

**Q Exactive Focus:  
для рутинных анализов**



**The world leader in serving science**

# Масс-спектрометр Q Exactive Focus



Диапазон масс	50 < m/z < 2,000
Разрешение @ m/z 200	17,500 при 12Hz 35,000 при 6 Hz 70,000 при 3 Hz
Тор N	2
Точность масс	< 1ppm RMS, внутренняя калибровка < 3ppm RMS, внешняя калибровка
Переключение полярности	один полный цикл в <1 сек (один полный положительный режим сканирования и один полный отрицательный режим сканирования на установке разрешения 35000)

## HRAM - Изысканные аналитические характеристики для рутинного маркетинга

Разрешение до 70,000 @ m/z 200

До 12 Гц для MS-сканирования

Max Top 2 (DDA) со скоростью сканирования до 12 Hz для MS/MS- сканирования

Только энергия столкновения (не нормализуется энергии столкновения)

Нет мультиплексирования

# Q Exactive Focus создан для

**Доказательства**

**Orbitrap  
Detection**

**RF-Lens Ion  
Optics**

**HyperQuad Ion  
Selection**

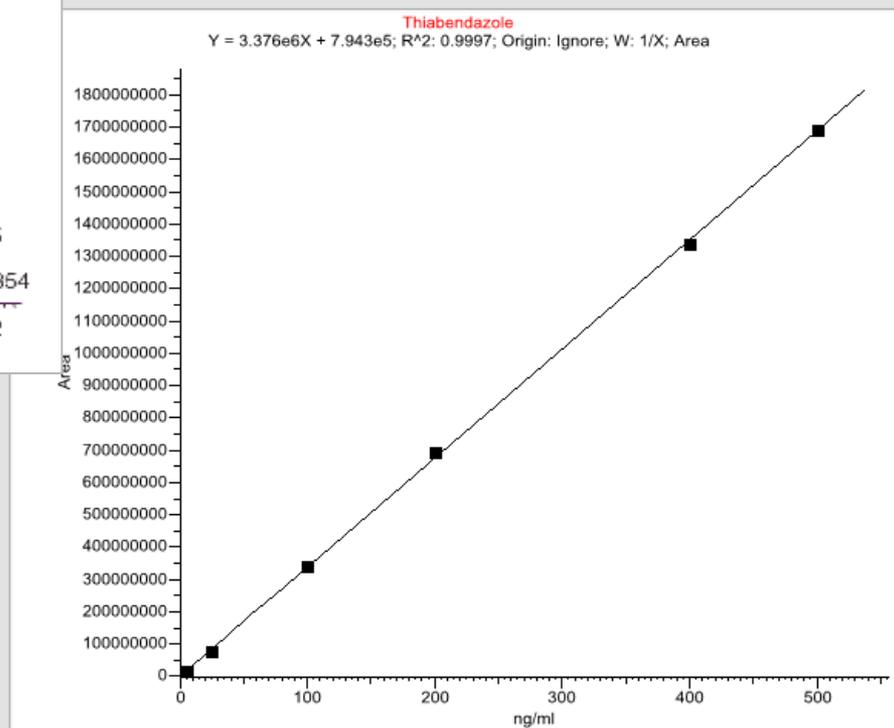
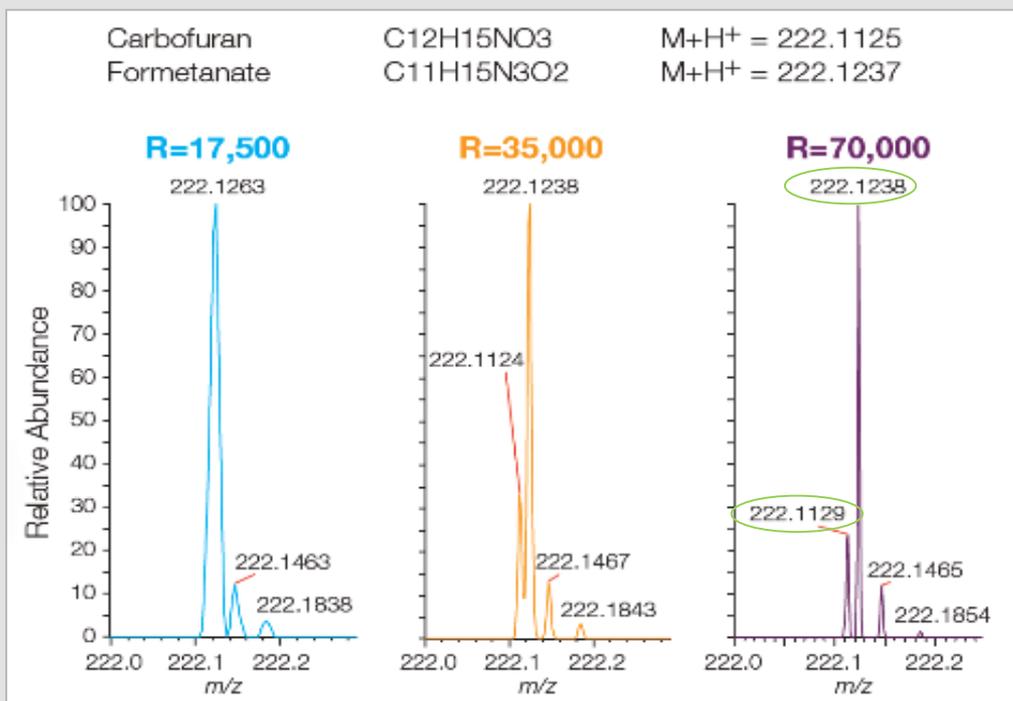
**HCD  
Fragmentation**

**Прочные**

# Масс-спектрометр Q Exactive Focus

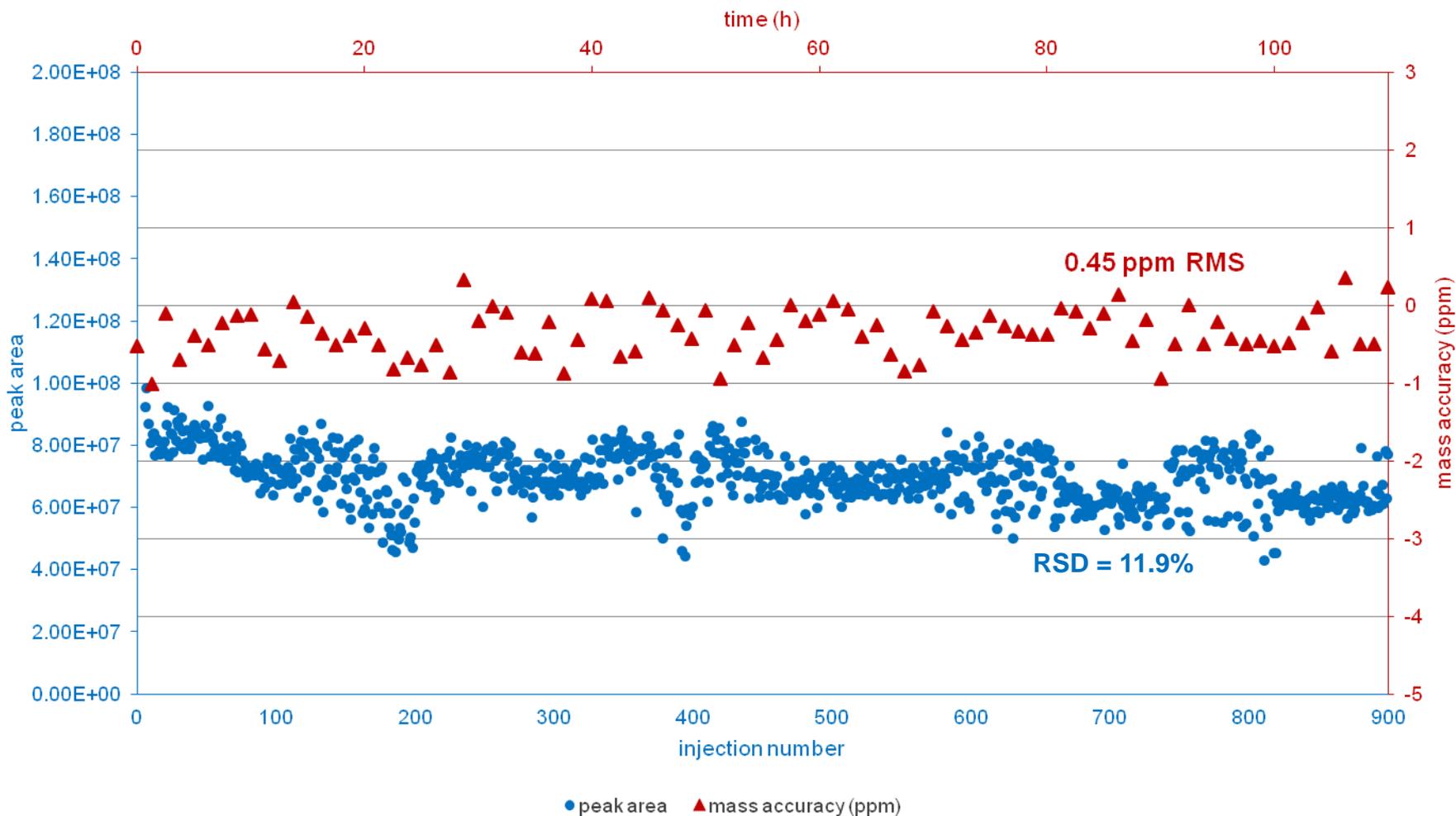


# Масс-спектрометр Q Exactive Focus - улучшенный количественный анализ и разрешение



# Вариация интенсивности пика (площадь) для 900 инъекций (синие точки) и точности определения масс (сканирование по вершине пика, красные точки)

## Robustness With Aflatoxin G2 In Wheat Matrix



# QE Focus – предложение многолетней гарантии

- В точке продажи клиент может воспользоваться дополнительными годами гарантии, на которые предоставляется скидка 35% относительно нашей стандартной расширенной гарантии.
  - Вариант 1: Покупка пакета расширенной гарантии, который предлагает один год стандартной гарантии на приборы + один дополнительный год гарантии.
  - Вариант 2: Покупка пакета расширенной гарантии, который предлагает один год стандартной гарантии на приборы + два дополнительных года гарантии.
- Высокоэффективный жидкостный хроматограф Ultimate 3000 HPLC включён в это предложение. Все другие способы ввода пробы исключены.

# Программное обеспечение для контроля инструмента: Exactive Series Tune 2.5

ПОСТАВЛЯЕТСЯ  
СЕЙЧАС

Для Q Exactive Focus

и

Exactive Plus (EMR)

Q Exactive

Q Exactive Plus

Q Exactive HF



**DVD-диск для  
Exactive Series ICSW  
Tune 2.5**

# Что нового в ПО контроля инструмента Tune 2.5?

## ПК для управления и сбора данных

CPU: Intel Core i3,  
3.1 GHz

RAM: 8 GB

OS: Windows 7,  
32 bit

HDD: 2 x 1 TB

(Core i7, 16 GB,  
64bit)

## Поддержка Q Exactive Focus

FS

FS – подтверждение

FS – обнаружение

SIM (t-SIM)

SIM – подтверждение

PRM (t-MS<sup>2</sup>)

**FS-AIF**

**FS-vDIA**

## Новое

CE:

- Абсолютная энергия столкновения для лучшей производительности при фрагментации малых молекул (по сравнению с нормализованной CE)

- CE и NCE варианты для QE, QE plus, QE HF

- CE only for QE Focus

## Новое

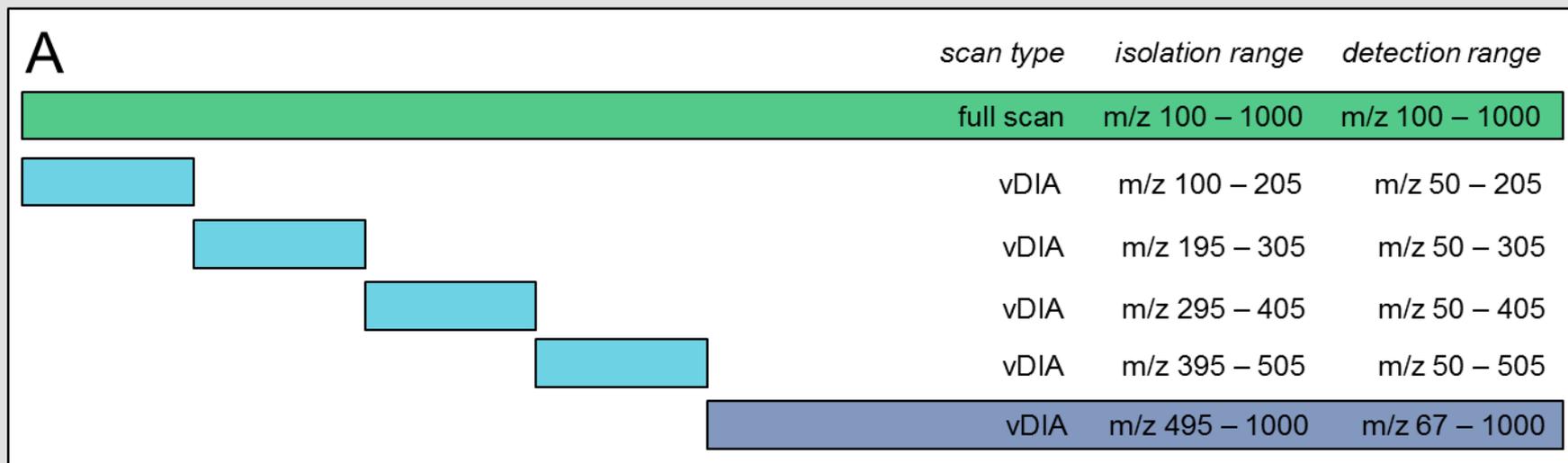
vDIA:

- вариабельный независимый от данных анализ для полной цифровой записи полученных данных с упрощённой настройкой.

- Максимум 8 окон для QE Focus с иконами изоляции минимум для 50-и *m/z*

# Запуск эксперимента с переменным независимым от данных анализом (vDIA)

- Для эксперимента с переменным независимым от данных анализом -данные, собранные в режиме полного сканирования, местами дополняются серией данных MS<sup>2</sup>-сканирования
- Эти MS<sup>2</sup>-сканы имеют:
  - широкое окно изоляции обычно 100 Да или более
  - Изменяемый диапазон изоляции



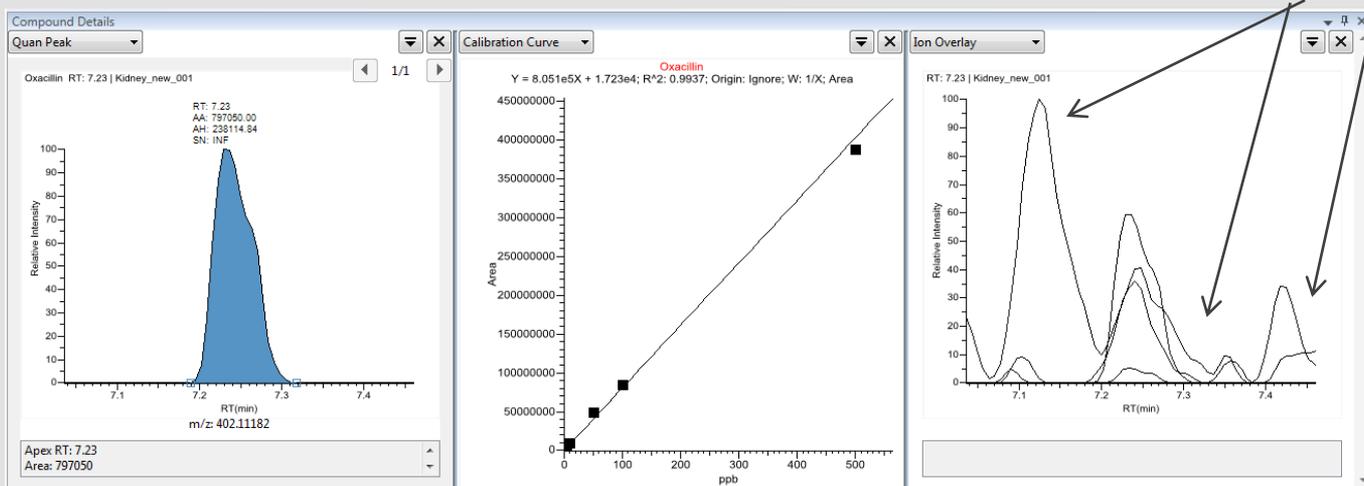
# Зачем использовать широкую изоляцию для vDIA?

- vDIA заполняет пробел между сбором зависимых данных MS<sup>2</sup>-сканирования (ddMS<sup>2</sup>) и фрагментацией всех ионов (AIF) в рутинных анализах
  - MS<sup>2</sup> – сканирование для подтверждения имеет лучшую селективность и чувствительность известных соединений, но оно предлагает подтверждение только для целевых соединений. Таким образом, возможности скрининга для неизвестных соединений ограничены
  - MS<sup>2</sup> – сканирование для скрининга имеет лучшую селективность и чувствительность для неизвестных соединений, но предлагает подтверждение только для наиболее распространённых соединений и не всегда может использоваться для компонентов с низкой интенсивностью (в зависимости от сложности образца). Таким образом, возможности скрининга неизвестных соединений могут быть ограничены.
  - Фрагментация всех ионов (AIF) позволяет получать фрагменты в любой момент времени, но она ограничена в селективности (несколько предшественников / помехи - могут иметь один и тот же фрагмент) и в динамическом диапазоне
- По "сегментации" сканов AIF, vDIA повышает избирательность и динамический диапазон, значительно улучшает способность использовать одни и те же данные для сомнительного скрининга и общих целей скрининга неизвестных соединений

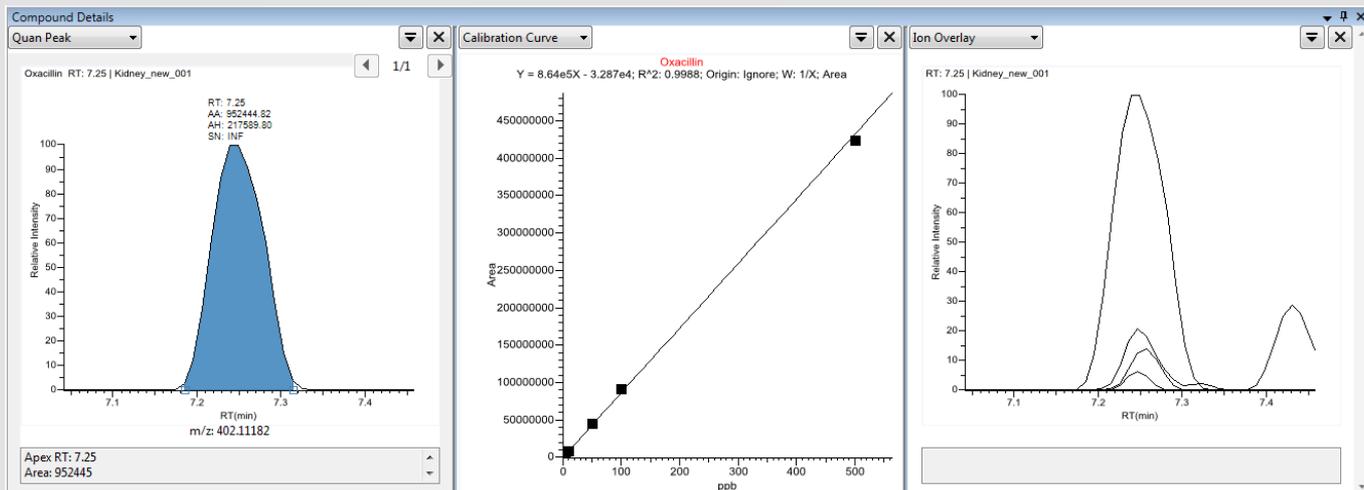
# AIF или vDIA

Оксациллин в свиных почках @ 2 ppb

AIF



vDIA





# **Новые библиотеки HRAM MS/MS**

# Почему мы нуждаемся в библиотеке HRAM?



## Библиотеки высокого разрешения и точных масс (HRAM) для MS/MS и фрагментов

- Экологическая безопасность и безопасность пищевых продуктов, клинический и токсикологический мониторинг
- Идентификация с высокой достоверностью, минимизация ложных положительных identifications
- Экономьте время и деньги
- Это будущее: HRAM скрининг

# Библиотеки HRAM для ведущих отраслей

Комплексная библиотека HRAM и база данных созданы на Thermo Scientific™ Q Exactive™ MS с разрешением 140 000

С возможностью поиска в программном обеспечении TraceFinder

Состоит из:

- пестицидов, микотоксинов, ветеринарных препаратов, загрязнителей окружающей среды, перфторуглеродов.
- Клиника / Токсикология (наркотики, лекарственные препараты, яды).
- Новые спектры библиотеки будет включать в себя следующее: 3 возрастающие энергии столкновения (CE) @ 20, 30, 40 эВ и 2 шага энергии столкновения @ 40 с 50% и 70 с 50%
- Будет содержать RTs и RRTs с использованием той же группы ISDs для обеих разделов: Экологическая безопасность и безопасность пищевых продуктов (EFS) + Клинический и токсикологический мониторинг (Clin/Tox)

MS/MS – спектры EFS + Clin/Tox будут доступны в «облаке» mzCloud

# Возможности новых спектральных библиотек HRAM MS/MS (высокого разрешения и точных масс)

## ► Количество уникальных записей соединений:

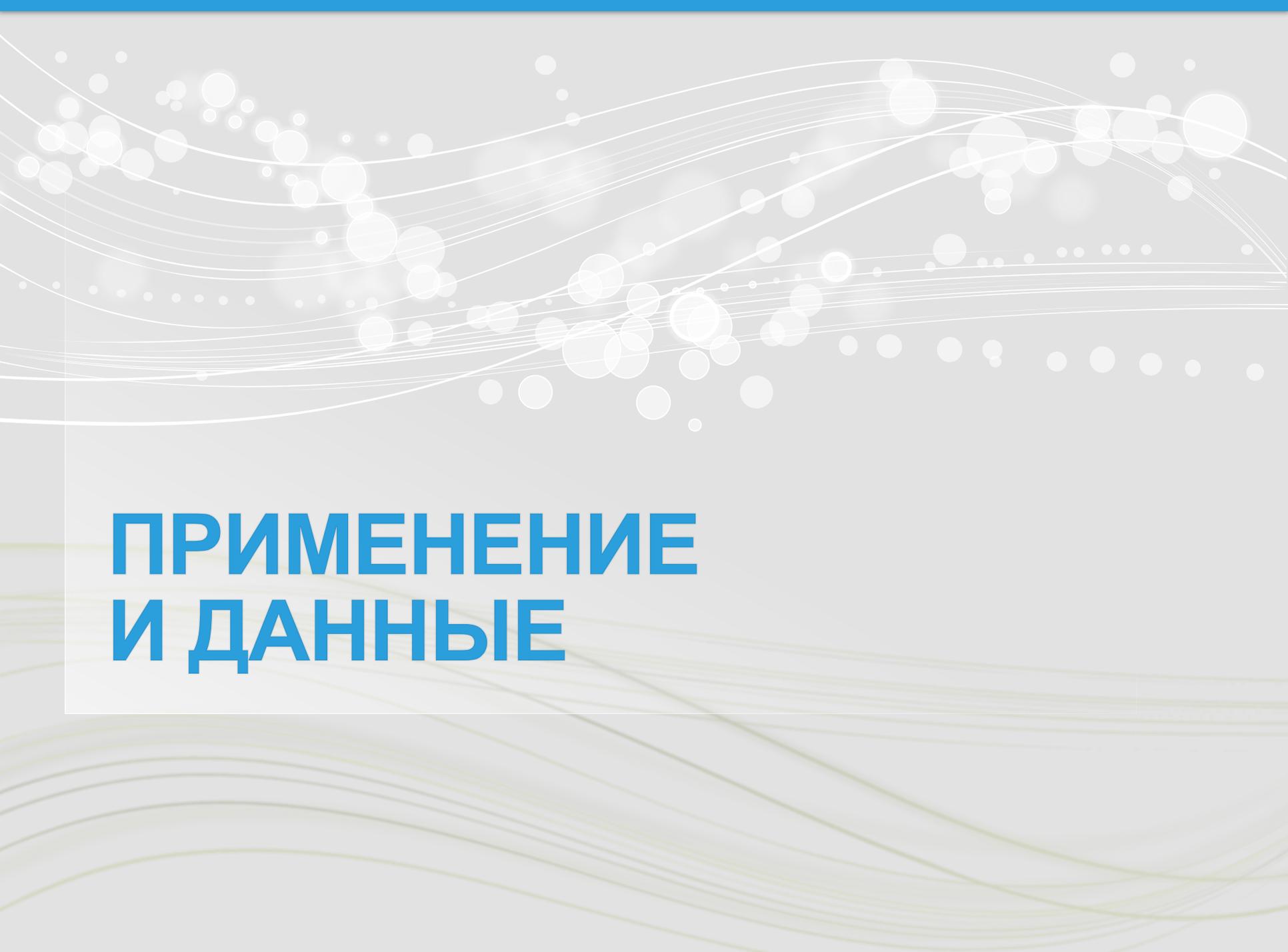
- EFS: 1,594
- ClinTox: 1,052

## ► Количество спектров в Library Manager (5-6 спектров на аналит)

- EFS: 8,392
- ClinTox: 5,260

## ► 39,500 MS/MS - спектров в mzCloud (будет выпущен в 2015):

- 19,000 + 12,000 (Новые QE 12 спектров на компонент)
- 6,000 + 2,500 (Текущая библиотека 4-6 спектров на компонент)



# **ПРИМЕНЕНИЕ И ДАННЫЕ**

# Схема использования данных

## Безопасность пищевых продуктов и окружающей среды

Скрининг и подтверждение ветеринарных лекарственных препаратов

Скрининг и подтверждение пестицидов

## Клинические исследования и судебная токсикология

Целевой скрининг в моче

Количественный анализ опиатов в моче

## Метаболомика / Липидомика - метаболическое профилирование

Фармацевтика / Биофармацевтика – Количественный анализ с высоким разрешением и определением точных масс

# Q Exactive Focus MS



## Задача

**Безопасность  
пищевых продуктов  
и окружающей  
среды**

- Скрининг вет. препаратов
- Скрининг пестицидов
- Нецелевой скрининг
- Тестирование пищевых продуктов
- Анализ воды



## Q Exactive Focus

**Быстро и  
просто**

Обнаружение  
Количественный  
анализ  
Подтверждение



# Пример 1: Скрининг ветеринарных лекарственных препаратов используя FS-vDIA

- Образцы продукции животноводства получены из CVUA MEL, Мюнстер, Германия
- К образцам был применён упрощённый метод пробоподготовки.
- Для всех образцов использовали общий метод ВЭЖХ:
  - Колонка Thermo Scientific™ Accucore™ C18 AQ, 100x2.1 мм, 2,6 мкм
  - Градиент в течение 6 мин для элюента В от 5% до 95%
- элюент А: H<sub>2</sub>O + 0.1% муравьиной кислоты;
- элюент В: ACN + 0.1% муравьиной кислоты.
  - Общая продолжительность хроматографического цикла - 15 мин.
- Для всех образцов использовали общий метод для системы Thermo Scientific™ Q Exactive™ Focus MS:
  - Полное сканирование с переменным независимым от данных анализом с широкой изоляцией (FS-vDIA)
- Разрешение для режима переменного независимого от данных – 70 000
- Разрешение для режима изменяемого сбора независимых данных (vDIA) – 17 500

# Антибиотики в 44-м образце: чувствительность Q Exactive Focus

Компонент	Элементный состав	Концентрация	
		LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Ампициллин	C16H19N3O4S	0.1	0.5
Амоксициллин	C16H19N3O5S	0.1	0.5
Бензилпенициллин(G)	C16H18N2O4S	0.1	0.5
Цефалексин	C16H17N3O4S	0.1	0.1
Цефалониум	C20H18N4O5S2	0.1	0.5
Цефаперазон	C25H27N9O8S2	0.5	1.0
Цефапририм	C17H17N3O6S2	0.1	0.5
Цефкьюном	C23H24N6O5S2	5.0	5.0
Хлортетрациклин	C22H23ClN2O8	0.5	5.0
Ципрофлоксацин	C17H18FN3O3	0.5	0.5
Клоксациллин	C19H18ClN3O5S	0.1	0.5
Данофлоксацин	C19H20FN3O3	0.5	5.0
Дапсон	C12H12N2O2S	0.1	0.1
Дифлоксацин	C21H19F2N3O3	0.1	0.5
Доксициклин	C22H24N2O8	0.1	0.5
Enrofloxacin	C19H22FN3O3	0.5	0.5
Эритромицин	C37H67NO13	0.5	0.5
Флюмекин	C14H12FNO3	0.5	0.5

Компонент	Элементный состав	Концентрация	
		LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Марбофлоксацин	C17H19FN4O4	0.1	1.0
Нафциллин	C21H22N2O5S	0.1	0.1
Оксациллин	C19H19N3O5S	0.1	0.5
Пенициллин (V)	C16H18N2O5S	0.5	0.5
Сарафлоксацин	C20H17F2N3O3	0.5	0.5
Сульфадiazин	C10H10N4O2S	0.1	0.1
Сульфадиметоксин	C12H14N4O4S	0.1	0.1
Сульфадимидин	C12H14N4O2S	0.1	0.1
Сульфадииоксин	C12H14N4O4S	0.1	0.1
Сульфамеразин	C11H12N4O2S	0.1	0.1
Сульфаметоксазол	C10H11N3O3S	0.1	0.1
Сульфаметоксипиридазин	C11H12N4O3S	0.1	0.1
Сульфатиазол	C9H9N3O2S2	0.1	0.5
Тетрациклин	C22H24N2O8	0.1	0.5
Тиамфеникол	C12H13Cl2NO5S	0.5	0.5
Тилмикозин	C46H80N2O13	n.d.	n.d.
Триметоприм	C14H18N4O3	0.1	0.1
Тилозин	C46H77NO17	0.5	1.0

# Авермектины, Имидазолы: чувствительность

Компонент	Элементный состав	Концентрация	
		LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Диметридазол	C5H7N3O2	0.5	5.0
Ипронидазол-ОН	C7H11N3O3	0.5	1.0
Метронидазол-ОН	C6H9N3O4	0.5	1.0
Ронидазол	C6H8N4O4	0.1	0.5

Component	Элементный состав	Концентрация	
		LOD [ppb]	LOQ [ppb]
Абамектин	C48H72O14	5.0	10
Дорамектин	C50H74O14	5.0	10
Эприномектин	C50H75NO14	1.0	5.0
Моксидектин	C37H53NO8	0.5	1.0

# Ампициллин @ 10 ppb в свиной мышечной ткани

Thermo TraceFinder EFS LC Cloud Edition

File View Tools Help

Real time status | User: olaf.schneiber

Analysis Data Review - FS\_DIA\_70K\_17K\_001 QUAN\*

Batch View

Samples

Auto Samples

Reference Sample

Threshold Samples

Data Review

Sample View

Compound View

Comparative View

Qualitative View

Report View

Local Method

Acquisition

Quantitation

Processing

Compounds

QAQC

Groups

Intel Seq

Reports

Acquisition

Analysis

Method Development

Compounds	Sample Results														
Compound	Acc	PK	IR	IP	LS	FI	Confirm	Status	Filename	Height	Area	Actual RT	Formula	m/z (Apex)	m/z (D)
1 Abamectin	28 28								Avermectins STD 008	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
2 Amoxicillin	29 29								Blank005	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
3 Ampicillin	30 30								Blank006	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
4 Cefalexin	31 31								Muscle001	6835815	26949880	5.55	C16H19N3O4S	350.11731	1.1698
5 Cefalonium	32 32								Muscle002	10017380	39573263	5.57	C16H19N3O4S	350.11734	1.2569
6 Cefaperazone	33 33								Muscle003	6033173	23927030	5.57	C16H19N3O4S	350.11752	1.7799
7 Cefapirim	34 34								Blank007	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
8 Cefquinome	35 35								1695692	6882638	5.57	C16H19N3O4S	350.11728	1.0826	
9 Chlorotetracycline	36 36								Kidney002	3185046	12791714	5.57	C16H19N3O4S	350.11713	0.6468
10 Ciprofloxacin	37 37								Kidney003	6364897	22791345	5.57	C16H19N3O4S	350.11725	0.9954
11 Cloxacillin	38 38								Blank008	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
12 Danofloxacin	39 39								Plasma001	55484	19364	5.33	C16H19N3O4S	350.11765	2.1286
13 Dasone	40 40								Blank009	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
14 Doramectin	41 41								Blank010	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
15 Dimetridazol	42 42								Blank010	N/F	N/F	N/F		N/F	N/F
16 Doramectin															

Целевой пик

Образцы изотопов

Поиск фрагментов

Калибр. кривая

Quan Peak

Isotope

Fragments

Calibration Curve

Ampicillin RT: 5.55 | Muscle001

RT: 5.55  
AA: 26949880.48  
AH: 6835814.76  
SN: 2990493959637000.00

Relative Intensity

RT(min)

m/z: 350.11690

Apex RT: 5.55  
Area: 26949880

Scan #: 2917-2977 RT: 5.50 - 5.65  
Muscle001  
F: FTMS +p ESI Full ms [100.00-10...]

All Isotopes

- #1: 350.11690
- #2: 351.12020
- #3: 352.11276
- #4: 352.12260
- #5: 353.11612

Relative Intensity

m/z

All Fragments

- #1: 192.04720
- #2: 174.05450
- #3: 106.06480

Intensity

m/z

Minimum # of fragments needed: 1  
Muscle001 #: 2932 RT: 5.55  
F: FTMS +p ESI Full ms2 350.00@...

Area

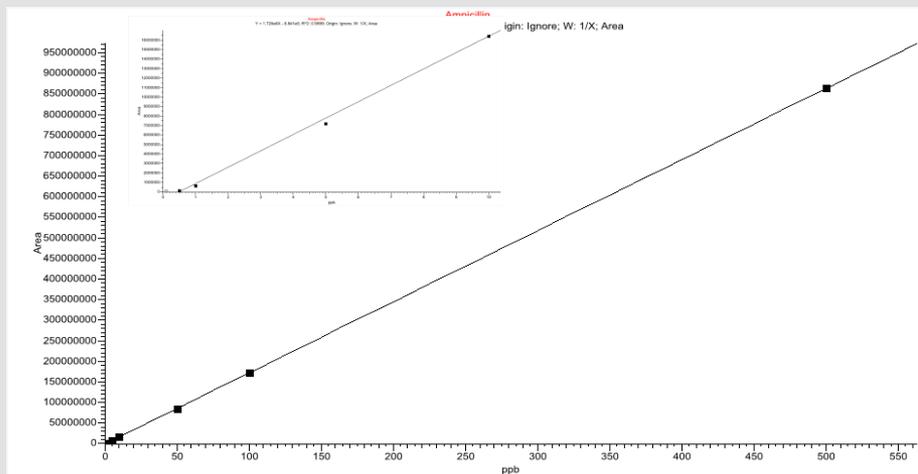
Intensity

Y = 1.721eX - 2.471e5; R<sup>2</sup>: 0.9993; Origin: Ignore; W: 1X; Area

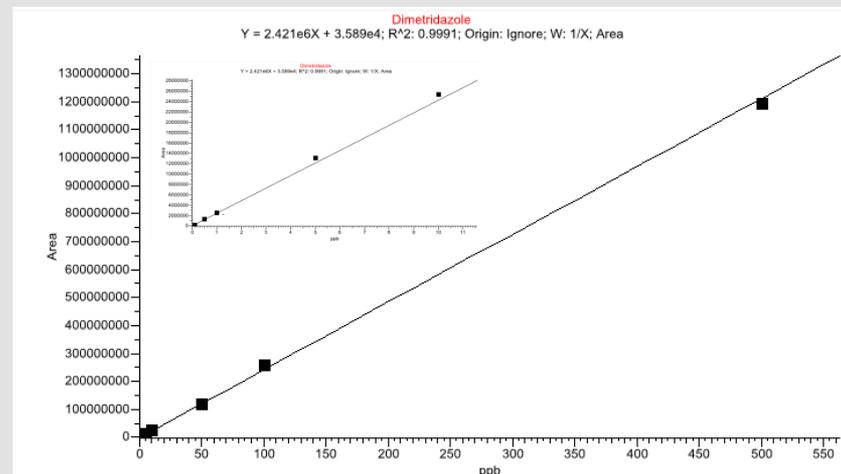
ppb

# Линейность

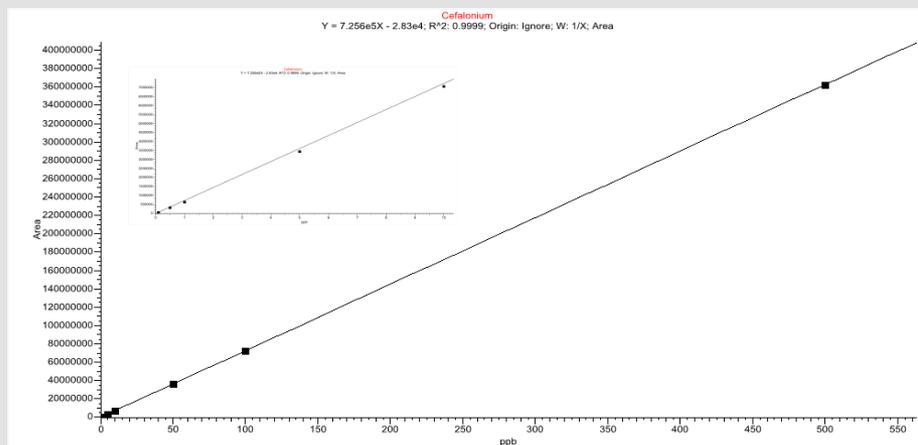
## Ампициллин



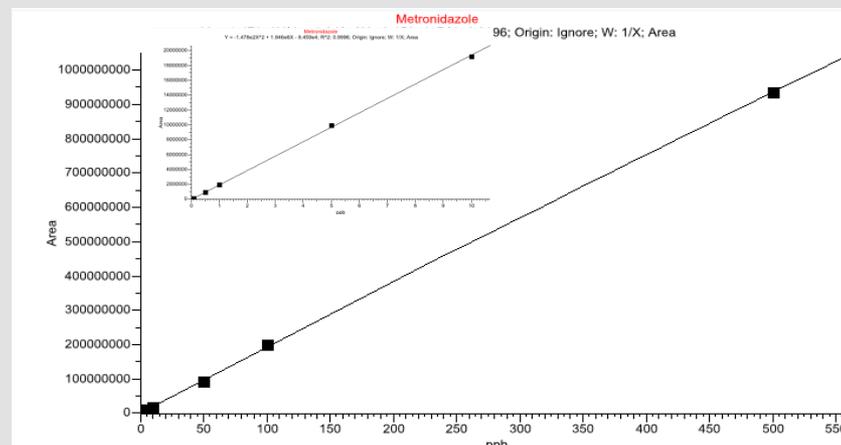
## Диметридазол



## Цефалониум



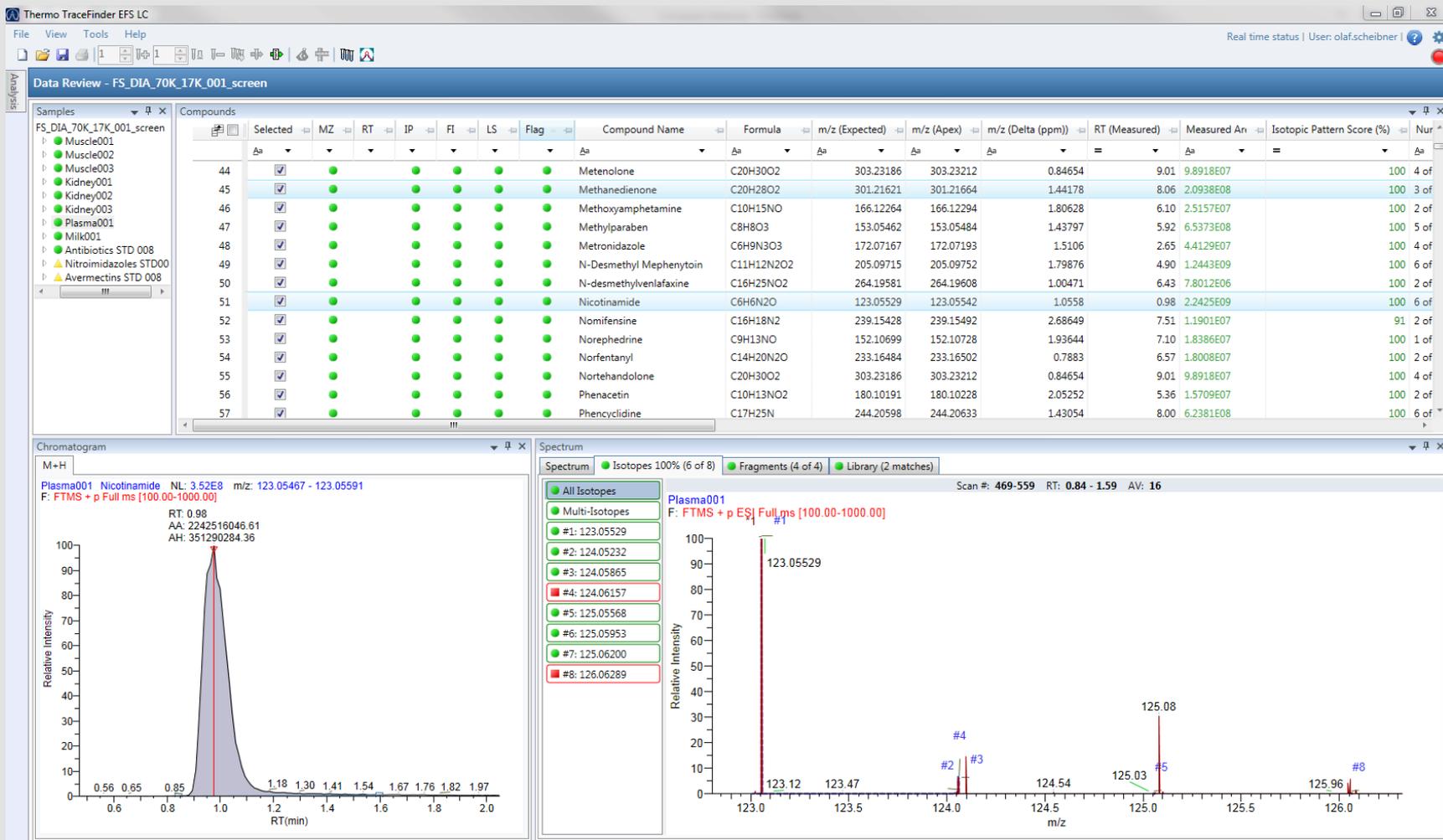
## Метронидазол



# Следующий предполагающий (нецелевой) скрининг

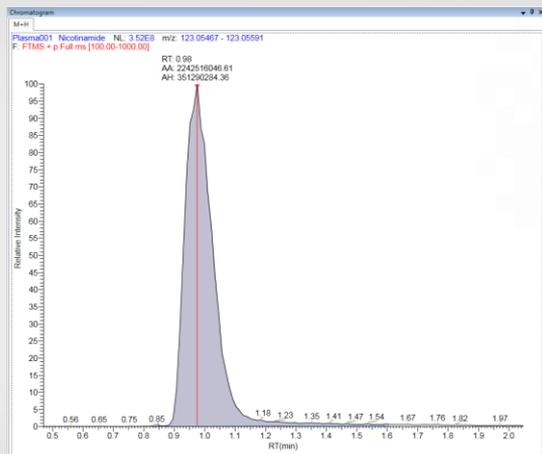
- Был использован тот же набор данных
- Была использована информация о фрагментах из встроенной базы данных соединений
- Была использована встроенная библиотека масс-спектров высокого разрешения и точных масс на 1500 компонентов
- Применены критерии идентификации:
  - поиск фрагментов
  - сопоставление с изотопным шаблоном
  - точная масса

# Дополнительный предположительный скрининг



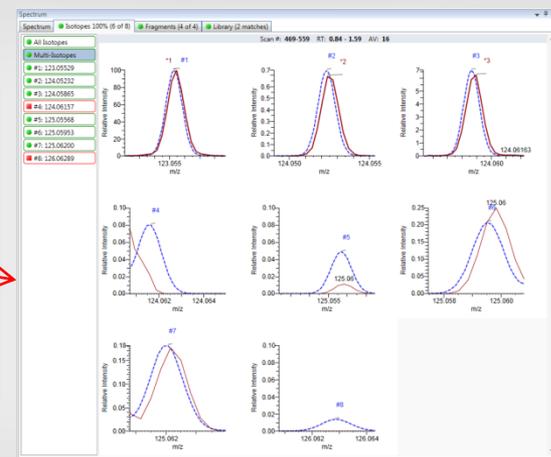
Дополнительный предположительный скрининг с помощью встроенных баз данных и спектральных библиотек может дать дополнительную идентификацию, как указанный здесь никотинамид

# Шаги для подтверждения

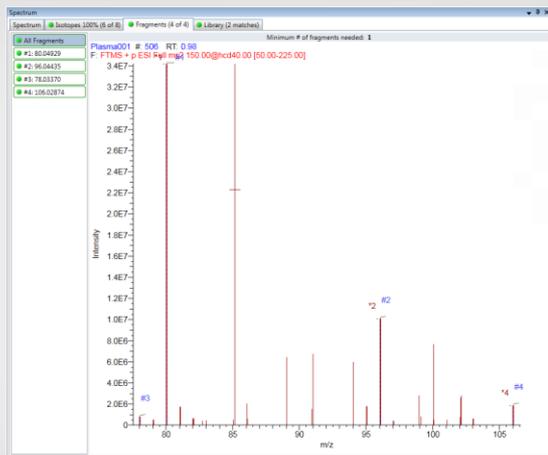


Извлеченная ионная хроматограмма  
(окно 3 ppm)

Сопоставление с  
изотопным шаблоном



Результат поиска  
фрагментов



# Резюме

- Один общий метод для всех образцов и соединений для идентификации и количественного анализа известных и неизвестных соединений
- Простота установки и эксплуатации
- Интегрированное программное обеспечение для сбора данных, обработки и представления информации
- Вариабельный независимый от данных анализ (vDIA): чувствительный, селективный и готовый для скрининговых исследований  
(используется для ретроспективного анализа)

## Пример 2: Пестицидный скрининг и количественный анализ используя FS-ddMS/MS для подтверждения

- 30 пестицидов в свекольной матрице
- Q Exactive Focus
  - Полное сканирование со сбором зависимых данных MS<sup>2</sup>-сканирования (FS-ddMS<sup>2</sup>) – используется для подтверждения
- Данные были проанализированы с помощью программного обеспечения TraceFinder 3.2
  - Количественная обработка
  - Подтверждение с помощью новой библиотеки спектров высокого разрешения и точных масс (HRAM library)

# Инструментальные параметры MS (для FS-ddMS<sup>2</sup>) и ВЭЖХ

## Q Exactive Focus MS

FS-ddMS<sup>2</sup>

- Полное сканирование (FS)
  - Разрешение 70 000, (100-1000m/z), автоматический контроль усиления (AGC): 1e6
- ddMS<sup>2</sup> – подтверждение
  - Разрешение 35 000, ширина изоляции: 2.0m/z, AGC: 1e6, энергия соударения (CE): 35эВ, Top2

Для скрининга (переключение полярности)

Температура капилляра: 325°C

Нагреваемый электроспрей  
(HESI II): 350°C

Газ на кожух (Sheath gas): 35

Вспомогательный газ (Aux gas): 10

Очищающий газ (Sweep gas): 1 (резервный газ)

Напряжение на RF lens: 50

## Ultimate 3000

Насос: HPG 3200RS

Термостат колонок: TCC 3000RS

Автосамплер: WPS 3000TRS

Дегазатор: SRD 3400

Колонка Accucore 100x2.1mm, 2.6µm

Подвижная фаза

A: 0.1% муравьиная кислота/  
5mM формиат аммония в воде

B: 0.1% муравьиная кислота/  
5mM формиат аммония в метаноле

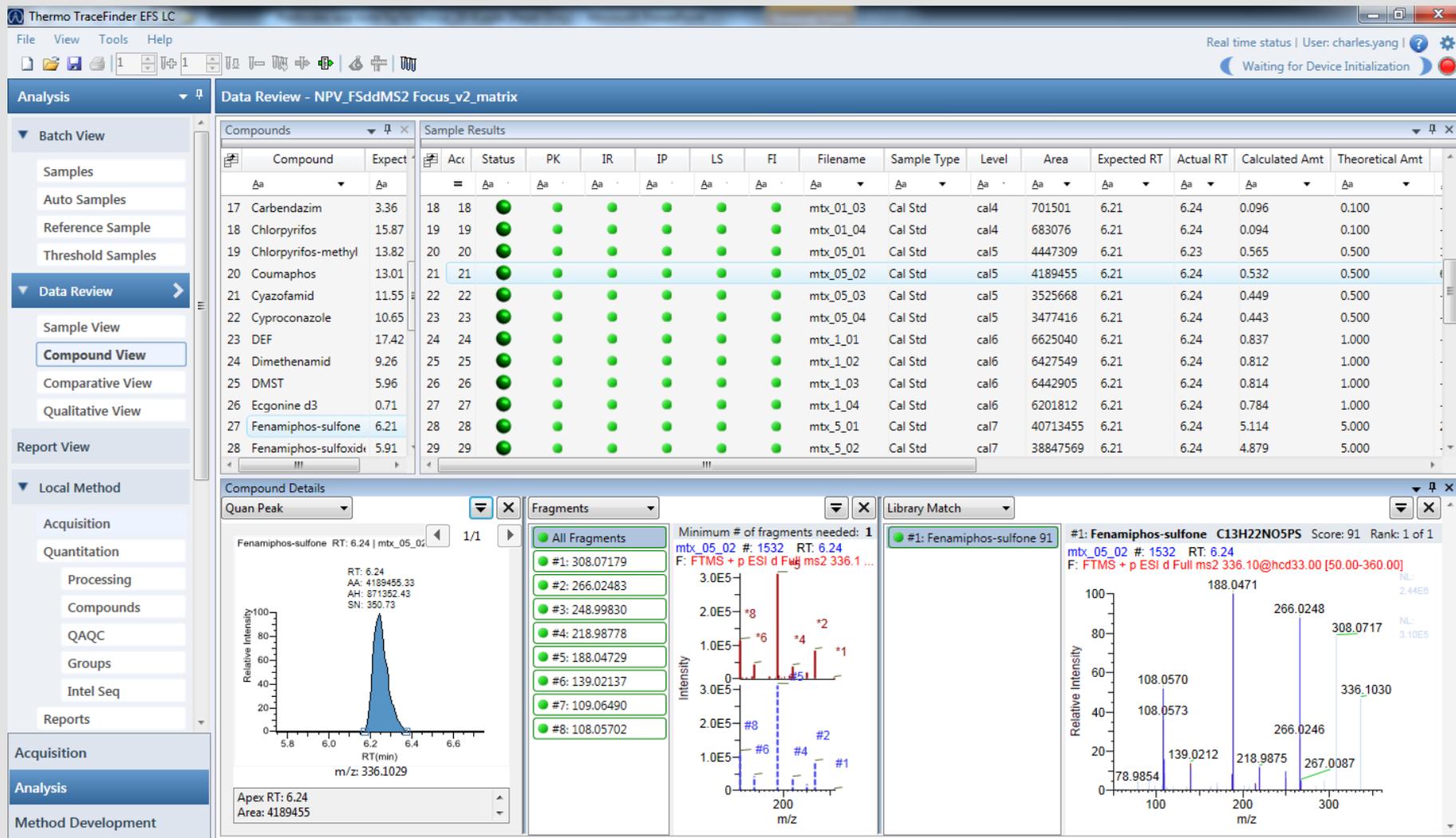
Объем инъекции: 10 мкл

# LOD/LOQ на основании подтверждения по фрагментам ионов и сравнения пределов исходя из нормативных актов ЕС и R<sup>2</sup> значений

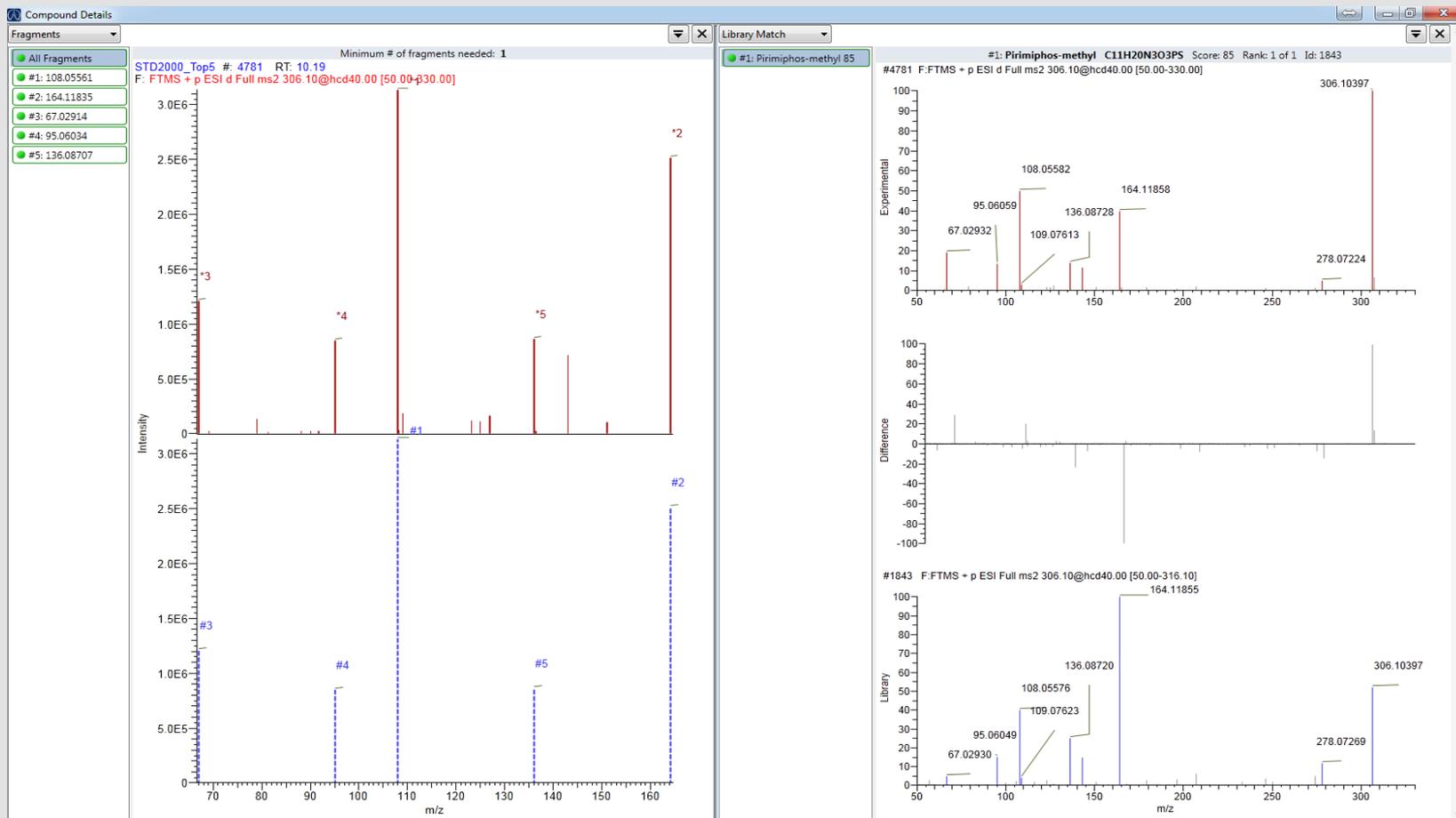
Compound Name	LOD (ppb)	%RSD	LOQ (ppb)	%RSD	EU Regulation limits µg/kg (ppb)
Allethrin	0.908	6.249	5.13	3.268	
Atrazine	0.103	6.093	0.578	10.335	50
Azoxystrobin	0.1	3.985	0.55	11.772	15000
Bendiocarb	0.732	6.875	0.732	6.875	
Benoxacor	0.092	6.988	0.528	8.989	
Bioresmethrin	0.774	4.444	5.236	4.982	
Boscalid	0.095	4.371	0.547	12.186	30000
Bupirimate	0.096	3.83	0.096	3.83	50
Cadusafos	0.436	11.63	0.884	6.114	10
Carbendazim	0.53	12.391	1.04	5.581	100
Chlorpyrifos	0.443	11.794	0.905	5.412	50
Coumaphos	0.097	6.001	0.597	13.192	
Cyazofamid	0.44	11.256	0.863	4.664	10
Cyproconazole	0.441	11.978	0.896	5.651	50
DEF	0.094	5.672	0.585	8.797	
Dimethenamid	0.099	2.234	0.574	11.823	10
DMST	0.094	3.456	0.575	10.714	
Fenamiphos-sulfone	0.094	5.974	0.565	12.156	20
Fluoridone	0.093	5.002	0.534	12.341	
Isoproturon	0.096	7.369	0.626	12.763	10
Phorate	0.909	5.229	4.917	2.457	10
Propetamphos	0.731	7.662	4.922	3.187	
Rotenone	0.05	42.335	0.104	4.719	10
Sulprofos	0.453	9.103	0.863	2.884	
Spirodiclofen	0.441	9.982	0.863	5.587	20
Thiobencarb	0.473	8.551	0.91	3.613	10
Triadimenol	5.117	2.93	5.117	2.93	100
Trifloxystrobin	0.096	2.905	0.096	2.905	20
Uniconazole	0.449	13.483	0.871	4.535	

Compound Name	R <sup>2</sup>
Allethrin	0.9998
Atrazine	0.9991
Azoxystrobin	0.9986
Bendiocarb	0.9997
Benoxacor	0.9987
Bioresmethrin	0.9987
Boscalid	0.9983
Bupirimate	0.9987
Carbendazim	0.9989
Chlorpyrifos	0.9986
Coumaphos	0.9994
Cyazofamid	0.999
Cyproconazole	0.9993
DEF	0.9992
Dimethenamid	0.999
DMST	0.9995
Fenamiphos-sulfone	0.9992
Fluridone	0.9986
Isoproturon	0.9995
Phorate	0.9986
Propetamphos	0.9989
Rotenone	0.9988
Spirodiclofen	0.9981
Sulprofos	0.9995
Thiobencarb	0.9998
Thiodicarb	0.9983
Triadimenol	0.9989
Trifloxystrobin	0.9985
Uniconazole	0.9993

# Совпадение фенамифос-сульфона со спектральной библиотекой и подтверждение по фрагментам ионов на уровне 0.5 ppb в свекольной матрице



# Спектральная библиотека высокого разрешения и точных масс (HRAM MS/MS) и база данных компонентов



- Экспериментальные данные, подтверждённые FS-ddMS/MS, показали, что пределы обнаружения анализируемых в данном исследовании компонентов были значительно ниже, чем требуется по нормам ЕС
- Подтверждение было достигнуто с помощью применения новой спектральной библиотеки, которая обеспечивает индекс совпадения более 60%, что даёт большую уверенность в результатах.
- Результаты показывают, что с новым Q Exactive Focus, необходимые пределы обнаружения достигаются и идентичность подтверждается через максимальное количество ионов фрагментов ионов, в отличие от подобных методов на тандемных масс-спектрометрах, где всего лишь используется один-два фрагмента

# ОТЗЫВ 1



*“Я считаю, что Q Exactive Фокус подходит в качестве наилучшей альтернативы для анализа остаточных количеств пестицидов, который в настоящее время осуществляется с помощью тройных квадрупольных инструментов. Помимо эквивалентных количественных данных для часто обнаруживаемых соединений, прибор обеспечивает дополнительный скрининг многих других соединений из той же инъекции по одному инструменту ”*

*Д-р Ханс Мол, RIKILT Вагенинген UR,  
Вагенинген, Нидерланды*

# Q Exactive Focus MS



## Задача

**Клинические исследования и судебная токсикология**

- Судебная токсикология
- Наркотические вещества
- Допинг
- Клинические исследования



## Q Exactive Focus

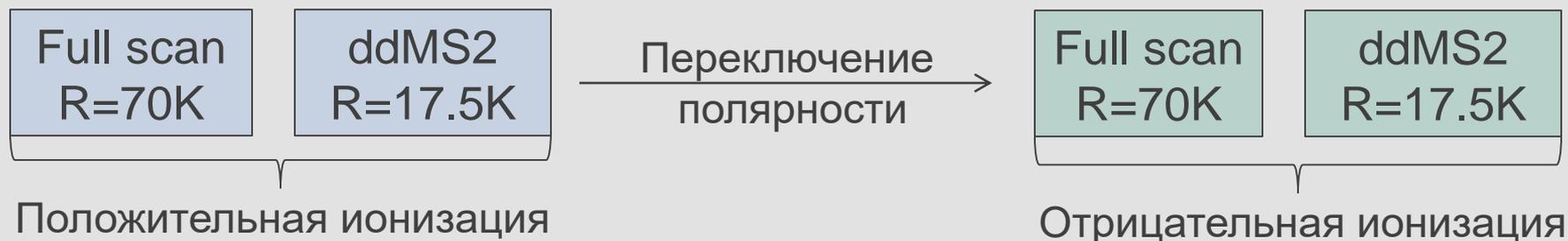
**Быстро и просто**

- Обнаружение
- Количественный анализ
- Подтверждение



# Пример 3: Целевой скрининг в моче используя FS-ddMS2 с переключением полярности

- Полное сканирование (FS) + подтверждение спектров Top2 ddMS2 spectra



## Компоненты идентифицированы на основании:

- Точной  $m/z$
- Времени удерживания
- спектров  $MS^2$
- изотопного шаблона

**Сильное подтверждение со спектрами  $MS^2$**

**Ограниченный ретроспективный анализ данных**

Только для судебного использования

# Метод оценки: полное сканирование (FS) с ddMS2 для подтверждения с переключением полярности

- Предел детектирования
  - Были отобраны 300 соединений - положительно и отрицательно ионизированные из разных классов.
  - Соединения выбраны группами от 10 до объединённой, концентрация 1,5, 10, 50, 100 и 500 нг/мл в моче.
  - Анализ положительного образца мочи, предоставленного сотрудником лаборатории.

Только для судебного использования

# Данные, собранные с помощью скрининговых методов

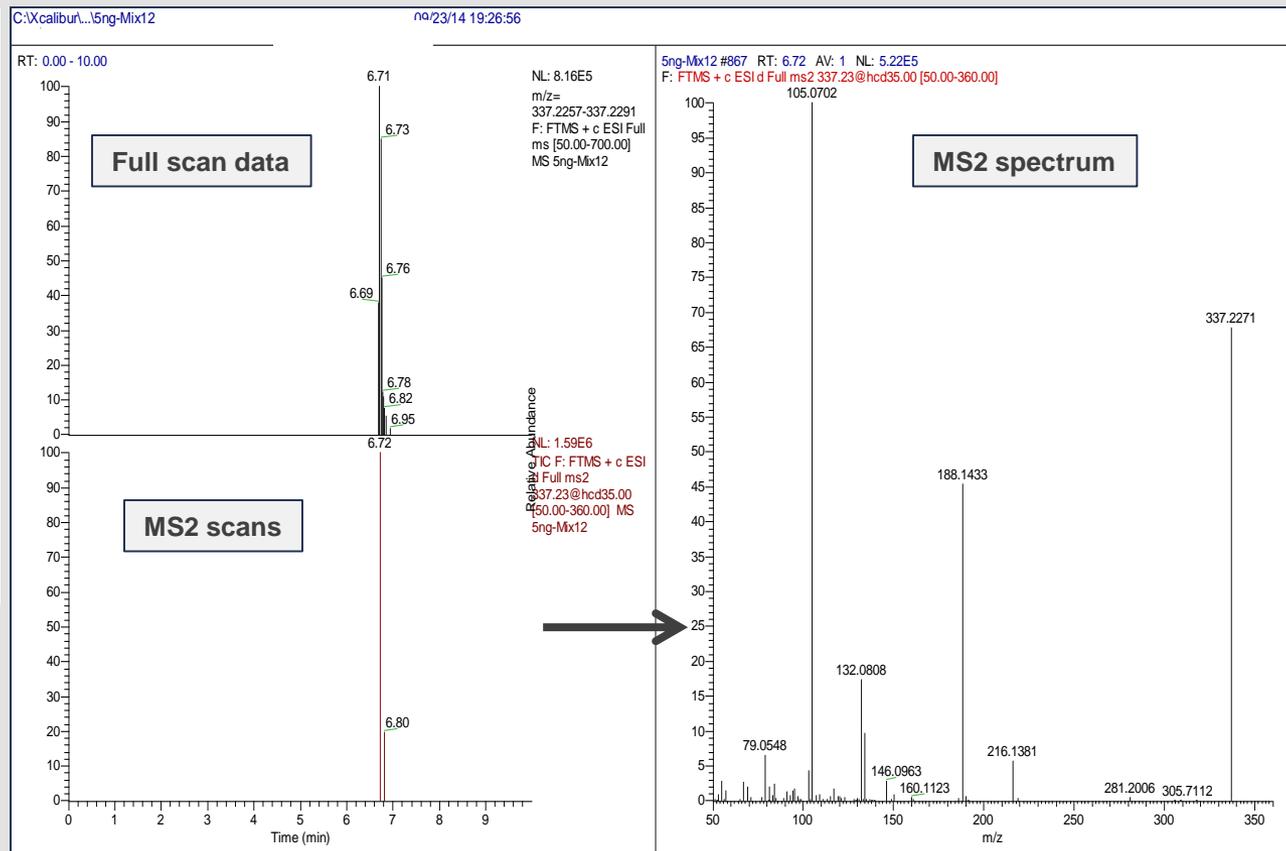
- Фентанил 1 нг/мл в моче донора

## Полное сканирование (FS)

1. Точные m/z
2. Время удерживания
3. Изотопный шаблон

## Сканирование MS2

1. Библиотечный поиск



Только для судебного использования

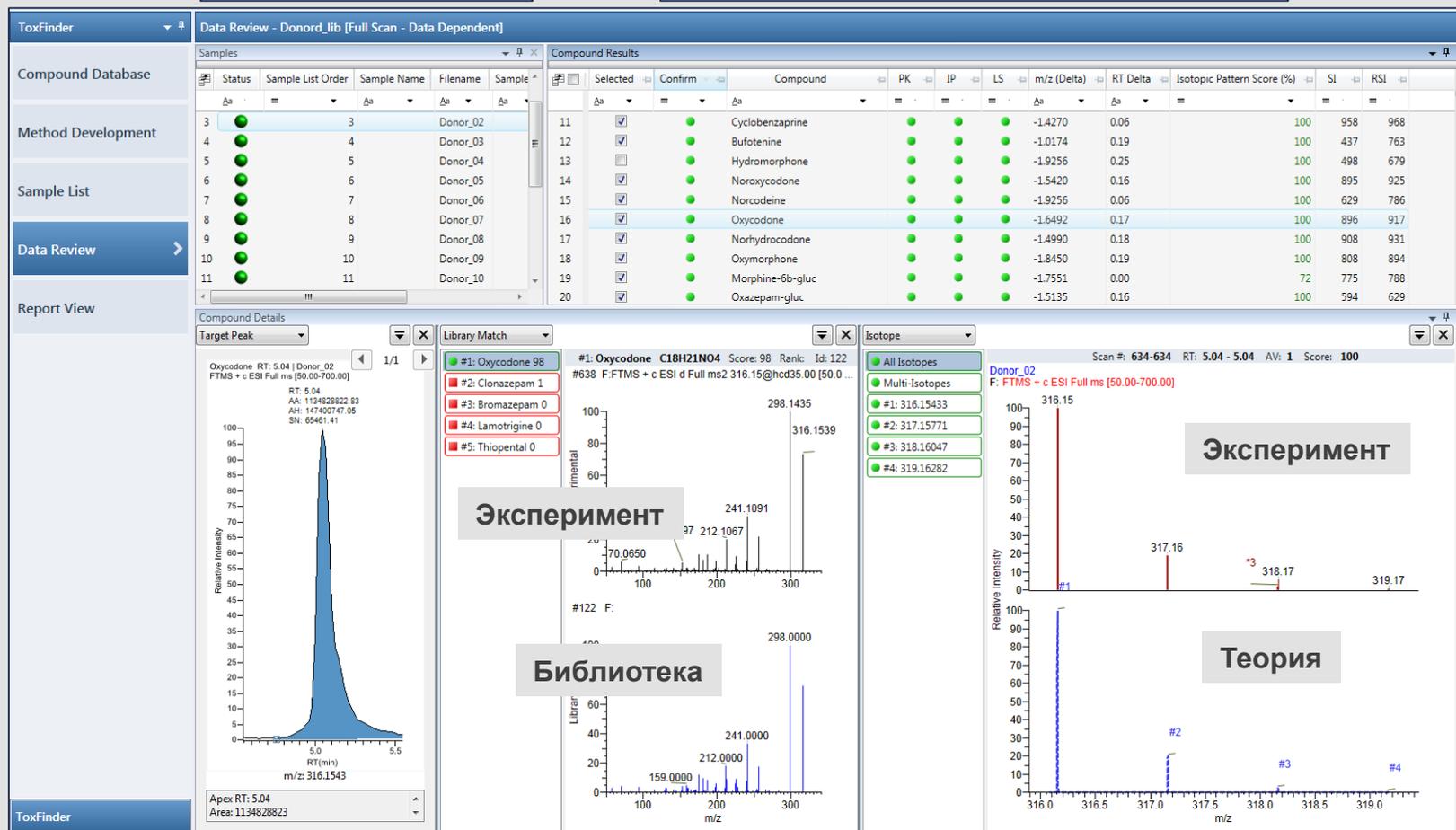
# Библиотека спектров MS2 высокого разрешения

- Токсикологическая библиотека:
  - 900 соединений для судебной токсикологии
    - Наркотические вещества
    - Терапевтические препараты
    - Экологические токсины

# Анализ данных с ToxFinder показывает индентификацию и высокое качество данных

Лист образцов

Результаты для компонентов



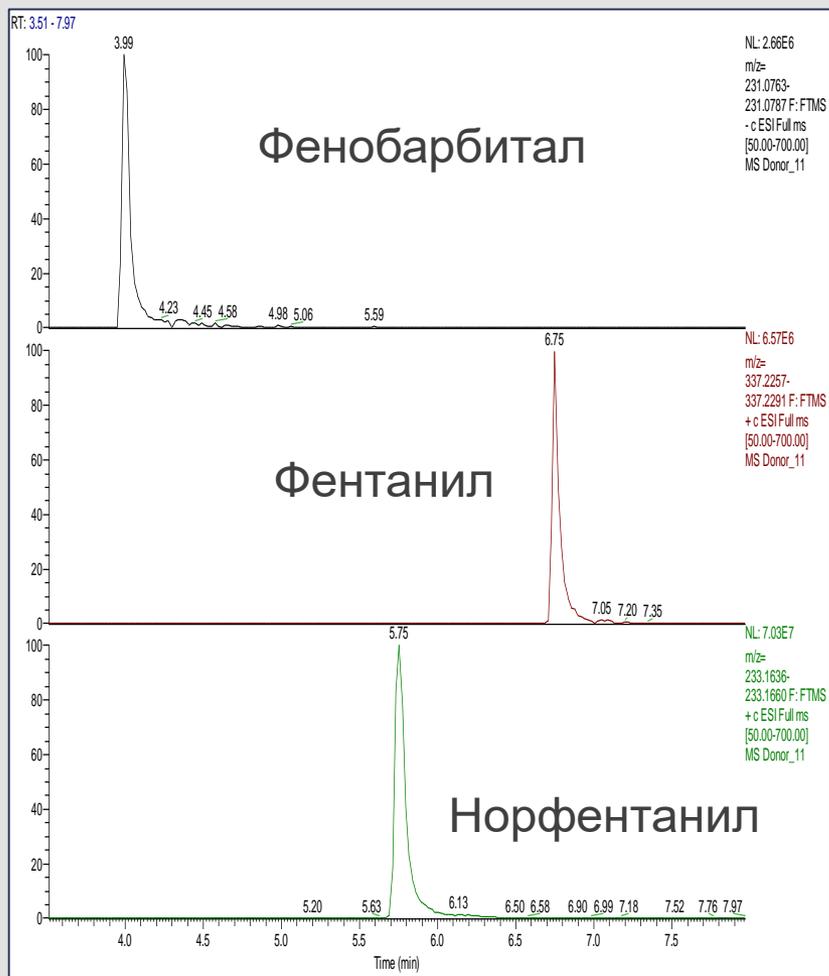
Хроматограмма

Результаты библиотечного поиска

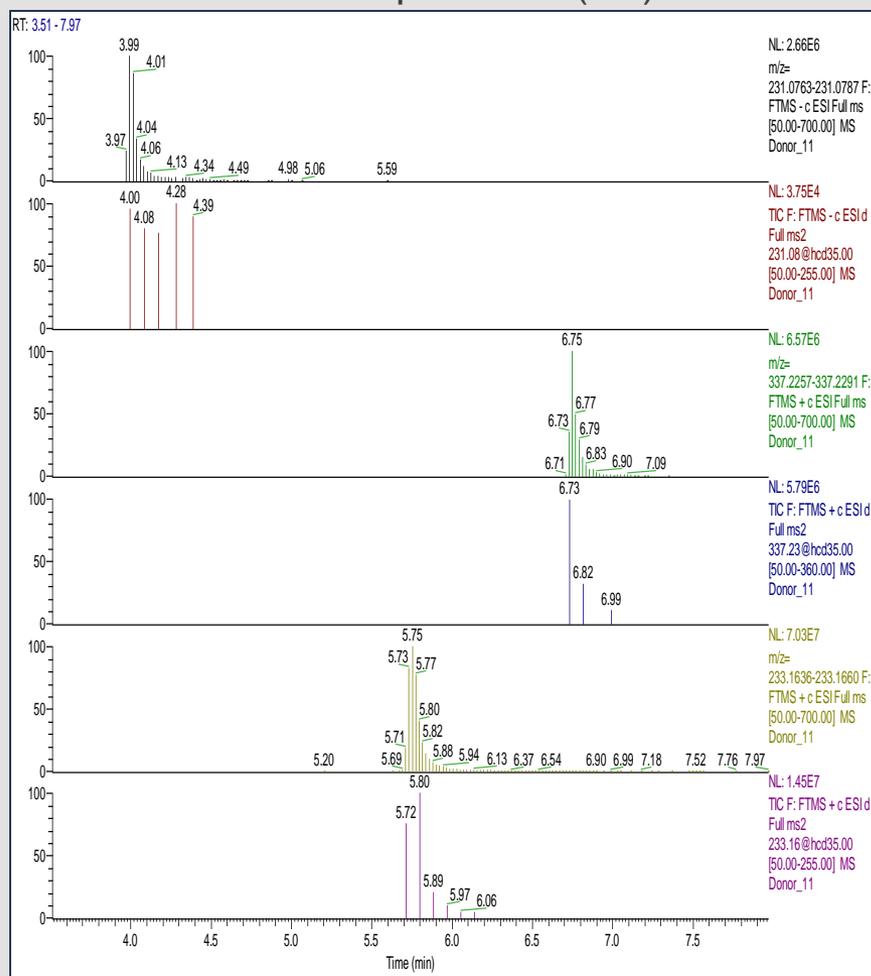
Сравнение с изотопным шаблоном

# Результаты анализа мочи Донора 1 – идентифицированные соединения

## Реконструированные хроматограммы

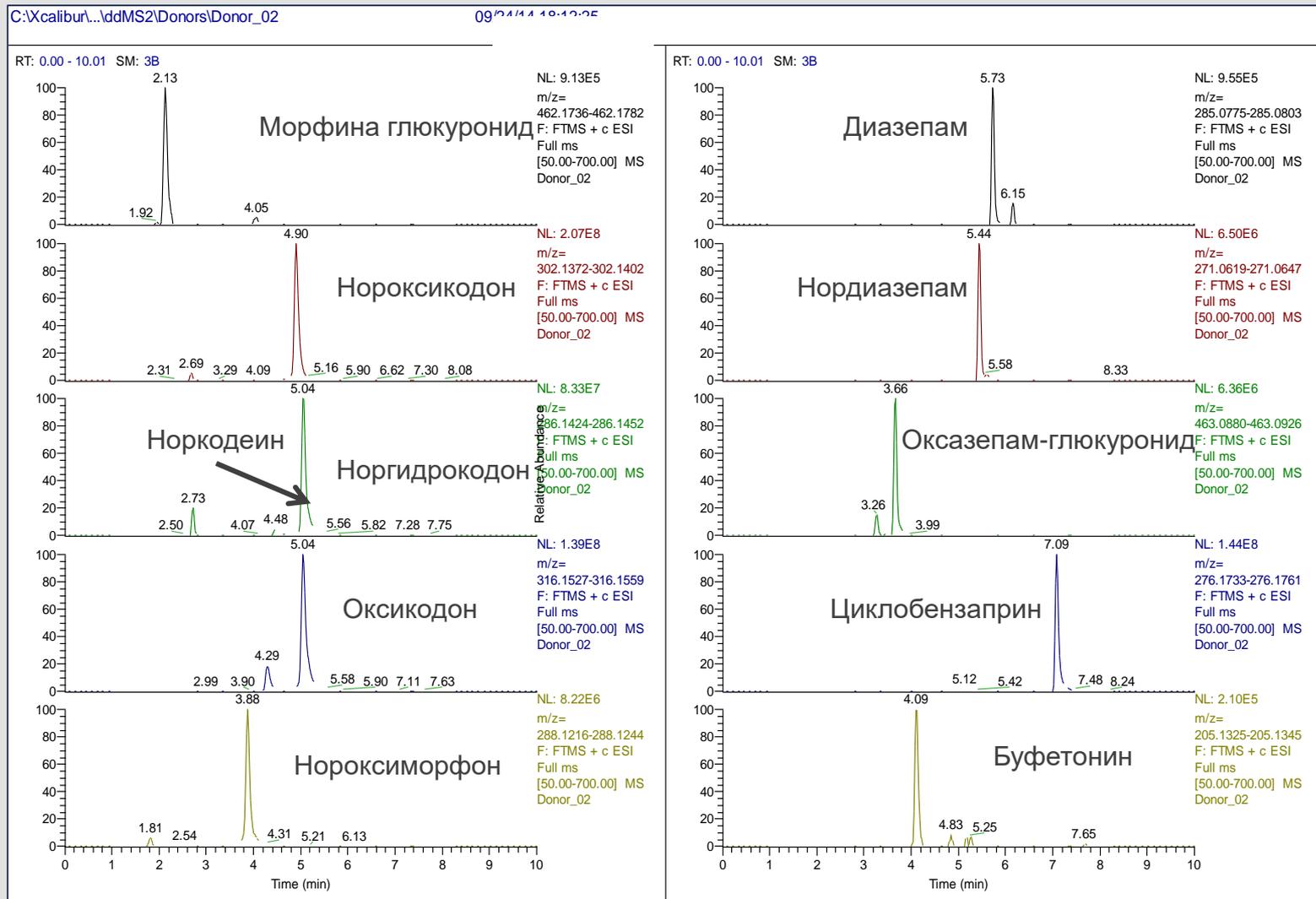


## Данные полного сканирования (FS) и сканы MS2



Только для судебного использования

# Результаты анализа мочи Донора 2 – идентифицированные соединения



Только для судебного использования

# Выводы

- Мы оценили метод скрининга мочи (FS-ddMS2 для подтверждения с переключением полярности) для приблизительно 300 соединений, включая положительно и отрицательно ионизированные наркотические вещества, лекарственные препараты и токсины окружающей среды.
- Пределы обнаружения для большинства соединений были в диапазоне 5-50 нг / мл в пуле донорской мочи.
- Метод был подтверждён путём анализа положительных образцов доноров, предоставленных сотрудником лаборатории.

Только для судебного использования.

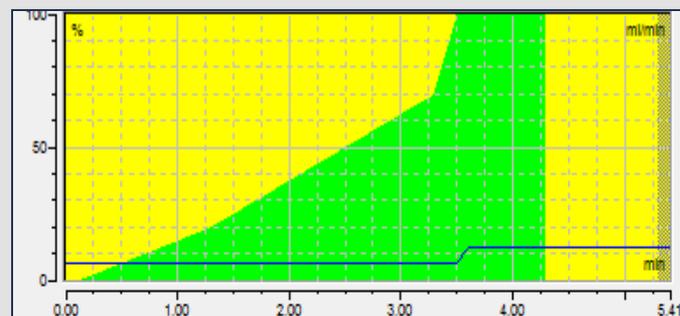
## Пример 4: Количественный анализ шести опиатов в моче используя параллельный мониторинг реакций (PRM or tMS2)

- Определённо наиболее точный количественный метод: коллекция спектров высокого разрешения MS/MS для каждого аналита и внутреннего стандарта.

Только для судебного использования.

# Подготовка образцов и ВЭЖХ

- Подготовка образцов
  - Гидролиз
  - Окончательное разведение: 40 раз
  - Объем инъекции: 10 мкл
- Метод ВЭЖХ
  - Колонка: Ассисоре PFP 50x2.1мм
  - Подвижная фаза А: 10 mM ацетата аммония, 0.1% муравьиной кислоты в воде
  - Подвижная фаза В: 10 mM ацетата аммония, 0.1% муравьиной кислоты в метаноле
  - Градиент 5.3 мин.



	Retention [min]	Flow [ml/min]	%B	%C	%D
1	0.000	0.500	0.0	0.0	0.0
2	0.000	0.500	0.0	0.0	0.0
3	0.100	0.500	0.0	0.0	0.0
4	1.300	0.500	20.0	0.0	0.0
5	3.300	0.500	70.0	0.0	0.0
6	3.500	0.500	100.0	0.0	0.0
7	3.600	1.000	100.0	0.0	0.0
8	4.300	1.000	100.0	0.0	0.0
9	4.300	1.000	0.0	0.0	0.0
10	5.300	1.000	0.0	0.0	0.0

Только для судебного использования.

# Метод PRM (t-MS<sup>2</sup>) для Q Exactive Focus

## Лист включений

## Оптимизация энергий столкновений для целевого компонента

Method editor — Inclusion List

	Mass [m/z]	Formula [M]	Species	CS [z]	Polarity	Start [min]	End [min]	CE	MSX ID	
1	286.14377				Positive	2.10	2.60	32		morphine
2	286.14377				Positive	2.40	2.80	37		hydromorphone
3	289.16260				Positive	2.10	2.60	32		morphine-d3
▶ 4	292.18143				Positive	2.40	2.80	37		hydromorphone-d6
5	300.15942				Positive	2.80	3.50	35		codeine
6	302.13868				Positive	2.30	2.70	32		oxymorphone
7	303.17825				Positive	2.80	3.20	35		codeine-d3
8	305.15751				Positive	2.30	2.70	32		oxymorphone-d3
9	306.19708				Positive	3.00	3.50	35		hydrocodone-d6
10	316.15433				Positive	3.00	3.50	30		oxycodone
11	319.17316				Positive	3.00	3.50	30		oxycodone-d3

## Properties

### Properties of the method

<input checked="" type="checkbox"/> <b>Global Settings</b>	
User Role	Advanced
Use lock masses	best
Lock mass injection	—
Chrom. peak width (FWHM)	6 s
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Time</b>	
Method duration	5.00 min
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Customized Tolerances (+/-)</b>	
Lock Masses	—
Inclusion	—
Exclusion	—
Dynamic Exclusion	—

### Properties of PRM

<input checked="" type="checkbox"/> <b>General</b>	
In-source CID	—
<input checked="" type="checkbox"/> <b>Targeted-MS<sup>2</sup></b>	
<b>Resolution</b>	<b>35,000</b>
Isolation window	3.0 m/z
Isolation offset	—
CE / stepped CE	33
Fixed first mass	—
Default charge state	1
AGC target	5e4
Maximum IT	auto
Microscans	1

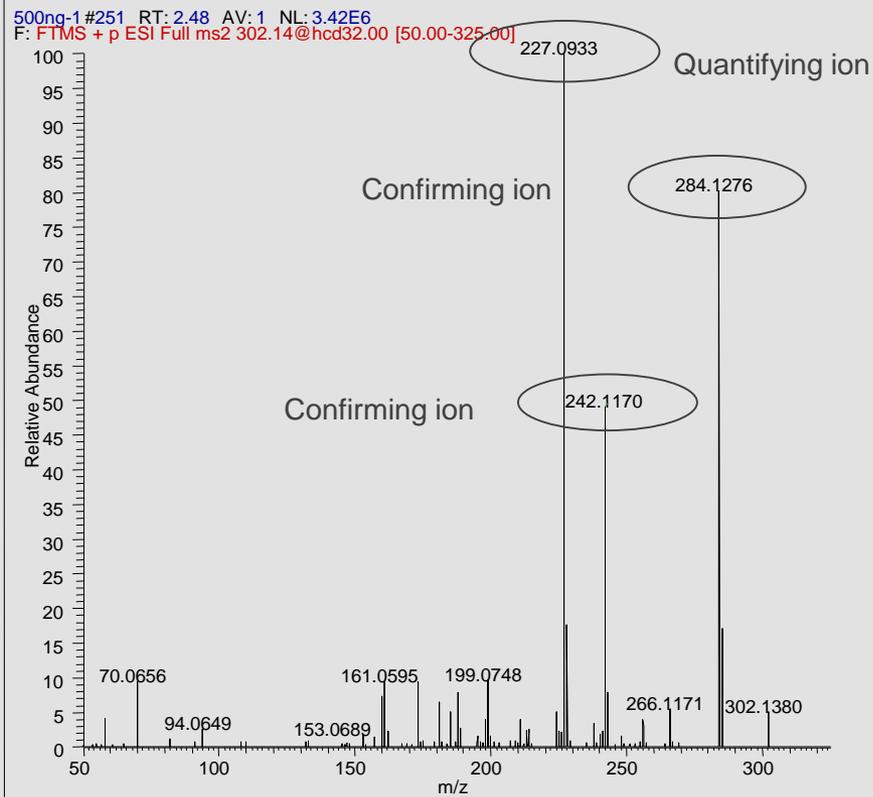
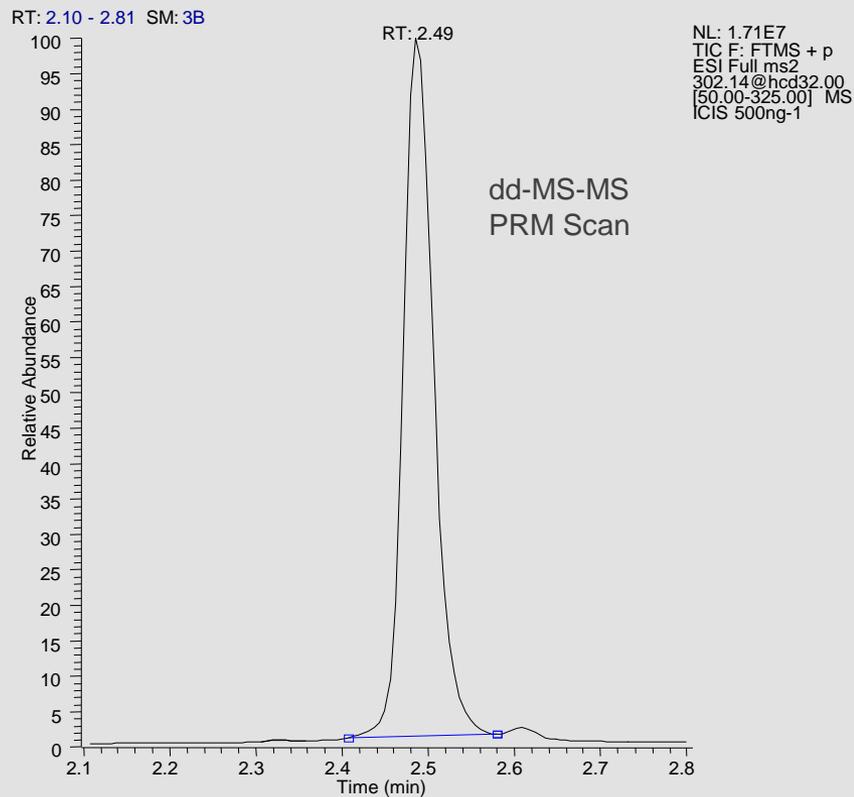
Только для судебного использования.

# Способ проверки

- Калибровочные стандарты (2-5000 нг/мл) готовили в искусственной моче.
- Образцы для контроля качества (QC) (5, 10, 100, 1000 нг/мл) готовили в искусственной моче.
- Внутренняя точность анализа: 5 повторов каждого QC.
- Внешняя точности анализа: 5 повторов каждого QC в 3 разных дня.
- Матричные эффекты: внутренняя норма % извлечения в 30 образцах доноров.

Только для судебного использования.

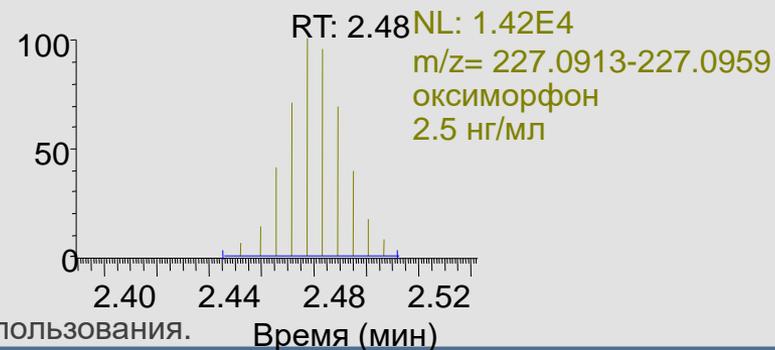
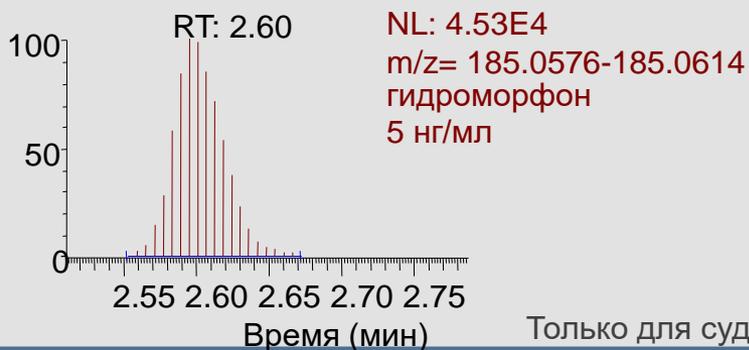
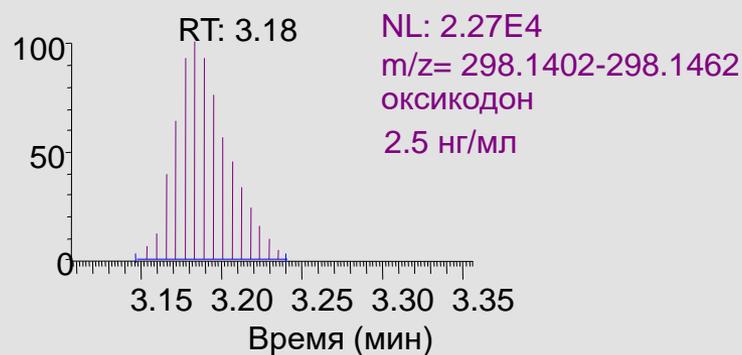
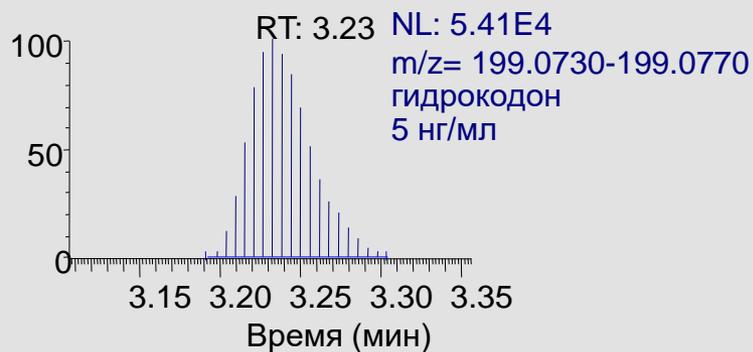
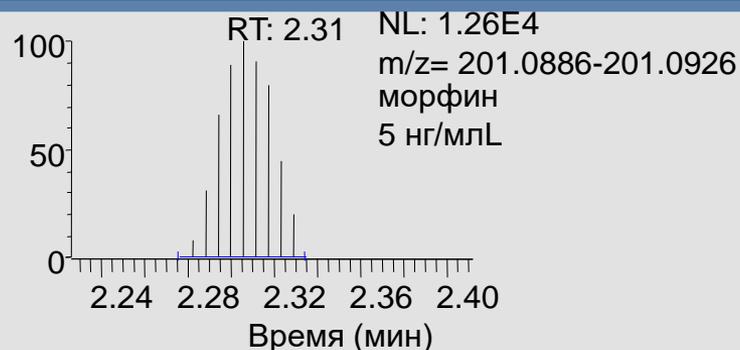
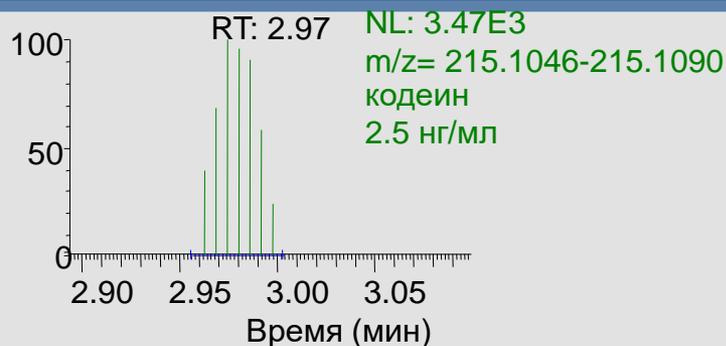
# Пример данных PRM - Оксиморфон



Уверенная идентификация аналитов по точной  $m/z$ , времени удерживания и соотношению ионов

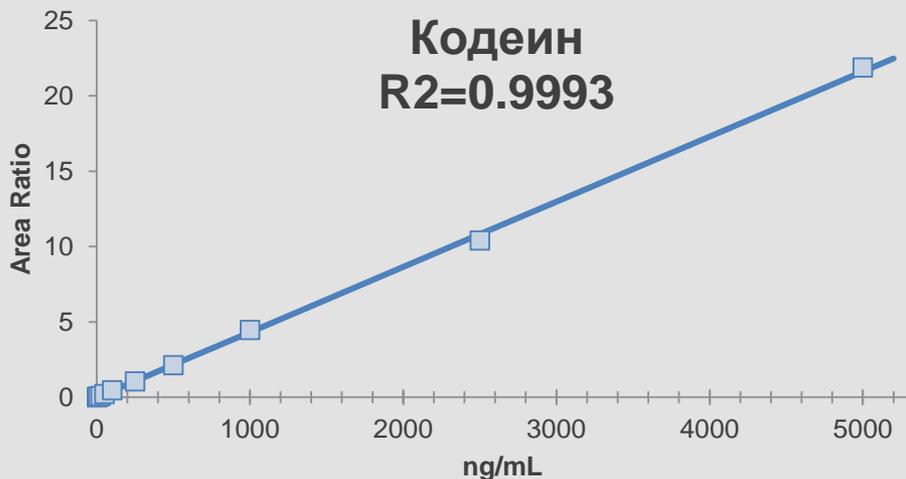
Только для судебного использования.

# Хроматограмма самого низкого калибровочного стандарта



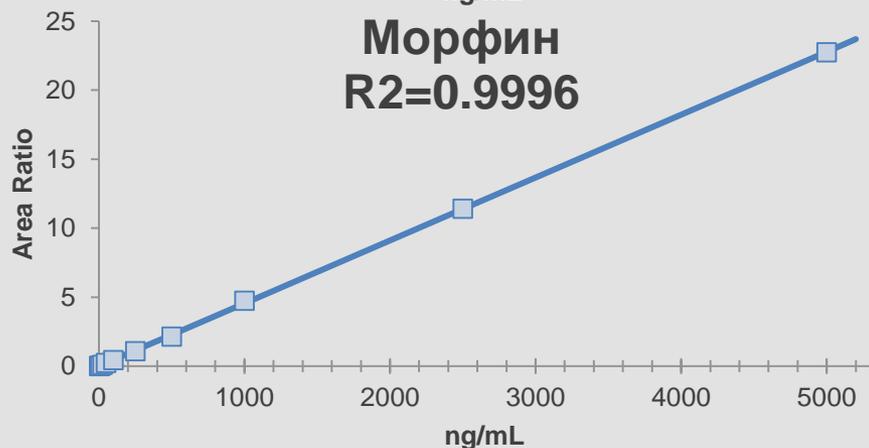
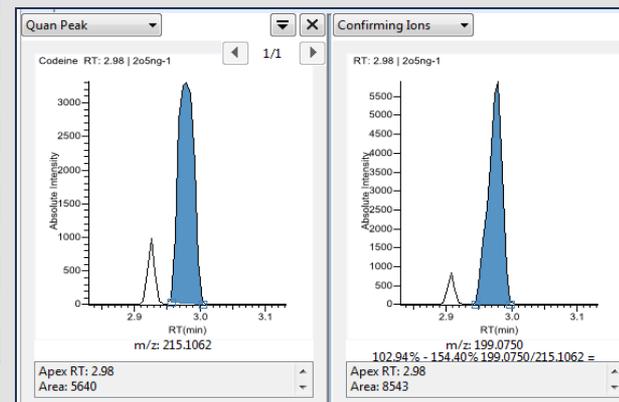
Только для судебного использования.

# Характерные калибровочные кривые



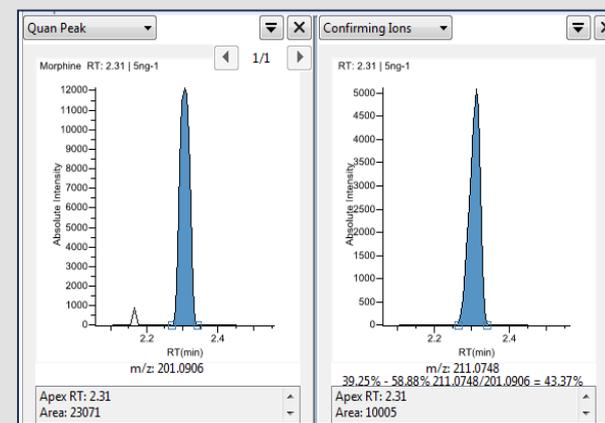
нг/мл	%Diff
5000	1.20
2500	-3.69
1000	3.55
500	-1.29
250	-1.53
100	7.11
50	2.83
25	-5.20
10	-5.64
5	6.42
2.5	-3.76

2.5 нг/мл



нг/мл	%Diff
5000	-0.140
2500	0.260
1000	4.09
500	-5.75
250	-4.14
100	-1.16
50	3.62
25	-7.44
10	-6.89
5	5.70

5 нг/мл



Только для судебного использования.

# Характеристики метода

Аналит	LOQ (нг/мл)	Линейный диапазон (нг/мл)	Внутренняя точность анализа	Внешняя точность анализа
Кодеин	2.5	2.5-5000	<5.1	<4.1
Гидрокодон	5	5-5000	<6.4	<6.1
Оксикодон	2.5	2.5-5000	<3.3	<3.3
Морфин	5	5-5000	<8.2	<7.5
Гидроморфон	5	5-5000	<3.2	<3.9
Оксиморфон	2.5	2.5-5000	<4.3	<3.4

Только для судебного использования.

Centre  
hospitalier  
universitaire  
vaudois



*„Масс-спектрометр Q Exactive Focus  
быстро станет вашим золотым стандартом, потому  
что это единственная технология, которая будет  
достойно отвечать на ваши рутинные,  
количественные и научно-исследовательские  
аналитические требования по доступной цене ”*

Д-р Бертран Роша, Клинический центр Университетский  
Vaudois,  
Лозанна, Швейцария

# Q Exactive Focus MS



## Challenge

**Metabolomics**

**Lipidomics**  
**Quantitation**

- Global untargeted Metabolomics
- Metabolite Quantitation



## Q Exactive Focus

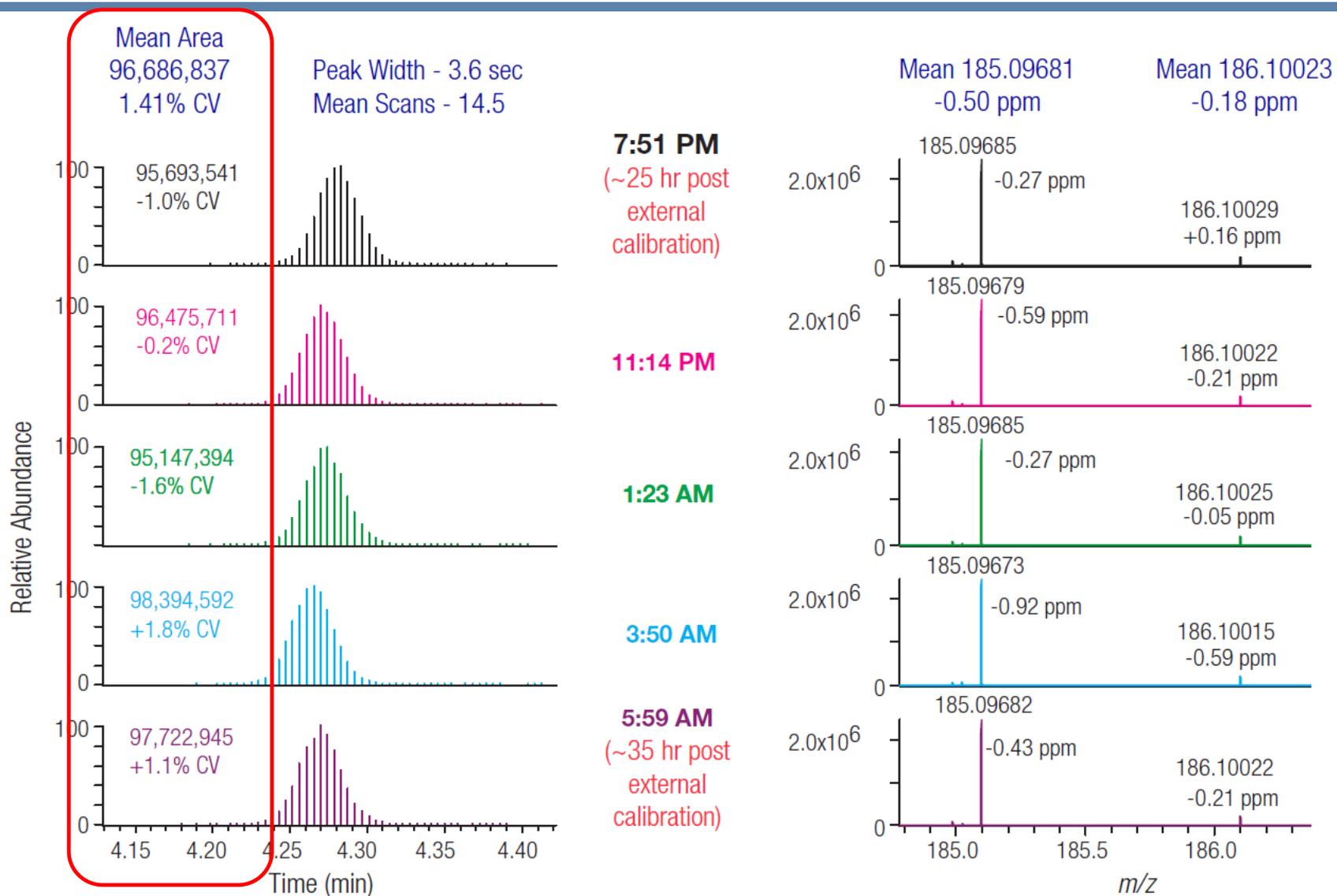
**Quick and Easy**

- Detect
- Quantitate
- Confirm



# Q Exactive Focus: Great Reproducibility for Quan

D<sub>5</sub>-hippuric acid, external calibration, resolution = 72,000 at m/z 185



# Example 5: Rat Fasting Metabolism Study using FS-only with polarity switching

- Study designed to monitor the affect of fasting on metabolic profiles

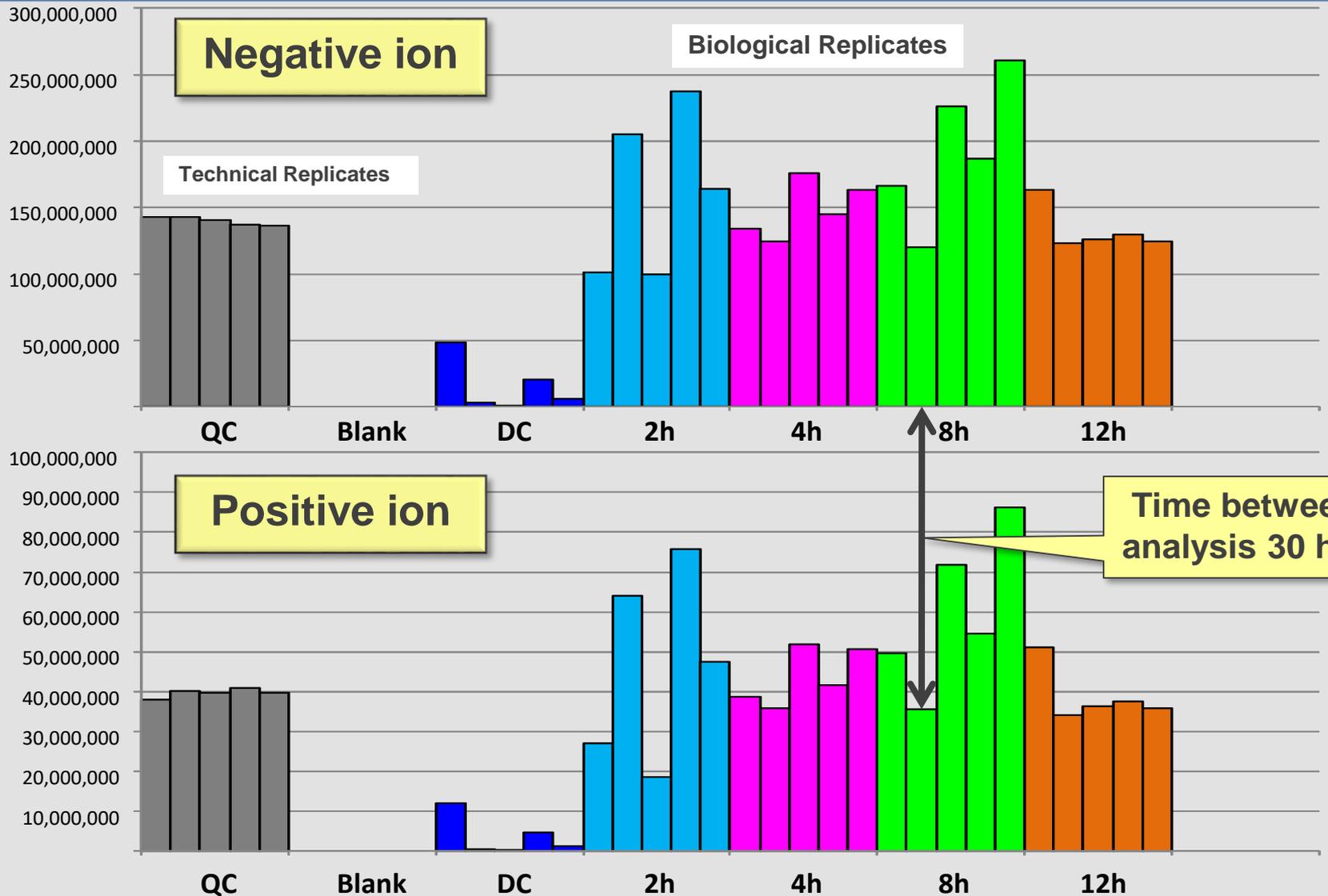
Group	Male	Fasting Time <sup>1</sup>
1: 1101-1105	5	Dark Cycle Control (no Fast)
2. 2101-2105	5	2 hr Fast
3. 3101-3105	5	4 hr Fast
4. 4101-4105	5	8 hr Fast
5. 5101-5105	5	12 hr Fast
6. 6101-6105	5	16 hr Fast

<sup>1</sup> Rats fasted during a 6 p.m. to 6 a.m. dark cycle to capture peak feeding time

- **Samples:** 50uL Serum ppt with cold MeOH
- **MS:** 70K resolution, ESI+ and ESI-
- **Column:** Hypersil GOLD aQ 2.1x150mm, 1.9 $\mu$  @ 600 $\mu$ L/min, 50°C
- **Buffers:** A: 0.1% formic acid in H<sub>2</sub>O, B: 0.1% formic acid in 98:2 ACN:H<sub>2</sub>O

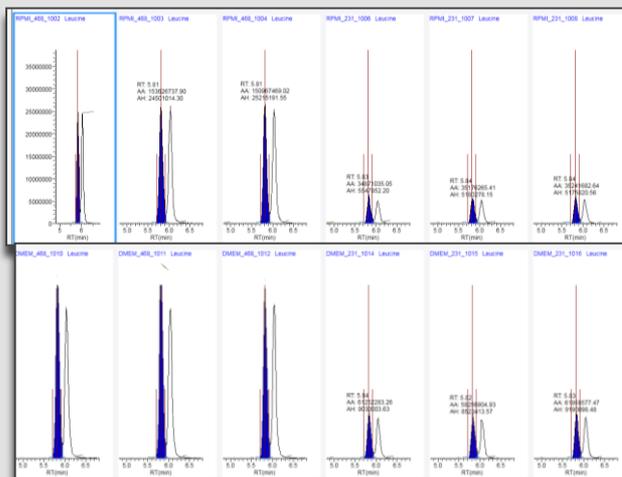
# Overall Method Robustness

## Uric Acid: Positive and Negative Data

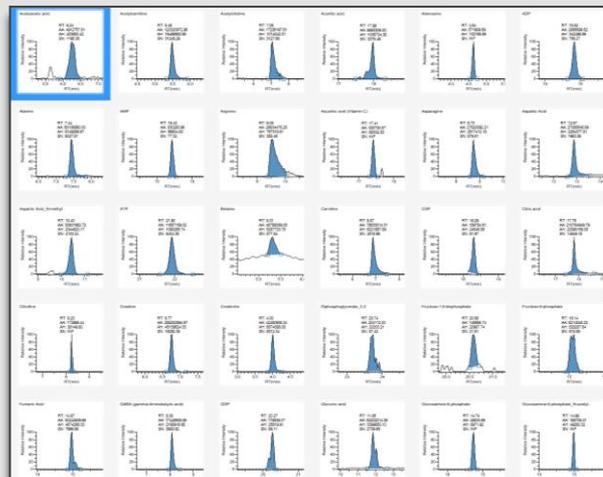


# Translational Metabolomics Powered by TraceFinder 3.2 Software

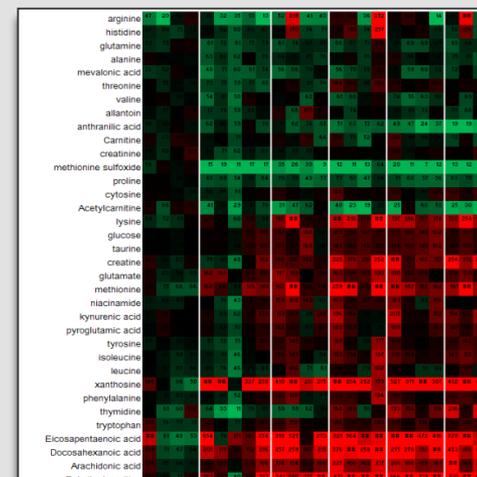
- Productivity driven quantitation & screening
- SIEVE software plug-in with automatic import of compound DB
- Customized parameters for each metabolite
- Quantification of one compound based on calibration curve from another
- Efficient data review & powerful custom report generator



A selected compound viewed across all samples



All compounds viewed within a selected sample



Custom heat map by the new report builder plug-in

# Q Exactive Focus MS



## Challenge

Pharma

Biopharma

- Peptide Quan
- Biomarkers



## Q Exactive Focus

Quick and Easy

- Detect
- Quantitate
- Confirm

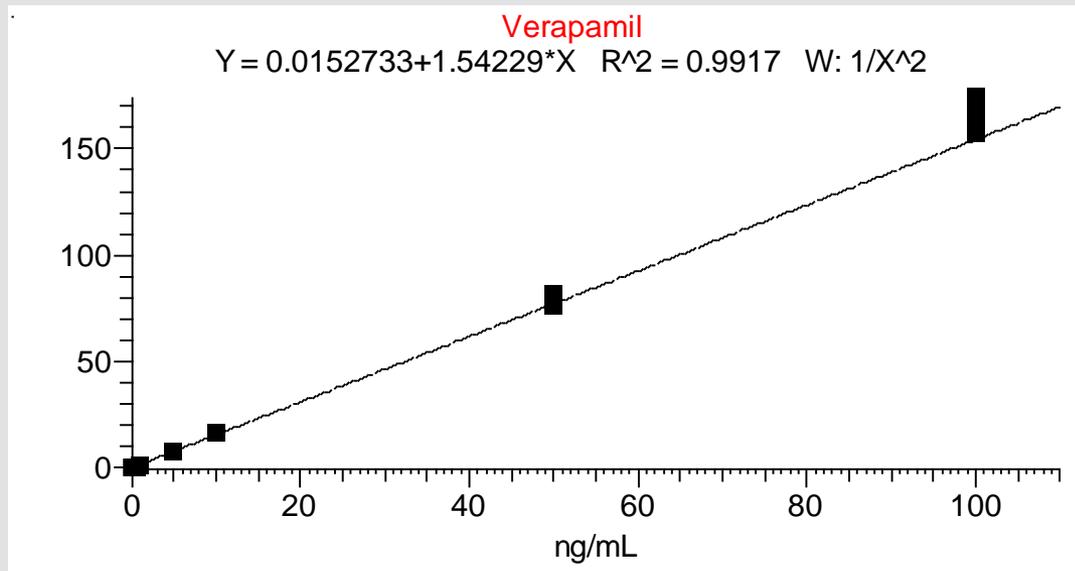


# Topic 6: HRAM Quantitation of Compounds in Plasma using targeted SIM analyses

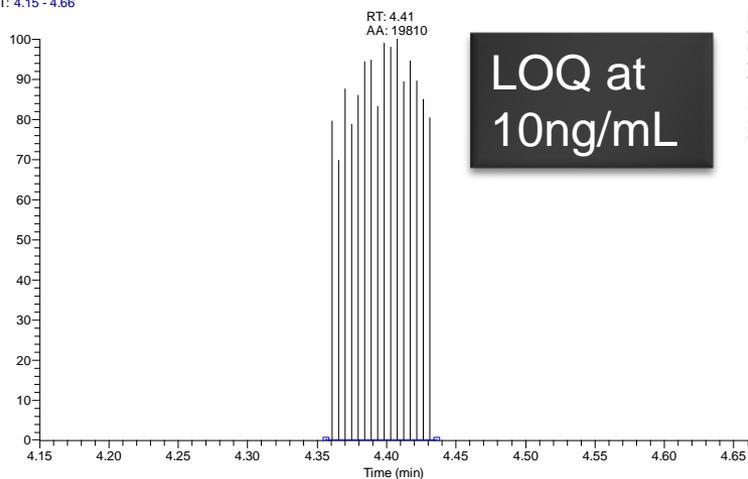
- Readily Available Standards with labeled IS
  - Cerilliant, 1mg/mL in MeOH
- Samples spiked in rat plasma
  - Serial Dilution (1 pg/mL – 10,000pg/mL)
  - 4-5 Orders of magnitude linear dynamic range
  - Sample pooling (5 compounds in a single solution)
  - Replicate injections (n=6)
- Generic MS and LC conditions
  - MS - QE Focus – SIM @ 70K, generic source conditions
  - LC – U3000RS OAS, 8 min LC, flow 500uL/min, 5uL injection volume
  - Column – Hypersil Gold aQ, 2.1 x 50mm, 1.9um

# Verapamil Summary

Standard (pg/mL)	Mean Calc Amt	%CV	Count
Verapamil	--	--	0
5.00	--	--	0
10.0	10.4	11.1	4
50.0	44.2	5.1	6
100	88	1.3	6
500	478	2	6
1000	1011	1.7	6
5000	5199	0.9	6
10000	10820	0.9	6
50000	51944	2.3	6
100000	107655	3.1	6

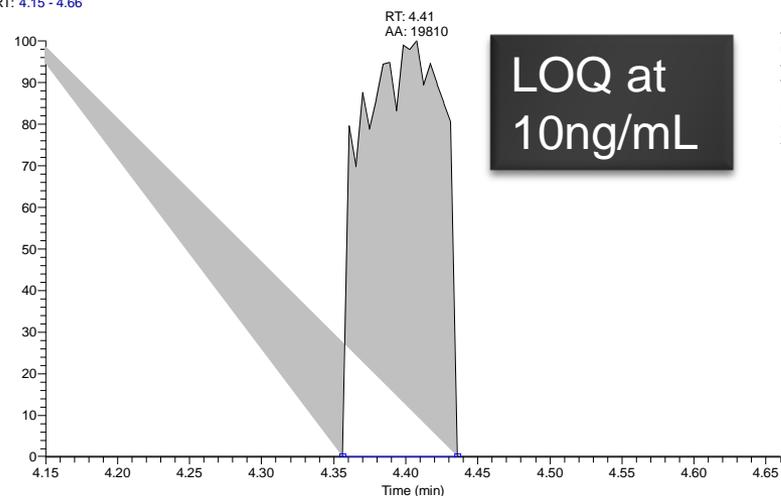


RT: 4.15 - 4.66



NL:  
4.97E3  
m/z=  
455.28676-  
455.29404 MS  
ICIS  
Plasma\_Curve\_  
SIM\_MOD\_1\_3  
21

RT: 4.15 - 4.66



NL:  
4.97E3  
m/z=  
455.28676-  
455.29404 MS  
ICIS  
Plasma\_Curve\_  
SIM\_MOD\_1\_3  
21

# Summary Table

Compounds	Q Exactive Focus t-SIM (Res - 70,000)	
	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
Buprenorphine	10	10
Paroxetine	5	10
Verapamil	10	10
Alprazolam-D5	10	10
Reserpine	5	50

# Conclusion

- Main requirements for quantitation
  - Sensitivity ✓
  - Linear Response ✓
  - Reproducibility ✓
- Ruggedness/Robustness
  - Preventative Maintenance ✓
  - Method Transfer ✓
  - Flexibility ✓
- Method Development/Troubleshooting
  - Orthogonal Technique ✓
  - Little to no optimization needed ✓
  - Interference and background characterization ✓

# Q Exactive Focus Applications Universe



# Q Exactive Focus Software Solutions



## TraceFinder™ 3.2

Optimized for Forensic Toxicology

© Copyright 2013 Thermo Fisher Scientific Inc.  
All rights reserved. This program is protected by copyright  
law and international treaties as described in Help About.



## TraceFinder™ 3.2

Optimized for Environmental and Food Safety

© Copyright 2013 Thermo Fisher Scientific Inc.  
All rights reserved. This program is protected by copyright  
law and international treaties as described in Help About.

Thermo ToxFinder 1.0

## ToxFinder 1.0

Full Scan -- AIF

Full Scan -- Data Dependent

SRM

© Copyright 2014 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. This program is protected by copyright law and international treaties as described in Help About.

**Thermo**  
SCIENTIFIC



# PORTFOLIO



## Exactive Plus (EMR)

- Orbitrap analyzer
- Mass Range m/z 50 - 6000
- Mass Range EMR: 300 - 20,000
- Mass Accuracy: <1ppm
- Mass Resolution >140,000
- Scan Speed up to 12 Hz



## Q Exactive Focus

- Orbitrap analyzer
- Mass Range m/z 50 - 2000
- Mass Accuracy <1ppm
- Max. Mass Resolution >70,000
- Scan speed up to 12Hz MS and 12 Hz MS/MS
- Polarity switching
- Top 2 ddMS2
- No Multiplexing
- Refined workflows that are optimal for routine laboratories



## Q Exactive & Q Exactive Plus

- Orbitrap analyzer
- Mass Range m/z 50 - 6000
- Mass Accuracy <1ppm
- Max. Mass Resolution >140,000
- Scan speed up to 12Hz MS and MS/MS
- Spectral Multiplexing
- AQT & AABG (QE Plus only)
- Optional Intact Protein Mode and Enhanced Resolution (280k) for QE Plus only



## Q Exactive HF

- Ultra High Field Orbitrap analyzer
- Mass Range m/z 50 - 6000
- Mass Accuracy <1ppm
- Max. Mass Resolution >240,000
- Scan speed up to 18Hz MS and MS/MS
- Spectral Multiplexing
- AQT & AABG
- Optional Protein Mode

# Overview of Current Orbitrap MS Portfolio

							
Attributes	Exactive Plus (EMR)	Q Exactive Focus	Q Exactive (Plus)	Q Exactive HF	Orbitrap LTQ XL	Orbitrap Elite	Orbitrap Fusion
Max Resolution (FWHM) @m/z 200	140k	70k	140k (280k Enh R)	240k	140k	340k	500k
Mass accuracy, ppm (internal cal)	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Scan rate (Hz)	12 Hz	12Hz	12 Hz	18Hz	1 Hz	4 Hz	18 Hz
Polarity switch (s)	<1	<1	<1	<1	Not during run	Not during run	1.1
Parallel Reaction Monitoring	NA	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Multiplex (precursor/scan)	NA	No	10	10	NA	NA	10
DIA-MS / SWATH	NA	vDIA	SWATH™-like, vDIA, msxDIA	SWATH™-like, vDIA, msxDIA	NA	Same as OT Fusion	WiSIM-DIA, SWATH™-like, vDIA, msxDIA
MS <sup>n</sup> (n=10)	NA	NA	NA	NA	Yes	Yes	Yes
ETD option	NA	NA	NA	NA	Yes	Yes	Yes
Decision-tree (CID/HCD/ETD)	NA	NA	NA	NA	NA	Yes	Yes
Synchronous MS <sup>3</sup>	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Yes



**CONCLUSION**

# Top Five Reasons to Buy

1

**Higher performance analysis in the most affordable Orbitrap ever, refined for routine laboratory experiments**

2

**Use for routine Qual and Quan with optional retrospective analysis, two techniques on one platform**

3

**Easy to use; quick method set up, no optimization**

4

**Versatile Processing Software for both Qual & Quan workflows**

5

**User Friendly in Daily Operation**

# Marketing Collateral: Q Exactive Focus MS

- Brochure
- Specification Sheet
- Application and Technical Notes
- Animation
- Testimonials
- Scientific Presentations
- Planet Orbitrap and RevBase promotions

**Detection of Stanozolol Glucuronides in Human Sports Drug Testing by Means of High-Resolution, Accurate-Mass Mass Spectrometry**

**Quantitation of Opiates to Low ng/mL Levels in Urine for Forensic Use Using an Affordable, High-Resolution, Accurate-Mass Mass Spectrometer**

**Metabolomic Profiling in Drug Discovery: Understanding the Factors that Influence a Metabolomics Study and Strategies to Reduce Biochemical and Chemical Noise**

**Quick and Sensitive Analysis of Multiclass Veterinary Drug Residues in Meat, Plasma, and Milk on a Q Exactive Focus LC-MS System**

**Thermo Scientific Q Exactive Focus Orbitrap LC-MS/MS System**  
Affordable. Durable. Proven.

- Scan speed up to 12 Hz with Orbitrap Analyser Technology for best sensitivity and quantitative results
- Resolving power of up to 70,000 (FWHM) at m/z 200
- Routine sub ppm mass accuracy
- Linear Dynamic Range up to 6 orders of magnitude
- Multiple approaches to quantitation including Selected Ion Monitoring (SIM), Parallel Reaction Monitoring (PRM), and Data Independent Acquisition (DIA)
- Priority scheduling for maximum instrument coverage
- High-Energy Collisional Dissociation (HCD)

**The Thermo Scientific™ Q Exactive™ Focus Orbitrap LC-MS/MS combines quadrupole precursor ion selection and a high-resolution accurate mass Orbitrap Orbitrap mass analyser to deliver mass accuracy, sensitivity, and fast polarity switching while maintaining usability comparable to a triple quadrupole mass spectrometer.**

**The Q Exactive Focus mass spectrometer delivers qualitative and quantitative results every day. Perform routine identification, quantitation and confirmation in a single analysis with easy-to-use Thermo Scientific™ TracePro™ acquisition and processing software.**

**Based on the proven Q Exactive platform, the Q Exactive Focus provides durable and reliable performance for routine laboratory drug and metabolite screening, profiling and quantitative analysis of small molecule compounds. Full scan confirmation mode and parallel reaction monitoring (PRM) provide reproducible quantitation results and targeted sensitivity capabilities. High-resolution independent analysis (DIA) provides complete qualitative coverage for unbiased screening without compromising precise quantitative attributes.**

**The Q Exactive Focus system provides best-in-class specificity at value price. It's ideal for routine labs performing food safety residue analysis, environmental analysis, forensic toxicology, sports doping, clinical research, metabolomics, and pharmaceutical research.**

**Thermo Scientific**

The image features a dark blue background with vertical light streaks and a horizontal light flare. A white sine wave with small starburst highlights is positioned below the company name.

**Thermo**  
S C I E N T I F I C

**Transform Your Science**