

Analyst软件基本操作流程



制 作 者： 先有其 工程师

咨询电话： 186-2070-4545

本教程属个人制作，不代表公司观点，如对教程内容有任何疑问请直接咨询教程制作人员

工 作 流 程

- 一、 开关机
- 二、 校正调谐 (Manual Tuning) : 开关机后做或每个季度例行校正
 - 1、 Q1 POS 、 Q3 POS
 - 2、 Q1 NEG 、 Q3 NEG
- 三、 优化化合物参数 (Manual Tuning) :
 - 1、 找母离子 (Q1 MS)
 - 2、 找子离子 (MS2)
 - 3、 优化离子对参数 (MRM)
- 四、 建立 LC-MS 方法 (Build acquisition method) :
 - 1、 设置 MS 参数
 - 2、 设置 LC 参数
- 五、 建立采样列表 (Build acquisition batch)
 - 1、 填写样品信息
 - 2、 选择采集方法
 - 3、 提交列表
 - 4、 开始采集
- 六、 浏览数据 (open data file)
- 七、 定量分析
 - 1、 建立定量方法 (quantitation wizard)
 - 2、 执行定量
 - 3、 打印报告

一、 开关机

A、开机

1. 打开UPS电源，打开氮气发生器（气瓶），确认Curtain gas的输入压力为0.4MPa，gas1/2为0.7MPa，exhaust为 0.4MPa。
2. 打开机械泵电源开关（5500系列直接打开质谱主机电源，仪器自动启动机械泵）
3. 等机械泵工作至少30min
5. 打开质谱主机电源开关
6. 过夜抽真空

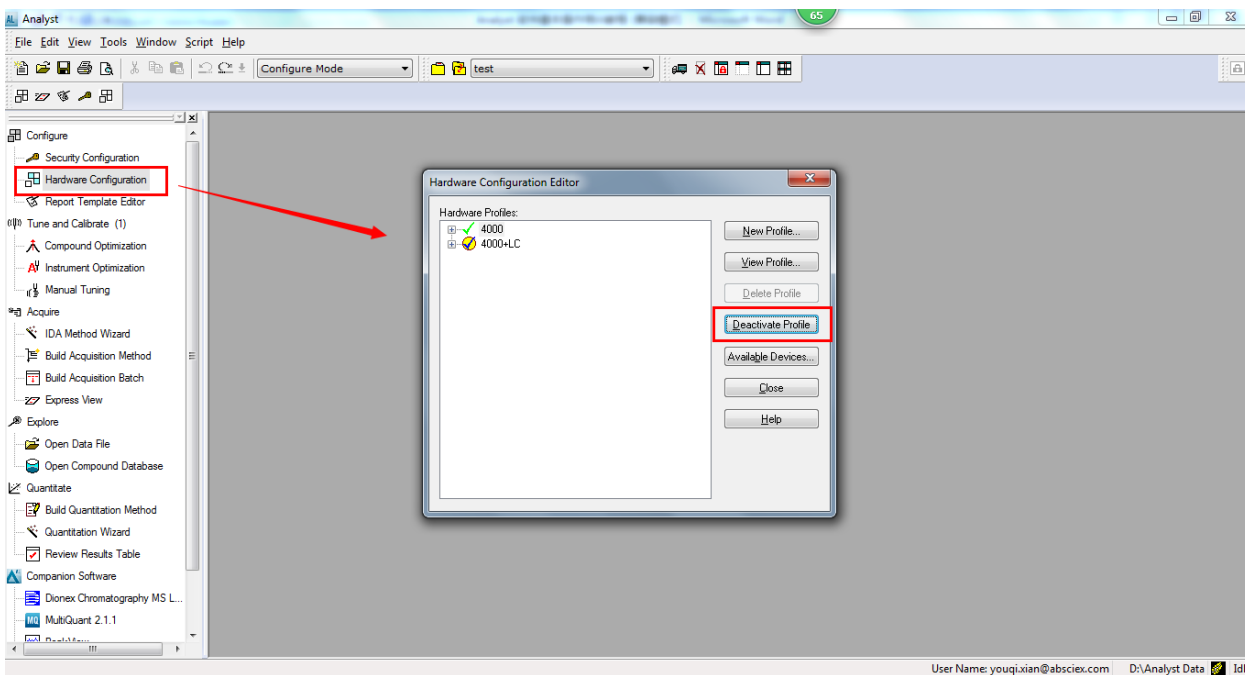
B、关机

1. 停止输液：关停针泵或液相泵，或断开输液管线（一般质谱主机Standby后液相系统也自动待机，输液泵自动关停，但建议操作人员再次确认，必须保证没有任何液体再泵入质谱）
2. 使仪器待机，并灭活配置
2. 关闭质谱仪主机电源开关（5500系列只需按下电源开关旁的VENT按键排放真空）
3. 机械泵继续工作至少30min
4. 关闭机械泵上的电源开关（5500系列会自动关停机械泵，待机械泵停止后即可关闭5500系列主机上的电源开关）
5. 关闭气体发生器或气瓶

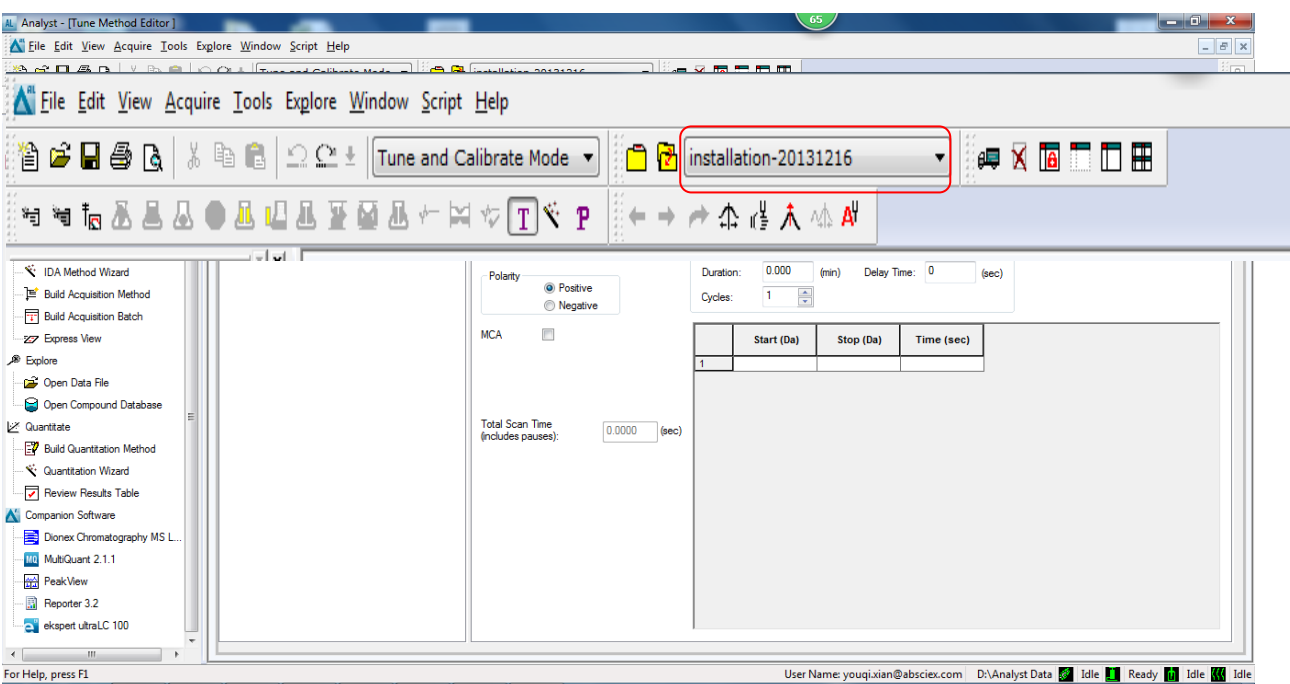
二. 仪器校准与调谐

本节包括如何在 **Analyst** 软件中进行手动质量校准，一般仪器在开关机后才需要做调谐或每个季度例行调谐。

1、打开analyst软件，双击**Hardware Configure**，在硬件配置 **Hardware Configure** 菜单下 单击**massSpecOnly**（只连质谱机），单击**Active profile**激活仪器。硬件配置表中 massSpecOnly 出现绿勾后，表示质谱仪主机与计算机通讯正常，关闭Hardware Configuration Editor。

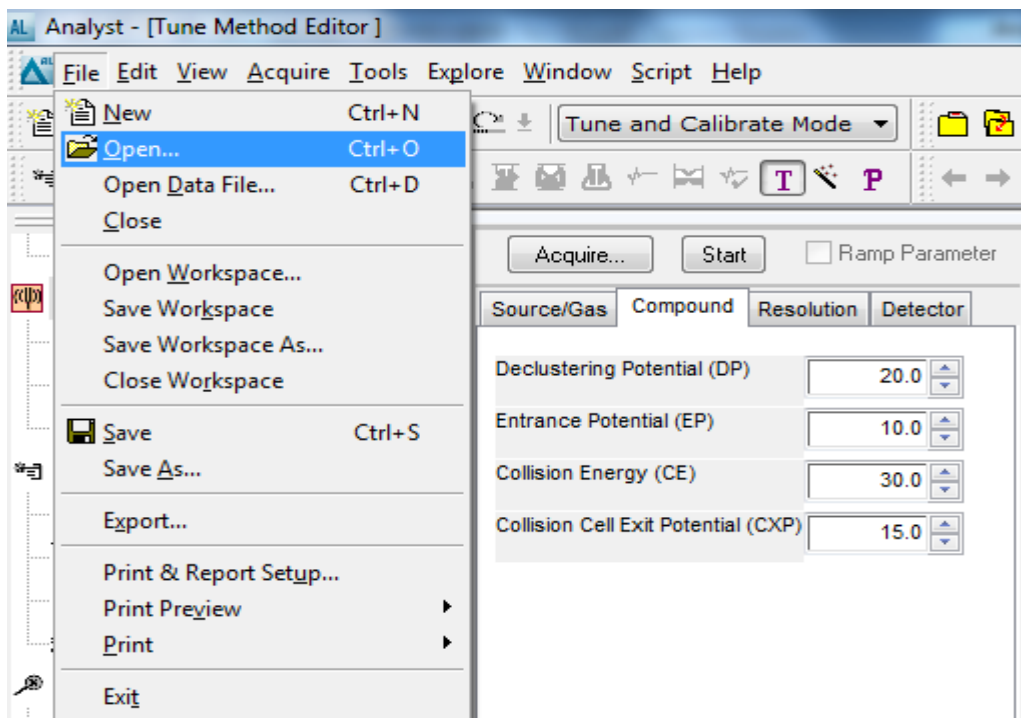


3、双击左边工具菜单 **Navigation Bar** 中的 **Manual Tuning**，打开一个空白质谱参数设置及运行窗口，进入手动调谐模式：

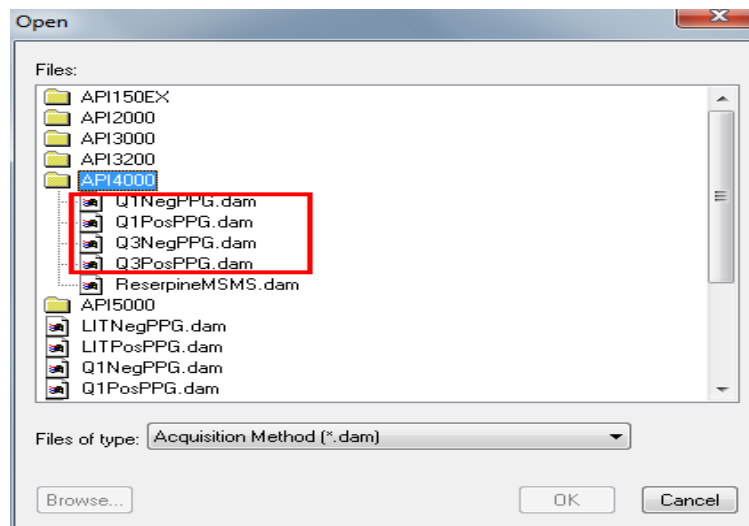


4、在 **project** 工具条中选择**installation-**开头的项目文件夹

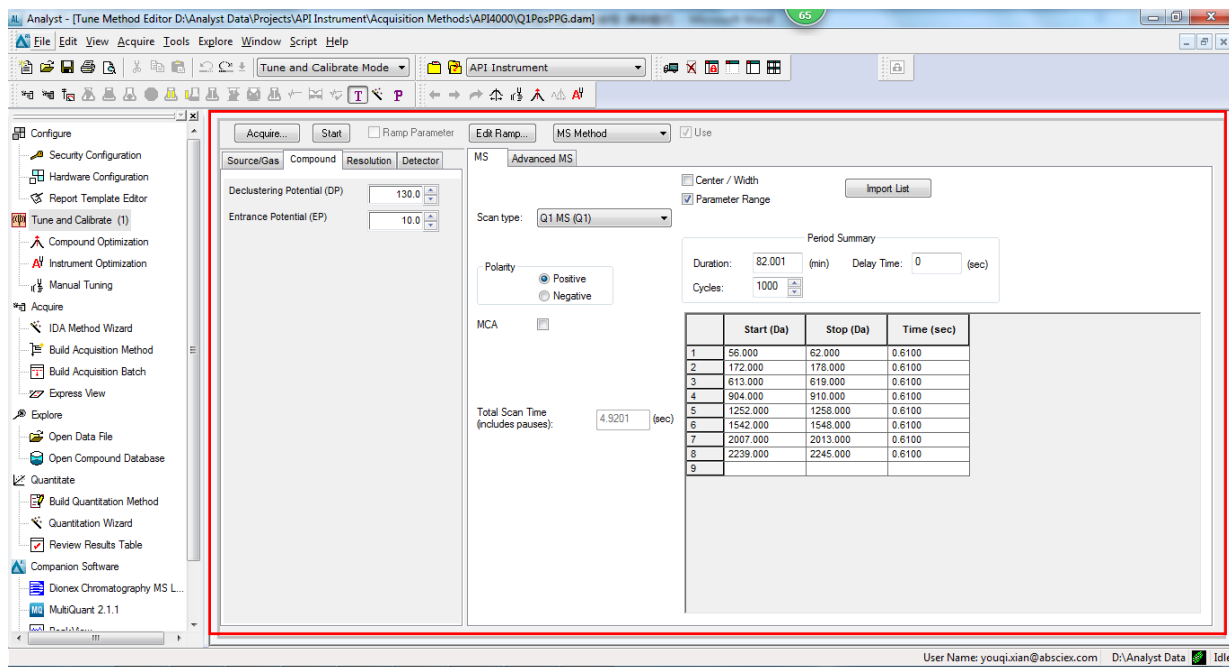
5、点击 *File* → *open*



6、选择 Acquisition Method 打开四极杆校准方法文件列表(如: Q1PosPPG.dam, Q1NegPPG.dam, Q3PosPPG.dam, Q3NegPPG.dam 方法文件, 文件名有可能不同)。根据要校准的目标(Q1 正离子、Q1 负离子、Q3 正离子、Q3 负离子)选择相应的方法打开。

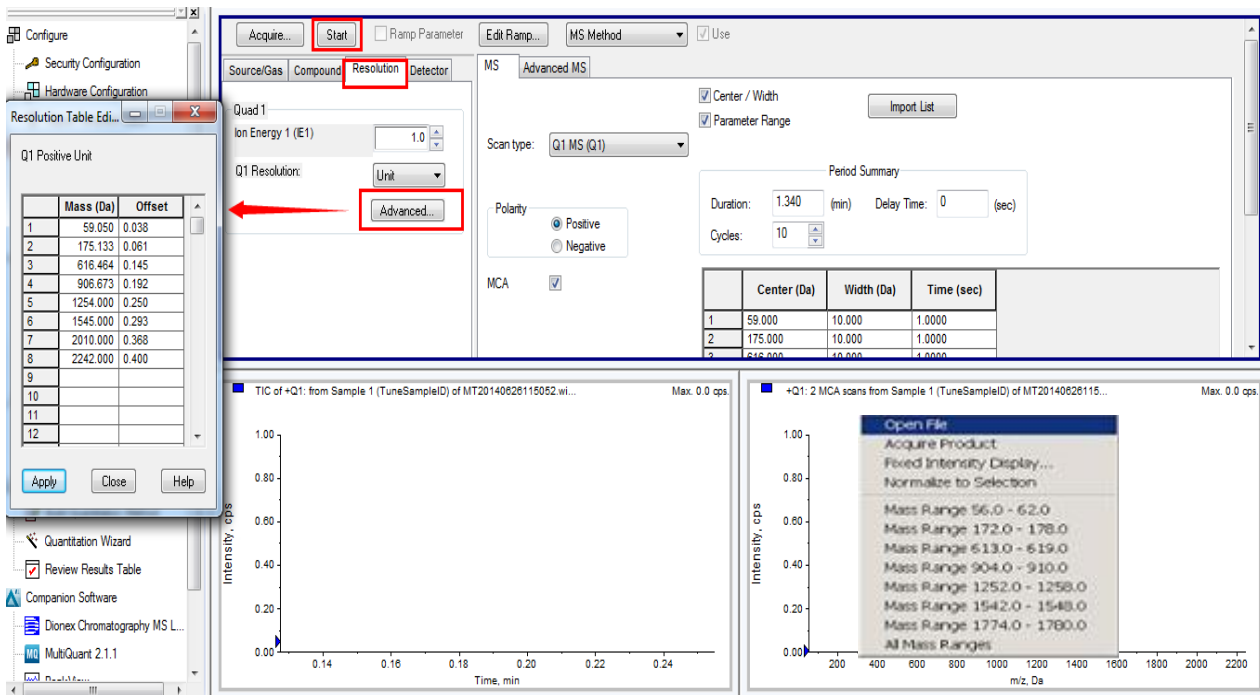


7、该方法会出现在质谱参数设置及运行窗口：

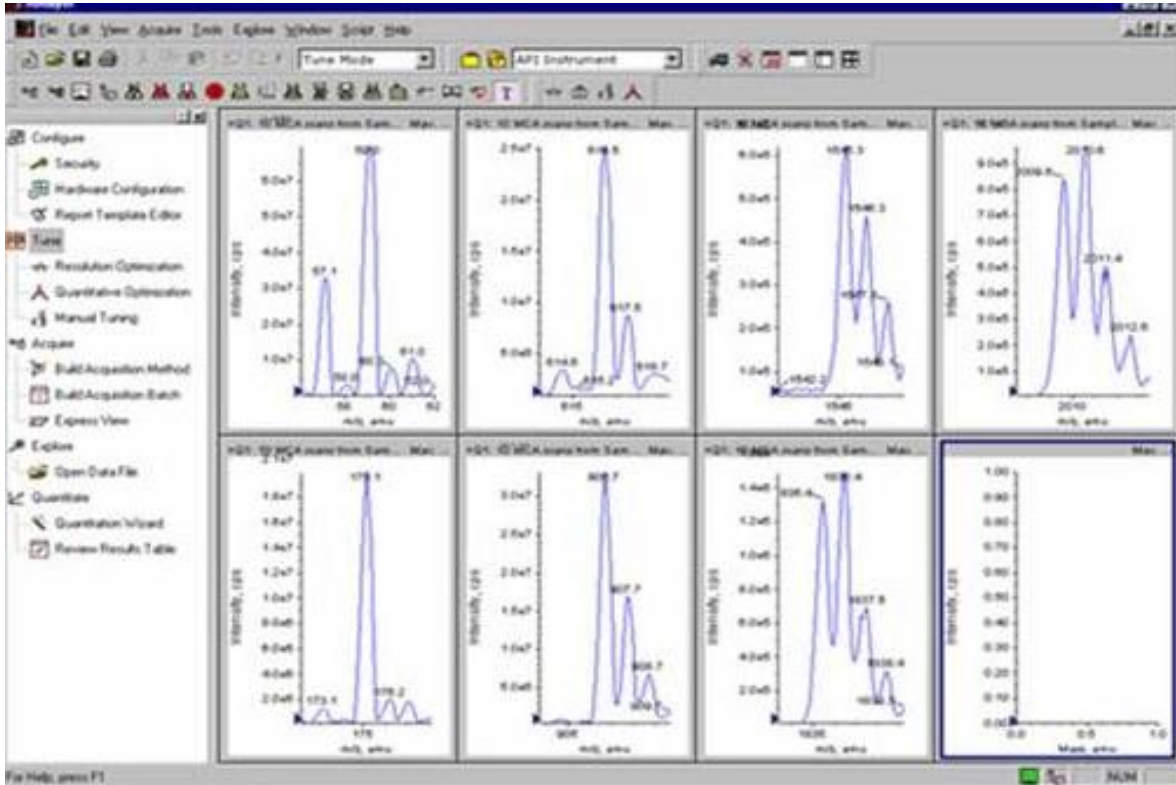


8、用针泵进质量校准溶液，调离子源喷雾针位置到5mm处。对于不同仪器、测定极性，要用不同的PPG校准溶液，针泵流速10ul/min

9、采集 PPG 标准品质谱数据：在质谱参数设置及运行窗口中点击 **Start**，数据采集时在窗口下部出现两个实时数据图：左边 TIC(总离子流图)，右边质谱图。待采集完成后，点击 resolution，再点击advanced，弹出分辨率窗口，再在右边质谱图中按鼠标右键出现一菜单，选菜单中 **Open file**：



10、单击其中任一个 PPG 质谱峰的图(此图边框变蓝)，然后在在工具条下点击 **Calibrate from spectrum** 按钮 ()



11、在出现的 Mass Calibration Options 窗口中，从**Standard**下拉菜单选择合适的标准品类型：PPGs Pos(正离子) 或 PPGs Neg (负离子)；然后点击**start**。

Mass Calibration Option

Standard: **PPGs Pos.**

Instrument: Resolution: Polarity:

Peak Search Parameters:

Search Range: (amu)

Threshold: (cps)

Peak Width At: (% max)

Reference:

PPGs Pos. Calibration Ref.

59.050
175.133
384.296
906.673
1254.925
1545.134
2010.469
2242.637

12、仪器校准

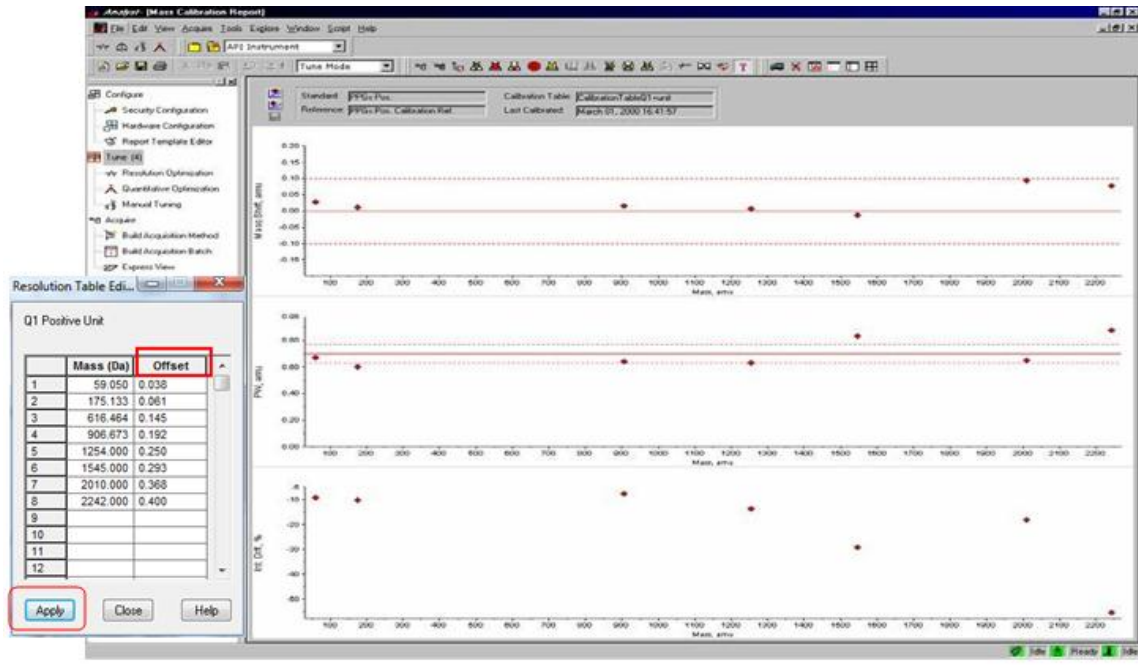
结果图中有三栏：上栏显示此次校准与理论值的质量偏差 (mass shift)，中栏显示所有 PPG 校准峰的半峰宽 (分辨率)，下栏显示此次校准与上次校准所有 PPG 校准点峰强度变化的百分比。

A、手动调整分辨率

目标是让每个数据点都应该落在两条虚线之间，如果某些 PPG 峰宽超出分辨率范围，应进行手动调整。


调整 Offset 值会影响分辨率，以中心实线为基准，半峰宽偏大的调大 offset 值（考虑正负），半峰宽偏小的调小 offset 值（考虑正负），对 Offset 值调整幅度为每次 0.003，改变 offset 值以后按 Apply 钮。

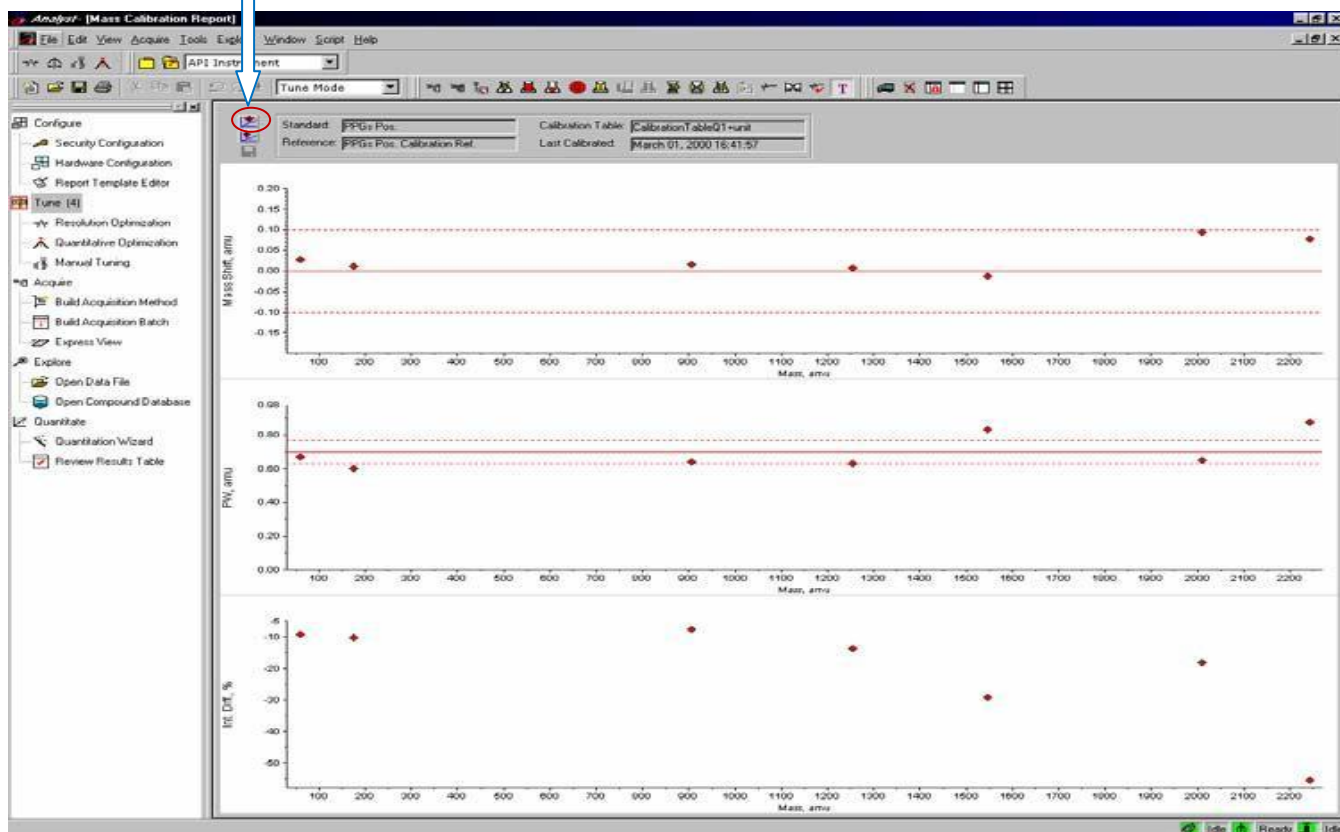
关闭当前其他窗口回到采集窗口，重新点击start采集数据（在开始采数据时按 Yes确认要保存这些修改），重复9-12步直到所有点的分辨率合乎分辨率范围。



B、质量校正

当 offset 值设定合适，所有 PPG 离子的分辨率在俩虚线范围内后，进行最后的质量校准。

再采集一次 PPG 数据（重复9到11步）；在 Mass Calibration Report 按 Update mass calibration  按钮进行更新，软件系统会提示是否用新的校准曲线替换已存在的校准曲线，当出现提示时，回答“YES”

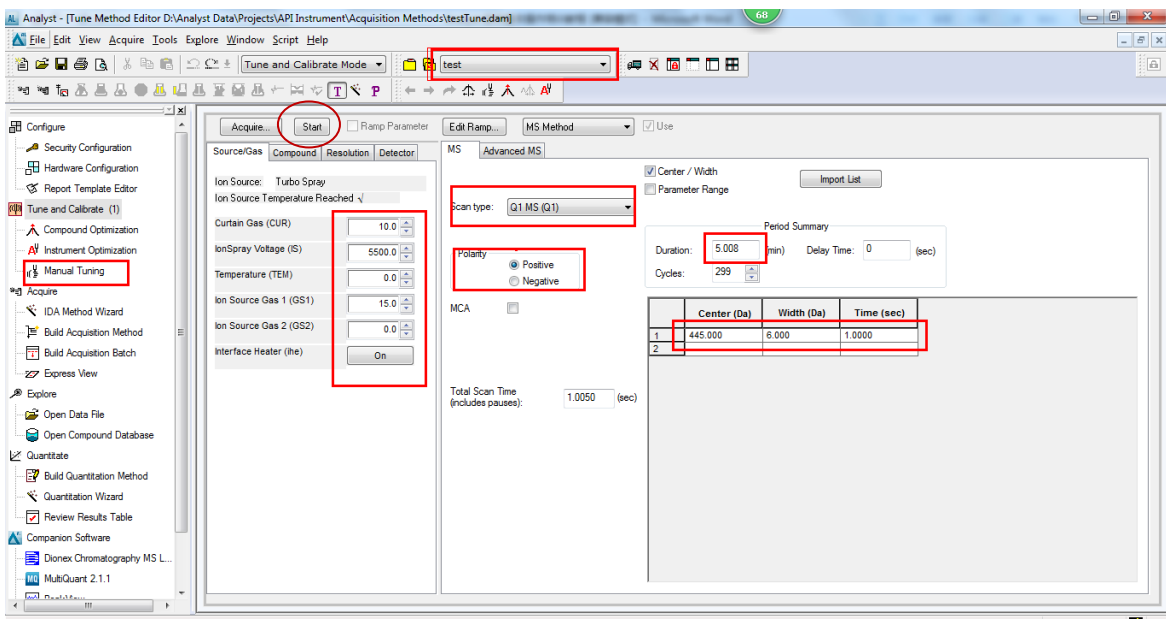


三. 化合物参数优化

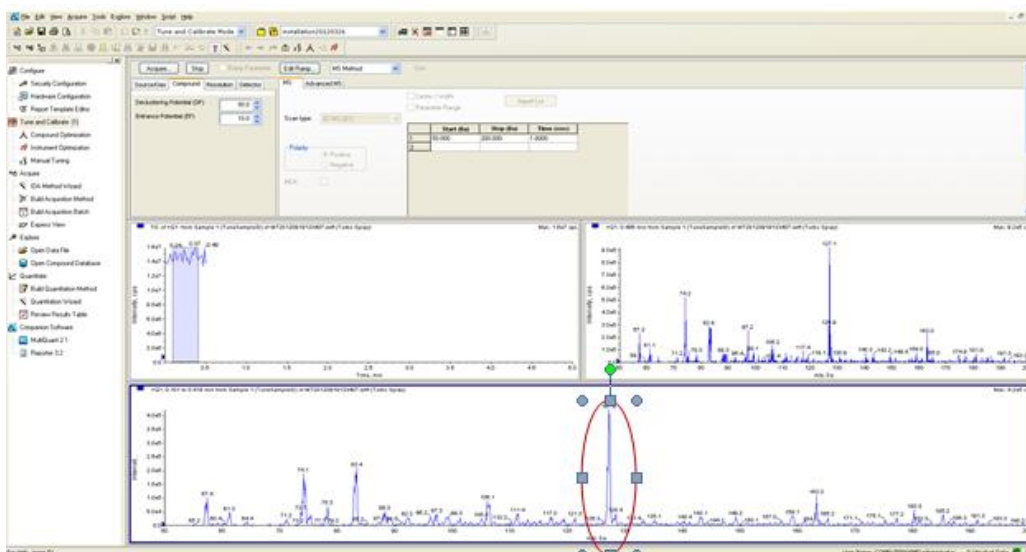
本节描述如何用针泵连续进样(10ul/min)，在Manual Tuning 窗口下优化化合物参数。

1、找母离子：Q1 MS全扫描

A、选择你的 **project**；双击 Navigation Bar 下的 **Manual-Tuning**；从 Scan Type 下拉菜单中选择：**Q1 Scan (Q1)**；选择极性：Positive(正离子)、Negative (负离子)；勾选Center/with选项；设置采集时间Duration: 5min；在表格中 Center (Da) 栏填入待优化化合物的分子量，With(Da) 栏填6，Time (sec) 填1；左侧Source/Gas项用以下推荐值：CUR 10, IS:5500(正离子) 或-4500 (负离子)，TEM 0, GS1 15, GS2 0, ihe on；Compound项用以下推荐值：DP 60, EP 10或默认值；



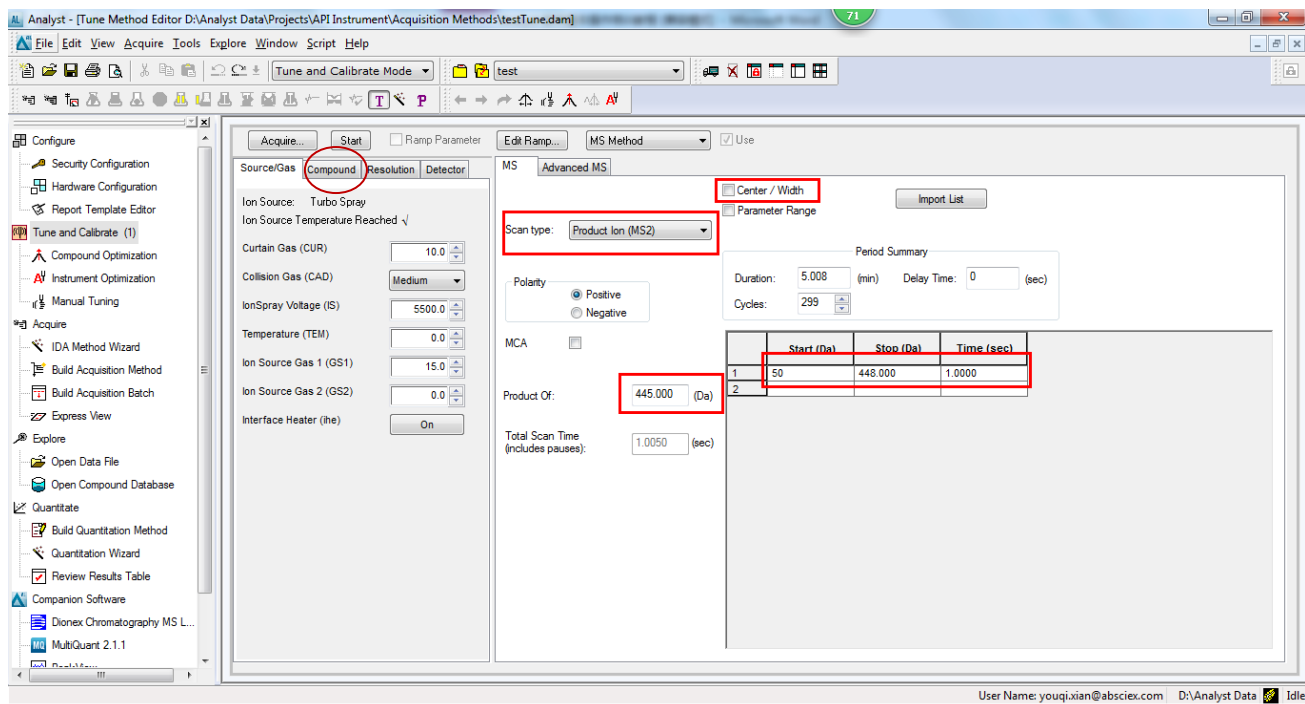
B、运行针泵 (10ul/min)，点击start采集数据，待左侧窗口TIC序号稳定后再继续采集1min，点击stop，在TIC图上按住鼠标左键托选最后1min谱图，再双击选中的谱图，在下方弹出窗口记录目标化合物峰的中心对应的横坐标分子量作为该化合物的准确分子量。



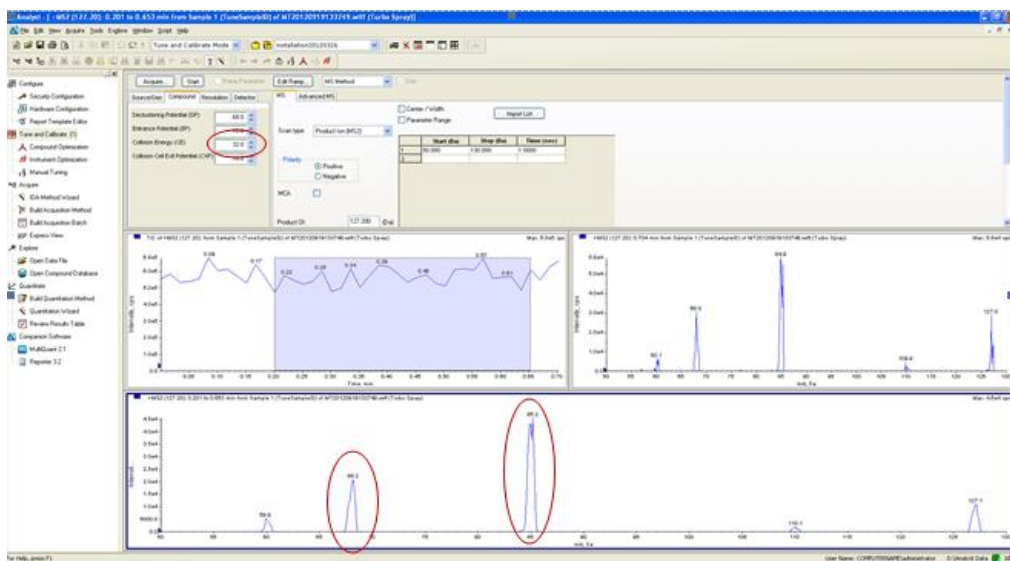
2、找子离子： Product Ion Scan (MS2)

A、在当前方法文件的Scan Type下选择 **Product Ion Scan (MS2)**；去除Center/with选项；在**Product of**栏填入上一步找到的母离子的准确分子量；在表格中start (Da) 栏填50，stop (Da) 栏填入质量大于母离子分子量即可，Time (sec) 填1；

检查Source/Gas项是否与Q1扫描时相同 (CAD 默认值即可)；**Compound**项设定DP 60， EP 10或默认值，CE 5，CXP 15或默认值；

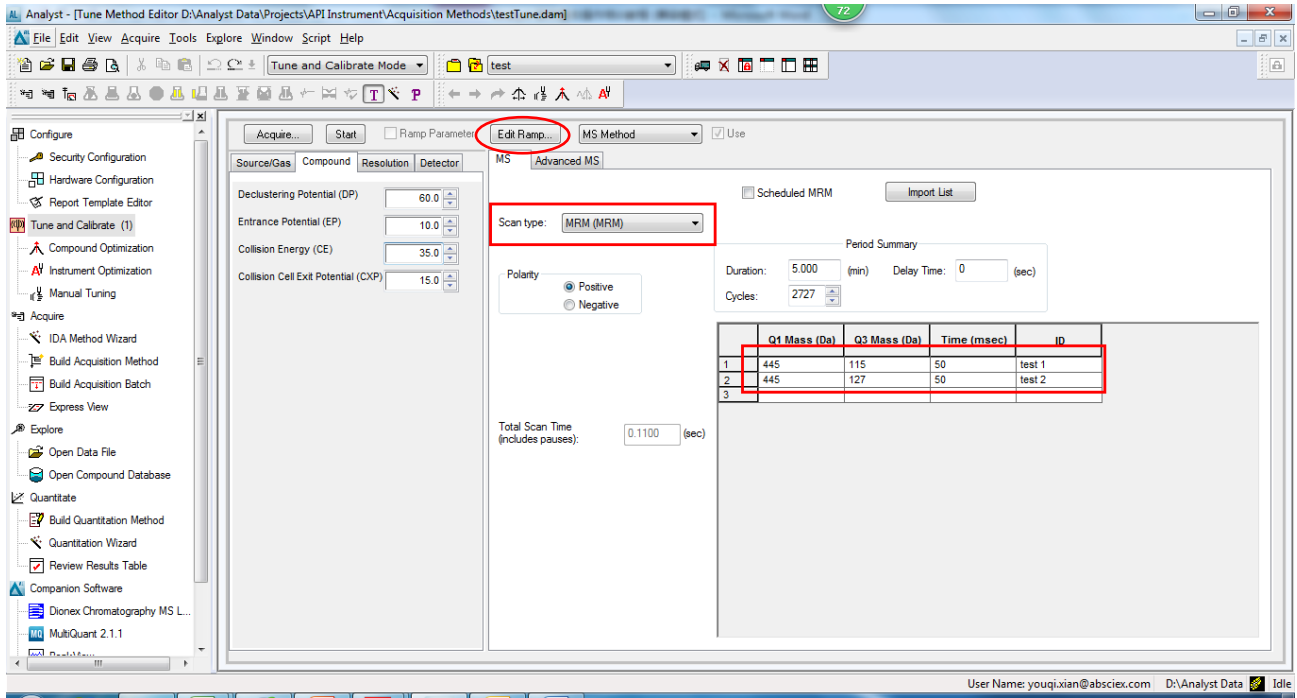


B、点击**start**采集数据，手动调节CE值（每次增加5），直到右侧质谱图中母离子的信号约只有最强碎片离子信号三分之一左右，再保持继续采集1min，点击**stop**，在左侧TIC图上按住鼠标左键托选最后1min谱图，再双击选中的谱图，在下方平均谱图中记录两个最强的碎片离子分子量。

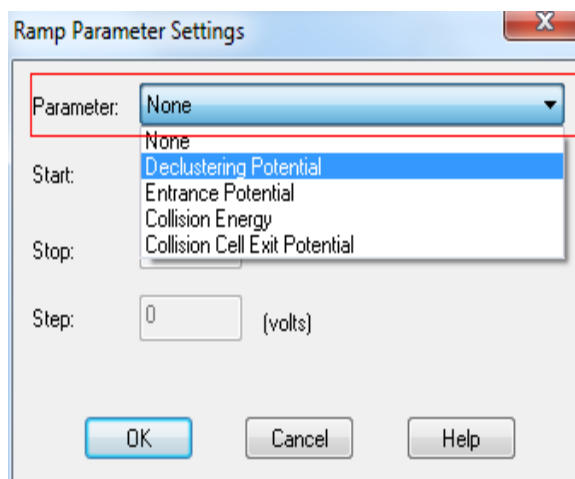


3、优化离子对参数：MRM

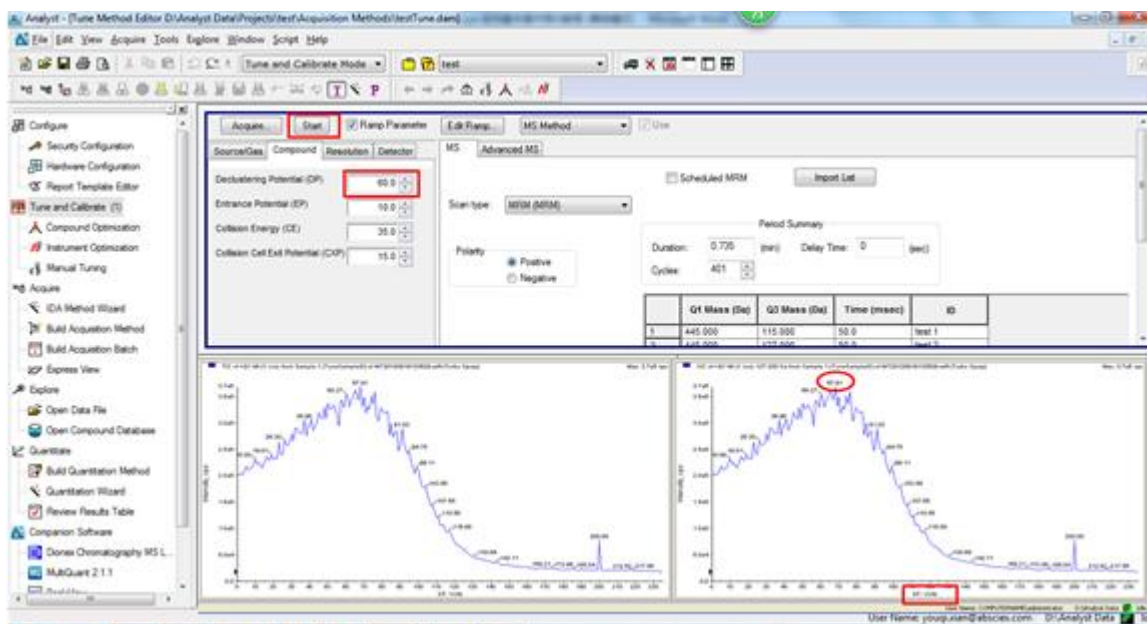
A、在**当前方法文件**的Scan Type下选择 MRM；在表格中Q1栏填母离子分子量，Q3 (Da) 栏子离子分子量，Time (msec) 填50，ID栏填化合物名称（信号强的离子对名称后空格加1，信号弱的为2），每个离子对填一行；检查Source/Gas项是否与Q1扫描时相同（CAD 默认值即可）；



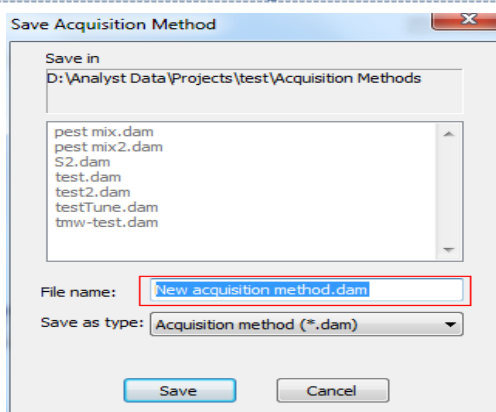
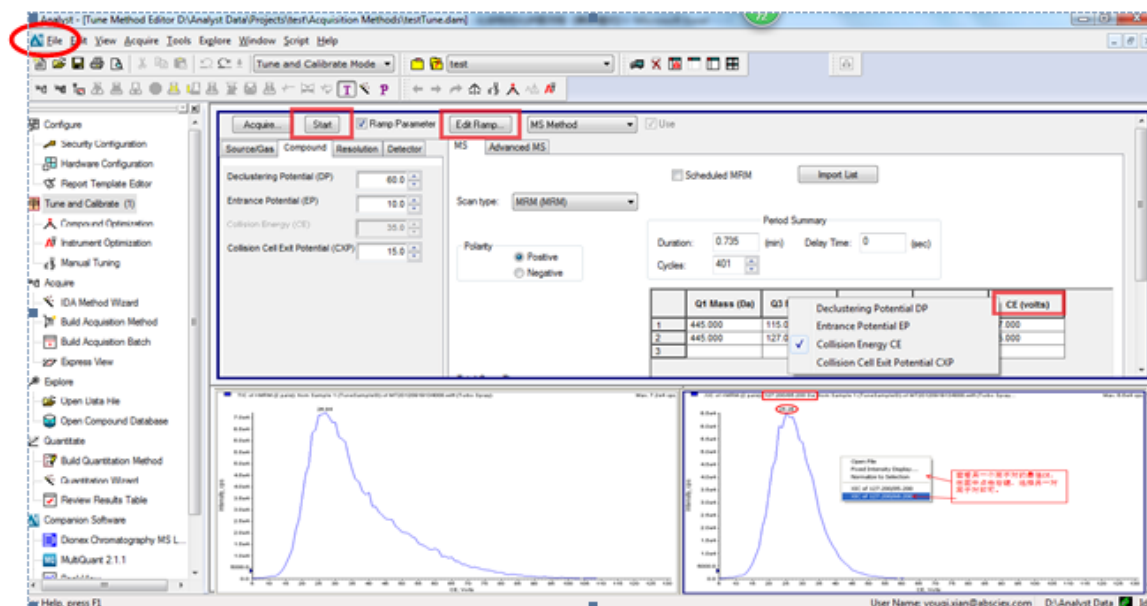
B、点击 **Edit Ramp** 钮，出现以下窗口，在parameter下拉菜单里选择DP, 用默认值，点击OK.



C、点击start开始优化，在右侧质谱图上记录峰轮廓最高的位置对应的横坐标的DP值，填入Compound的DP项。

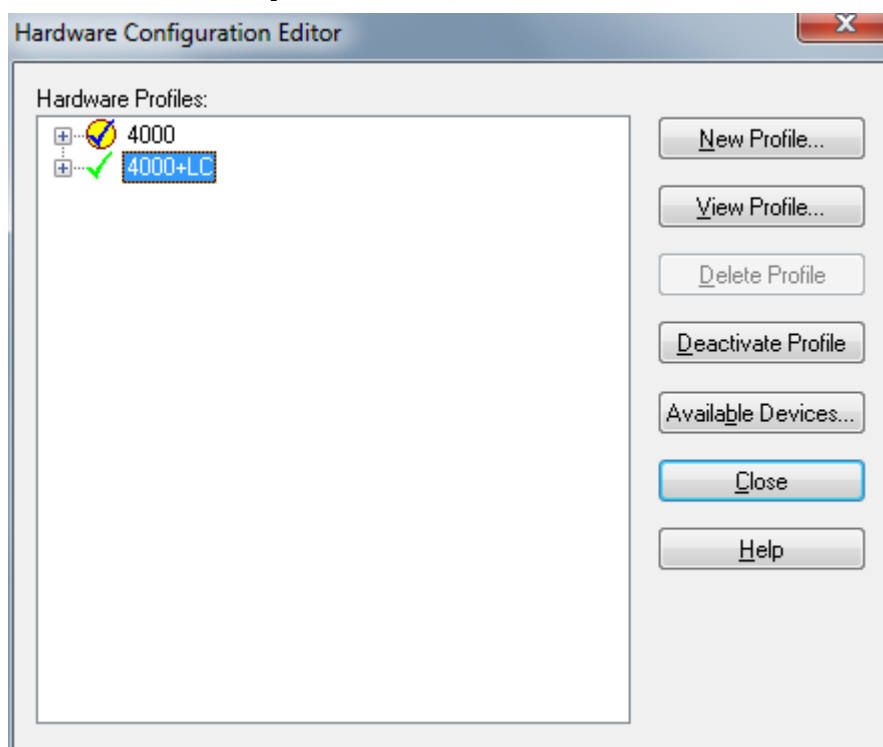


D、点击 Edit Ramp 按钮，在parameter下拉菜单里选择CE,用默认值，点击OK，点击start开始优化，采集结束后在右侧质谱图上按鼠标右键并选择相应的离子对，记录其峰轮廓最高的位置对应的横坐标的CE值，再在上方表格内点击鼠标右键选择CE单击，表格中则会显示不同离子对的CE值一栏，填入刚才记录的各离子对的最优CE,最后点击菜单File → save即可保持该化合物参数，填入方法名称即可。

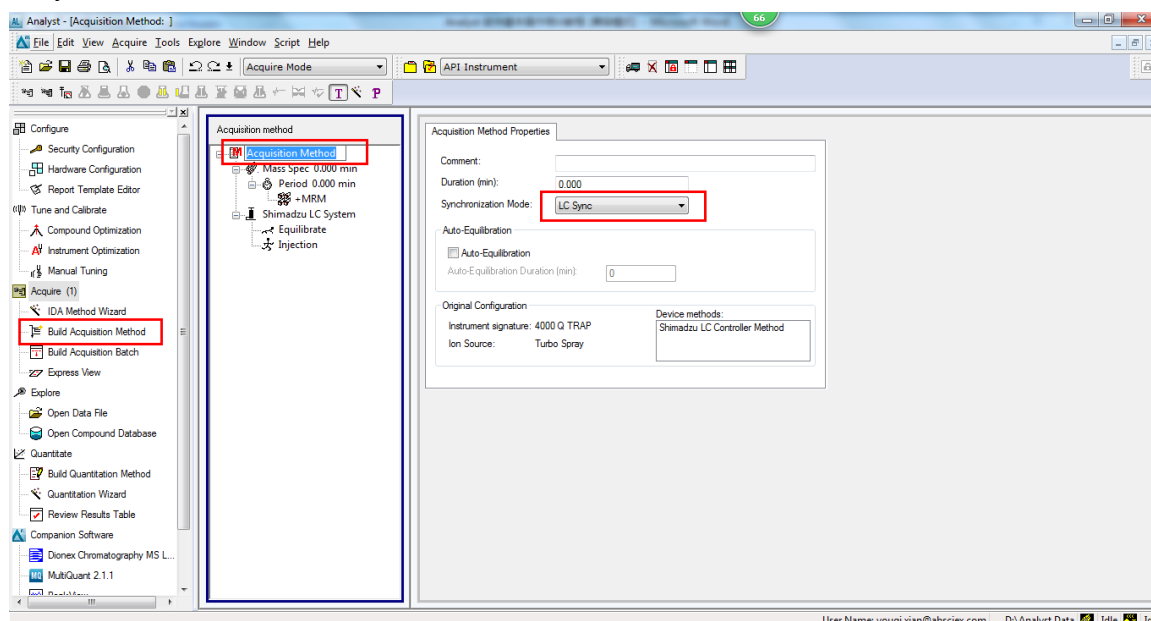


四、建立 LC-MS 方法（以岛津液相为例）

1、开 HPLC电源，将 HPLC系统接上柱子，将出口管线与离子源连好。调离子源喷雾针位置到2mm处，双击Hardware Configure，在硬件配置菜单下单击4000+LC（液相与质谱联用），单击Active profile激活仪器。



2、选择你的 Project；双击 Build acquisition method，弹出方法模板。在模板左侧点击acquisition method，模板右边显示对应的参数，确认synchronization mode选择 LC Sync。



3、点击方法模板左侧的MRM, 在模板右侧Scan Type下选择 MRM; 在polarity下选择化合物极性: Positive(正离子)、Negative (负离子); Duration处填写与液相分离相同的时间; 在表格中Q1栏填母离子分子量, Q3 (Da) 栏子离子分子量, Time (msec) 填50, ID栏填化合物名称 (信号强的离子对名称后空格加1, 信号弱的为2), 在表格中右键分别点击DP、EP、CE、CXP, 填入之前优化好的DP、CE; 最后点击Edit parameter设置离子源参数: Source/Gas项用以下推荐值: CUR 25, IS:5500(正离子) 或-4500 (负离子), TEM 550, GS1 55, GS2 55, ihe on;

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: Positive Negative

Duration: 10.000 min Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 1818 Cycle: 0.3300 (sec)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	445.200	410.000	50.0	Tetracycline 1	28.000	10.000	31.000	8.000
2	445.200	427.200	50.0	Tetracycline 2	28.000	10.000	22.000	8.000
3	461.100	426.200	50.0	Oxytetracycline HCl 1	35.000	10.000	26.000	8.000
4	461.100	443.100	50.0	Oxytetracycline HCl 2	35.000	10.000	20.000	8.000
5	479.100	444.200	50.0	Chlorotetracycline HCl 1	35.000	10.000	31.000	8.000
6	479.100	462.2	50	Chlorotetracycline HCl 2	35	10	28	8
7								

Total Scan Time Includes pauses: 0.3300 (sec)

Edit Parameters

- Declustering Potential DP
- Entrance Potential EP
- Collision Energy CE
- Collision Cell Exit Potential CXP

Period 1 Experiment 1 Parameter Table

Source/Gas Compound

Ion Source: Turbo Spray

Curtain Gas (CUR) 25.0

Collision Gas (CAD) Medium

IonSpray Voltage (IS) 5500.0

Temperature (TEM) 550.0

Ion Source Gas 1 (GS1) 55.0


Ion Source Gas 2 (GS2) 55.0

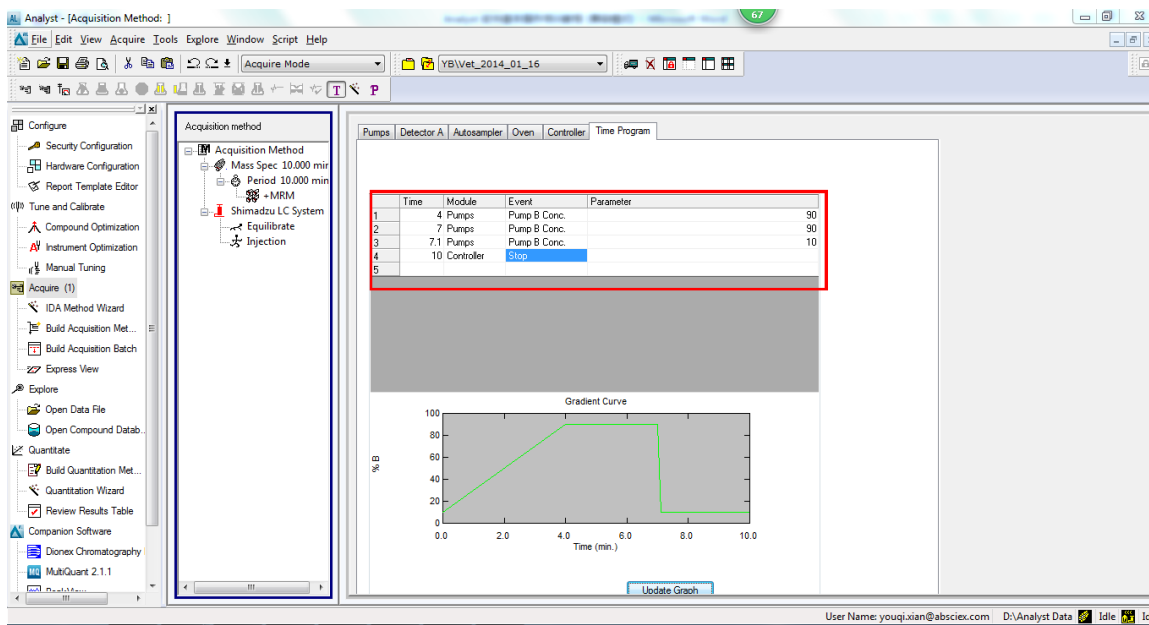
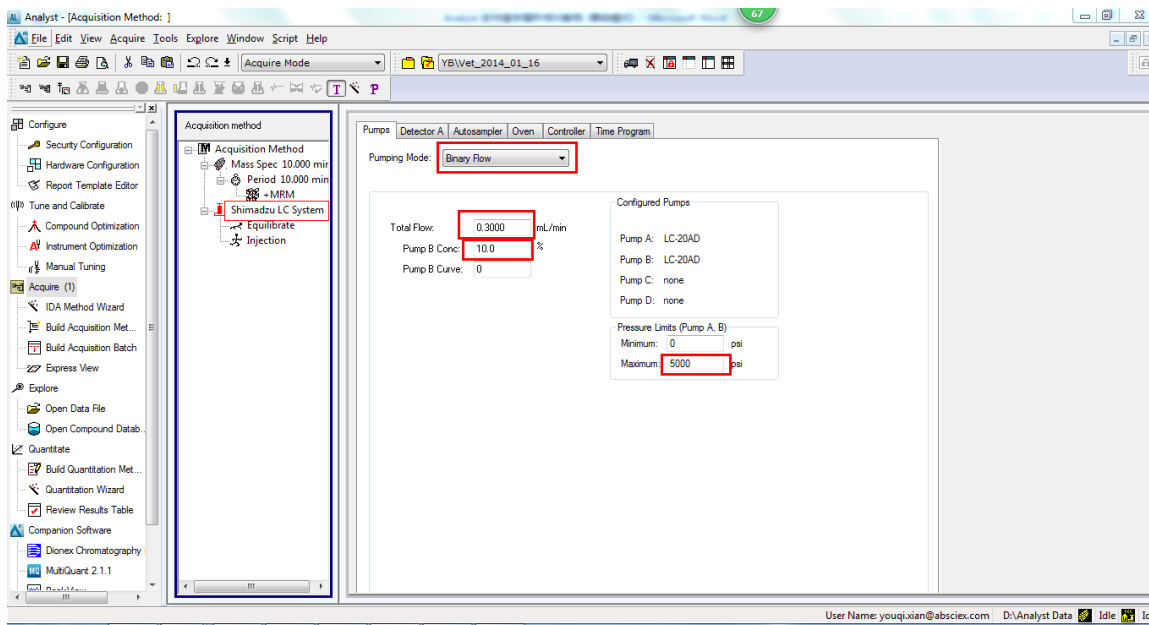
Interface Heater (ihe) On

Apply the following parameters to all other experiments of the same polarity:

Source/Gas Compound

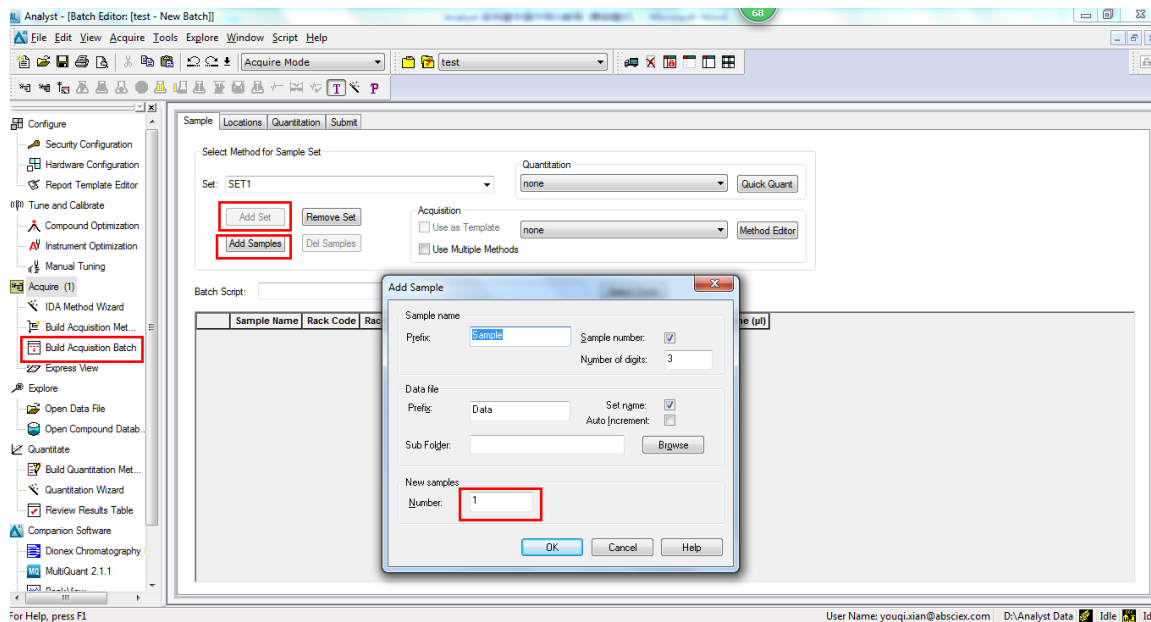
OK Cancel Help

4、点击模板左边的shimadzu LC system, 在右边的pumps栏下, 设置pumping mode为binary flow, total流速0.2-0.5, 泵系统最大压力; 在time program栏下设置液相梯度。最后点击保存按钮  保存此方法并关闭方法窗口。

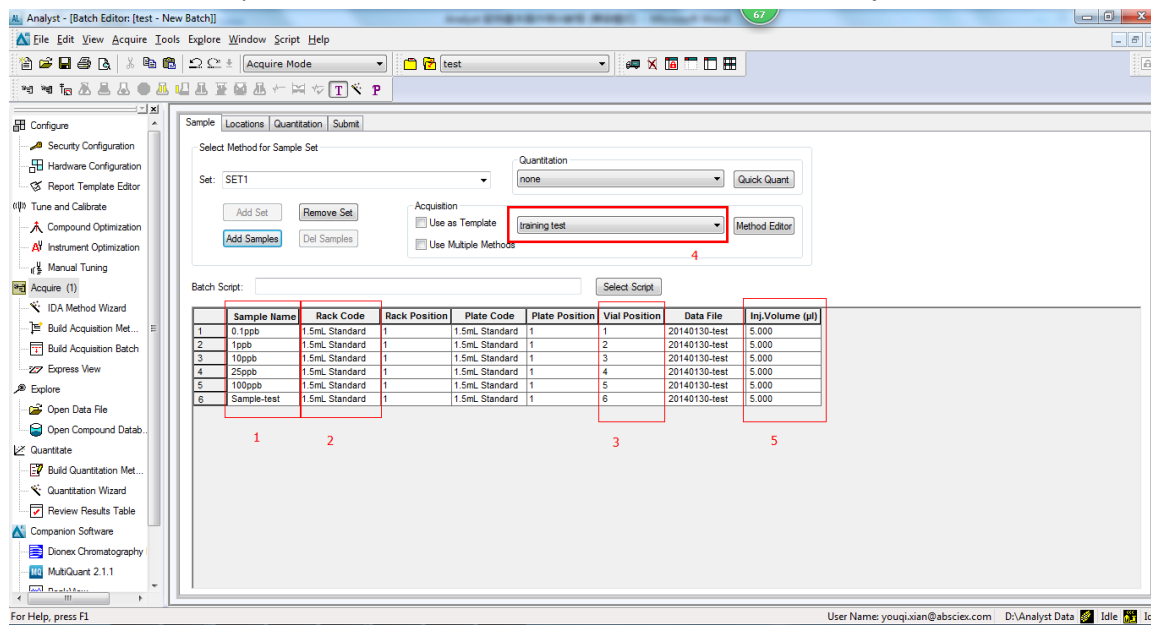


五、建立采样列表

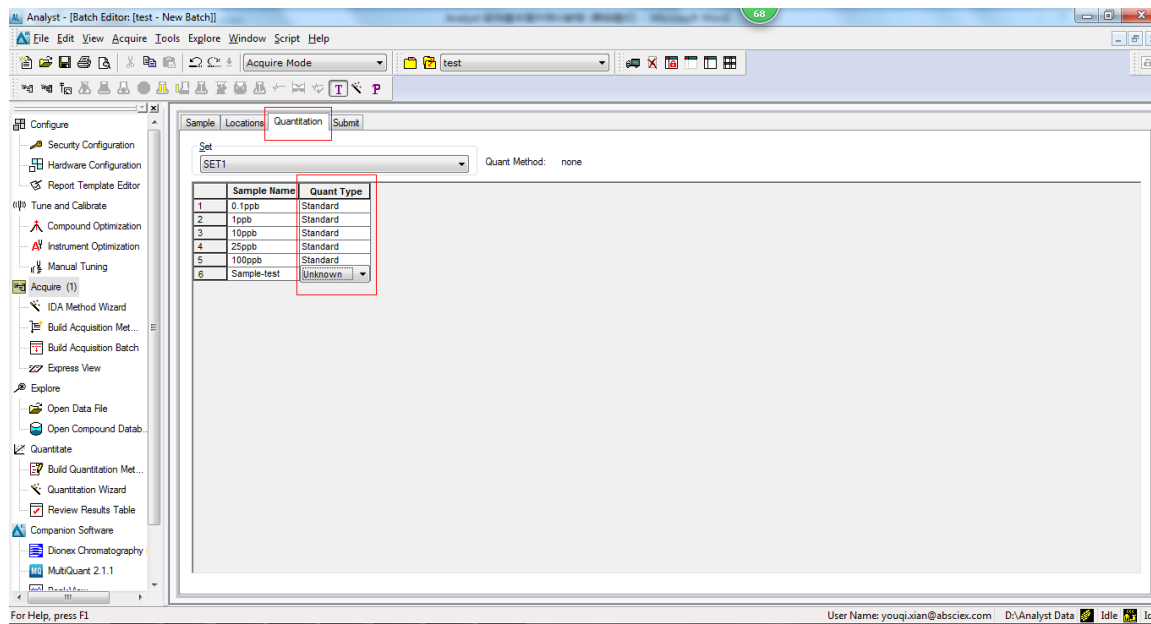
1、双击Build acquisition batch，在右边窗口sample项内点击add set，再点击add sample，在弹出的窗口内的number（进样样品数）处填入需要进样的样品个数，点ok。



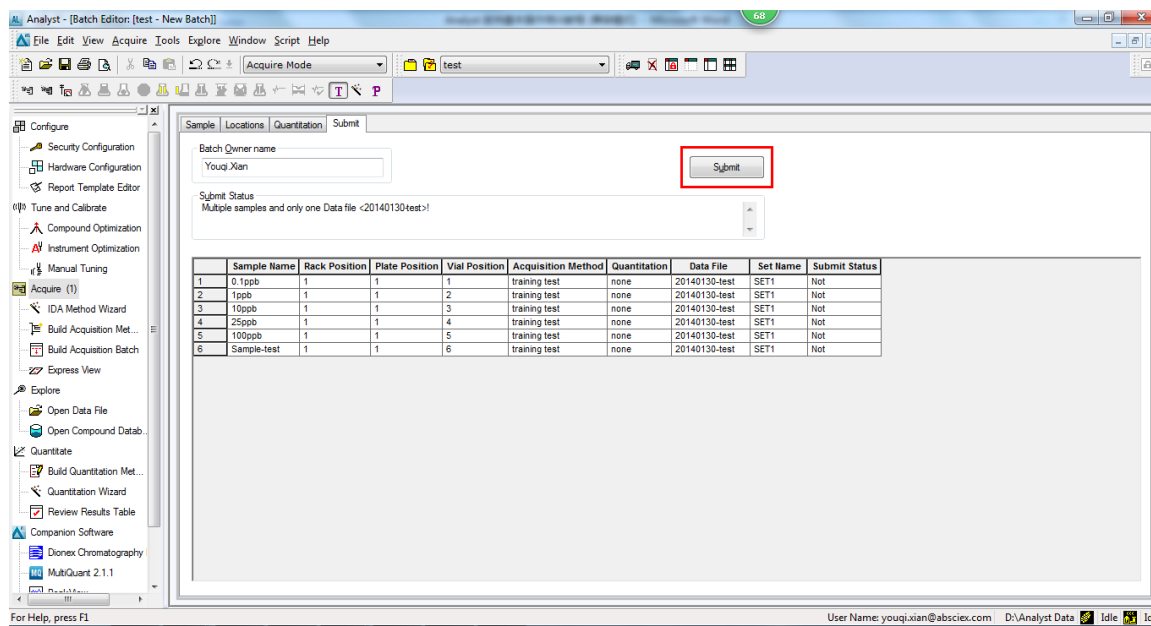
2、在加入的样品列表内依次设置sample name（样品名称）、rack code（样品架类型）、via position（样品瓶的位置）、acquisition下拉菜单内选择之前建立的LC-MS方法、inj.volumme（进样体积）。






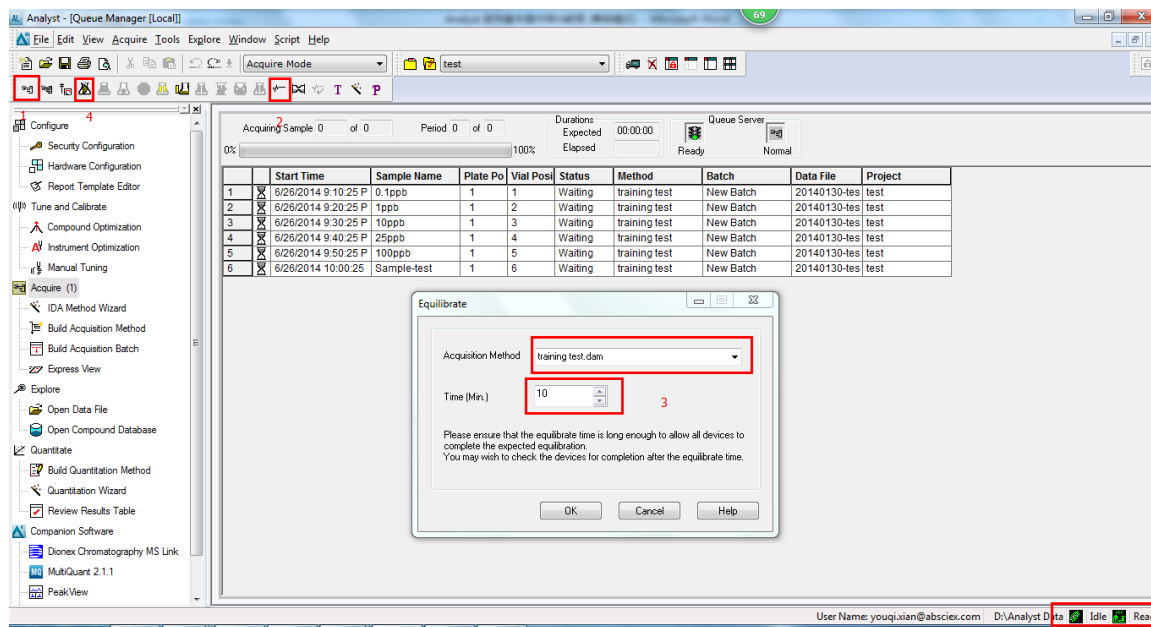
3、在quantitation项下，在每个样品后的下拉菜单内选择样品类型，标准曲线选standard，待测样品选unknown。



4、在submit项下点击submit按钮以提交样品序列。

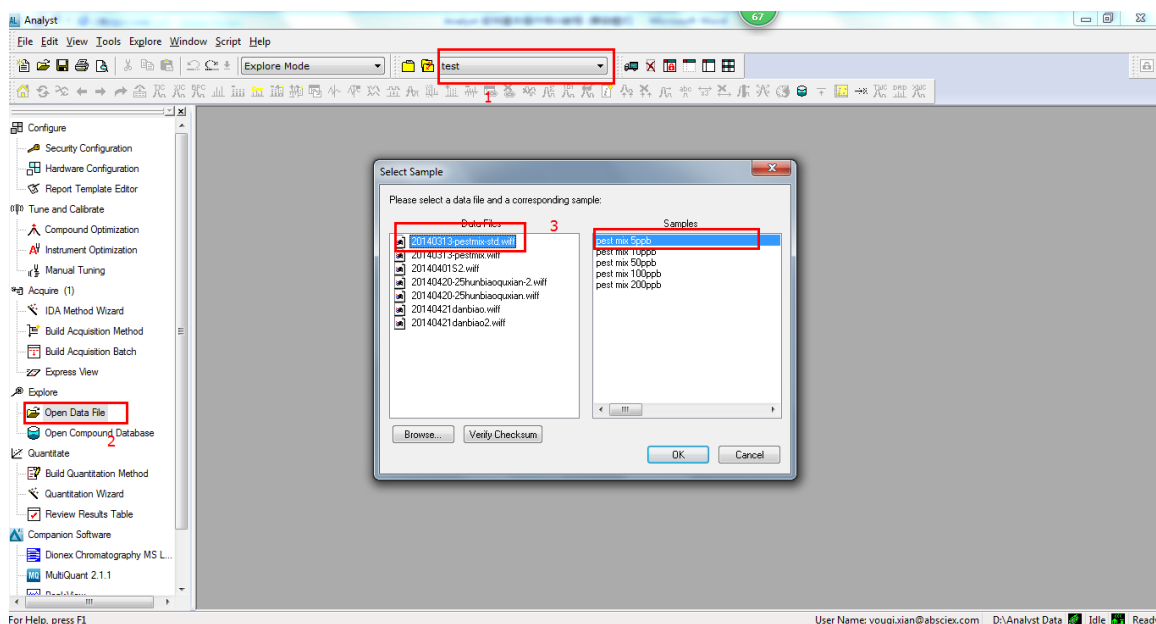




5、点击工具条上的view queue按钮即可查看已提交的样品，首次进样先点击工具条上的equilibrate按钮以平衡仪器，在弹出的平衡窗口中选择即将做样的采集方法平衡系统10min，点击ok后右下角图标会变黄，待平衡结束后此处图标会变成绿色，此时即可点击start sample按钮采集样品信息，仪器会自动对已提交的全部样品进行采集。

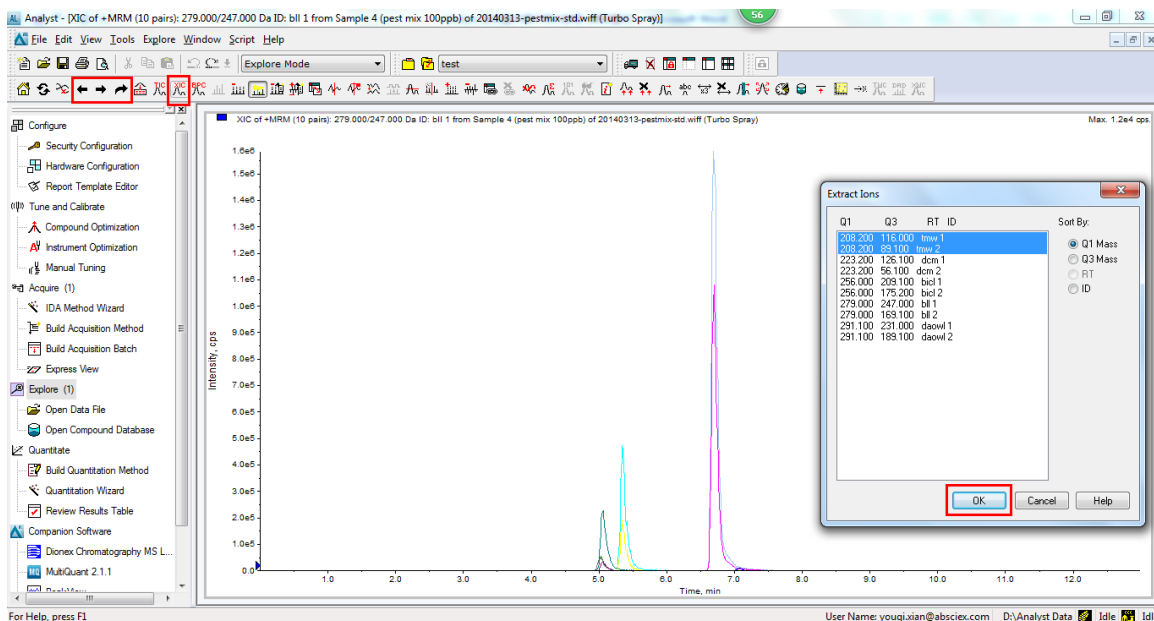


六、浏览数据

1、选择保持数据的project，双击open data file，选择包含目标样品的数据名及样品名，点ok。

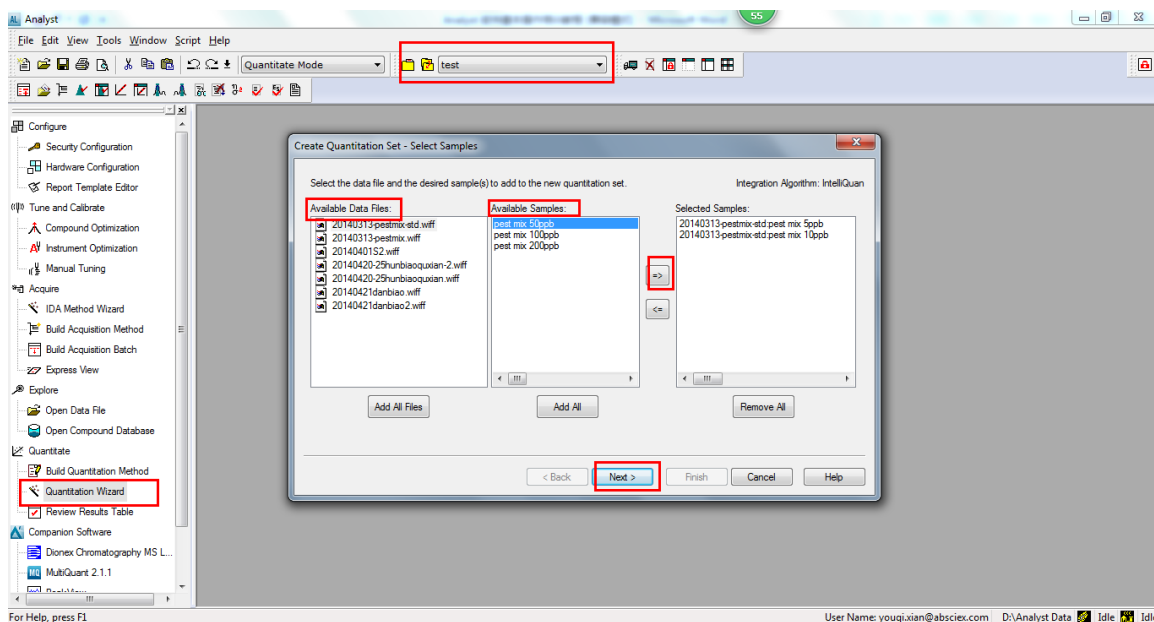


2、点击  切换按钮可在相同数据名下的不同样品间切换浏览，点击  XIC按钮可在弹出的对话框内选取各个离子对分别查看其峰图。

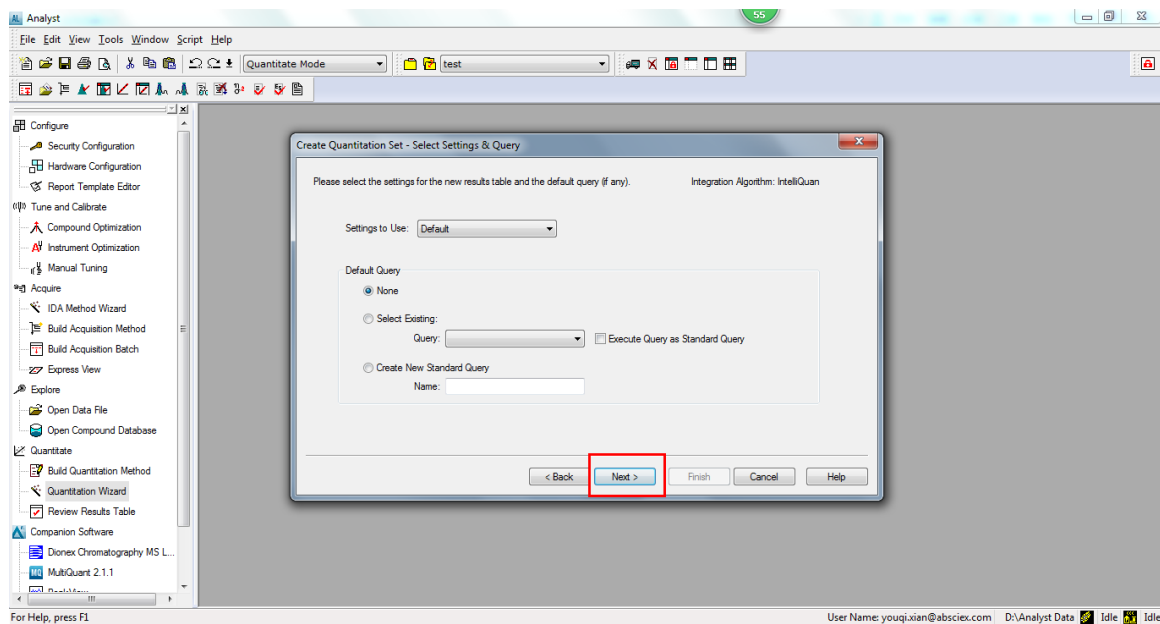


七、定量分析

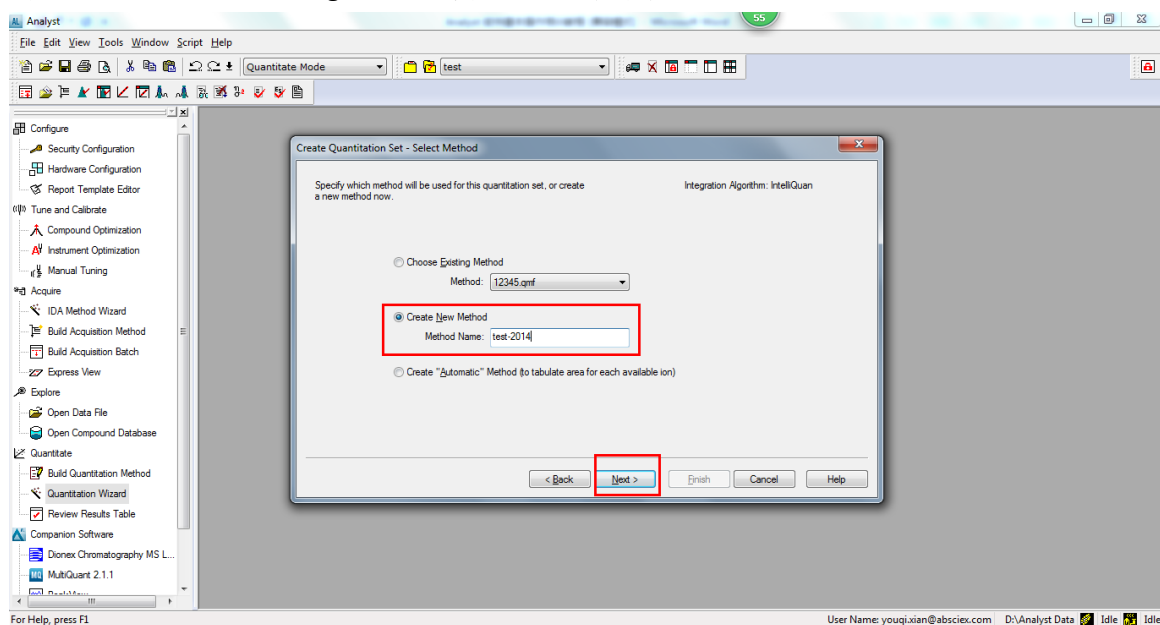
1、选择存放待定量数据的project，双击build quantitation wizard，在弹出窗口内的available data file栏选择您需要定量的质谱数据，在available sample栏选择您需要用于定量的标准曲线和样品，点击next。



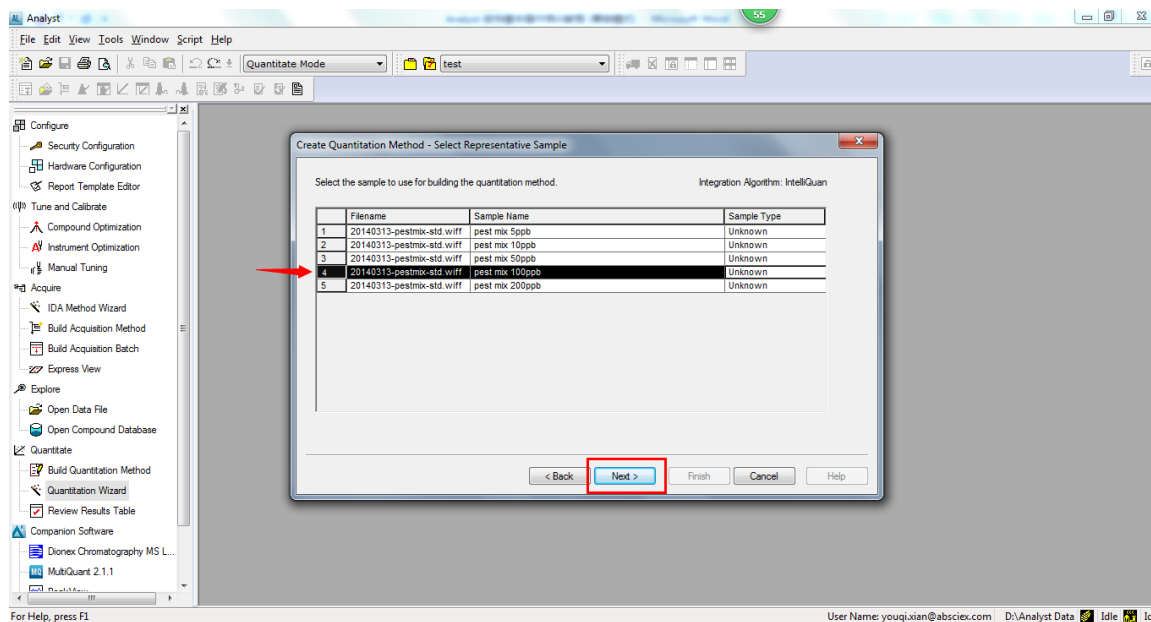
2、用默认参数，直接点击next。



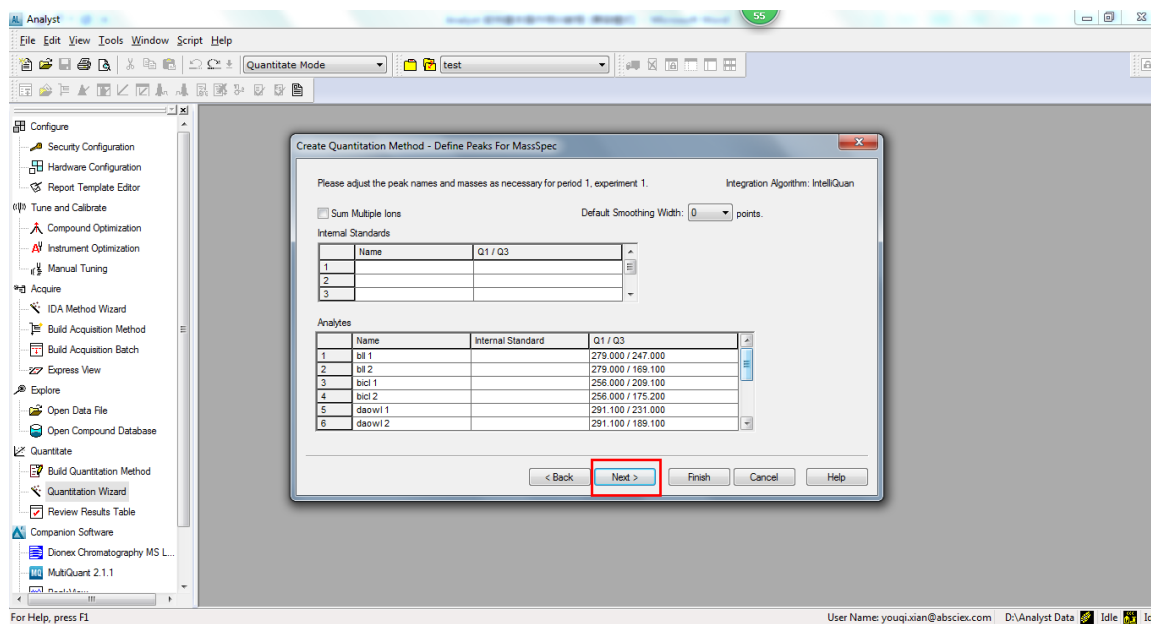
3、如需新建定量方法则选择creat new method，并输入新方法名称；如需调用以前的定量方法则选择choose exciting method并在下拉菜单内选择方法。点击next。



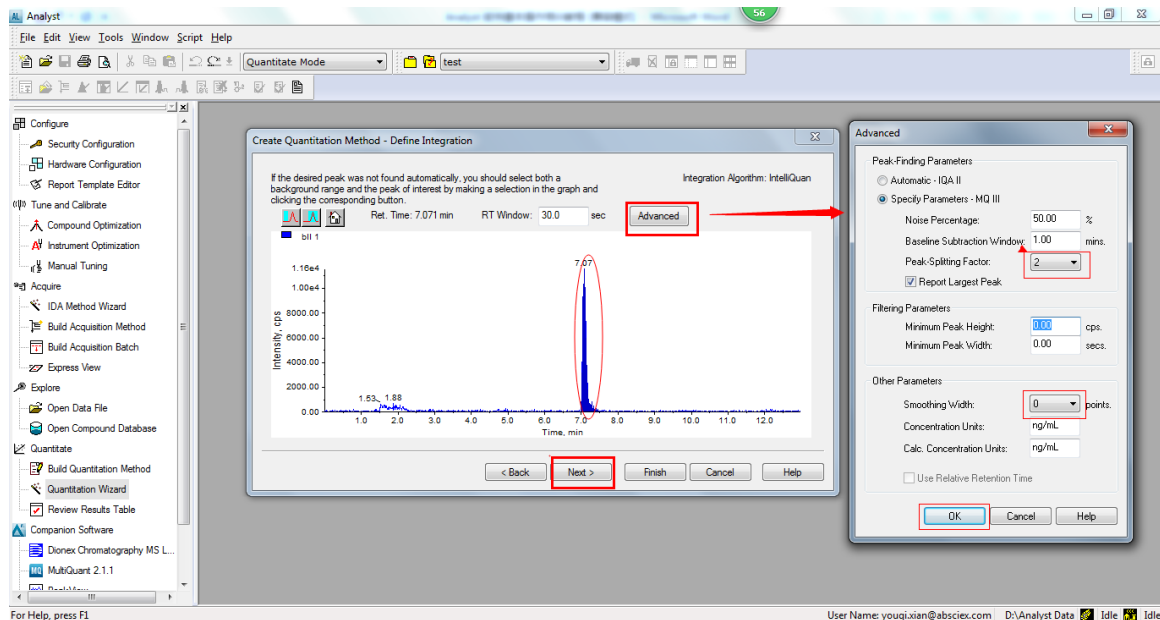
4、此处选择一个标准曲线中高浓度的标准品作为模板用于建立定量方法，点next。



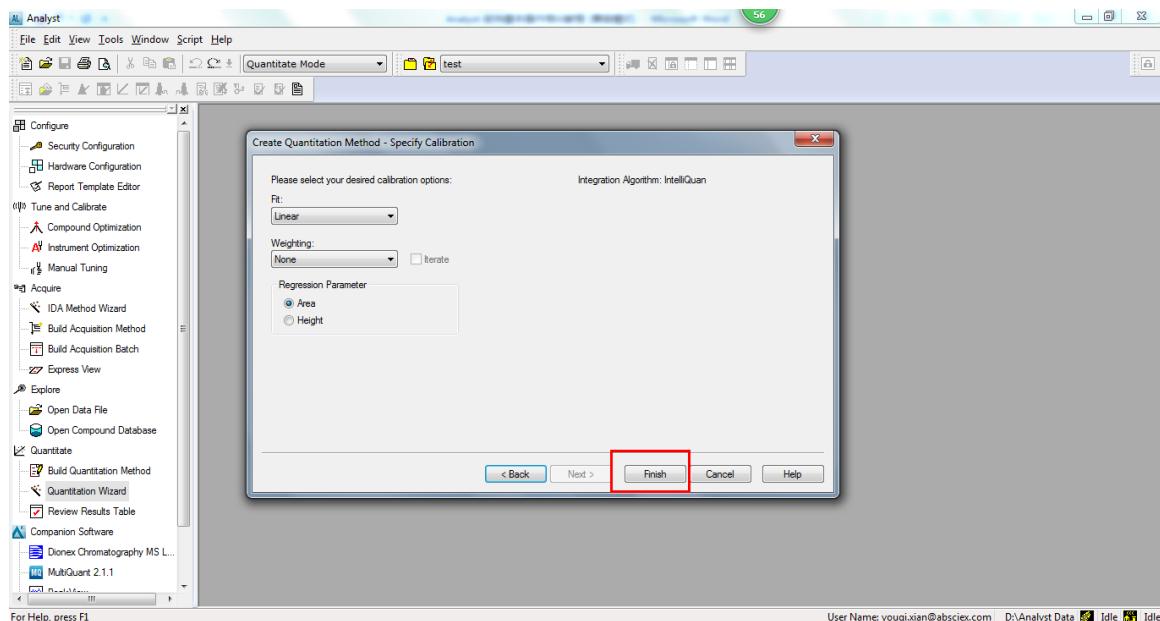
5、此步软件会自动在样品中提取离子对信息，直接点next即可。



6、此处软件会自动提取各个离子对并对其峰面积积分；如果软件默认参数不能很好的对峰进行积分，可点击advanced，在弹出对话框内调整peak-splitting factor（分峰因子）和smoothing widths（平滑宽带）的值，这两个参数都是值越大峰的面积积的越多，点ok可保存对该离子对的积分参数的修改；点击next，依次对每个离子对积分情况进行浏览或修改。



7、待所有离子对积分情况都浏览完后，最后点击finish即可。



8、在结果表里先确认样品类型sample type，标准品选standard，样品选unknown；在analyte concentration栏填入标准品的实际配制浓度。

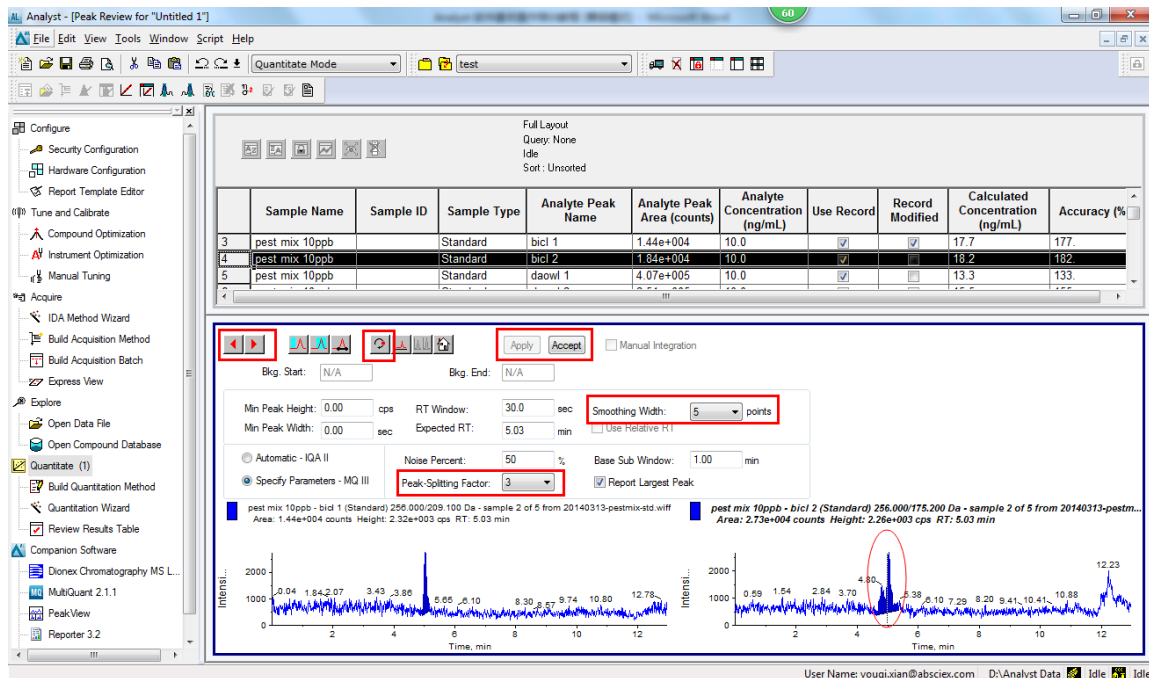
	Sample Name	Sample ID	Sample Type	Analyte Peak Name	Analyte Peak Area (counts)	Analyte Concentration (ng/mL)	Use Record	Record Modified	Calculated Concentration (ng/mL)	Accuracy (%)
1	pest mix 10ppb		Standard	bl1 1	2.81e+003	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	17.0	170.
2	pest mix 10ppb		Standard	bl1 2	2.59e+003	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	16.3	163.
3	pest mix 10ppb		Standard	bic1 1	1.41e+004	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	17.7	177.
4	pest mix 10ppb		Standard	bic1 2	1.84e+004	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	18.2	182.
5	pest mix 10ppb		Standard	daowl 1	4.07e+005	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	13.3	133.
6	pest mix 10ppb		Standard	daowl 2	2.51e+005	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	15.5	155.
7	pest mix 10ppb		Standard	dcm 1	5.38e+004	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	16.2	162.
8	pest mix 10ppb		Standard	dcm 2	6.71e+003	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	17.1	171.
9	pest mix 10ppb		Standard	trmw 1	1.16e+005	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	15.6	156.
10	pest mix 10ppb		Standard	trmw 2	4.49e+004	10.0	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	16.9	169.
11	pest mix 50ppb		Unknown	bl1 1	1.54e+004	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	30.7	N/A
12	pest mix 50ppb		Unknown	bl1 2	1.44e+004	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	30.3	N/A
13	pest mix 50ppb		Unknown	bic1 1	9.23e+004	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	32.5	N/A
14	pest mix 50ppb		Unknown	bic1 2	8.12e+004	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	31.6	N/A
15	pest mix 50ppb		Unknown	daowl 1	2.68e+006	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	31.3	N/A
16	pest mix 50ppb		Unknown	daowl 2	1.63e+006	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	31.4	N/A
17	pest mix 50ppb		Unknown	dcm 1	3.59e+005	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	31.2	N/A
18	pest mix 50ppb		Unknown	dcm 2	5.05e+004	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	31.3	N/A
19	pest mix 50ppb		Unknown	trmw 1	7.99e+005	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	34.2	N/A
20	pest mix 50ppb		Unknown	trmw 2	3.25e+005	N/A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	35.1	N/A
21	pest mix 100ppb		Standard	bl1 1	6.67e+004	100.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	86.8	86.8
22	pest mix 100ppb		Standard	bl1 2	6.35e+004	100.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	88.0	88.0
23	pest mix 100ppb		Standard	bic1 1	3.72e+005	100.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	85.4	85.4

9、双击结果列表第一行，下方会弹出每个离子对的峰积分情况，在图上点右键，点击option，在新弹出窗口内选择num.row 1,num. column 2(一行两列)；zoom Y axis to选第一个，点击ok。

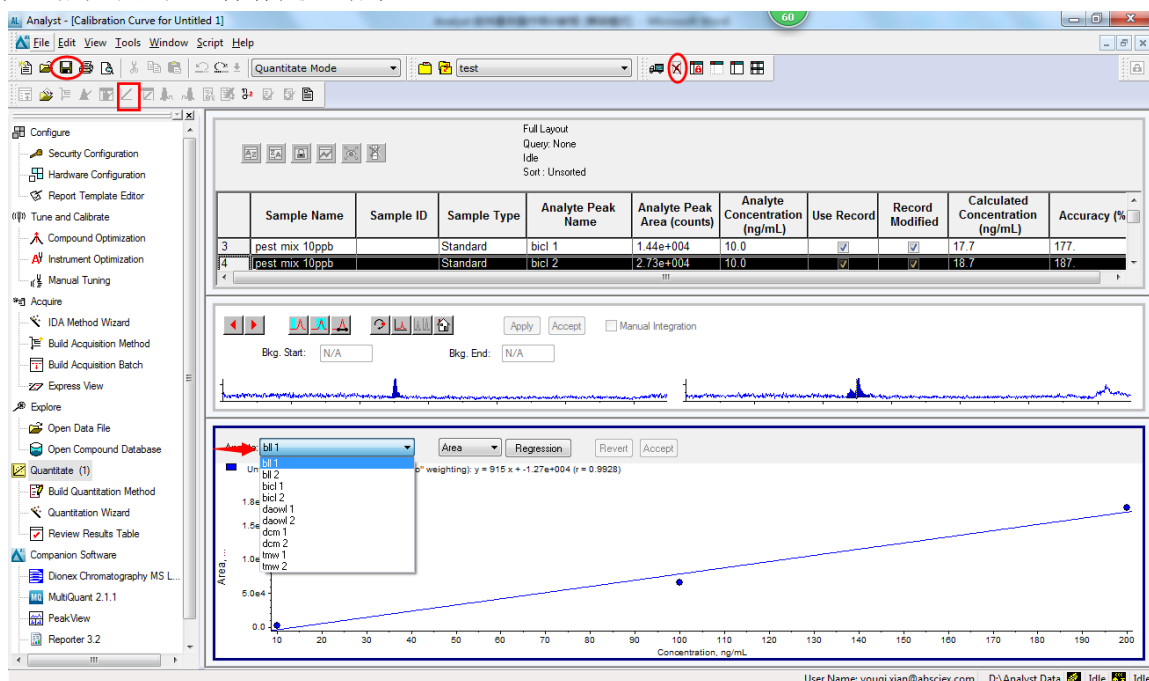
The Peak Review Options dialog box is shown with the following settings:

- Appearance:** Num. rows: 1, Num. columns: 2
- Automatic Zooming:** Zoom Y axis to: 100.00 % of largest peak
- Internal Standard Review:** Review with each analyte (selected)
- Manual Integration (Percent Rule):** Reject manual integration if difference in new area is less than 0 % of original area

10、点击峰图上方的 按钮两次可显示积分参数，调整peak-splitting factor（分峰因子）和 smoothing widths（平滑宽带）的值，点击apply使离子对积分准确，更改后再点击accept；如此使用 按钮对每一个离子对的积分进行检查和修改。



11、对每个离子对的积分检查无误后，点击 图标可查看标准曲线在标准曲线栏的下拉菜单内可切换查看不同离子对的标准曲线情况，查看合格后点击软件上方工具栏的 图标删除标准曲线栏和峰积分栏，然后点击 保存定量结果。



12、点击软件上方工具栏的 图标打印定量报告，在弹出的报告模板窗口里选择合适自己的定量模板，点击create report。在弹出的保存窗口内选择保存路径并填写报告名称，点击save即可自动打印报告。

