

# 自主研发四极杆-线形离子阱质谱仪测定 血清中甲氨蝶呤

刘粮泽<sup>1,2</sup>, 谢洁<sup>2</sup>, 屈子裕<sup>2</sup>, 易可可<sup>2</sup>, 张谛<sup>2</sup>, 黄泽建<sup>2</sup>,  
鄢丹<sup>3</sup>, 戴新华<sup>2</sup>, 方向<sup>2</sup>, 时正媛<sup>3</sup>, 江游<sup>2</sup>, 俞晓平<sup>1</sup>

(1. 中国计量大学生命科学学院, 浙江 杭州 310018; 2. 中国计量科学研究院前沿计量科学中心, 国家市场监管  
技术创新中心(质谱), 北京 100029; 3. 首都医科大学附属北京世纪坛医院, 北京 100038)

**摘要:** 本研究基于自主研发的 QLIT-6610MD 液相色谱-四极杆-线形离子阱-质谱联用仪, 建立了准确测量血清中甲氨蝶呤的同位素稀释质谱法。采用甲醇沉淀血清样品的蛋白后测定上清液。通过基质匹配标准曲线定量, 在 10~5 000  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内, 甲氨蝶呤的线性系数  $R^2 > 0.999 0$ , 定量限为 10  $\mu\text{g/L}$ , 质控品精密度优于 6.94%, 血清样本添加回收率为 86.39%~97.84%, 变异系数(CV)  $\leq 8.04\%$ 。应用 QLIT-6610MD 与 AB QTRAP 6500+液相色谱-质谱联用仪同时测定 70 例临床血清样本, 并采用 Pearson 系数与 Bland-Altman 法进行比较。结果表明, 2 台仪器所测结果一致, QLIT-6610MD 可达到三重四极杆质谱仪定量测定血清中甲氨蝶呤的水平, 能够满足临床诊断需求, 为临床质谱分析提供了一种新的国产仪器选择。此外, 本研究还初步探讨了多级碎裂技术( $\text{MS}^n$ )测定血清中甲氨蝶呤的可能性, 为后续研究奠定基础。

**关键词:** 液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS); 同位素稀释质谱; 四极杆; 线形离子阱; 甲氨蝶呤(MTX)

中图分类号: O657.63 文献标志码: A 文章编号: 1004-2997(2024)03-0364-11

doi: 10.7538/zpxb.2023.0082

## Determination of Methotrexate in Serum by House-Made Quadrupole-Linear Ion Trap Mass Spectrometer

LIU Liang-ze<sup>1,2</sup>, XIE Jie<sup>2</sup>, QU Zi-yu<sup>2</sup>, YI Ke-ke<sup>2</sup>, ZHANG Di<sup>2</sup>, HUANG Ze-jian<sup>2</sup>, YAN Dan<sup>3</sup>,  
DAI Xin-hua<sup>2</sup>, FANG Xiang<sup>2</sup>, SHI Zheng-yuan<sup>3</sup>, JIANG You<sup>2</sup>, YU Xiao-ping<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China; 2. Technology Innovation Center of  
Mass Spectrometry for State Market Regulation, Center for Advanced Measurement Science, National Institute of  
Metrology, Beijing 100029, China; 3. Beijing Shijitan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038)

**Abstract:** Methotrexate (MTX) is a therapeutic drug that is widely used in clinic for treatment of a variety of cancers. However, MTX has limited selectivity and serious cytotoxicity, at the same time, there are problems such as narrow therapeutic window and large individual variability in metabolism and excretion of MTX. Therefore, blood concentration monitoring is required for MTX administration in clinical practice. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) has the advantages of strong specificity, good separation characteristics, high sensitivity and fast detection

speed, which has become the internationally recognized “gold standard” for blood concentration monitoring of drugs. In this study, an isotope dilution mass spectrometry method was developed for accurate measurement of MTX in serum by the house-made QLIT-6610MD quadrupole-linear ion trap liquid chromatography-mass spectrometer. Unlike the traditional triple quadrupole QqQ tandem mass spectrometer, the quadrupole-linear ion trap (Q-LIT) mass spectrometer adopts the quadrupole-linear ion trap direct axial coupling design, i.e., a single linear ion trap is used to replace the QqQ tandem mass spectrometer’s back-end fragmentation cell and the quadrupole, and no other components are installed between the quadrupole and linear ion trap, which greatly streamlines the quality and efficiency of the mass spectrometer while ensuring the original performance of the instrument. With this unique configuration, the QLIT-6610MD instrument uses a simultaneous fragmentation and accumulation technique, which remarkably reduces matrix-induced interferences and effectively reduces space charge effects. Serum samples were pretreated with methanol to precipitate proteins and the supernatants were measured by QLIT-6610MD spectrometer. The linear correlation coefficient ( $R^2 > 0.999$ ) is obtained for MTX in the range of 10-5 000  $\mu\text{g/L}$ . The limit of quantification is 10  $\mu\text{g/L}$ . The precision of the quality control is better than 6.94%, and the recoveries of spiked serum samples are 86.39%-97.84% with a coefficient of variation less than 8.04%. We used the QLIT-6610MD and AB QTRAP 6500+ liquid chromatography-mass spectrometers to analyze 70 clinical serum samples for comparison of the performance of the house-made instrument by means of Pearson’s coefficient and Bland-ALtman method. The results showed that the QLIT-6610MD mass spectrometry achieves a similar level of performance to AB ATRAP 6500+ instrument, and provides a new domestic instrument option for clinical mass spectrometry. In addition, this study explores the possibility applying the multi-stage fragmentation technique ( $\text{MS}^n$ ) to determine MTX in serum, gaining fundamental data for future studies.

**Key words:** liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS); isotope dilution mass spectrometry; quadrupole; linear ion trap; methotrexate (MTX)

甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)是一种通过抑制二氢叶酸还原酶(DHFR)来抑制叶酸代谢的抗肿瘤药物,它可以抑制癌细胞的DNA合成,使癌细胞分裂受阻<sup>[1-4]</sup>。临床上,MTX广泛应用于骨肉瘤、非霍奇金淋巴瘤、髓母细胞瘤、急性淋巴细胞白血病等疾病的治疗<sup>[5-8]</sup>。MTX的选择性有限,具有严重的细胞毒性,同时存在治疗窗口窄、代谢与排泄个体差异大等问题<sup>[9-11]</sup>。因此,临床上在进行MTX给药治疗后,需监测血药浓度,以及及时掌握患者动态,这对给药调整以及预防毒性反应发生具有重要意义。

在MTX临床分析中,常采用操作简便、结果稳定的蛋白沉淀法进行样品预处理<sup>[12]</sup>,此外,还有固相萃取、液-液萃取以及磁性纳米粒特异性提取等方法<sup>[13-16]</sup>。目前,临床上针对血清中MTX的检测方法主要有紫外光谱法、毛细管电泳法、免疫法、高效液相色谱法和液相色谱-串

联质谱(LC-MS/MS)法<sup>[17-21]</sup>。其中,LC-MS/MS法具有特异性强、分离特性好、灵敏度高、检测速度快等优点,成为国际公认的血药浓度监测“金标准”<sup>[10]</sup>。LC-MS/MS技术主要基于三重四极杆(QqQ)串联质谱,但该技术和产品由国外仪器厂商垄断,给我国质谱行业发展造成了阻碍。

离子阱质谱具有结构简单、灵敏度高的特点<sup>[22]</sup>。国外仪器厂商生产的离子阱质谱仪拥有不同的四极杆和离子阱串联技术,由于其在四极杆与离子阱之间串联了其他解离部件,导致其结构复杂,成本较高<sup>[22-24]</sup>。中国计量科学研究院国家市场监管技术创新中心(质谱)研发了一种新型的四极杆-线形离子阱质谱(Q-LIT)装置QLIT-6610MD<sup>[25-26]</sup>,并于2022年获批医疗器械注册证。QLIT-6610MD采用一种基于Q-LIT质谱的同步碎裂和累积技术(简称“同步技术”),大大减少了基质引起的干扰,有效降低了空间电荷效

应<sup>[25-27]</sup>。此外, QLIT-6610MD 具有离子阱独有的多级碎裂( $MS^n$ )功能, 可以对杂质离子进行动态排除, 能够进一步降低基质效应给定量分析带来的干扰, 实现复杂样品的灵敏分析, 在临床质谱分析方面具有极大的潜力<sup>[27]</sup>。Q-LIT 串联质谱比离子阱质谱具有更高的定量准确性, 适用于多种复杂场景的精确分析。与离子在 QqQ 串联质谱碰撞池内高速运动直接与碰撞气发生碰撞诱导解离<sup>[28]</sup>(CID)不同, Q-LIT 先将离子捕获在离子阱中, 通过在离子阱施加交流(AC)电压, 离子被共振激发并吸收驱动射频电场的能量获得动能, 与阱内背景气体发生 CID。离子阱内的背景气体既可以使高能量的离子发生碰撞冷却, 又可以经碰撞将离子的动能转化为内能<sup>[26, 29-30]</sup>, 从而获得与 QqQ 相近的离子碎裂效率。在结构方面, Q-LIT 质谱仪采用四极杆-线形离子阱直接轴向耦联设计, 即使用单个线形离子阱代替 QqQ 串联质谱后端的碰撞池与四极杆, 无需在四极杆与线形离子阱之间安装其他部件, 在保证原有性能的基础上, 极大地精简了质量分析器的结构<sup>[25]</sup>。

由于传统的离子阱质谱存在一定的空间电荷效应, 因此极大限制了其定量分析复杂基质样品的能力<sup>[22]</sup>。为解决这一问题, 近年来出现了许多新技术, 如高压离子阱反复累积前体离子技术<sup>[31]</sup>、微型双压离子阱技术<sup>[32-33]</sup>等, 均对提高离子阱质谱分辨率、降低空间电荷效应有着积极意义。徐伟等<sup>[34]</sup>开发了基于网格存储波形逆傅里叶变换(Grid-SWIFT)波形的 Pseudo-MRM 模式, 在离子注入离子阱期间连续去除无关离子, 仅使目标离子被捕获、隔离和富集到离子阱中, 有效降低了空间电荷效应, 提高了目标分析物的选择性和信噪比, 并成功应用于实际样品的准确定量<sup>[35-36]</sup>。

本研究拟基于 QLIT-6610MD 装置建立四极杆-线形离子阱液相色谱-质谱联用法测定血清中 MTX, 开展批量实际临床样本的定量分析研究, 与商品化三重四极杆串联质谱仪的测量结果进行一致性评价, 从而为临床质谱分析提供一种可靠有效的方案。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

QLIT-6610MD 液相色谱-串联质谱系统: 安徽砺沐医疗器械有限公司产品; AB QTRAP

6500+液相色谱-串联质谱系统: 美国 AB Sciex 公司产品; AL204 电子分析天平: 瑞士 Mettler Toledo 公司产品; 5804R 型高速冷冻离心机: 德国 Eppendorf 公司产品; KB-5010 型涡旋仪: 海门市其林贝尔仪器制造有限公司产品; N-EVAP 112MA 氮吹仪: 美国 Organomation 公司产品; PM4-1300TD 型超声仪: 英国 PRIMA 公司产品; 微量可调移液器: 德国 Eppendorf 公司产品; DGG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱: 上海精密试验设备有限公司产品; 冰箱: 韩国 LG 公司产品; Milli-Q 型纯水仪: 美国 Millipore 公司产品; 依利特 C18 色谱柱: 大连依利特分析仪器有限公司产品。

甲氨蝶呤标准物质: 纯度 99.7%, 中国食品药品检定研究院产品; 甲氨蝶呤-D3 标准品: 上海甄准生物科技有限公司产品; 甲醇、乙腈、甲酸、超纯水: 均为质谱纯, 美国 Thermo Fisher 公司产品; 甲酸铵、乙酸铵: 均为质谱纯, 美国 Sigma Aldrich 公司产品。

### 1.2 溶液配制

**1.2.1 血清样本保存与使用** 混合人血清样本量不小于 500  $\mu\text{L}$ , 并于  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  保存。为保证样品在运输过程中的稳定性, 采用干冰运输, 使用前在室温下平衡 1 h。

**1.2.2 标准溶液的制备** 精密称取适量的甲氨蝶呤, 用 20 mmol/L NaOH 水溶液溶解至 5 g/L,  $4\text{ }^\circ\text{C}$  密封保存, 备用。称取 1 mg 甲氨蝶呤-d3 标准品, 向其中加入 0.5 mL 20 mmol/L NaOH 水溶液溶解, 得到 2 g/L 甲氨蝶呤-d3 储备液。吸取 10  $\mu\text{L}$  甲氨蝶呤-d3 储备液, 用甲醇稀释至 200 mL, 得到 100  $\mu\text{g/L}$  甲氨蝶呤-d3 内标溶液, 密封室温保存, 备用。

**1.2.3 标准曲线溶液的制备** 吸取 10  $\mu\text{L}$  甲氨蝶呤储备液于同一 EP 管中, 并加入 990  $\mu\text{L}$  甲醇-水稀释液(10 : 90,  $V/V$ ), 得到 50 000  $\mu\text{g/L}$  甲氨蝶呤标准品工作溶液, 然后用稀释液继续稀释得到 50 000、10 000、5 000、1 000、500、100  $\mu\text{g/L}$  标准品系列溶液。分别吸取 10  $\mu\text{L}$  标准品系列溶液, 置于不同的 EP 管中, 向其中加入 90  $\mu\text{L}$  人空白血清, 涡旋混匀 2 min, 得到 5 000、1 000、500、100、50、10  $\mu\text{g/L}$  标准曲线溶液。

**1.2.4 质控样品的制备** 吸取 10  $\mu\text{L}$  甲氨蝶呤储备液于 EP 管中, 并加入 990  $\mu\text{L}$  甲醇-水稀释液(10 : 90,  $V/V$ ), 得到 50 000  $\mu\text{g/L}$  甲氨蝶呤标准品

工作液, 然后用稀释液继续稀释得到 45 000、4 500、200、100  $\mu\text{g/L}$  质控工作液, 每一浓度的质控工作液平行配制 6 份。分别吸取 10  $\mu\text{L}$  质控工作液, 置于不同的 EP 管中, 向其中加入 90  $\mu\text{L}$  人空白血清, 涡旋混匀 2 min, 得到 4 500、450、20、10  $\mu\text{g/L}$  质控溶液(QC)。

### 1.3 样品前处理

吸取 100  $\mu\text{L}$  血清样品于 EP 管中, 向其中加入 500  $\mu\text{L}$  内标溶液, 涡旋混匀 2 min, 以 12 000 r/min 离心 15 min, 取 200  $\mu\text{L}$  上清液, 待测。校准品、质控品的制备过程与样品一致。其中, 24 h 采集样品中的甲氨蝶呤浓度超出检测上限, 需要用空白血清稀释 20 或 40 倍后, 按上述方法处理检测。

### 1.4 LC-MS/MS 条件

**1.4.1 QLIT-6610MD** 色谱条件: 依利特 C18 色谱柱 (150 mm $\times$ 4.6 mm $\times$ 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液 (A) 和 0.1% 甲酸甲醇溶液 (B), 流速 0.6 mL/min; 柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 梯度洗脱程序: 0~1 min (10%~65%B), 1~2 min (65%~90%B), 2~3 min (90%~10%B), 3~6 min (10%B)。

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI), 正离子模式, 子离子扫描 (QTPIS) 与多级子离子扫描 (QTPIS<sup>n</sup>); 电喷雾电压 5 000 V, 离子源温度 400  $^{\circ}\text{C}$ , 大气压接口温度 300  $^{\circ}\text{C}$ , 鞘气压强 275 kPa, 辅助气压强 140 kPa, 反吹气压强 5.5 kPa。其他质谱参数列于表 1。

表 1 质谱参数

Table 1 Mass spectrometric parameters

化合物 Compound	母离子 Parent ion ( <i>m/z</i> )	子离子 Daughter ion ( <i>m/z</i> )	QLIT-6610MD			AB QTRAP 6500+		
			富集时间 Enrichment time/ms	碎裂 $q$ 点 $q$ Point	碎裂能量 Fragmentation energy/%	去簇电压 Declustering voltage/V	碰撞能量 Collision energy/V	驻留时间 Dwell time/ms
MTX	455.2	308.2	300	0.3	25	73	27	100
MTX-d3	458.2	311.2	300	0.3	25	73	27	100

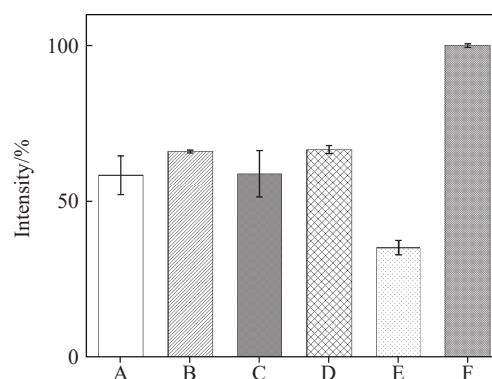
**1.4.2 AB QTRAP 6500+** 色谱条件同 1.4.1 节。质谱条件: 电喷雾离子源, 正离子模式, 多反应监测 (MRM) 模式; 电喷雾电压 5 500 V, 离子源温度 450  $^{\circ}\text{C}$ , 雾化气压强 380 kPa, 辅助加热气压强 345 kPa, 气帘气压强 240 kPa, 碰撞解离气设为 Medium。其他质谱参数列于表 1。

差, 这可能是由于 MTX 的  $\text{pK}_a=3.04$ , 随着酸浓度增加, pH 值降低, MTX 离子化效率降低, 导致其响应强度降低, 稳定性变差。与仅添加 0.1% 甲酸相比, 在此基础上添加 2 mmol/L 乙酸铵后, MTX 的响应强度虽有提高, 但其色谱峰变宽, 稳定性较差。使用 0.1% 甲酸时, 峰形尖锐对称, 且响应

## 2 结果与讨论

### 2.1 LC-MS/MS 方法的建立

根据文献<sup>[27, 37-39]</sup>报道, 甲酸、甲酸铵、乙酸铵等有助于提高 ESI 电离效率, 改善色谱峰形, 是常用的可挥发性流动相添加剂。为提高 MTX 在电喷雾离子源下的电离效率, 考察了在流动相体系中添加不同浓度的甲酸、甲酸铵、乙酸铵对 MTX 响应强度的影响, 结果示于图 1。由于缓冲盐在 ESI 源内得失电荷的能力强于 MTX, 使得 MTX 离子化效率下降, 同时, 缓冲盐结晶会导致峰形变差。因此, 向流动相中添加甲酸与添加不同浓度铵盐相比, 响应强度提升有限, 且峰形不佳, 稳定性较差。当加入 0.1% 甲酸时, 响应强度与稳定性较加入 0.05% 甲酸有较大提升。但随着甲酸浓度的提高, 响应强度与稳定性变



注: A. 0.05%FA+MeOH; B. 0.1%FA+MeOH; C. 0.2%FA+MeOH; D. 0.5 mol/L 甲酸铵+MeOH; E. 2 mol/L 甲酸铵+MeOH; F. 0.1%FA+2 mol/L 乙酸铵+MeOH

图 1 不同流动相对 MTX 响应强度的影响

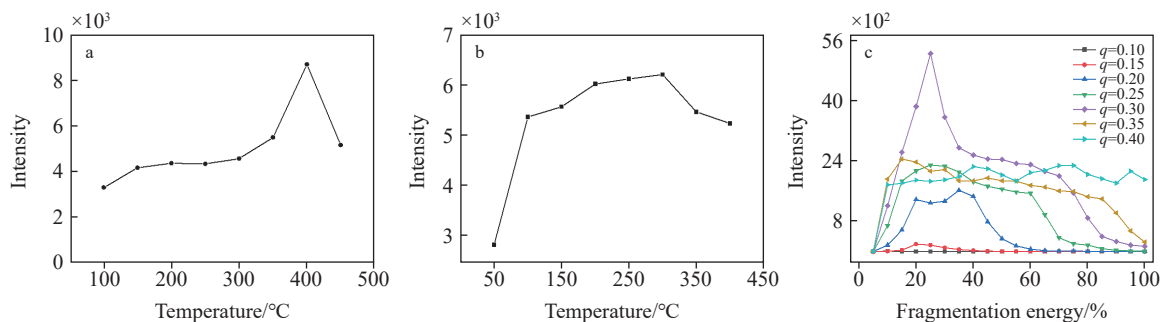
Fig. 1 Effect of different mobile phases on the intensity of the MTX response

强度满足要求,在后续实际样本检测中,MTX 色谱峰形未受血清基质影响。综上所述,选择向流动相中添加 0.1%甲酸作为最优条件。

为进一步提高 MTX 的响应强度,通过外置注射泵在 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  流动注射模式下优化 QLIT-6610MD 质谱条件,包括离子透镜电压参数、离子源温度、大气压接口温度、碎裂  $q$  点以及碎裂能量,根据目标离子的最佳响应强度值选择对应的参数,优化结果示于图 2,优化后的提取离子色谱图示于图 3。在高压电场作用下,样品溶液在离子源与大气压接口装置中经库仑爆炸形成带电小液滴,并在电场、辅助气与高温多重作用下去除溶剂,形成的带电离子在真空与电场的双重作用下经离子导引进入四极杆与线形离子阱<sup>[27]</sup>。综上,选择合适的离子化温度对提高 MTX 的离子化效率和准确定量具有重要意义。由图 2a、2b 可见,MTX 响应强度随离子源温度和大气压接口温度升高而升高,当离子源温度达到 400  $^{\circ}\text{C}$ 、

大气压接口温度达到 300  $^{\circ}\text{C}$  时,MTX 响应强度达到最高,随后逐渐降低。离子光学碎裂参数包括碎裂  $q$  点与碎裂能量,是对质谱条件进行优化的重要参数。由马修方程可知,在质荷比一定的情况下,碎裂  $q$  点决定了目标物的碎裂效率,因此选择最佳的碎裂  $q$  点与碎裂能量可使母离子经碎裂产生最优子离子<sup>[39-41]</sup>。碎裂参数对响应强度的影响示于图 2c,当碎裂  $q$  点为 0.1~0.15 时,离子处于相对不稳定状态,碎裂效率极低,此时施加碎裂能量,目标物响应强度未发生显著变化;随着碎裂  $q$  点增加,目标物响应强度提高,当  $q$  点值为 0.30、碎裂能量为 25% 时,MTX 响应值达到明显峰值。因此,选择离子源温度 400  $^{\circ}\text{C}$  与大气压接口温度 300  $^{\circ}\text{C}$ 、碎裂  $q$  点为 0.30、碎裂能量为 25% 作为 QLIT-6610MD 的最佳质谱参数。

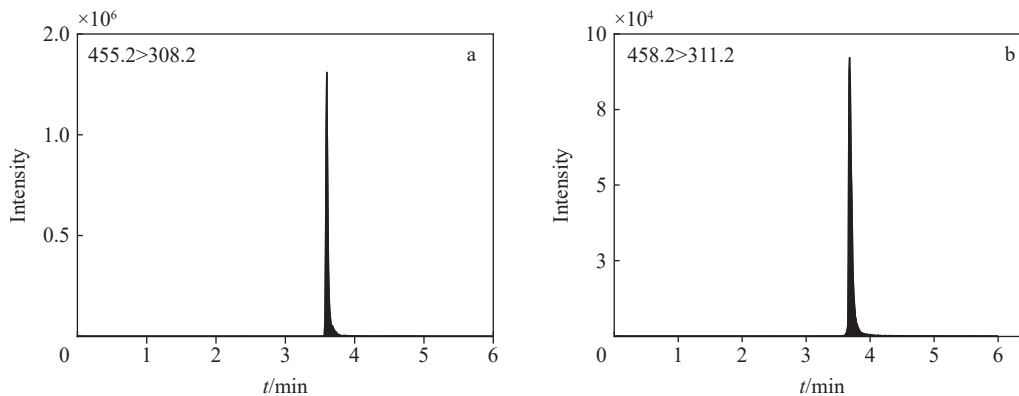
在商品化 AB QTRAP 6500+ 仪器上建立目标分析物分析方法,在 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  流动注射状态下通过外置注射泵将目标分析物溶液注入质谱仪,



注: a. 离子源温度; b. 大气压接口温度; c. 碎裂能量以及碎裂  $q$  点

图 2 串联质谱参数优化结果

Fig. 2 Optimization results of MS/MS parameter



注: a. MTX; b. MTX-d3

图 3 QLIT-6610MD 的 MTX 提取离子色谱图

Fig. 3 Extracted ion chromatograms of MTX by QLIT-6610MD

正离子模式下检测母离子和子离子强度。通过优化气体流速、离子源温度、去簇电压、碰撞能

量等关键参数,使目标化合物获得最佳的响应值,提取离子色谱图示于图4。

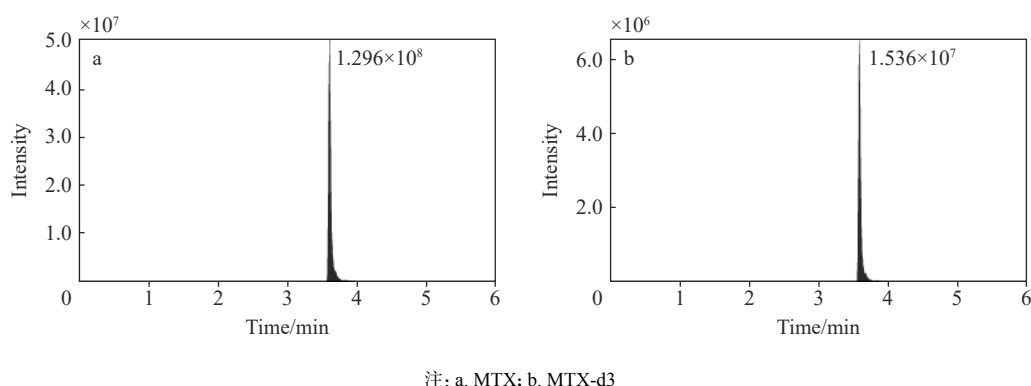


图4 AB QTRAP 6500+的 MTX 提取离子色谱图

Fig. 4 Extracted ion chromatograms of MTX by AB QTRAP 6500+

## 2.2 方法确证

**2.2.1 专属性** 分别取 100  $\mu\text{L}$  人空白血清和质控样品,按照 1.2.3 节方法处理后得到空白血清

和含对照品血清的色谱图,示于图5,血清中的内源性物质和内标物质干扰较少,表明专属性考察合格。

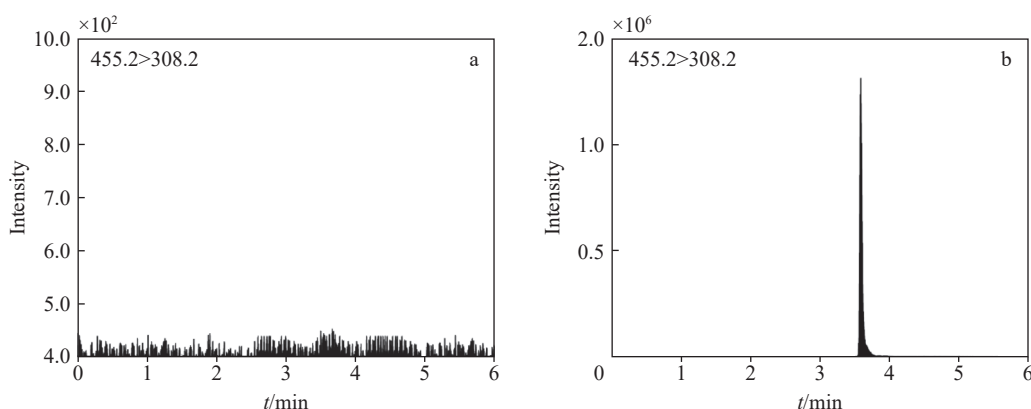


图5 空白血清(a)和含对照品血清(100  $\mu\text{g/L}$ )(b)的离子色谱图

Fig. 5 Extracted ion chromatograms of blank serum (a) and serum containing control (100  $\mu\text{g/L}$ ) (b)

**2.2.2 基质效应** 将按照 1.2.3 节配制的 100  $\mu\text{g/L}$  溶剂标准品作为溶液 A,空白血清溶液经 1.3 节方法处理后,取 400  $\mu\text{L}$  上清液,加入 100  $\mu\text{L}$  500  $\mu\text{g/L}$  工作液,混匀后得到 100  $\mu\text{g/L}$  基质匹配标准品,即溶液 B。平行检测溶液 A 和溶液 B 9 次,以样品平均峰面积比值计算基质效应(基质效应=溶液 B 峰面积/溶液 A 峰面积 $\times 100\%$ )。结果表明,基质效应为 50.77%,变异系数(CV)为 1.59%,存在明显的基质效应。因此,选用基质匹配标准曲线进行定量分析。

**2.2.3 线性关系** 以基质匹配标准品浓度比为横坐标(x),基质匹配标准品与内标峰面积比

为纵坐标(y)进行线性回归分析,线性方程为  $y=0.1730x+0.1201$ ,线性相关系数( $R^2$ )为 0.9990,结果列于表2。

**2.2.4 精密度** 使用 CV 表示精密度,平行测定 3 次 1.2.4 节制备的 QC 样品,精密度在 0.95%~6.94% 范围内。

**2.2.5 定量限** 在满足重复测定 5 次峰面积  $CV \leq 15\%$  的情况下,以 10 倍信噪比(S/N)确定 MTX 的定量限(LOQ)为 10  $\mu\text{g/L}$ ,  $CV \leq 5.68\%$ ,列于表2。

**2.2.6 准确度** 使用回收率(RE)表示准确度,按照 1.2.4 节配制 MTX 浓度为 20、450、4 500  $\mu\text{g/L}$

表2 方法确证结果

Table 2 Results of methodological corroboration

化合物 Compound	线性回归方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient ( $R^2$ )	定量限 LOQ/ ( $\mu\text{g/L}$ )	线性范围 Linear range/ ( $\mu\text{g/L}$ )	变异系数CV/%							
					极低质控 Extremely low quality control (10 $\mu\text{g/L}$ )		低质控 Low quality control (20 $\mu\text{g/L}$ )		中质控 Medium quality control (450 $\mu\text{g/L}$ )		高质控 High quality control (4500 $\mu\text{g/L}$ )	
MTX	$y=0.1730x+0.1201$	0.9990	10	10~5000	批内 ( $n=3$ )	批间 ( $n=6$ )	批内 ( $n=3$ )	批间 ( $n=6$ )	批内 ( $n=3$ )	批间 ( $n=6$ )	批内 ( $n=3$ )	批间 ( $n=6$ )
					1.99	4.97	1.59	6.94	0.96	1.70	0.95	0.28

的 QC 样品, 每种浓度平行检测 6 份, 按照 1.3 节方法进行样品前处理, 回收率在 86.39%~97.84% 之间,  $CV \leq 8.04\%$ , 列于表 3。

表3 方法准确度考察

Table 3 Examination of extraction recoveries

化合物 Compound	QC 浓度 QC concentration/ ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 RE/%	变异系数 CV/%
MTX	20	88.55	2.67
	450	97.84	4.85
	4500	86.39	8.04

**2.2.7 血清样品的稳定性** 通过短期稳定性、长期稳定性和反复冻融稳定性考察血清样品的稳定性, 每项考察实验制备低 (20  $\mu\text{g/L}$ )、中 (450  $\mu\text{g/L}$ )、高 (4500  $\mu\text{g/L}$ ) 3 个浓度 QC 血清样品各 6 份。短期稳定性是将 QC 血清样品于 20  $^{\circ}\text{C}$  放置 24 h 后, 测定 MTX 浓度, 得到  $CV \leq 1.63\%$ ; 长期稳定性是将 QC 血清样品置于 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻层内 28 天后, 测定 MTX 浓度, 得到  $CV \leq 4.49\%$ ; 反复冻融稳定性是将 QC 血清样品置于室温融化后再放入 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻层, 重复 3 次后测定 MTX 浓度, 得到  $CV \leq 0.68\%$ , 实验结果列于表 4。可见, 稳定性能够满足生物样品分析的要求。

表4 稳定性实验结果

Table 4 Results of stability test

化合物 Compound	浓度 Concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	短期稳定性 Short-term stability		长期稳定性 Long-term stability		反复冻融稳定性 Repeated freeze-thaw stability	
		实测值 Measured value ( $\mu\text{g/L}$ )	变异系数 CV/%	实测值 Measured value ( $\mu\text{g/L}$ )	变异系数 CV/%	实测值 Measured value ( $\mu\text{g/L}$ )	变异系数 CV/%
MTX	20	19.85	1.63	17.74	4.49	18.56	0.84
	450	434.55	0.79	434.37	1.63	425.50	0.67
	4500	4288.54	1.05	4329.97	1.29	4132.82	0.68

**2.2.8 稀释效应验证** 本研究中, 样品检测所需的最大稀释倍数为 40, 因此考察样品稀释 40 倍时的稀释效应。通过比较样品稀释后的最终浓度与原定量上限 (5000  $\mu\text{g/L}$ ) 的差异, 验证稀释效应在本方法中的可靠性。结果表明, 稀释效应的精密度 ( $n=6$ ) 为 2.34%, 实测浓度为 (4804.18 $\pm$ 112.33)  $\mu\text{g/L}$ , 准确度为 -3.91%, 符合方法学要求。因此, 将样品稀释后进行测定不影响方法的可行性和准确性。

### 2.3 方法验证

使用低、中、高浓度质控品对本方法进行验证, 结果列于表 5。测定结果的准确度均在靶

值  $\pm 20\%$  内, QLIT-6610MD 和 AB QTRAP 6500+ 仪器系统测定结果的  $CV$  值分别为 0.83%~2.96%、0.57%~6.70%, 表明本方法准确可靠。

### 2.4 实际样本检测

采用 QLIT-6610MD 和 AB QTRAP 6500+ 两台液质联用仪测定 70 例人血清样本, 结果示于图 6, MTX 含量在 102.23~869.73  $\mu\text{g/L}$  之间。使用 Pearson 系数分析数据相关性, QLIT-6610MD 和 AB QTRAP 6500+ 之间的相关系数  $R \geq 0.998$ , 两者之间存在明显的正相关 ( $P < 0.01$ )。采用 Bland-Altman 分析数据一致性, 结果示于图 7, 数据界外点数百分比  $\leq 8\%$ , 表明数据一致性良好。

表5 方法验证结果  
Table 5 Results of method validation

化合物 Compound	质控品浓度 Concentration of QC /( $\mu\text{g/L}$ )	QLIT-6610MD			AB QTRAP 6500+		
		平均值 Mean value/( $\mu\text{g/L}$ ) ( $n=6$ )	回收率 RE/%	变异系数 CV/%	平均值 Mean value/( $\mu\text{g/L}$ ) ( $n=6$ )	回收率 RE/%	变异系数 CV/%
MTX	20	22.04	110.20	2.96	21.48	107.40	6.70
	450	472.66	105.04	1.64	469.33	104.30	1.44
	4500	4173.54	92.75	0.83	4198.33	93.30	0.57

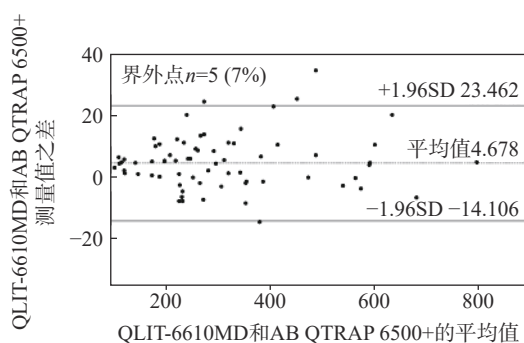


图6 实际血清样本的 Bland-Altman 分析图  
Fig. 6 Plot of Bland-Altman analysis of actual serum samples

## 2.5 多级碎裂

针对离子阱质谱定量测量中存在的准确性差和线性范围窄的问题, QLIT-6610MD 采用气相离子同步分离、富集、碎裂和准确测量的技术, 有效降低了空间电荷效应, 克服了杂质离子对目标离子稳定存储和精确操控的干扰, 从而显著提高了离子阱分析复杂基质样本的定量能力<sup>[25]</sup>。鉴于离子阱具有串联质谱( $\text{MS}^n$ )功能, 该技术有助于进一步提高复杂基质中目标物质的定性、定量分析能力, 有效降低基质效应和提高灵敏度<sup>[31]</sup>。为开发 QLIT-6610MD 在串联质谱方

面的应用潜力, 本研究初步建立了基于 QLIT-6610MD 的 MTX 多级碎裂质谱法。采用 2.1 节优化后的离子透镜电压、离子源温度以及大气压接口温度, 在 MTX 的  $\text{MS}^2$  目标离子对 ( $m/z$  455.2 > 308.2) 与相应质谱参数的基础上, 进一步优化 MTX 的  $\text{MS}^3$  碎裂  $q$  点和碎裂能量。根据  $\text{MS}^3$  目标离子对 ( $m/z$  455.2 > 308.2 > 134.0) 的最佳响应强度值选择碎裂  $q$  点 0.30、碎裂能量 25% 作为最佳参数, 优化后的  $\text{MS}^3$  提取离子色谱图示于图 8。随后, 使用 QLIT-6610MD 的  $\text{MS}^3$  功能评估血清中 MTX 基质效应为 63.64%,  $CV$  为 5.43%。 $\text{MS}^3$  基质效应较  $\text{MS}^2$  有所下降, 表明基于 QLIT-6610MD 的  $\text{MS}^n$  具有一定的抗基质干扰能力, 可进一步扩展到药物代谢分析等领域。

## 3 结论

本研究基于自主研制的 QLIT-6610MD 液相色谱-串联质谱仪, 结合蛋白沉淀法, 建立了准确定量血清中 MTX 的同位素稀释质谱法。使用 QLIT-6610MD、AB QTRAP 6500+ 液相色谱-质谱联用仪测定 70 例人血清样品, 检出 MTX 浓度为 102.23~869.73  $\mu\text{g/L}$ 。分别采用 Pearson 系数和 Bland-Altman 法分析定量数据, 结果显示,

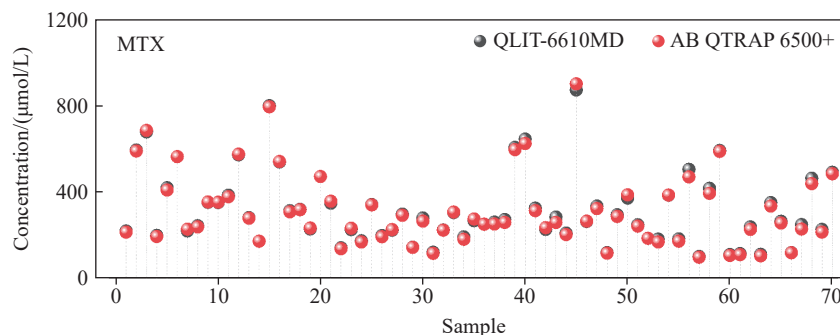


图7 实际血清样本的检测结果  
Fig. 7 Results of actual serum samples



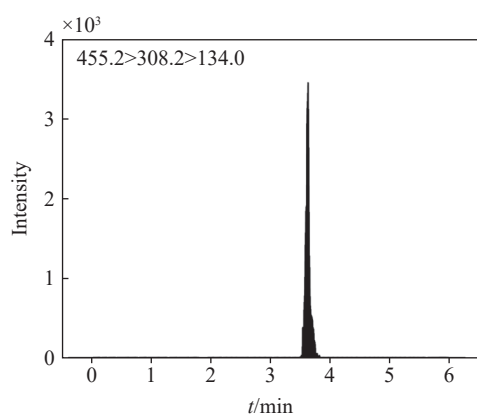


图8 基于QLIT-6610MD的MTX的MS<sup>3</sup>提取离子色谱图

Fig. 8 MS<sup>3</sup> extracted ion chromatogram of MTX by QLIT-6610MD

2台仪器所测数据显著相关,具有良好的一致性,表明QLIT-6610MD能够满足临床血药浓度监测的需求。

针对离子阱质谱广泛存在的由于空间电荷效应影响定量分析复杂基质中目标物的问题,QLIT-6610MD基于四极杆和线形离子阱直接轴向耦联技术,用气相离子同步分离、富集、碎裂和准确测量的质谱技术,可以减少基质干扰,最小化空间电荷效应,避免复杂样品的色谱分离,简化预处理过程,显著提高了定量能力。另外,采用离子阱MS<sup>n</sup>功能对血清中MTX的定量分析进行基质效应评估,有望进一步提高复杂基质中目标物测量的准确性。综上所述,自主研发的QLIT系统能够满足临床诊断需求,为临床质谱提供新选择。

#### 参考文献:

- [1] 孙晓非,甄子俊. 儿童髓母细胞瘤多学科诊疗专家共识(CCCG-MB-2017)[J]. *中国小儿血液与肿瘤杂志*, 2018, 23(4): 169-174.  
SUN Xiaofei, ZHEN Zijun. Expert consensus on multi-disciplinary diagnosis and treatment of medulloblastoma in children (CCCG-MB-2017)[J]. *Journal of China Pediatric Blood and Cancer*, 2018, 23(4): 169-174(in Chinese).
- [2] HOWARD S C, McCORMICK J, PUI C H, BUDDINGTON R K, HARVEY R D. Preventing and managing toxicities of high-dose methotrexate[J]. *The Oncologist*, 2016, 21(12): 1 471-1 482.
- [3] 焦力,周道斌,王书杰,张薇,段明辉,李剑,韩冰,许莹,

赵永强,沈梯,王强,叶敏. 血药浓度监测在大剂量甲氨蝶呤治疗中的应用价值[J]. *中国医学科学院学报*, 2009, 31(5): 564-566.

JIAO Li, ZHOU Daobin, WANG Shujie, ZHANG Wei, DUAN Minghui, LI Jian, HAN Bing, XU Ying, ZHAO Yongqiang, SHEN Ti, WANG Qiang, YE Min. Blood concentration monitoring during high-dose methotrexate treatment[J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2009, 31(5): 564-566(in Chinese).

- [4] SONG Y, LIU L, LIU B, LIU R, CHEN Y, LI C, LIU G, SONG Z, LU C, LU A, LIU Y. Interaction of nobilentin with methotrexate ameliorates 7-OH methotrexate-induced nephrotoxicity through endoplasmic reticulum stress-dependent PERK/CHOP signaling pathway[J]. *Pharmacological Research*, 2021, 165: 105 371.
- [5] 曹莉莉,朱岩,樊根涛,张军良,周幸,周光新. 骨肉瘤的治疗进展[J]. *中国骨与关节杂志*, 2020, 9(10): 771-778.  
CAO Lili, ZHU Yan, FAN Gentao, ZHANG Junliang, ZHOU Xing, ZHOU Guangxin. Treatment progress of osteosarcoma[J]. *Chinese Journal of Bone and Joint*, 2020, 9(10): 771-778(in Chinese).
- [6] CHUKWUEKE U, GROMMES C, NAYAK L. Primary central nervous system lymphomas[J]. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 2022, 36(1): 147-159.
- [7] 孙培卓,薛胜楠. 血药浓度监测在大剂量甲氨蝶呤治疗儿童急性淋巴细胞白血病中的应用及临床意义[J]. *医学理论与实践*, 2023, 36(2): 282-283.  
SUN Peizhuo, XUE Shengnan. Application and clinical significance of blood drug concentration monitoring in high-dose methotrexate treatment of children with acute lymphoblastic leukemia[J]. *The Journal of Medical Theory and Practice*, 2023, 36(2): 282-283(in Chinese).
- [8] SUK Y, GWYNNE W D, BURNS I, VENUGOPAL C, SINGH S K. Childhood medulloblastoma: an overview [J]. *Methods Mol Boil*, 2022, 2 423: 1-12.
- [9] WIDEMANN B C, BALIS F M, KIM A, BORON M, JAYAPRAKASH N, SHALABI A, O'BRIEN M, EBY M, COLE D E, MURPHY R F, FOX E, IVY P, ADAMSON P C. Glucarpidase, leucovorin, and thymidine for high-dose methotrexate-induced renal dysfunction: clinical and pharmacologic factors affecting outcome[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2010, 28(25): 3 979-3 986.
- [10] 任新新. UHPLC-MS/MS 监测甲氨蝶呤及其 7-OH 代谢物血药浓度的临床应用[D]. 开封: 河南大学, 2016.
- [11] 曹一辰,孟祥乐,朱金辉,万丽丽,郭澄. LC-MS/MS 法测定人血清中甲氨蝶呤及其代谢产物 7-羟基甲氨蝶呤的浓度[J]. *中国药师*, 2012, 15(2): 191-194.  
CAO Yichen, MENG Xiangle, ZHU Jinhui, WAN Lili,

- GUO Cheng. Determination of methotrexate and its metabolite 7-hydroxy-methotrexate in human serum by LC-MS/MS[J]. *China Pharmacist*, 2012, 15(2): 191-194 (in Chinese).
- [12] 任秀华, 杜光, 刘东. 液相色谱串联质谱法测定人血浆中甲氨蝶呤的血药浓度及其临床应用[J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(10): 801-804.
- REN Xiuhua, DU Guang, LIU Dong. Determination of methotrexate in human plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry and its clinical application[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2014, 34(10): 801-804(in Chinese).
- [13] RULE G, CHAPPLE M, HENION J. A 384-well solid-phase extraction for LC/MS/MS determination of methotrexate and its 7-hydroxy metabolite in human urine and plasma[J]. *Analytical Chemistry*, 2001, 73(3): 439-443.
- [14] STEINBORNER S, HENION J. Liquid-Liquid extraction in the 96-well plate format with SRM LC/MS quantitative determination of methotrexate and its major metabolite in human plasma[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(13): 2 340-2 345.
- [15] JAHANGIRI S, AKBARZADEH A. Preparation and *in vitro* evaluation of methotrexate-loaded magnetic nanoparticles modified with biocompatible copolymers [J]. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 2016, 44(7): 1 733-1 740.
- [16] 杜朝辉. 血浆中游离药物浓度相关参数分析及其在治疗药物监测中的应用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2016.
- [17] DURÁN MERÁS I, ESPINOSA MANSILLA A, SALINAS LÓPEZ F, RODRÍGUEZ GÓMEZ M. Comparison of UV derivative-spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) calibration for determination of methotrexate and leucovorin in biological fluids[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 373(4): 251-258.
- [18] SCZESNY F, HEMPEL G, BOOS J, BLASCHKE G. Capillary electrophoretic drug monitoring of methotrexate and leucovorin and their metabolites[J]. *Journal of Chromatography B, Biomedical Sciences and Applications*, 1998, 718(1): 177-185.
- [19] LÜBCKE P M, EBBERS M N B, VOLZKE J, BULL J, KNEITZ S, ENGELMANN R, LANG H, KREIKEMEYER B, MÜLLER-HILKE B. Periodontal treatment prevents arthritis in mice and methotrexate ameliorates periodontal bone loss[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 8 128.
- [20] BEGAS E, PAPANDREOU C, TSAKALOF A, DALIANI D, PAPATSIBAS G, ASPRODINI E. Simple and reliable HPLC method for the monitoring of methotrexate in osteosarcoma patients[J]. *Journal of Chromatographic Science*, 2014, 52(7): 590-595.
- [21] McTAGGART M P, KEEVIL B G. A rapid LC-MS/MS assay for the measurement of serum methotrexate in patients who have received high doses for chemotherapy [J]. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2021, 58(6): 599-604.
- [22] GUO D, WANG Y, XIONG X, ZHANG H, ZHANG X, YUAN T, FANG X, XU W. Space charge induced non-linear effects in quadrupole ion traps[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2014, 25(3): 498-508.
- [23] HOPFGARTNER G, HUSSER C, ZELL M. Rapid screening and characterization of drug metabolites using a new quadrupole-linear ion trap mass spectrometer[J]. *Journal of Mass Spectrometry*, 2003, 38(2): 138-150.
- [24] SENKO M W, REMES P M, CANTERBURY J D, MATHUR R, SONG Q, ELIUK S M, MULLEN C, EARLEY L, HARDMAN M, BLETHROW J D, BUI H, SPECHT A, LANGE O, DENISOV E, MAKAROV A, HORNING S, ZABROUSKOV V. Novel parallelized quadrupole/linear ion trap/Orbitrap tribrid mass spectrometer improving proteome coverage and peptide identification rates[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(24): 11 710-11 714.
- [25] 李畅, 谢洁, 刘梅英, 黄泽建, 戴新华, 江游, 方向, 田地. 基于四极杆-双压线形离子阱质谱的同步碎裂和累积技术研究[J]. *分析化学*, 2023, 51(2): 269-275.
- LI Chang, XIE Jie, LIU Meiyong, HUANG Zejian, DAI Xinhua, JIANG You, FANG Xiang, TIAN Di. Research on simultaneous fragmentation and accumulation technique based on quadrupole-dual pressure linear ion trap mass spectrometer[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2023, 51(2): 269-275(in Chinese).
- [26] FANG X, XIE J, CHU S, JIANG Y, AN Y, LI C, GONG X, ZHAI R, HUANG Z, QIU C, DAI X. Quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry system for clinical biomarker analysis[J]. *Engineering*, 2022, 16: 56-64.
- [27] 谢洁, 易可可, 高文静, 刘浩, 李家练, 黄泽建, 刘梅英, 余青霓, 王涵文, 江游, 戴新华, 方向. 基于四极杆-线形离子阱串联质谱技术测量血清 25OHD[J]. *质谱学报*, 2023, 44(1): 13-24.
- XIE Jie, YI Keke, GAO Wenjing, LIU Hao, LI Jialian, HUANG Zejian, LIU Meiyong, YU Qingni, WANG Hanwen, JIANG You, DAI Xinhua, FANG Xiang. Determination of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in serum by quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry

- nation of 25OHD in serum based on quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometric technique[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2023, 44(1): 13-24 (in Chinese).
- [28] 邓丰涛, 李纲, 刘立鹏, 韩双来, 王健. 三重四极杆串联质谱仪碰撞池的研究现状与进展[J]. *现代科学仪器*, 2013(3): 7-13.  
DENG Fengtao, LI Gang, LIU Lipeng, HAN Shuanglai, WANG Jian. Introduction to collision cell of triple quadrupole mass spectrometer[J]. *Modern Scientific Instruments*, 2013(3): 7-13(in Chinese).
- [29] 楚士颖, 谢洁, 江游, 王方军, 翟睿, 冯璐璐, 龚晓云, 戴新华, 田地, 方向, 邱春玲, 黄泽建. 四极离子阱内离子解离技术的研究进展[J]. *质谱学报*, 2019, 40(4): 391-400.  
CHU Shiyong, XIE Jie, JIANG You, WANG Fangjun, ZHAI Rui, FENG Lulu, GONG Xiaoyun, DAI Xinhua, TIAN Di, FANG Xiang, QIU Chunling, HUANG Zejian. Advances in ion dissociation within quadrupole ion trap mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2019, 40(4): 391-400(in Chinese).
- [30] 徐福兴, 党乾坤, 丁航宇, 黄正旭, 汪源源, 周振, 丁传凡. 碰撞气体的种类和压力对离子阱质谱性能的影响[J]. *分析化学*, 2017, 45(4): 587-592.  
XU Fuxing, DANG Qiankun, DING Hangyu, HUANG Zhengxu, WANG Yuanyuan, ZHOU Zhen, DING Chuanfan. Performance investigation of ion trap with various collision gas and pressures[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2017, 45(4): 587-592(in Chinese).
- [31] SI X, XIONG X, ZHANG S, FANG X, ZHANG X. Detecting low-abundance molecules at single-cell level by repeated ion accumulation in ion trap mass spectrometer[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(4): 2 275-2 281.
- [32] LIU X, WANG X, BU J, ZHOU X, OUYANG Z. Tandem analysis by a dual-trap miniature mass spectrometer[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(2): 1 391-1 398.
- [33] KANG M, LIAN R, ZHANG X, LI Y, ZHANG Y, ZHANG Y, ZHANG W, OUYANG Z. Rapid and on-site detection of multiple fentanyl compounds by dual-ion trap miniature mass spectrometry system[J]. *Talanta*, 2020, 217: 121 057.
- [34] XU Z, JIANG T, XU Q, ZHAI Y, LI D, XU W. Pseudo-multiple reaction monitoring (pseudo-MRM) mode on the “brick” mass spectrometer, using the grid-SWIFT waveform[J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(21): 13 838-13 846.
- [35] MENG X, TANG C, ZHANG C, LI D, XU Wei, ZHAI Y. A “Brick” mass spectrometer with photoionization for direct analysis of trace volatile compounds[J]. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2020, 31(4): 961-968.
- [36] ZHANG H, JIA H, GAO Z, XIANG Y, JIANG T, XU W. Parallel pseudo-MRM on the “brick” miniature mass spectrometer for high throughput multi-target screening[J]. *Talanta*, 2023, 252: 123 866.
- [37] LI C, JIANG Y, CHU S, YIN X, TAN S, HUANG Z, DAI X, GONG X, FANG X, TIAN D. Analysis of low-abundance molecules in complex matrices by quadrupole-linear ion trap mass spectrometry using a simultaneous fragmentation and accumulation strategy[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2022, 36(10): e9276.
- [38] TAKKIS K, ARO R, KÖRGEVEE L T, VARENDI H, LASS J, HERODES K, KIPPER K. Signal enhancement in the HPLC-ESI-MS/MS analysis of spironolactone and its metabolites using HFIP and NH<sub>4</sub>F as eluent additives[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(12): 3 145-3 151.
- [39] DUMONT Q, BÁRCENAS M, DOSSMANN H, BAILLOUX I, BUISSON C, MECHIN N, MOLINA A, LASNE F, RANNULU N S, COLE R B. Improved steroids detection and evidence for their regiospecific decompositions using anion attachment mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(7): 3 585-3 591.
- [40] 贾滨, 杨茂璘, 刘吉星, 赵高升, 黄玉梁, 程平. 质谱相关四极场的设计思路探讨[J]. *质谱学报*, 2023, 44(3): 348-356.  
JIA Bin, YANG Maolin, LIU Jixing, ZHAO Gaosheng, HUANG Yuliang, CHENG Ping. Discussion on design ideas of quadrupole field of mass spectrometry[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2023, 44(3): 348-356(in Chinese).
- [41] 王伟民, 徐锐峰, 江游, 张谛, 徐福兴, 丁传凡. 离子阱中3种软件程序的离子运动轨迹数值模拟对比[J]. *质谱学报*, 2022, 43(4): 495-503.  
WANG Weimin, XU Ruifeng, JIANG You, ZHANG Di, XU Fuxing, DING Chuanfan. Comparison of numerical simulation of ion trajectories in three simulation programs of ion trap[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2022, 43(4): 495-503(in Chinese).

(收稿日期: 2023-07-21; 修回日期: 2024-03-12)