TSQ Quantum 液质联用仪使用手册



赛默飞世尔科技（上海）有限公司

2007.5

目　　录

第一章 简介

1.1 ESI 或 APCI 哪个更适合分析样品？

1.2 如何将样品引入质谱仪

1.3 使用何种缓冲溶液

1.4 不同液相色谱流速下如何调整质谱工作参数

第二章 ESI/MS/MS 模式下调谐校准质谱仪

2.1 设置直接进样法引入样品

2.2 调谐校准设置

2.3 使用 ESI 源形成稳定的离子束

2.4 ESI/MS 模式下的检验操作

2.5 ESI/MS/MS 正离子模式下自动调谐校准

2.6 ESI/MS/MS 负离子模式下自动调谐校准

2.7 调谐校准后冲洗系统

第三章 ESI/MS/MS 模式下优化目标化合物的质谱条件

3.1 ESI 模式下过定量环引入样品

3.2 ESI/MS/MS 模式下优化目标化合物的质谱条件

3.3 ESI/MS/MS 模式下自动优化目标化合物的质谱条件

第四章 使用 Tune Master 采集 ESI/MS/MS 数据

4.1 ESI 模式下通过手动定量环引入样品

4.2 SRM 扫描模式下采集 ESI/MS/MS 数据

第五章 Xcalibur 使用

5.1 Instrument Setup 仪器方法的设置

5.2 Sequence Setup 进样序列的设置

5.3 Processing Setup 数据处理方法的设置（定量和定性）

5.4 Libray Browser 谱库检索浏览器

5.5 Xreport

第六章 仪器维护

6.1 Surveyor As 自动进样器

6.2 Surveyor LC Pump 液相泵

6.3 Surveyor PDA 二极管阵列检测器

6.4 TSQ Quantum

6.5 机械泵

附录 1 溶液配制.....A-1

A.1 调谐和校准溶液 A-2

使用预混合瓶制备聚酪氨酸–1, 3, 6 调谐校准溶液 A-2

使用化学干粉制备聚酪氨酸–1, 3, 6 调谐校准溶液..... A-3

A.2 利血平溶液 A-4

利血平储备溶液 A-4

利血平试样溶液 A-4

附录 2 仪器方法建立指南.....B-1

附录 3 微流操作.....C-1

第一章　简　　介

TSQ Quantum 是一种高性能三级四极杆质谱仪，包括一台注射泵、一个六通阀、一个大气压电离(API)源和 Xcalibur®数据系统。在一个典型的分析实验中，可以采取下面任意一种进样方法：

- 使用注射泵，不经过六通阀或者LC系统（直接进样）。注射泵可以直接连接至离子源，为样品溶液或调谐校准溶液提供一个稳定的进样状态。
- 使用注射泵和LC系统（直接注射至LC流动相），不经过六通阀。注射泵可以用于直接向LC系统出来的流动相中注射样品。
- 使用六通阀（切换到Load端）及LC系统(流动注射分析)。可用注射泵填充回路(定量环进样)，或者也可以手动填充回路(手动定量环进样)。
- 使用六通阀（切换到Waste端）和安装有分析柱的LC系统。可以对数据系统进行配置，使流动相流向废液，以避免由于带有不希望有的样品物质对质谱仪造成的不必要的沾污。
- 使用不带六通阀的LC系统。为减少LC系统的空体积，LC系统可以直接连接至离子源。

使用 LC/MS 进行分析时，样品注射至 LC 柱，然后分离成不同的组分。不同组分从 LC 柱流出，进入质谱仪进行分析。使用直接注射或者流动注射分析时，在样品进入质谱仪前，样品组分没有经过色谱分离。随后从质谱仪得到的数据被 Xcalibur 系统存储并处理。

1.1　ESI 或 APCI 哪个更适合分析用户的样品

- 电喷雾电离(ESI)
- 大气压化学电离 (APCI)

通常，极性化合物，如胺、肽和蛋白质最好使用 ESI 进行分析；非极性化合物如类固醇最好使用 APCI 进行分析。

样品离子可能携带一个或者多个电荷，样品所携带电荷的数量取决于目标分析物的结构、流动相和电离模式。

ESI/MS

ESI 模式通常产生由单电荷离子组成的质谱图，但是还要取决于被分析物的结构和溶剂类型。当产生多电荷离子时，质谱谱图结果可进行数学转换从而表示样品的分子量。

ESI 模式将溶液内的离子转换成气态。许多此前并不适合质谱分析的样品(例如，热稳定性差的化合物或者高分子量的化合物)可以通过 ESI 模式进行分析。ESI 可用于分析任意在溶液中已经预成离子的极性化合物，预形成离子可以包括加合离子。例如聚乙二醇可以在有醋酸铵存在的溶液中分析出来，因为，NH_4^+和聚合物中的氧原子可以形成加合离子的形式。由于多次放电，使用 ESI，TSQ Quantum Discovery MAX 质谱仪可以分析分子量超过 100,000 u 的化合物。ESI 特别适用极性化合物的质谱分析，包括生物聚合物(例如，蛋白质，肽，糖蛋白类和核苷)、药物及其代谢物和工业聚合物。

用户可以在正负两种离子扫描模式下使用 ESI 源。离子的扫描模式取决于溶液中预形成离子的极性：酸性分子在高 pH 值溶液中形成负离子，碱性分子在低 pH 值溶液中形成正离子。正电压的 ESI 探针用来产生正离子，负电压的 ESI 探针用来产生负离子。

LC 流动相流入质谱仪的流速可以从 1 µL/min (使用纳升喷雾离子源)到 1000 µL/min (使用标准 ESI 源)。请参考表 1-1。(在 ESI 中，缓冲溶液类型和缓冲溶液强度对灵敏度都有非常显著的影响。因此，正确地选择缓冲溶液非常重要)。

在分析大分子量的蛋白质或肽时，由于多电荷被测离子的存在，所以所得到的质谱图通常由一系列峰组成。

ESI 过程受雾滴尺寸、表面电荷、液体表面张力、溶剂挥发性和离子溶解强度的影响。具有较大表面张力、低挥发能力、较强的离子溶解强度、低表面电荷数和高电导率的大雾滴会阻碍产生良好的电喷雾。

混合有机-水溶剂体系，包括有机溶剂，如甲醇、乙腈和异丙醇比单独的水溶液更适合 ESI 源。挥发性酸碱可用于 ESI，但是不推荐使用超过 10 mM 的盐溶液。强无机酸碱会严重损害仪器。

要获得稳定的电喷雾可参考如下建议：

- 溶剂体系避免使用不挥发性盐和缓冲剂。例如，避免使用含有钠盐和钾盐，避免使用磷酸盐。若确实需要可以铵盐代替。
- 使用有机-水溶剂体系。
- 使用挥发性酸碱。
- 如有可能，优化目标被测物溶剂体系的pH值。例如，被测物含有一价或二价铵离子，那么流动相应该为酸性(pH 2到5)。pH为酸性有助于溶液中正离子的存在。

APCI/MS

就像 ESI，APCI 也是一种软电离技术，与电子电离相反。APCI 可以给出稍具挥发性的、低极性化合物的分子量信息。APCI 通常用于分析分子量不超过 1000 u 的小分子。

APCI 是一种气相电离技术。因此，被分析物和溶剂蒸气的酸碱度在 APCI 分析过程中起着至关重要的作用。

在 APCI 模式下，LC 系统流入质谱仪的流动相的流速范围为 0.2 到 2 mL/min。请参考的表 1-2。用户可以在正负两种模式下使用 APCI 源。在正离子模式下，带有碱基的分子会产生强的离子流。带有酸性基团的分子，如羧酸和酸式醇，在负离子模式下可产生强的离子流。虽然通常产生的负离子数量比正离子的数量要少一些，但是，负离子模式是更特殊的。这是因为负离子模式下产生的化学噪音通常低于正离子模式。因此，在负离子模式下的信噪比要好于正离子模式下的。

1.2 如何将样品引入质谱仪

注射泵经常用于在 ESI 模式下自动调谐和调谐校准时引入调谐校准溶液。用户也可以在 ESI 模式下使用该方法以稳定的流速向系统中引入纯的被测物溶液。

用户可以使用 T 形连接管将样品从注射泵中引入 LC 流动相（无论是否安装有色谱柱），然后样品随流动相进入质谱仪。这种方法用于需要进样流速稳定和流动相流速很高的情况下。特别适用于在 ESI 或 APCI 模式下校准目标分析物。用户可以在稳定的流速下将纯被测物溶液引入 ESI 或 APCI 源。

用户可以使用注射器将样品引入质谱六通转化阀上的定量环中。然后使用转换阀将样品引入流动相中，一起流入质谱仪。这种技术在 ESI 和 APCI 模式下将纯分析物集中快速引入质谱仪中。以注射器将样品引入转化阀上的定量环中，这种进样方法在纯品数量非常少量的情况下是非常有用的。

用户也可使用自动进样器向 LC 流动相中引入样品。该方法也用于在 ESI 或 APCI 模式下将纯的被测物溶液快速集中地引入质谱仪中。

最后，用户可以使用液相自动进样器将混合样品引入到液相色谱柱中。在 ESI 或者 APCI 模式下，这种技术可以将被分析混合物在进入质谱仪前得以分离，被分离化合物按顺序进入质谱仪。

1.3 使用何种缓冲溶液

推荐使用挥发性缓冲溶液，这样可能会得到最好分析结果。许多挥发性缓冲溶液都可代替

不挥发性缓冲溶液。

挥发性缓冲溶液包括以下几种：

- 醋酸
- 醋酸铵
- 甲酸铵
- 氢氧化铵
- 三乙胺(TEA)
- 三氟乙酸(TFA)

有些 LC 应用中使用不挥发性缓冲溶液，如磷酸盐或硼酸盐缓冲溶液。然而，使用不挥发性缓冲溶液可能造成离子源结盐，进而导致灵敏度降低。

对 LC 应用而言，使用不挥发性缓冲溶液时，要想得到最佳结果，请遵从如下原则：

- 安装离子吹扫锥可选配件。
- 将缓冲溶液的浓度降至最低。

1.4 不同液相色谱条流速下如何设置质谱工作参数

ESI探头可以在流动相流速为1 μL/min到1.0 mL/min的情况下产生离子。这样的流速范围可以采用不同的分离技术：毛细管柱LC、微分离柱LC和分析柱LC。我们还提供一种可选配件——纳升喷雾离子源，适用于ESI模式下的次微分析。

APCI 探头可以在流动相流速低至 50 μL/min 的情况下产生离子，但是通常流速范围为 0.2 到 2.0 mL/min。在这样的流速范围内可以采用如下分离技术：微分离柱 LC、分析 LC 和半制备 LC。

当用户改变了进入质谱仪的流动相流速时，需要调节如下质谱仪参数：

- 对于ESI，需要调节离子传输管温度和鞘气、辅助气流速。
- 对于APCI，需要调节离子传输管和雾化器温度，还要调节鞘气和辅助气流速。

通常，流入质谱仪的液体的速度越高，离子传输管(雾化器)的温度就越高，并且气体流速也就越高。

表 1-1 给出了在 ESI 模式下，不同 LC 流动相流速情况下的离子传输管温度和气体流速设定的指导原则。表 1-2 给出了在 APCI 模式下，设定离子传输导管和雾化器的温度及气体流速的指导原则。

表 1-1　LC/ESI/MS 设置操作参数指导原则 (喷雾电压 3 到 4.5 kV)

LC 流动相流速 (μL/min)	建议色谱柱内径 (mm)	毛细管温度 (°C)	鞘气 (psi)	辅助气 (arb)
≤10	毛细管	200 到 250	5 到 30	关闭
50 到 100	1.0	250 到 300	10 到 30	5 到 10
200 到 400	2.1 到 4.6	300 到 350	20 到 40	10 到 20
≥400	4.6	350	30 到 60	10 到 40

表 1-2　LC/APCI/MS 操作参数设定指导原则 (电晕放电 4 μA)

LC 流动相流速 (mL/min)	毛细管温度 (°C)	雾化器温度 (°C)	鞘气(psi)	辅助气 (arb)
0.2 到 2.0	200 到 350	400 到 600	30 到 40	0 到 5

第二章 ESI/MS/MS 模式下调谐和校准质谱仪

本章讲述了如何调谐和校准质谱仪。这些步骤是使用调谐校准溶液进行的，溶液在低流速模式下直接引入到质谱仪中。每一到三个月需要对质谱仪进行调谐校准，以使检测器在整个质量范围内都能达到最佳检测效果。

按照本章讲述的如下步骤调谐校准质谱仪：

- 使用注射泵将低浓度的聚酪氨酸调谐校准溶液直接注射到ESI源。
- 检查调谐校准溶液喷入质谱仪的雾化效率和喷雾稳定性。可以观察到聚酪氨酸单体、三聚物和六聚物一价正离子的质荷比分别为：m/z ＝182，m/z ＝508，m/z ＝997。
- 开始执行自动调谐校准步骤。

2.1 设置直接进样法进样

ESI 调谐校准所用的进样设备是注射泵。注射泵可以长时间将调谐校准溶液直接注射到 ESI 源。

注射泵位于 TSQ Quantum Discovery MAX 质谱仪的前面板上。图 2-1 显示的是从注射泵向 ESI/MS 引入样品的管路连接图。

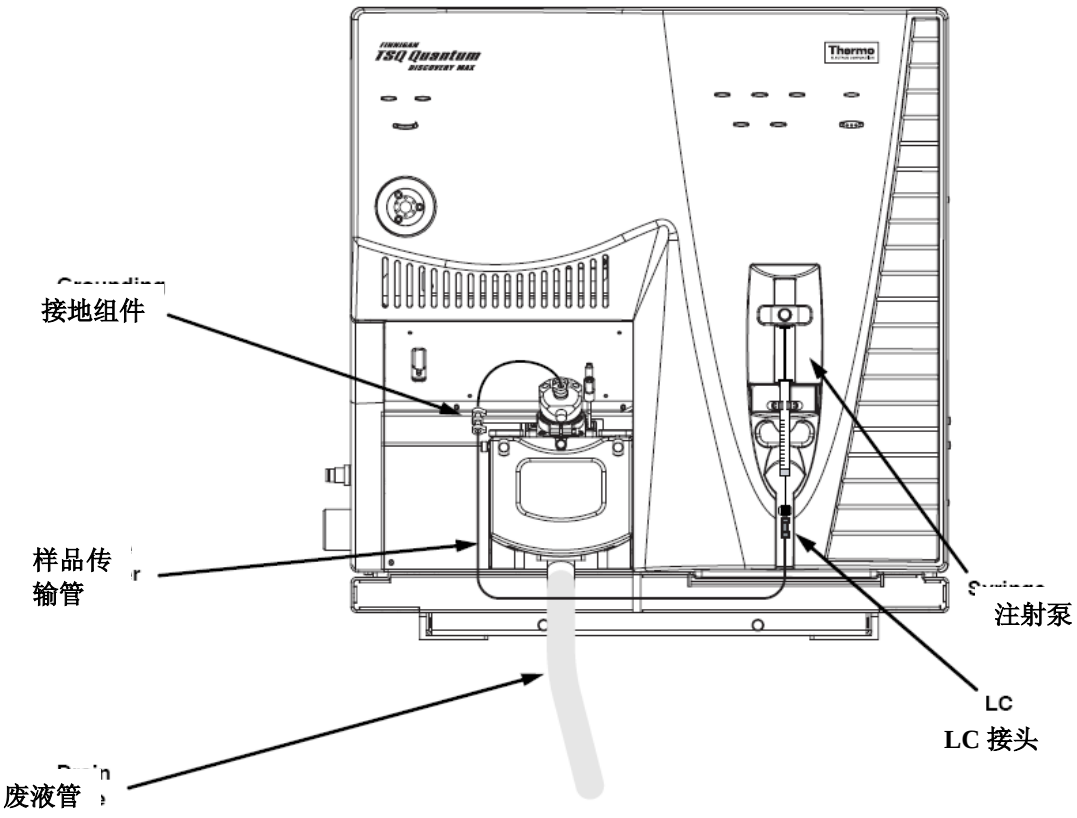


图 2-1. 用注射泵直接引入样品的 ESI/MS 管路连接图

开始此步骤之前，LC/MS 必须为待机状态。

按下列步骤设置注射泵，将调谐校准溶液引入 ESI 源：

1. 在注射器接头组件上的LC接头和离子源上的接地接头之间安装样品传输管。(图2-1)

> ***注意：****为将交叉污染的可能降低到最小，调谐校准溶液、样品溶液和优化化合物溶液，请使用不同的注射器和不同的样品传输管。*为将交叉污染的可能降低到最小，在重新将注射器插入注射器接头组件中前，一定要用无尘纸擦拭注射器的端部。

2. 装上一个盛有420 µL聚酪氨酸-1，3，6调谐校准溶液的干净的500-µL Unimetrics®注射器。(参考**附录A 溶液配制，**了解调谐校准溶液准备过程。)

3. 将注射器针头插入注射器接头组件上的Teflon®管中，见图2-2。

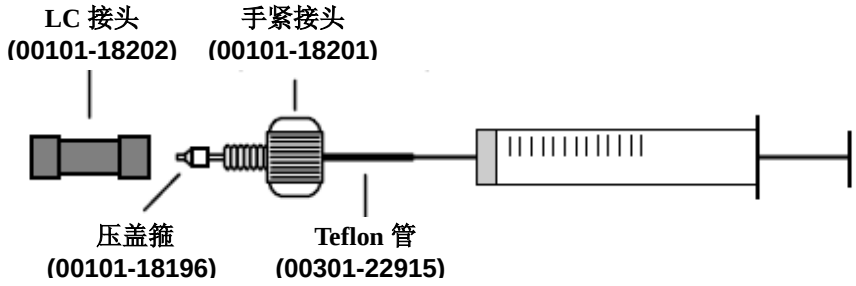


图 2-2.注射器和注射器接头组件

4. 将注射器装入注射泵上的注射器夹套中。
5. 按下注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时，将泵柄下压，直到它刚好接触到注射泵活塞。

2.2 调谐校准设置

为确保得到最佳的自动调谐校准效果，需要正确设置仪器。

> **危险：**在仪器每天开始正常运行之前，确保 API 源有足够的氮气供应。当质谱仪处于开启状态时，如果离子源有氧气的存在，非常不安全。

按如下步骤设置质谱仪，进行调谐校准：

1. 在Tune Master中点击Control/Scan模式工具栏上的On/Standby按钮，打开质谱仪。当质谱仪处于On状态时：
   - 质谱仪开始扫描
   - 开始对ESI探头供应氮
   - ESI探头已加高压
   - Tune Master显示实时谱图
2. 在使用ESI源进行样品分析之前，一定要将Tune Master置于ESI源模式。当前离子源的模式显示在标题栏上，如图2-3所示。选择**Setup > Change Ion Source > ESI，**将Tune Master置于ESI源模式下。
3. 在Control / Scan 模式工具栏上点击Compound Optimization Workspace按钮，显示该化合物优化工作区域，如图2-3。

离子源模式

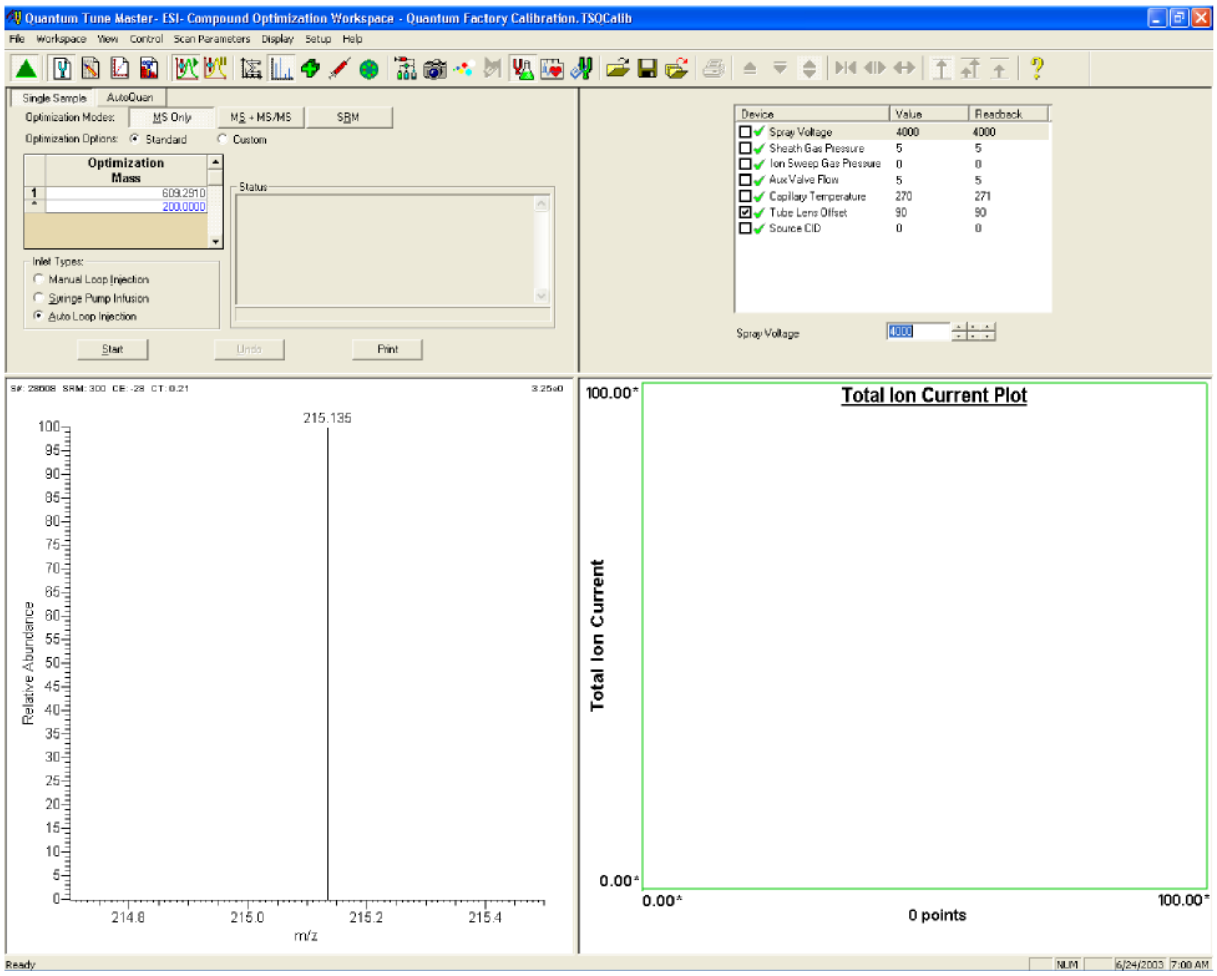


图 2-3. 化合物优化工作区域，图中显示当前质谱仪处于 ESI 模式

4. 为 Compound Dependent Device 设置数值：

a. 更改鞘气压力：

i. 在工作区域右上角Optimize Compound Dependent Devices视图的Device Display框中点击Sheath Gas Pressure。该操作将设备微调框标题改为*Sheath Gas Pressure*并允许用户更改鞘气压力，见图2-4。

ii. 将鞘气压力设置为5 psi。

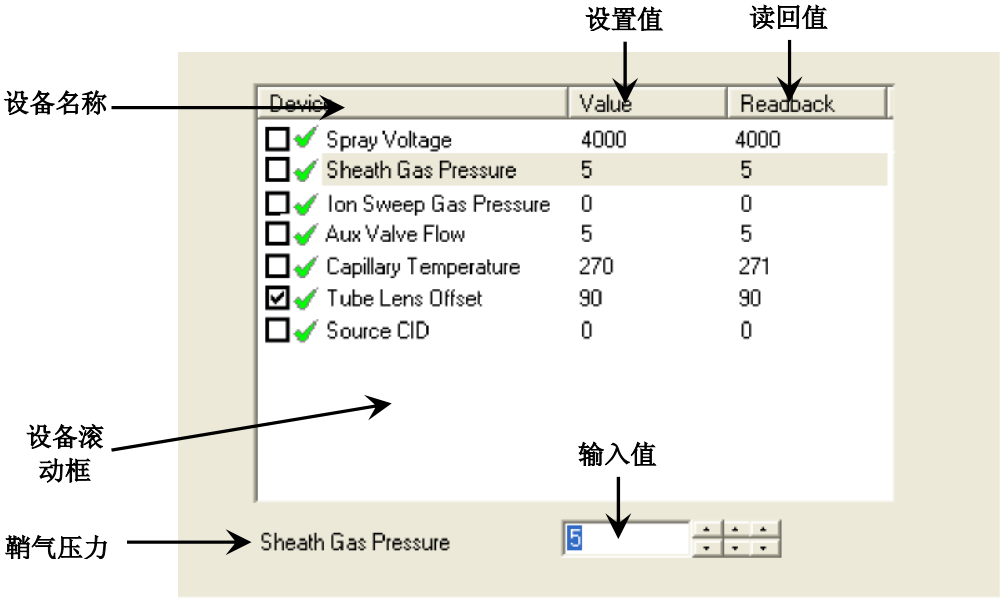


图 2-4. 优化化合物敏感装置视图

b. 更改辅助气流速：

i. 在装置显示框中点击Aux Valve Flow。

ii. 将辅助气流速设置为5arb。(辅助气流速将在0到5的范围内进行调节，以达到最佳离子束密度和稳定性)

c. 更改离子传输毛细管温度：

i. 在装置显示框中点击Capillary Temperature。

ii. 将毛细管温度设置为270 ℃。(需要等待几分钟，毛细管温度才能稳定在所设置的温度。)

d. 更改离子源裂解（CID）碰撞能量：

i. 在设备显示框中点击Source CID。

ii. 将碰撞能量设置为0 V。

5. 配置注射泵以注入聚酪氨酸-1，3，6 调谐校准溶液，开启注射泵：

a. 选择**Setup > Syringe Pump & Sample Loop**在工作区域右上角显示注射泵和进样定量环视图，见图2-5。

b. 在Syringe Flow Control单选框中选择On选项，激活流速微调框。

c. 将流速设置为5.00 µL/min。(流速可以在1.00到10.00 µL/min的范围内进行调节，以达到最佳的离子束密度和稳定性。)

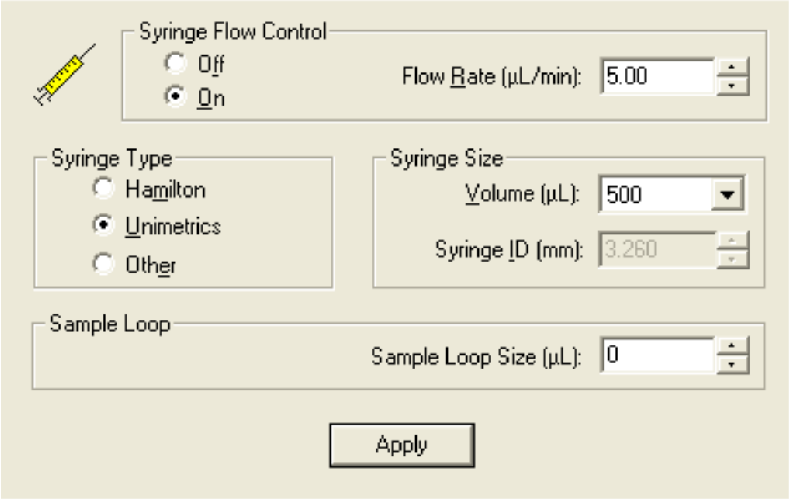


图 2-5. 注射泵和定量环视图

- 如果用户使用的是Unimetrics或Hamilton注射器，转到步骤5.d。
- 如果使用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，转到步骤5.f。

d. 在注射器类型框中选择Unimetrics(或Hamilton)选项，指定Unimetrics (或Hamilton)注射器。

e. 在注射器大小群组框中，从体积下拉列表框中选择*500* (或者用户所用注射器的尺寸)，指定注射器体系为500 µL。

当指定好注射器类型和注射体积后，Tune Master 自动设置合适的注射器内径数值。转到步骤 5.g。

f. 如果用户使用的不是 Unimetrics 或 Hamilton 注射器，需要按以下步骤手动设置注射器内径：

i. 在注射器类型群组框中选择Other选项，指定用户所用的不是Unimetrics或Hamilton注射器，并激活注射器内径微调框。

ii. 在注射器大小群组框中，从下拉列表框中选择用户所用注射器的体积。

iii. 在注射器内径微调框中输入所用注射器的内径尺寸数值。

g. 点击 **Apply** 按钮应用上述设置，然后开启注射泵。现在聚酪氨酸-1，3，6 调谐校准溶液将流入离子源。

2.3 ESI 得到稳定的喷雾

开始调谐校准之前，需要得到稳定的喷雾束。喷雾束密度和稳定性很大程度上依赖离子源的性能。用户通过调节鞘气压力优化喷雾束密度和稳定性。

按下述步骤建立 ESI 源稳定的喷雾束：

1. 设置扫描参数，为观察喷雾束密度和稳定性做准备：

a. 在Tune Master窗口中，在Control / Scan Mode工具栏上点击Instrument Method Development Workspace按钮显示该工作区域，见图2-6。

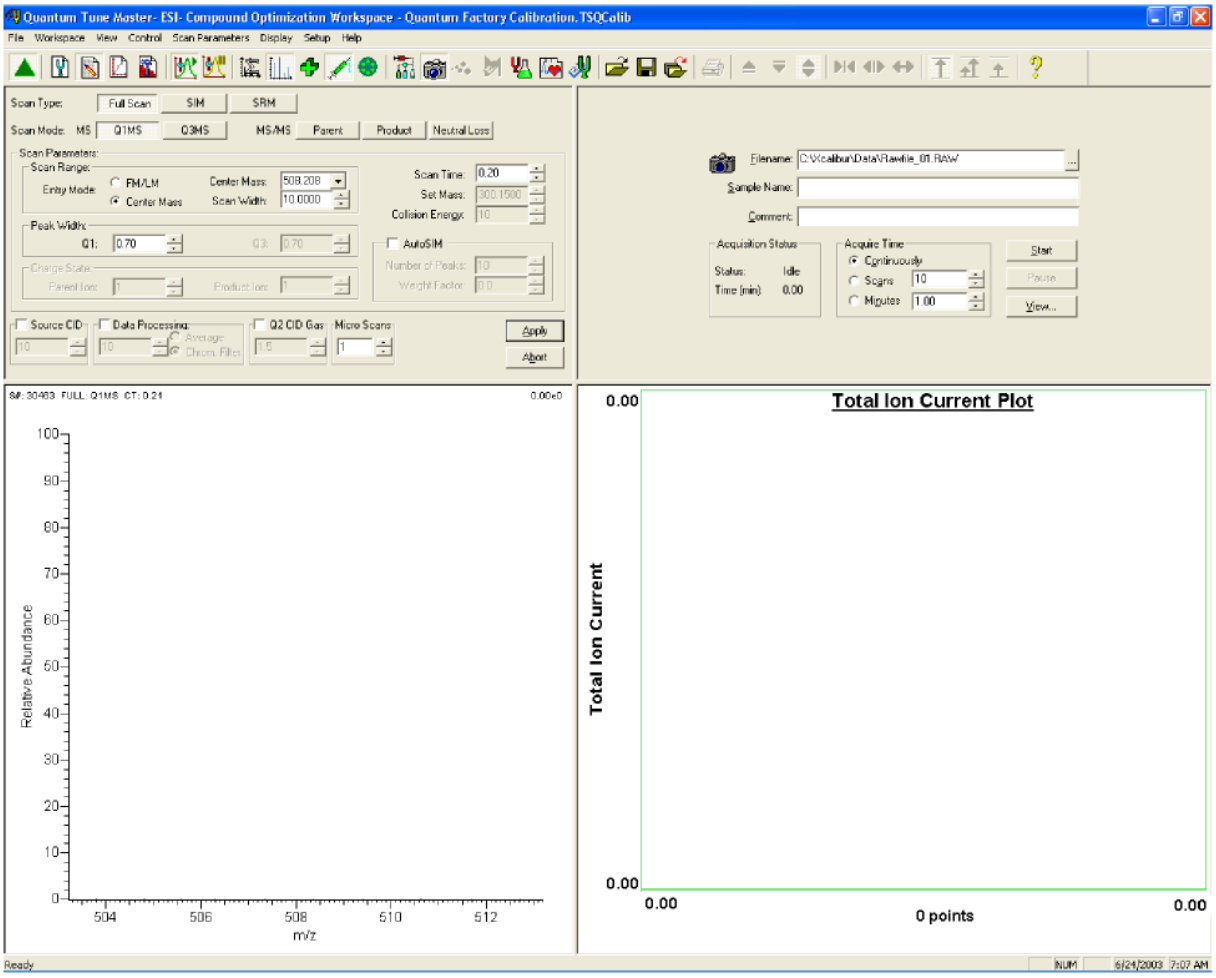


图 2-6. Instrument Method Development Workspace

b. 在工作区域右上角的定义扫描视图中选择Scan Type：点击Full Scan按钮显示Scan Parameters，见图2-7。

c. 选择Scan Mode： Q1MS扫描模式。

d. 在Scan Parameters的Scan Range框中选择Entry Mode：Center Mass选项按钮显示Center Mass和Scan Width。

e. 在Center Mass列表框中输入**508.208**，设置扫描范围的中心点为508.208 u。

f. 在Scan Width微调框中输入**10.000**，设置扫描宽度为10.000 u。

g. 在Scan Time微调框中输入**0.20**，设置扫描时间为0.20 s。

h. 在Peak Width群组框的Q1微调框中输入**0.70**，设置峰宽为0.70 u。

i. 确认没有选中AutoSIM(自动选择离子监测)，Source CID，Data Processing和Q2 CID Gas 复选框，确保这些功能为Off。

j. 确认Micro Scans设置为1。

k. 点击**Apply**按钮。

扫描类型

↓

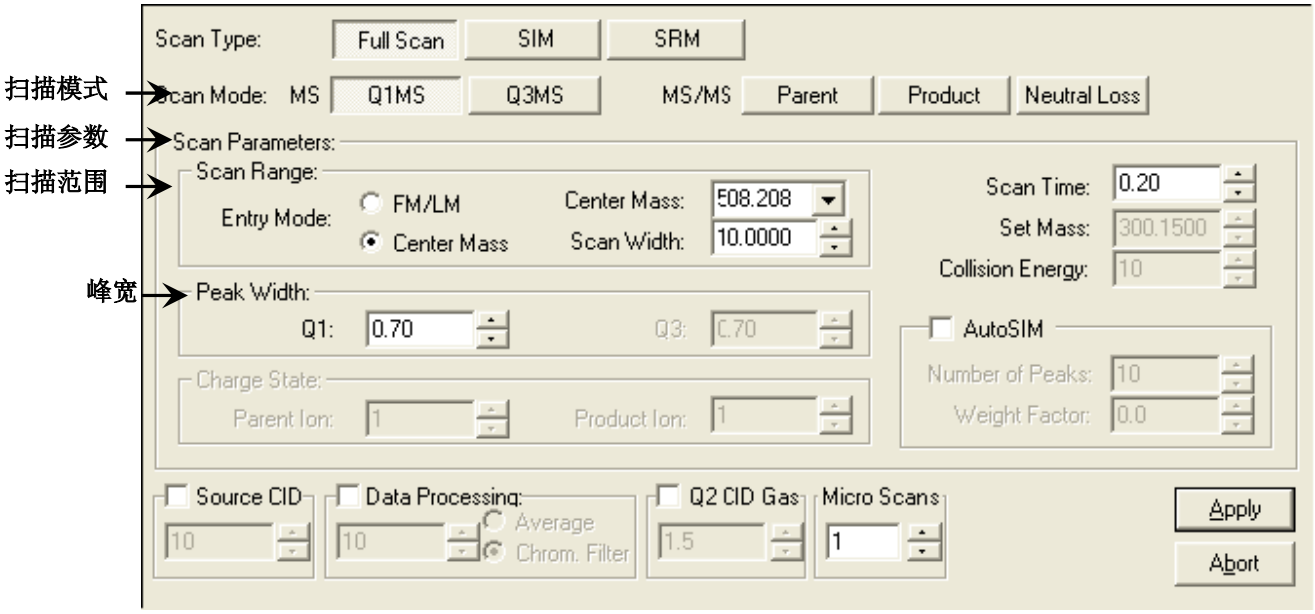


图 2-7. 定义扫描视图，图中显示的是要得到稳定的离子流的典型设置

2. 在Control / Scan Mode工具栏上点击Display TIC按钮，开始在工作区域右下角的图形视图中开始离子流跟踪。

3. 确保Profile/Centroid按钮在轮廓图状态，以显示轮廓类型数据。如果Profile/Centroid按钮处于棒状图状态，点击Profile/Centroid按钮将数据类型转换为轮廓图。

4. 用户需要将质谱仪置于正离子极性模式下完成此步骤。通过观察 Polarity 按钮，确定质谱仪的离子极性模式。确保 Polarity 钮处于正离子状态。

   - 如果质谱仪已经处于正离子极性模式，请转到步骤5。
   - 如果需要更改质谱仪的离子极性模式，请转到步骤4。

5. 将质谱仪设置为正离子极性模式：

   a. 关闭喷雾电压：

      i. 选择**Display > Compound Dependent Devices**在工作区域右上角显示优化化合物敏感装置视图，见图2-8。

      ii. 设置喷雾电压为0 V。

   b. 在Control / Scan Mode工具栏中点击Polarity按钮，将质谱仪切换至正离子极性模式。

   c. 再次打开喷雾电压：在Optimize Compound Dependent Devices的窗口中，输入**4000**设置喷雾电压为4000 V。

   d. 确保其他参数如图2-8所示。

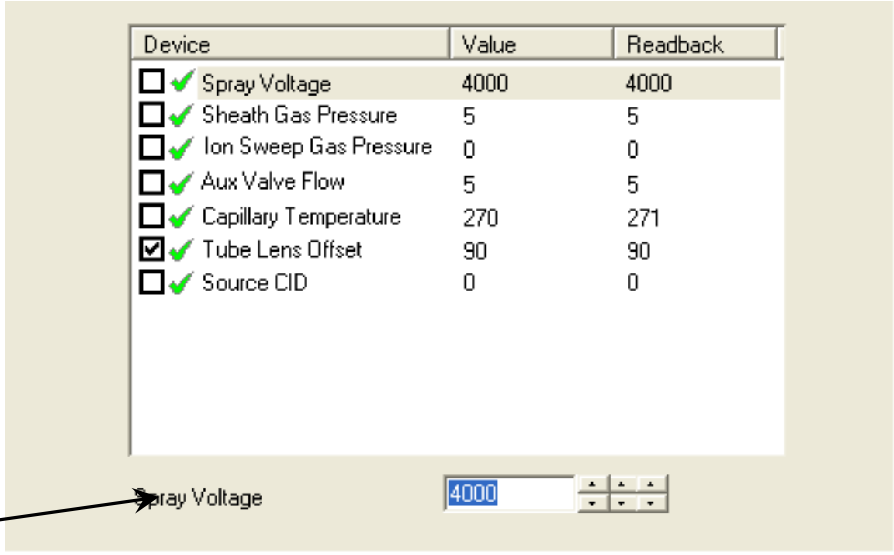


图 2-8. 优化化合物参数

5. 确定是否得到稳定的喷雾束：

   a. 在工作区域左下角的Spectrum视图中，观察*m/z*为 508.208的质谱图。

   b. 在Spectrum视图中任意位置点击一下，激活File / Display工具栏上的Display按钮。

点击 Normalize 工具栏按钮将其转换为 Creep工具栏按钮。该操作将调用 Y 轴归一化模式，观察 *m/z* 508.208 相应的离子强度，见图 2-9。

> **注意：**鞘气压力可以在 1 到 15 psi 的范围内进行调节。通过调节鞘气压力建立稳定的离子束。过低的鞘气压力可能导致信号稳定性的损失，但是，压力过高又会导致峰值强度的损失。

   c. 观察m/z 508.208的峰高。如果峰高稳定，则已产生稳定的喷雾，不需要调节鞘气压力。每次扫描峰高偏差不应超过30%。如果峰不稳定，则需要调节鞘气压力以产生稳定的喷雾。离子流的波动也可以在工作区域右下角的Graph视图中观察到。

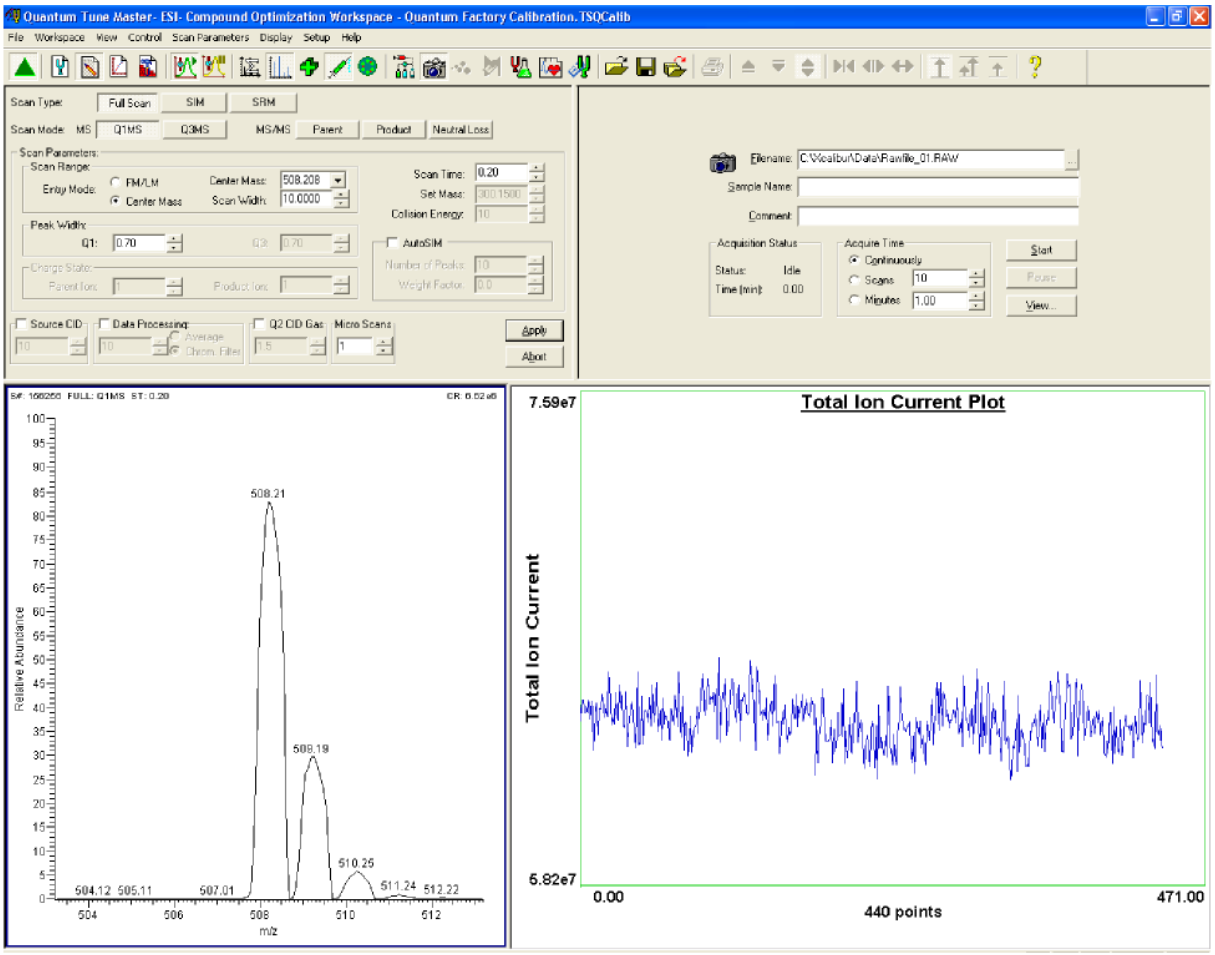


图 2-9. 仪器方法建立工作区域，判断喷雾稳定

2.4 ESI/MS 模式下的校正操作

现在用户可以确认质谱仪操作的准确性。直接将聚酪氨酸调谐校准溶液引入 ESI 源，并检查溶液的质谱图。

按下列步骤检查调谐校准溶液的质谱图：

1. 在工作区域左上角的 Define Scan 视图中，为检验 Q1 质谱仪的正确操作设置扫描参数：

   a. Scan Parameters的Scan Range框中，选择Entry Mode：FM/LM选项按钮。显示First Mass和Last Mass，见图2-10。

   b. 在First Mass微调框中输入**150.000**，将扫描范围的下限设置为150.000 u。

   c. 在Last Mass微调框中输入**1050.000**，将扫描范围的上限设置为1050.000 u。

   d. Scan Time中输入**1.20**，将扫描时间设置为1.20 s。

   e. 选择Data Processing和Average选项按钮。

   f. Data Processing中输入**10**。

   g. 确认没有选中AutoSIM，Source CID和Q2 CID Gas复选框，确保这些选项关闭。

   h. Micro Scans设置为1。

   i. 点击**Apply**按钮应用这些扫描参数。

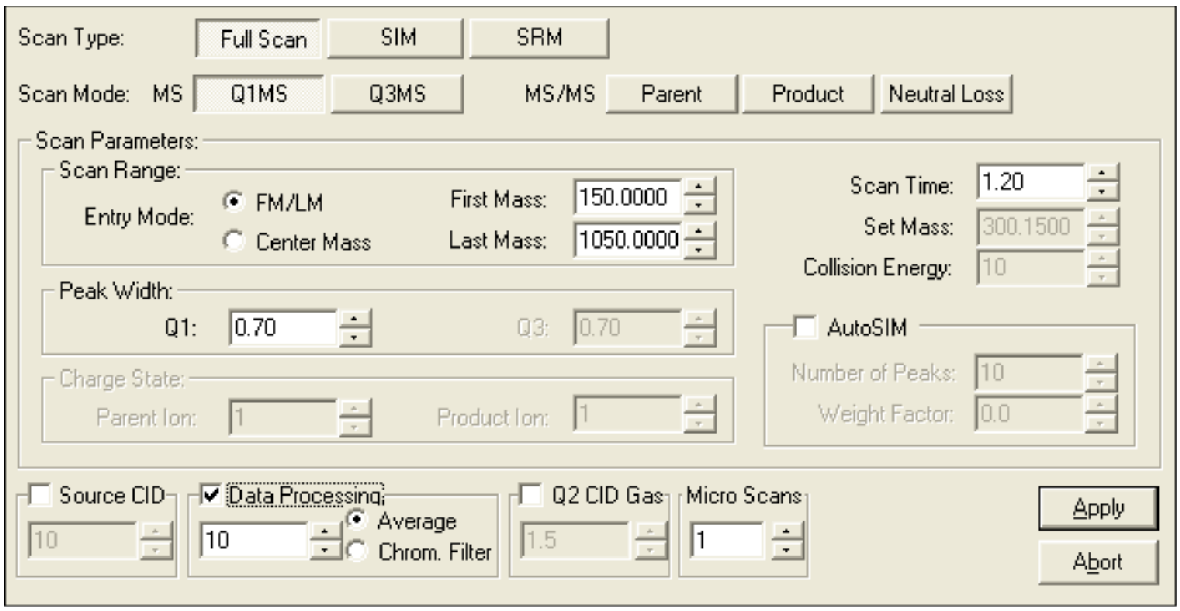


图 2-10. 定义扫描视图，图中显示的是 Q1MS 扫描模式设置

2. 在 Q1 全扫描模式下查看调谐校准溶液的质谱峰：

   a. 在工作区域左下角的Spectrum视图中任意位置单击鼠标，激活File / Display工具栏上的Display  。

b. 点击Creep工具栏按钮，将其转换到Normalize，该操作将对谱图进行归一化处理。

c. 在Spectrum视图中，观察如下调谐校准溶液单电荷离子的质谱图：

- 聚酪氨酸单体：m/z ＝182.082
- 聚酪氨酸三聚物：m/z ＝508.208
- 聚酪氨酸六聚物：m/z ＝997.398

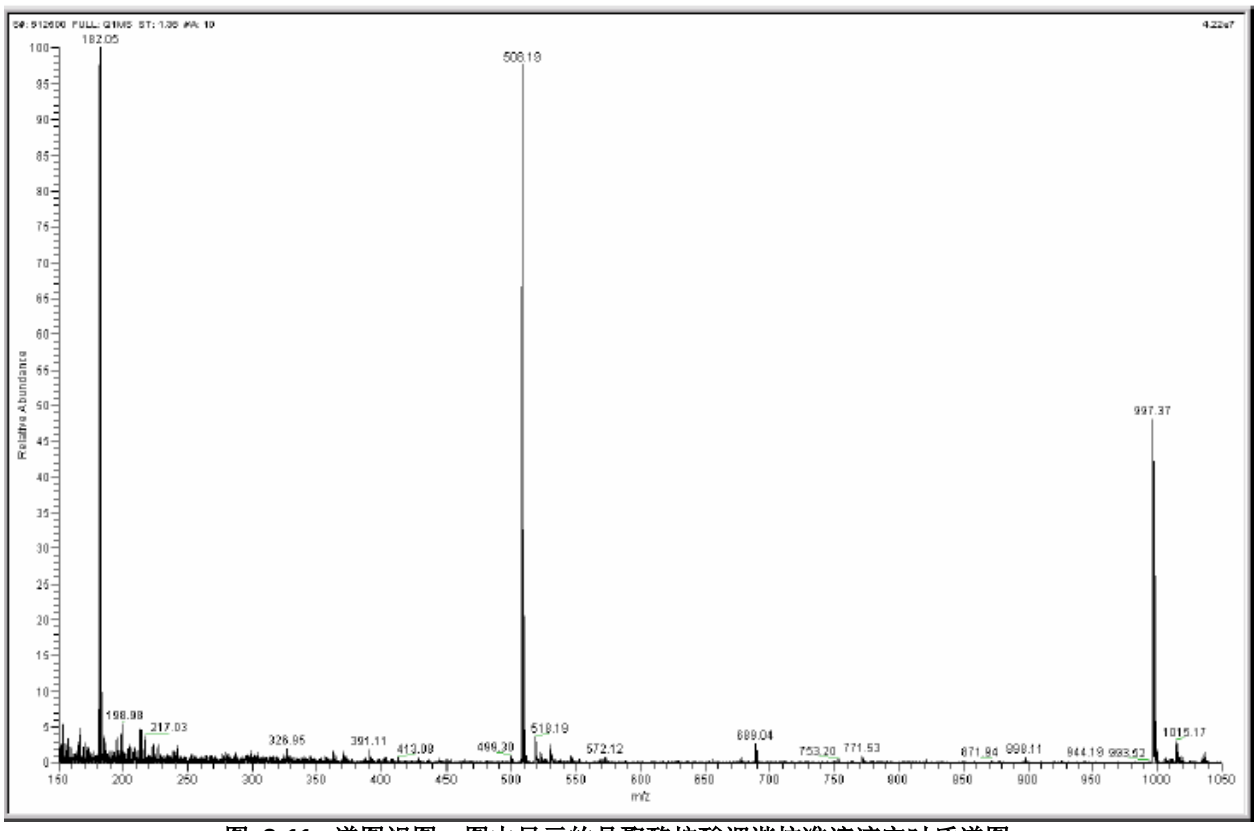


图 2-11. 谱图视图，图中显示的是聚酪按酸调谐校准溶液实时质谱图

3. 确认以下问题是肯定的：：

- 三个特征离子峰是否都为主峰。
- 每种酪氨酸聚合物的峰高差值是否都在一个数量级之内。
- 聚酪氨酸峰强度是否高于10^7。
- 信号是否稳定，每次扫描的误差小于15%。
- 质谱峰形是否对称，是否能完全分辨，是否完整。

注意： 为得到良好的聚酪氨酸调谐校准信号，可以调节调谐气体参数。鞘气压力可以在 1 到 15 psi 范围内进行调节，辅助气流速可以在 0 到 5arb 的范围内调节，调谐校准溶液流速可以在 1 到 15 µL/min 的范围内调节。

如果上述问题的答案任一个为否”，则可试着用以下方法排除故障：

- 调节鞘气压力或辅助气流速设置，或者调节调谐校准溶液流速。
- 确保熔融石英毛细管没有超出ESI探针端部。
- 确保离子传输毛细管入口是清洁的，没有被覆盖。
- 确保进入探头的溶液没有气泡，管线和接头部分没有泄漏。

4. 设置在 Q3 模式下检验质谱仪运行的扫描参数：

a. 在Define Scan视图中选择Q3MS选项按钮，激活Q3扫描，见图2-12。

b. 检查扫描参数与Q1模式下的设置是否一致。

c. 点击**Apply**应用扫描设置。

4. 在 Spectrum 视图中再次观察归一化离子流信号值。如果符合上面第 3 步的要求，则质谱仪可以在 Q3MS 模式下正确运行。

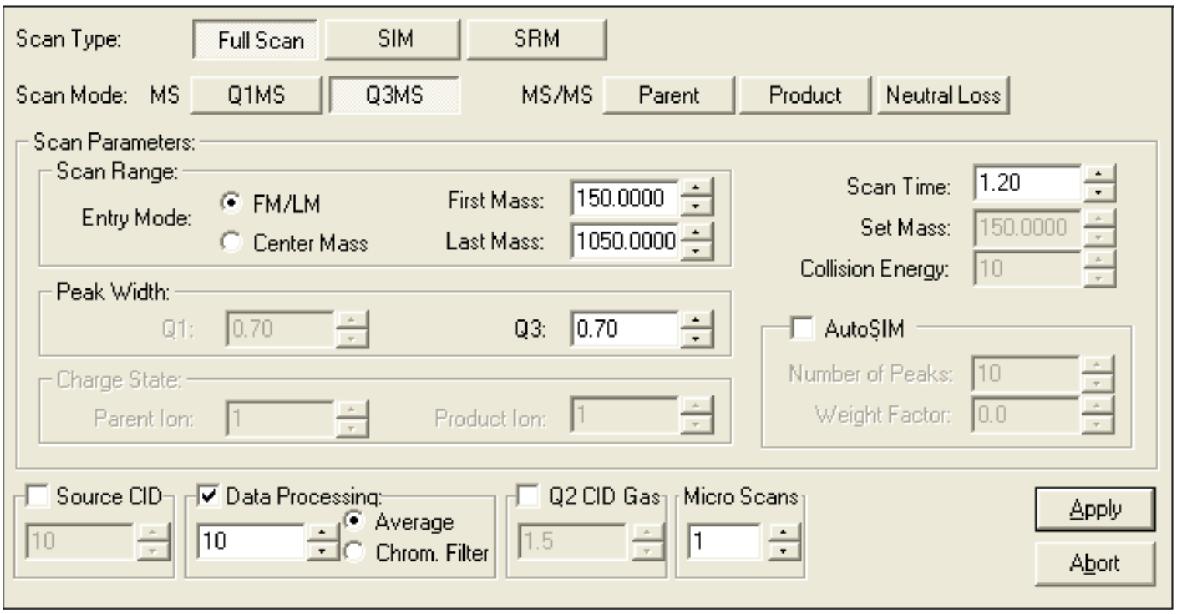


图 2-12. 定义扫描视图，图中显示的是在 Q3MS 扫描模式设置

2.5 ESI/MS/MS 正离子模式下自动调谐校准

应定期性对仪器进行调谐校准(每一到三个月)，以保证质谱仪处于最佳工作状态。

请按照以下步骤在 ESI/MS/MS 正离子模式下自动调谐校准质谱仪：

1. 在 Tune Master 窗口中点击 System Tune and Calibration Workspace 按钮，显示该工作区域，见图 2-13。

2. 在工作区域左上角的 System Tune and Calibration 视图中的 Compound 列表中选择 *Polytyrosine–1,3,6*，将自动选择使用聚酪氨酸三种正离子进行调谐校准(图 2-13)。

3. 选择 **Auto Tune-Calibration**。

4. 选择 **Both**，同时校正第一级和第三级四极杆。

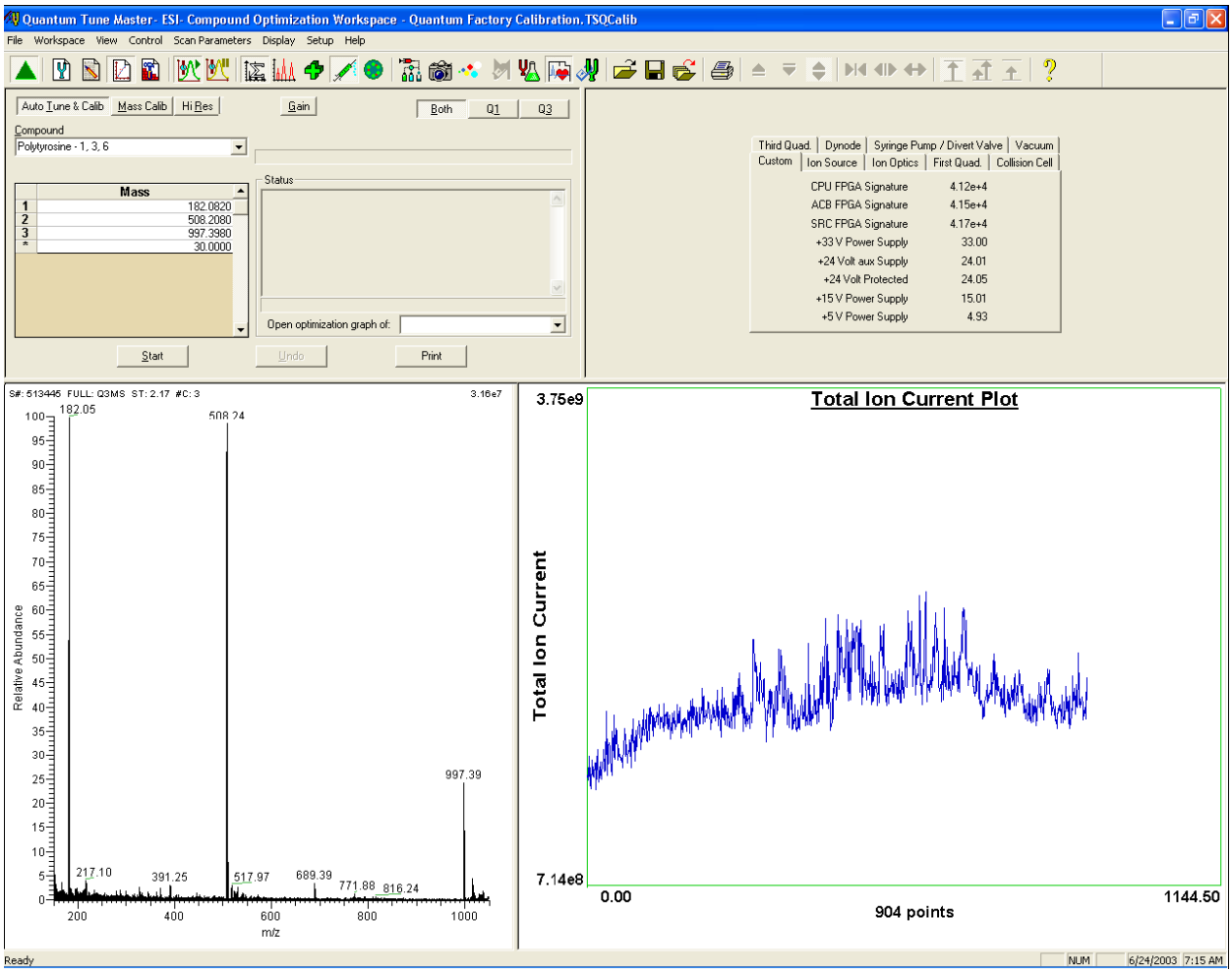


图 2-13. 系统调谐校准视图，图中显示的是聚酪氨酸信号

5. 点击 **Start** 开始执行自动调谐校准步骤。

系统调谐校准的实时信息会显示在 Status 框内，因此，用户可以监测每个步骤进行情况。

- 若自动调谐校准过程中出现错误，转向步骤 6。

如果自动调谐校准过程完成，并没有出现错误，转向步骤 7。

6. 如果在自动调谐校准过程中出现错误，完成以下步骤再次执行调谐校准过程：

- 点击**Undo**恢复预先的调谐校准设置。
- 点击**Accept**重新为质谱仪加载预先的调谐校准设置。
- 处理引起调谐校准进程失败的问题。
- 转到步骤5重新开始调谐校准进程。

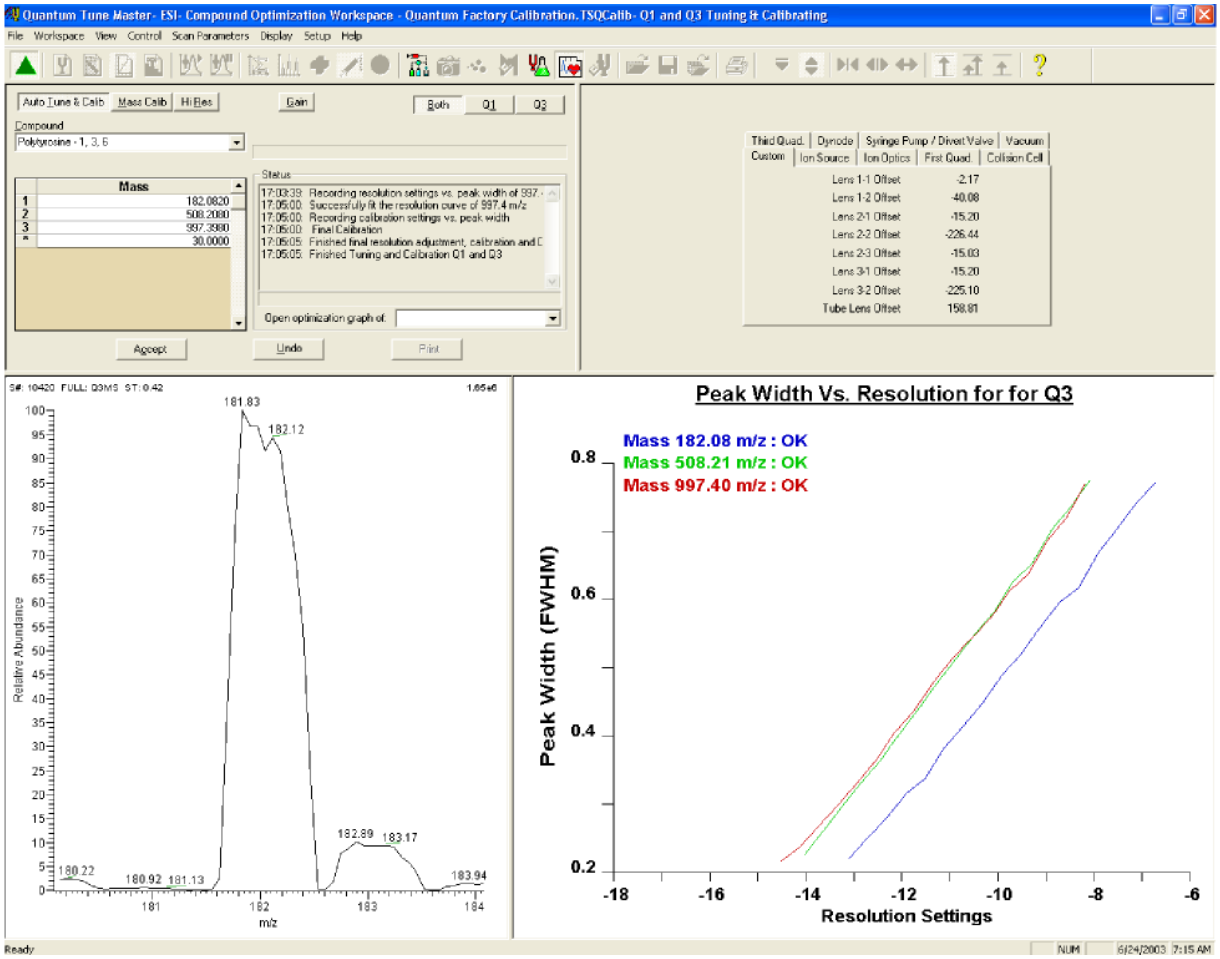


图 2-14. 自动调谐校准进行中的系统调谐校准工作区域

7. 点击 **Accept** 按钮，接受调谐校准过程的结果。

   接受调谐校准进行结果之后，会出现一个信息框，是否希望将正离子调谐校准的设置拷贝至负离子模式。

- 如果已经在负离子模式下成功地对仪器进行过调谐校准，则点击**No**。
- 如果尚未在负离子模式下调谐校准过仪器，则点击**Yes**。

8. 执行如下操作保存校准文件：

   a. 点击**Save Calib. As**，见图2-15。

   b. File Name文本框中输入要保存的校准文件名称。

   c. 点击**Save**，保存校准文件。

如果在步骤 8 中输入的文件名已经存在，会出现一个信息框提示是否替换现有文件，见图 2-16。

- 替换已有文件，点击**Yes;**
- 不替换已有文件，点击**No**。File Name文本框中更改文件名，然后点击**Save**。

此时将显示 Save As 对话框，见图 2-17。

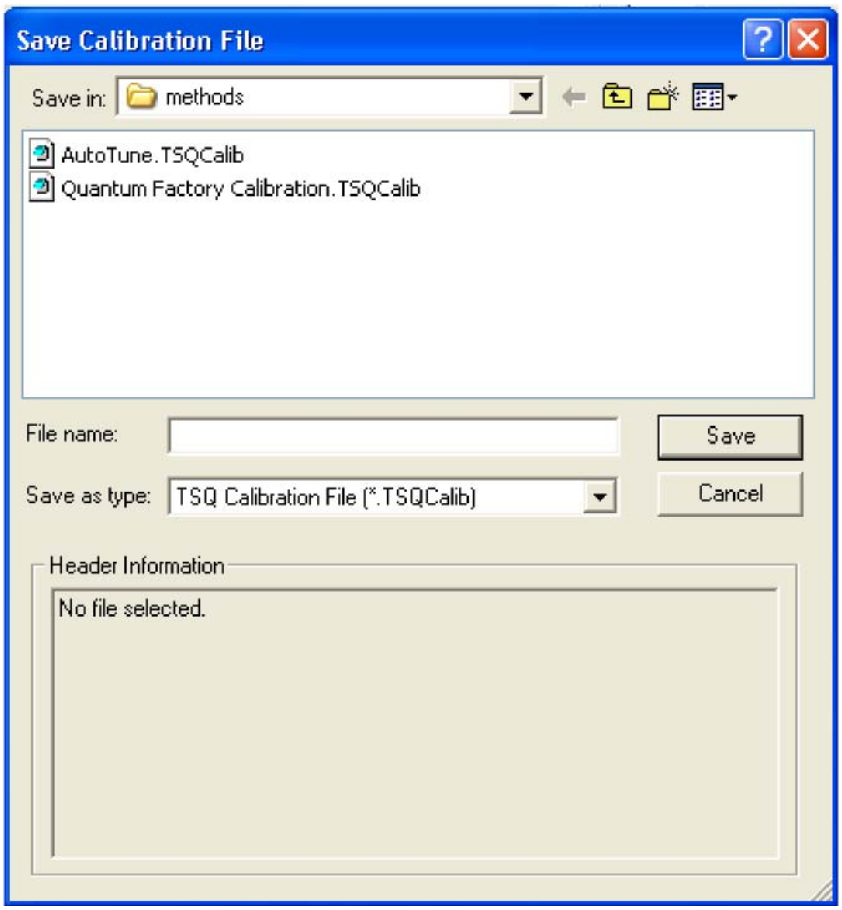


图 2-15. 保存校准文件对话框

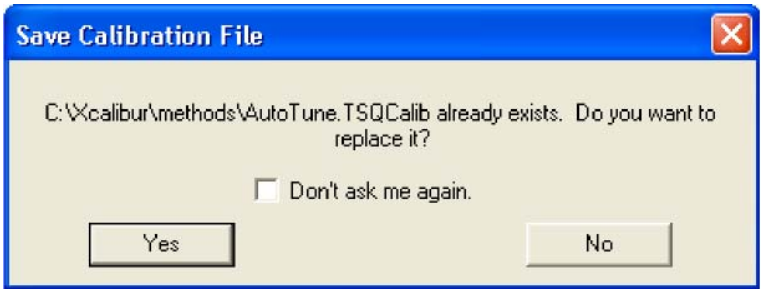


图 2-16. 确认替换校准文件信息框

注意: 用户可以在 Tune Master 中设置密码保护一些应受限制的工作区域。可以设置密码保护的工作区域包括: System Tune and Calibration(系统调谐校准)，Full Instrument Control(完全仪器控制)和 Diagnostics(诊断)。

系统提供了三种保护级别：无保护，自动保护和定制密码保护。无保护意味着所有操作者都可以使用全部工作区域。自动保护表示 Tune Master 使用默认的密码 *lctsq* 来保护一些应受限制的工作区域。定制密码保护表示，主要操作者(或实验室管理者)可以选择密码保护应受限制的工作区域。

如果用户的 TSQ Quantum Discovery MAX 系统已经被密码保护，则在访问受限制工作区域(包括 System Tune and Calibration(系统调谐校准)工作区域)前需要得到密码。如果丢失密码，则需要重新安装 TSQ Quantum Discovery MAX 软件，重新将密码设置为默认密码*(lctsq)*。

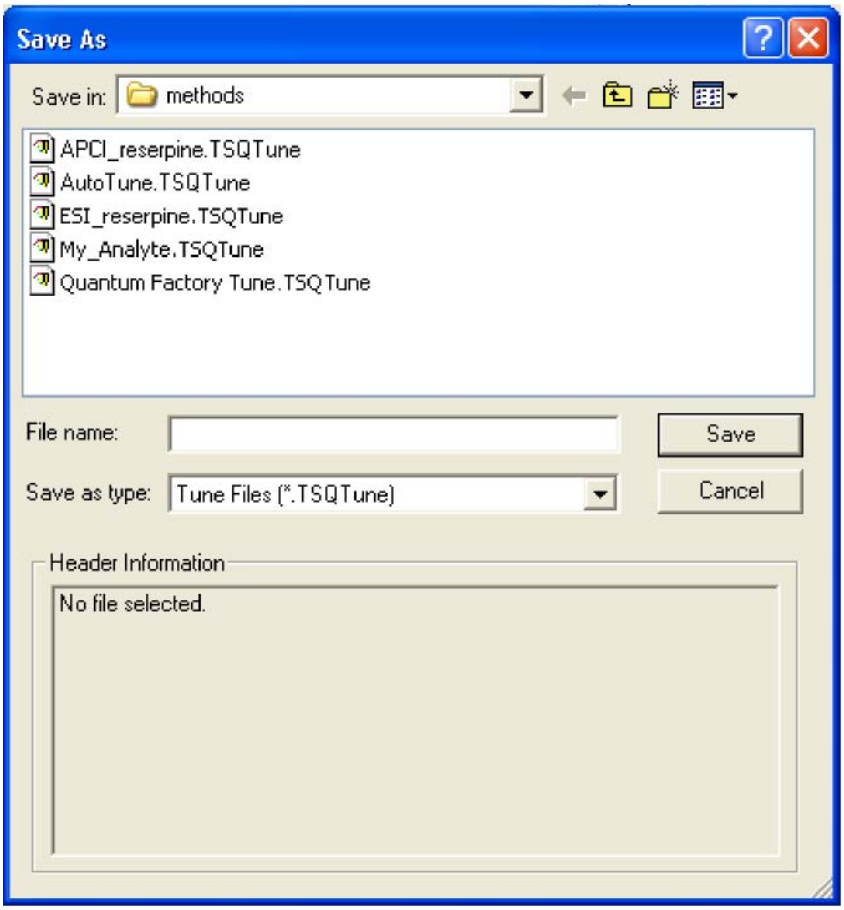


图 2-17. 调谐方法另存为对话框

9. 保存 Tune Method（调谐方法）文件：

a. 在File Name文本框中输入想要保存的调谐方法的文件名。

b. 点击**Save**保存调谐方法文件。

如果在步骤 9.a 中输入的文件名已经存在，会弹出一个信息框提示是否替换现有文件。

- 覆盖已有文件，点击**Yes**；
- 不覆盖现有文件，点击**No**，在File Name文本框中输入新的文件名，并点击**Save**。

2.6 在 ESI/MS/MS 负离子模式下自动调谐校准

简要描述 ESI/MS/MS 负离子模式下调谐校准质谱仪：

1. 将质谱仪更改至负离子极性模式：
   a. 关闭喷雾电压，将喷雾电压设置为 0 V；
   b. 切换至负离子模式；
   c. 将喷雾电压设置为3000 V；
   d. 鞘气压力更改为15 psi；
2. 在工作区域左上角的System Tune and Calibration（系统调谐校准）视图中从Compound列表框中选择

Polytyrosine – Neg，将选择聚酪氨酸三个负离子进行自动调谐校准，见图2-18；

3. 选择**Auto Tune-Calibration**；
4. 选择**Both**；
5. 点击**Start**；

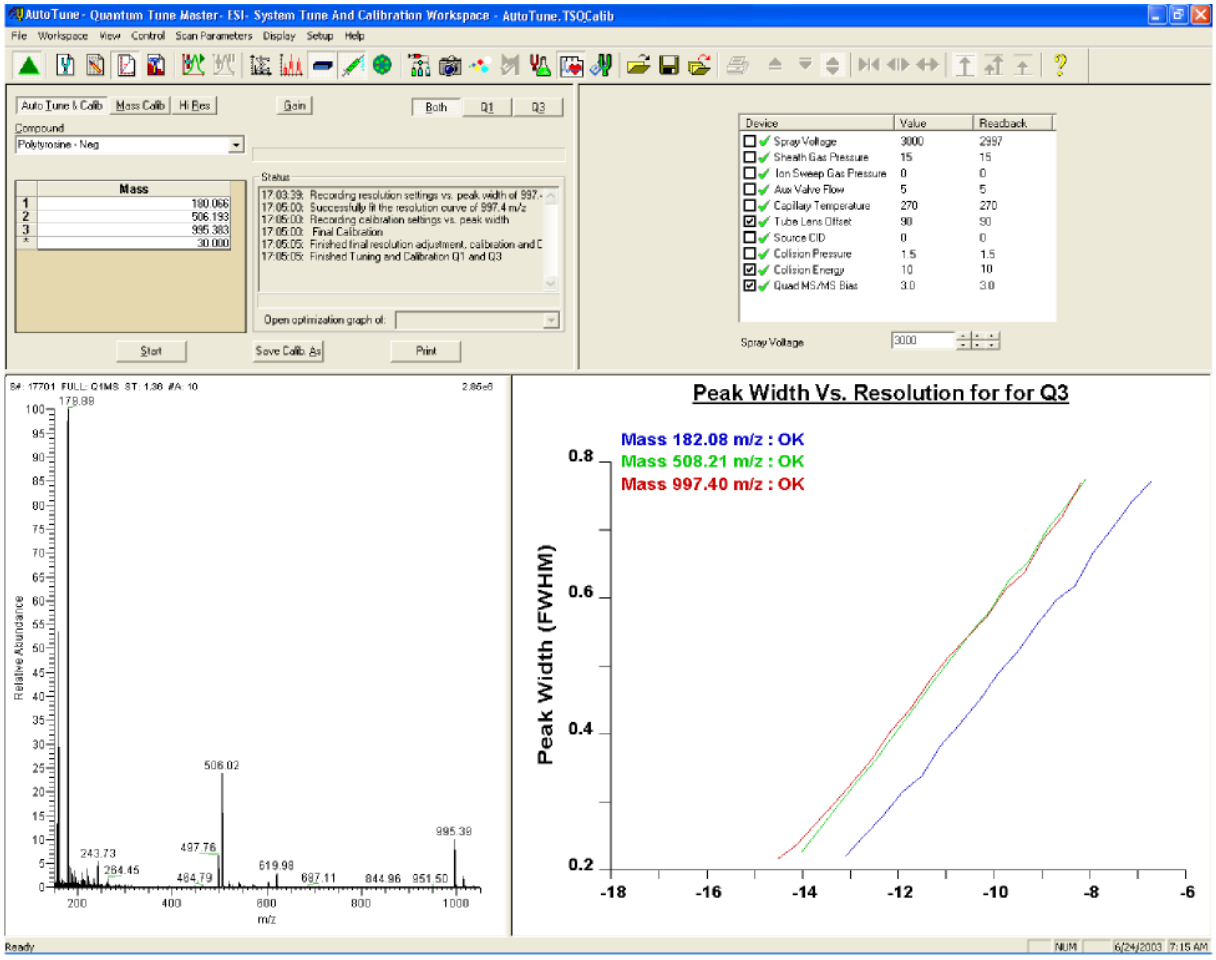


图 2-18. 系统自动调谐校准工作区域，图中显示的是负离子模式下

6. 点击 **Accept** 按钮，接受调谐校准过程的结果。
7. 现在用户可以执行如下操作保存校准文件：
   a. 点击**Save Calib. As;**
   b. 在File Name文本框中输入要保存的校准文件名称；
   c. 点击**Save**，保存校准文件；
8. 保存 Tune Method 文件；

2.7 调谐校准之后清洗系统

按如下步骤清洗质谱仪：

1. 关闭来自注射泵的液流：

a. 在Tune Master中选择**Setup > Syringe Pump & Sample Loop**在工作区域右上角显示Syringe Pump and Sample Loop视图，见图2-21。

b. 在Syringe Flow Control框中选择Off选项按钮，然后点击**Apply**。

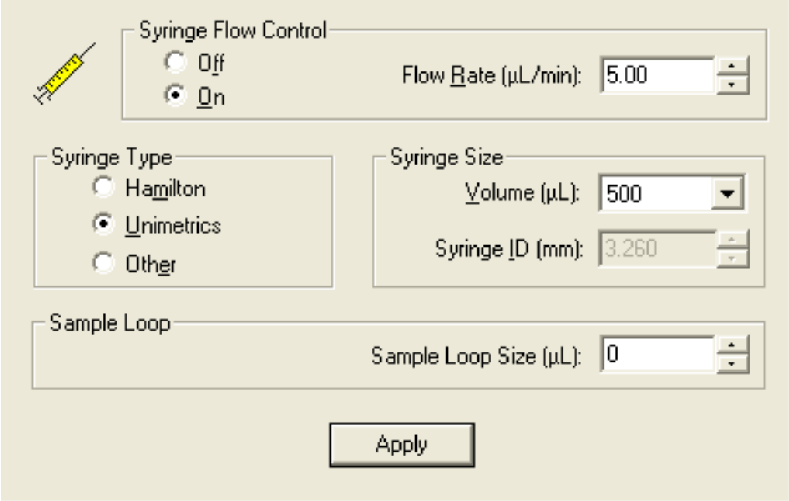


图 2-21. 注射泵和定量环视图，图中显示注射泵为开启状态

2. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：
3. 用 50:50 的甲醇/水溶液彻底清洗注射器。
4. 清洗样品传输管线、进样管和 ESI 探头：

> **注意:** 用来清洗注射器、样品传输管线、进样管和 ESI 探头组件的溶剂取决于用户溶解样品所用的溶剂体系。例如，如果用户使用的是高浓度的缓冲溶液，使用酸性溶液比较合适。

a. 注射器中装入50:50的甲醇/水溶液（或者其它适宜的溶剂）。

b. 握住注射器活塞适当的位置，小心将注射器针头插入注射器接头的Teflon管端部。

c. 缓慢按压下注射器活塞，清洗样品传输管线、进样管和ESI探头。目测当探头组件内ESI探头有溶液从端部流出时，使用无尘纸小心吸走多余的溶液。

d. 小心地将注射器针头从注射器接头上取出。

5. 清洗喷雾区域：

a. 在喷雾瓶中装入溶液。

b. 将一大块Kimwipe®纸(或其它无尘纸)暂时放在区域下。

c. 用喷雾瓶将喷雾罩内表面的污物冲洗下来。

d. 取下用来吸收溶液的Kimwipe纸，再用干的Kimwipe纸擦拭喷雾区域表面。

第三章 ESI/MS/MS 模式下优化质谱条件

本章主要介绍用户如何使用自己的分析物作为校准化合物，在ESI/MS/MS模式下优化校准质谱仪的参数，用户可以通过自动优化步骤进一步优化质谱仪，提高分析物的检测灵敏度。

TSQ Quantum Discovery MAX 系统提供的 Tune Methods（调谐方法）的适用范围很宽，通常不需要进一步校准质谱仪即可使用。但是，对某些应用，用户可能需要对质谱仪的若干参数进行优化。例如，如下参数可能影响 ESI 的性能和信号质量：

- 喷雾电压
- 鞘气压力
- 辅助气流速
- 加热金属毛细管温度
- Tube lens电压

3.1 在 ESI 模式下通过定量环进样引入样品

下述步骤是如何通过定量环引入用户自己的化合物。图 3-1 显示的是将注射泵中样品引入 LC 流动相的管线连接中。

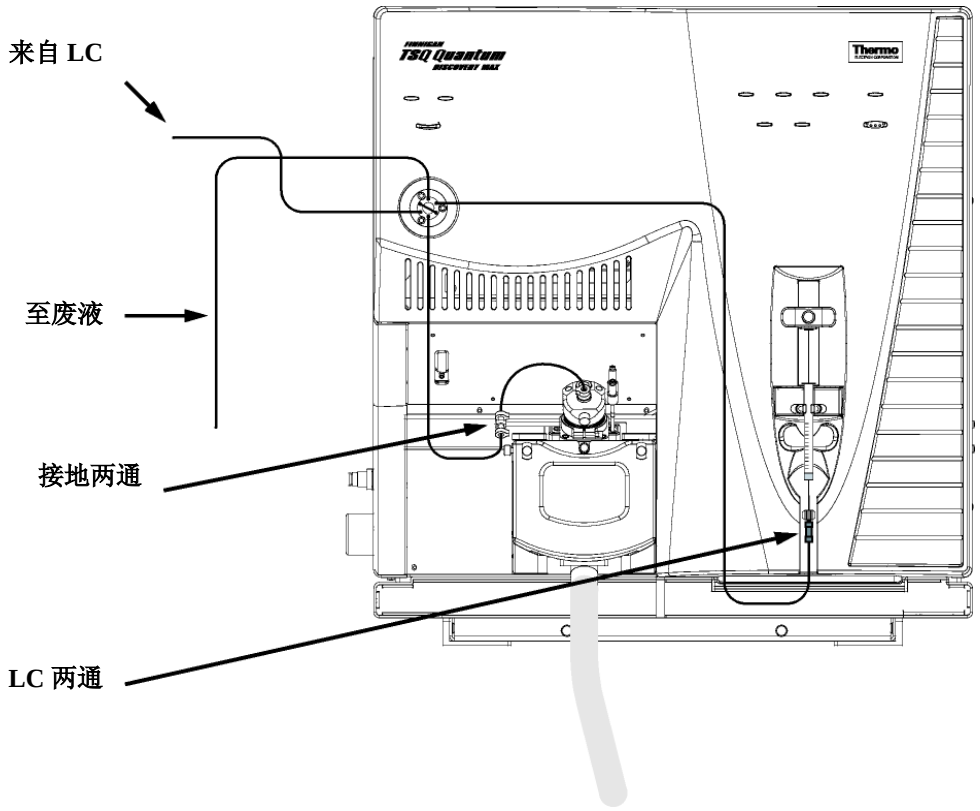


图 3-1.　　LC 流动相引入样品的进样管线连接

按下列步骤将注射泵中 ESI/MS 样品引入 LC 流动相的管线：

1. 将注射器从注射泵夹具上拆卸下来：

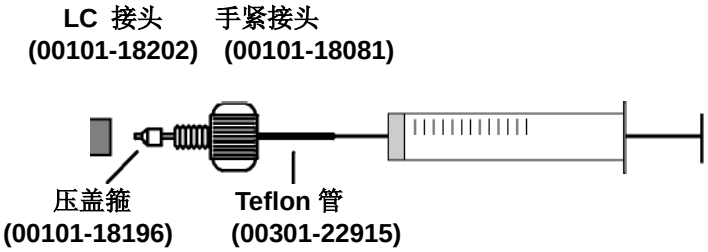


图 3-2. 注射器和注射器接头组件

2. 拆卸安装在注射器接头组件和离子源接地组件之间的样品传输管线。
3. 在注射器接头组件和六通阀之间安装一条样品传输管线：

a. 在注射器接头组件的LC接头上连接一段适当长度的管线。

b. 将装有螺母和压盖箍的管线的一端连接到转向/进样阀的5号端口，见图3-3。

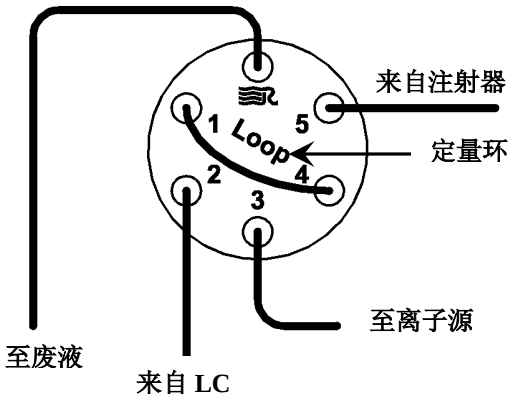


图 3-3.　　六通阀，图中显示的是定量环进样管线

4. 将 420 µL 浓度为 2 pg/µL 的利血平样品溶液装入一只洁净的、500µL 的 Unimetrics 注射器小心地将注射器针头插入注射器接头的 Teflon 管端部。(图 3-2)
5. 将注射器装入蠕动泵的注射器夹具中。
6. 在按住注射泵手柄上的黑色释放按钮的同时，压下手柄，直到它刚好接触到注射器活塞。
7. 在六通阀和离子源接地组件之间安装一段样品传输管线：

a. 安装样品传输管线，见图3-4。

b. 将一段长度合适的、末端装有螺母和压盖箍的管线连接到六通阀的3号端口（图3-3）。

c. 将装有螺母和压盖箍的管线的一端连接到离子源上的接地组件（图3-1）。

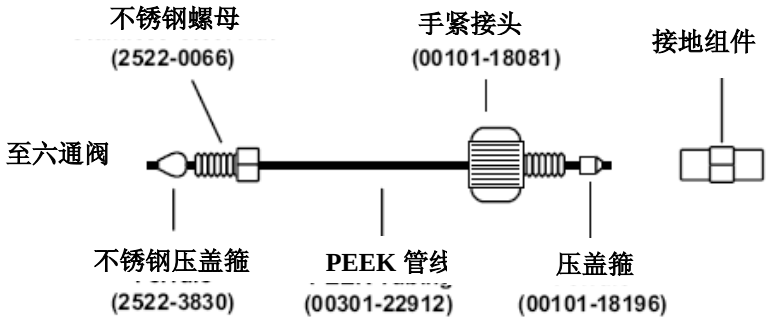


图 3-4.　样品传输管线，安装在转向/进样阀和接地组件之间

9. 在六通阀的 1 号和 4 号端口间安装一个 5 µL、带有螺母和压盖箍的定量环。
10. 在 LC 系统和转向/进样阀间安装一条溶剂管线：
    a. 将一段长度合适、带有适当接头和压盖箍的管线连接至LC系统的出口。
    b. 将带有螺母和压盖箍的管线的另一端连接至六通阀的2号端口。
11. 在六通阀 6 号端安装一条废液管，并将其出口连接至废液容器。

3.2 在 ESI/MS/MS 模式下优化用户化合物的质谱测定条件

如下步骤设置质谱仪，

1. 在Tune Master窗口中点击On/Standby按钮，开启质谱仪。
2. 设定正离子极性模式：
    a. 关闭喷雾电压，喷雾电压设置为 0 V：
3. 打开存储有利血平校准或用户待测物设置的Tune Method文件，Tune Master将Tune Method参数下载至质谱仪。
4. 选择**Display > Compound Dependent Devices**在工作区域右上角显示视图如图4-7。
5. 设置数值如下：
    a Device Display框中已选中Spray Voltage。
    b 将喷雾电压改为4000 V。
    c. 设置鞘气压力：
        i. Device Display框中点击Sheath Gas Pressure，允许用户更改鞘气压力。
        ii. 将鞘气压力设置为30 psi。
    d. 设置辅助气流速：
        i. Device Display框中点击Aux Valve Flow。
        ii. 将辅助气流速设置为10个单位。
    e. 设置毛细管温度：
        i. Device Display框中点击Capillary Temperature。
        ii. 将毛细管温度设置为350℃。

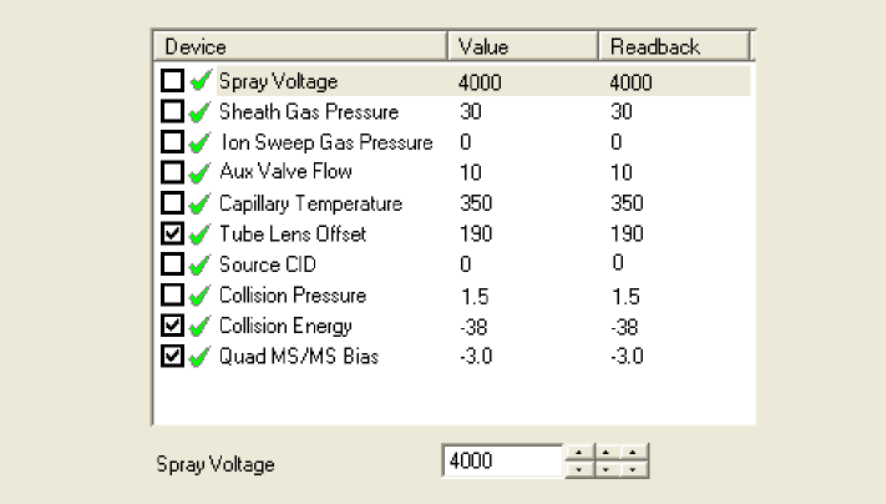


图 3-5. Optimize Compound Dependent Devices 视图，图中显示为正离子极性设置

f. 设置 Source CID 裂解碰撞能量为 0 V。

g. 设置Collision Pressure为1.5 mTorr。

h. 设置 Collision Energy 为-38 eV。

确保 Device Display 框中显示的回馈值约等于设定值。(用户可能需要等待几分钟，以使毛细管温度稳定在设定值上。)

6. 配置 Syringe Pump：

a. 选择**Setup > Syringe Pump & Sample Loop,**在工作区域右上角显示视图如图3-6。

b. Syringe Flow Control 框中选择Off选项按钮，关闭注射泵。

c. Syringe Type框中选择Unimetrics (或Hamilton)选项按钮。

d. 在Syringe Size框中，从Volume列表框中选择*500*，指定注射器体积为500 µL。

当用户指定注射器类型和注射器体积，Tune Master 自动设置适当的注射器 ID 值。请转到步骤 6.f。

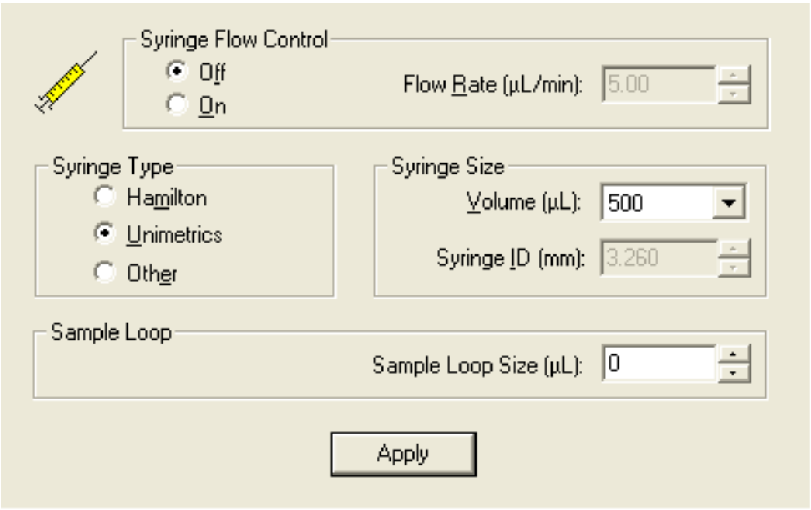


图 3-6. 注射泵和样品定量环视图，图中显示的是自动定量环注射设置

e. 如果用户使用的不是 Unimetrics 或 Hamilton 注射器，需要按以下步骤手动指定注射器内径：

i. Syringe Type框中选择Other选项按钮。

ii. 在Syringe Size框的Volume列表框中选择用户所用注射器的体积。

iii. 在Syringe ID框中输入用户所用注射器的内径。

f. Sample Loop Size 框中输入 **5**，指定定量环大小为 5 µL。

g. 点击 **Apply**，注射泵现在被配置为以适当的样品量注入样品定量环。

7. 启动溶剂流：

a. 在Control / Scan Mode工具栏点击AS/LC Direct Control按钮，在工作区域右上角显示视图如图3-7。

> **注意：**下面的步骤假定异丙醇和 HPLC 级用水的试剂瓶分别标为 A 和 B。

b Surveyor MS Pump传送50:50异丙醇/水溶液，速度设置为400 µL/min，如下图所示。

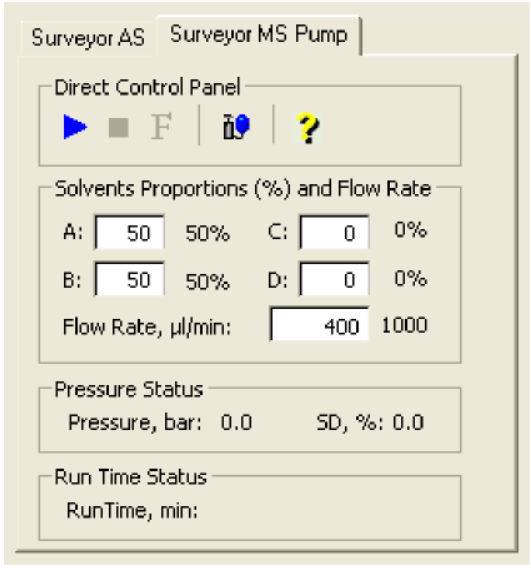


图 3-7. 入口直接控制视图，图中显示泵为关闭状态

3.3 在 ESI/MS/MS 模式下自动优化目标化合物的质谱测定条件

优化质谱仪以便获得用户目标化合物的最大离子传输效率。优化过程可以精细调整 **Compound Dependent Devices** 参数，例如喷雾电压、毛细管温度和透镜补偿电压。推荐用户在成功调谐校准仪器之后再对质谱仪进行优化。

利血平母离子从 *m/z* ＝609.281 到 *m/z* ＝195.066 SRM 反应监测，按如下步骤在 ESI/MS/MS 模式下自动优化质谱仪。

1. 在Tune Master中的Control / Scan Mode工具栏上点击Compound Optimization Workspace，显示该工作区域如图3-8。
2. 在工作区域左上角的Compound Optimization视图中，确认显示的是Single Sample页面。
3. 设置优化参数，以监测利血平*m/z* 609.281到*m/z* 195.066的反应监测：
   a. 选择Optimization Modes：SRM（选择反应监测）按钮，允许用户优化一个选择反应，如图3-8。
   b. 选择Optimization Options：Standard选项按钮校准默认选择的设备（在这个配置中，透镜补偿电压，碰撞能量和四极杆MS/MS偏移电压是默认的化合物依赖参数）。

c. 在Optimization列表中，输入母离子质量数为**609.281**。

d. 输入子离子质量数为**195.066**。

> **注意：**用户需要选择入口类型按钮，以适应用户所使用的将样品引入质谱仪的入口模式。此过程需要使用Auto Loop Injection（自动定量环注射）选项。

e. 在 Inlet Types 框中选择 Auto Loop Injection 选项按钮，将优化溶液自动引入 TSQ Quantum 系统中。

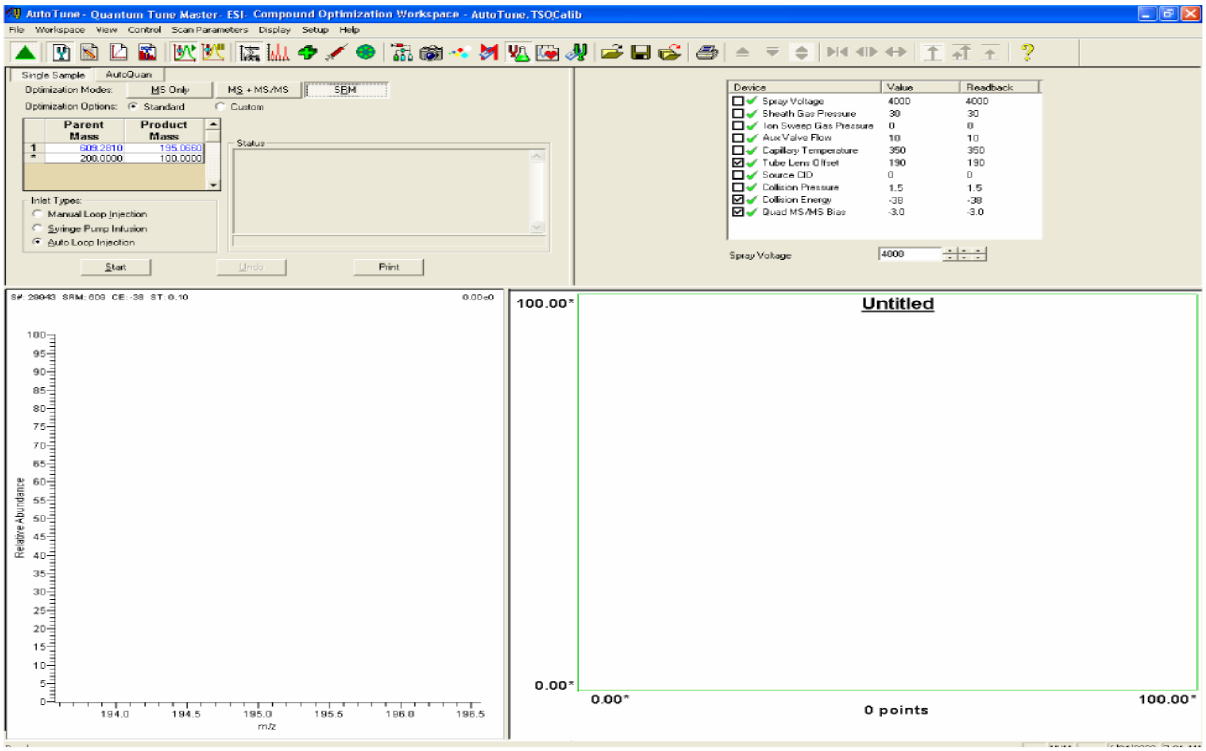


图 3-8. 化合物优化工作区域

4. 点击**Start**按钮，启动自动校准过程。

> **注意：**如果在化合物优化过程中注射器内样品溶液耗尽，则仪器会暂停自动校准过程，并显示如下信息：*Syringe out of sample, Reload and click OK.（注射器内样品耗尽，重新装入样品溶液并点击 OK）。* 如果出现这种情况，重新填装注射器，并点击 **OK** 继续进行优化进程。

当化合物优化进程顺利完成，Status 框中显示 *Finish compound optimization* 信息，见图 3-9。

- 如果化合物优化进程完成没有出现错误，并且碎片195.066的优化曲线为高斯曲线（如图3-9所示）或者为平滑的、斜率为正的曲线，请转至步骤6。
- 如果在化合物优化过程中出现错误，或者碎片195.066的优化曲线有振荡、包括多重峰或者极其杂乱，请转到步骤5。

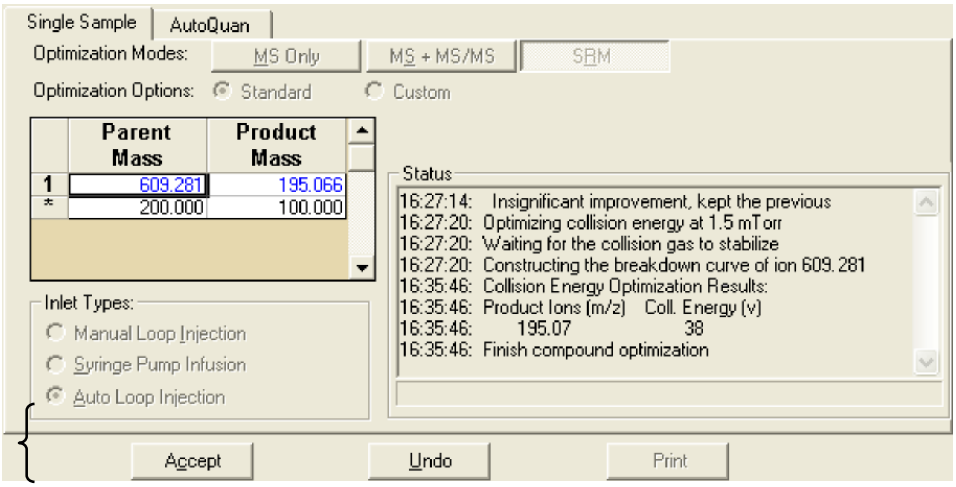


图 3-9. 化合物优化视图，图中显示的是成功的完成化合物优化

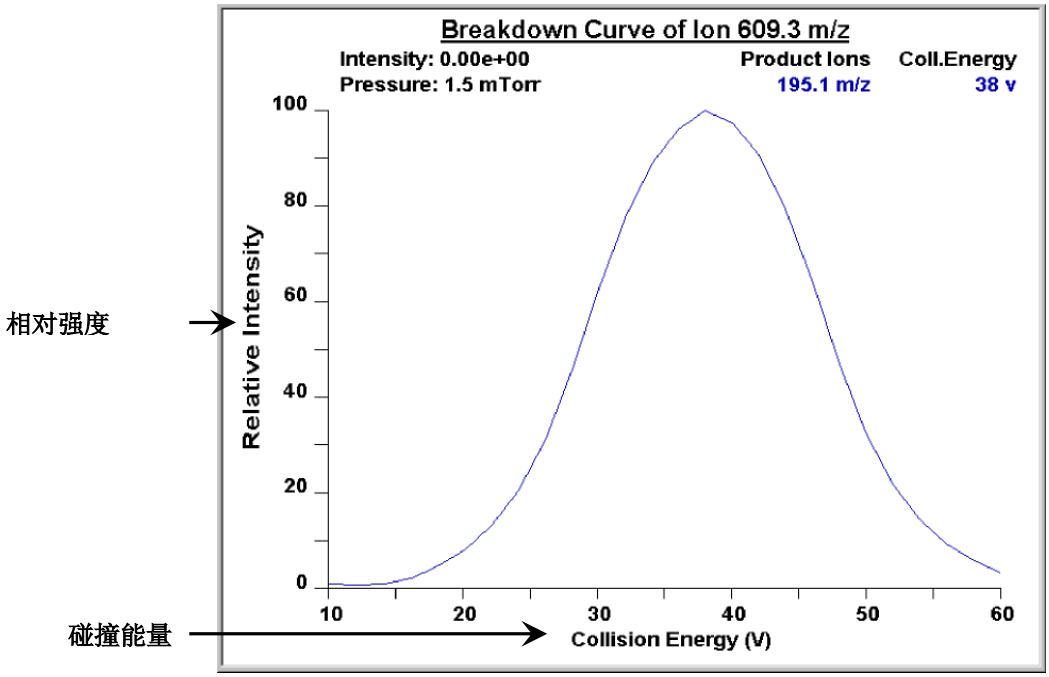


图 3-10. 利血平为例，图中以子离子 *m/z* = 195.066 的相对强度为碰撞能量的因变量做曲线

5. 如果在化合物优化过程中出现错误，可通过完成以下操作步骤：
   a. 点击**Undo**按钮载入以前的装置设置。
   b. 点击**Accept**按钮将以前的装置设置重新载入到质谱仪。
   c. 处理纠正引起优化过程失败的问题。
   d. 转到本过程的步骤4并且重新开始化合物优化进程。
6. 点击 **Accept** 按钮接受化合物优化的结果。

> **注意：**如果离子源参数与其初始设置有任何改变，请在质谱仪为开机状态时保存调谐方法。

7. 通过如下操作保存 Tune Method 文件：

a. 点击 **Save Tune As**

b. 在File Name框中输入文件名（例如**ESI_reserpine**，或者用户化合物的名称)。

c. 点击**Save**按钮保存Tune Method。

如果用户输入的文件名已经存在，会弹出一个信息框讯问是否替换已有文件。

- 如果希望覆盖已有文件，点击**Yes**。
- 如果不希望覆盖已有文件，点击**No**然后在File Name框中输入新的名称，并点击**Save**。

第四章 Tune Master 采集 ESI/MS/MS 数据

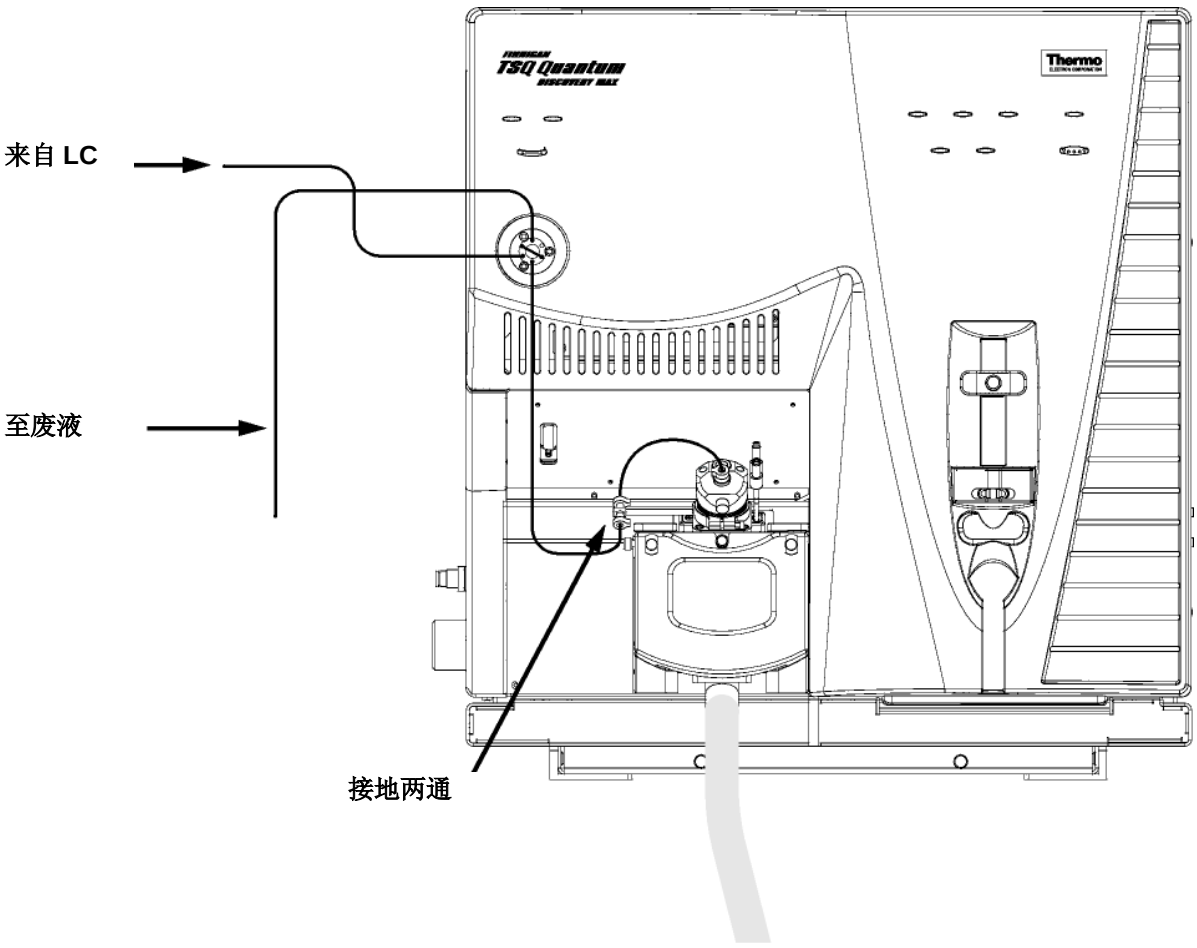
本章为用户提供了如何利用 Tune Master 在 ESI/SRM 模式下采集样品数据信息。本章实验采用样品是利血平，用户可以按同样的步骤对目标分析物进行操作。

本章包括以下部分：

- 在ESI模式下通过手动定量环引入样品
- 在SRM扫描模式下采集ESI/MS/MS数据

4.1 在 ESI 模式下通过手动定量环引入样品

通过手动定量环进样引入样品的 ESI 管线连接如图 4-1 所示。



按如下步骤连接手动定量环进样管线：

1. 关闭流入 ESI 源的流动相：

2. 在Control / Scan Mode工具栏上点击On/Standby按钮，将质谱仪置于待机状态。

3. 按图 4-2 连接管路

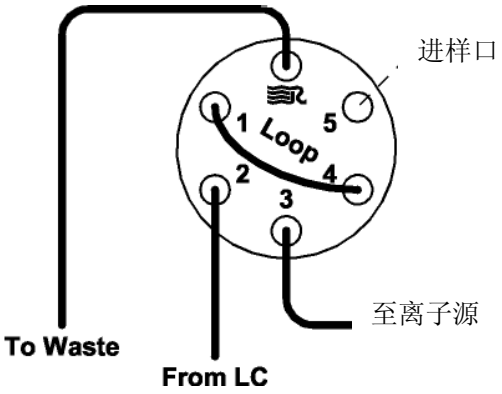


图 4-2. 六通阀，图中显示的是手动定量环进样的管线连接

4. 进样口安装至六通阀：

   a. 将白色衬管、RheFlex®压盖箍和RheFlex螺母的插入六通阀5号端口（见图4-3）。
   b. 用手小心旋紧螺母。

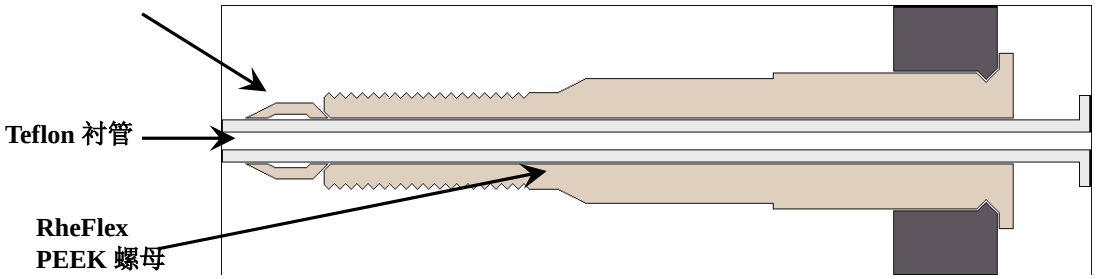


图 4-3. 针头端口接头，P/N 00110-22030

4.2 在 SRM 扫描模式下采集 ESI/MS/MS 数据

按照下列步骤生成 SRM 扫描模式下的利血平数据文件。Tune Master 自动将用户所采集的数据保存在硬盘上。

1. 在Tune Master中点击Control / Scan Mode工具栏上的On/Standby按钮，打开质谱仪。
   - 如果用户希望使用当前显示的Tune Method数据采集，请转到步骤3。
   - 如果用户希望使用其它方法数据采集，首先需按步骤2所述，打开需要的Tune Method。
2. 打开存储有利血平校准设置的Tune Method文件，或者根据待测物进行必要的设置：
   a. 在File / Display工具栏中点击Open File按钮，显示Open对话框。

b. 确认当前显示的是*C: \Xcalibur\methods*文件夹，选择*ESI_reserpine.TSQTune*文件（或者用户自己的Tune Method）。

c. 点击**Open**按钮，打开该文件。Tune Master将Tune Method设置下载至质谱仪。

3. 开启流动相：

a. 在Control / Scan Mode工具栏上点击AS/LC Direct Control按钮，在工作区域右上角显示Inlet Direct Control视图，见图4-4。

> **注意：**下面的步骤假定装有异丙醇和HPLC级用水的溶剂瓶标签分别为A和B。

b. 设定Surveyor MS Pump流动相比例为 50:50（异丙醇/水溶液），速度为400 µL/min：

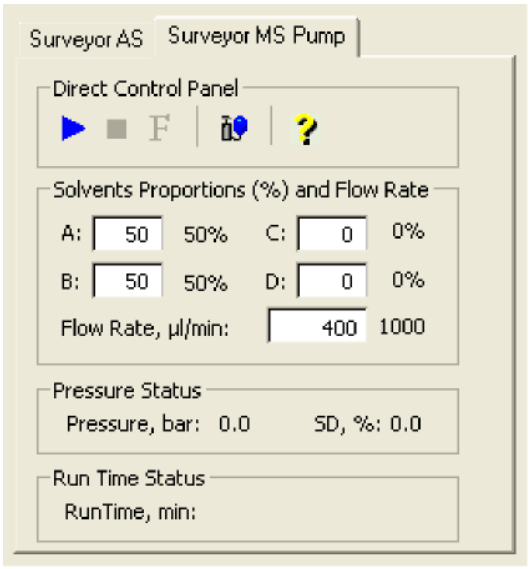


图 4-4. 液相直接控制视图，图中显示泵为关闭状态

c. 点击Start按钮，启动液相泵。

4. 在Control / Scan Mode工具栏上点击Instrument Method Development Workspace按钮打开该工作区域如图4-4。

5. 根据需要按下列步骤设置采集SRM数据所需的参数：

a. 在工作区域左上角Define Scan视图中选择Scan Type为SRM扫描类型。

b. 确定在SRM表中列出的是单个反应，并且确认母离子质量数是609.281，子离子质量数为195.066。

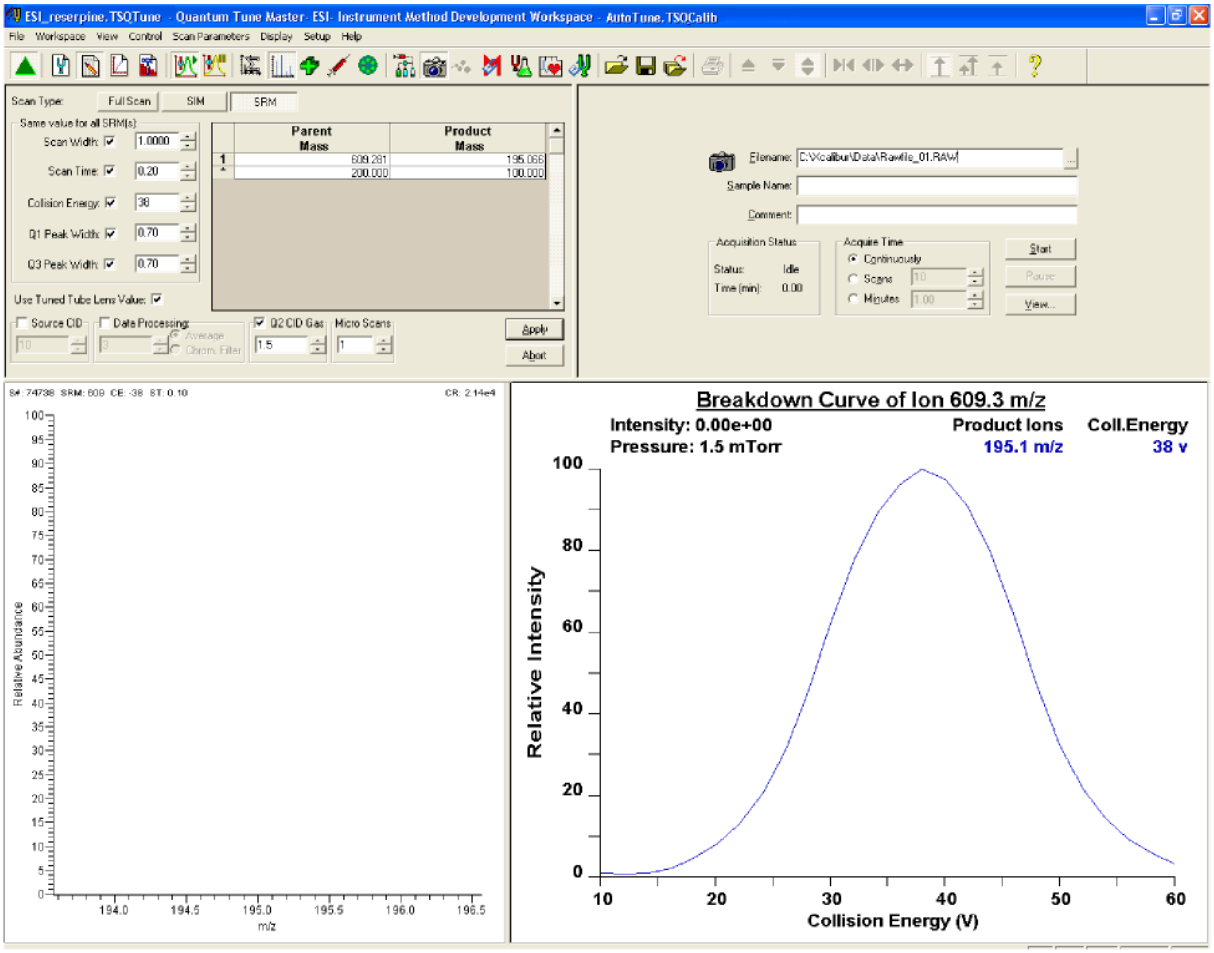


图 4-4. 仪器方法建立工作区域

c. 在 Same Value For All SRM(s)框中，确保选中所有全局参数复选框，核实或者在相应的微调框中输入如下值：

i. Scan Width 框中输入**1.000**，将扫描宽度设置为1.000 u。

ii. Scan Tim e微调框中输入**0.20**，将扫描时间设置为0.20 s。

iii. 核实Collision Energy微调框中的碰撞能量显示值近似地等于用户先前进行化合物优化时的输入-38。

iv. Q1 Peak Width 中输入**0.70** u。

v. Q3 Peak Width 中输入**0.70** u。

d 选中Use Tuned Tube Lens Value复选框。

e 确保没有选中Source CID复选框。

f Chromatography Filter指定3：

g 碰撞室气体设置：

i. 选中Q2 CID Gas复选框，指定所用的碰撞气体。

ii. 在Q2 CID Gas 框中输入**1.5**，将碰撞室气体压力设置为1.5 mTorr。

h 确认Micro Scans 设置为1。

6. 点击**Apply**按钮。

7. 在Control / Scan Mode工具栏上，点击Display TIC按钮，在工作区域右下角的Graph 视图中记录总离子流，见图4-5。

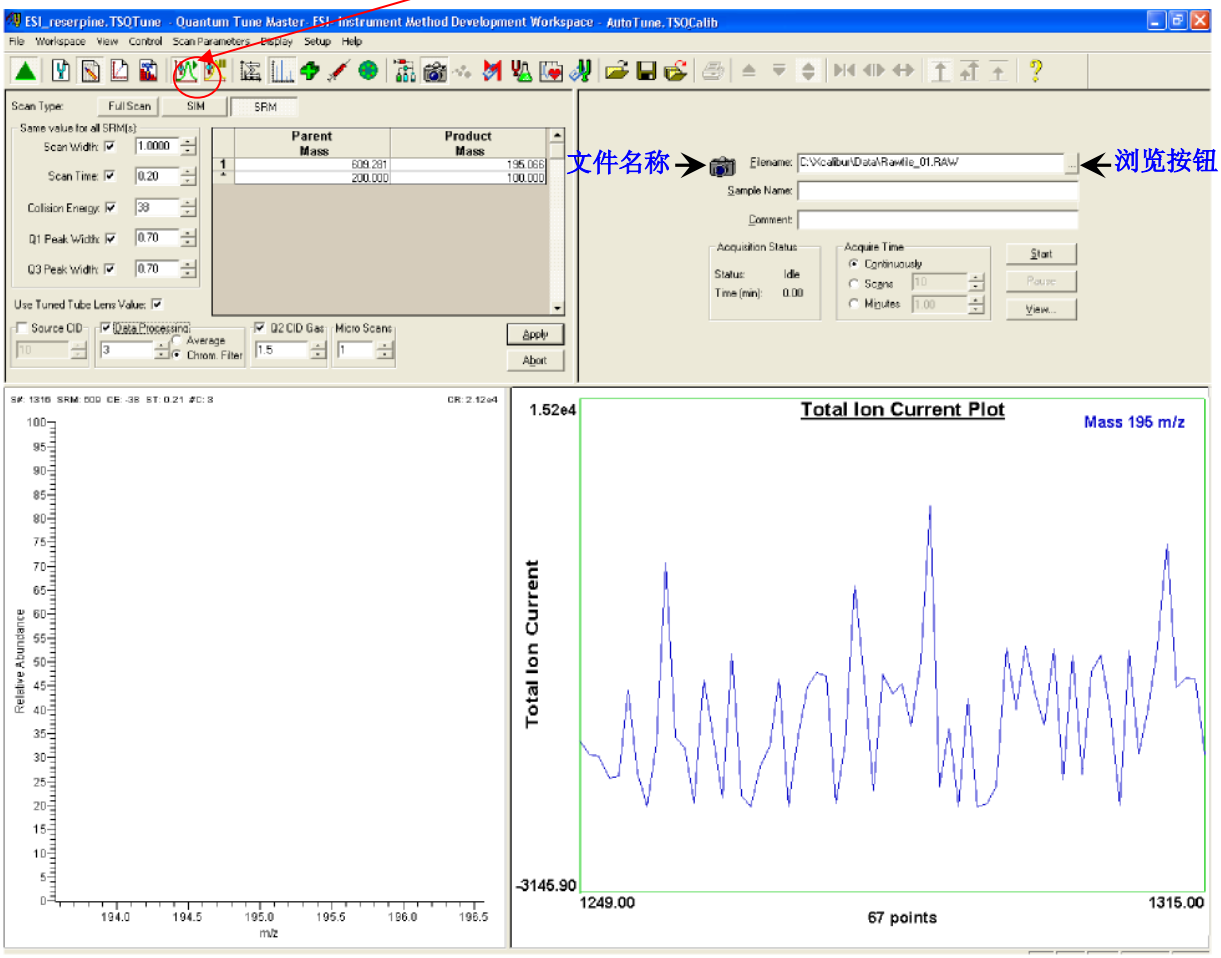


图 4-5. 仪器方法建立工作区域，图中显示的是 SRM 扫描类型

8. 指定数据采集参数：

   a. 在工作区域右上角Acquire Data视图中的Filename文本框中输入**C:\Xcalibur\Data\reserpine_01.raw**指定路径和文件名。(用户可以使用浏览按钮选择不同的文件夹。)

   b. 在Sample Name文本框中输入**reserpine**指定样品名称。

   c. 在Comment文本框中输入注释。例如，输入**SRM，ESI，10 pg，loop**标明扫描模式，离子化模式，样品量和样品引入方式。Xcalibur将注释信息存入用户数据。

   d. 在Acquire Time框中，选择Continuously选项按钮，除非用户停止，数据采集将不间断进行。Control / Scan Mode工具栏上，确保Divert/Inject Valve按钮处于Load状态。如果Divert/Inject Valve按钮处于Inject状态，点击Divert/Inject Valve按钮将Divert/Inject Valve切换至Load位置。

9. 在Acquire Data视图中，点击**Start**按钮开始数据采集，并将数据保存至*reserpine_01.raw*文件中。如果在指定的文件夹中已经存同名文件，则Tune Master会在文件名后顺序添加一串表示时间和日期的数字，如*C:\Xcalibur\Data\reserpine_010502092159.raw*。

11.利血平溶液上样：

   a. 准备好盛有 420 µL，浓度为 2 pg/µL 利血平溶液的注射器

> **注意：**为将交叉污染的可能降低到最小，在重新将注射器插入注射器接头组件中前，一定要用无尘纸擦拭注射器的端部。

b. 小心地将注射器针头端部插入六通阀5号进样口Teflon管一端。

c. 推动注射器，让利血平溶液过量充填定量环。

12. 按下质谱仪前面板上蓝色Divert/Inject Valve按钮，将利血平溶液引入LC溶剂流动相。

13. 在Spectrum视图中观察利血平子离子*m/z*＝195.066峰，或者观察用户目标分析物峰。

14. 重复几次下列步骤，每次注射间隔大约等待1分钟。

a. 按下质谱仪前面板上的蓝色Divert/Inject Valve，使Divert/Inject Valve回到Load位置，用2 pg/μL的利血平溶液过量充满定量环。

b. 再次按下Divert/Inject Valve按钮，将利血平溶液引入LC流动相。然后观察Spectrum视图。

c. 大约1分钟后注射下一针。

d. 重复步骤14.a到14.c几次。

15. 在Acquire Data对话框中点击**Stop**按钮，中止数据采集，见图4-6。

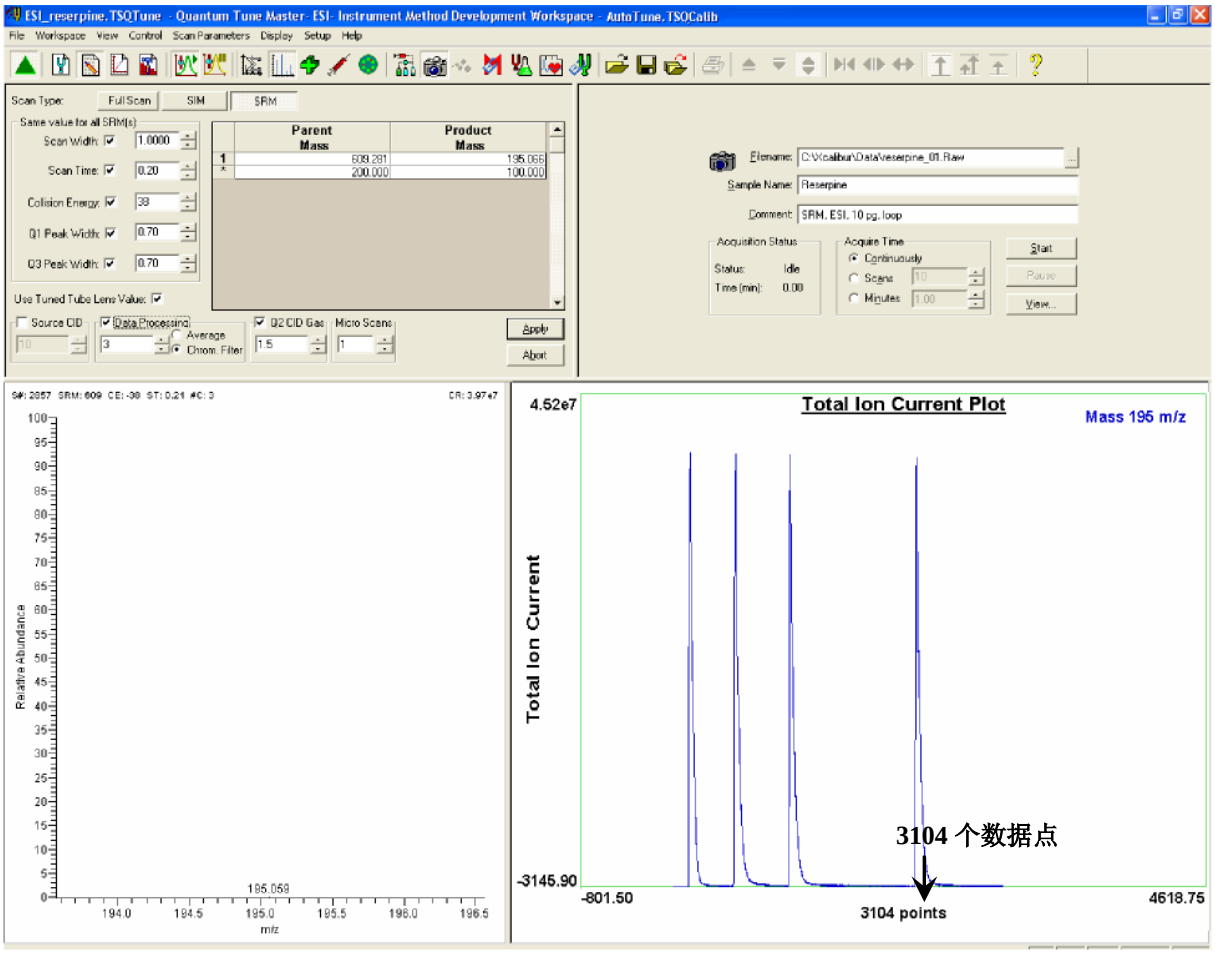


图 4-6. 仪器方法建立工作区域，图中显示的是在 SRM 扫描模式下采集数据

16. 点击 **View** 按钮，在 Xcalibur Qual Browser 窗口中查看刚得到的原始文件中的色谱图，见图 4-7。

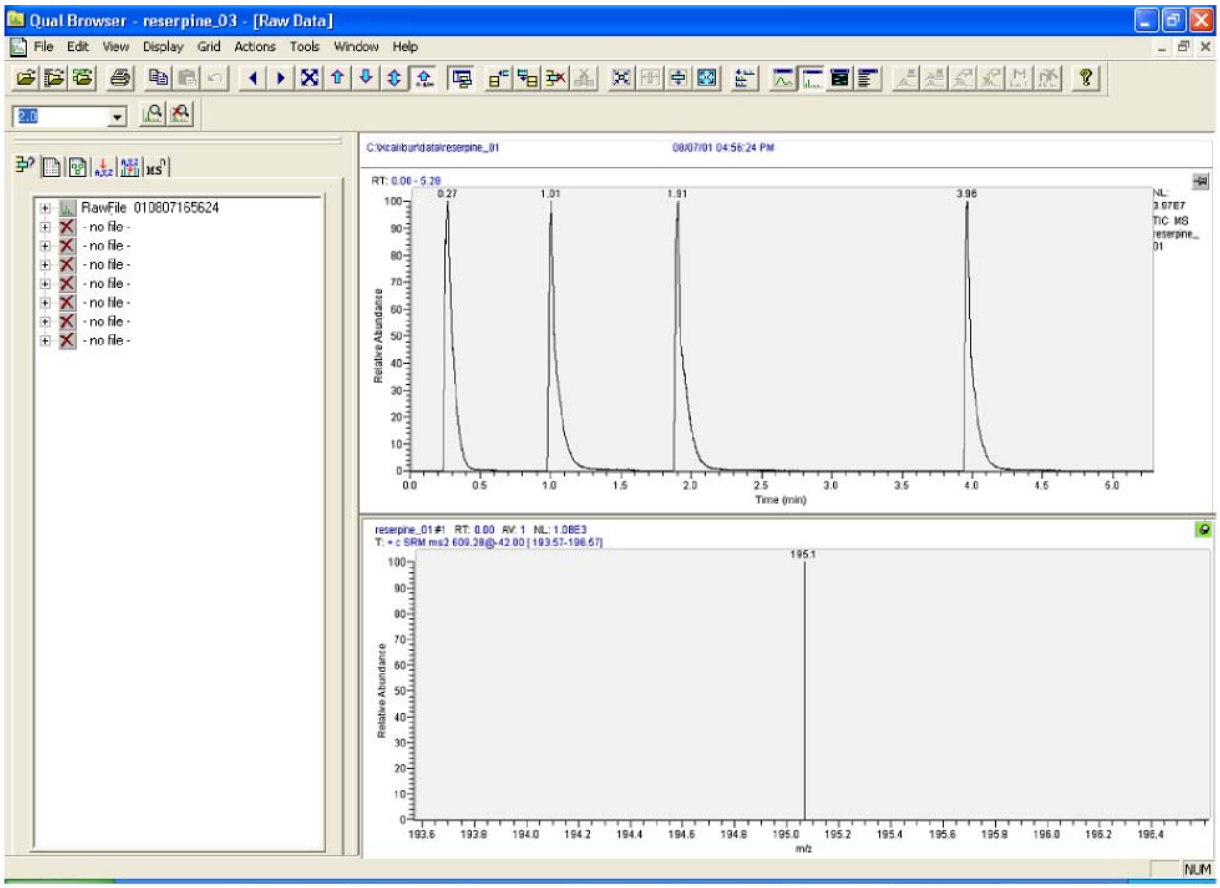
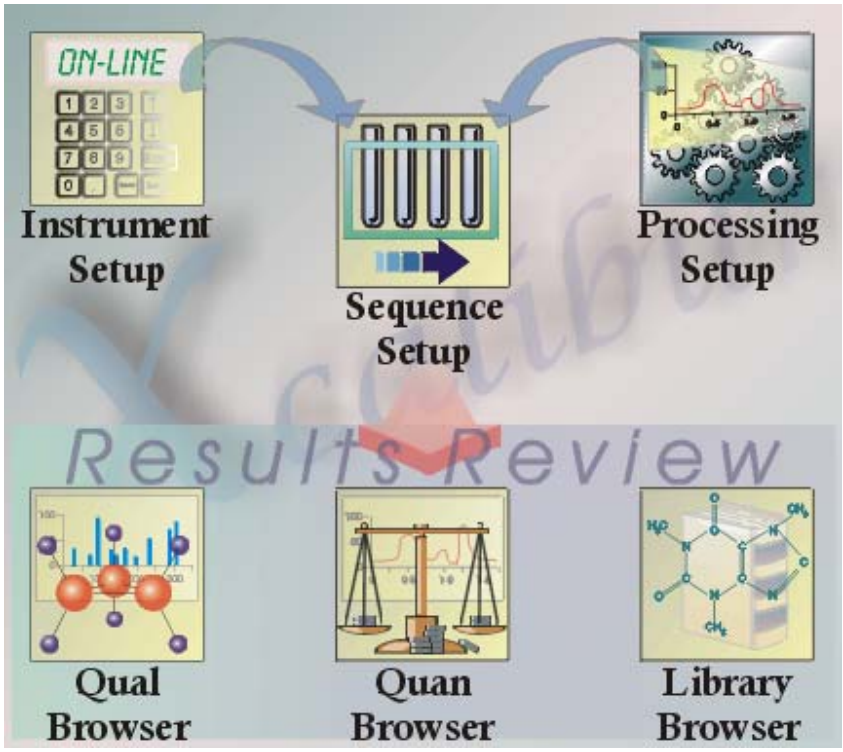


图 4-7. 定性分析查看窗口，图中显示的是利血平碎片离子 *m/z* = 195.066 定量环进样轮廓图(上)和棒状图(下)

第五章 Xcalibur的使用

Xcalibur软件是对LC-MS从方法开发到报告显示进行控制的操作平台。

Xcalibur 的功能围绕一个主界面（Roadmap）展开。您可以直接进入 Xcalibur 的六个主要功能界面:仪器方法设置、进样列表设置、数据处理方法设置、定性浏览器、定量浏览器和谱库检索数据浏览器。



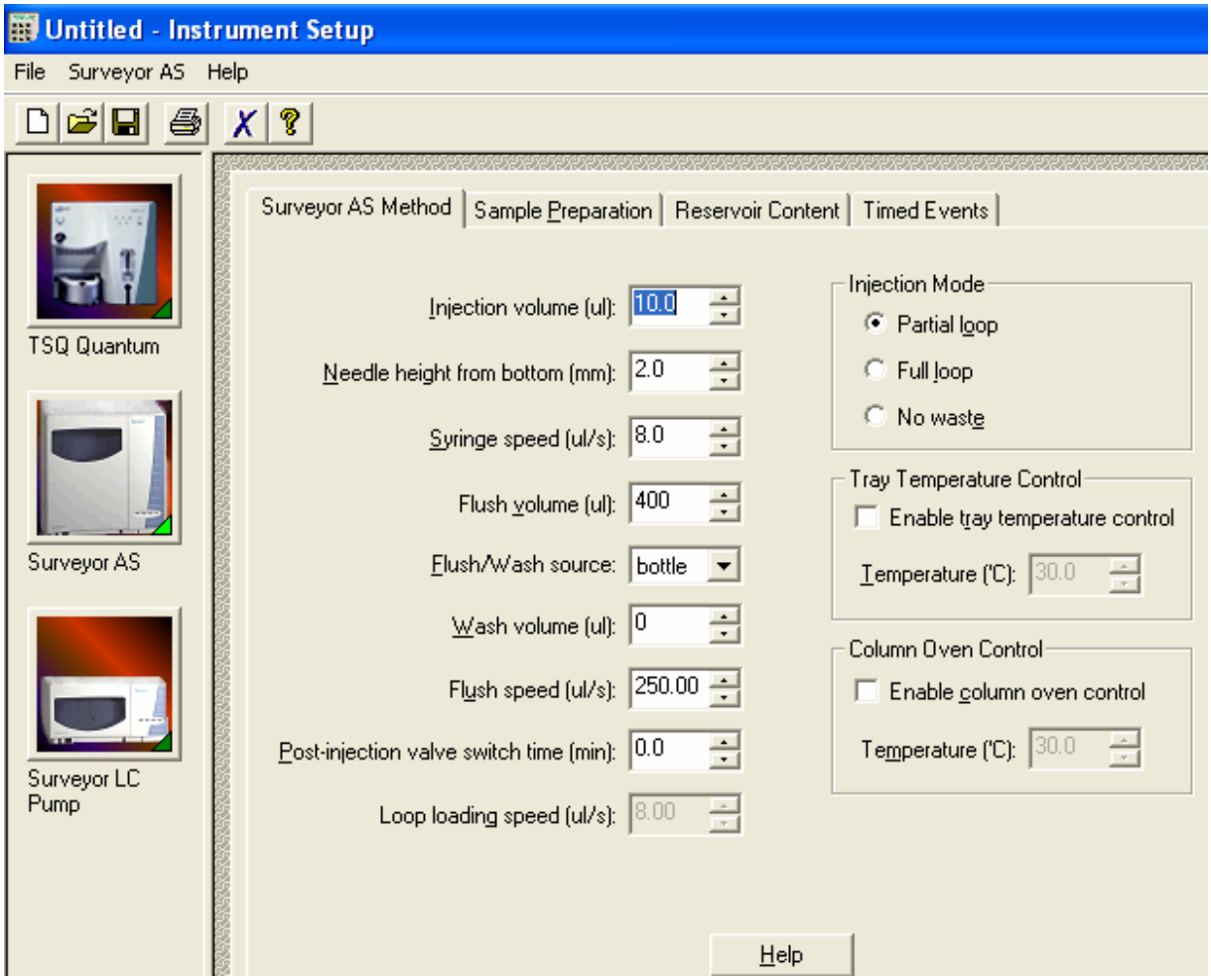
5.1 仪器方法的设置 Instrument Setup

5.1.1 桌面双击Xcalibur软件；

5.1.2 点击Instrument Setup；

对于典型的液相色谱质谱，方法设置一般包括四个个部分：自动进样器（AS），液相泵（Pump），质谱部分（TSQ Quantum），UV或二极管阵列检测器（PDA）。

◆ 自动进样器（AS）



自动进样器的参数设定包括：

Injection Volume —进样量，最大进样量根据自动进样器所配定量环大小而定。

Needle Height from Bottom —进样针离瓶底距离，通常在使用衬瓶时必须注意该项设定，样品量多为避免有沉淀也可以设定该项，距离大小因具体情况而定。

Syringe Speed（μl/s）—进样针吸液速度

Flush Volume —吸液体积（洗针内壁）

Flush/Wash Source —洗针液来源

Wash Volume— 洗针液体积（洗针外壁）

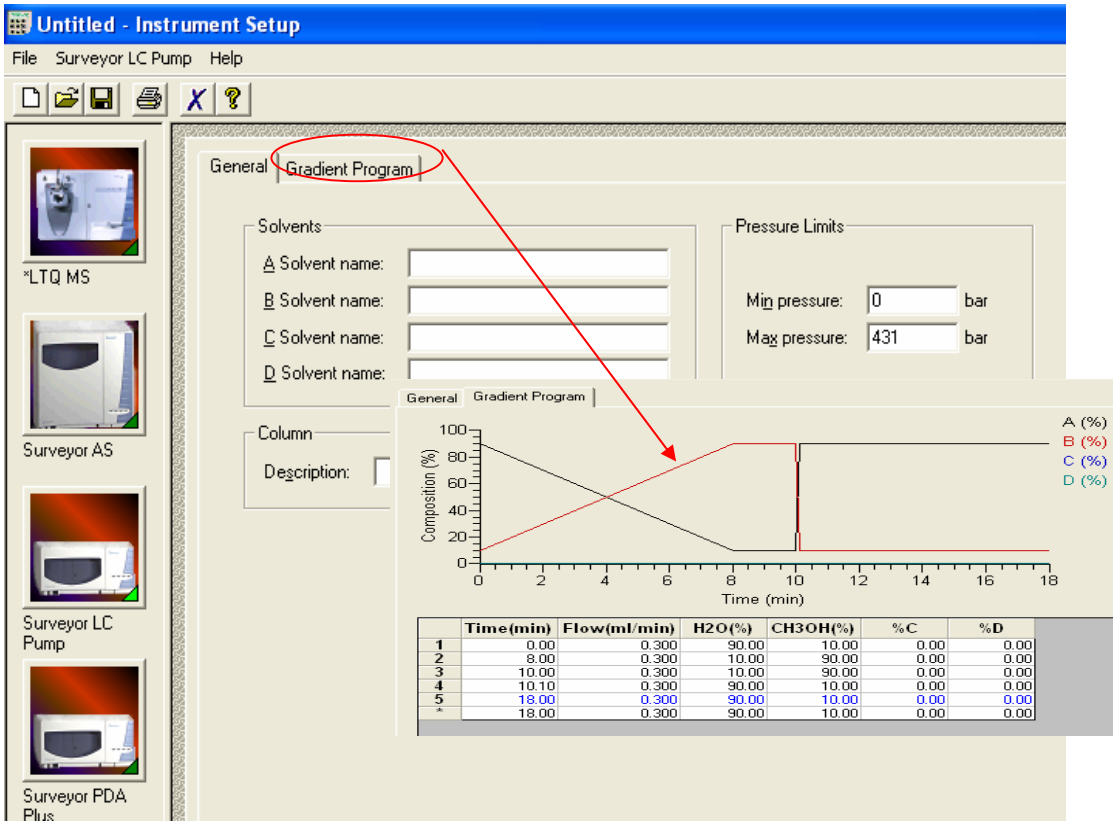
Injection Model —进样模式 Partial Loop 部分环进样，Full Loop 全环进样

Tray Temperature —样品盘温度控制，需要使用样品盘温度控制时点击 Enable Tray Temperature 选项，设定相应温度。

Column Oven Control —柱温箱温度设定，需要使用柱温箱温度设定时点击 Enable Column Oven Control 选项， 设定相应温度。

◆ 液相泵（Pump）

液相泵的设定主要针对液相分离，MS Pump 或 LC Pump 均为四元低压混合泵。泵的常规项设定包括 Solvents－流动相名称，Column 可以输入柱型号，Pressure Limits－压力极限设定，最小压力的设定是为防止分析过程中管路泄漏，最高压力的设定是为了防止色谱柱或管路中其它部分堵塞。梯度设定在 Gradient Program，可以使用等度洗脱或梯度洗脱。



◆ 质谱仪（TSQ Quantum）

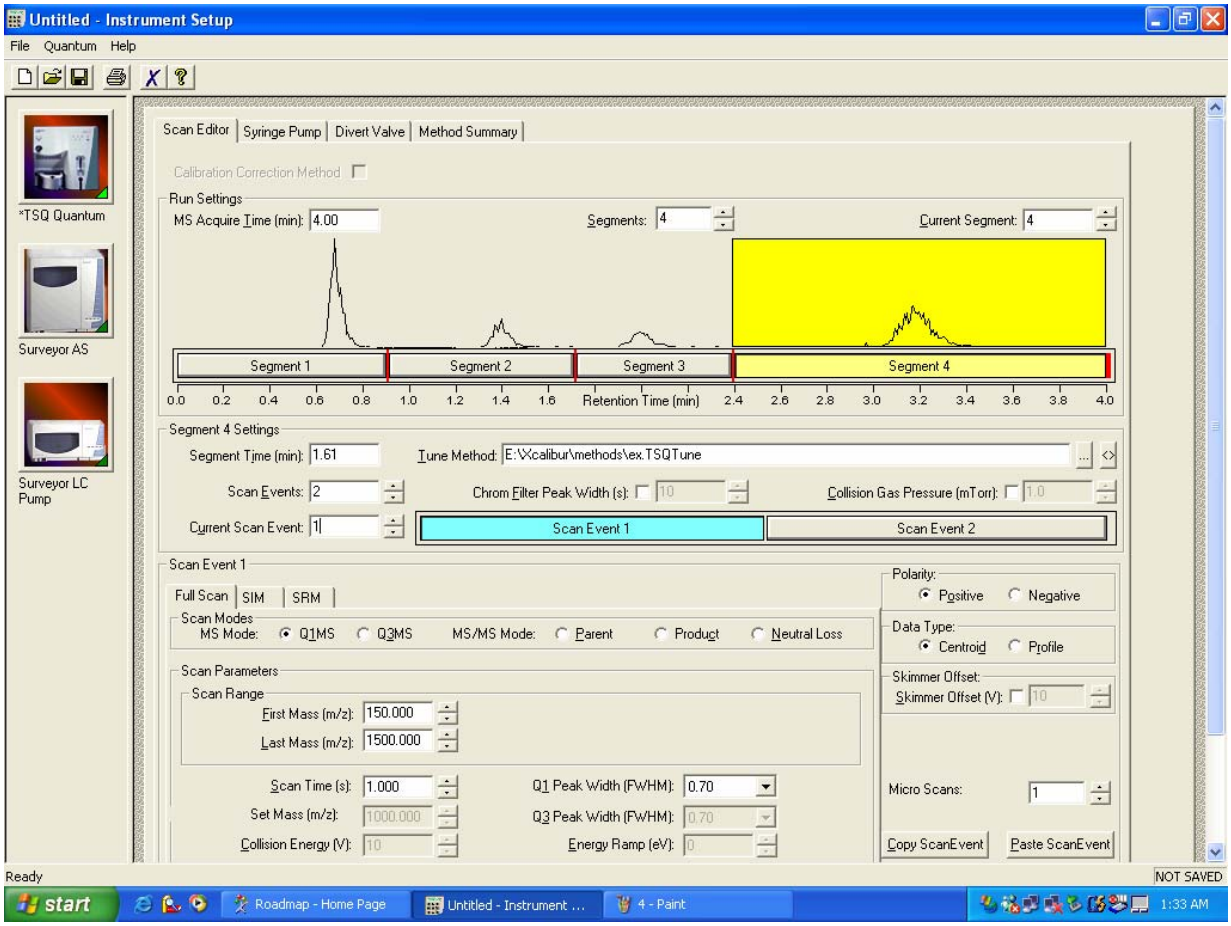
Scan Editer

✧ Run Setting

图中第一栏 Run setting 是设定样品的运行时间，是否使用分段处理、从紫外检测器到质谱的延迟时间设定。

Acquire time －设定样品运行时间，图中设定为 4 分钟。

Segments －针对样品分离出的不同组分分别采取不同的检测方式，通常需要调用一个样品图谱，在主菜单点击 Quantum 子菜单下的 Open Rawfile 即可打开一个原始数据。由图可见已经运行过的样品分离出四种组分，因此 Segments 设为 4，即分四段分析。



Start Delay —采集时间延迟，通常情况下，从液相色谱检测器到质谱需要一定时间，因管路长短而异，设定采集延迟时间可以使紫外信号和质谱信号达到同步。图中设置的时间为 0.2min，表示从紫外检测器信号和质谱信号之间的差值为 0.2min，对于液相分离效果较好的样品延迟时间也可以不用设定。

✧ Segment Setting

点击 segment 中需设定的段，如点击 segment 1 则第二栏显示为 segment 1 setting，各选项分别为

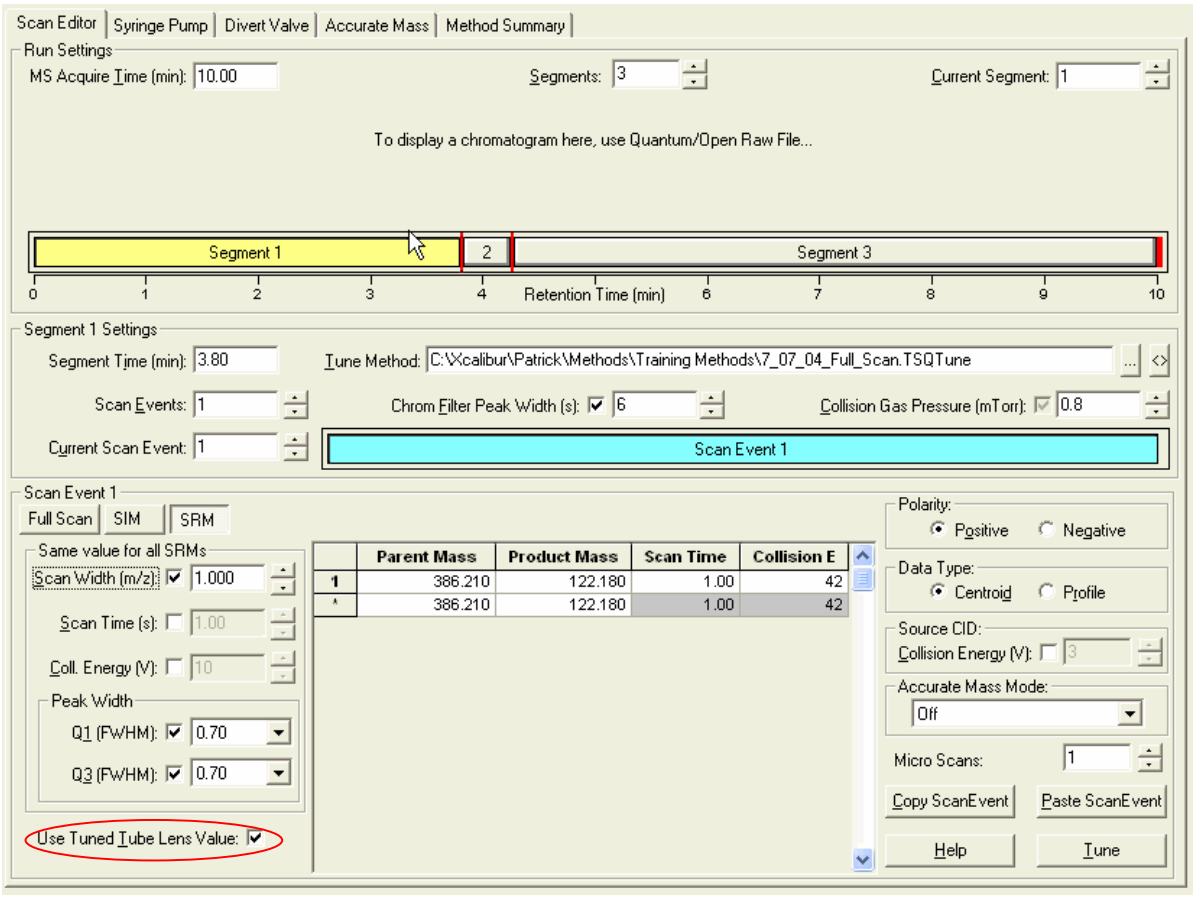
Segment Time —选定段分析时间，如图中所示 Segment 1 的时间为 1 min；

Scan — 设定扫描事件，图中设定的 SE 为 2；

Tune — 选定的 Segment 1 调用的 Tune Method；点击该栏后的…可以浏览文件夹调用需要打开的方法，点击该栏后的<>则将目前调用的方法运用到所用 Segment。

Scan Event 1 Setting Segment 1 的 Scan Event 1， 如下图所示。Scan Event 1 的设置，Full Scan， 扫描模式－Q1MS，，检测质量范围－150.00－1500.00，Scan Time 为 1s,检测离子类型－正离子检测，数据类型－棒状图。全扫描的扫描模式还有 Q3MS。全扫描实验用来检测确认未知化合物或者确认混合未知化合物的每个组成。相对于选择离子监测和选择反应监测扫描模式，全扫描类型可以给你提供关于分析物的更多信息，但是全扫描模式不能够得到像这两种扫描模式一样的灵敏度。二级质谱有 Parent MS（母离子扫描）和 Product Scan（子离子扫描）以及 Neutral Loss Scan（中性丢失扫描）。子离子扫描模

式下获得的质谱图能够表达从选定母离子片断生成的所有子离子的信息。在母离子扫描模式下获得的质谱图表达了所有生成选定子离子的母离子信息。大量化合物中筛选研究某特定功能团时，使用中性丢失模式的实验非常有帮助。SIM 选择离子扫描又有 Q1SIM 和 Q3SIMS。选择离子监测分析是在目标化合物已知前提下，对存在复杂混合物中少量目标化合物的有效监测。所以，选择离子监测在痕量分析中和在大量样品中快速筛选目标化合物的分析有帮助。对于定量分析来说我们经常使用的是 SRM（选择反应监测），如下图所示。需要设定母离子和子离子对，扫描时间和对应离子对的碰撞能量。激活下图中 Use Tuned Tube Lens Value， 则使用的 Tube Lens 的值以校正文件的为准，不需要输入。

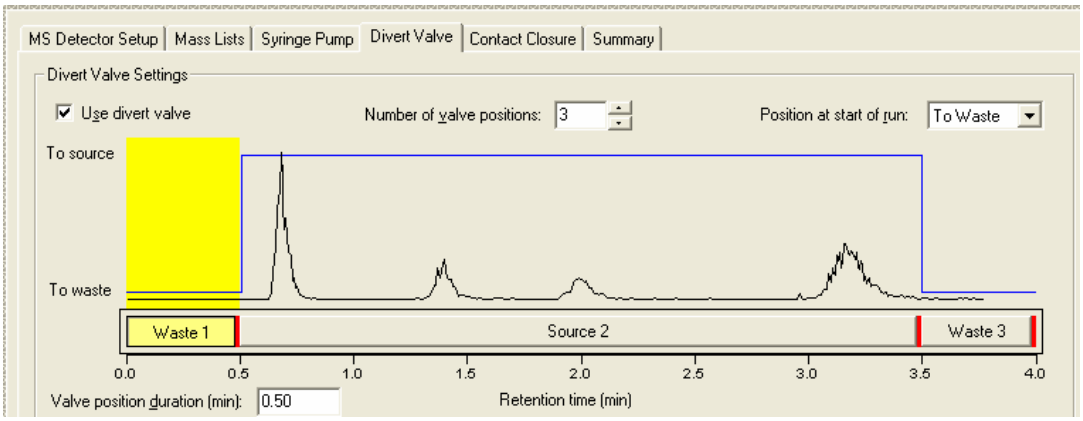


✧ Syringe Pump

Syringe Pump 进样蠕动泵，选择该选项后质谱开始分析时蠕动泵自动启动。

✧ Divert Valve

Divert Valve 切换阀设置，对于含盐样品或分析时间较长的样品，为保护质谱可以合理利用切换阀，使出峰前的流动相或所有组分完全流出后将流动相切换到废液，保护质谱。切换阀的设定方式为激活 Use Divert Valve 选项，在 Number of Valve 选项中输入设定的段数，如下图所示。



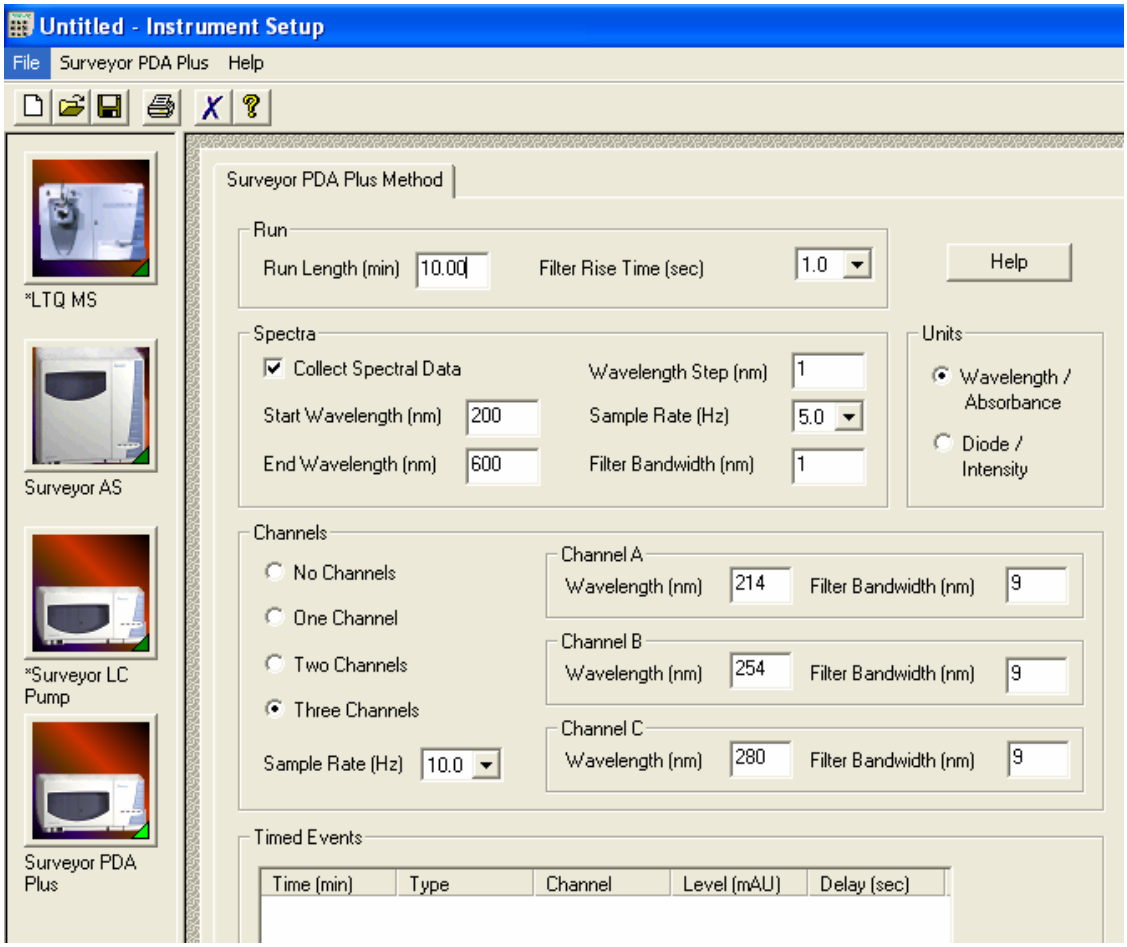
第一时间段切换到废液，第二时间段切换到质谱，第三时间段又切换到废液

✧ Method Summary

用户设定的质谱方法总结，在 Summary 项有一文本显示信息，可以拷贝出以便保存。

◆ 二极管阵列检测器（PDA）

PDA 的设定主要包括数据采集时间（Run Length），是否采集全波长扫描，指定波长（Channel）扫描。扫描频率，步长等设置项，如下图所示。



5.1.3 点击File-Save，保存刚才建立的液质联用方法；

5.2 序列文件的设置 Sequence Setup

主要图标功能及应用

（1） 新建序列；　　（2） 打开已经保存的序列；

（3） 保存当前序列；　　(4)  打印当前序列；

（5） 复制行；　　（6） 粘贴行；

（7） 撤销操作；　（8） 向下文件各栏相同或按顺序增加

（9） 浏览文件名；　　（10） 用户名标签；

（11） 添加或去除列；（12） 根据 ID 改变位置或根据位置改变 ID;

（13） 硬盘容量信息；　　（14） 运行单个样品；

（15） 运行多个样品；　　（16） 对选择的样品进行积分；

（17） 开始分析；　　（18） 停止分析；

（19） 暂停或继续分析；　（20） 帮助

5.2.1 建立新样品序列的方式有两种，一种是打开 Sequence Setup 界面后直接点击各栏手动添加序列信息，序列中由左向右各栏分别为：

Sample Type－ 样品类型，分为标准样品（Standard），空白样品（Blank），未知样品（Unknow）和质控样品（QC），点击箭头选择样品类型；

File Name－文件名，可以手动输入也可点击鼠标右键浏览选择已有文件的文件名。

Path －存放该样品文件的文件夹，可以点击鼠标右键按左键<浏览>选择需要存储文件夹。

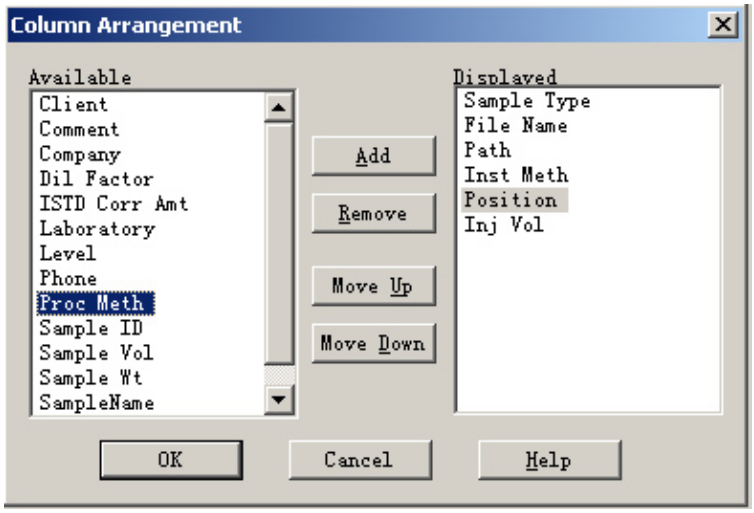
Inst Method－运行该样品需要调用的仪器方法，可以点击鼠标右键按左键<浏览>选择需要调用的仪器方法。

Position － 样品在自动进样器中的位置，手动输入。

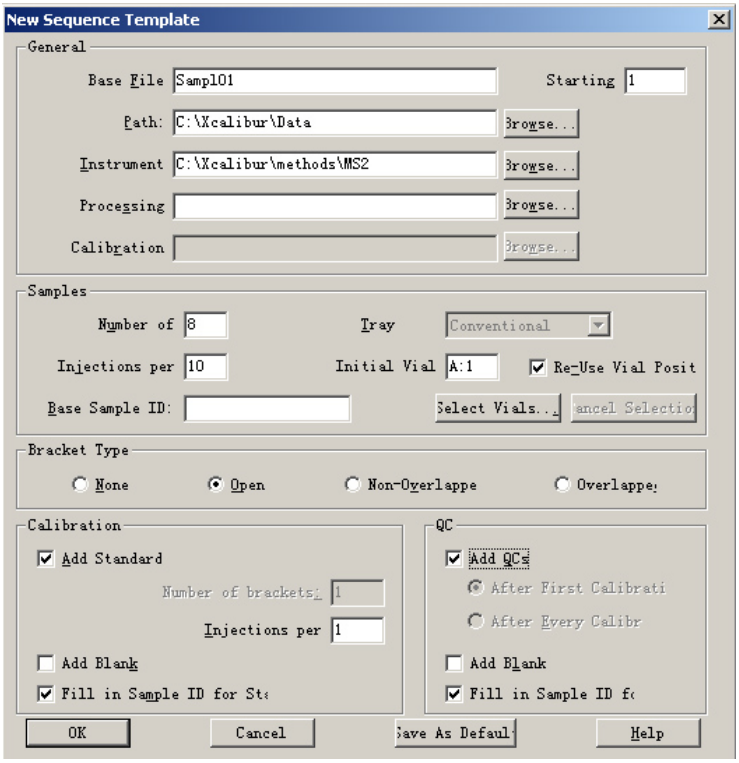
Inj Vol－进样量，当该值与调用的仪器方法中自动进样器设定的进样量不一致时，仪器根据该值决定进样多少。

以上各栏除样品类型外，点击鼠标右键均出现可以栏清除、栏拷贝、栏粘贴及插入行或删除行的界面，利用鼠标左键即可选择完成操作。其中在 File Name、Inst Method 和 Proc Method 栏点击鼠标右键均出现 Browse 项，用鼠标左键点击后即可浏览预打开的文件名或调用的仪器方法和积分方法。

点击按钮可以对序列中各项重新排列或添加新列，如下图所示：在左栏点击需要添加的选项，按 Add 即可完成添加到右栏，在右栏点击需要去除的选项，按 Remove 后即可完成从左栏去除，在右栏，选择某选项后点击 Move up 或 Move down 即可改变各项在 sequence 中的前后位置。



在 File 菜单下直接点击 New sequence 或在按钮中按即出现如图所示，在各栏中依次输入相关样



品信息即可完成新序列设定

5.2.2. 运行单个样品或多个样品

✧ 运行单个样品，在 Sequence 列表中鼠标点击选择需要运行的样品，单击按钮

则出现如下界面，在界面中可以改变选项包括：

Acquisition Options 一点击 Change Instruments 则出现仪器部件调用列表，被调用部件在 In Use 项下出现 Yes 表明分析样品调用该部件，可直接点击 Yes 去除。Start Instruments 为触发部件，一般为自动进样器，如下图所示，仪器分析样品调用泵、自动进样器、PDA 和质谱，系统采集数据从自动进样器完成进样开始；

Instrument Method 一在系统开始分析待测样品前（Start Up）或分析后（Shut Down）后系统运行的方法；

Programs 一在系统开始分析待测样品前（Pre）或分析后（Post）后系统运行的程序；

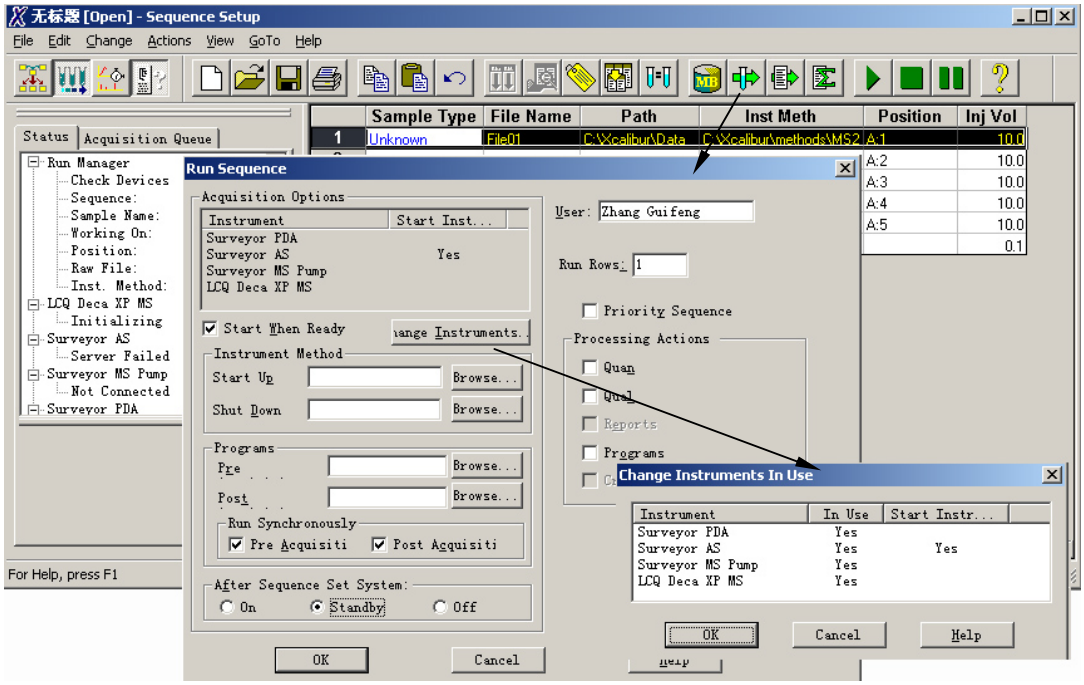
After sequence Set System 一完成分析序列后使系统处于运行状态（On），待机状态（Standby）和关闭状态（Off）；

User 一 用户名；

Run Row 一运行样品在序列中的排序；如果运行多个样品可在此直接输入样品在序列中的序号，如运行第一到第四个样品，则直接在此栏输入 1－4；则该功能与直接运行多个样品的按钮相同 ；

Priority Sequence －需要优先运行的序列；

Processing Actions －系统完成样品分析后是否需要定量、定性、打印报告或运行预设程序；



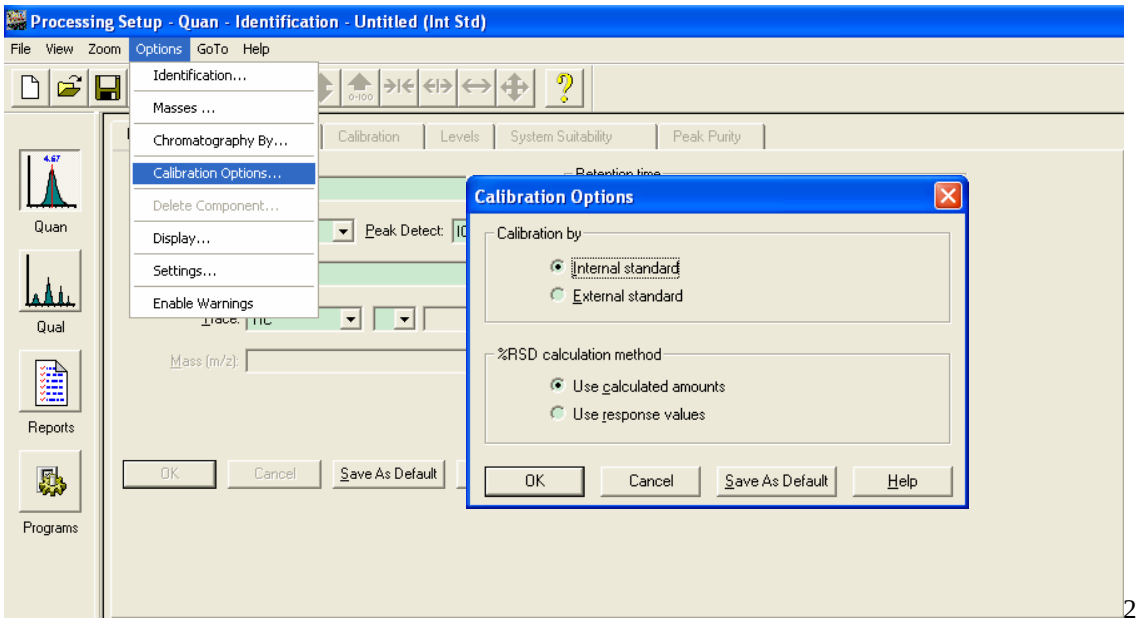
5.2.3. 点击 OK 按钮后仪器开始运行样品，通常需要将界面切换到在线检测界面，点击界面左上侧按钮  完成界面切换。同时按  打开仪器状态栏监测仪器状态。

5.3 数据后处理方法的设置 Processing Setup

在 Roadmap Homepage 界面点击 Processing Setup 或在主菜单中 Goto 菜单中选择 Processing Setup 即可进入该界面。Processing Setup 是设定样品定性或定量分析方法的软件，该软件由四大模块组成，即 Quan－定量，Qual－定性，Reports－报告和 Programs 程序

◆ **定量分析**:

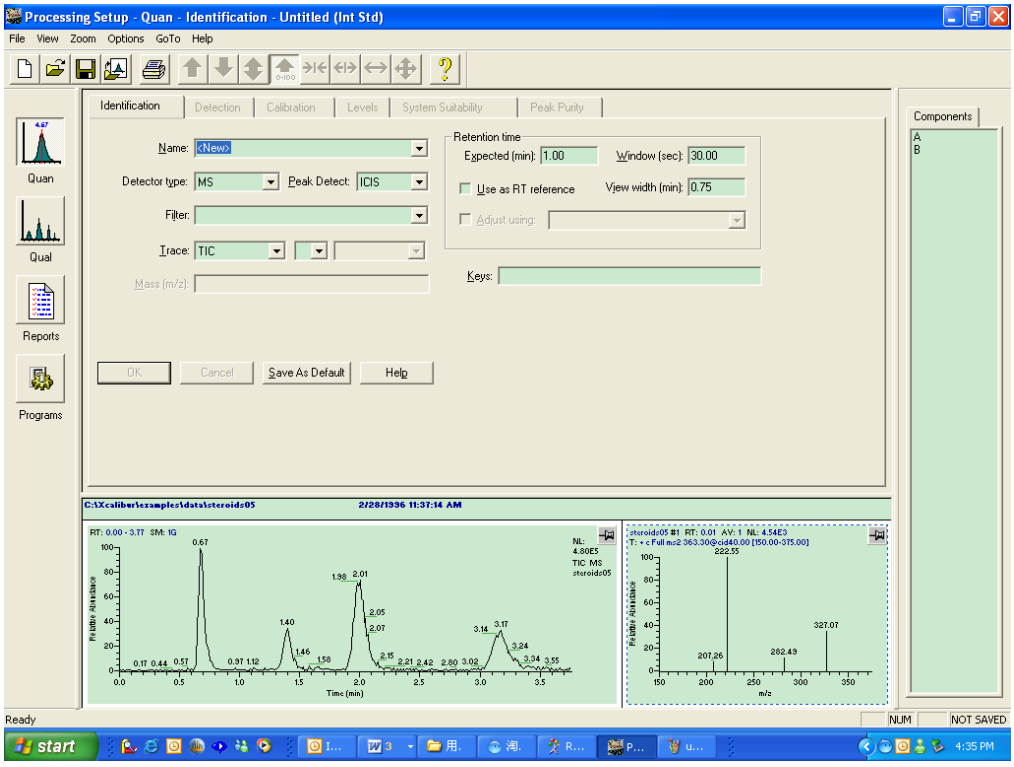
1) 工具栏中 Option 种选择“Calibration By…”，在对话框中选择外标法“External standard”或“Internal standard”。



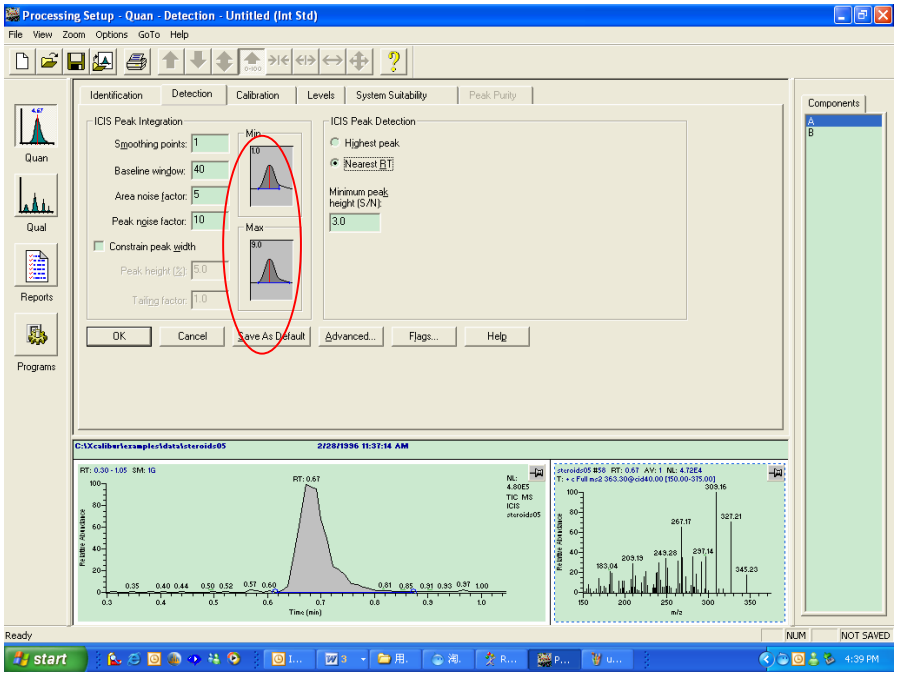
2）工具栏中“File”下点击“Open Raw File”，在对话框中选择标准曲线中最小浓度点的数据文件(eg steroids05.raw)打开。

3）**选择 Quan**

Identification 中激活质谱图，在指定峰的位置上拉一下，Expect Time 会自动更新。Name 输入该成份的名称（eg,A），Detector Type 选为 MS；Peak Detect 选为 ICIS(Genesis 也可以，Avalon 是针对 UV 和 PDA 检测器的)； Trace 通常选 TIC(也可选 Mass Range)；Windows 为峰时间设定的允许偏差，一般设为 30s；点击 OK 一下。Name 选“New”新建第二个组分；激活质谱图，重复以上操作，直至所有组分的命名完成，点击 OK。

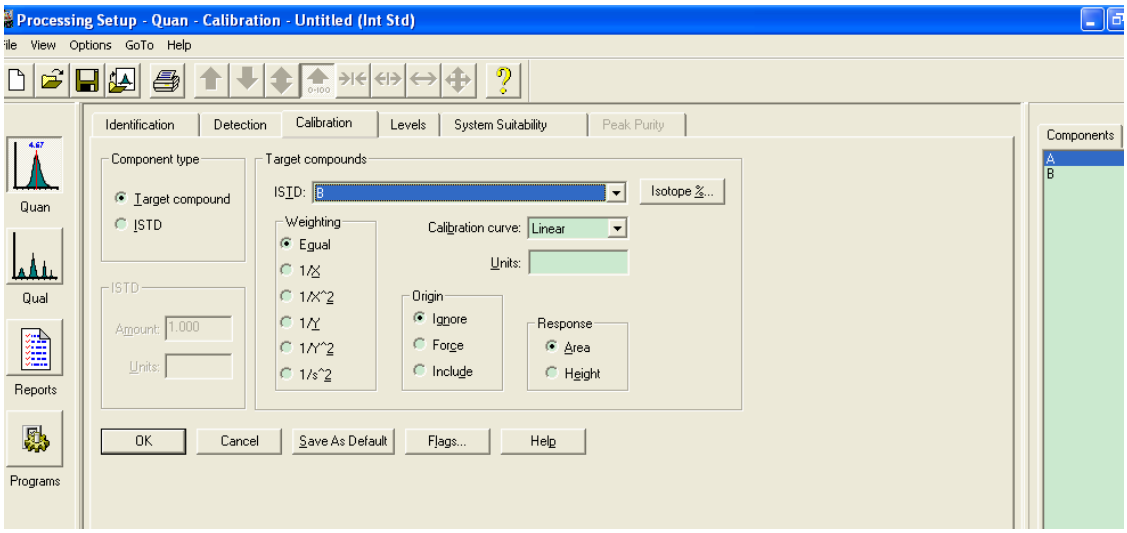


Detection 激活某一组分（eg，A）；在 ICIS Peak Integration 中设置积分参数；Smooth Points 应为 1-15 的奇数；下图红圈中显示每个积分参数的最大值和最小值以及对积分结果的影响，可根据它来设置积分参数。中间 ICIS peak Detection 中，通常选 Nearest RT（靠近目标物的峰）；其它组份也同上。

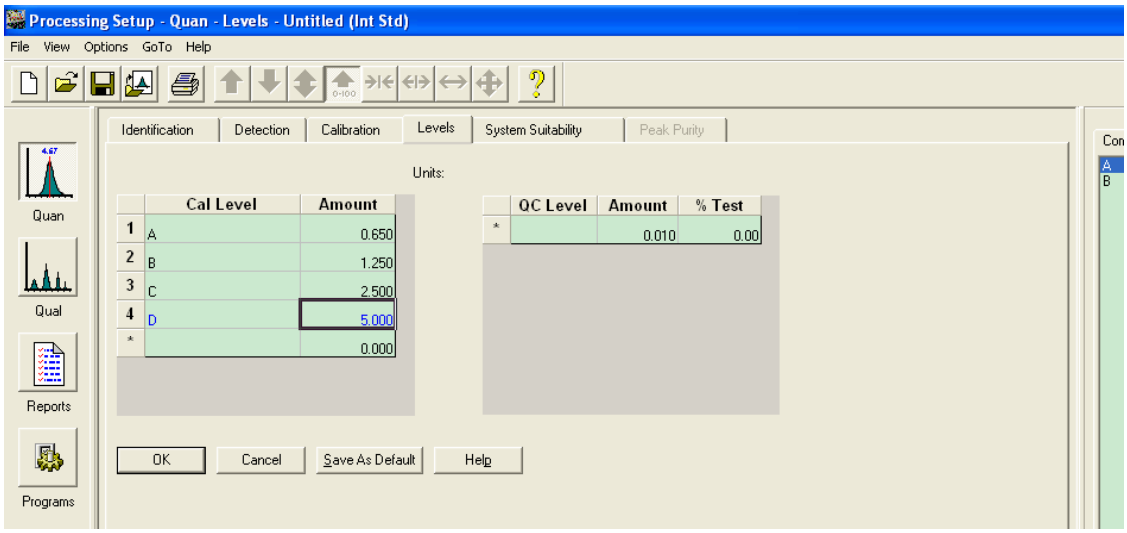


Calibration：在 Component Type 中选 Target Compond 。如果存在内标物，先设定内标物。应现选 ISTD，

并在“ISTD”为内标物填信息，如浓度。Weighting 中选 Equal 或 1 /X；Calibration Curve 中选 Linear；Unit 中输入浓度或质量单位； Orgin 中通常选择 Ignore；Response 中 Area；接着可以点击“Save as Default”存为模板, 其它组份也同上。最后打开每一个组份查看信息是否选全。



Levels：先选中一组分（eg，A），在“Cal Level”中输入标准曲线的给浓度点的水平代号， Amount 中输入对应组分在各个水平具体浓度，“Save as Default” ；其它组份也同上。



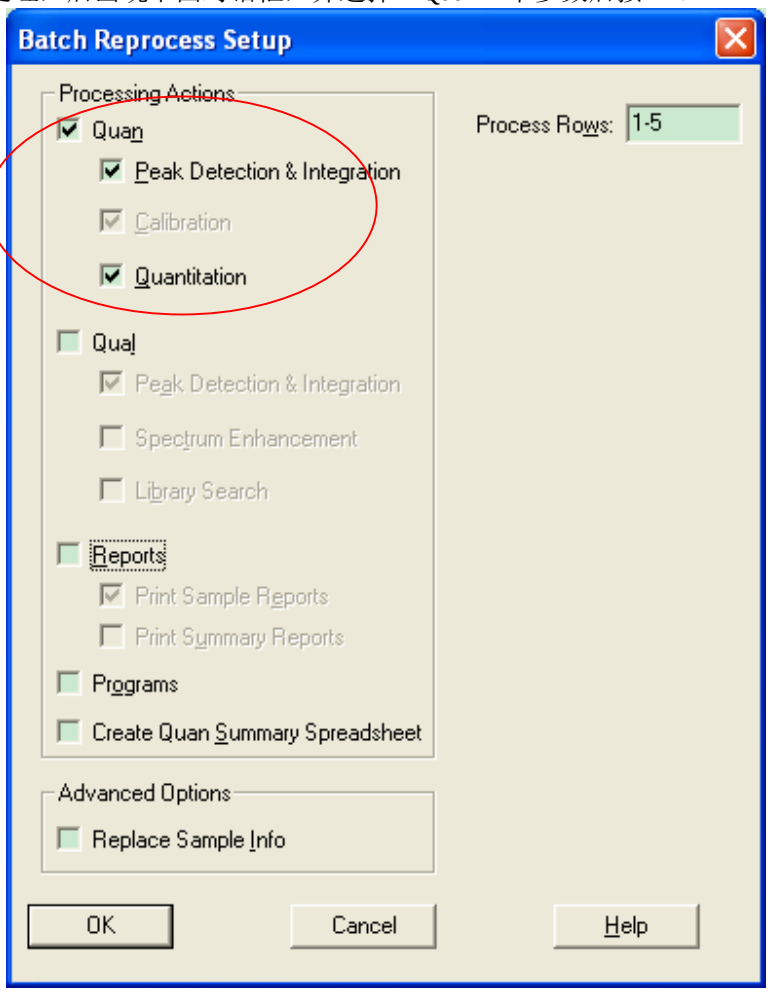
System Suitability：一般不需要设定。

4）点击 File-Save，保存该方法（.pmd）。

5）**Sequence Setup**：

点击 Sequence Setup ；打开一个需要定量处理的序列文件；或者手动输入，Sample Type 中选择标样或

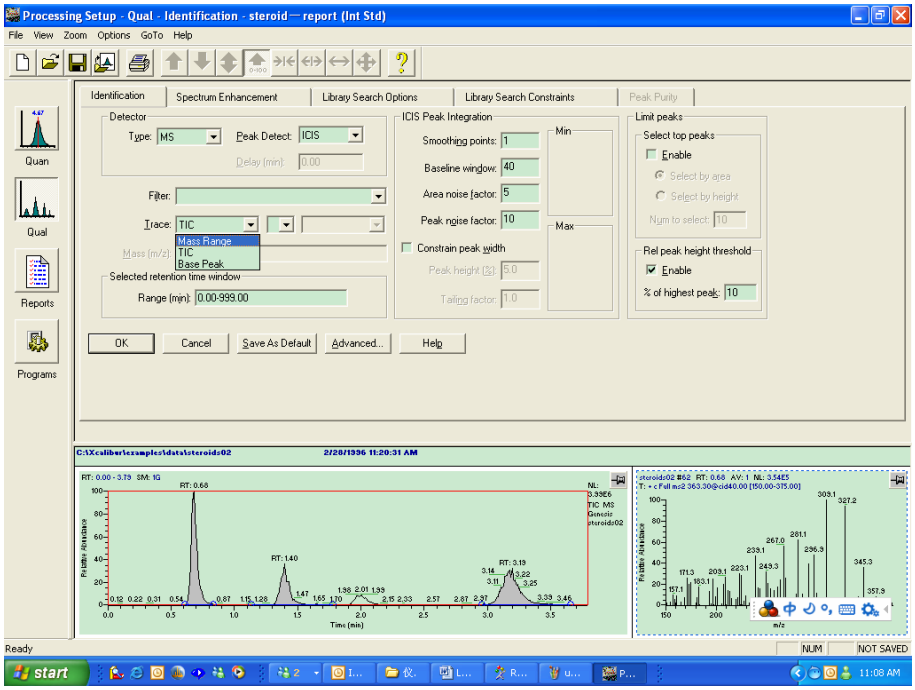
未知样，File Name 中选样品文件名，Proc Meth 中选择前面保存的定量处理方法，如是标样，在 Level 下拉选项中选择对应水平，Path 为文件保存的路径；保存该序列文件；点击 Batch Reprocess  进行序列批处理，后出现下面对话框，并选择“Quan”中参数后按 OK。

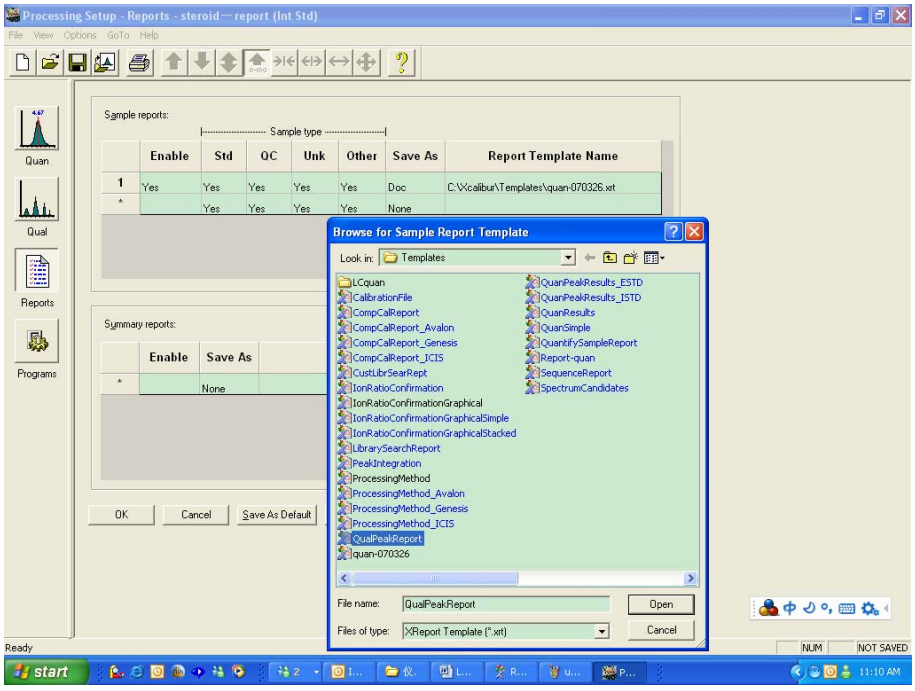


6）**Quan Brower**：Roadmap 点击 Quan Brower；打开前面保存的序列文件；察看标准曲线和未知标样的定量结果。

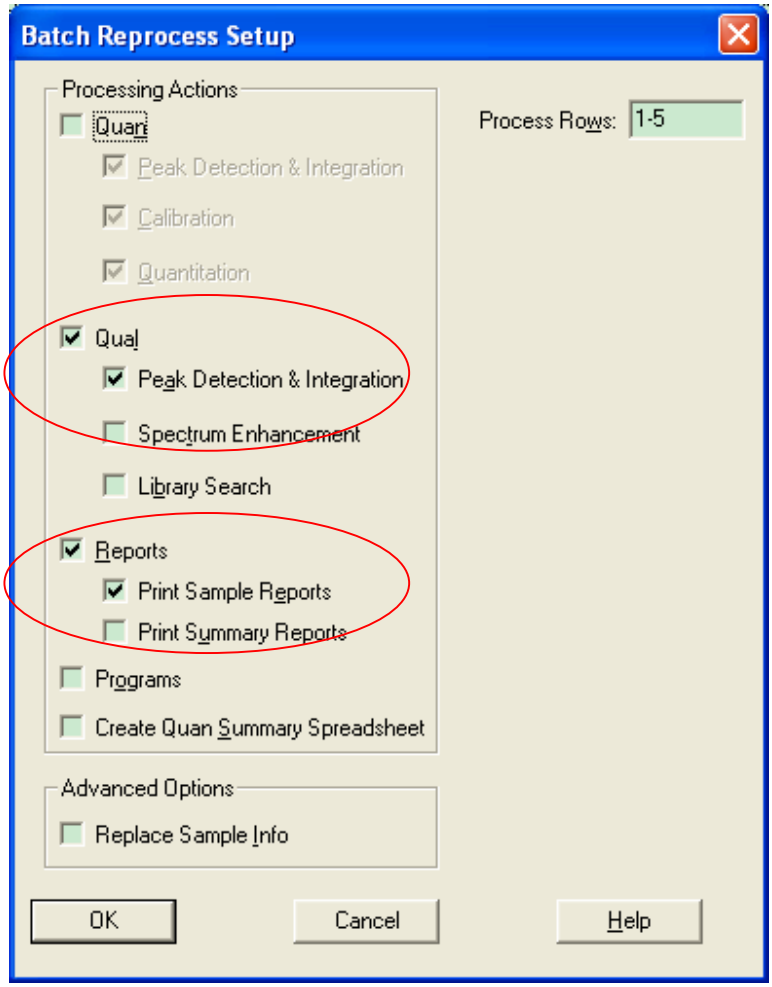
◆ **定性分析**

1) 在 Xcalibur 中进入 Processing Setup；点击 Qual，File 点击 Open Raw File，打开一个示范文件；Type 可选 MS 或 UV 或 PDA，视具体情况而定；如检测器器是 MS，则 Trace 可选 TIC 或 Mass Range（输入质量范围）或 Base Peak(某个质量数)；Range 栏中输入所要查找的时间段（分钟）；如检测器是 UV，则 Trace 选择具体的通道（结合你的仪器分析方法中所设，如 Channal A 220 nm）；点击 Report，激活 Enable，Save As 下选 Doc，Report Template 选择报告模板，可以是系统自带的模板（C:\Xcalibur\Template），也可以是自己建立的；按 OK；保存该定性方法（.pmd）。





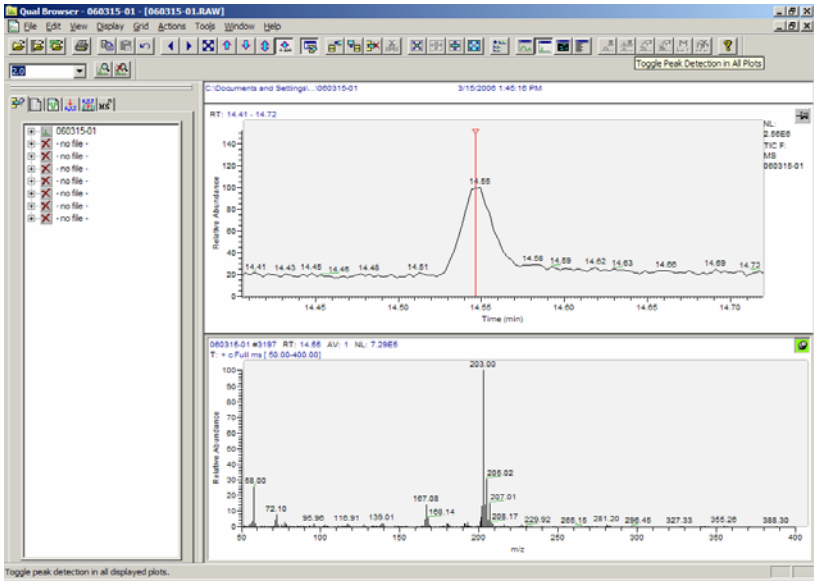
2) 点击 Sequence Setup ；打开一个需要定性处理的序列文件（.sld）；或者手动输入，Sample Type 中选择标样或未知样，File Name 中选样品文件名，Proc Meth 中选前面保存的定性后处理方法，Path 为文件保存的路径；保存该序列文件。点击 Batch Reprocess  进行序列批处理，出现下面对话框，选择 Qual 和 Reports, 点击 OK；



3) Start 下 My Recent Document 里察看刚刚生成的定性报告，该报告为 Word 文档，命名格式为***原始数据名_报告模板名***。

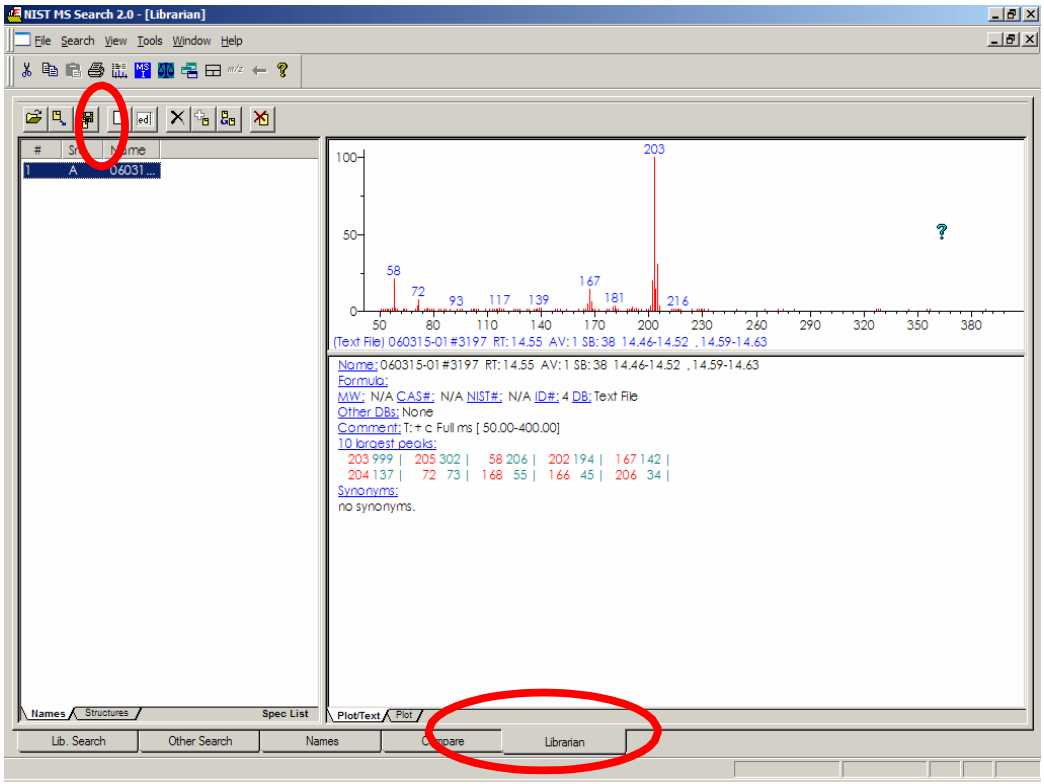
5.4 谱库检索浏览器 Library Browser

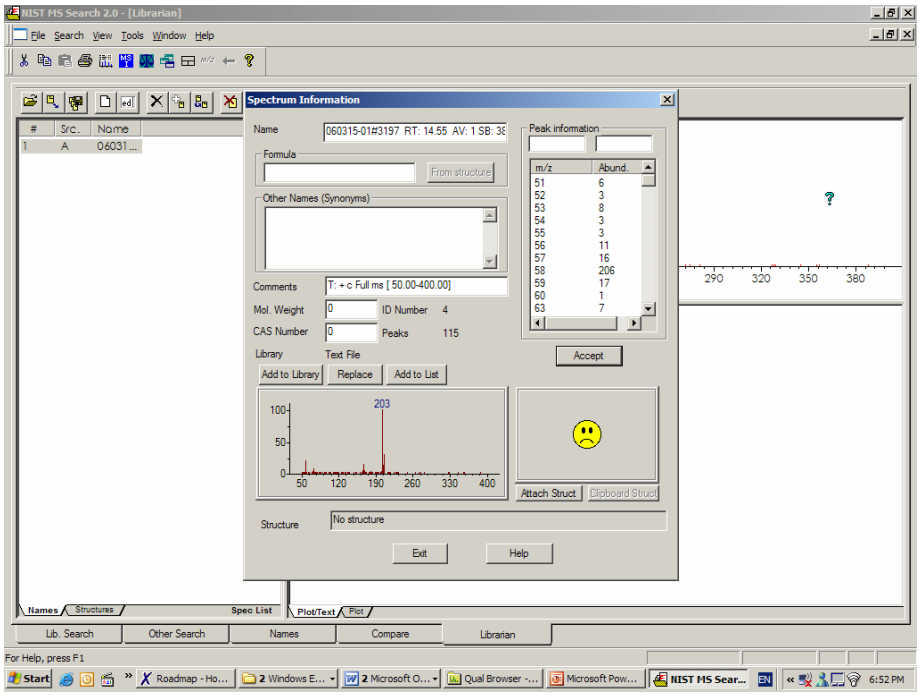
5.4.1 在Qual Browser中打开一个标准样品的原始数据。激活质谱图，选中目标色谱峰。下面出现这个目标化合物的质谱图。



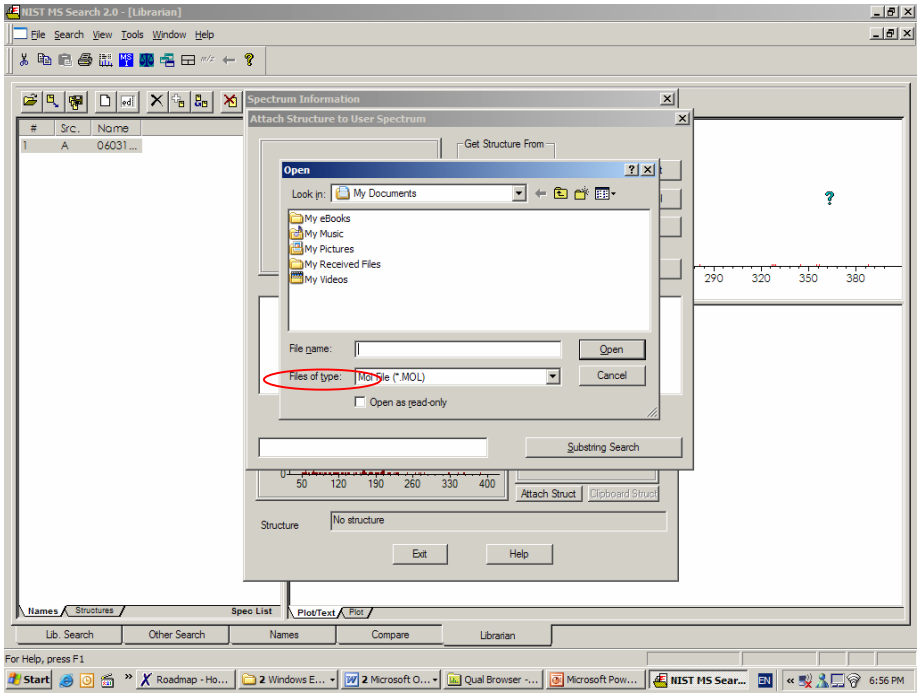
5.4.2 质谱图上点击鼠标右键，***Substract Spectrum*** 选择1 Range或2 Ranges 扣除背景。 扣完背景后，在质谱图上点击鼠标右键，***export to library browser*** 导入谱库搜索，点击 **overwrite**, 可以建立新的谱库。

5.4.3 选择 **Librarian**，点击菜单中有 **ed** 标记的图标进入 **Spectrum Information** 对话框。

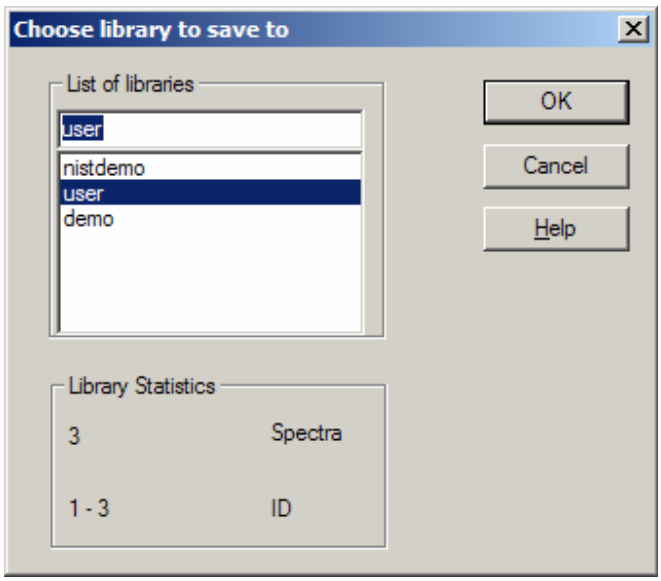




可在 ***Name*** 和 ***Other Names*** 里面键入名称；在 ***Formula*** 里面输入分子式，在 ***Mol. Weight***里面输入分子量。点击 ***Attach Struct*** 可以导入自己画的该化合物结构（.mol）。

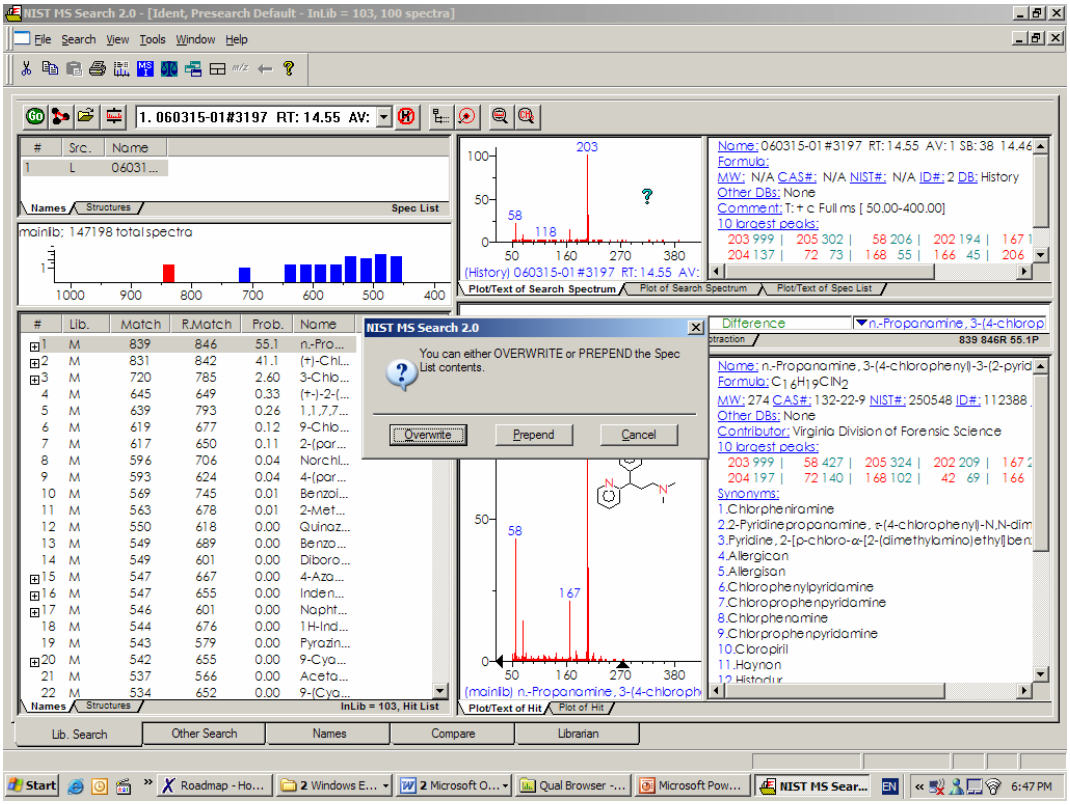


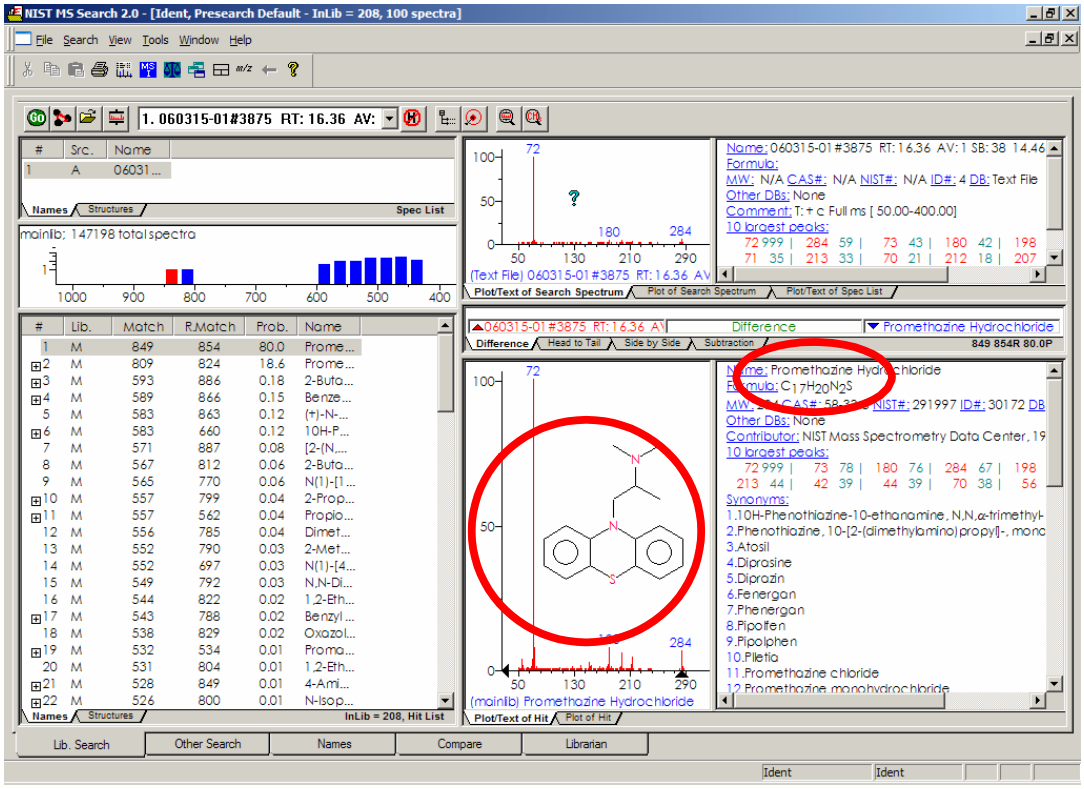
点击 *Add to library*，键入新库名，点击OK。以后可以不断充实该库。



要添加其它的化合物，再从第一步开始。

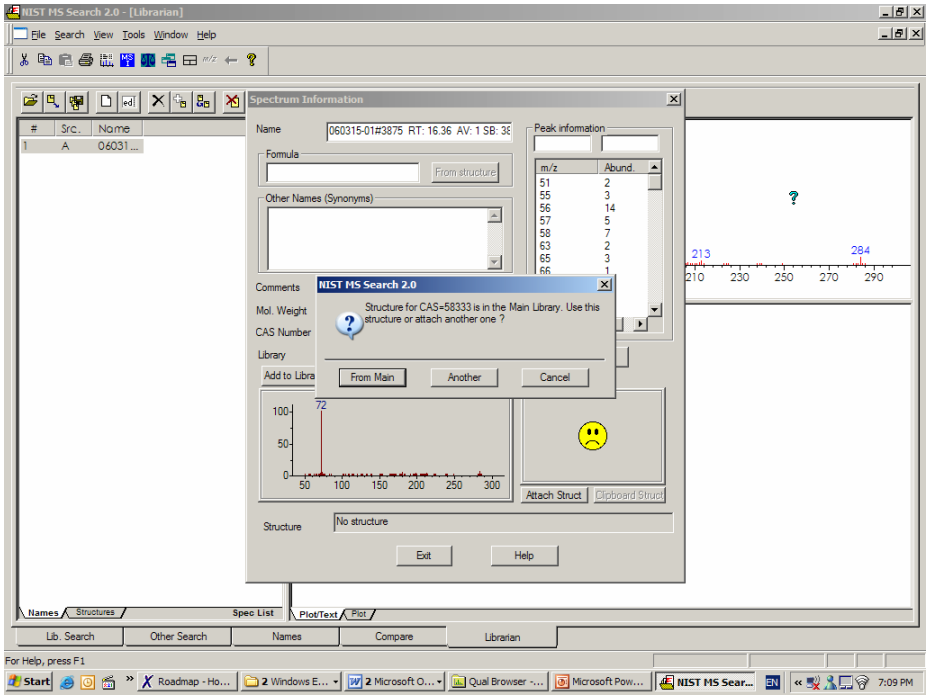
5.4.4　如果在第二步选择 ***Overwrite*** 后发现在 NIST 或已有的库中检索到了目标化合物。





Lib.Search 里面记录下该化合物的CAS number，然后再到 ***Librarian*** 里面，在点击“***ed***”, 在 ***Spectrum***

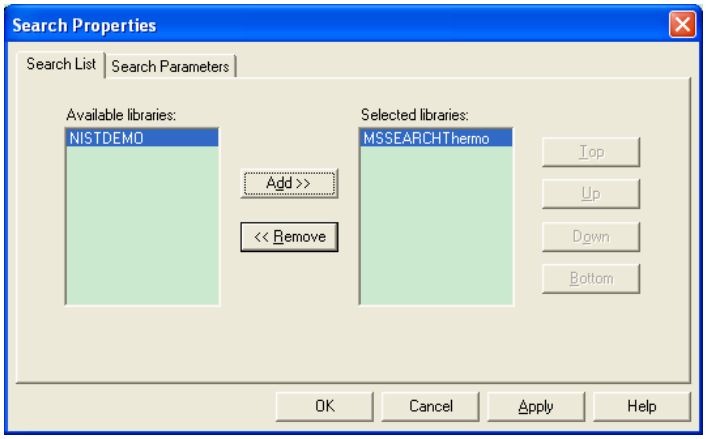
Information 里面的 CAS Number 中输入刚才记录的该化合物对应的CAS编号。
直接点击 **Attach Struct**，选择**From Main**，则有结构式的就会加入结构。



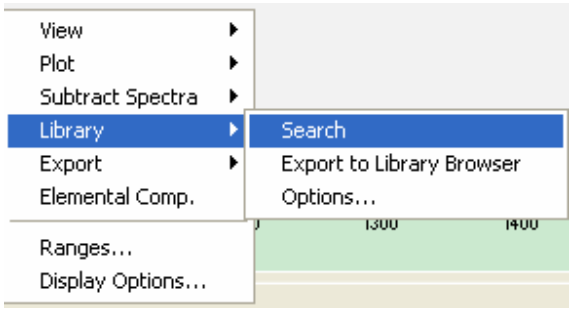
然后点击 **From Structure**，软件就会自动计算出分子式和分子量。接下去的步骤和上面的一样。

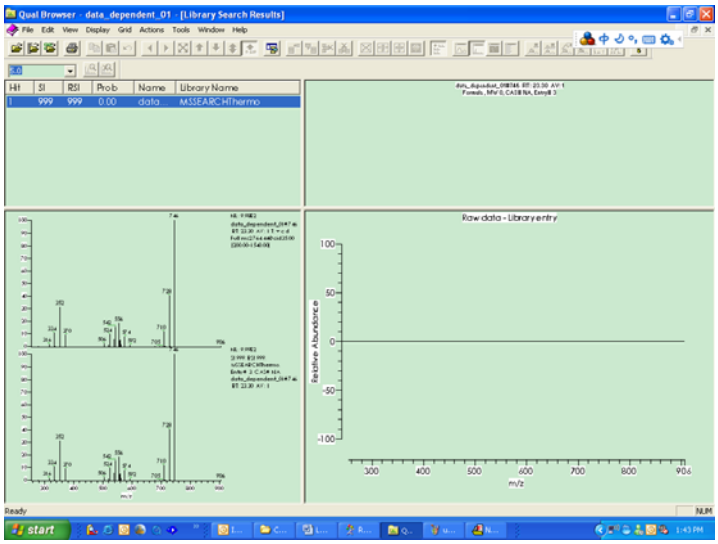
5.4.5 将C:\Program Files\NISTMS目录下新建的谱库（如新谱库名Thermo）文件夹（如MASSSEARCHThermo）拖动到MSSEARCH文件夹下。

5.4.6 回到Qual Browser，右击质谱图，选择Library – Options，设置检索的谱库。



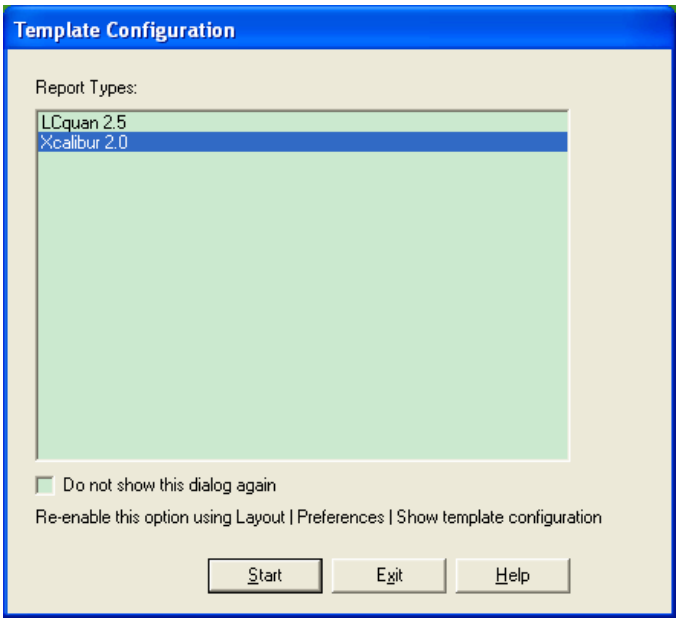
5.4.7 在Qual Browser界面，右击质谱图，选择Library – Search，自动进行库检索。





5.5 Xreport 编辑报告模板

5.5.1 桌面双击Xreport图标，出现如下对话框

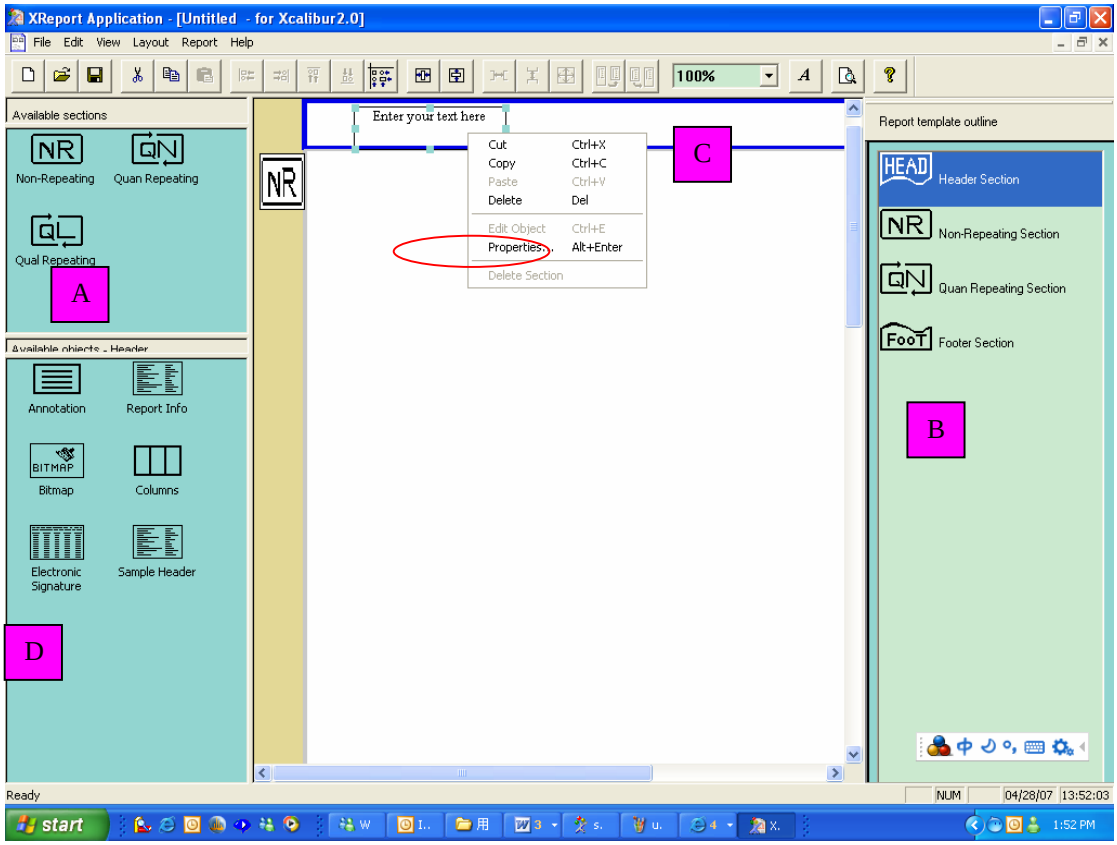


选择Xcalibur 2.0；如果你使用LCquan做定量分析，可以选择LCquan 2.5；二者的编辑有一定的差别，点击Start。

5.5.1.2 假设建立的是定量报告模板。

1) 下图A区域是报告的几个模块，可以根据具体情况选择，主要是定性或定量之分。

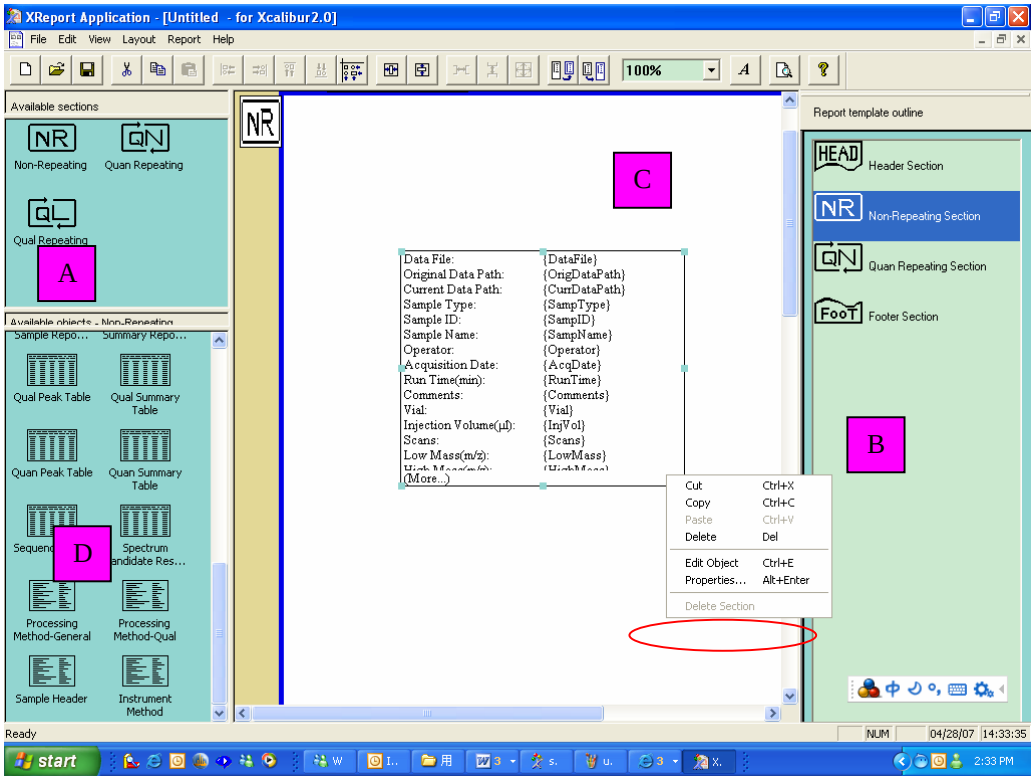
- Non-Repeating–非重复部分，该部分一般指样品信息（Sample Header），总离子流图（TIC）等，在报告中只会出现一次，不会重复出现。拖动该部分添加到中间空白处，此时注意B区报告大纲中会出现该项。
- Quan-Repeating–定量重复部分，定量报告模板首选。该部分一般指定量校正曲线（Component Calcurve），用于定量的每个组分的色谱峰（Chromatogram）等，在报告中会重复出现（几个组分，出现几次）。拖动该部分添加到中间空白处，此时注意B区报告大纲中会出现该项。
- Qual-Repeating–定性重复部分，定性报告模板的首选。该部分一般指质谱图（Spectrum）等，在报告中会重复出现（检测到几个峰，就会对应出现几个质谱图）。



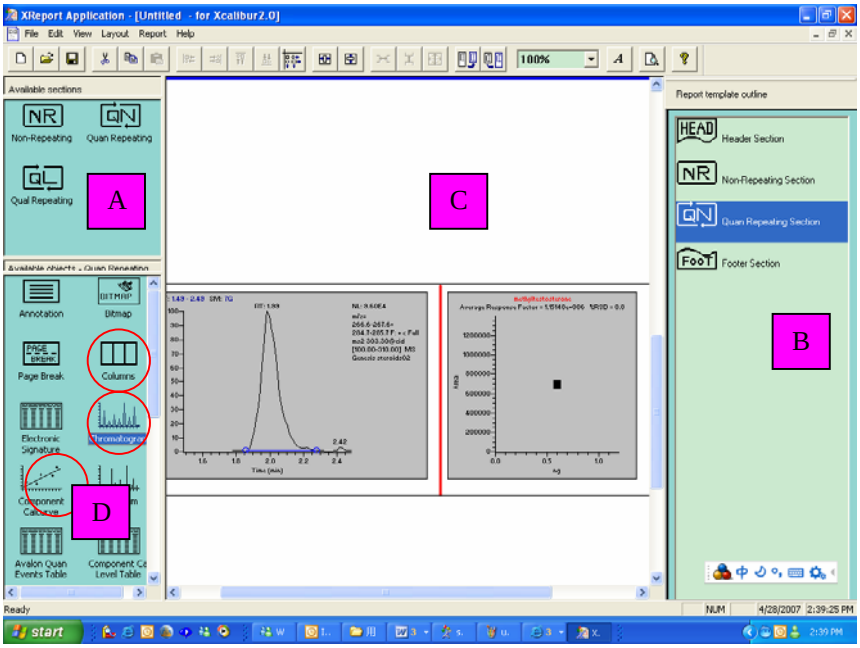
2) B 区报告大纲中有四个部分，中间两部分是我们 1）中拖动添加的，Head 和 Foot 是自动生成的。点击 B 区的 Head，D 区中是 Head 这部分可以选择的内容。如拖动 Annotation 到中间蓝框中，右击选择 Properties，Data 中可以设置文本内容，Attribute 中可以设置分栏，位置（如居中），行间距，Font 中可以设定字体等。可以拖动鼠标调整文本框的大小。

3) 点击 B 区的 Non-Repeating Section, 同样 D 区中是 NR 这部分可以选择的内容。如拖动 Sample Header

（样品信息）到中间蓝框中，右击选择 Properties，Data 中可以添加和删除显示项目以及项目排序，Attribute 中可以设置分栏，位置（如居中），行间距，Font 中可以设定字体等。可以拖动鼠标调整窗口的大小。你也可以继续添加 Quan Peak Table 到 NR，邮件 Properties 的功能相同。



4) 点击 B 区的 Quan-Repeating Section, 同样 D 区中是 QN 这部分可以选择的内容。先拖动 Column 到中间蓝框中，再拖动 Chromatogram 到 Column 的左边，再拖动 ComponentCalcurve 到右边。最后可以拖动鼠标调整窗口的大小。



你也可以添加其他内容到 QN 部分，如 Quan Peak Summury 等，右键 Perperties 的功能基本相同。

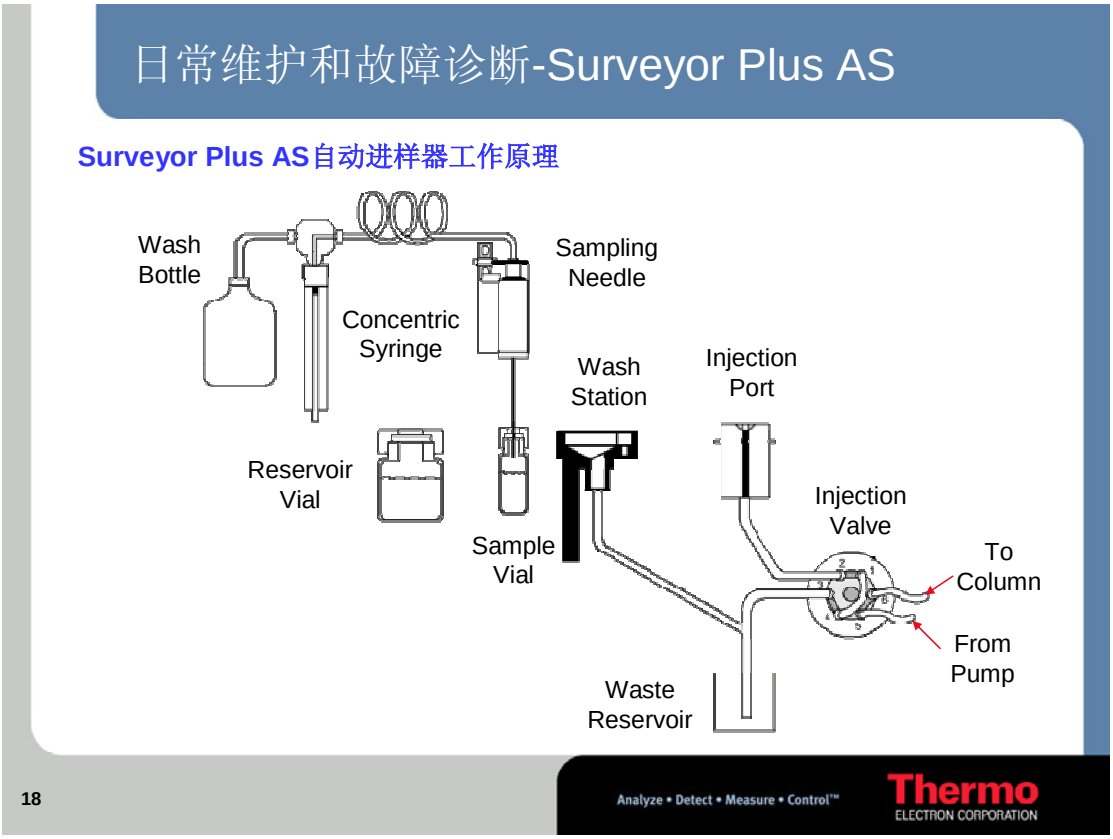
5) 点击 B 区的 Foot, 同样 D 区是这部分可以选择的内容。拖动 Electronic Signature（电子签名）到底部蓝框中。

6) 一个简单的定量报告模板生成了，点击 File-Save As 保存该报告模板。

第六章 仪器维护

具体定期的维护建议参见培训教材，这里不再重复列出。

6.1 Surveyor As 自动进样器



6.1.1 Wash Bottle中是洗针溶剂，为防止长菌和长藻，需要定期（约一个月）更换。一般可以选择CH_3OH和H_2O（1：1），也可以根据你具体分析的化合物灵活处理。

6.1.2 LC-MS的方法中自动进样器部分，Wash Volumn要设定，默认值为0，Wash Volumn可以清洗针的内壁，防止交叉污染，可以使用400-1000 uL。

6.1.3 LC-MS的方法中自动进样器部分，Post Injection Valve设为0，立即切换，防止污染定量环。

6.1.4 换针和清洗拆除进样座。

6.1.5 常用配件

Assembly， Needle 60053-60102（P/N）

Assembly，Needle Tubing 60053-60013（P/N）

Lubricant, Triflow （润滑油） 1611-0030（P/N）

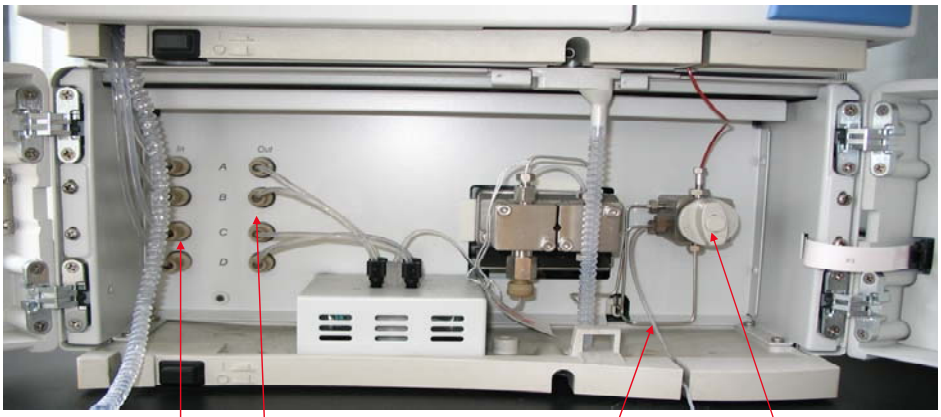
Syringe, concentric, 250 µL F1100-020（P/N）

Seal, Rotor, PPS（Surveyor AS Plus） 00109-03-00007（P/N）



6.2 Surveyor LC Pump 液相泵

日常维护和故障诊断-Surveyor Plus LC Pump

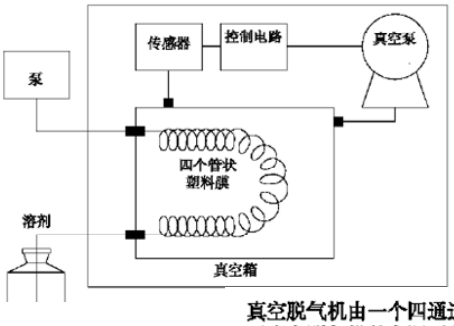


Analyze • Detect • Measure • Control™
Thermo ELECTRON CORPORATION

日常维护和故障诊断-Surveyor Plus LC Pump

在线真空脱气机工作原理

总览（只表示四个溶剂通道中的一个）



真空脱气机由一个四通道（有四个管状塑料膜）真空箱和一个真空泵构成。打开真空脱气机的电源开关后，控制电路即开启真空泵，真空泵运行使真空箱内产生部分真空。真空度由压力传感器测定。根据传感器信号，真空脱气机通过运行或关闭真空泵来维持真空度。

溶剂瓶中的溶剂在 LC 泵的抽动下流过真空箱内的特殊管状塑料膜。当溶剂经过真空管时，溶剂中溶解的气体将渗过塑料膜进入真空箱。到达真空脱气机出口时，溶剂几乎已被完全脱气而不含有任何气体。

Analyze • Detect • Measure • Control™
Thermo ELECTRON CORPORATION

日常维护和故障诊断-Surveyor Plus LC Pump

使用注意事项



溶剂

棕色玻璃瓶会避免藻类的生长。

经常过滤溶剂以免其中微粒永久性阻塞毛细管。

避免使用下述可腐蚀钢铁的 溶剂：

碱金属卤化物及其酸溶液(如：碘化锂、氯化钾等)。

高浓度无机酸，如硝酸、硫酸.

可能含有过氧化物的色谱纯醚(如THF、二氧六环、二丙基乙醚)。这些在 使用前必须用干燥氧化铝过滤除去过氧化物。

含强络合剂的溶液(如EDTA，乙二胺四乙酸)。

四氯化碳与2-异丙醇或四氢呋喃的混合液。

Analyze • Detect • Measure • Control™ Thermo ELECTRON CORPORATION

日常维护和故障诊断-Surveyor Plus LC Pump

检查溶剂过滤器

—拧开脱气机出口或比例阀入口管线，此时溶剂会因为重力流出，脱气机或溶剂过滤头堵塞时，溶剂会流出不畅或不流出。

—查看过滤器是否变色.

—临时取下过滤器，检查柱前压力是否正常.

清洁溶剂过滤器

将堵塞的溶剂过滤器从瓶头组件中拿下。将堵塞的过滤器放在装有浓硝酸 （35%）的烧杯里浸一小时。

用二次蒸馏水彻底冲洗过滤器。

将过滤器重新装好。

注意：不要使用没有安装溶剂过滤器的系统.

Analyze • Detect • Measure • Control™ Thermo ELECTRON CORPORATION

Part Number：

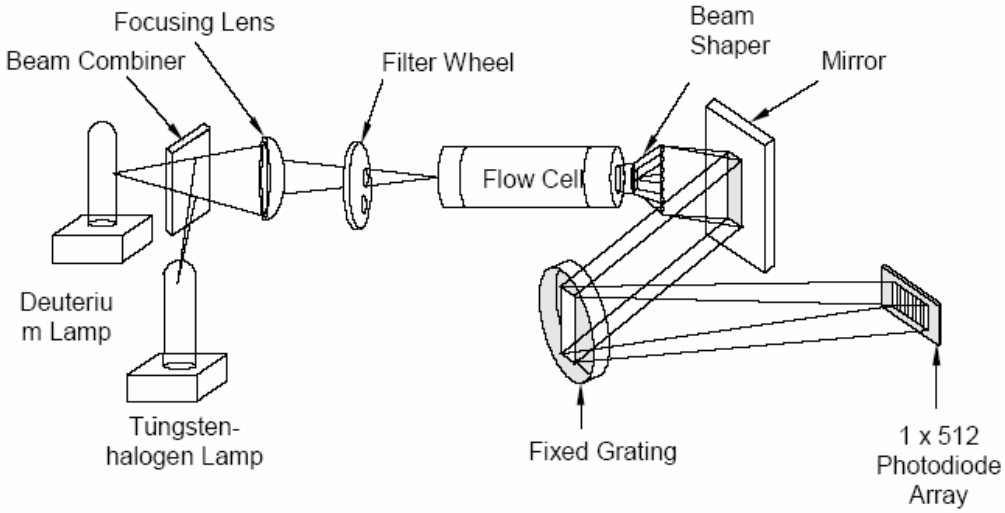
Line Filter Frit 00950-30009（P/N）

O-ring Drain valve 00950-30029（P/N）

Solvent Reservoir Filter, Teflon A4258-010（P/N）

6.3 Surveyor PDA 二极管阵列检测器

PDA 检测器基本上很少需要维护，需要根据使用情况清洗流通池和更换氘灯和钨灯。



Surveyor PDA 光路图

Part Number：

Flow cell assembly, with inlet/outlet tubing and fittings

(5 cm Lightpipe) 803237（P/N）

Deuterium Lamp Assembly (pre-aligned) 108052（P/N）

Tungsten-halogen (W) Lamp Assembly (prea-ligned) 803247（P/N）

6.4 TSQ Quantum

6.4.1 清洗金属毛细管（Capillary Tube）

6.4.2 清洗API Stack

工具：无尘纸 无粉手套 有机溶剂（异丙醇，乙醇）超声仪

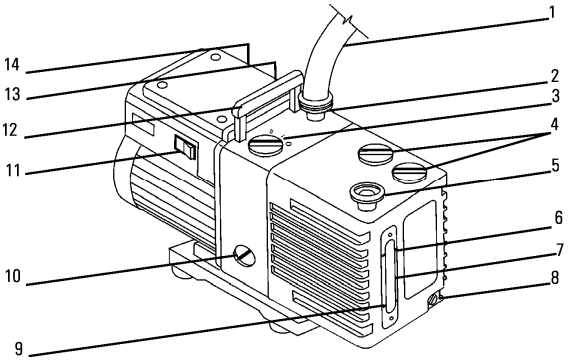
常用配件：

Tubing, fused silica, 0.10 mm ID × 0.19 mm OD 00106-10499（P/N）

Ferrule, 0.012 in. ID, Kel-F	00101-18116（P/N）
Ploytyrosine-1，3，6 Tuning and Calibration Solution	00301-22925
Kit, Needle,32-gauge	70111-62035

6.5 机械泵

有机质谱仪的离子源、质量分析器和检测器必须在高真空状态下工作，以减少本底干扰，避免发生不必要的离子-分子反应。仪器真空状态显示的 Convectron Pressure 前级真空压力， 由机械泵提供。质谱检测的高真空区域（Ion Gauge Pressure）是靠机械泵和分子涡轮泵串联完成的。



1	前线真空软管	8	排油口塞子
2	入口	9	最低油位线
3	震气阀	10	模式选择器
4	加油口塞子	11	开关
5	出口	12	手柄
6	最高油位线	13	电压指示器
7	油位观察窗	14	电源连接器

前级泵的出口处一定要用管子接到室外。不进行样品分析时，定期打开震气阀，用来去除机械泵里的一些水气和杂质。

当看到机械泵里有很多杂质，泵油颜色改变后，需更换泵油，换油需要彻底关机，把泵架在小板凳或别的架子上，打开下方放油口，将油倒入适当的容器里面，放尽后，关闭放油口，然后从上面开口倒入新油，油量界于两者刻度线之间。具体操作参见“离子阱液质操作维护教程”。

Pump oil, rotary-vane vacuum pump, 1L 00301-15101（P/ N）

附录 A　溶液制备

本附录介绍了如何制备用于优化校准质谱仪的调谐校准溶液和利血平溶液。

附录 A 包括以下几部分

- 调谐校准溶液
- 利血平溶液

危险：避免暴露在有害物质中。当用户使用溶液或腐蚀性物质时，要戴保护手套和安全眼镜。此外，还包括废液的处理和合理的通风。参考用户的供应商提供的化学品安全信息卡 (MSDS)，获得正确处理相关溶液的方法。

用户在处理化学品和未知样品时，一定要提高安全警惕。**阅读并了解下面配制溶液所用化学品的毒性。**通过适当的方法处理所有实验室用试剂。

化学品安全信息卡(MSDS)提供了有毒有害化学品的综合信息。MSDSs 同时也提供了正确处理化合物的方法，发生意外救护方法和溅出或泄漏时的补救措施。法律规定化学品生产商和供应商必须以 MSDS 的形式为其用户提供最新的健康和安全信息。用户要阅读每一种所使用的化学品的 MSDSs。本手册中使用的有害化学品举例如下：

- 乙酸
- 甲醇
- 利血平

A.1 调谐校准溶液

本部分提供了两种制备适合调谐校准质谱仪的聚酪氨酸–1,3,6 溶液的方法。

第一种方法介绍了如何用装有预先称量好一定质量的聚酪氨酸干燥粉末(外观为渣滓状)的 20-mL 瓶(P/N 00301-22925)重新配制调谐校准溶液。这种小瓶可以在附件包中找到。

第二种方法介绍了如何使用用户储备的干燥化学品制备调谐校准溶液。

在附件包中还提供一瓶 20-mL 聚酪氨酸-1,3,6 溶液(P/N 00301-22924)，无需稀释。该溶液的浓度适合直接注射到质谱仪中。

表 A-1 给出了附件包中提供的聚酪氨酸标准物的概要。

表 A-1. 附件包中提供的聚酪氨酸标准物

标准物描述 (标签上)	热电公司产品号	C S 生物公司产品号
聚酪氨酸标准物 液态	00301-22924	CS0272L
聚酪氨酸标准物 固态	00301-22925	CS0272S

使用预混合瓶制备聚酪氨酸– 1,3,6 调谐校准溶液

按如下步骤用装有聚酪氨酸固体(P/N 00301-22925)的预混合瓶，重新制备聚酪氨酸–1,3,6 调谐校准溶液：

1. 从附件包中取出装有预混合的聚酪氨酸试剂的瓶子。
2. 用0.1%甲酸50:50甲醇/水溶解瓶中的聚酪氨酸粉末，并定容至总体积为20 mL。即可得到Tyr浓度为4 ng/µL，$(Tyr)_3$浓度为12 ng/µL和$(Tyr)_6$浓度为24 ng/µL的混合溶液。(Tyr—酪氨酸)
3. 将瓶上贴上*Polytyrosine–1,3,6 调谐校准溶液*的标签，并储存在冰箱内。

使用用户储备的干燥化学品制备聚酪氨酸–1,3,6 调谐校准溶液

按照如下步骤利用储备的干燥化学品制备 250 mL 聚酪氨酸–1,3,6 调谐校准溶液：

1. 称取1 mg L-tyrosine，3 mg $(Tyr)_3$和6 mg $(Tyr)_6$并转移至洁净干燥的250-mL容量瓶内。
2. 用 0.1%甲酸 50:50 甲醇/水溶解聚酪氨酸混合物，并定容至总体积为 250 mL。即可得到 Tyr 浓度为 4 ng/µL，$(Tyr)_3$ 浓度为 12 ng/µL 和$(Tyr)_6$ 浓度为 24 ng/µL 的混合溶液。(Tyr—酪氨酸)
3. 将该溶液转移到贴有 *Polytyrosine–1,3,6 调谐校准溶液*标签的干净的瓶中，并储存在冰箱内。

表 A-2 给出了制备调谐校准溶液所用化合物的基本信息。

表 A-2. 聚酪氨酸调谐校准标准概要

化合物	分子式	分子量	销售商	销售商 P/N
L-Tyrosine	$C_9H_{11}NO_3$	181.19	Sigma	T8566
Tyr-Tyr-Tyr	$C_{27}H_{29}N_3O_7$	507.54	Sigma	T2007
(Tyr) 6	$C_{54}H_{56}N_6O_{13}$	997.07	Sigma	T1780

A.2 利血平溶液

按下面介绍的方法制备利血平储备溶液。然后用连续稀释法将储备溶液制备成化合物优化所用溶液。

利血平储备溶液

按下列步骤制备浓度为 1 µg/µL 的利血平溶液储备液，溶剂为含 1%乙酸的甲醇：

1. 在附件包中找到盛有1 g利血平粉末的瓶子，称取10 mg利血平并将其转移至10 mL容量瓶内。
2. 向10 mL容量瓶中加入1%的乙酸甲醇溶液，定容。
3. 彻底混合均匀。
4. 将溶液转移至一个洁净、干燥的瓶中。
5. 将瓶子贴上*Reserpine储备溶液 (1 µg/µL)*的标签。

利血平样品溶液

按下列步骤制备 1 mL 利血平浓度为 2 pg/µL (3.29 fmol/µL)的化合物优化溶液，溶剂为含 1%乙酸的甲醇：

1. 用吸量管移取20 µL利血平储备溶液(1µg/µL)，放入洁净的聚丙烯微量离心管中。
2. 向管中加入980 µL含有1%乙酸的甲醇。
3. 将该溶液(20 ng/µL)彻底混合均匀。
4. 转移10 µL浓度为20 ng/µL的溶液至洁净的聚丙烯管中。
5. 向管中加入990 µL含有1%乙酸的甲醇。
6. 将该溶液(200 pg/µL)彻底混合均匀。
7. 将转移10 µL浓度为200 pg/µL的溶液至洁净的聚丙烯管中。
8. 向管中加入990 µL含有1%乙酸的甲醇。
9. 将该溶液(2 pg/µL)彻底混合均匀。
10. 把瓶子贴上*TSQ Quantum Discovery MAX利血平样品溶液 (2 pg/µL)* 并将其储存在冰箱内。

附录 B　仪器方法建立指南

本附录提供了建立仪器方法的指南。这里所提供的设置是选用聚酪氨酸样品来示范不同的分析技术，因此，可能不能直接应用于用户的实际使用。用户要建立一个仪器方法，首先需要通过优化自己的化合物来精细校准仪器。

下表中所提供的仪器设置可以通过 Tune Master 中的 Instrument Method Development（仪器方法建立）工作区域应用于质谱仪。通过这些设置，用户在自己建立一个方法前，可以评估仪器分析目标化合物的性能状况。用户在使用 Tune Master 获得所需要的结果后，扫描事件扫描结果可以复制粘贴至 Instrument Setup（仪器设置）窗口。

从 Tune Master 中拷贝扫描事件：在 Instrument Method Development（仪器方法建立）工作区域中的 Define Scan（定义扫描）视图中点击右键，然后从快捷菜单中选择 **Copy Scan Event**。将扫描事件粘贴至 Instrument Setup（仪器设置）：在 Scan Editor（扫描编辑器）中的 Instrument Setup（仪器设置）页面上单击右键，从快捷菜单中选择 **Paste Scan Event**。

表 B-1. Q1MS 全扫描仪器参数

能量模式	起始质量数(m/z)	最终质量数(m/z)	扫描时间(s)	Q1 峰宽(u)	CID 源	数据采集	Q2 CID 气
FM/LM	150.000	1050.000	0.65	0.70	关	平均 10 个谱图	关

表 B-2. Q3MS 全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	Q3 峰宽(u)	CID 源	数据采集	Q2 CID 气
中心质量	182.082	6.000	0.20	0.20	关闭	平均 10 个谱图	关

表 B-3. MS/MS 母离子全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	子离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	Q1 峰宽(u)	Q3 峰宽(u)	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压（V）	Q2 CID 气(mTorr)
中心质量	182.082	10.000	0.20	136.076	20	0.70	0.70	关	平均10个谱图	-3	0.8*

* 在母离子扫描模式下，Q2 CID 气体压力会降低，以保持峰形和峰分辨度。

表 B-4. MS/MS 子离子全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	母离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	Q1 峰宽(u)	Q3 峰宽(u)	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压（V）	Q2 CID 气(mTorr)
中心质量	182.082	10.000	0.20	182.082	18	0.70	0.70	关	平均10个谱图	-3	1.5

表 B-4. MS/MS 子离子全扫描仪器参数

能量模式	中心质量数(m/z)	扫描宽度（u）	扫描时间(s)	中性失脱离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	Q1 峰宽(u)	Q3 峰宽(u)	电荷状态	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压（V）	Q2 CID 气(mTorr)
中心质量	182.082	10.000	0.20	17.027	18	0.70	0.70	1(Q1&Q3)	关	平均10个谱图	-3	1.5

表 B-6. SIM Q1MS 或 Q3MS 扫描模式仪器参数

质量数(m/z)	扫描宽度(u)	扫描时间(s)	Q1 峰宽(u)	Q3 峰宽(u)	使用调谐过的	CID 源	数据采集	Q2 CID 气体
182.082	**6.000**	**0.20**	**0.70**	**0.70**	开	关	平均 10 个谱图	关
508.208	**6.000**	**0.20**	**0.70**	**0.70**	开	关	平均 10 个谱图	关
997.398	**6.000**	**0.20**	**0.70**	**0.70**	开	关	平均 10 个谱图	关

表 B-7. SIM 母离子 MS/MS 扫描模式仪器参数

质量数 (m/z)	扫描宽度 (u)	扫描时间 (s)	子离子质量数 (m/z)	碰撞能量 (eV)	Q1 峰宽 (u)	Q3 峰宽 (u)	使用调谐过的透镜参数	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压 (V)	Q2 CID 气体
182.082	6.000	0.20	136.076	20	0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	0.8*
508.208	6.000	0.20			0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	0.8*

***Q2 CID气体压力在母离子MS/MS扫描模式下会降低，以保持峰形和峰分辨度。**

表 B-8. SIM 子离子 MS/MS 扫描模式仪器参数

质量数 (m/z)	扫描宽度 (u)	扫描时间 (s)	母离子质量数 (m/z)	碰撞能量 (eV)	Q1 峰宽 (u)	Q3 峰宽 (u)	使用调谐过的透镜参数	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压 (V)	Q2 CID 气体
136.076	6.000	0.20	**182.082**	18	0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	1.5
165.055	6.000	0.20			0.70	0.70	开	关	平均10个谱图	-3	1.5

表 B-9. SIM 中性失脱离子 MS/MS 扫描模式仪器参数

质量数 (m/z)	扫描宽度 (u)	扫描时间 (s)	中性失脱离子质量数 (m/z)	峰宽(u)	碰撞能量 (eV)	使用调谐过的透镜参数	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压 (V)	Q2 CID 气体
136.076	6.000	0.20	**17.027**	0.70	18	开	关	平均10个谱图	-3	1.5

表 B-10. **SRM MS/MS** 扫描模式仪器参数

扫描宽度(u)	扫描时间(s)	Q1 峰宽(u)	Q3 峰宽(u)	使用调谐过的透镜集	母离子质量数(m/z)	子离子质量数(m/z)	碰撞能量(eV)	CID 源	数据采集	四极杆MS/MS偏压(V)	Q2 CID 气体
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**182.082**	136.076	18	关	平均10个谱图	-3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**182.082**	165.055	10	关	平均10个谱图	-3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**508.208**	136.076	38	关	平均10个谱图	-3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	**508.208**	299.140	24	关	平均10个谱图	-3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	997.398	136.076	60	关	平均10个谱图	-3	1.5
6.000	0.20	0.70	0.70	开	997.398	299.140	54	关	平均10个谱图	-3	1.5

附录 C　　微流操作

本附录提供了微流配置下运行系统的操作指南。

当用户使用不锈钢金属针时，需要调节质谱仪运行参数，以产生电喷雾。参见表 C-1 操作指南。

要利用在微流配置中可以使用的低流速，用户需要将分析柱中流出的部分流动相分流到废液。典型的废液与 ESI 比例从 50:1 到 200:1。对于 200 µL/min 的 HPLC 流速，用户可以在分析柱前加装一个死体积很小的 T 型接头，使用 50 cm 长，内径为 50 微米的限制性毛细管传输被分流的液体流向废液。

表 C-1.　　微流操作操作指南

不锈钢针	流动相流速 (µL/min)	毛细管温度 (°C)	鞘气压力 (psi)	辅助气流速 (units)	喷雾电压 (kV)
34-直径	0.5 – 50	150 – 200	0 – 5	0	1.5 – 4.0
32-直径	1 – 400	200 – 250	0 – 10	0	1.5 – 4.0