 酸: 甲酸或冰醋酸, 加入量小于 1% (V/V);
 - (2) 碱: 氨水, 加入量小于 1% (V/V); 胺类试剂 (如甲酸胺、乙酸胺), 加入量小于 10mM;
- (注: 三氟醋酸, 三乙胺都不推荐使用)

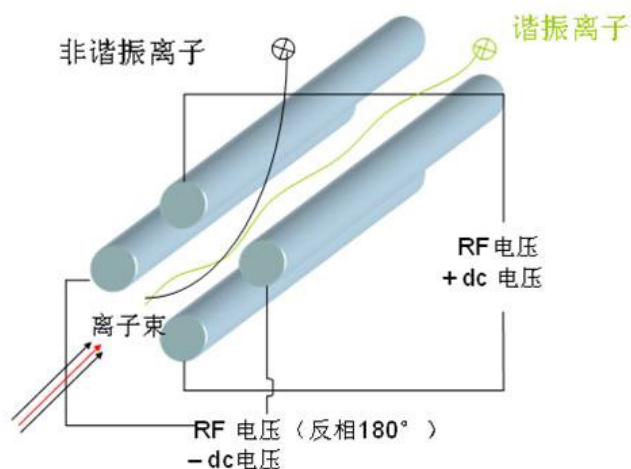
- 离子透镜系统各部分的作用

- (1) 离子传输毛细管: 传输离子, 去除中性干扰
- (2) S-Lens: 在聚焦并传输离子过程中实现溶剂蒸汽脱除, 降低质量歧视效应
- (3) Ion Funnel: 更大效率地捕获并聚焦离子
- (4) 预四极杆 MP00: 聚焦并传输离子
- (5) 预四极杆 MP0 (弯曲四极杆): 聚焦并传输离子, 去除中性干扰
- (6) 透镜 Exit Lens、L0、TK11&TK12、EL2、EL3: 真空隔离; 聚焦并传输离子

- 质量分析器

三重四极杆质谱仪的质量分析器为四极杆, Q1 和 Q3 为主四极杆, Q2 为碰撞池

四极杆的基本工作原理: 在四根电极杆上施加非对称电压形成四极场, 使待测离子成为谐振离子顺利地通过四极杆被检测 (而其他非待测离子变得不稳定, 成为非谐振离子, 不能顺利地通过四极杆而不被检测), 如下图:



碰撞池：90° 弯曲，施加梯度电压，去除中性干扰，待测物的母离子与碰撞气（氙气）分子发生碰撞产生碎片离子。

- 检测器

工作过程：待测离子打到打拿极上产生更多的粒子，这些粒子再打击电子倍增器，使后者溅射出电子，电子通过电子倍增器的放大，转换为电信号被检测。

特点：双模式检测器，离子数量少时采用脉冲计数检测，离子数量多时采用模拟检测。

- ◆ 三重四极杆质谱仪的扫描模式

Scan Mode	Q1	Q2	Q3
全扫描 (Full-Scan)	Scanning	Pass All	Pass All
单离子监测 (SIM, Single Ion Monitoring)	Fixed m/z	Pass All	Pass All
子离子全扫 (Product Ion Scan)	Fixed m/z	Pass All (+ CE)	Scanning
选择反应监测 (SRM, Selected Reaction Monitoring)	Fixed m/z	Pass All (+ CE)	Fixed m/z
中性丢失扫描 (Neutral Loss Scan)	Scanning	Pass All (+ CE)	Scanning
母离子扫描 (Precursor Ion Scan)	Scanning	Pass All (+ CE)	Fixed m/z

注：CE（碰撞能量）