

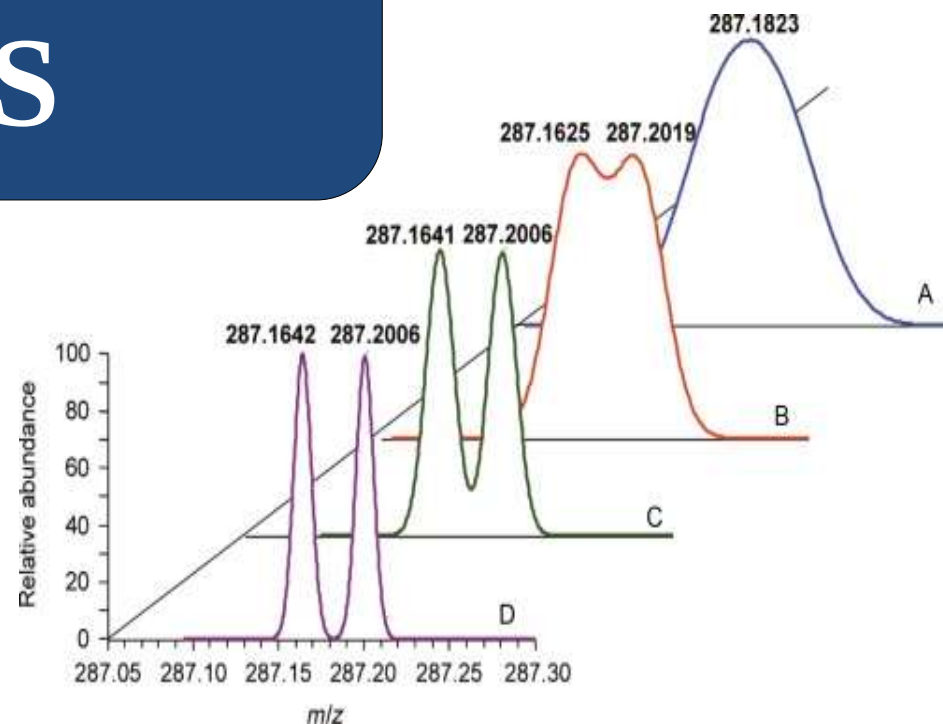


## HỘI THẢO ỨNG DỤNG LC-HRMS TRONG PHÂN TÍCH THỰC PHẨM

# Sự phát triển của các kỹ thuật khối phổ trong LC-MS

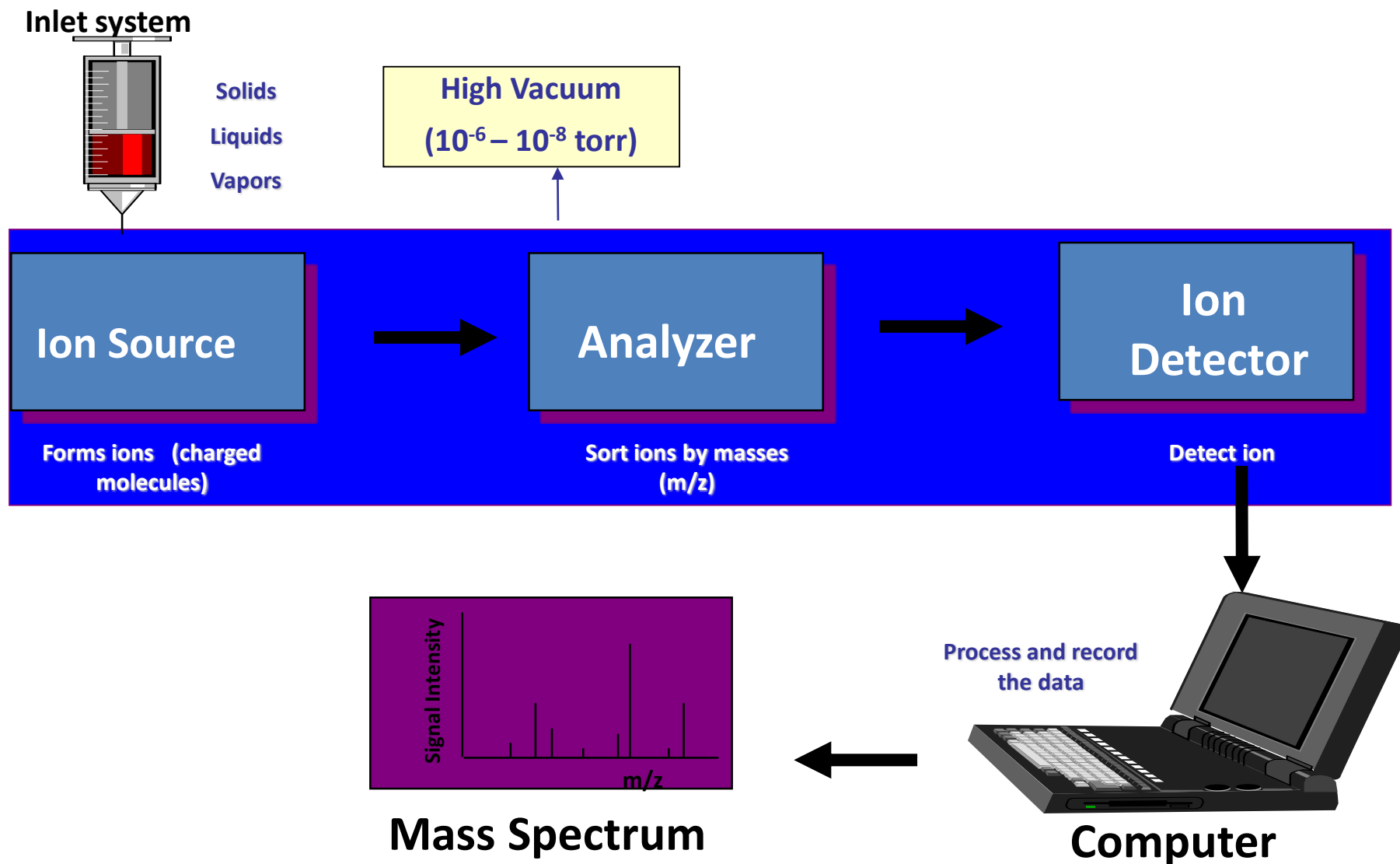
**Trần Cao Sơn**

Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia





# Các thành phần của máy khối phổ

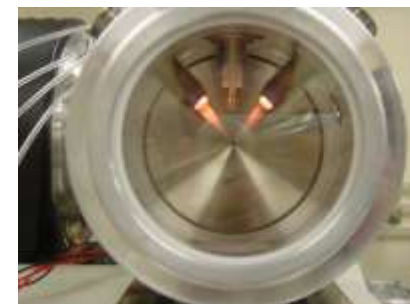


# Nguồn ion hóa trong LC-MS

- **Electrospray ionization (ESI)**

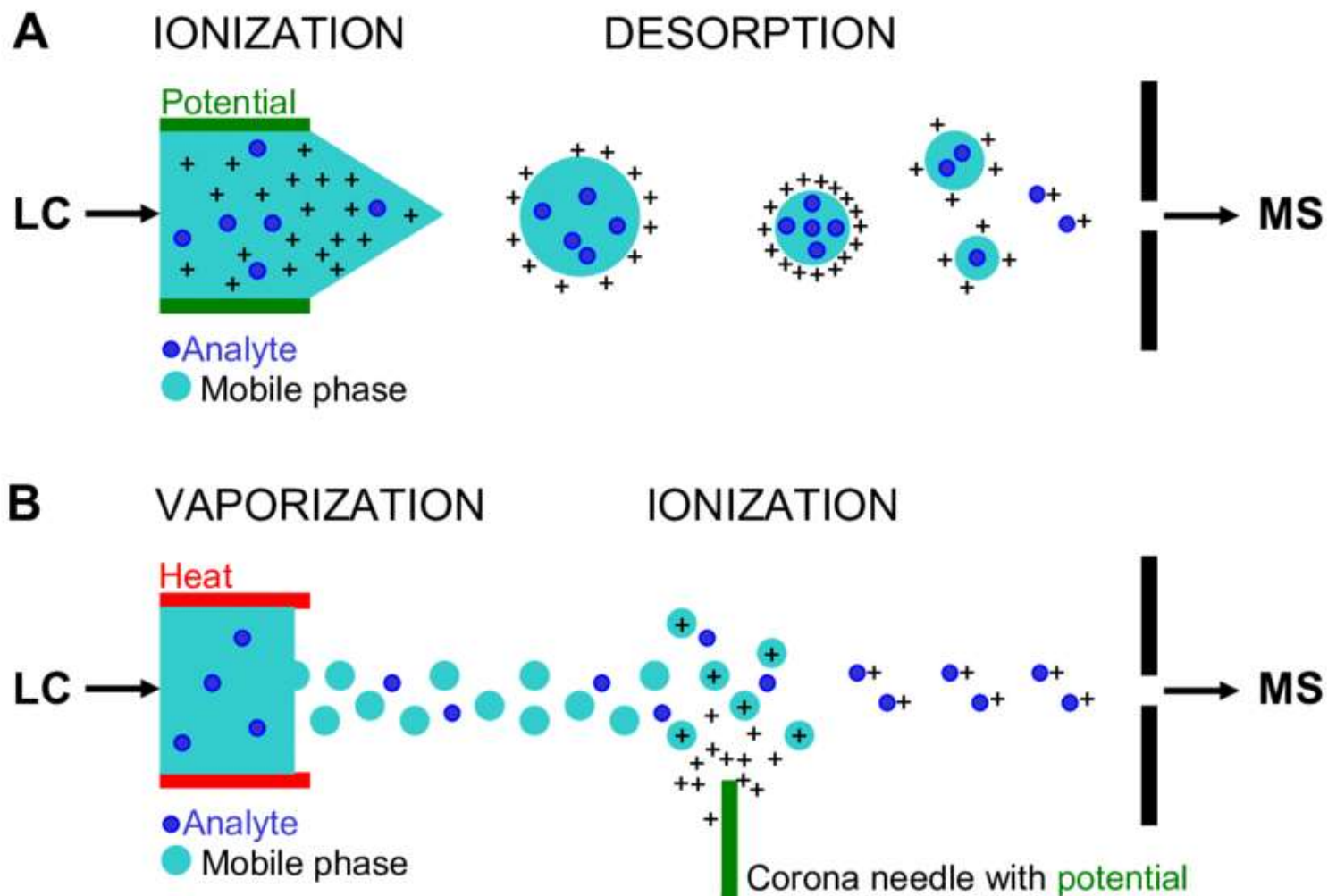
Các biến thể của ESI:

- nESI
- chip ESI
- HESI
- multiplexed ESI

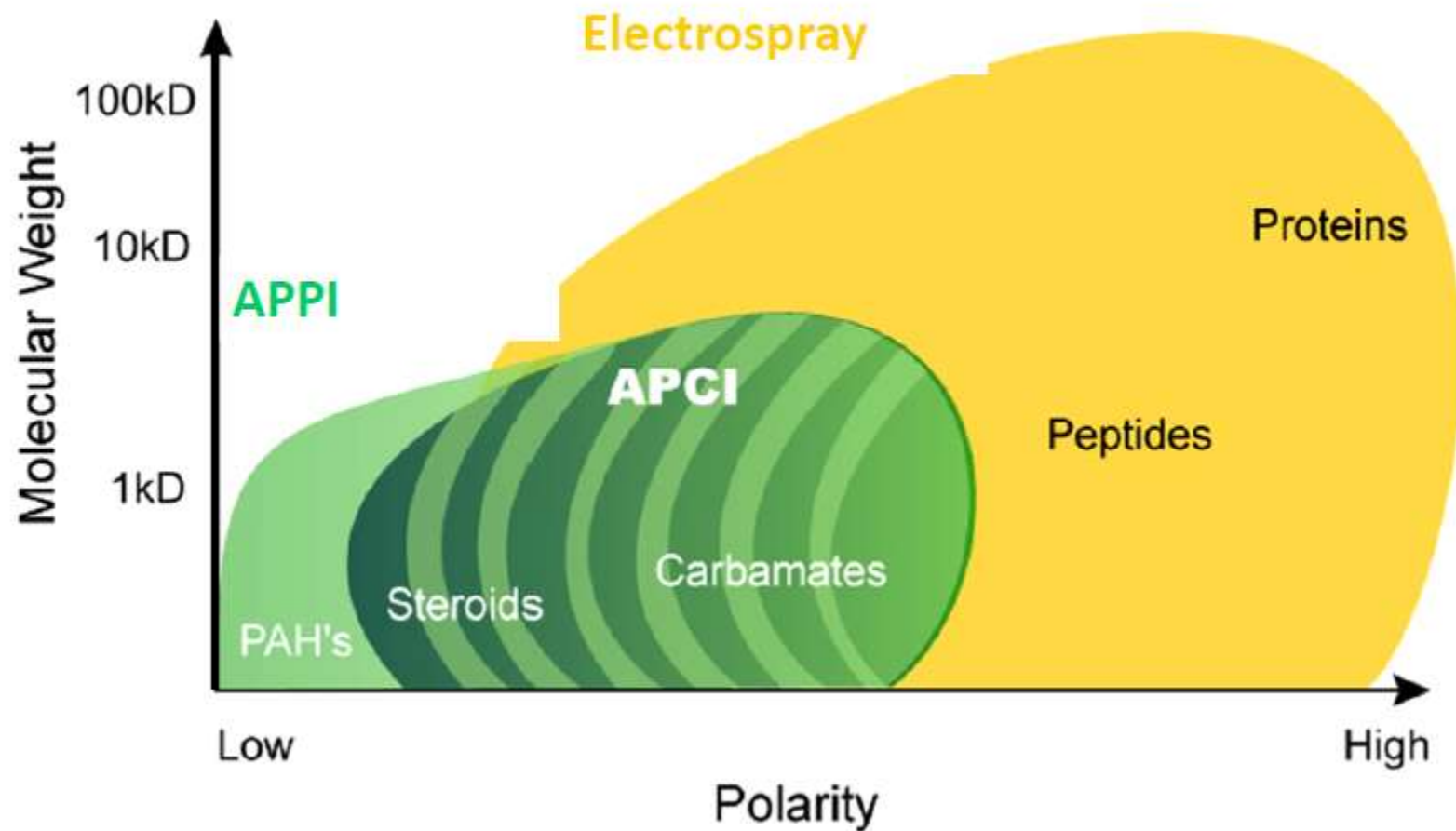


- **Atmospheric Pressure Chemical Ionization (APCI)**
- Atmospheric Pressure Photo Ionization (APPI)
- Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization (MALDI)
- Multi-mode Source

# ESI vs APCI



# Lựa chọn nguồn ion hóa

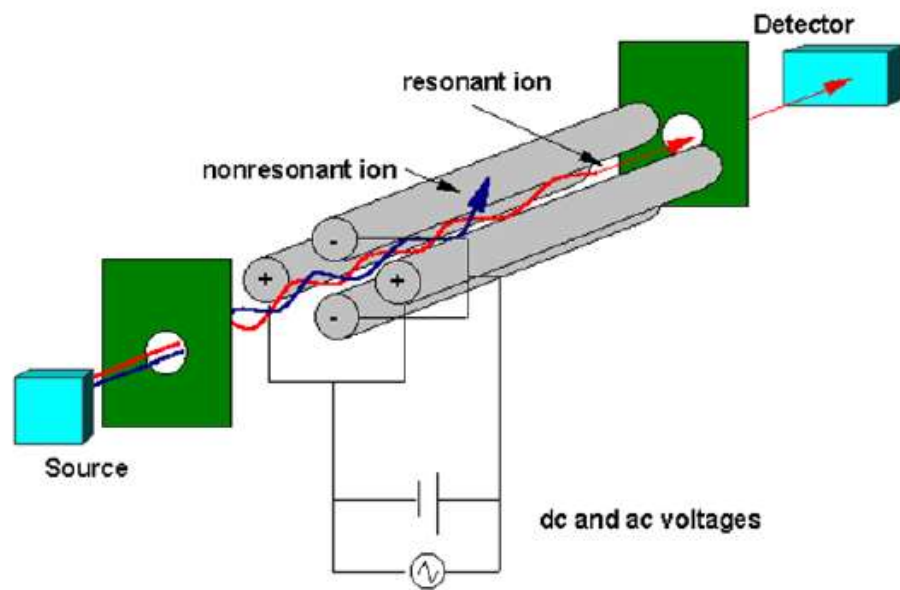




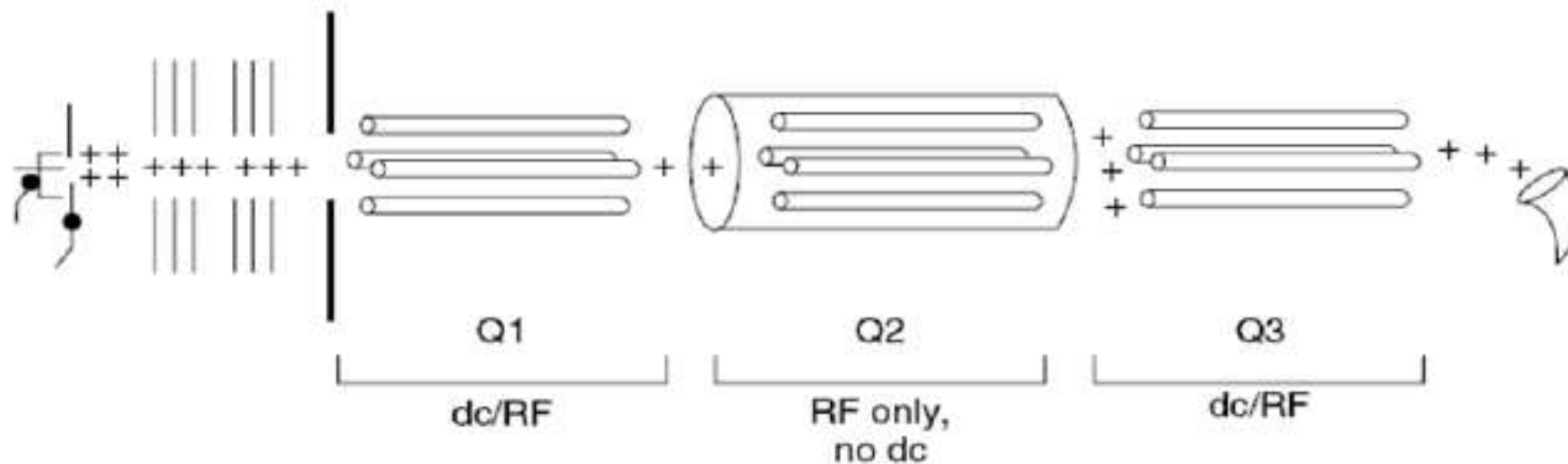
# Bộ phân tích khối (mass analyzer)

- Magnetic Sector (cung từ)
- **Quadrupole (Q - tứ cực)**
  - Triple quadrupole (QQQ - ba tứ cực)
- **Ion trap (bẫy ion)**
  - Q-Trap
- **Time of flight (TOF – thời gian bay)**
  - Q-TOF
- **Orbitrap (Thermo)**
  - Q-Orbitrap
- Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance (FT-ICR)

# Quadrupole



# Triple quadrupole (QQQ)

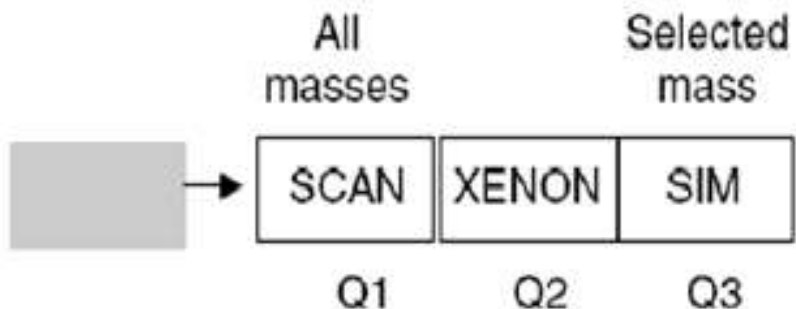


Q1 và Q3 dùng phân tích khối

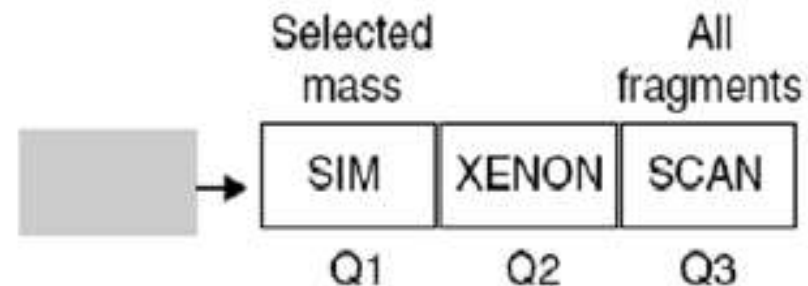
Q2 là buồng va chạm tạo các  
phân mảnh con (**Collision cell**)

# Các chế độ trong QQQ

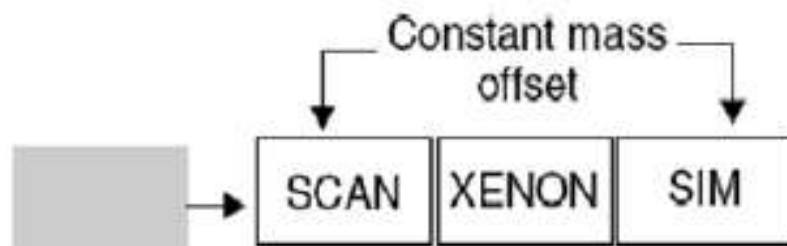
(1) Daughter mode



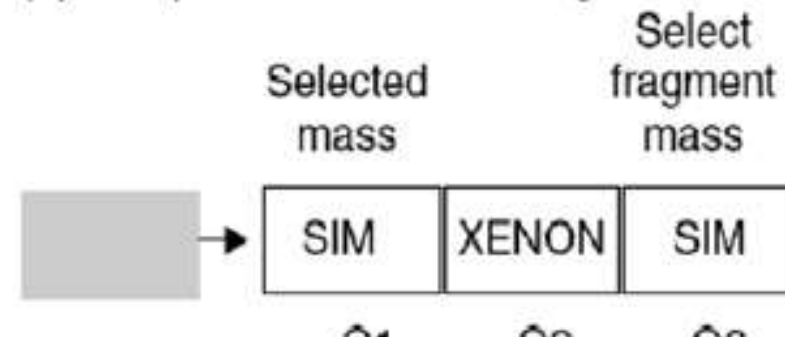
(2) Parent mode



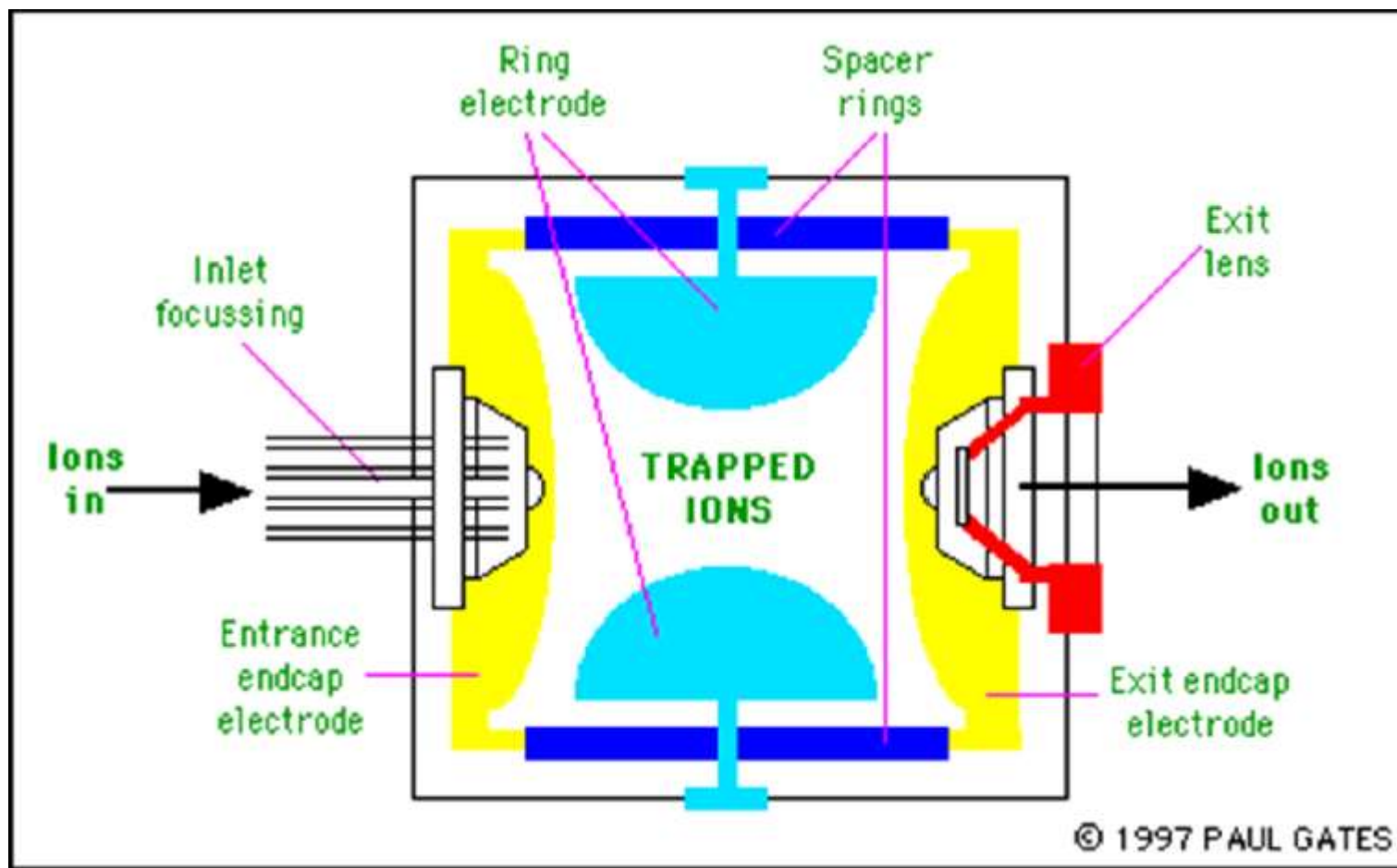
(3) Neutral loss "link" scan



(4) Multiple reaction monitoring



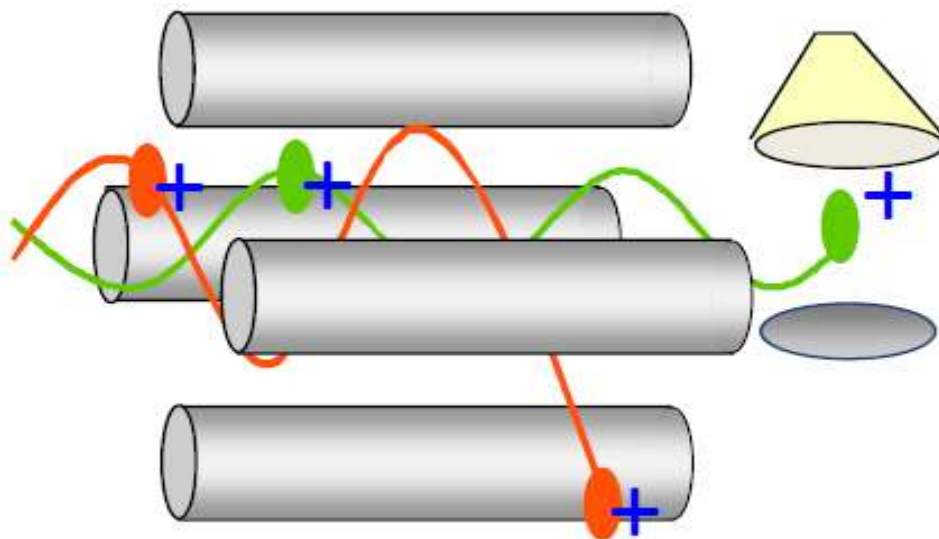
# Bẫy ion (Trap)



# Quad vs Trap

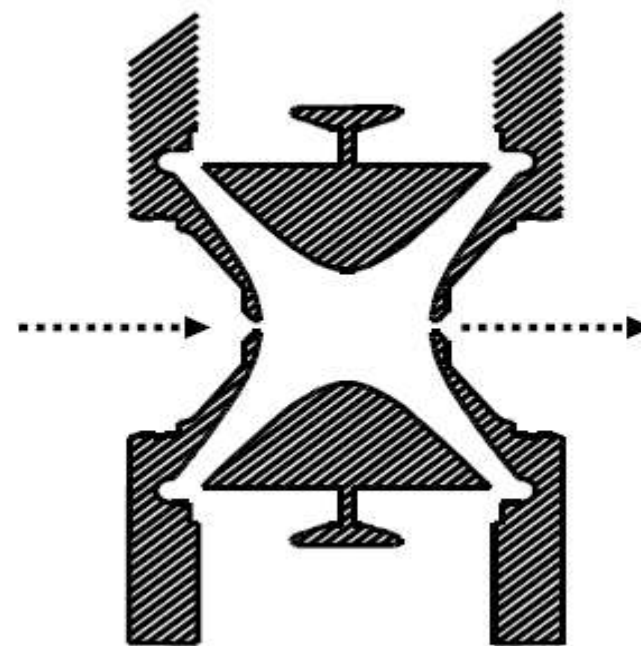
- **Quadrupole**

- separation in space

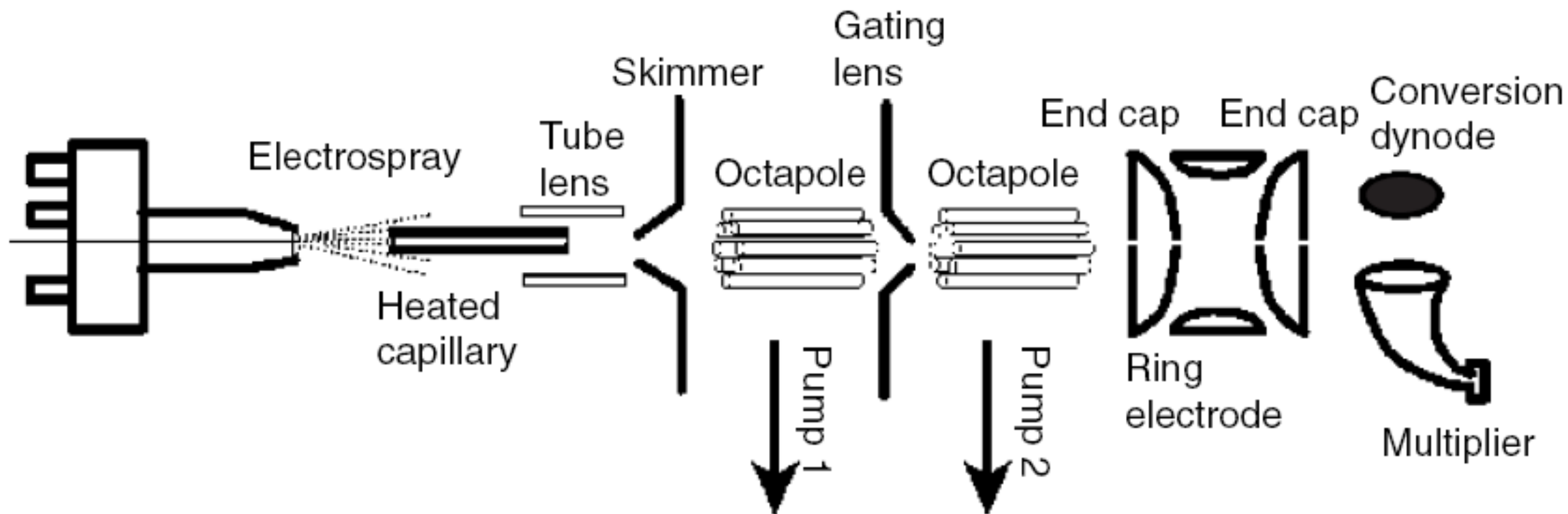


- **Ion Trap**

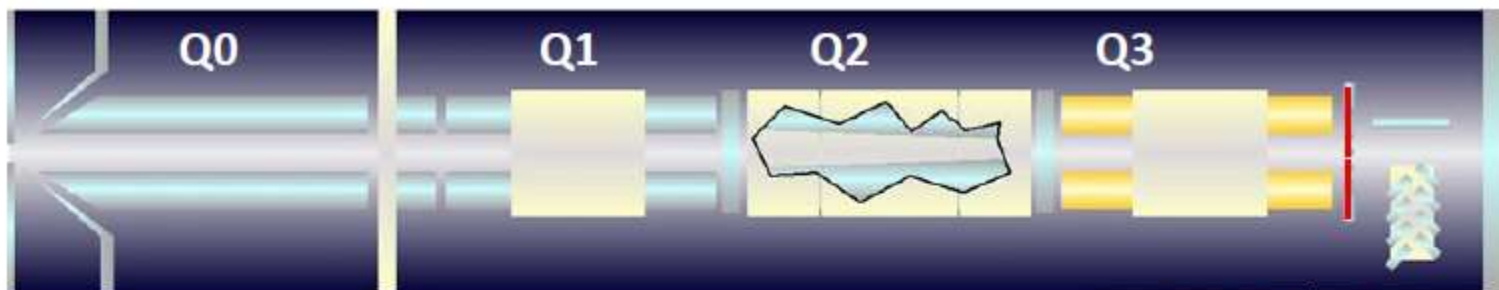
- separation in time



# Quadrupole Ion trap (Paul Ion trap = 3D ion trap)



## Kết nối tứ cực và bẫy ion



- Q3 là tứ cực lai đóng vai trò như bẫy ion  
(LIT = Linear ion trap)
- Q3 có thể hoạt động như tứ cực hoặc bẫy ion

# TOF (Time of flight)

- Phân tích thời gian bay.

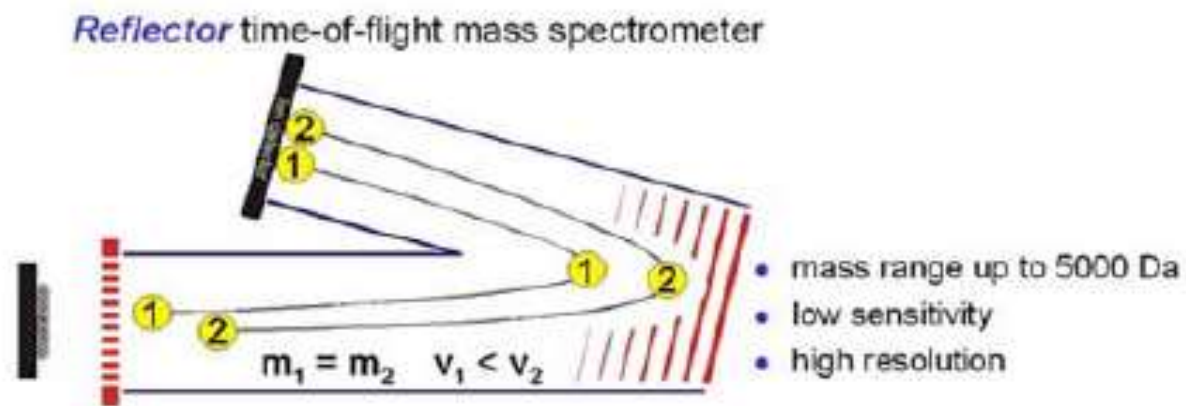
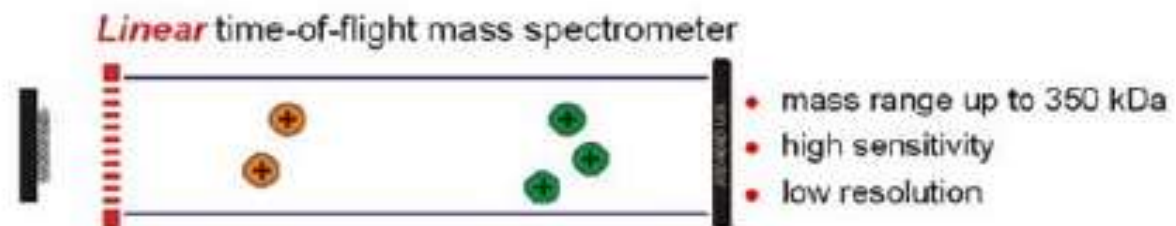
- Linear TOF

- Reflection TOF

– kéo dài khoảng đường đi

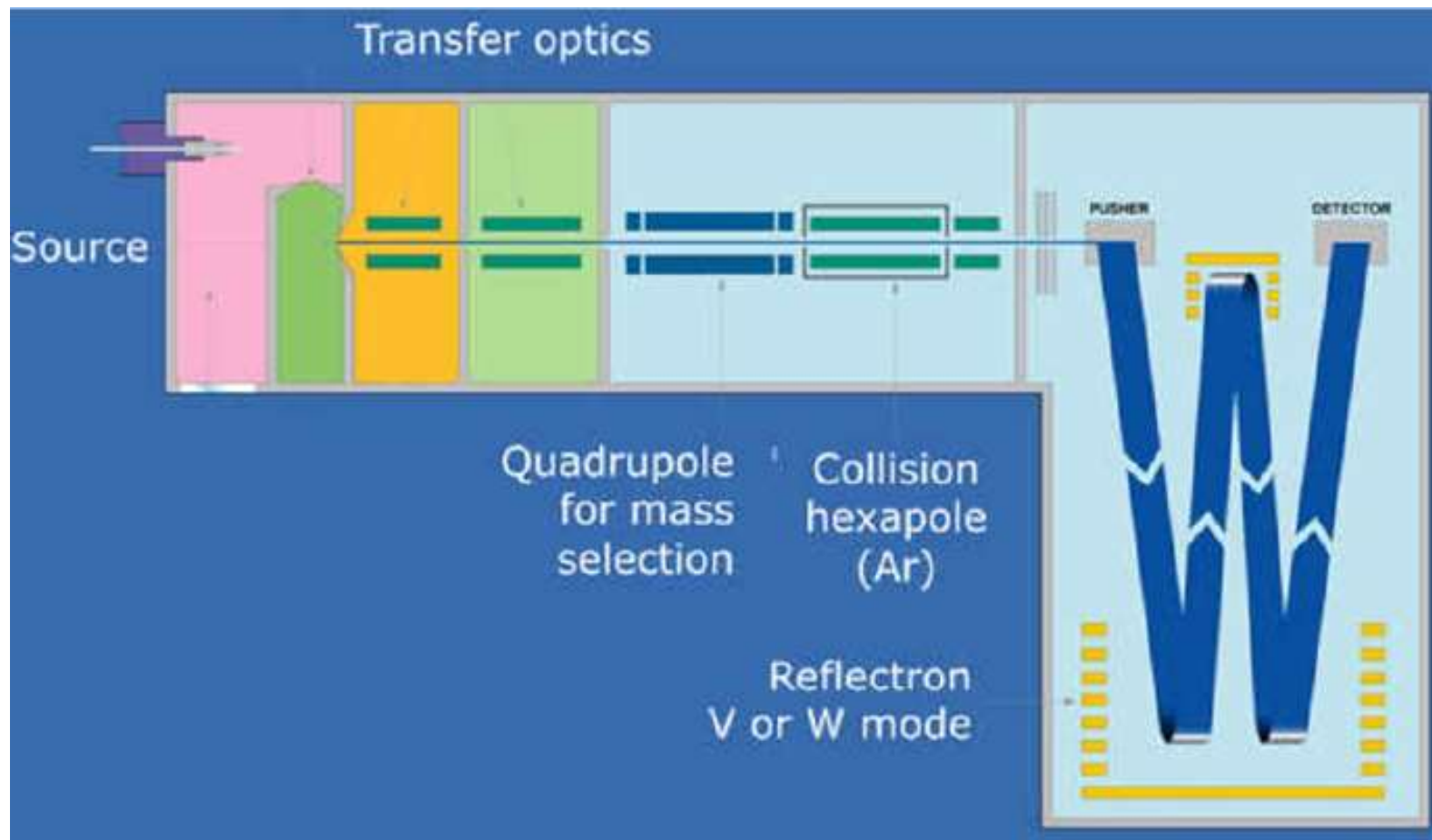
=> tăng độ phân giải.

## Linear and reflector TOF MS



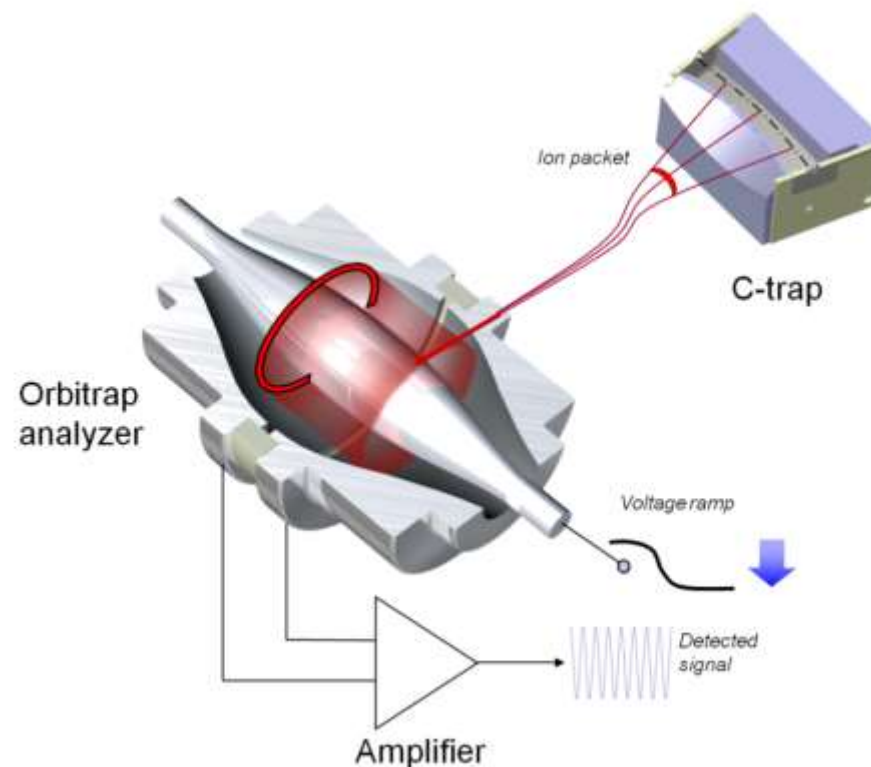
# Q-TOF

- Lai giữa Quadrupole và TOF

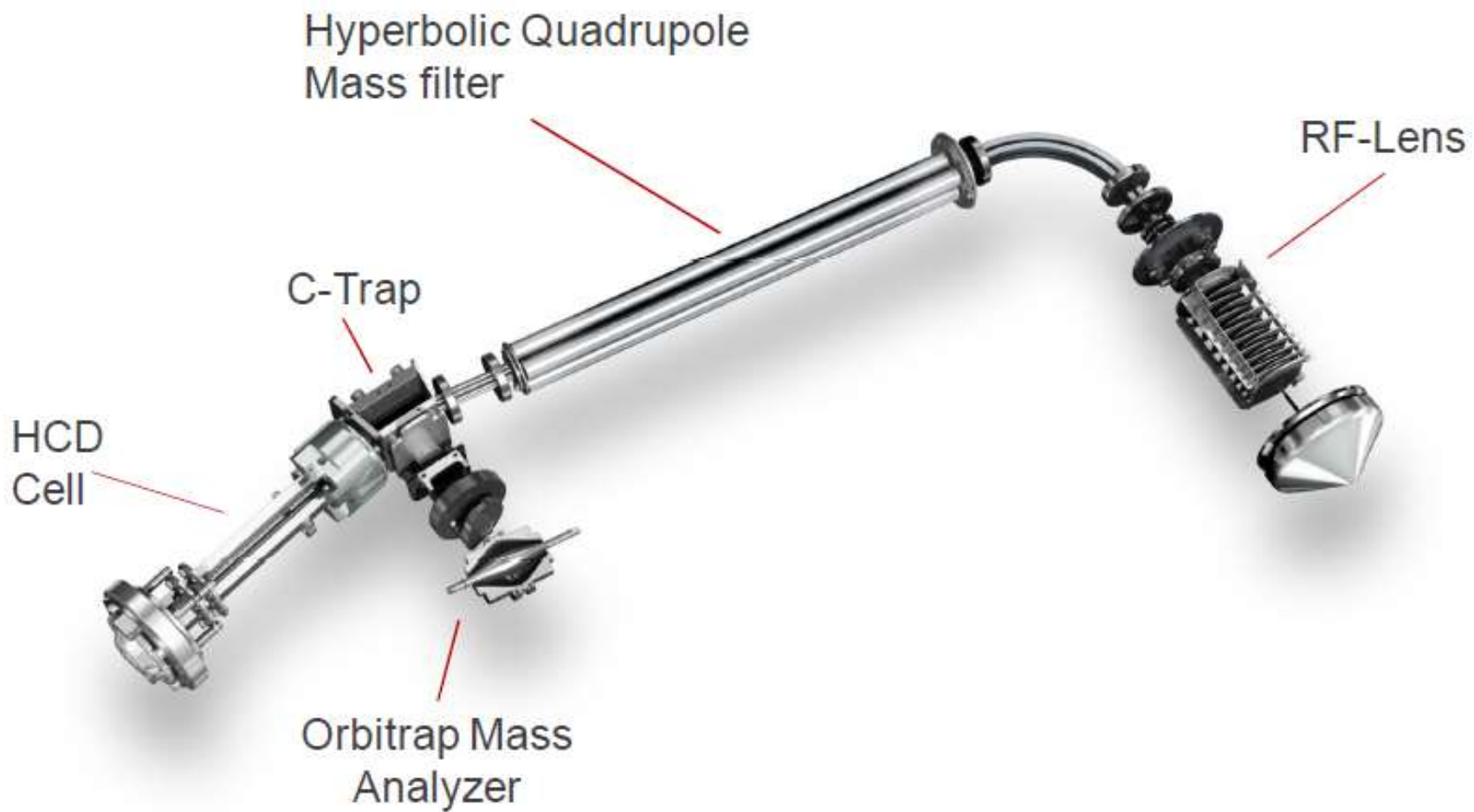


# Orbitrap

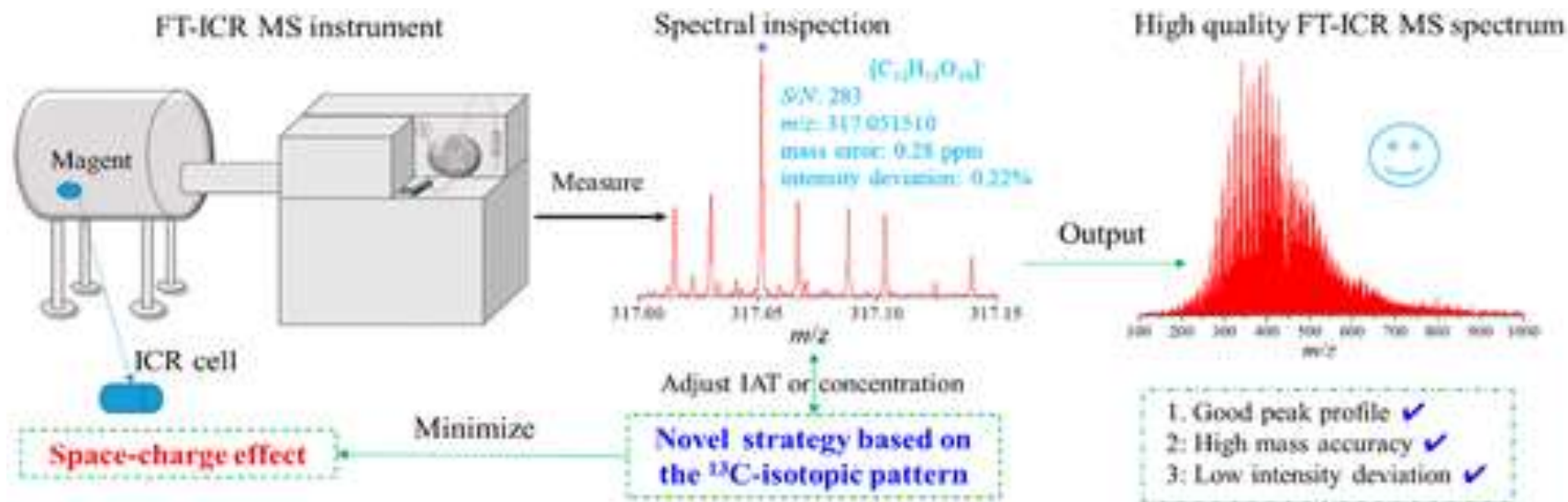
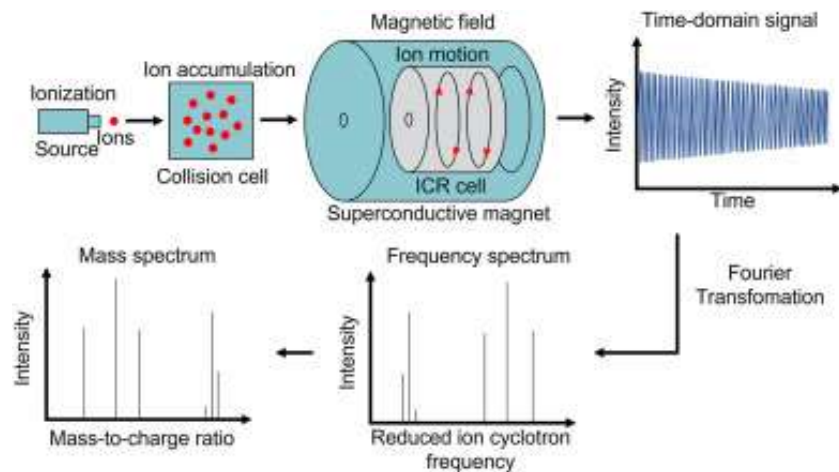
- Kỹ thuật phát triển bởi Thermo dựa trên nguyên lý về Kingdon trap 1920.
- Thiết bị MS đầu tiên 2005
- Ion trap-Orbitrap
- Q-Orbitrap



# Q-Orbitrap



# FT-ICR



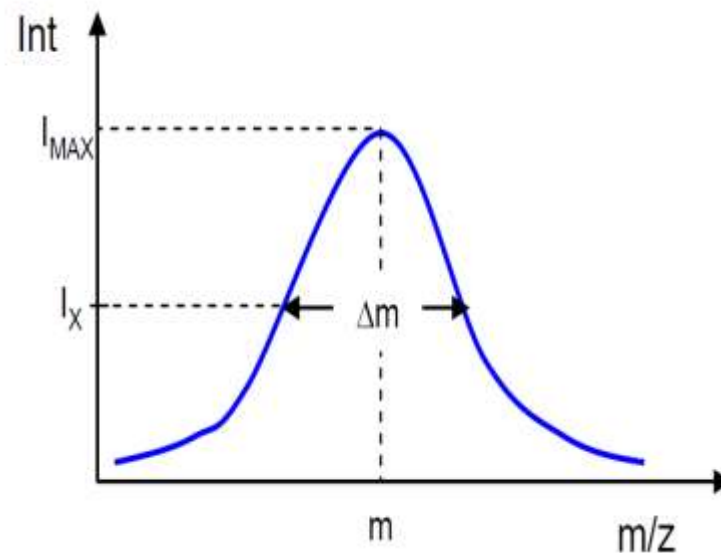
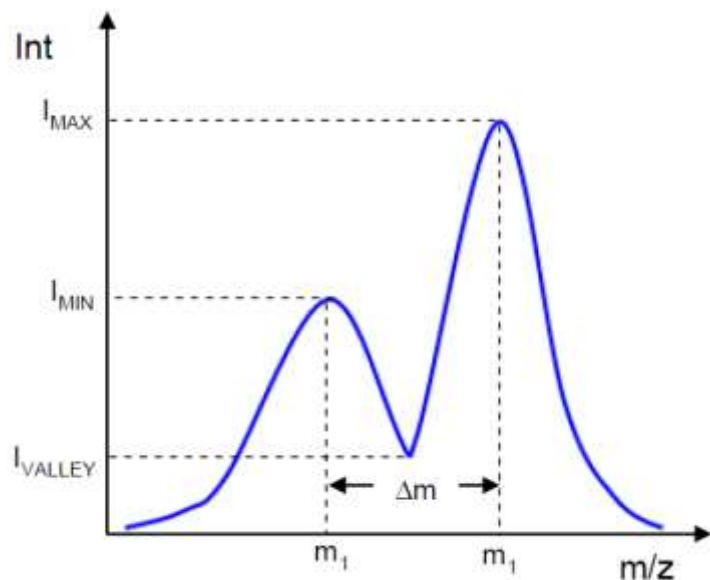


# Những thông số kỹ thuật cơ bản của MS

- **Độ phân giải (Resolving power):** khả năng phân biệt hai ion  $m/z$  gần nhau (thường ở  $m/z$  200).
- **Độ chính xác khối (Mass accuracy):** sai số tuyệt đối so với  $m/z$  thật (đơn vị ppm).
- **Tốc độ quét (Scan rate):** spectra/giây — quan trọng cho UHPLC.
- **Độ nhạy (Sensitivity):** limit of detection/quantitation.
- **Dynamic range:** tỉ lệ giữa ion lớn nhất và nhỏ nhất có thể đo chính xác.
- **Khả năng MS/MS / MS<sup>n</sup> và khả năng phân mảnh:** loại fragmentation hỗ trợ (CID/HCD/ETD/ECD/UVPD).

# Độ phân giải khối

- Resolving power: Sự phân biệt các khối gần nhau ( $\Delta m$ )
- Mass resolution: Độ phân giải ( $R = m/\Delta m$ ) **IUPAC**
- FWHM = Full Width at Half Maximum

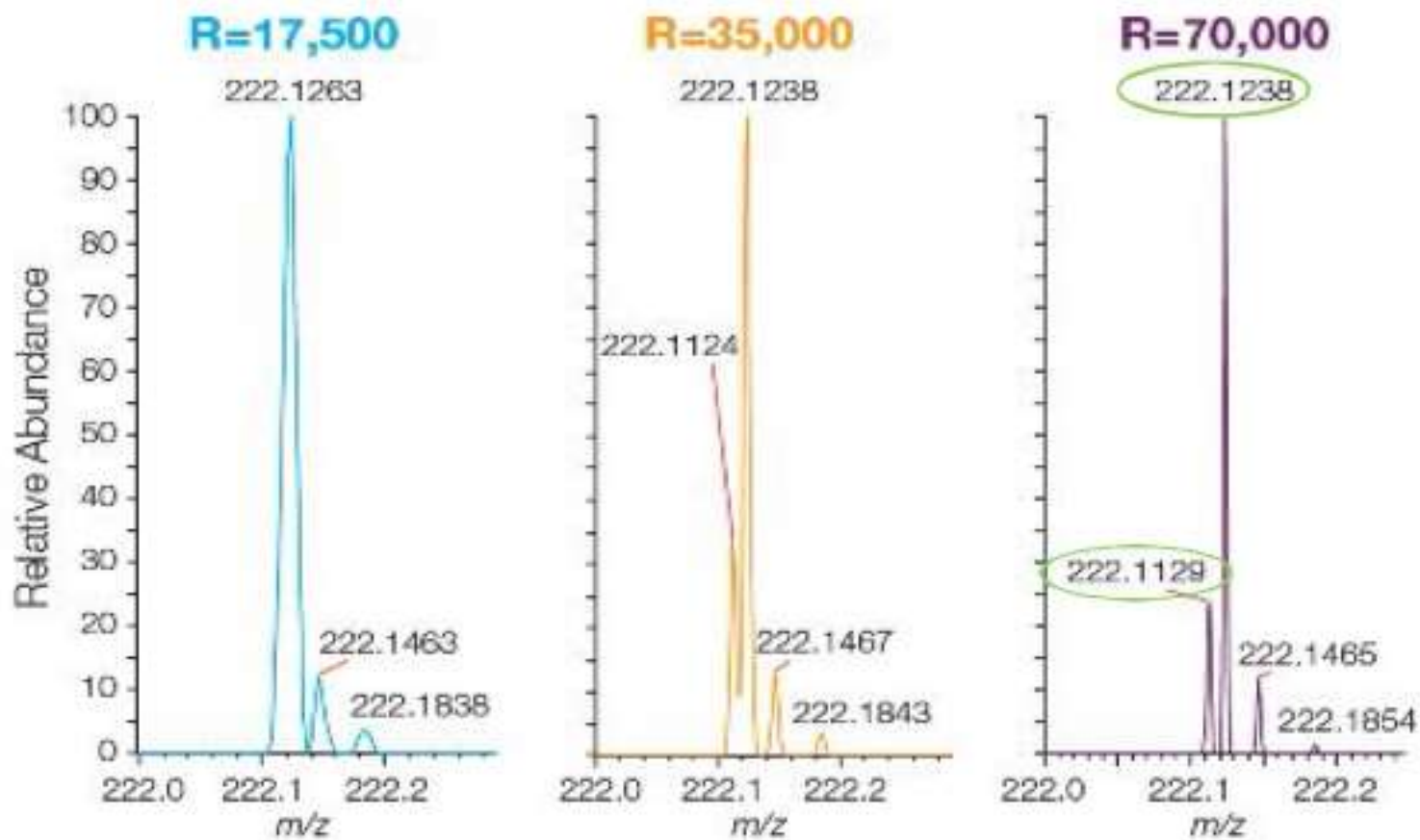


# HRMS (High resolution MS)

Carbofuran  
Formetanate

$C_{12}H_{15}NO_3$   
 $C_{11}H_{15}N_3O_2$

$M+H^+ = 222.1125$   
 $M+H^+ = 222.1237$



## 1.2.4.2. Identification

A system of identification points shall be used to select adequate acquisition modes and evaluation criteria. For confirmation of the identity of substances in a matrix for which an MRL is established (authorised use), a minimum of 4 identification points is required. For unauthorised or prohibited substances, 5 identification points are required. One point can originate from the chromatographic separation. Table 3 shows the number of identification points that each of the techniques yields. To qualify for the identification points required for confirmation, identification points obtained from different techniques can be added.

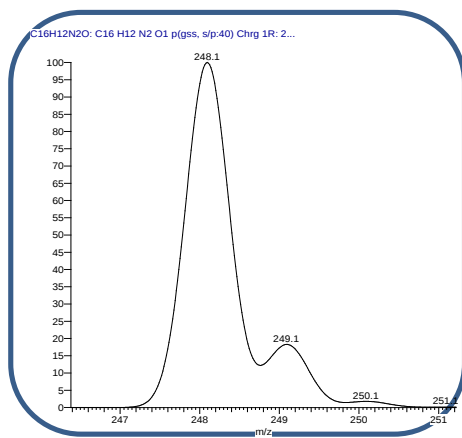
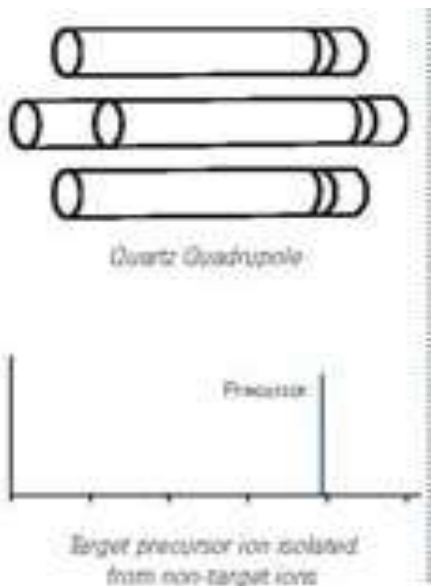
**Identification points per technique**

| Technique                                               | Identification Points |
|---------------------------------------------------------|-----------------------|
| Separation (mode GC, LC, SFC, CE)                       | 1                     |
| LR-MS ion                                               | 1                     |
| Precursor ion selection at $\leq \pm 0,5$ Da mass range | 1 (indirect)          |
| LR-MS <sup>n</sup> product ion                          | 1,5                   |
| HR-MS ion                                               | 1,5                   |
| HR-MS <sup>n</sup> product ion                          | 2,5                   |

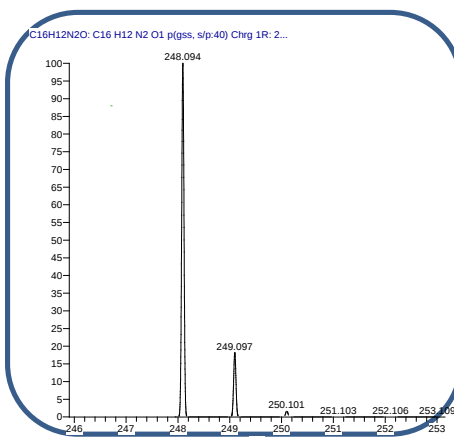
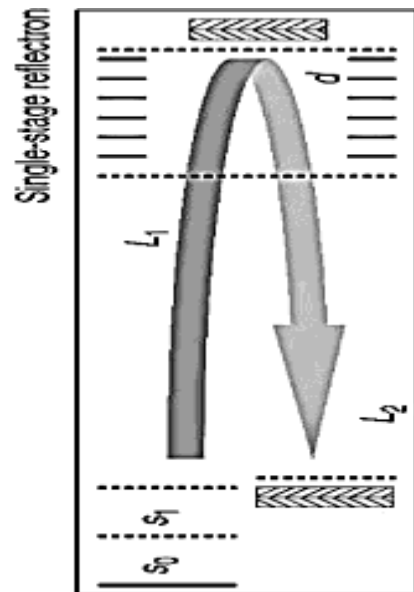
Both low-resolution mass spectrometry (LRMS, at unit mass resolution) and high-resolution mass spectrometry (HRMS), including e.g. double focusing sectors, Time of Flight (TOF) and Orbitrap instruments are appropriate.



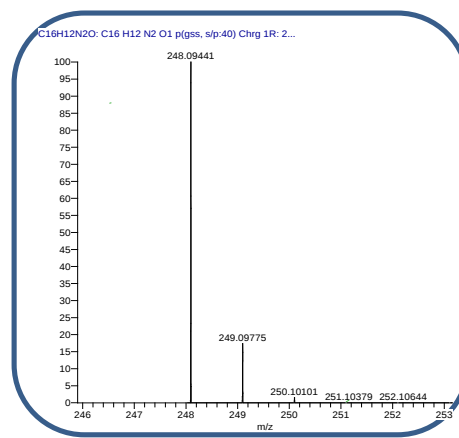
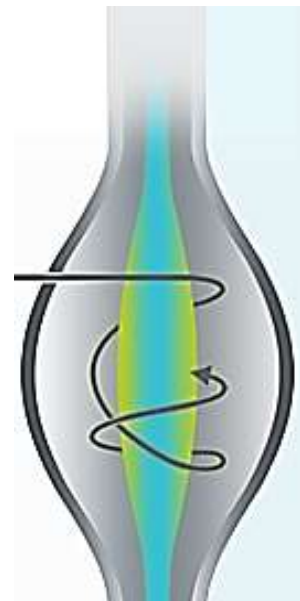
# Q vs TOF vs Orbitrap vs FTICR



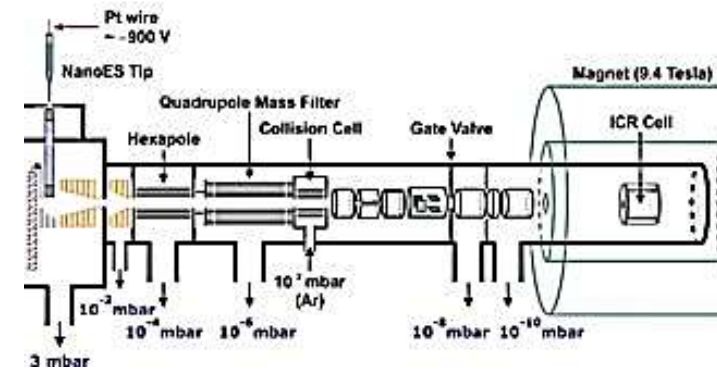
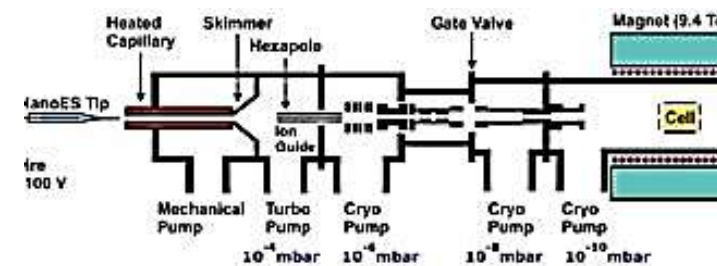
R~500



R~10,000



R~100,000

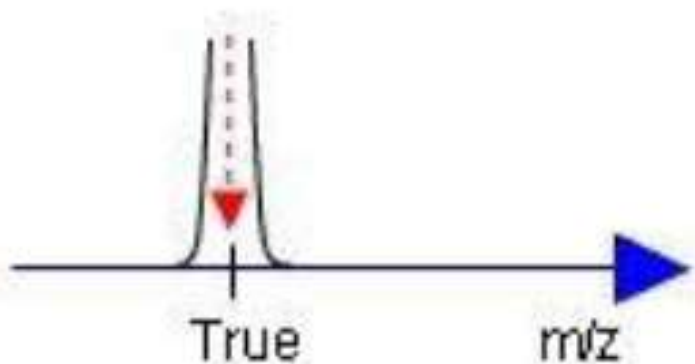


R~10,000,000

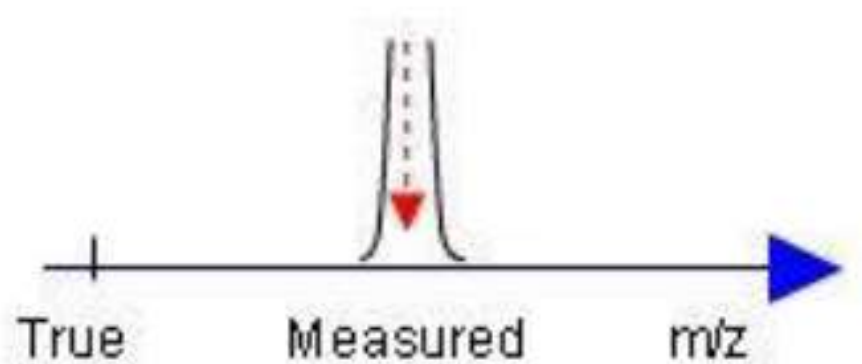
# Độ chính xác khối

- Độ chính xác khối (mass accuracy) chênh lệch giữa khối đúng (true mass) và khối đo được (measured mass)

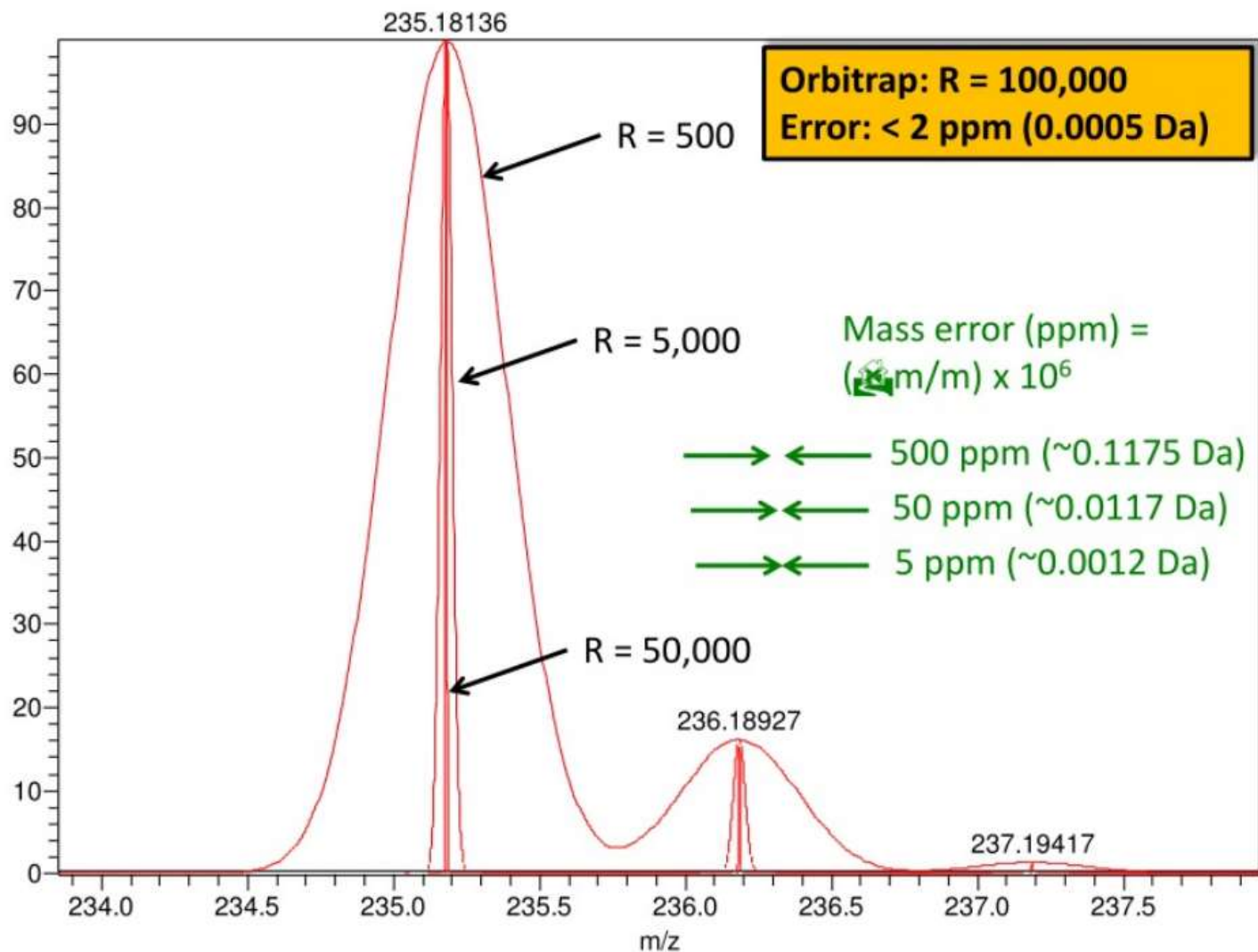
**Độ chính xác cao**



**Độ chính xác thấp**



# Mass resolution and mass accuracy





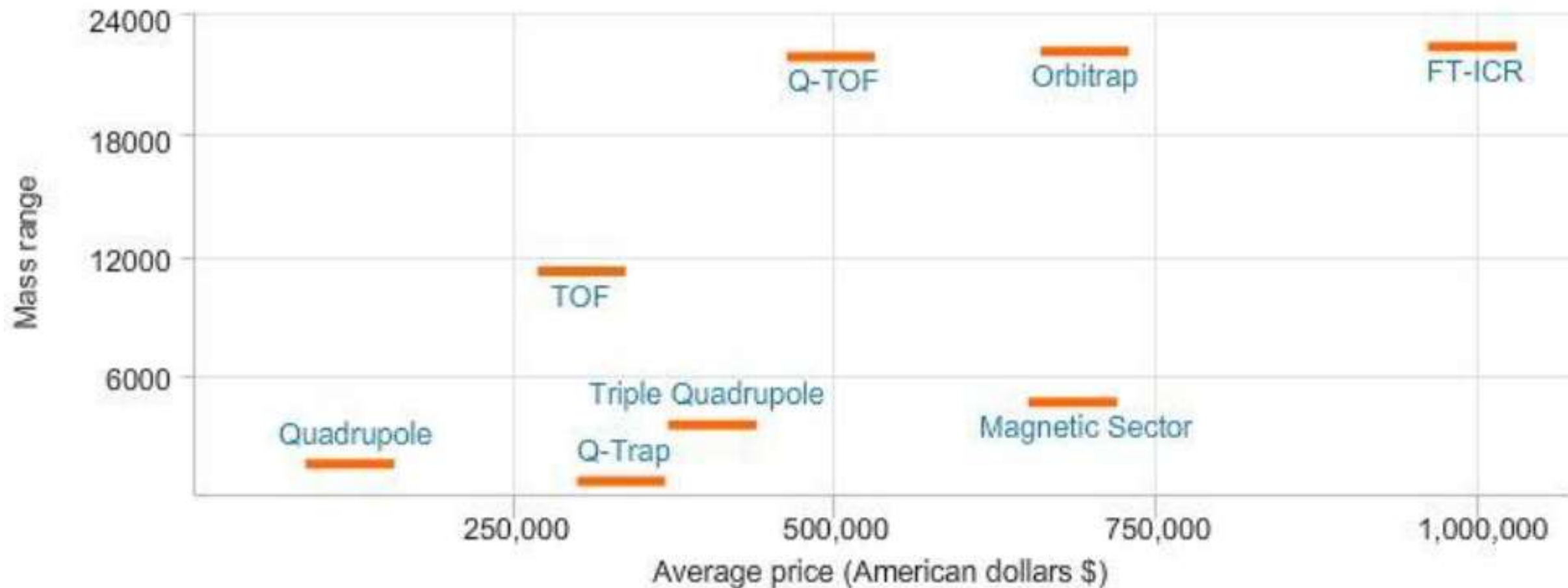
# So sánh các kỹ thuật mass analyzer

- LRMS:
  - Quadrupole
  - Triple-Quadrupole
  - Ion trap
- HRMS:
  - TOF, Q-TOF
  - Orbitrap, Q-Orbitrap
  - Double Focusing Magnetic Sector
  - FT-ICR

| Mass Spectrometer   | Resolving power (FWHM)                                     | Mass Accuracy (ppm) | Sensitivity (g)        |
|---------------------|------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|
| Quadrupole          | Unit resolution<br>Modern instruments can reach up to 5000 | 50                  | $10^{-15}$ (SRM)       |
| Quadrupole Ion Trap | 10000                                                      | 50                  | $10^{-15}$             |
| Time of Flight      | 20000                                                      | 3                   | $10^{-12}$ (full scan) |
| Magnetic Sector     | 50000                                                      | ~1                  | $10^{-12}$             |
| Orbitrap            | 100000                                                     | 2                   | $10^{-15}$ (full scan) |
| FT-ICR              | 1000000                                                    | ~1                  | $10^{-12}$ (full scan) |

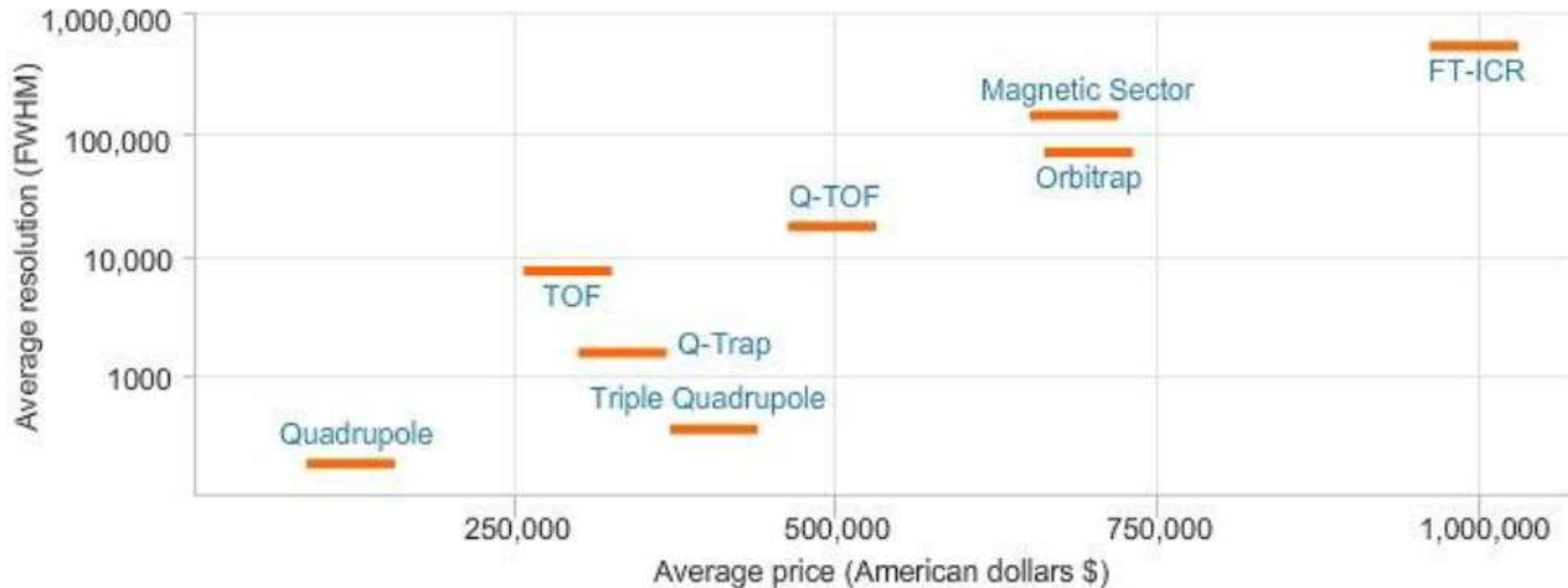


# So sánh các kỹ thuật mass analyzer





# So sánh các kỹ thuật mass analyzer





# Xu hướng hiện nay

- **QqQ (MRM/SRM)** vẫn là chủ đạo cho PP định lượng.
- **Hybrid analyzer:**
  - VD: Q-Orbitrap, LIT-Orbitrap... để khai thác  $MS^n$  + HRMS.
- **Ion Mobility (IM):** tách ion theo kích thước/hình dạng.
  - Kết hợp với TOF/Orbitrap → tăng khả năng phân biệt đồng phân isomer.
  - TIMS (trapped ion mobility) + TOF và PASEF đã tăng số MS/MS thu được trên mỗi đơn vị thời gian mà vẫn giữ độ nhạy, rất mạnh cho proteomics.
- **Ambient / portable MS** (DESI, DART, paper-spray, portable MS):
  - Phục vụ sàng lọc nhanh tại hiện trường.
- **Phần mềm thông minh:** AI/ML, hỗ trợ xử lý phổ lớn, tự động hóa, thư viện trực tuyến...

# Xu hướng ứng dụng chính

- **Targeted analysis?**
  - Có chất X ở trong mẫu không?
  - Hàm lượng chất X là bao nhiêu?
- **Nontargeted analysis?**
  - Có chất gì trong mẫu?
  - Omics?
  - **KNOWN UNKNOWN**
  - **UNKNOWN UNKNOWN**



**QqQ**  
**Q-Trap**  
**Q-Orbitrap**



**Q-TOF**  
**Q-Orbitrap**  
**FT-ICR**



# Xin chân thành cảm ơn!

