
**Waters Quattro Premier 液质联用仪的使用
与维护保养标准操作规程 (SOP)**

2004-11-09

目 录

1 . 简述	1
1.1 样品入口	2
1.2 真空系统	2
1.3 数据系统	2
2 . 环境要求	3
3 . 仪器使用	3
3.1 开机步骤	3
3.2 质谱调谐窗口各项参数设定	5
3.3 创建项目	6
3.4 质量校正	7
3.5 调谐(Tuning)	14
3.6 信号采集	15
3.7 2695 型液相色谱 (Inlet Method)	19
3.8 创建质谱方法	25
3.9 创建样品列表	27
3.10 运行样品列表 (Sample List)	30
3.11 QuanLynx 来编辑定量方法	39
3.12 用 QuanLynx 进行批处理	44
3.13 查看 QuanLynx 定量结果	47
3.14 关机	52
4 . 注意事项	53
5 . 维护与保养	54

1. 简述

Quattro Premier (Figure 1-1)是一台高效串联四极杆质谱仪，用于常规 LC/MS/MS 分析。



Figure 1-1 Quattro Premier Mass Spectrometer

样品的离子化发生在处于大气压状态下的离子源中。离子通过取样锥孔进入真空系统，然后穿过源travelling-wave (T-WaveTM) 进入第一级四极杆，在此按照质/荷比(m/z)过滤(Figure 1-2)。按照质量数分开的离子进入T-Wave碰撞室，进一步发生碰撞诱导裂解 (CID) 或者直接进入第二级四极杆。碎片离子通过第二级四极杆进行质量分析。离子最后经过倍增电极，phosphor和光电倍增器检测系统检测。输出信号被放大，数字化后传给信号系统。

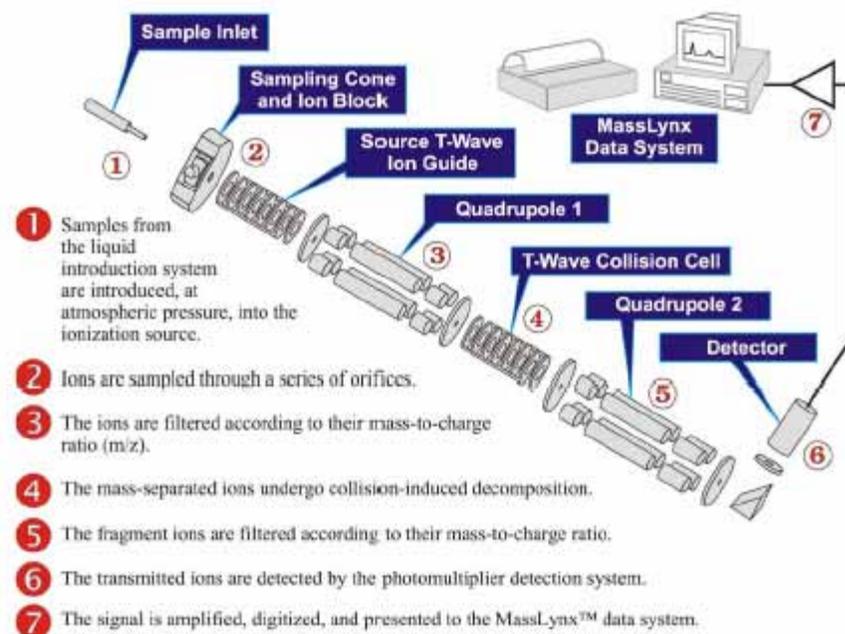


Figure 1-2 Quattro Premier Schematic

1.1 样品入口

该仪器可以与下列两种进样方式组合：

- a. HPLC 系统，可以提供 LC 流出组分的分子量信息，进行目标分析和定量。
- b. 注射泵，分析宝贵的，低浓度的样品。

HPLC系统或注射泵将样品输入Zspray™离子源中。通过改变探头来改变离子化模式。探头上的识别pins可以鉴别系统的离子化模式。

1.2 真空系统

由外置的初级抽气泵和内设的涡轮分子泵提供真空系统。涡轮分子泵抽分析器和 T-Wave 离子传输区域的真空。初级抽气泵可以是旋转式泵或无油螺旋式泵。系统通过一个 Pirani 真空计监测涡轮分子泵的转速和真空度。如果真空度不够，Pirani 真空计作为开关将中断仪器操作。真空隔断阀可以在不破坏真空的情况下进行离子源的日常维护。

1.3 数据系统

包括 embedded PC，工作站和 MassLynx 软件。MassLynx 可以控制整个系统，

包括设置和运行 HPLC 系统，仪器调谐，采集数据和数据处理。embedded PC 和工作站之间的通讯由网线连接。

1. 环境要求

- 2.1 仪器室要保持整洁、干净、无尘；配套设施布局合理。
- 2.2 仪器室温度应相对稳定，一般应控制在 20-25℃，保持恒温；相对湿度最好为 50-70%，室内应备有温度计和毛发湿度计，一般采用空调和吸湿机调节温度和湿度。
- 2.3 仪器室电源要求相对稳定，电压变化要小，最好配备不间断稳压电源，防止意外停电。

2. 仪器使用

3.1 开机步骤

3.1.1 分别打开质谱、液相色谱和电脑电源，此时质谱内置的 CPU 会通过网线与电脑主机建立通讯联系，这个时间大约需要 1 至 2 分钟。

3.1.2 待液相色谱通过自检，进入 Idle 状态，依照液相色谱操作程序，依次进行操作。

- a. Degasser On(打开脱气机)。
- b. Wet Prime(湿灌注)。
- c. Purge Injector。
- d. 平衡色谱柱。

3.1.3 双击桌面上的 MassLynx 4.0 图标进入质谱软件。 此时，如果进入软件时出现提示：“The embedded system is not responding, The system will run in standalone mode”，则说明质谱内置的 CPU（EPC）与电脑主机的通讯联系还未建

立，请稍等后再进入软件，如果打开软件仅为处理数据则没有关系（质谱主机电源未开时进入软件也会有同样提示）。

3.1.4 点击质谱调谐图标（MS Tune） 进入质谱调谐窗口。

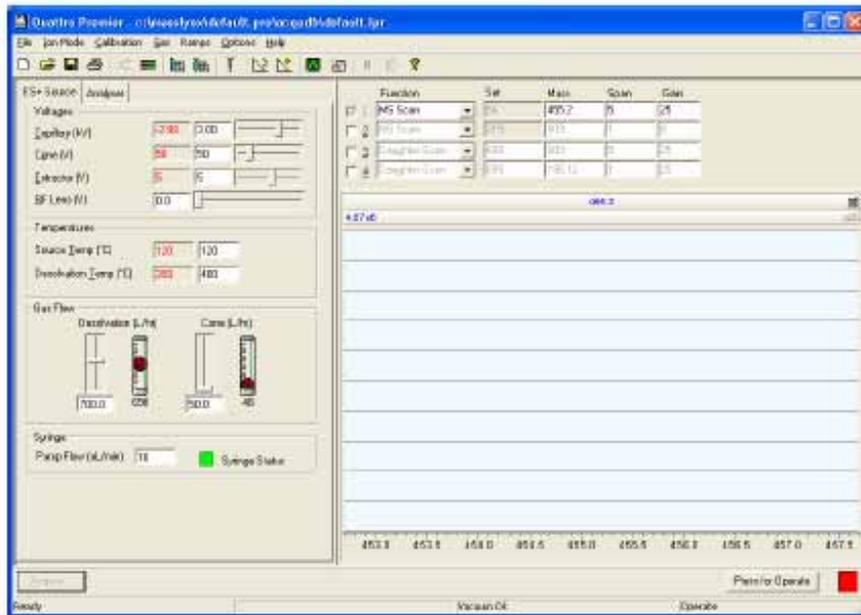


Figure 3-1 Initial Tune Page

3.1.5 选择菜单“Options > Pump”，这时机械泵将开始工作，同时分子涡轮泵会开始抽真空。等达到真空要求后，仪器前面板右上角的状态灯“Vacuum”将变绿。

3.1.6 点击真空状态图标 ，检查真空规的状态，确认真空达到要求。

2.1.7 确认氮气气源输出已经打开，输出压力为 90 psi。

3.1.8 设置源温度（Source Temp）到目标温度。

3.2 质谱调谐窗口各项参数设定

3.2.1 电喷雾电离源 (ESI)

3.2.1.1 在质谱调谐窗口选择要使用的离子模式，Ion Mode>Electrospray+。

3.2.1.2 点击 **ES+ Source** 进入 Source 界面，设定 Source 界面里各项参数。

Capillary(KV) 加在 ESI 源内毛细管上的高压，正离子模式一般是在 2.5-3.75KV 之间优化，负离子模式一般是在 2.0-3.0KV 之间优化。在负离子模式时，如果毛细管电压设置过高容易引起放电现象。

Cone(V) 样品锥孔电压，一般在 10-100V 之间优化，通常来说，分子量小的样品选择的锥孔电压要相对小，当提高锥孔电压时，可能得到的碎片信息会多一些。

Extractor (V) 二级锥孔电压，一般在 0 - 5V 之间优化。

RF Len(V) 六级杆透镜电压，一般在 0 - 0.5V 之间优化。

Source Temp 源温度，一般在 80 - 120 之间优化，一般来讲，设定与流动相流速大小有关，如果用注射泵直接进样，流速在 5 - 40UI/min 时，设为 80 ，当液相色谱流速在 100 - 300UI/min 时，设定为 120 。

Desolvation Temp 脱溶剂气温度，一般在 120 - 300 之间优化，与流动相流速大小，流动相含水比例高低，是否容易气化相关，用注射泵直接进样，流速在 5 - 40UI/min 时，设为 120 ，流速在 5 - 40UI/min 时，设为 80 ，当液相色谱流速在 100 - 300UI/min 时，设为 300 。

Desolvation (L/hr) 脱溶剂气流量，一般在 300 - 1000L/Hour 之间优化，与

流动相流速大小，流动相含水比例高低，是否容易气化相关。

Cone(L/hr) 锥孔气的流量，一般在 0 - 100L/Hour 之间优化。

3.2.1.3 点击  图标，进入 Analyser 界面，设定 Analyser 界面里的各项参数。

LM Resolution 低质量数分辨率，典型值 15.0。

HM Resolution 高质量数分辨率，典型值 15.0。

Ion Energy 离子能量，一般在 0 - 1 之间优化。

Multiplier 光电倍增管电压，典型值 650V。

3.2.2 大气压化学电离源 (APCI)

3.2.2.1 在质谱调谐窗口选择要使用的离子模式，Ion Mode>APCI+。

3.2.2.2 进入 Source 界面，设定 Source 界面里各项参数。

Corona 高压放电针电流，正离子模式一般在 0 - 10 之间优化，负离子模式一般在 0 - 5 之间优化。

Source Temp 源温度，一般在 120 - 150 之间优化。

APCI Probe Temp APCI 加热器温度，一般在 300 - 600 之间优化。

3.3 创建项目 (Project)

为了便于进行数据管理，可以创建不同的项目 (Project)，项目的后缀为 .pro，每个项目都有对应的子目录进行相应文件的管理。

3.3.1 从主菜单中选择“File >Project Wizard”，会引导你去创建一个新的项目。

3.3.2 输入项目 (project) 名称及描述，点击“Next”，进入下一步。

3.3.3 选择 “Current project as Template”，将会把上一次所使用的项目里的方法拷贝到你新建的项目中去，点击 Finish。

2.2. 4 新的项目会被创建，而且软件会自动切换到新的项目中。

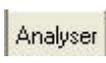
3.4 质量校正

质量校正 (Calibration) 是与仪器的调谐 (Tuning optimization) 分开进行的，为了保证质量的准确，在仪器安装及维护后，定期进行校正。

通常质谱被校正后，校正结果可以被储存起来，以备日后调用。Quattro Premier 采用金属钼四级杆，非常稳定，日常工作情况下质谱是不用校正的，只用调用以前做的校正表即可。

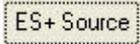
3.4.1 双击质谱调谐图标 (MS Tune)  进入质谱校正和调谐窗口。

3.4.2 点击真空状态图标  去检查真空状态，以确认真空已达到要求。 

3.4.3 点击分析表头  并输入下列参数，如果需要进行其他不同分辨率条件下的校正，则对应输入 LM Resolution 和 HM Resolution 的值。

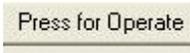
Settings	Generic Start Conditions
LM Resolution	15
HM Resolution	15
Ion Energy	0.5
Multiplier	650
Syringe Pump Flow	10

选择 Ion Mode > Electrospray + , 在 Electrospray + 条件下所做的校正均可以用于其他所有方式。

3.4.4 点击  , 按下表输入参数 , 做校正时采用下列常规的 Electrospray+条件。

Settings	< 250 ul/min
Capillary (kV)	3.5
Cone (V)	30
Extractor (V)	3
RF lens (V)	0.3
Source Temp	100
Desolvation Temp	200
Gas Flow - Desolvation	350
Gas Flow- Cone	50

3.4.5 点击气体图标  打开氮气。

3.4.6 点击操作按钮 (Operate)  。当质谱的电压被加上时, 操作按钮的颜色会从红  变为绿  。

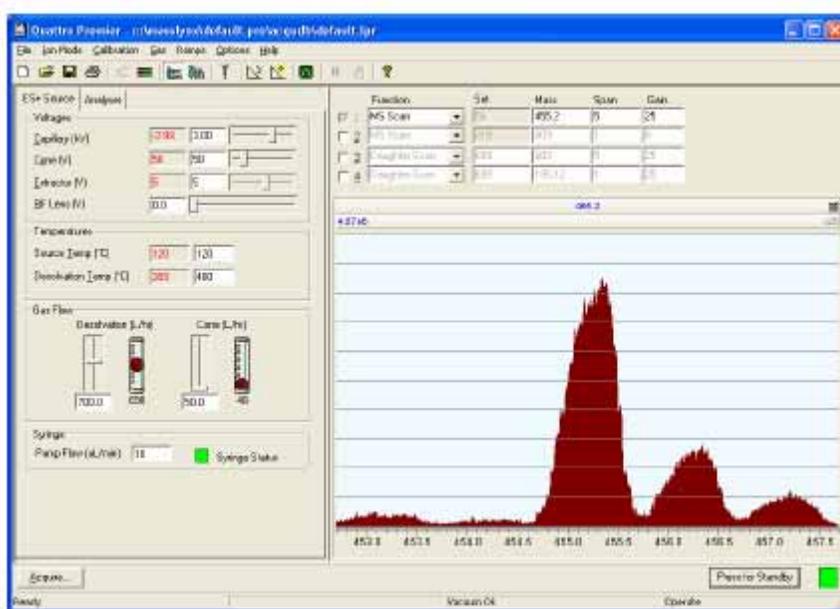


Figure 3-2 Tune Page under Operate condition

3.4.7 将 250ul 进样针抽满校正液(Sodium Iodide with Cesium Iodide , 或 PPG 等) 并安装在质谱下方的注射泵上, 设定注射泵流速为 10ul/min。

3.4.8 从调谐界面选择 Options> Syringe Type, 确定 被选定 (如果用其它的进样针, 可以从表中去选择, 或者自己重新定义)。

3.4.9 按下注射器图标 (), 注射泵开始转动向质谱输入校正液。

3.4.10 在相应的 Reference File 里查找要选择想监测的质量数。

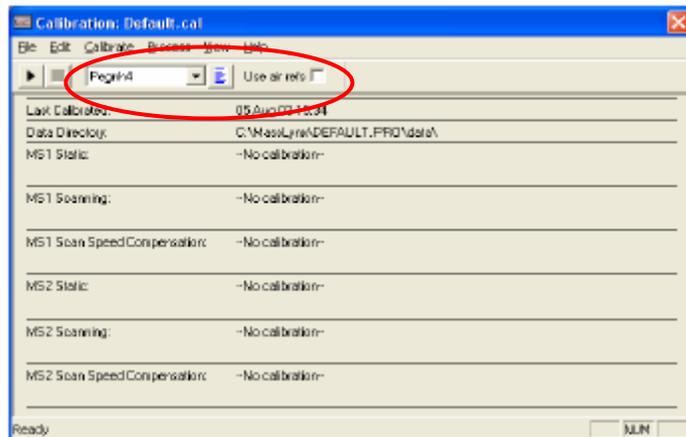


Figure 3-3 Calibration Options Window

3.4.11 在 Mass 编辑器，打开 mass 窗口，172.8840、622.5667、1072.2494、1971.6149。将监测范围（span）和增益（gain）调到适当的值。

	Mass	Span	Gain
<input checked="" type="checkbox"/> 1	472.6	30	250
<input checked="" type="checkbox"/> 2	1072.2	30	250
<input type="checkbox"/> 3	610	10	5
<input type="checkbox"/> 4	1080	10	10

3.4.12 点击 File>Open，选择 Uncal.cal 并打开（Open），校正窗口的三种校正类型都必须显示 “No Calibration”(如上图所示)，如果不是，点击 Calibrate>Default 去删除这些校正。

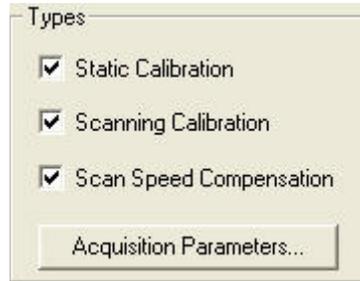
3.4.13 从菜单栏中选择校正（Calibration） 

3.4.14 在Reference file中选择校正文件NaCis2(ZQ2000用) NaCis4(ZQ4000用)。

3.4.15 从菜单栏中选择“Calibrate> Start Acquisition”。

3.4.16 在校正类型界面，三项都打勾选定，接着选择采集参数按钮

Acquisition Parameters...



3.4.17 选择校正参数：

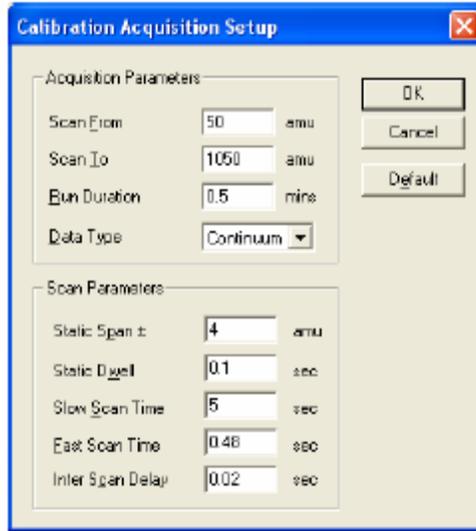


Figure 3-4 Calibration Acquisition Setup Dialog Box

3.4.18 点击 OK 返回到自动校正对话框，同时启动注射泵开始进样。

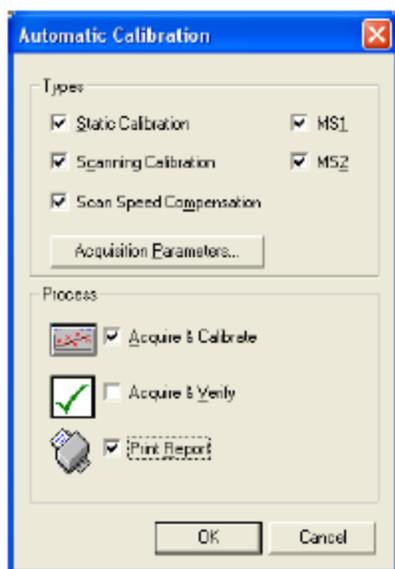


Figure 3-5 Automatic Calibration Dialog Box

3.4.19 选择采集 (Acquire) 和校正 (Calibrate), 点击 OK 开始校正, 质谱将会自动运行校正并和参考文件(NaCis)中的标准质量数进行进行比对, 采集和校正大约需要 2 分钟时间。

3.4.20 校正程序完成后, 校正统计满足指定的要求, 将显示校正成功的信息并出现校正结果。

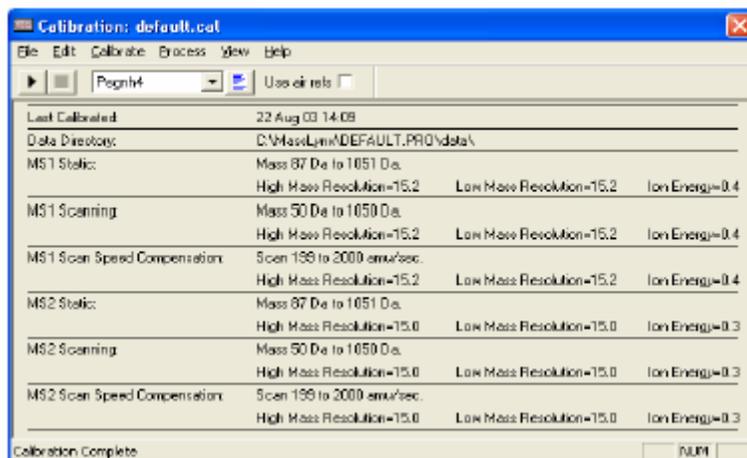


Figure 3-6 Calibration Options Window with Completed Calibration Details

3.4.21 从校正页面选择 File > Save As , 并输入校正文件的名称。

3.4.22 从 Figure 3-3 Calibration Options Window 选择 File>Calibrate 打开 Display Calibration Graphs 对话框。

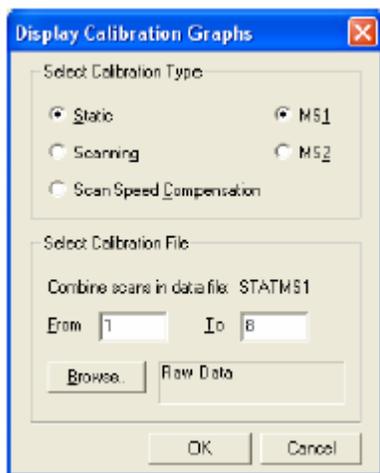


Figure 3-7 Display Calibration Graphs Dialog Box

3.4.23 点击 Browsers 选择用于校正的文件，点击 OK，重复校正程序并显示校正报告。

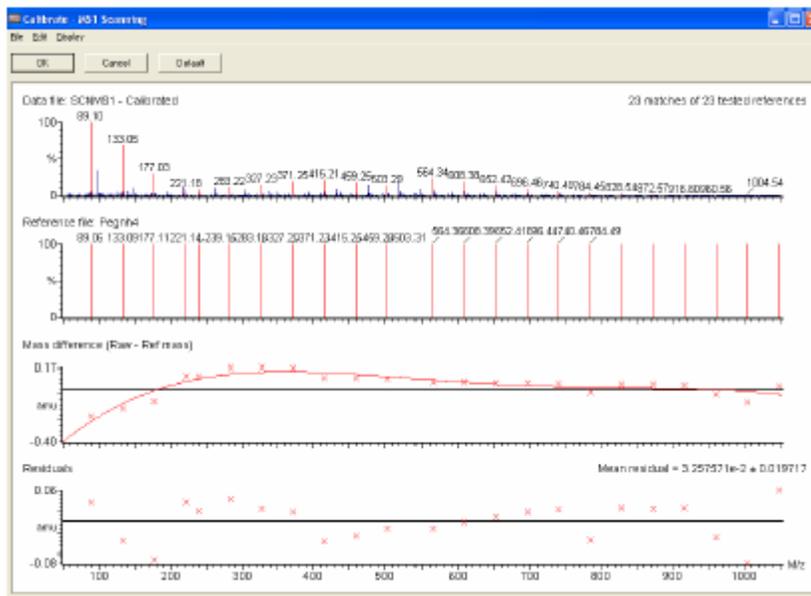


Figure 3-7 Calibration Report

3.4.24 满足要求后，保存校正文件。

3.4.25 现在仪器已经被校正了，下一步可以用调谐界面去优化你的样品的检测灵敏度。

3.5 调谐 (Tuning)

质谱针对特定的样品都有其特定的最佳化条件，了解样品特性，如何选择电离源，流动相及流动相添加物，使样品能够电离是关键。通用的调谐参数可以用来分析大部分样品，大部分的参数一旦设定之后不需要调整，调整对于信号的影响不大，而对于部分样品来讲，特别是含量极低的情况下，需要通过调谐来优化最佳参数。

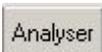
3.5.1 点击质谱调谐图标  进入调谐窗口。

3.5.2 点击真空状态图标  确认真空规已经达到满量程。



3.5.3 根据样品条件的需要选择相应的离子模式 比如 Ion Mode > Electrospray+。



3.5.4 点击分析页面  ，按下气体开关按键  ，打开氮气。

3.5.5 将已经装满你的样品的注射器装在注射泵上，用管路接到质谱，请选择 ug/ml 级的样品来调谐。设定注射泵流速（通常为 5-10ul）。也可以用三通，一路是正常工作流速的流动相，一路是样品，二者混合后进入质谱。

3.5.6 一般对于 ESI 正离子模式使用乙晴和水为流动相，提高锥孔电压将增加碎片信息。

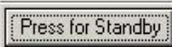
Settings	< 250 ul/min	> 250 ul/min
Capillary (kV)	3.5	3.5
Cone (V)	20 - 30	20 - 30
Extractor (V)	5	5
RF lens (V)	0.5	0.5
Source Temp	120	150
Desolvation Temp	300	400
Gas Flow - Desolvation	350	600
Gas Flow - Cone	50	50

3.5.7 按下操作按钮  , 当电压被加上时, Operate 图标将由  变  。

3.5.8 点击注射器图标 (syringe)  注射泵开始转动, 向质谱输送样品。在质谱编辑窗口, 输入要调谐的样品的分子离子峰, 并设定一个较小的 span。所有的输入请按回车键确认。

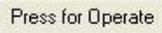
3.5.9 调节各项参数包括 Probe 的位置使目标峰的强度最佳化。

3.5.10 选择 File>Save As, 输入调谐文件名称, 以备调用。

3.5.11 点击注射泵图标停止注射泵流速  , 并点击 Standby   当 MS 在待机状态时, 会由  变  。

3.6 信号采集

本单元介绍如何直接在调谐界面 (Tune Page) 进行样品信号采集。

3.6.1 点击气体图标  打开氮气，按下操作按钮 。当电压被加上时，Operate 图标将由  变 ，确定质谱已经在工作状态，并有样品被输入质谱。

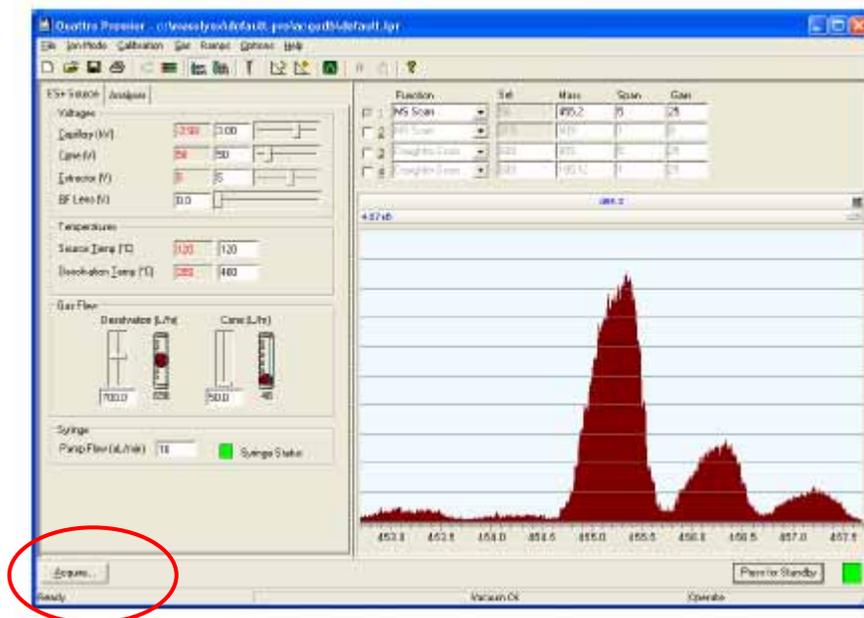


Figure 3-8 Tune Page of MS Scan

3.6.2 点击 Acquire 图标将出现以下对话框。

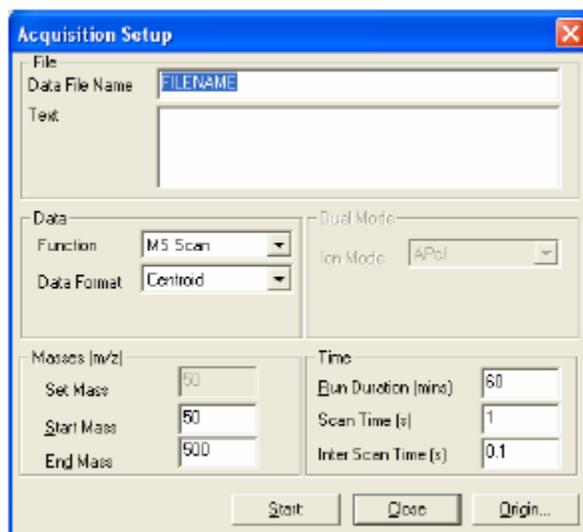


Figure 3-9 Acquisition Setup Dialog Box

Data File Name 在此输入所采集的数据文件名。

Data Format 所采集数据的存储方式，有 Centroid、Continuum 和 MCA 三种选择。

Centroid (棒状图)：每次扫描的数据都会被存下来，可以单独查看每次扫描的质谱图或者是 summed spectrum，数据虽然按照连续 (continuum) 方式采集，但会被自动处理并以棒状图的方式存储，在一个质量点只选择一个代表性的点存储，所得到的谱图是一根一根棒状的谱图，优点是文件的数据量小，不会占用很多的硬盘空间，是较常用的采集方式，缺点是从棒状图中无法去判断谱图的分辨率，对于没有分开的同位素峰，可能会造成质量不准确。

Continuum (连续扫描)：每次扫描的数据都会被存下来，可以单独查看每次扫描的质谱图或者是 summed spectrum，可以得到每个质量点的峰形和分辨率信息，但数据量较大。

MCA：每次扫描的数据都会被加和在一起，因为噪音信号不会出现在相同位置，所以 MCA 方式采集的数据是样品信号被叠加，而噪音则是平均，因而能够提高信噪比。

通过选择 **Start Mass** 和 **End Mass** 来确定要扫描的质量范围。

Run Duration 信号采集的时间

Scan Time 每次扫描所花的时间，

Scan Speed(扫描速率) = Mass Range/(Scan Time + Inter-scan Time)，在计算扫描时间时，要保证扫描速率在已被校正的范围内。

Inter Scan Delay 每次扫描之间的间隔，一般为 0.1S。

3.6.3 点击开始键（Start），即可开始采集信号。

3.6.4 采用同样的方法可以进行 MS/MS 扫描调谐。不同的是需要选择母离子，打开碰撞气，给予一定的碰撞能量。

Parameters	Settings
Entrance	0
Exit	
Collision	
Ion Energy	
Collision Gas Flow(mL/min)	

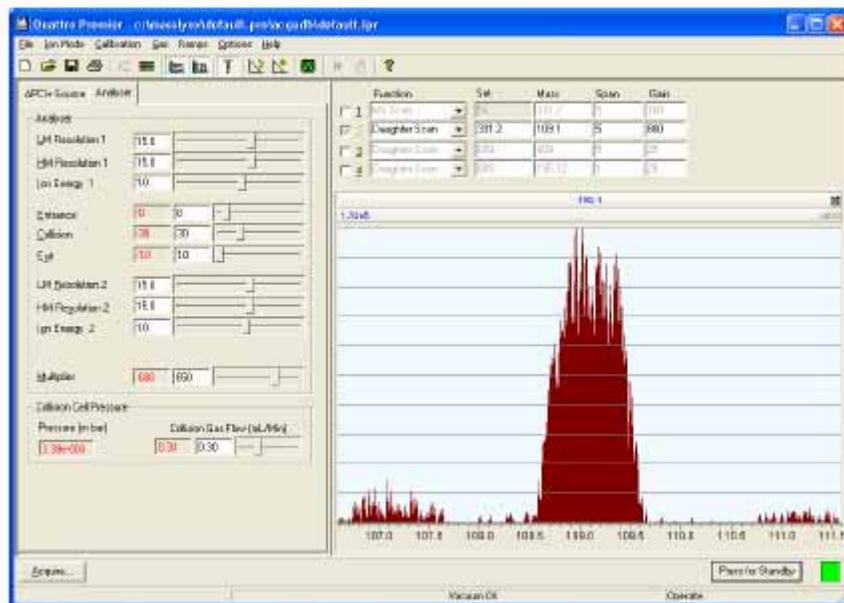


Figure 3-10 Tune Page of MS/MS Scan

3.7 2695 型液相色谱 (Inlet Method)

这个单元介绍如何设置液相色谱的泵，进样器和检测器的条件。



3.7.1 点击液相方法图标 [Inlet Method](#) 进入方法编辑界面。

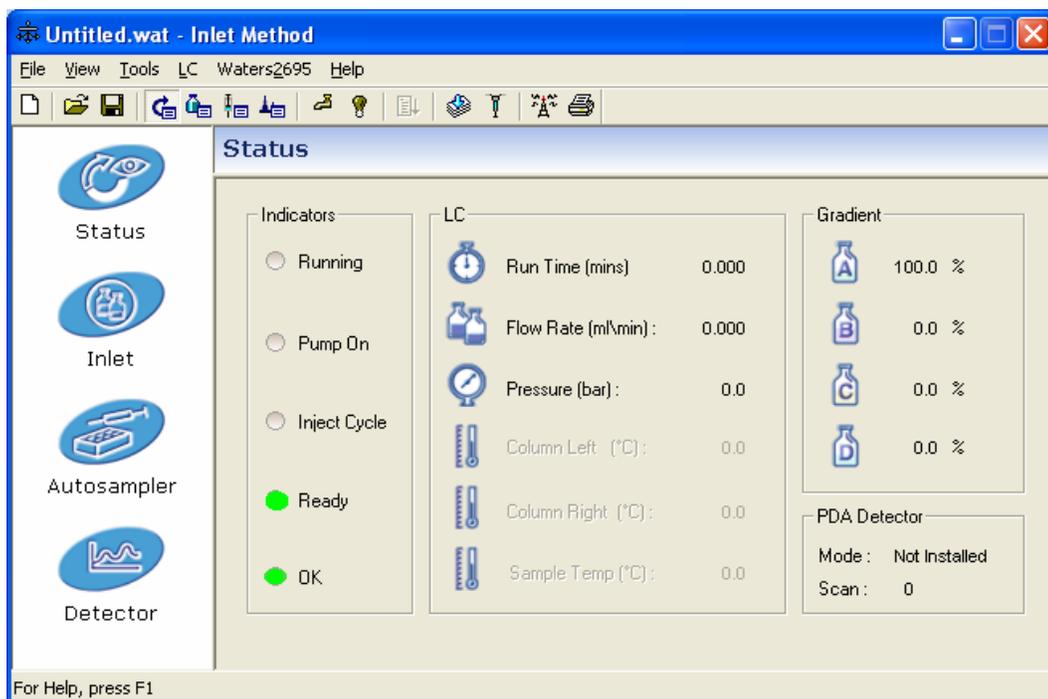


Figure 3-11 Inlet Status

-  Start/Stop Pump 泵流速的开关控制。
-  Lamp on / off 控制 2996 检测器的灯的开或关。
-  Change Mode 液相控制模式转换(软件控制或脱机),可以使液相处于脱机控制状态,在液相自己的控制面板来操作仪器。
-  Wet Prime 2695 Wet Prime(湿灌注)控制。
-  Load Method 将编辑好的液相方法传输给液相去执行。

3.7.2 点击 Inlet 设置泵的参数。



- a) 在溶剂和流速 Solvents and Flows 页面，按如下设置：

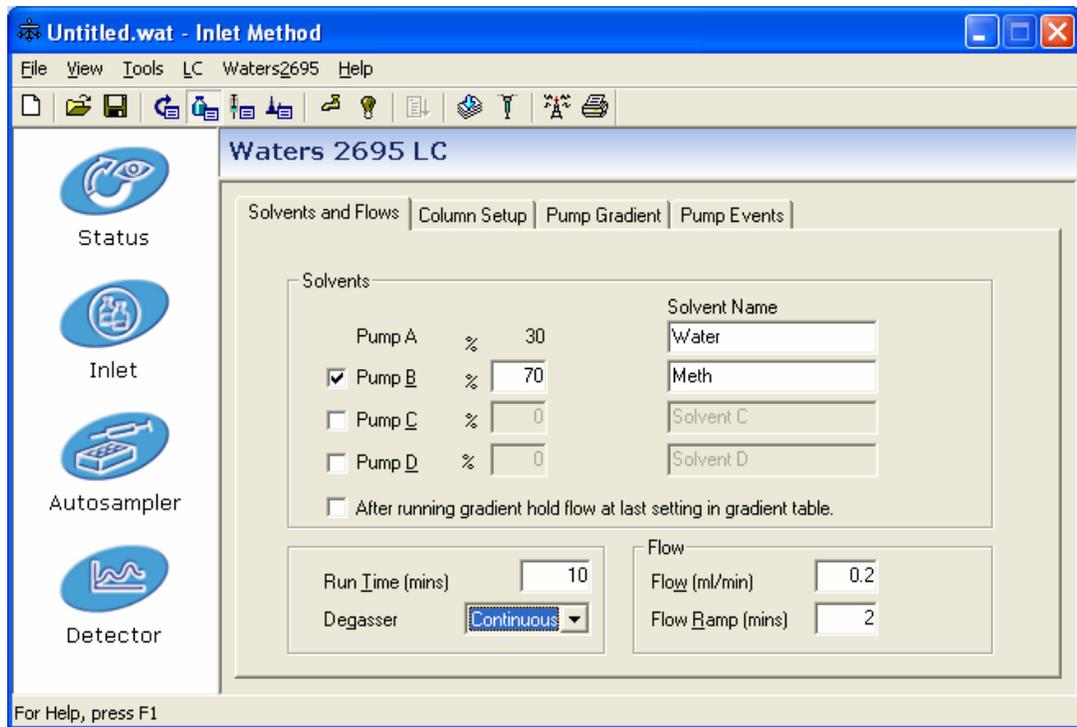


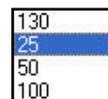
Figure 3-12 Inlet Method

- 1) 输入溶剂的比例。

- 2) 设置泵的运行时间。



- 3) 对于典型的质谱流速 (50ul – 350ul) 在下拉菜单中选择 25 ul 为 Stroke Rate 设置。



- 4) 输入泵的初始流速。



- b) 在柱温设定 Column Setup 页面，按如下设置：

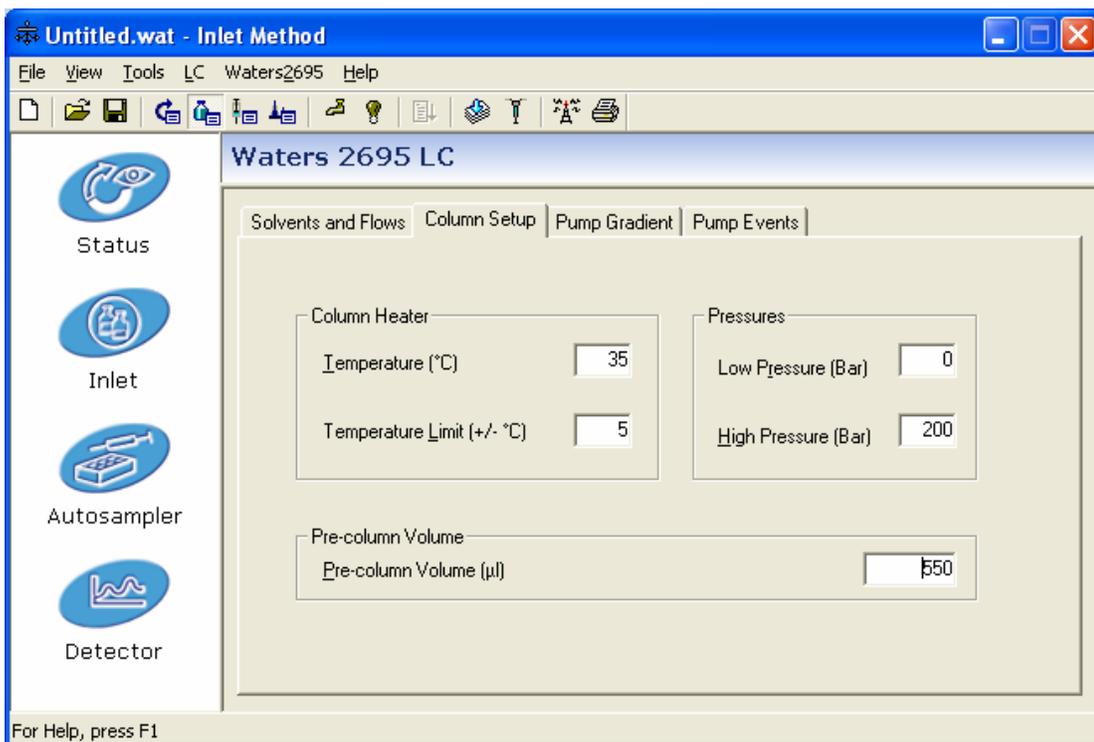


Figure 3-13 Column Setup

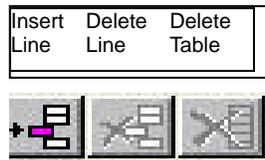
- 1) **Temperature()** 设定柱温箱工作温度。
- 2) **Temperature Limit(+/-)** 设定柱温箱温度允许范围。
- 3) **High Pressure(Bar)** 设定液相系统压力最高限，当系统压力超出范围时，软件会自动停止流速。
- 4) **Pre-column Volume (选项)** 输入系统滞后体积，对于 2695 系统，一般为 550ul，该参数只对梯度起作用。

c) 在 **Pump Gradient** 页面设定梯度表。

- 1) 设置梯度初始条件，按 Insert Line 编入梯度表，然后分别编辑、插

入各项梯度条件。(curve 6 是线性梯度变化)。

注意：梯度表的第一行的梯度曲线必须是 Curve 1。



2) 如果液相色谱系统有样品加热和冷却装置，点击



图标设

定温度，并设定自动进样器吸样速度。

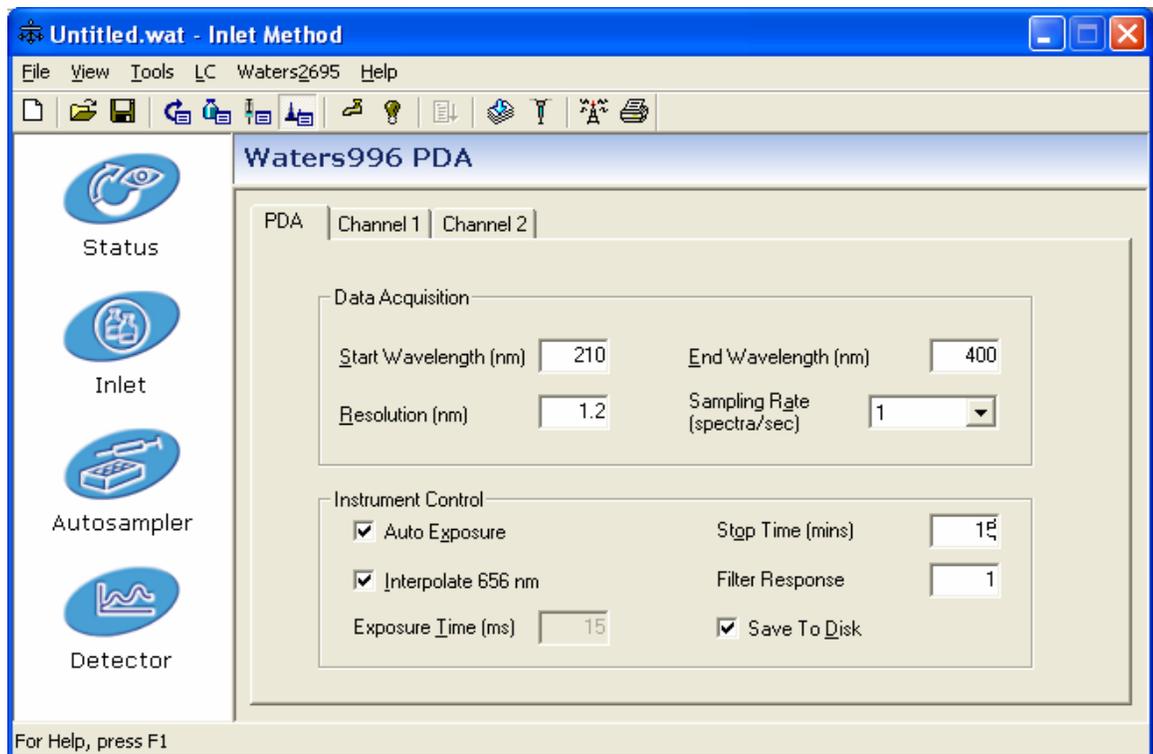
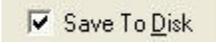


Figure 3-14 Autosample Setup

3) 点击  设置 2996 二极管阵列检测器参数

- a) **Start Wavelength(nm)** , **End Wavelength(nm)** 波长采集范围
- b) **Resolution (nm)** 设定光谱分辨率，分辨率越高，数据量越大。通常要看紫外光谱数据，光谱分辨率可以设到最高 (1.2nm)，如果只为了看色谱图，光谱分辨率可以设定到 3.6nm 或 4.8nm，以减少数据量。同样，波长的采集范围也可以尽量缩小。
- c) **Sampling Rate** 信号采集数率，采集数率越高，数据量越大。如果要保证对一个色谱峰准确积分，通常这个色谱峰最少要有 20 个数据采集点拟和而成，以此来设定采集速率。
- d) **stop time** 是指每个样品 PDA 的采集时间，这个时间一般应该与泵的运行时间和质谱方法的采集时间一致。
- e) 选择 Save to disk 保证 PDA 数据被采集并存在电脑内。 

4) 选择 File – Save As 并输入液相方法的名称。

5) 点击状态  图标，确认所有的状态灯是绿的。

6) 如果液相通讯有问题，在液相方法编辑主菜单选择 LC/  将通讯复位。

7) 液相色谱自动进样器自动进样，在液相色谱编辑窗口，选择 Tools/Instrument Config，点击 ，确认 Even In 1 被打上



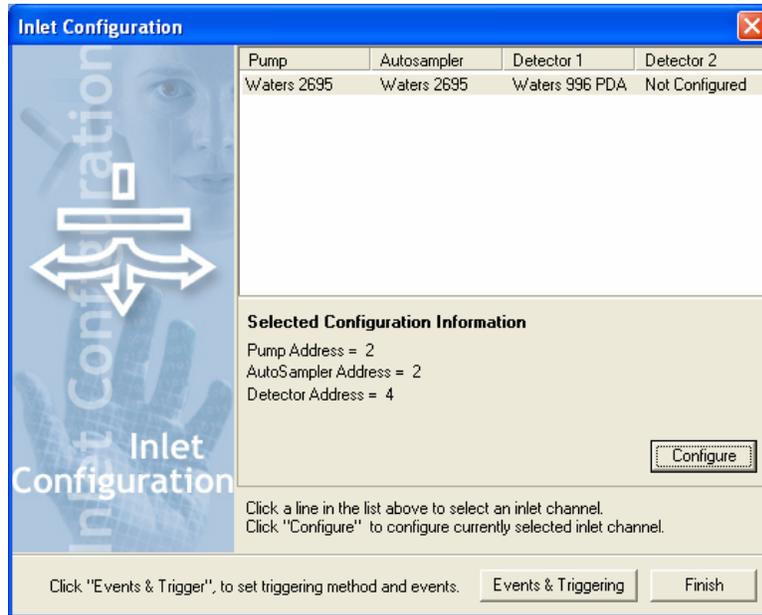


Figure 3-15 Inlet Configuration

3.8 创建质谱方法

本单元介绍如何创建质谱采集方法。



3.8.1 在 Masslynx 软件主界面点击质谱方法 (MS Method) 图标, [MS Method](#) 进入质谱方法编辑界面。Quattro Premier 具有全扫描 (MS Scan) 选择离子反应 (SIR) 多反应监测 (MRM) 子离子扫描 (Daughters) 母离子扫描 (Parents) 以及中性丢失 (Neutral Loss) 等多种扫描功能。

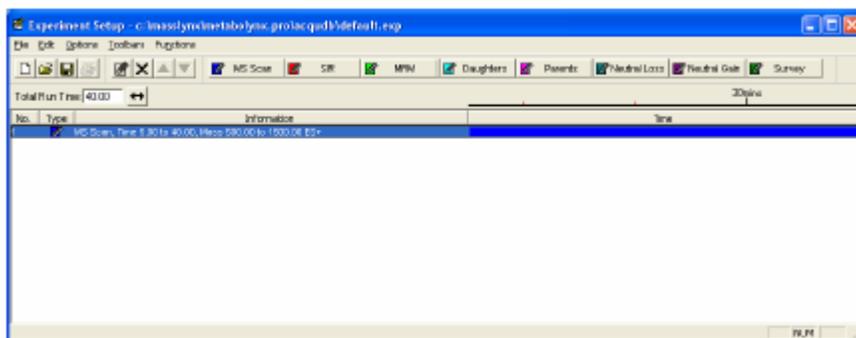


Figure 3-16 MS Method Editor

3.8.2 以 MRM 为例 ,创建质谱方法, 点击 MRM 图标  ,打开 MRM 功能编辑器(MRM Function Editor)。MRM 方式有较高的灵敏度 ,用于定量计算。

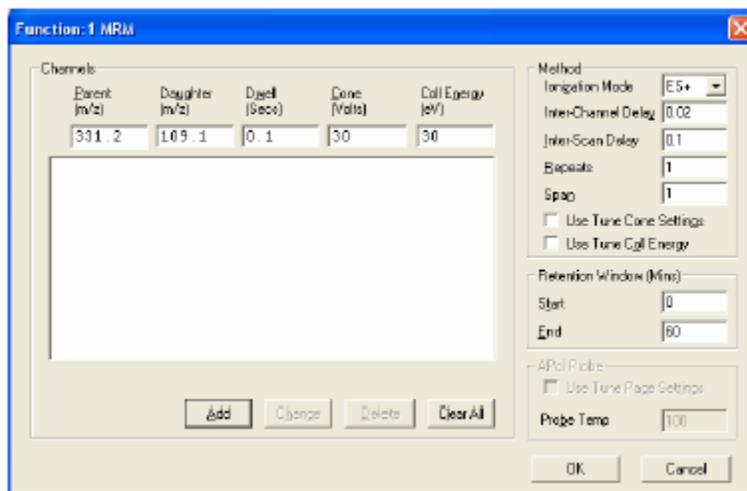
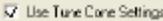


Figure 3-17 MRM Function Editor

3.8.3 输入母离子的质量数 (Parent) 子离子的 m/z 值 (Daughter) 驻留时间 (Dwell , Secs) 以及锥孔电压 (Cone , Volts) 和碰撞能量 (Coll Energy , eV) 等参数。点击 Add , 以上输入的值被添加到 Function List 中。另外也可以选择使用调谐窗口优化时所设置的条件   。这时的锥孔电压和碰撞能

量会按照调谐窗口的设置执行。

3.8.4 在 Ionization Mode 下拉菜单中选择离子化模式，在 Retention Windows (mins) 中输入质谱数据采集时间。

3.8.5 如果还有其他离子对，要和上一个 MRM 采集在同一张色谱图上时，重复上面两步，最后选择 OK。如果要用不同通道采集不同选择离子色谱图，则直接选择 OK，再重新点击  MRM 开始。一个质谱方法里可以有多个通道，但过多的通道会降低灵敏度。

3.8.6 从主菜单中选择 File> Save As，并输入质谱方法的名称，退出质谱方法编辑界面。

现在质谱方法已经建好。

3.9 创建样品列表 (Sample List)

以下步骤将介绍如何创建样品列表，采集样品，包括定量。以下是 Masslynx 软件主界面。

File Name	File Text	MS File	Inlet File	Bottle	Inject Volume	Sample Type	Conc. A	MS Tune File
1	ASSAY01	plasma blank	DEFAULT	DEFAULT	1	10.000	Blank	0
2	ASSAY02	0.2pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	2	10.000	Standard	0.2
3	ASSAY03	0.5pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	3	10.000	Standard	0.5
4	ASSAY04	0.75pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	4	10.000	Standard	0.75
5	ASSAY05	1pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	5	10.000	Standard	1
6	ASSAY06	2pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	6	10.000	Standard	2
7	ASSAY07	5pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	7	10.000	Standard	5
8	ASSAY08	10pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	8	10.000	Standard	10
9	ASSAY09	15pg/ml std	DEFAULT	DEFAULT	9	10.000	Standard	15
10	ASSAY10	0.3pg/ml QC	DEFAULT	DEFAULT	10	10.000	QC	0.3
11	ASSAY11	2pg/ml QC	DEFAULT	DEFAULT	11	10.000	QC	2
12	ASSAY12	12pg/ml QC	DEFAULT	DEFAULT	12	10.000	QC	12
13	ASSAY13	Rat sample 01	DEFAULT	DEFAULT	13	10.000	Blank	0
14	ASSAY14	Rat sample 02	DEFAULT	DEFAULT	14	10.000	Analyte	0
15	ASSAY15	Rat sample 03	DEFAULT	DEFAULT	15	10.000	Analyte	0
16	ASSAY16	Rat sample 04	DEFAULT	DEFAULT	16	10.000	Analyte	0
17	ASSAY17	Rat sample 05	DEFAULT	DEFAULT	17	10.000	Analyte	0
18	ASSAY18	Rat sample 06	DEFAULT	DEFAULT	18	10.000	Analyte	0
19	ASSAY19	Rat sample 07	DEFAULT	DEFAULT	19	10.000	Analyte	0
20	ASSAY20	Rat sample 08	DEFAULT	DEFAULT	20	10.000	Analyte	0
21	ASSAY21	Rat sample 09	DEFAULT	DEFAULT	21	10.000	Analyte	0
22	ASSAY22	Rat sample 10	DEFAULT	DEFAULT	22	10.000	Analyte	0
23	ASSAY23	Rat sample 11	DEFAULT	DEFAULT	23	10.000	Analyte	0
24	ASSAY24	Rat sample 12	DEFAULT	DEFAULT	24	10.000	Analyte	0
25	ASSAY25	Rat sample 13	DEFAULT	DEFAULT	25	10.000	Analyte	0
26	ASSAY26	Rat sample 14	DEFAULT	DEFAULT	26	10.000	Analyte	0
27	ASSAY27	Rat sample 15	DEFAULT	DEFAULT	27	10.000	Analyte	0

Figure 3-18 Sample List

3.9.1 选择  , 新建立一个样品表。

3.9.2 样品表介绍

- File Name** 输入样品名称 (样品名必须不同, 否则会被覆盖)
- File Text** 输入对每个样品的文字性描述, 可以空着不输入。
- MS File** 和 **Inlet File** 选择运行样品要使用的质谱方法和液相方法。
- Bottle** 和 **Inject Volume** 定义 2695 自动进样器的样品瓶号, 及进样体积(1-100ul)

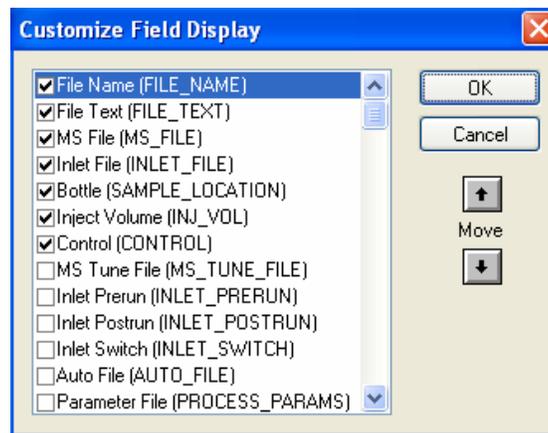
- e. **Sample Type** 定义样品类型，如果是标准品选择 Standard，如果是分析样品则选择 Analyte。



- f. 在 **Conc A** 里输入标准品的浓度，如果有其他不同浓度的标准品，可以在 Conc B，Conc C，Conc D（需要在 Customer Display 里选出）.....输入。

- g. **MS Tune File** 不同的样品可以在这里调用不同的调谐文件。

- h. 如果样品表的表头没有显示要使用的内容，用鼠标右键点击样品表的第一行第一列，然后选中 **Customize Display...**，会出现下面列表，在里面将将所需要用的内容选中。



3.9.3 选择 Sample /Add，设定要添加的样品数量。





3.9.4 选择  , 或者在主菜单选择 File > Save As , 输入这个样品表的名称 (后缀为.SPL)。

样品表就已经编好等待运行。

3.10 运行样品列表 (Sample List)

3.10.1 点击状态  图标 , 确认 MS 和 LC 状态是否已经 Ready。

3.10.2 选择运行  , 开始运行样品。

3.10.3 如果仅采集数据而不同时进行处理 , 可以只选择 Acquire Sample Data , 然后点 OK。

3.10.4 如果要想在采集样品时同时处理数据 (Integration, Calibration, and Quantiation) , 请选择 Auto Quantify Samples 并按 OK。

3.10.5 如果想使用自动定量功能, 请同时选择 Integrate Samples Quantify Samples Calibrate Standards 若要打印 , 选择 Print Quantify Reports , 接下来在 Browse to the Quantify Method file (MDB), 选择定量方法 , 并按 OK 确认。

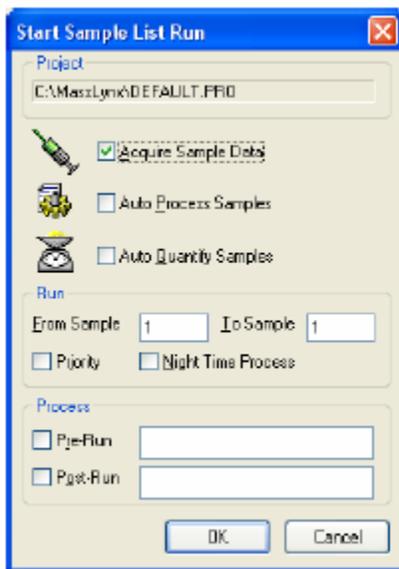
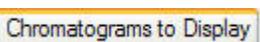


Figure 3-19 Start Sample List Run Dialog Box

3.10.6 如果样品没有开始运行，请确认暂停键  是否被按下。

3.10.7 定义谱图显示。

a. 点击  Shortcut 图标再点击  Tools 。

b. 点击  Options 图标并选择  Chromatograms to Display 。

c. 选择  Show All Functions 和  New Window For Each Sample ，OK 确认。

3.10.8 查看色谱图和质谱图

a. 在 MassLynx 主界面，选择 File>Open 选择打开相应的要查看样品所在的样品表（Sample list）。

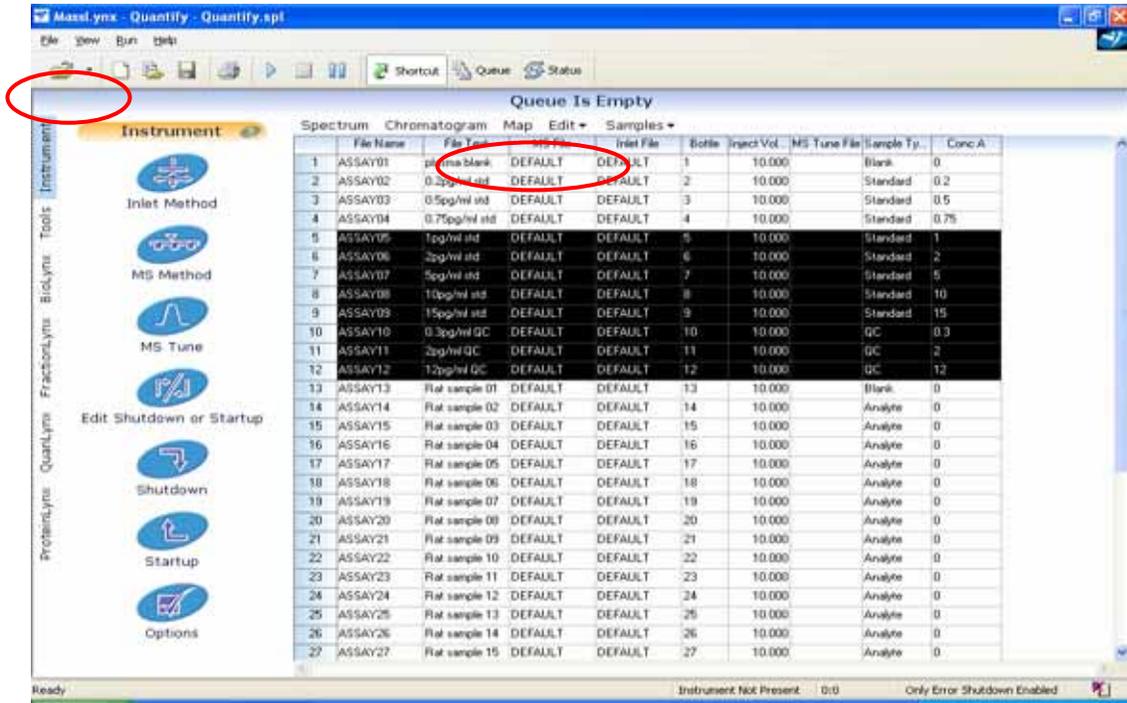


Figure 3-20 Sample List

b. 在样品表中单独或同时选中要查看的样品，然后单击 **Chromatogram**，样品色谱图会被打开。

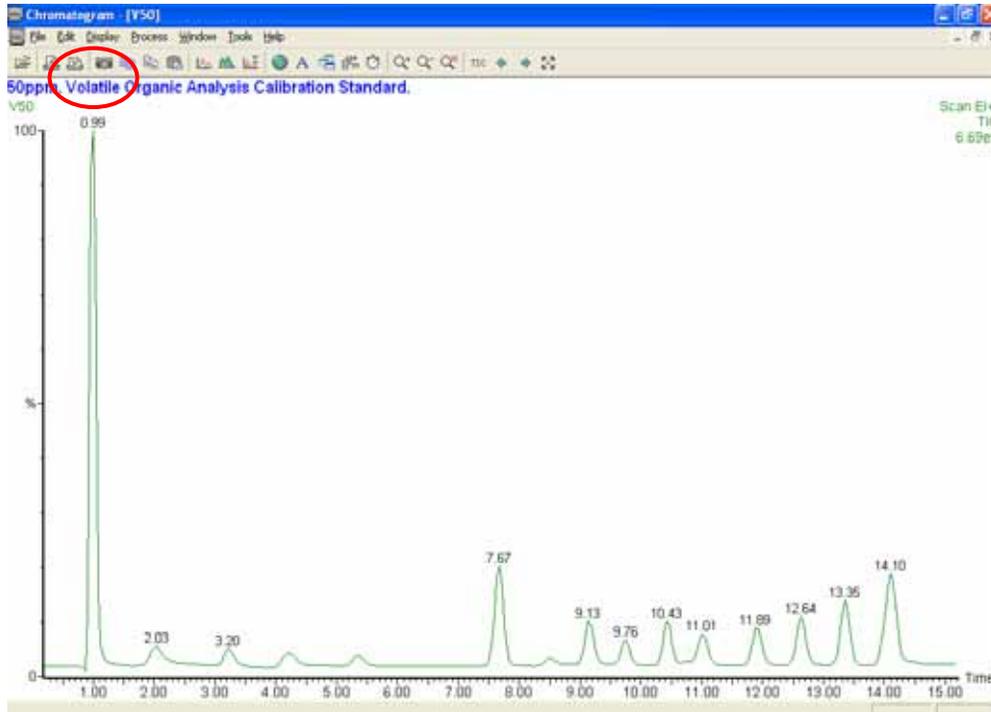


Figure 3-21 A Typical Chromatogram

- b. 也可以在谱图显示窗口去选择和打开已存储的文件，点击 Experiment 可以查看该数据的所有参数设置。
- c. 对于 MS 全扫描色谱图，双击要查看的色谱峰，对应的质谱图会出现在质谱窗口（但只是一次扫描的信息），若用鼠标右键选中一段时间，出现的质谱图则是几次扫描的总和（取决于所选时间的长短）。

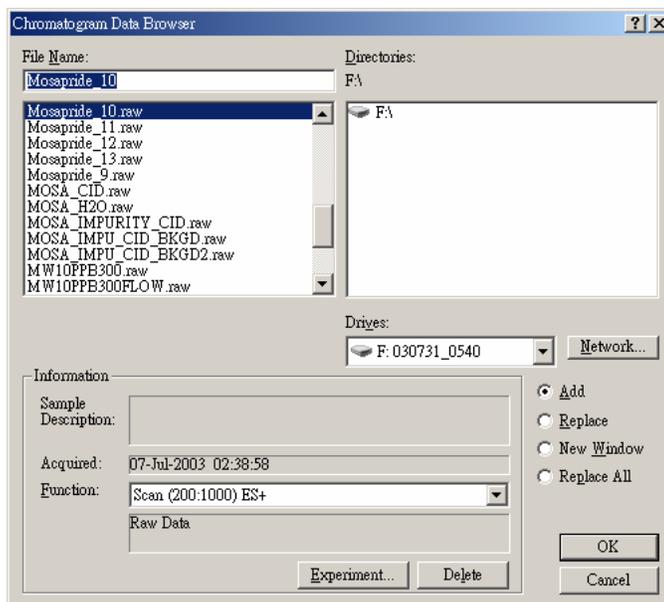


Figure 3-22 Chromatogram Data Brower

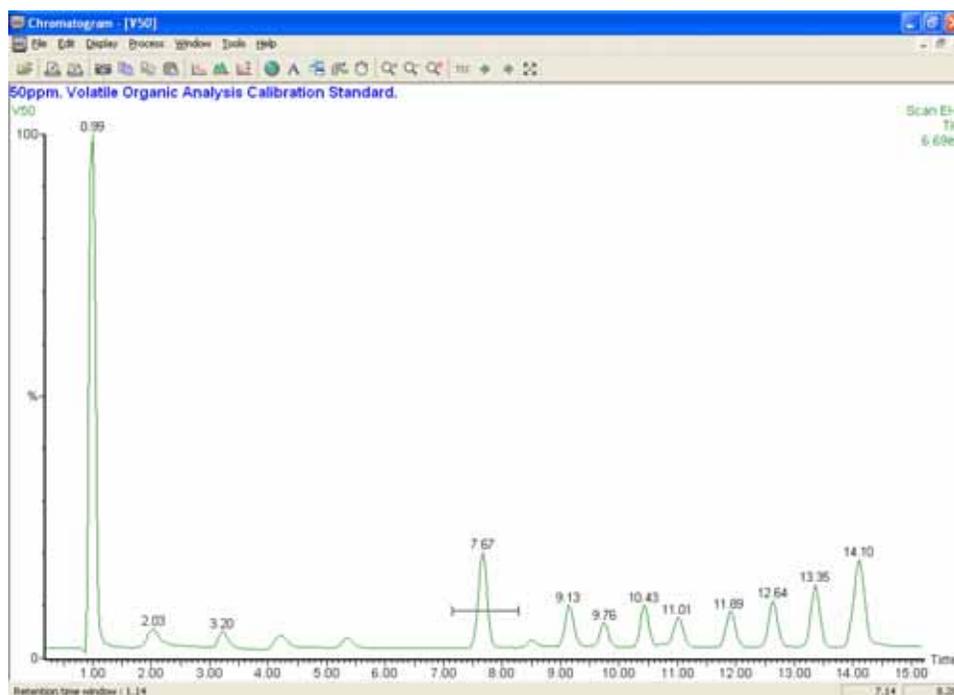


Figure 3-22 Chromatogram Window

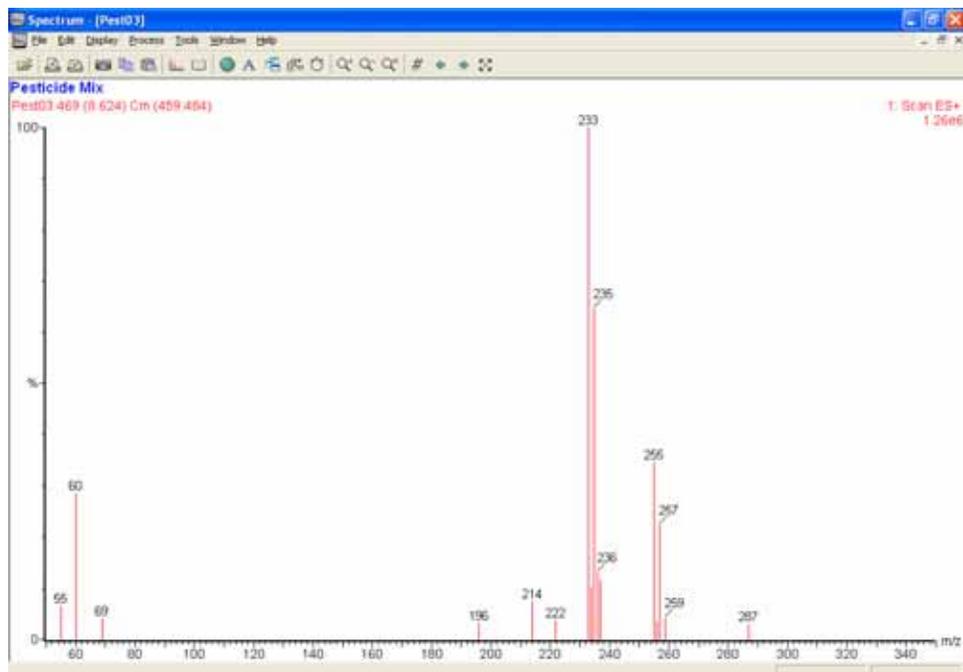


Figure 3-23 Spectrum Window

d.通常可以选择自动差减功能来提取一个“干净”的质谱图，可以扣除溶剂里的干扰，在色谱图窗口，点击，然后分别用鼠标右键选择色谱峰和要差减的基线。

e. 双击质谱图中质量数强度最大的，将显示该质量数的色谱图。

f 选择 图标 ,激活质量色谱图对话框 ,可以对图谱进行解释处理。

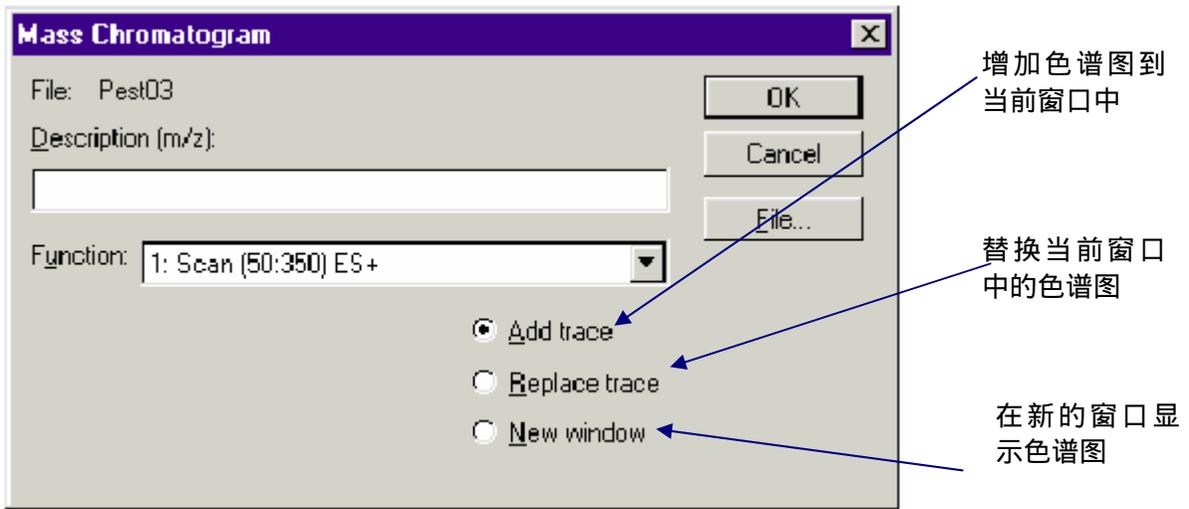


Figure 3-24 The Mass Chromatogram dialog for full scan data

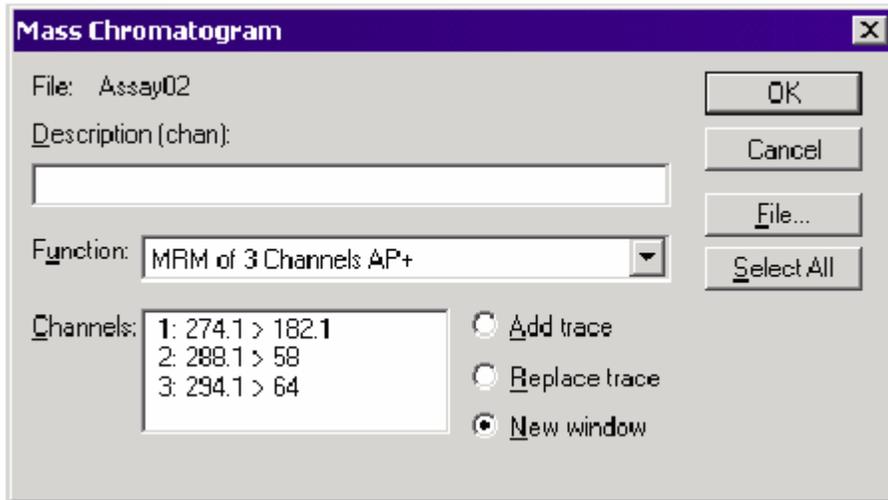


Figure 3-25 The Mass Chromatogram dialog for MRM data

Description : 根据数据类型不同而不同 , x , y , z 分别代表质量数或通道。

x : 显示 x 的色谱图 ; x+y : 显示 x 加 y 的色谱图 ; x-y : 显示 x 减 y 的色谱图 ; x_y : 显示从 x 到加 y 的所有质量数或通道的总和的色谱图。

g 选择  图标，激活图谱平滑对话框，对图谱进行平滑处理。设定平滑参数后，点击 OK，开始进行平滑处理，得到平滑后的图谱。

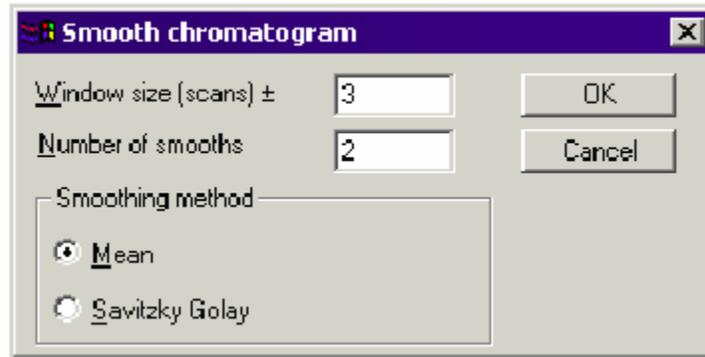


Figure 3-26 The Smooth chromatogram dialog



Figure 3-27 Typical Smooth message box

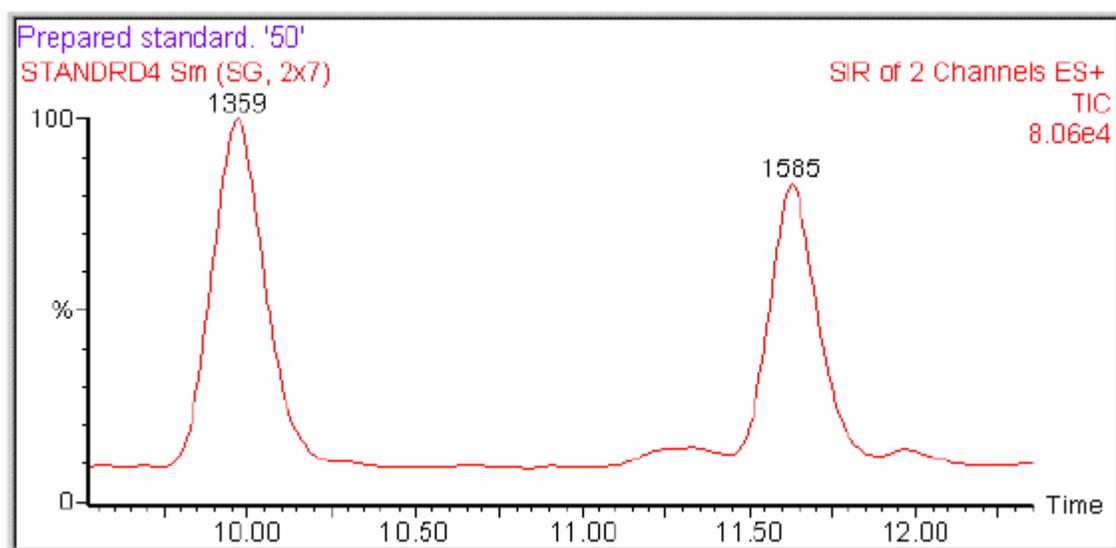


Figure 3-28 Results of chromatogram smoothing

h 选择  图标，激活图谱积分对话框，对色谱峰面积进行积分。设定积分参数后，点击 OK，开始积分，得到积分结果。

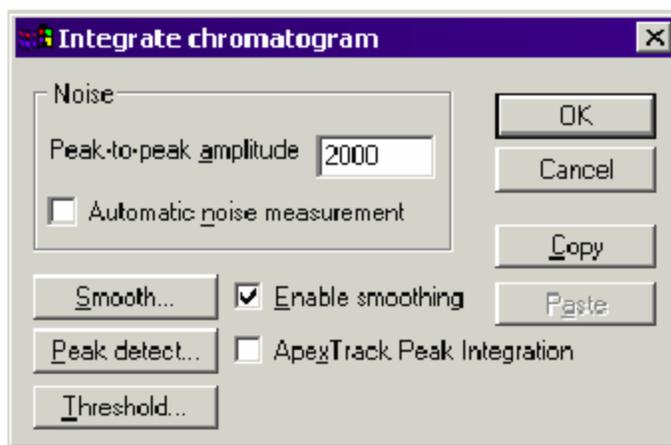


Figure 3-29 The Integrate chromatogram dialog

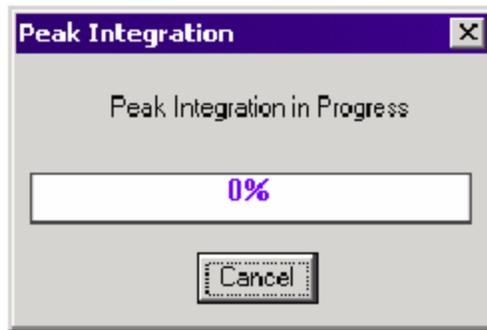


Figure 3-30 Peak Integrate in Progress message

- i 选择 Process>Signal To Noise 命令，激活信噪比对话框，选择好参数后，点击 OK，即可得到信噪比结果。

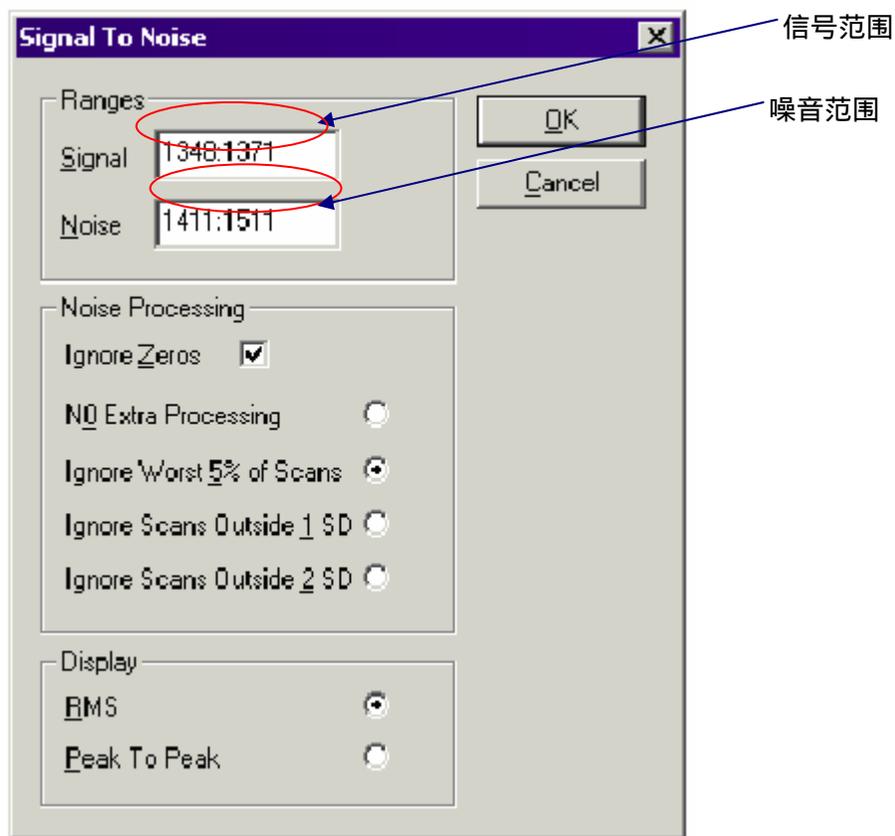


Figure 3-31 The Signal to Noise dialog

3.11 用 QuanLynx 来编辑定量方法



3.11.1 在 Quanlynx 界面中选择  Edit Method , 会出现定量方法编辑界面。

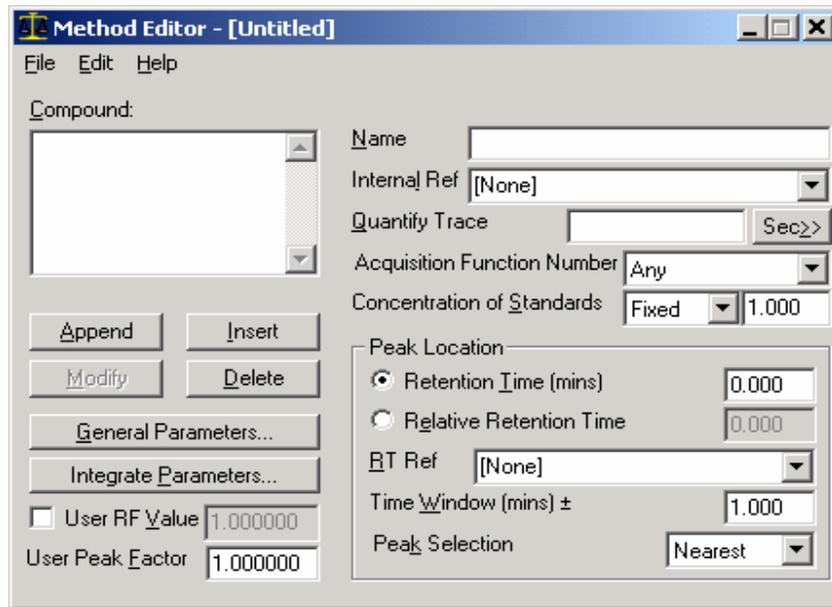


Figure 3-32 The Quantify Method Editor

3.11.2 同时打开相应的色谱图，用鼠标右键选择相应的色谱峰，该色谱峰对应的信息会自动被添加到定量方法编辑界面里。

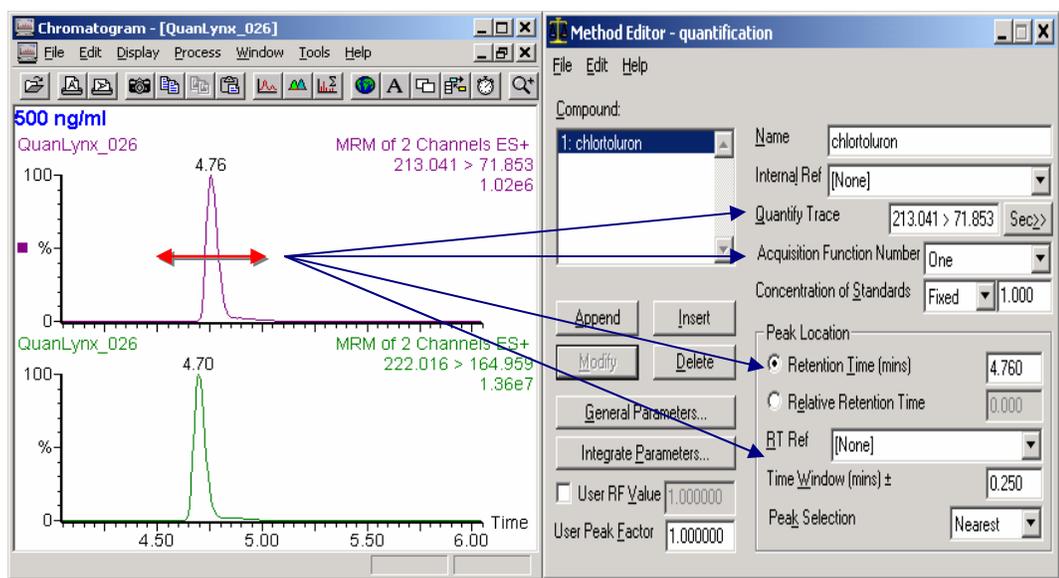


Figure 3-33 The Quantify Method Window

3.11.3 在 里输入组份名称，点击 ，这时组份名称会被添加到左侧的组份表里。重复第二步，将所要使用的组份逐一添加到组份表里。

3.11.4 如果某组份是内标物，则需要在 里选中该组份。

3.11.5 点击 ，编辑通用参数。

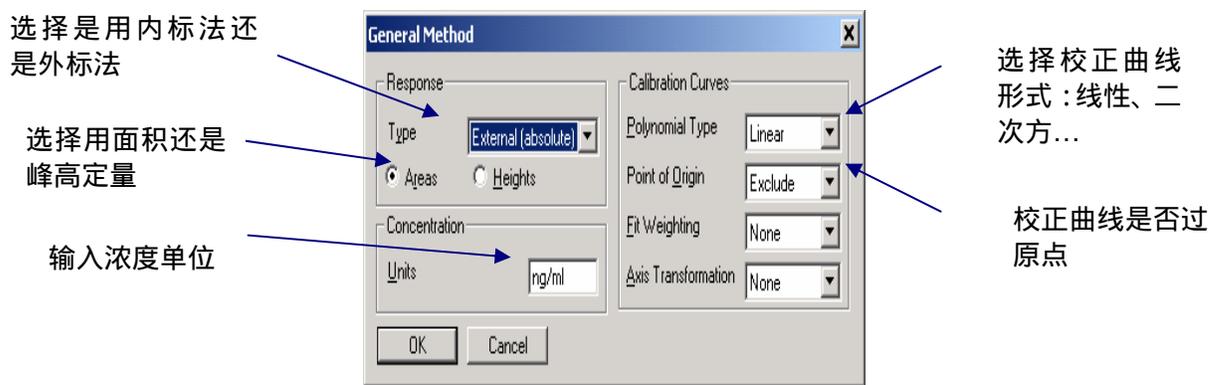
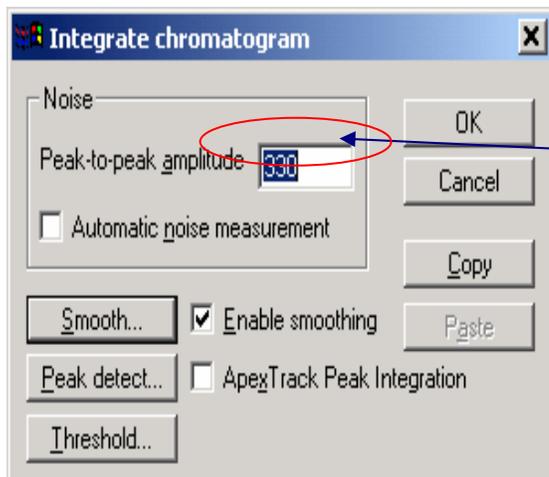


Figure 3-34 The General Method dialog

3.11.6 点击 **Integrate Parameters...** ，激活 Intergrate Chromatogram 对话框，编辑相关积分参数。



用鼠标右键选中目标峰，同时再选一段噪音，便可直接计算出来

Figure 3-34 The Integrate chromatogram

3.11.7 积分之前，在 Intergrate Chromatogram 对话框中，选择 **Enable smoothing** ，点击 Smooth 进入下面谱图平滑参数设定窗口。参数设定后，点击 OK ，回到 Intergrate Chromatogram 对话框。

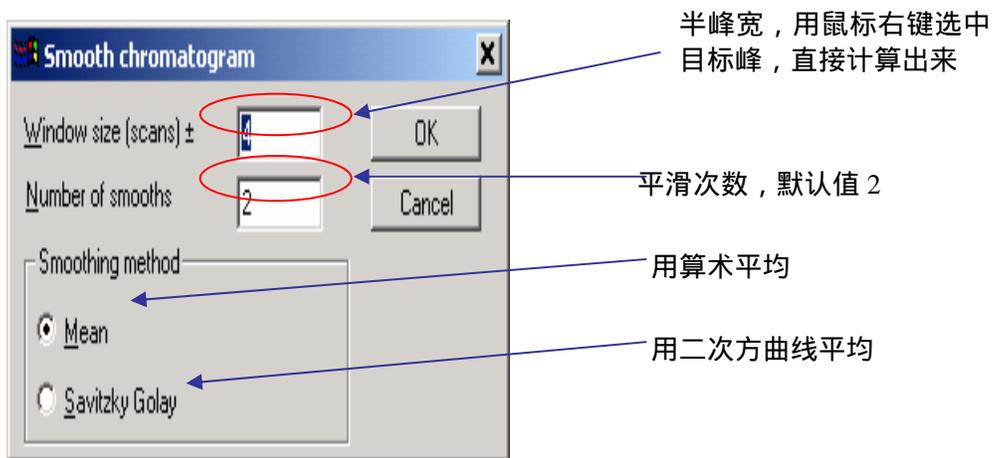


Figure 3-35 The Smooth Chromatogram dialog

3.11.8 点击 Intergrate Chromatogram 对话框中的 **Threshold...** , 打开 Response Threshold 对话框 , 设定积分阈值 , 低于阈值的峰不进行积分。

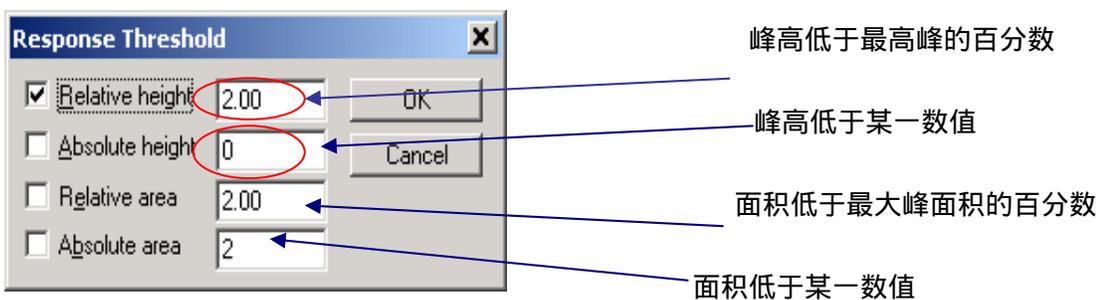


Figure 3-36 The Response Threshold dialog

3.11.9 点击 Intergrate Chromatogram 对话框中的 **Peak detect...** , 打开 Peak Detect 对话框 , 可以设定基线位置。

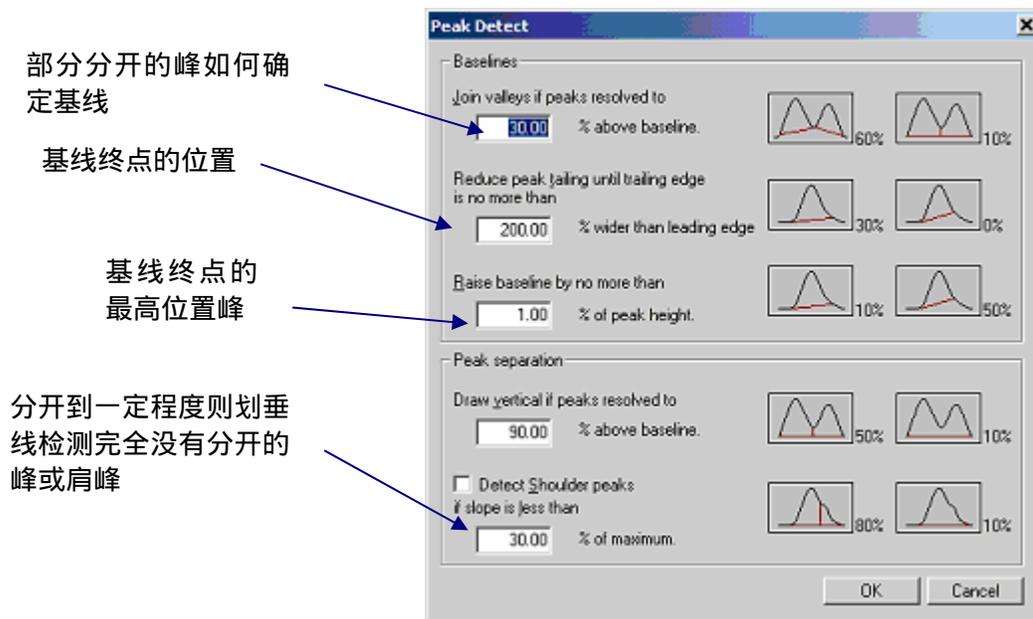


Figure 3-37 The Peak Detect dialog

3.11.10 设定 **Quantity Trace** **Sec>>** , 指定用于积分和定量计算的色谱峰。可以选择单个质量色谱图, MRM 色谱图, 总离子流图(TIC), 基峰强度色谱图(BPI), 多通道时还可以选择 Ch1, Ch2....., DAD 等。特殊情况下, 还需指定二级离子, 点击 SEC>>, 激活 Secondary 对话框, 在 **Trace** 中输入二级离子的质量数, 如果空白, 则在峰定位过程中不用二级离子。在 **Expected Primary/Secondary ratio** 中输入一级离子和二级离子大小的比率, 如果填零, 则峰比率不用于化合物定位。点击 OK, 接受新设置。

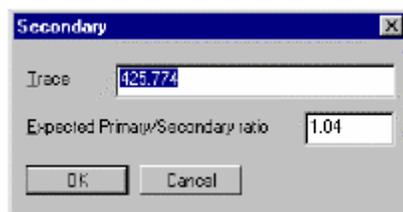


Figure 3-38 The Secondary dialog

3.11.11 从处理方法主界面选择 Edit > Propagate>General Parameters 将上面已经编辑好的设定复制给所有组份。

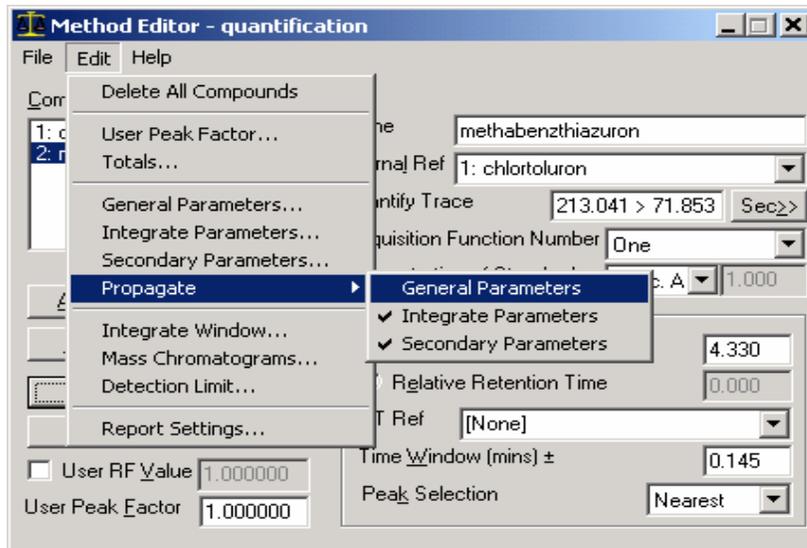
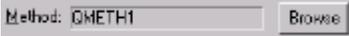


Figure 3-39 The Method Editor Window

3.11.12 选择 File > Save As 并输入方法名。

3.12 用 QuanLynx 进行批处理

3.12.1 从 Sample List 中，选中需要进行定量计算的样品，在 Sample Type 中输入样品类型 (Standard, Analyte.....)，如果是标准品则输入相应的浓度。

3.12.2 在 Quanlynx 界面中选择 Process Samples，激活批处理对话框，在  中点击 Browse，选择已编辑好的定量方法。在 Integrate Samples ; Calibrate Standards 和 Quantify Samples 三项打勾，点击 OK，开始运算。

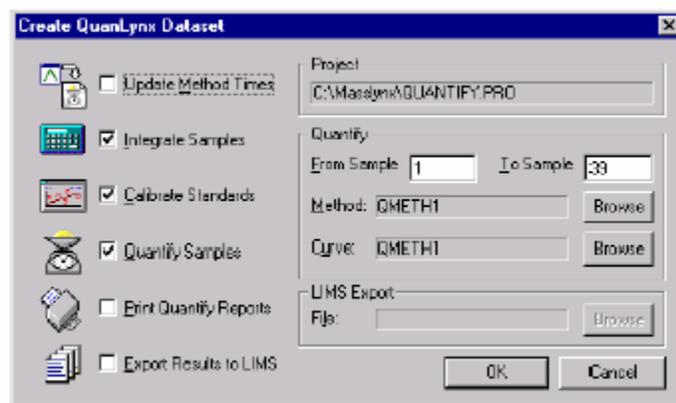


Figure 3-40 The Create QuanLynx Dataset dialog

3.12.3 运算结束，出现实验报告窗口，可以查看标准曲线，精度，样品的色谱图以及计算浓度等结果。对于个别积分不好的峰，可以右击色谱图，选择 Add Peak，然后进行手动积分。

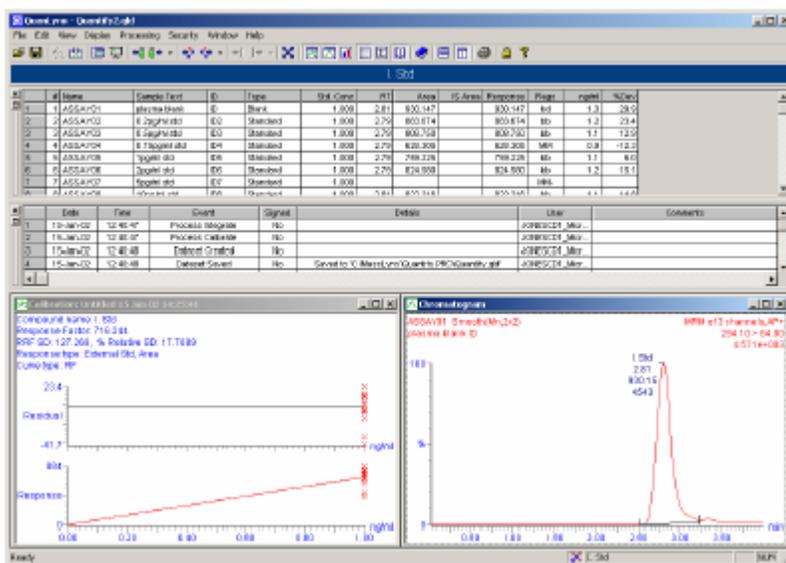


Figure 3-41 The QuanLynx Browser Screen

3.12.4 选择 File>Save As，并输入文件名，可以将结果保存下来。也可以选择 File>Export>Calibration，将标准曲线保存下来，以后直接调用即可。直接调用

现成的标准曲线进行计算时，不用选 Calibrate Standards 这一项。

3.13 查看 QuanLynx 定量结果

3.13.1 在 Quanlynx 界面中选择 View Result，查看处理好的结果并打印报告。

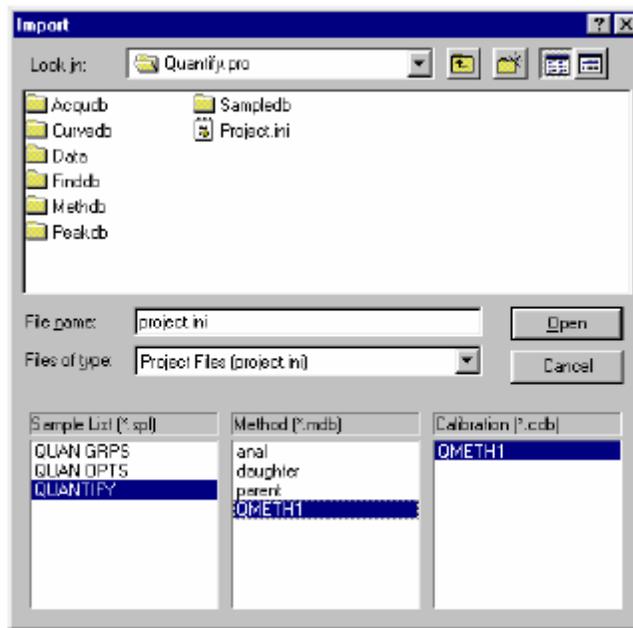


Figure 3-42 The Import dialog

3.13.2 打开 File>Import QuanData，选择相应的 Project，Sample List，Method 和 Calibration，打开已经处理好的 QuanLynx 数据。

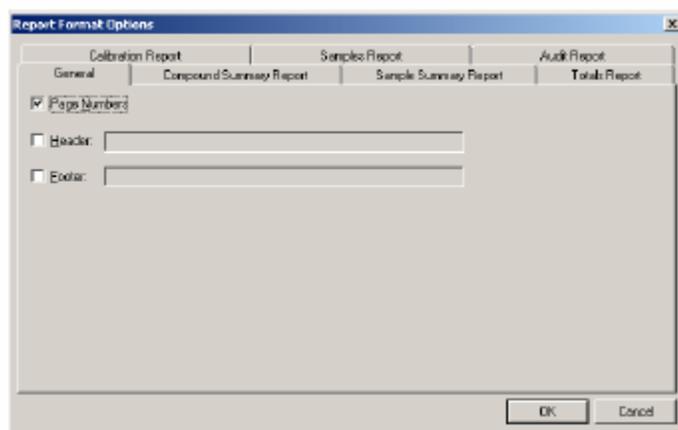


Figure 3-43 The Report Format Options dialog, General page

3.13.3 可以利用一些图标，查看实验结果。

Toolbar button	Menu equivalent	Purpose
	File, Open	打开已经存在的 QuanLynx Dataset
	File, Save or File, Save As	保存当前的 QuanLynx Dataset
	Save Modified Peaks	更新用户修改的峰的基线
	Processing, Execute	激活 QuanLynx 处理对话框
	Display, Show Chromatograms	显示色谱图和积分面积

	Display, Previous Sample	显示前一个样品的情况
	Display, Next Sample	显示后一个样品的情况
	Display, Slideshow	开始/停止 slideshow
	Display, Previous Compound	显示前一个化合物的情况
	Display, Next Compound	显示后一个化合物的情况
	Display, Previous Sample Group	显示前一个样品组的情况
	Display, Next Sample Group	显示后一个样品组的情况
	View, Calibration	显示/隐藏标准曲线窗口

	View, Chromatogram	显示/隐藏色谱图窗口
	Display, Default	显示默认的校正范围和色谱图窗口
	View, Statistics	显示/隐藏统计学窗口
	View, Summary Bar	Toggles the Summary bar
	View, Totals Bar	Toggles the Total bar
	View, Experimental Record	Toggles the Experimental Record window
	View, Audit Log	Toggles the Audit Log bar
	Window, Tile Horizontally	横排显示
	Window, Tile Vertically	竖排显示
	File, Print	打印 QuanLynx 报告
	Help, About Quantify	显示程序信息，版本号和版权

3.13.4 选择 File>Report Format , 编辑报告格式 , 打印实验报告。

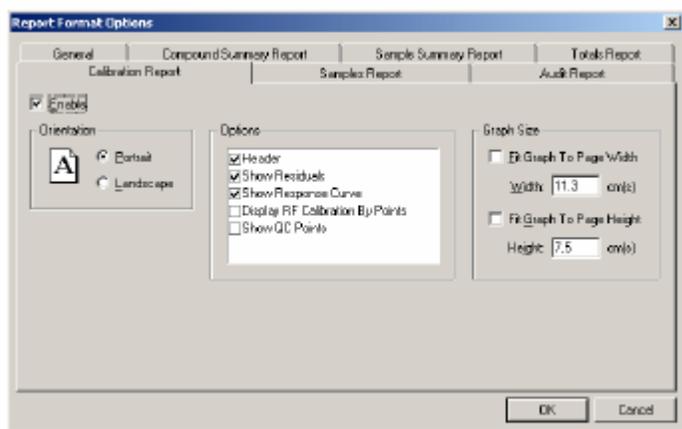


Figure 3-44 The Report Format Options dialog, Calibration page

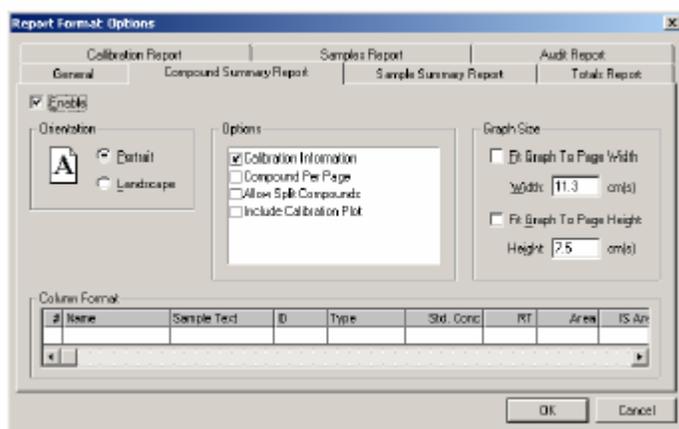


Figure 3-45 The Report Format Options dialog, Compound Summary Report page

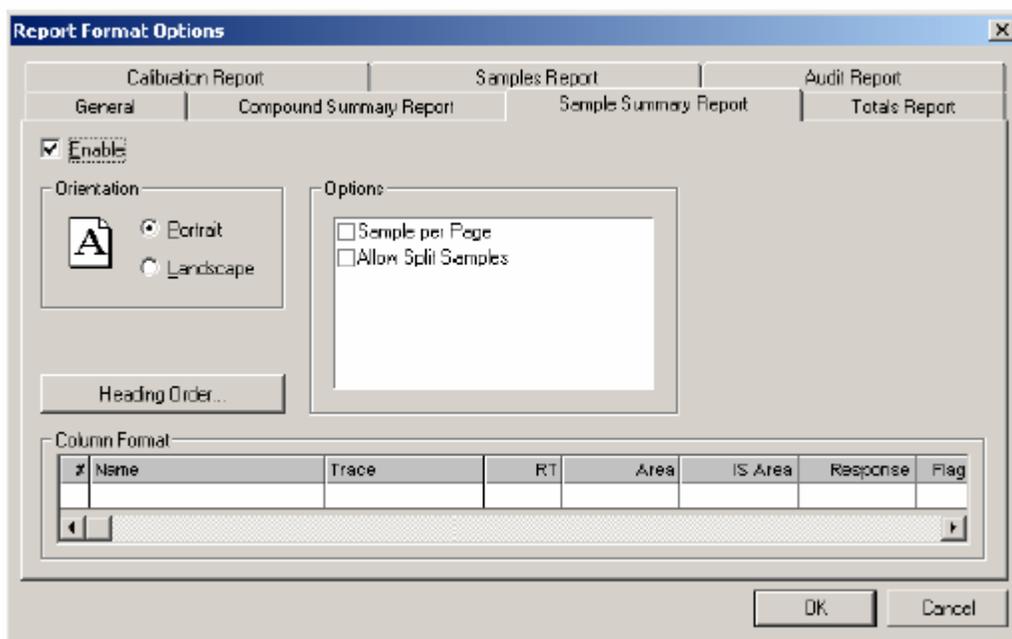


Figure 3-46 The Report Format Options dialog, Sample Summary Report page

3.14 关机

3.14.1 点击质谱调谐图标  进入调谐窗口。

3.14.2 点击 Standby   让 MS 进入待机状态时，这时状态灯会由  变  。

3.14.3 停止液相色谱流速，如果还需要冲洗色谱柱，可以将液相色谱管路从质谱移开到废液瓶。

3.14.4 等脱溶剂气温度(ESI)或 APCI 探头温度降到常温，点击气体图标  关闭氮气。

3.14.5 逆时针方向拧开机械泵上的 Gas Ballast 阀，运行 20 分钟后关闭。

a) 对于 ESI 源，至少每星期做一次。

b) 对于 APCI 源，每天做一次。

3.14.6 再次确认机械泵的 Ballast 阀是否已经关闭。

3.14.7 选择 Option>Vent ,这时质谱开始泄真空 ,仪器前面板的状态灯“ Vacuum ”开始闪烁，几分钟后机械泵会停止运行，这时可以关闭质谱电源。

4 . 注意事项

4.1 对 ESI 接口来说 ,最佳工作流速为 100-250 mL/min ,一般采用内径为 1.0-3.0mm 内径的色谱柱 ,如果采用常规色谱柱 ,则需要分流。APCI 流速范围大 ,从 0.2 到 2.0mL/min ,而不用分流。

4.2 ESI离子化与溶剂密切相关 ,在使用某些溶剂和添加物需要注意以下几个方面 : 三氟乙酸 (TFA) 多用于蛋白质和多肽分析 ,但对ESI离子化有抑制效应 ; 三乙胺 (TEA) 在 m/z 102 处有较强的 $[M+H]^+$ 峰 ,有可能会抑制某些碱性化合物在正离子 ESI条件下的离子化 ,也有可能增强某些碱性化合物在负离子ESI条件下的响应 ; 四氢呋喃 (THF) 易燃 ,当使用空气为雾化气的时候 ,不能用于APCI。

4.3 要避免使用非挥发性的盐 (phosphate, borate, citrate, etc.) ; 表面活性剂 , 清洁剂和去污剂 (会抑制离子化) ; 以及无机酸 (sulphuric acid, phosphoric acid etc.)等。

4.4 连接 HPLC 泵 , LC 色谱柱 , 注射泵以及 ESI 探头时 , 要将仪器置于 standby 状态。

4.5 当改变分辨率的时候 , 仪器的质量数也会有轻微的偏移 , 所以在不同分辨率的条件下 , 应该做质量数校正。

4.6 样品贮存在塑料离心管中 , 其中的添加剂很容易混入 , 尤其是被有机溶剂浸泡时间较长时 , 会产生干扰物信号。

4.7 工作站计算机不要安装与仪器操作无关的软件 , 要经常清理计算机磁盘碎片 , 定期查杀病毒 , 定期备份实验数据。

5. 维护与保养

5.1 LC/MS/MS 仪器应定期检查，并有专人管理，负责维护保养。

5.2 实验完毕要清洗进样针，进样阀等，用过含酸的流动相后，色谱柱，离子源都要用甲醇/水冲洗，延长仪器寿命。

5.3 定期清洗样品锥孔，关闭隔断阀，取下样品锥孔，先用甲醇：水：甲酸（45：45：10）的溶液超声清洗 10 分钟，然后在分别用超纯水和甲醇各溶液超声清洗 10 分钟，待晾干后再安装到仪器上。当灵敏度下降时，需要清洗 Source、二级锥孔和六级杆。

5.4 定期（对于 ESI 源，至少每星期做一次；对于 APCI 源，每天做一次）逆时针方向拧开机械泵上的 Gas Ballast 阀，运行 20 分钟。定期（每星期）检查机械泵的油的状态，如果发现浑浊、缺油等状况，或者已经累积运行超过 3000 小时，要及时更换机械泵油。