

EXPEC5210 型 LC-MS/MS 仪器日常操作手册



杭州谱育科技发展有限公司

目录

一.准备与开机	3
二.调谐	3
2.1. 校准液稀释配方	3
2.2. 低流速调谐和质量轴校准	4
2.3. 高流速调试	8
三、方法建立	12
3.1 方法运行	12
3.2 序列创建	12
3.3 液相方法编辑	15
3.4 质谱方法编辑	18
3.5 序列运行	23
四. 数据分析	24
4.1 定性分析	24
4.2 定量分析	34
五. 关闭仪器	64

一. 准备与开机

1) 打开空开，UPS，稳压器开关，打开电脑，登录软件；打开质谱开关；

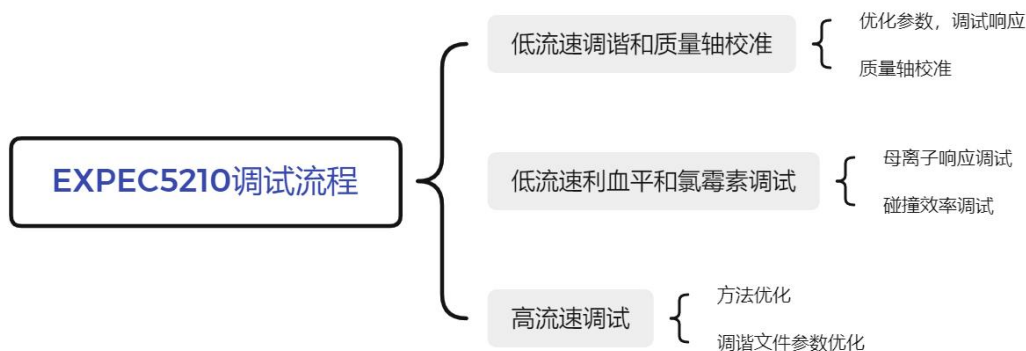


2) . 打开机械泵电源开关，在控制软件主界面中点击图标 **真空控制**，打开真空控制界面，点击高级，待碰撞池真空度降至 2torr 以下时，点击打开真空；

3) . 长时间关机建议过夜抽真空，短时间泄真空建议最少抽 2h 真空；

4) . 打开液相和柱温箱电源开关。

二. 调谐



2.1. 校准液稀释配方

碘化钠调谐液：

精密称取碘化钠固体 $50\text{mg} \pm 0.5$ ，置 50ml 容量瓶中，加 50% 异丙醇水溶液，溶解并稀释至刻度，摇匀，浓度 (1mg/ml) ，作为贮备液， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏，精密量取 1ml 贮备液至 10ml 容量瓶中，加 50% 甲醇水溶液稀释至刻度，摇匀，既得碘化钠调谐液 (0.1mg/ml) ， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏。

利血平测试液

精密称取利血平固体 $10\text{mg} \pm 0.1$ ，至 100ml 容量瓶中，加甲醇溶解，并稀释至刻度，摇匀，既得 100ppm 利血平溶液，作为贮备液， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏；再精密量取 1ml 至 100ml 容量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，既得 1ppm 利血平溶液， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏；再精密量取 1ml 至 100ml 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，摇匀，既得 10ppb 利血平测试液， $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏。

氯霉素测试液

方法同利血平溶液配制

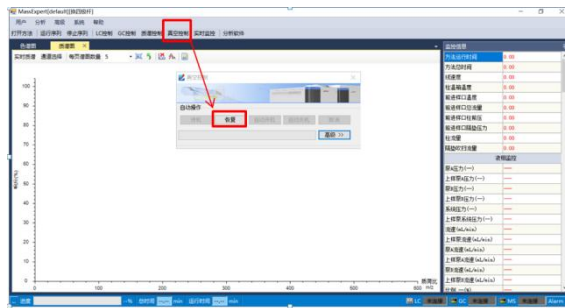
2.2. 低流速调谐和质量轴校准

2.2.1 调谐

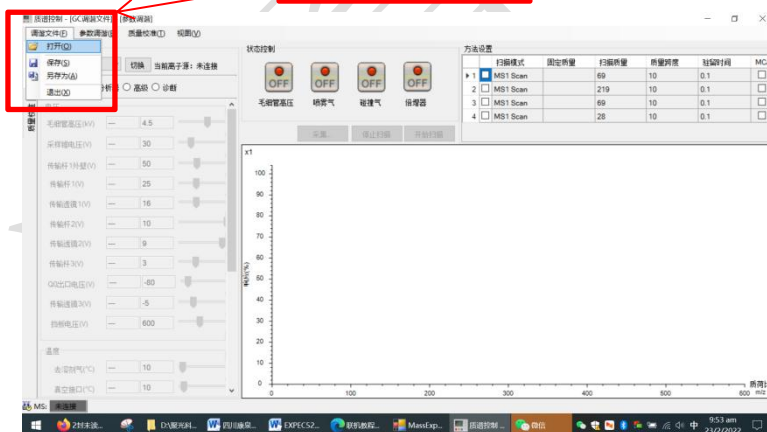
正常使用情况下每半年一次质量轴校正，或每次重新开机时及更换真空腔部件后，则需重新调谐与质量轴校正

步骤如下

1. 打开操作软件，点击真空控制-恢复；



2. 点击质谱控制，调谐文件-打开，加载调谐参数。

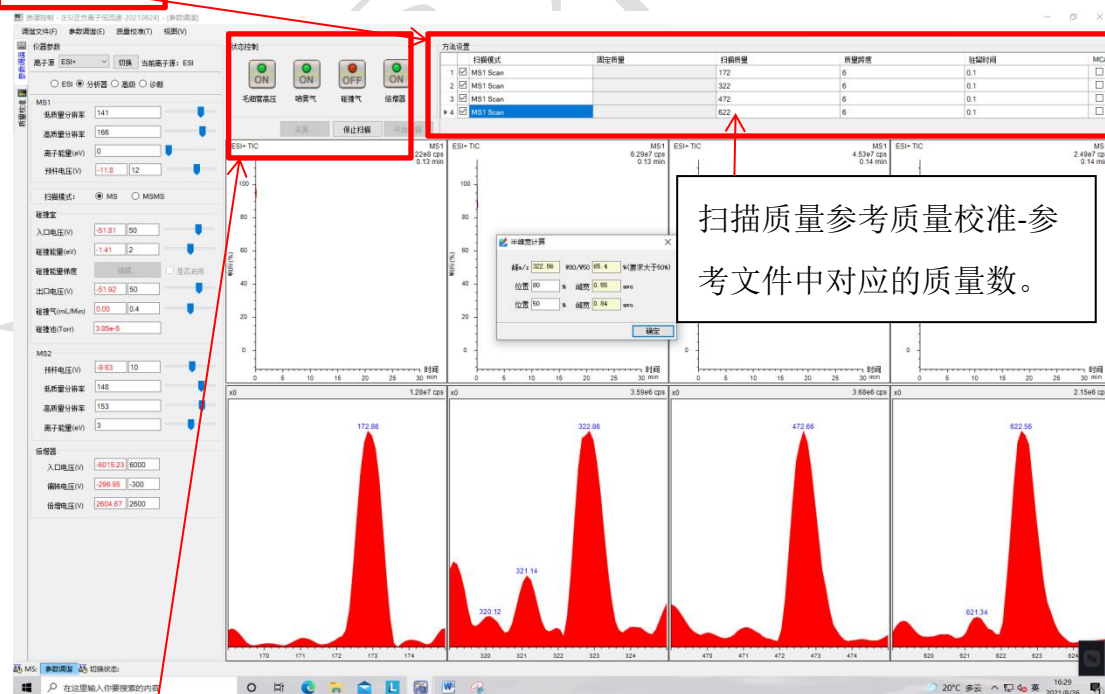


推荐参数

离子源部分	设定值
毛细管高压 (kV)	4.2
采样锥电压 (V)	50
TR1 外壁 (V)	80

TR1 (V)	15
L1 (V)	12
TR2 (V)	8
L2 (V)	7
TR3 (V)	0.8
L3 (V)	0.5
MS1 预杆电压 (V)	18
挡板电压 (V)	800
去溶剂气温度 (°C)	200
真空接口温度 (°C)	110
雾化气 (L/Min)	0.1
去溶剂气 (L/Min)	3
反吹气 (L/Min)	2

方法设置如下图（正离子模式），确认所有参数正常加载。



3. 注射泵进样

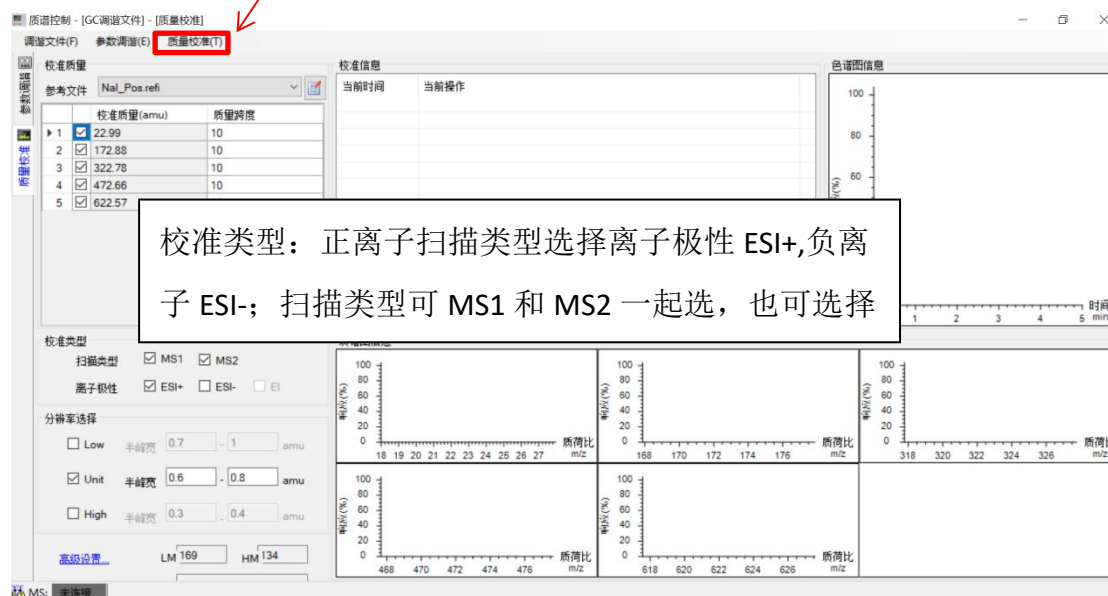
用注射泵进碘化钠溶液。设置流速为 10 μ L/min，点击打开

状态控制中的毛细管高压，喷雾气，倍增器；待喷雾稳定点击开始扫描。

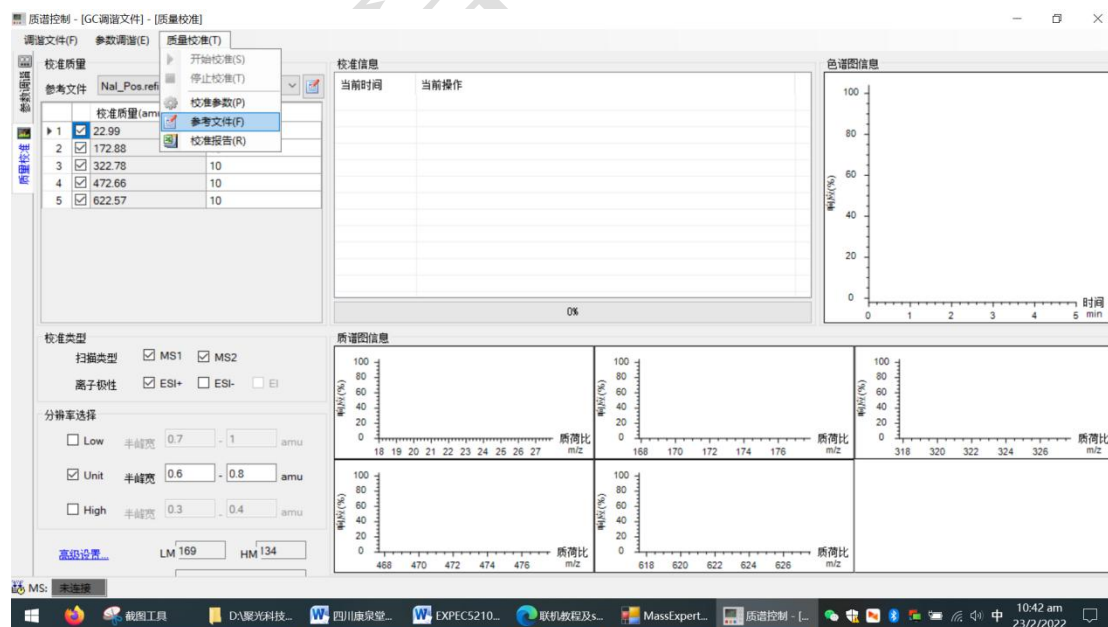
调谐参数使各质量数响应达到要求水平; MS1 调谐完成后切换 MS2 进行调谐; 调谐时需查看 1000amu 是否有响应, 不失谐。

2.2.2 质量轴校准

调谐完成后, 点击质量校准, 点击参考文件, 选择所需文件,

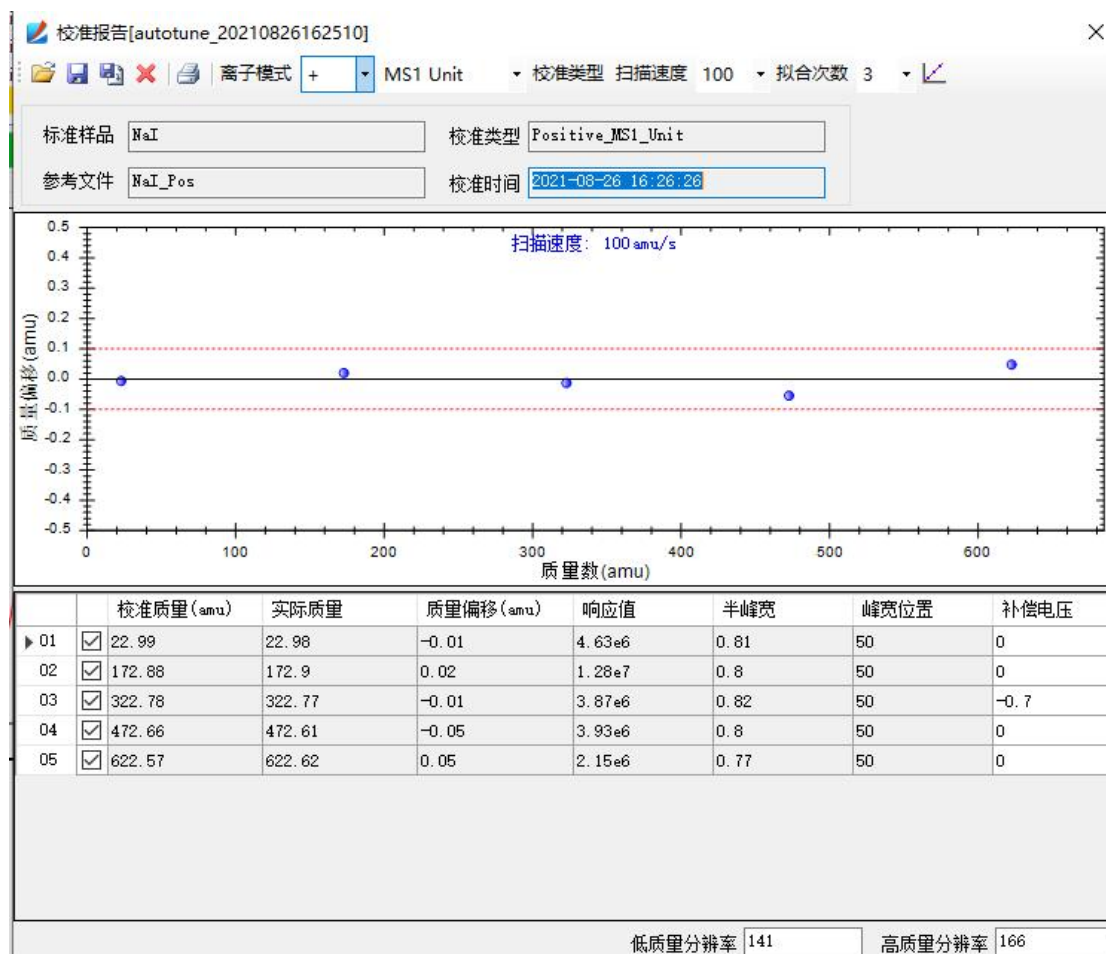


设置完成后点击质量校准-开始校准。



校准报告

校准完毕会生成校准报告，校正完成后完毕后，特征通道的分辨率在 0.6-0.8 之间，质量数偏移 0.1 以内。点击另存或保存。



4. 负离子模式调谐

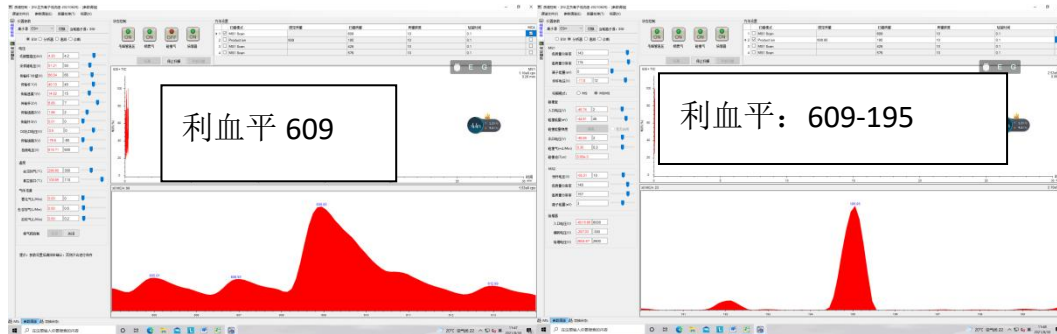
方法同正离子模式调谐，离子源需切换为 ESI⁻，校准质量也需负离子参考文件的质量数；负离子校准校准液可用 PPG 校准液。

2.2.3 标准模式调谐

用注射泵进样，吸取调谐液，设置流速为 10 μ L/min

A. 正离子为 10ppb 利血平甲醇溶液，注射泵进样，流速 10 μ L/min，609 特征通道脉冲 CPS > 1E6；

B. 负离子为 10ppb 氯霉素甲醇溶液，注射泵进样，流速 10uL/min，321 特征通道脉冲 CPS>1E6；



2.2.4碰撞模式调谐

A. 正离子为 10ppb 利血平甲醇溶液，注射泵进样，流速 10 uL/min，195/609 amu >10 %

B. 负离子为 10ppb 氯霉素甲醇溶液，注射泵进样，流速 10 uL/min，152/321 amu >10 %

2.3. 高流速调试

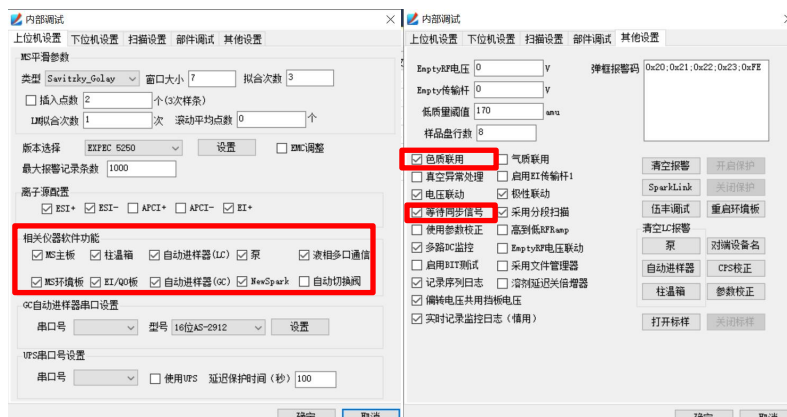
2.3.1调试标准

信噪比、峰面积重复性：液相进样，1pg 利血平信噪比（RMS）>500；1pg 氯霉素信噪比（RMS）>500；

1pg 利血平/氯霉素连续进样 6 针，609-195/321-152 峰面积 RSD< 5%。

2.3.2 调试步骤

1) 连接液相和质谱，确认高级-内部调试-上位机设置正确；高级-内部调试-其他设置中色质联用和等待同步信号勾选；

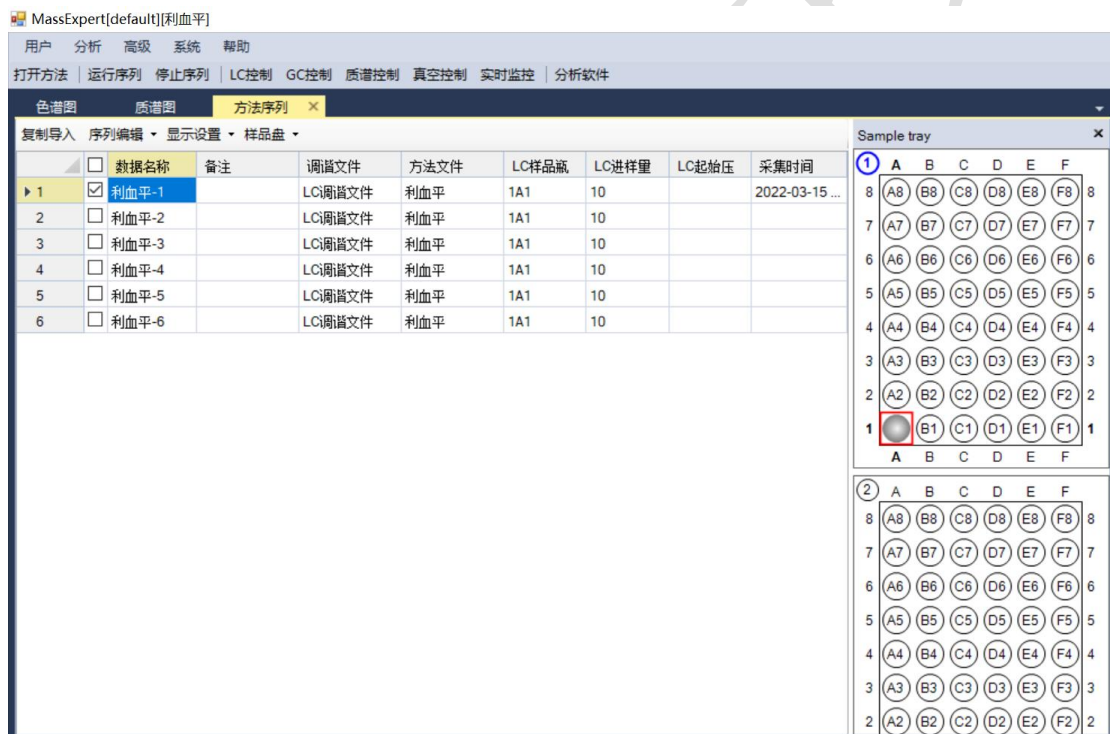


高级-色谱配置-自动进样器设置正确（按实际进样器配置）



2) 新建序列

如下图设置序列，加载调谐方法和方法文件，选择样品瓶所在位置。



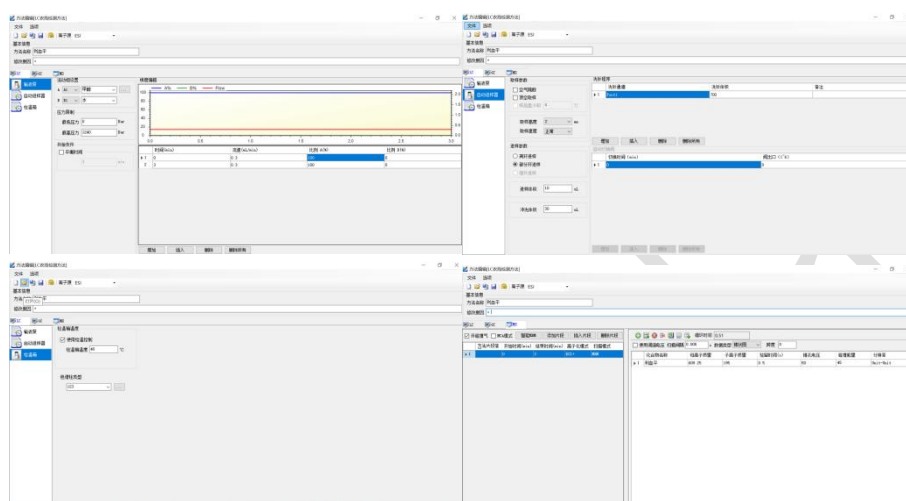
方法编辑

液相方法	输液泵	流动相甲醇，流速 0.3-0.4ml/min，等度， 时间根据色谱柱及具体出峰时间定
	进样器	部分环进样模式，进样量 10 µL，冲洗体 积 30 µL
	柱温箱	设置柱温 40℃
质谱方法	ESI+ (利血平)	

☒ 开碰撞气 ☐ MCA模式 智能MSM 添加片段 插入片段 删除片段		循环时间 0.51	
方法片段 开始时间(min) 结束时间(min) 离子化模式 扫描模式		☐ 使用调谐电压 扫描间隔 0.005 s 数据类型 棒状图 跨度 0	
1 0 3 ESI+ MSM		化合物名称 母离子质量 子离子质量 驻留时间(s) 锥孔电压 碰撞能量 分辨率	
		1 利血平 609.25 195 0.5 50 45 Unit-Unit	

质谱方法	ESI-(氯霉素)
------	-----------

☒ 开碰撞气 ☐ MCA模式 智能MSM 添加片段 插入片段 删除片段		循环时间 0.51	
方法片段 开始时间(min) 结束时间(min) 离子化模式 扫描模式		☐ 使用调谐电压 扫描间隔 0.005 s 数据类型 棒状图 跨度 0	
1 0 3 ESI- MSM		化合物名称 母离子质量 子离子质量 驻留时间(s) 锥孔电压 碰撞能量 分辨率	
		1 氯霉素 321 152 0.5 50 20 Unit-Unit	



调谐文件

- 1) 低流速调试利血平和氯霉素及碰撞模式后保存调谐文件；
- 2) 更改电压，温度，气体流量如下表，另存调谐文件为高流速调谐参数。

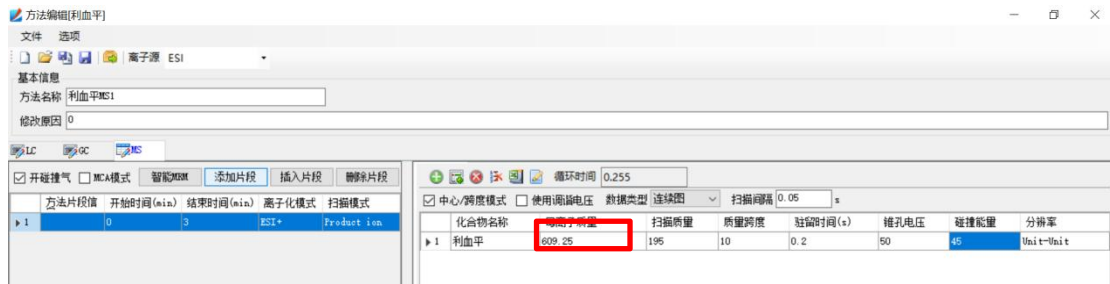
毛细管高压 (KV)	4.8	去溶剂气 (L/min)	5
去溶剂气温度 (°C)	450	反吹气 (L/min)	1
雾化气 (L/min)	1.2		

- 3) 优化参数。

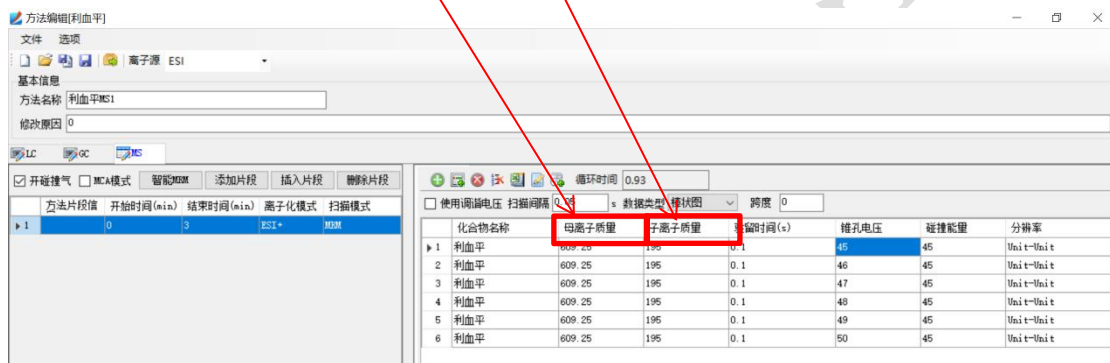
a MS1 Scan 确定母离子质量数；

方法编辑(利血平)	
文件 选项	
基本设置	
方法名称 利血平MS1	
修改原因 0	
LC GC MS	
☐ 开碰撞气 ☐ MCA模式 智能MSM 添加片段 插入片段 删除片段	
方法片段 开始时间(min) 结束时间(min) 离子化模式 扫描模式	
1 0 3 ESI+ MS1 Scan	
循环时间 0.255	
☒ 中心/跨度模式 ☐ 使用调谐电压 扫描间隔 0.05 s 数据类型 连续图	
化合物名称 扫描质量 质量跨度 驻留时间(s) 锥孔电压 分辨率	
1 利血平 609 10 0.2 50 Unit	

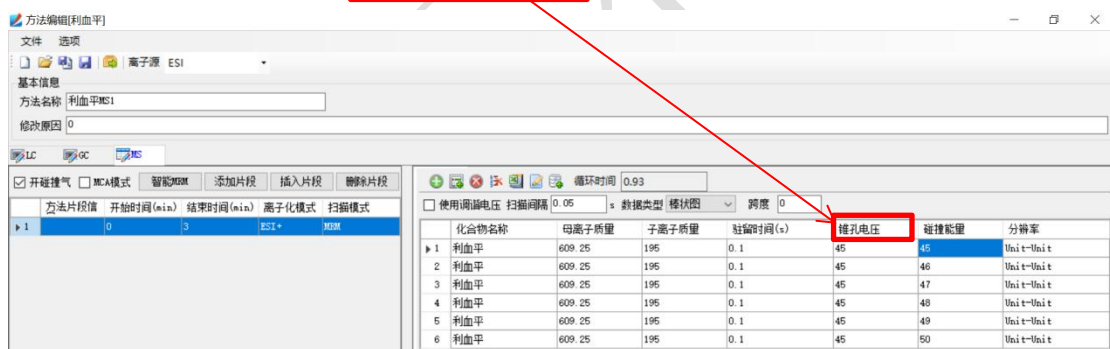
b product ion 确定母离子质量数后，子离子模式扫描确认子离子质量数



c 锥孔电压优化 确定母离子和子离子质量数后，按下图设置，优化锥孔电压。
选择响应最高时的锥口电压



d. 碰撞能量优化 确定锥孔最优电压后，优化碰撞能量



e 优化调谐参数

调节毛细管高压，去溶剂气温度，雾化气、去溶剂气、反吹气流量，使各参数处于最佳，仪器响应达到标准。每调节一次参数运行序列观察响应。

	参考参数	调试范围
毛细管高压 (KV)	4.8	0.1 步增上下调节。
去溶剂气温度 (°C)	450	10 或 20°C 步增上下调节。
雾化气 (L/min)	1.2	0.1 步增上下调节
去溶剂气 (L/min)	5	视情况调节，步增 (0.1, 0.2, 0.5)

反吹气 (L/min)	1	视情况调节，步增 (0.1, 0.2, 0.5)
-------------	---	--------------------------

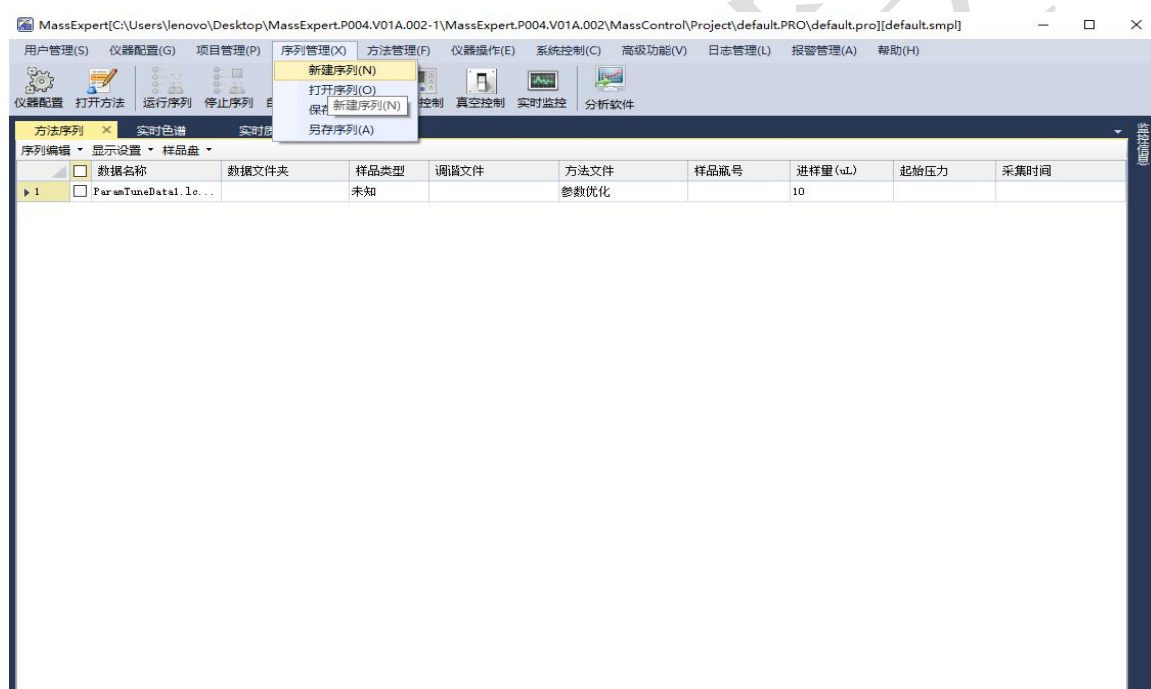
也可适当调节分析器中 MS1 和 MS2 的离子能量，预杆电压；倍增器（入口电压，偏转电压，倍增电压）。

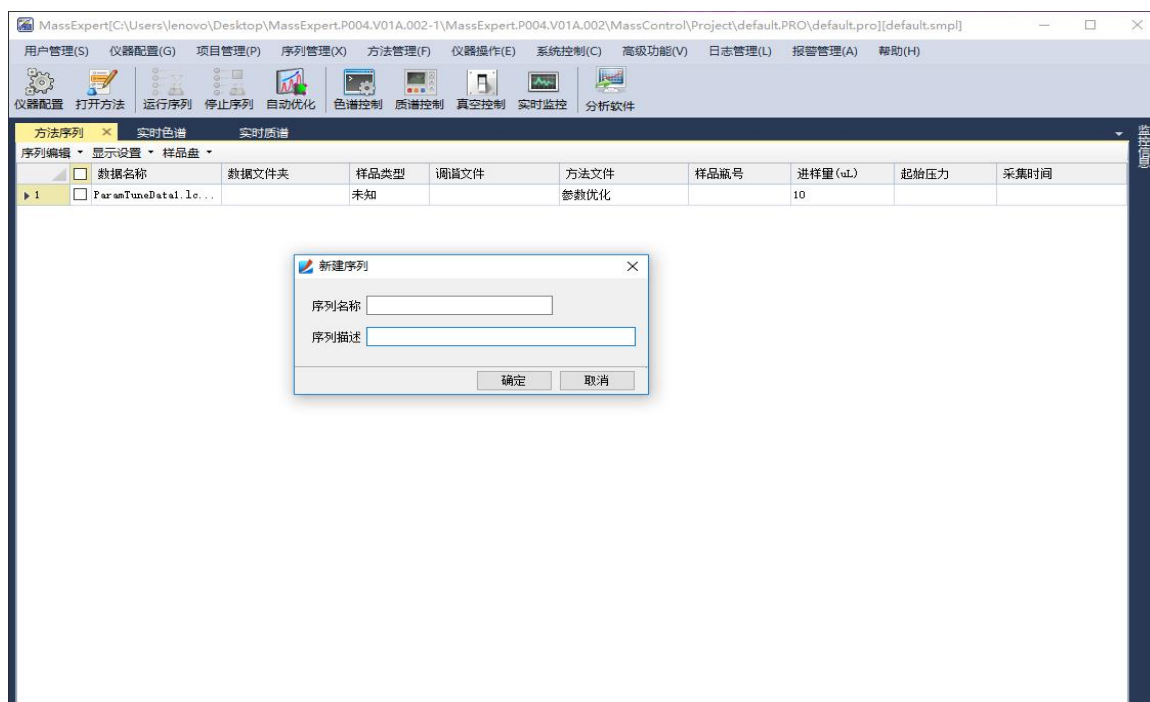
三、方法建立

3.1 方法运行

4.1.1 在软件主界面中上方菜单栏“序列管理”中选择“新建序列”，输入序列名称和序列描述；也可以点击“打开序列”，导入用户之前保存的序列。

3.2 序列创建





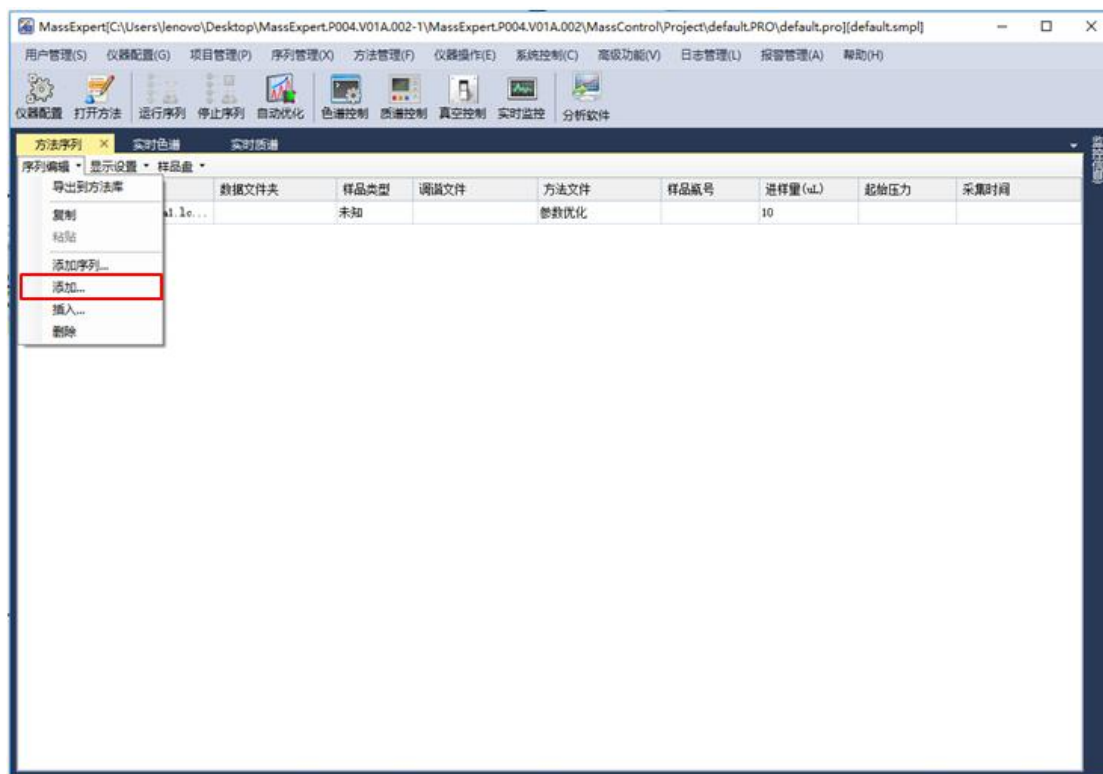
1. 图 4- 1 新建序列界面

2. 在“显示设置”中选择“定制”，可在弹出的对话框中对序列表进行配置，配置如下：

- (1)数据名称 输入样品采集时保存的数据文件名称（数据名称必须不同，否则会被覆盖）
- (2)数据文件夹 输入数据文件保存的文件夹（文件夹均保存在当前项目下的 Data 文件夹二级目录下，若不输入则直接保存在 Data 文件夹内）
- (3)备注 输入对每个样品的文字性描述，可以空着不输入
- (4)样品名称 输入每个样品的名称，样品名称可以相同，也可以空着不输入
- (5)样品类型 定义样品类型（样品、空白、校正和 QC），默认为样品，如果是标准品选择校正，如果是质控样品则选择 QC
- (6)调谐文件 根据不同的样品调用不同的调谐文件
- (7)方法文件 选择运行样品要使用的数据采集方法，包含液相和质谱方法
- (8)样品瓶号 选择样品瓶位置
- (9)进样量 设置样品进样体积
- (10)起始压力 数据开始采集时的液相起始压力，单位为 bar

(11)采集时间 样品运行完毕后，在界面上会自动显示采集结束时间

3. 在序列编辑下拉菜单中，选择“添加”，设定要添加的样品数量，也可以勾选“从方法库中新建”，进入方法库，选择要导出的序列，单击，导出方法库中的序列信息。



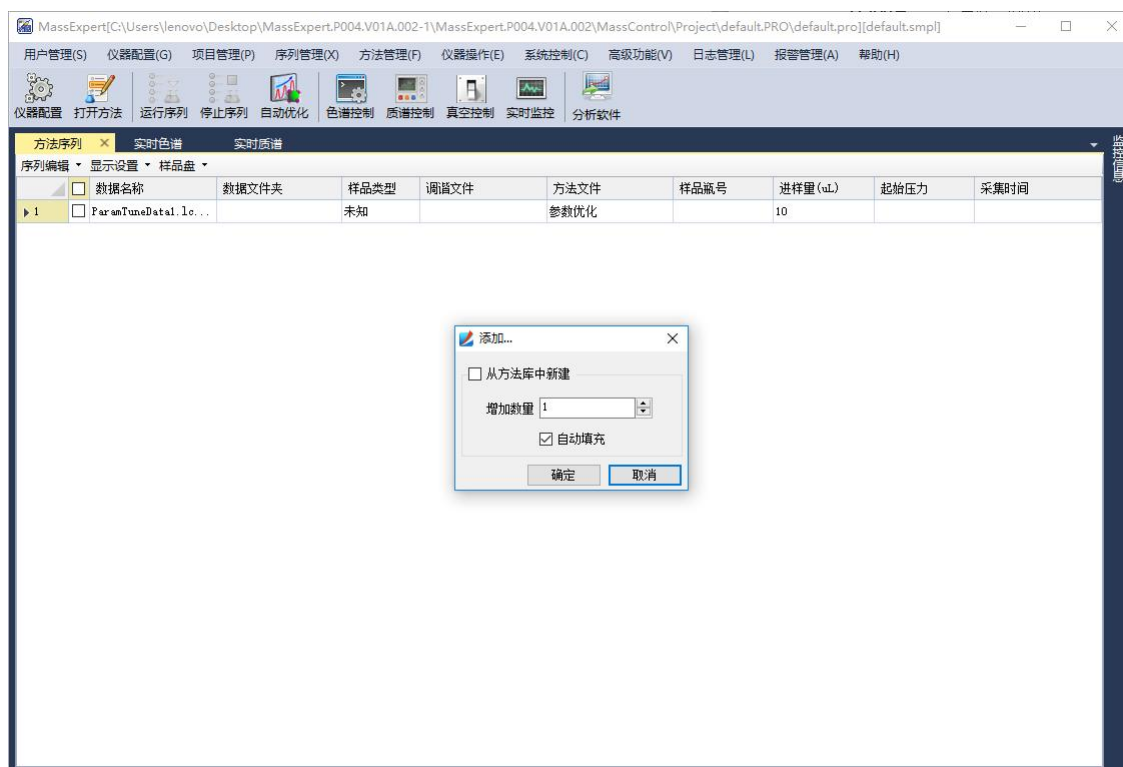


图 4- 2 添加样品界面

3.3 液相方法编辑

1) 以标配的 ULC 500 型 HPCL 为例（其他用户自配的液相色谱仪方法编辑请参考其对应的用户手册），在软件主界面上方菜单栏“方法管理”中选择“新建方法”，进入方法编辑界面。打开 LC 页面，点击输液泵的图标，在右侧窗口中进行梯度方法设置，如下图所示。

流动相设置：选择 A/B 泵所用流动相端口，并且用户可以自定义流动相名称

压力限制：设置运行过程中的压力范围，一旦超过限制，系统将自动停止当前方法运行

开始条件：当启用平衡时间设定时，系统每一次进样前都会自动平衡（主要使系统与方法初始流动相匹配），用户可自定义平衡时间。

梯度编辑：设置梯度洗脱条件（时间、流速、A/B 比例）

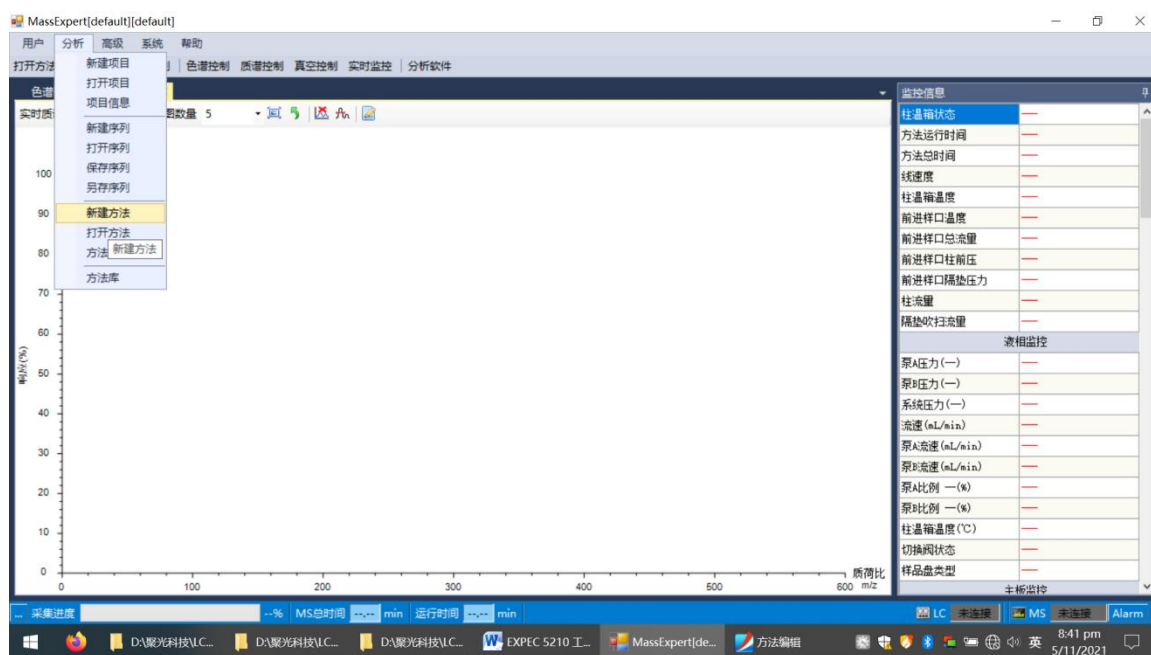


图 4- 3 新建方法界面

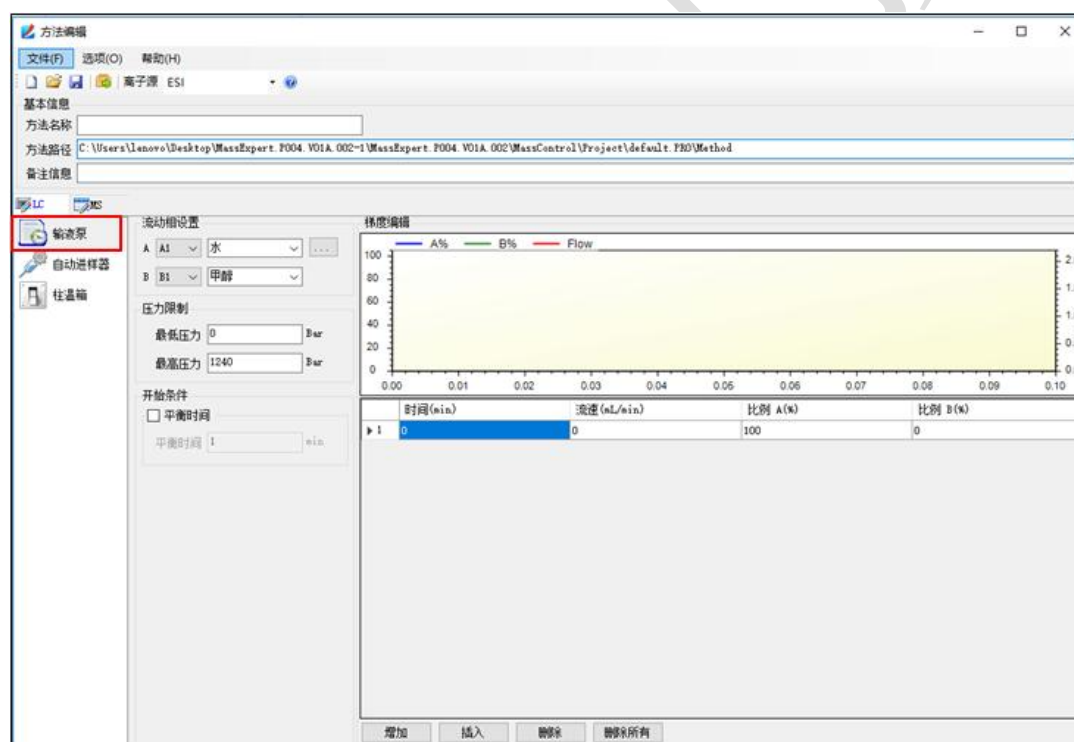


图 4- 4 输液泵编辑界面

2) 点击自动进样器图标，在右侧窗口中进行自动进样器方法设置，如下图所示。

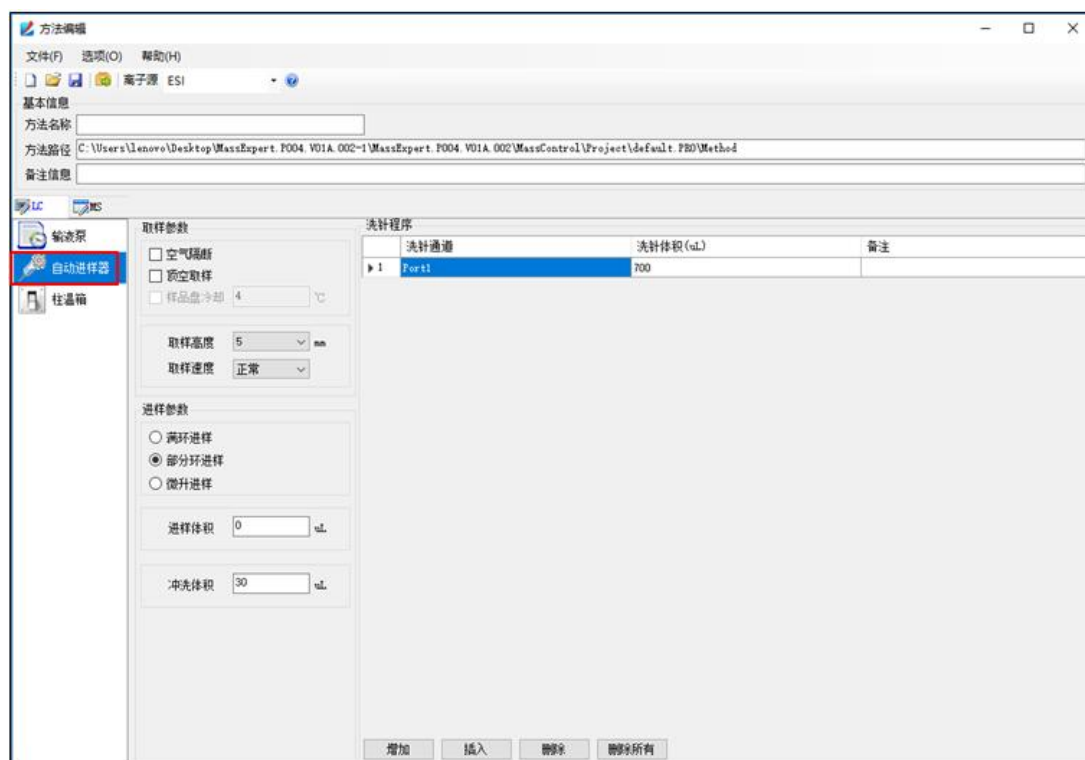


图 4- 5 自动进样器编辑界面

①取样参数

空气隔断：将样品溶液与洗针液隔离开，防止样品扩散和交叉污染。

顶空取样：通过在样品瓶顶部通入空气加压取样，适用于粘稠样品。

样品盘冷却：在常温或者高温下不稳定的样品，当进样器配置制冷模块功能可选择此功能，最低到达 4℃（选配）。

取样高度：进样针与进样瓶底部距离，默认为 5mm，当液面较低时需要降低取样高度。

进样速度：注射器的取样速度，默认速度为正常，当吸取粘稠样品时，进样速度可调整为缓慢。

②进样参数

进样模式：分为满环进样、部分环进样和微升进样三种模式。

满环进样模式时进样体积=定量环体积，精度最高；

部分环进样模式的进样体积需要≤定量环体积的 50%，最低 1uL；

微升进样模式没有样品损失，精度最差，UPLC 标配（20uL 定量环和 15uL 进样针）不适用。

冲洗体积：样品预冲洗体积，在取样前先吸取若干样品除去针内残留的洗针液或者其他溶液进行冲洗，默认为 30 uL。

③洗针程序

洗针体积：洗针所需要的洗针液体积，默认为 700 uL。

备注：用户自定义洗针液名称

3) 点击柱温箱图标，在右侧窗口中进行柱温箱方法设置，如下图所示。需要时，勾选使用柱温控制，柱温箱温度建议不超过 90℃。

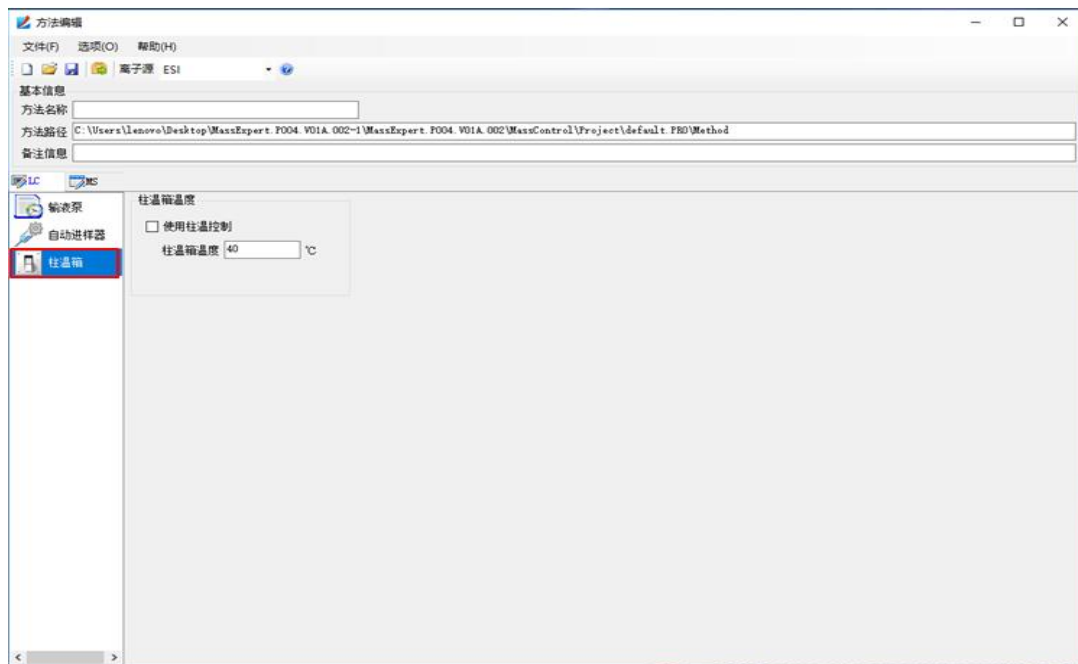


图 4- 6 柱温箱编辑界面

3.4 质谱方法编辑

1) 单击 ，打开 MS 页面，点击“添加片段”，显示如下窗口。EXPEC-5210 质谱仪具有 MS1 扫描 (MS1 Scan)、MS2 扫描 (MS2 Scan)、子离子扫描 (Daughters)、母离子扫描 (Parents)、中性丢失扫描 (Neutral Loss)、MS1 选择离子扫描 (MS1 SIM)、MS2 选择离子扫描 (MS2 SIM)、和多反应监测 (MRM) 等多种扫描功能。各工作模式用途如表 4-1 所示。

表格 0- 1 质谱工作模式列表

模式	作用及用途
MS1 扫描 (MS1 Scan)	Q1 进行化合物扫描，碰撞池和 Q2 只起到离子传输作用，用于确定化合物母离子，了解化合物基本信息

MS2 扫描 (MS2Scan)	Q1 和碰撞池起到离子传输作用, Q2 行化合物扫描, 用于确定化合物母离子, 了解化合物基本信息
子离子扫描 (Daughters)	Q1 扫描固定的母离子, 碰撞池打碎母离子, Q2 扫描产生的碎片离子, 用于确定化合物碎片离子, 研究母离子结构特征
母离子扫描 (Parents)	Q1 扫描母离子, 碰撞池打碎离子, Q2 扫描固定的碎片离子, 可用于筛选具有特征子离子 (结构) 的分子
中性丢失扫描 (Neutral Loss)	Q1 扫描母离子, 碰撞池打碎离子, Q2 扫描与母离子有特征差异的碎片离子, 用于筛选具有特征结构的分子
MS1 选择离子扫描 (MS1 SIM)	Q1 扫描固定母离子, 碰撞池和 Q2 只起到离子传输作用, 用于目标化合物监测, 缺少进一步结构信息, 用于定量时易产生假阳性
MS2 选择离子扫描 (MS2 SIM)	Q1 和碰撞池起到离子传输作用, Q2 描固定母离子, 用于目标化合物监测, 缺少进一步结构信息, 用于定量时易产生假阳性
多反应监测 (MRM)	Q1 扫描固定母离子, 碰撞池打碎母离子, Q2 扫描过滤固定碎片离子, 用于目标化合物监测, 灵敏度高, 主要用于定量, 假阳性低

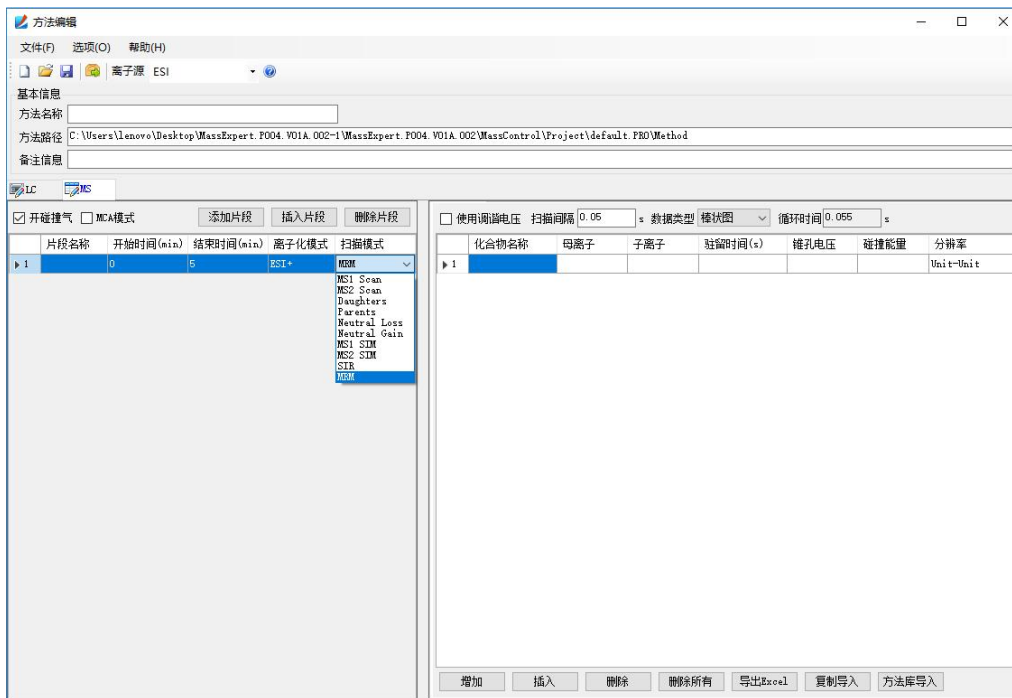


图 4- 7 质谱方法扫描模式编辑界面

2) 以定量分析时常用的 MRM 为例，创建质谱方法，将扫描模式选择为“MRM”，界面如下所示。

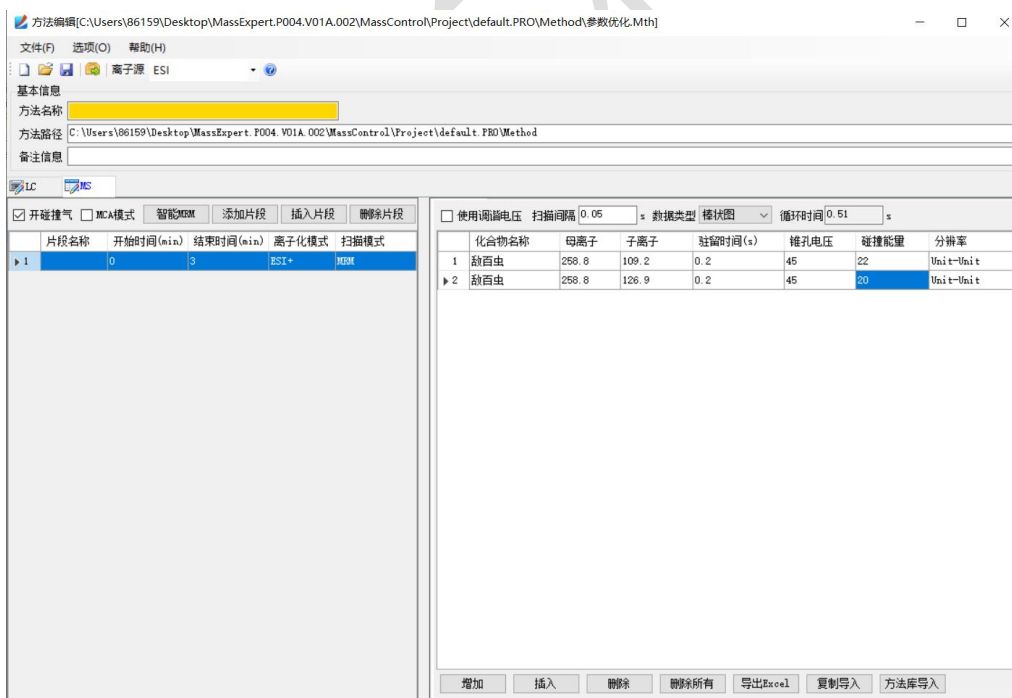


图 4- 8 质谱 MRM 模式界面

在方法片段中选择离子化模式，在时间窗口中输入质谱数据采集时间。如果想要设置多个片段，在上侧点击“添加片段”或者“插入片段”按钮。

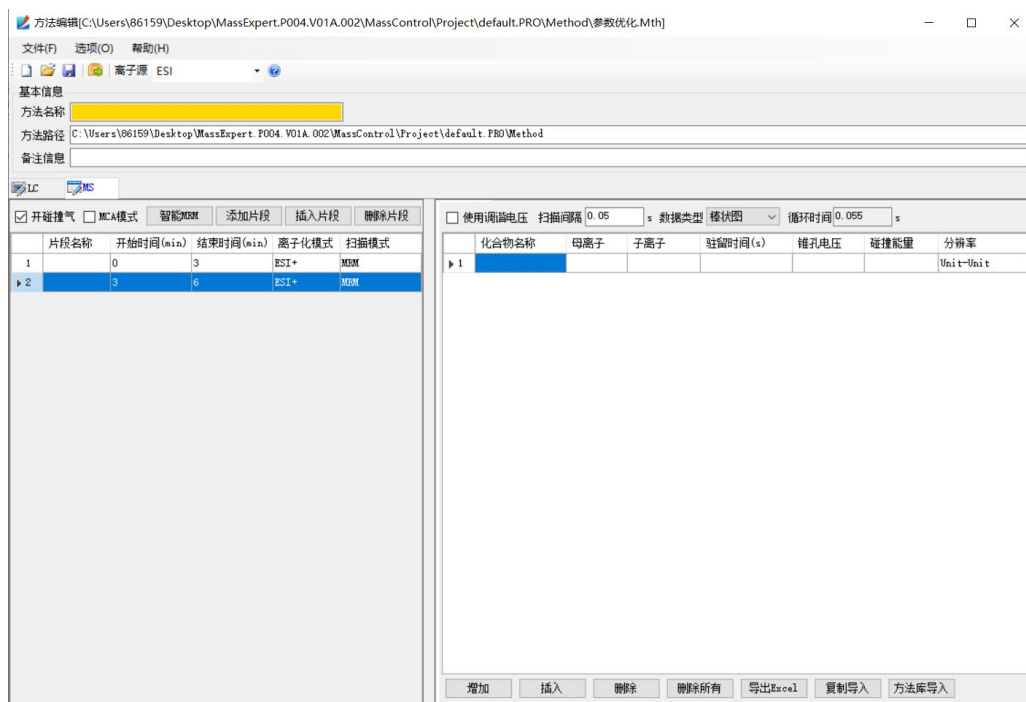


图 4- 9 方法片段编辑界面

3) 在每个方法片段中增加化合物通道，输入化合物名称、目标化合物的母离子质量、子离子质量、驻留时间、锥孔电压、碰撞能量和分辨率模式。如果想要设置多个化合物通道，在下方点击“增加”或者“插入”按钮；如果想删除多余通道，在下方点击“删除”或“删除所有”按钮；如果具有方法库，也可以在下方点击“方法库导入”，进入方法库，勾选所需化合物方法，点击  完成方法库导入。

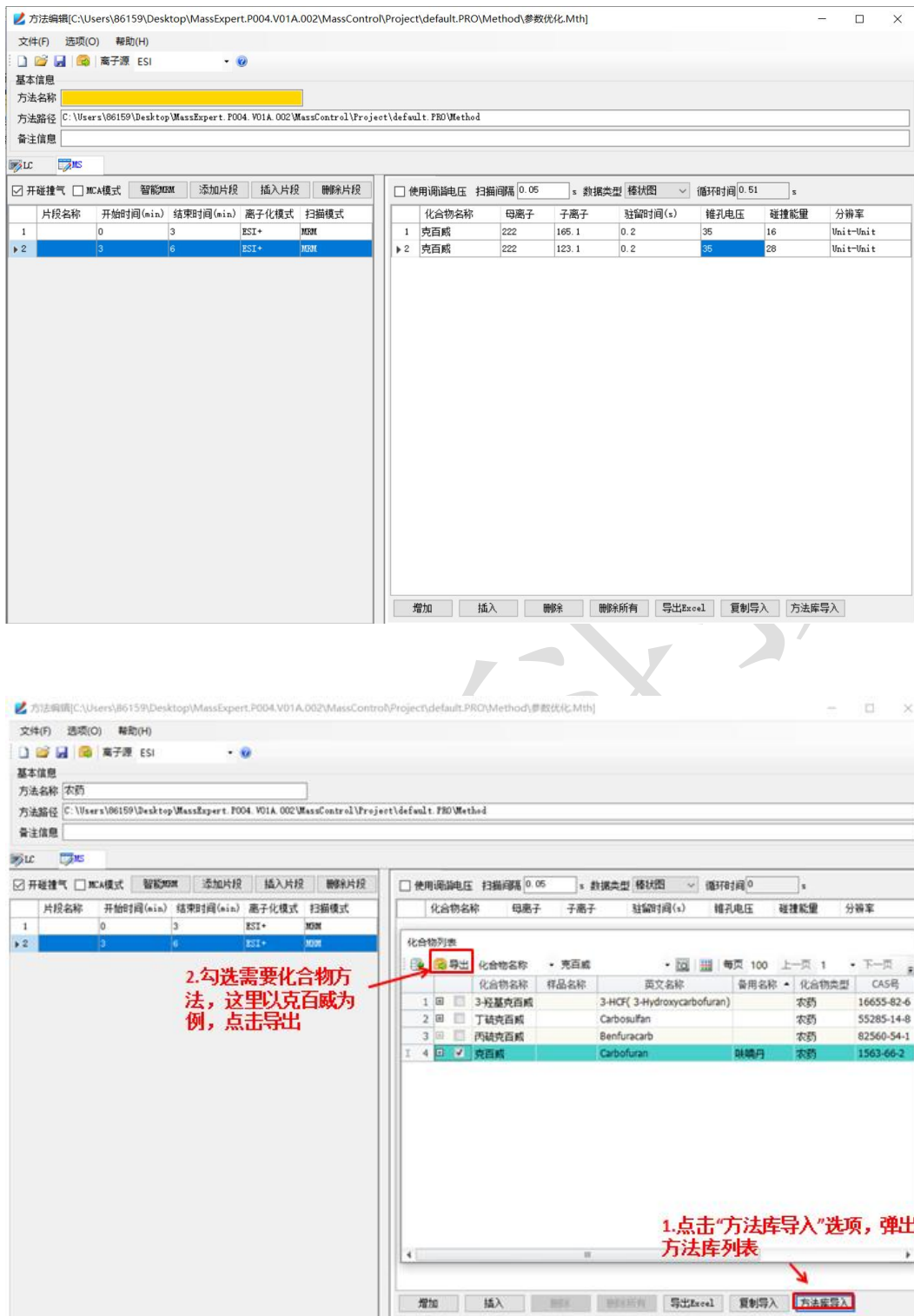
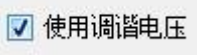


图 4- 10 方法片段中化合物通道编辑界面

注意事项:

- ①推荐在此处输入化合物名称, 在后期定量方法建立时可以自动导入。
- ②驻留时间与每个片段中化合物通道数和色谱峰宽有关, 通道数越多, 色谱峰越窄, 驻留时间越小, 一般建议在 50~300ms。

③不同的化合物有其最佳的样品锥电压和碰撞能量，需要进行参数优化。

④如果要选择调谐参数，可勾选  使用调谐电压，这时候的锥孔电压和碰撞能量会按照调谐文件的设置执行。

⑤分辨率模式默认为 Unit-Unit 模式，即对 MS1 母离子和 MS2 子离子采用 Unit 模式下的校准曲线。

如果要提高化合物响应，可选择 Low-Low 模式，但可能会使噪声增强。

4) 输入方法名称，选择合适的方法路径，然后点击保存按钮将质谱方法保存。

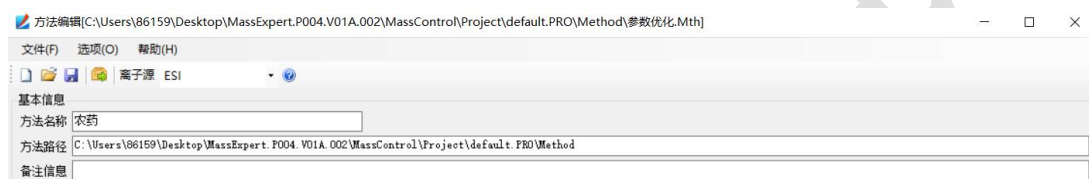
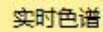
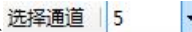


图 4- 11 方法保存界面

3.5 序列运行

1) 确定 MS 和 LC 已进入工作状态。

2) 在序列表中勾选要采集的样品，然后在主界面上方点击图标  运行序列，开始运行样品序列。

3) 在样品列表中单独或同时选中要查看的样品，然后右键点击“查看谱图”，样品色谱图会被打开。也可以点击上方图标  实时色谱，查看当前运行样品的实时色谱图，如显示不是当前样品的色谱图，可以点击  实时谱图 查看；如果需要同时查看多个色谱图，可以点击  选择通道 | 5 同时查看多个色谱图。

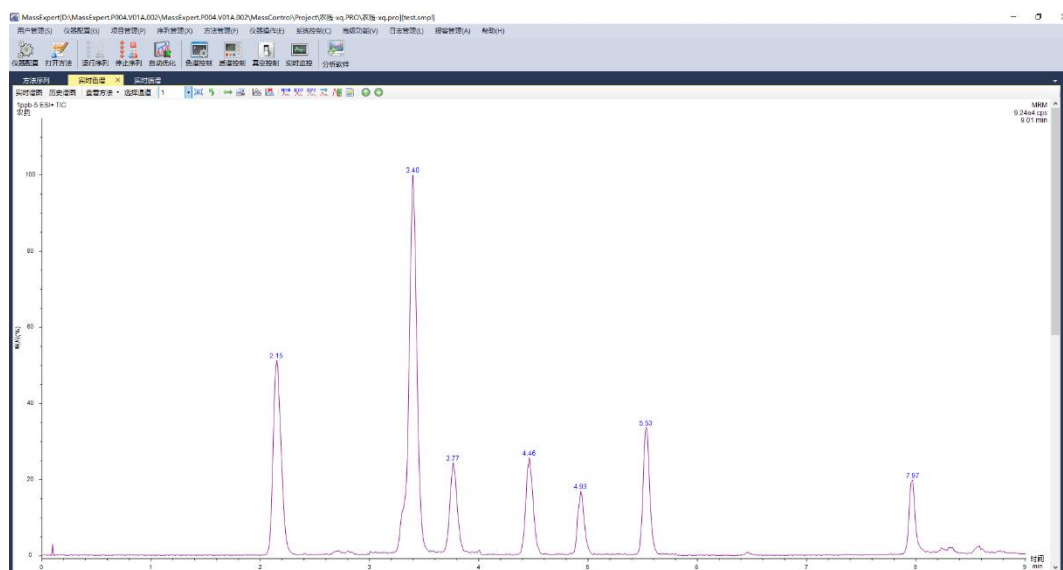


图 4-12 实时谱图界面

4) 鼠标左键选择需要查看的色谱峰，双击，对应的瞬时质谱图会出现在实时质谱窗口（但只有一次扫描的信息），用鼠标左键在色谱图上选中一段范围，会出现这段时间的平均质谱图，即将所拉时间范围内所有质谱扫描信号进行平均。

四. 数据分析

4.1 定性分析



- 1) 在主界面中点击图标 ，打开数据分析软件。
- 2) 在弹出的窗口上方菜单栏选择“定性分析”，打开定性分析界面，如下所示。

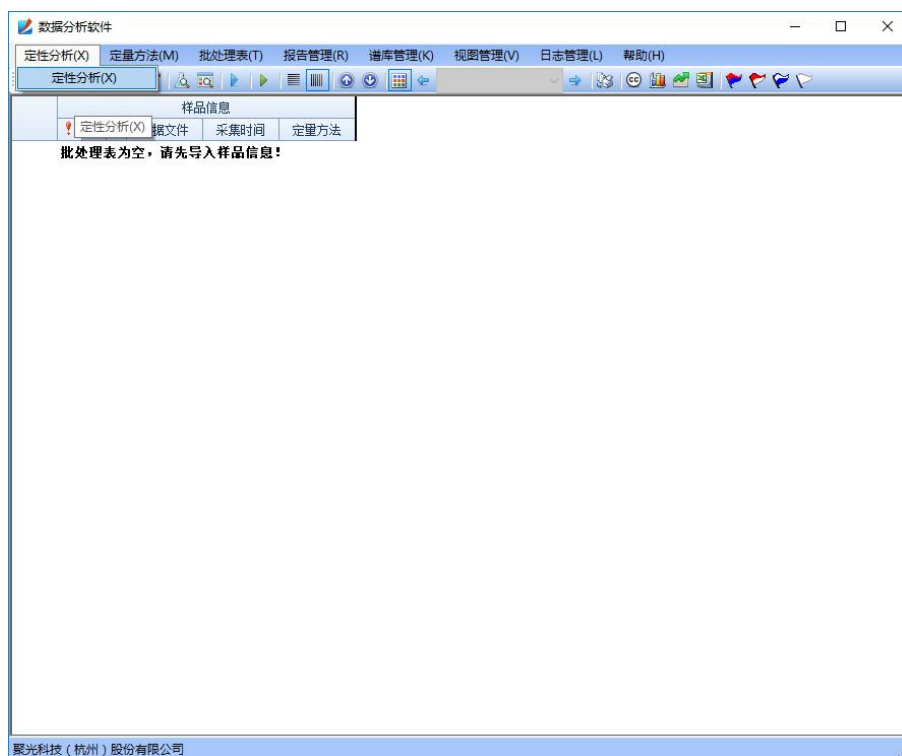


图 4- 13 定性方法创建界面

3) 打开待分析的数据文件, 可以选择  将整个文件夹导入, 也可以选择  加载某几个数据文件。

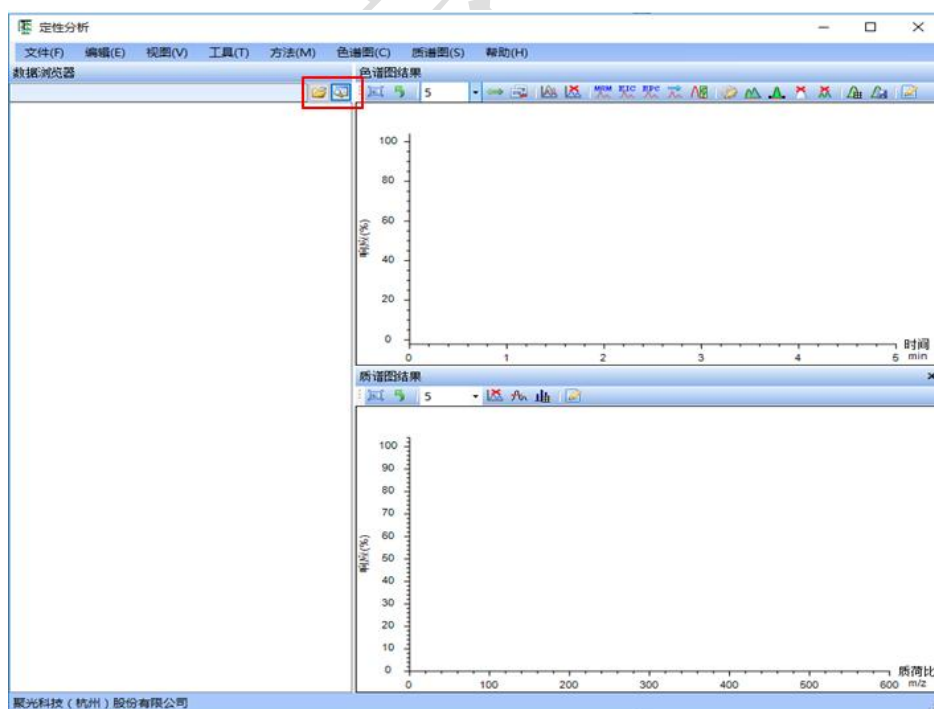


图 4- 14 方法数据导入界面

4) 主要功能介绍

(1) 放大或缩小谱图

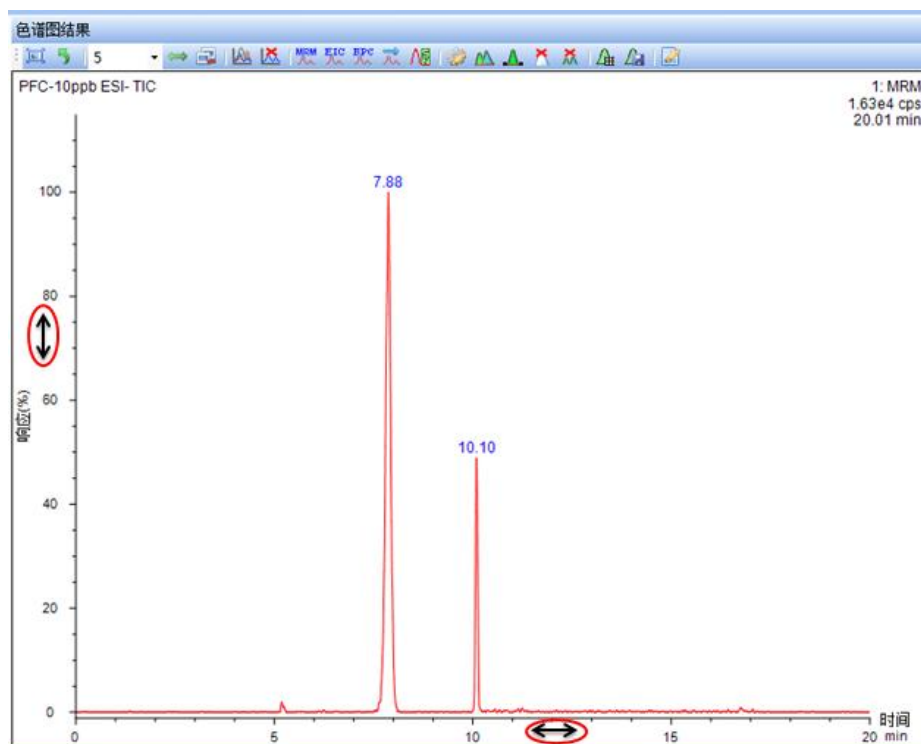


图 4- 15 谱图调整功能界面

要放大或缩小 X 轴，请将光标移到 X 轴下方直到出现水平双箭头。按住鼠标右键并从左向右拖动，则 X 轴放大；

按住鼠标右键并从右向左拖动，则 X 轴缩小；

要放大或缩小 Y 轴，请将光标移到 Y 轴左侧直到出现水竖直双箭头。

按住鼠标右键并从下向上拖动，则 Y 轴放大；按住鼠标右键并从上向下拖动，则 Y 轴缩小；

单击图标  统一横坐标，用鼠标拖动 X 轴，窗口中所有谱图均会一致变化。

单击图标  恢复默认比例。

单击图标  恢复上次比例。

这两个功能在定性/定量处理时的所有窗口都适用，不仅适用于色谱图，也适用于质谱图。按住鼠标右键拖动可以放大或缩小；按住鼠标左键拖动则是坐标平移。
注意：另外一个放大的方法是在色谱图或者质谱图内按住并拖动右键选择一个区域，则该区域被放大。

(2) 提取色谱图

本软件中可分别提取 EIC、BPC 和 MRM 色谱图，即提取离子色谱图、基峰色谱图

和 MRM 通道色谱图。

① 在色谱图窗口左键点击快捷图标可提取 EIC，或者在色谱图显示区域点击右键，在弹出的菜单中选择“提取色谱图”。在弹出的对话框，输入要提取的质量数，点击 OK 按钮即可。如果要同时提取多个不同质量的色谱图，则可以输入多个数值，以逗号分开。还可以提取一段质量范围的色谱图，比如可以输入 300-400 这样一段质量范围。



图 4- 16 提取离子色谱图功能界面

② 在色谱图窗口左键点击快捷图标提取 MRM 色谱图，在弹出的对话框中，选择要提取的数据和对应的 MRM 通道。

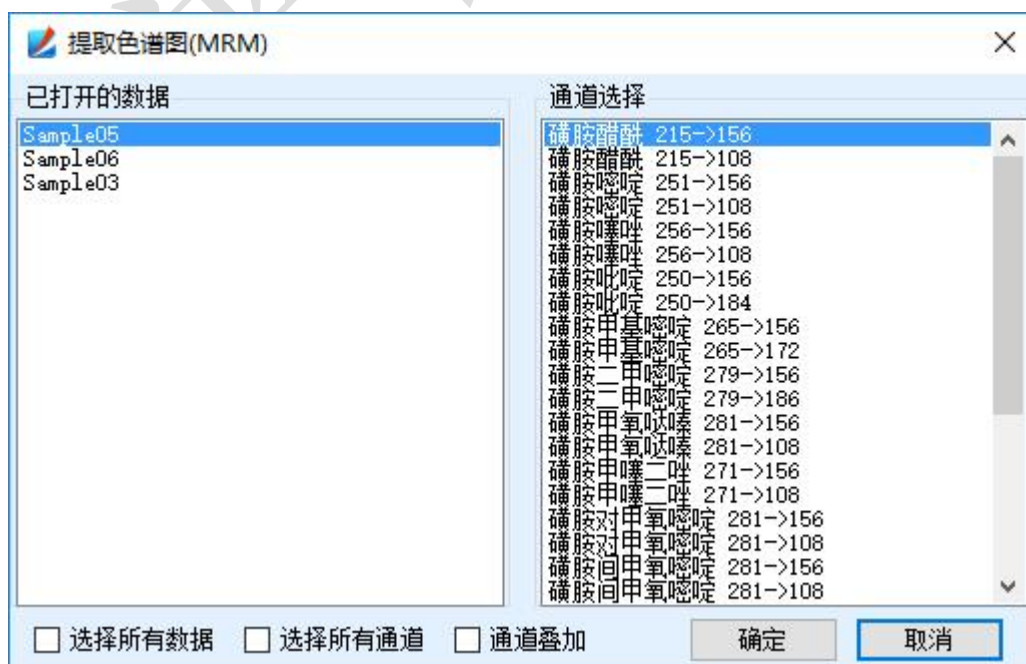


图 4- 17 提取 MRM 通道色谱图功能界面

③ 在色谱图窗口左键点击快捷图标提取基峰色谱图，多用于全扫描谱图中，可有效降低基线噪声的干扰，得到比较干净的谱图。

(3) 提取质谱图

在色谱图上按住鼠标左键并拖动鼠标，选择一段范围，然后双击鼠标左键，可以得到选择的这段时间的平均质谱图。

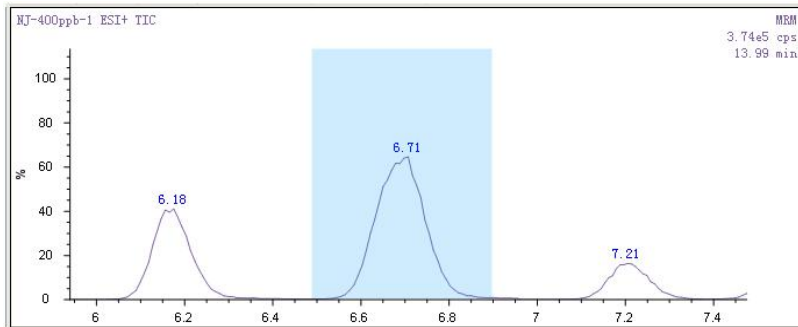


图 4- 18 提取质谱图功能界面

如果想要得到某个时间点的质谱图，可以直接在该点双击左键即可。

鼠标右键菜单中选择“步行色谱图”，可以把鼠标移到色谱图区域，通过键盘的左右方向键快速查看整个色谱图时间范围内任一时间点的质谱图。

质谱图窗口上点击快捷图标，在右侧弹出的峰列表窗口查看显示质谱峰结果，包括质谱峰的质量数、绝对丰度和百分比等信息。

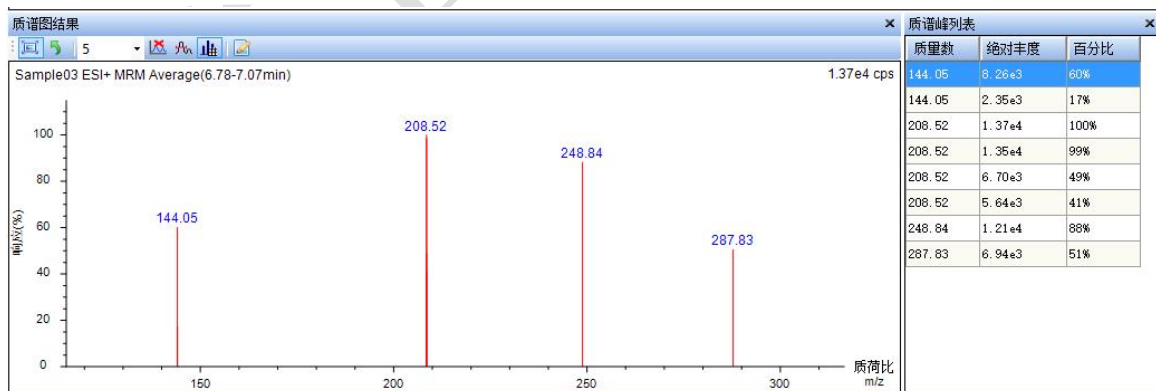


图 4- 19 质谱图显示界面

(4) 扣除背景质谱图

在色谱图窗口中点击快捷图标，然后在弹出对话框中，用鼠标左键分别在色谱图上选择一段信号和一段背景范围，软件会在质谱图窗口中自动显示已扣除背景的质谱图。

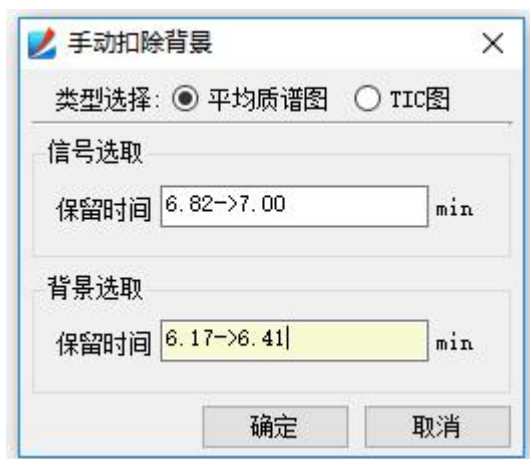


图 4- 20 手动扣除谱图背景界面

(5) 积分

在色谱图窗口中点击快捷图标, 可对谱图上的色谱峰进行自动积分。自动积分参数在上方“菜单栏—方法—积分参数”中设置。如果对自动积分结果不满意, 可以点击图标, 进行手动积分。



图 4- 21 积分设置界面

在色谱图窗口中点击快捷图标, 在色谱图窗口的峰列表窗口查看显示积分结果, 包括峰的保留时间、峰面积、峰高等信息。

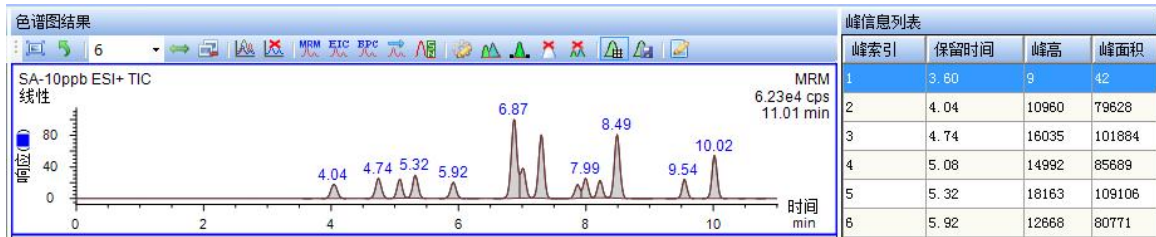


图 4- 22 峰信息列表界面

(6) 谱图叠加

在色谱图窗口中点击快捷图标, 可将所有显示的谱图进行叠加, 也可以按住 Ctrl, 选中指定的若干张谱图后再点击该图标进行叠加。如果是同一数据的不同离子通道叠加, 还会在叠加色谱图上方显示每个通道的名称。

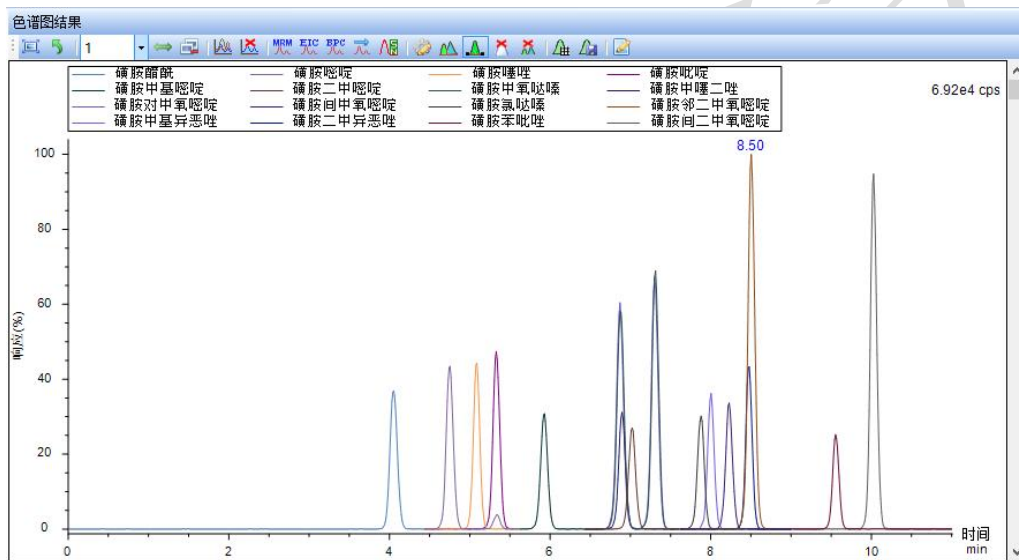


图 4- 23 谱图叠加界面

(7) 计算信噪比

在色谱图窗口中点击快捷图标, 然后在弹出对话框中, 用鼠标左键分别在色谱图上选择一段信号和噪音的时间范围, 接着选择计算信噪比的方式 (RMS 或者峰峰比), 点击按钮即可计算信噪比。

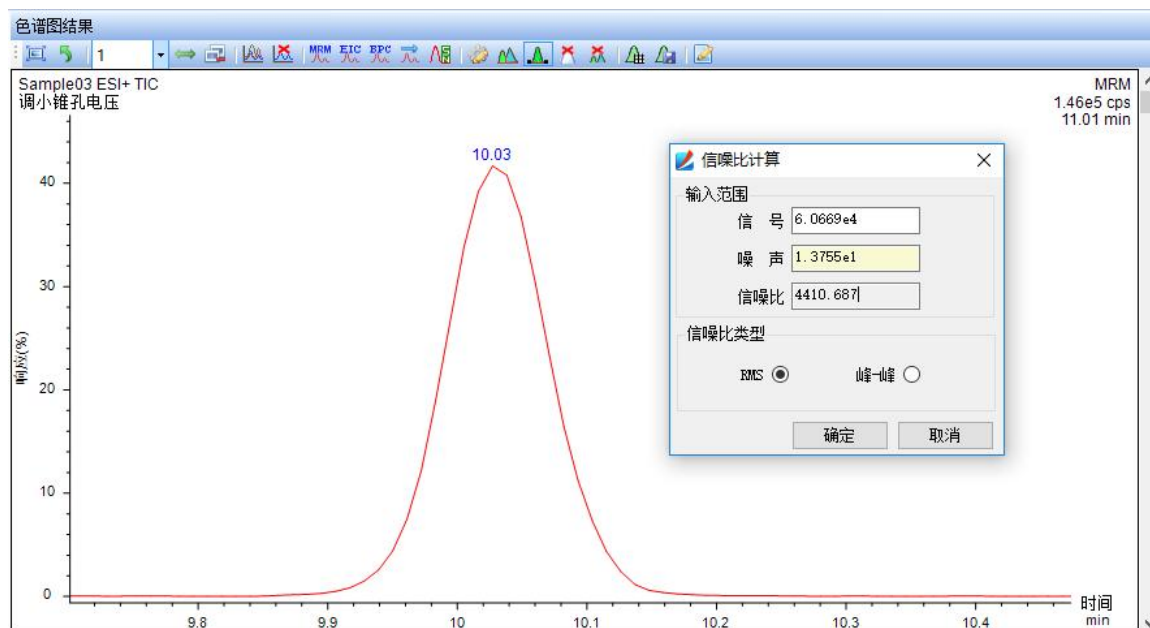


图 4- 24 手动计算信噪比界面

另外可以在菜单栏-方法-信噪比参数设置“对色谱积分时自动计算信噪比”，则可在积分峰列表中自动显示积分峰的信噪比。

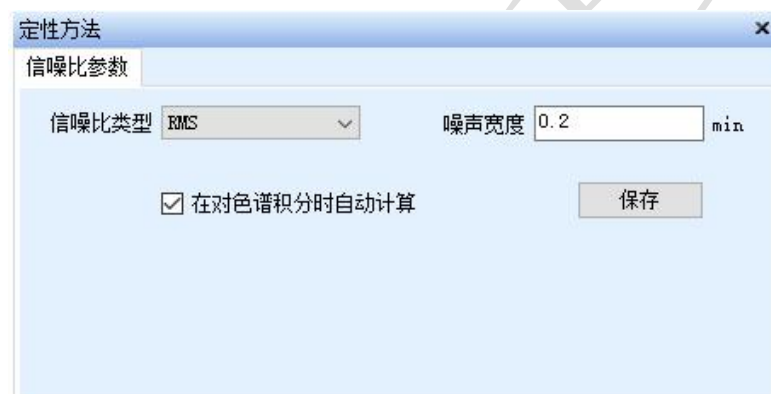


图 4- 25 信噪比设置界面

(8) 色谱图平滑

在色谱图窗口中点击快捷图标, 然后在弹出对话框中, 选择平滑窗口大小、平滑算法 (拟合次数)、平滑次数, 点击按钮即可进行色谱图平滑。

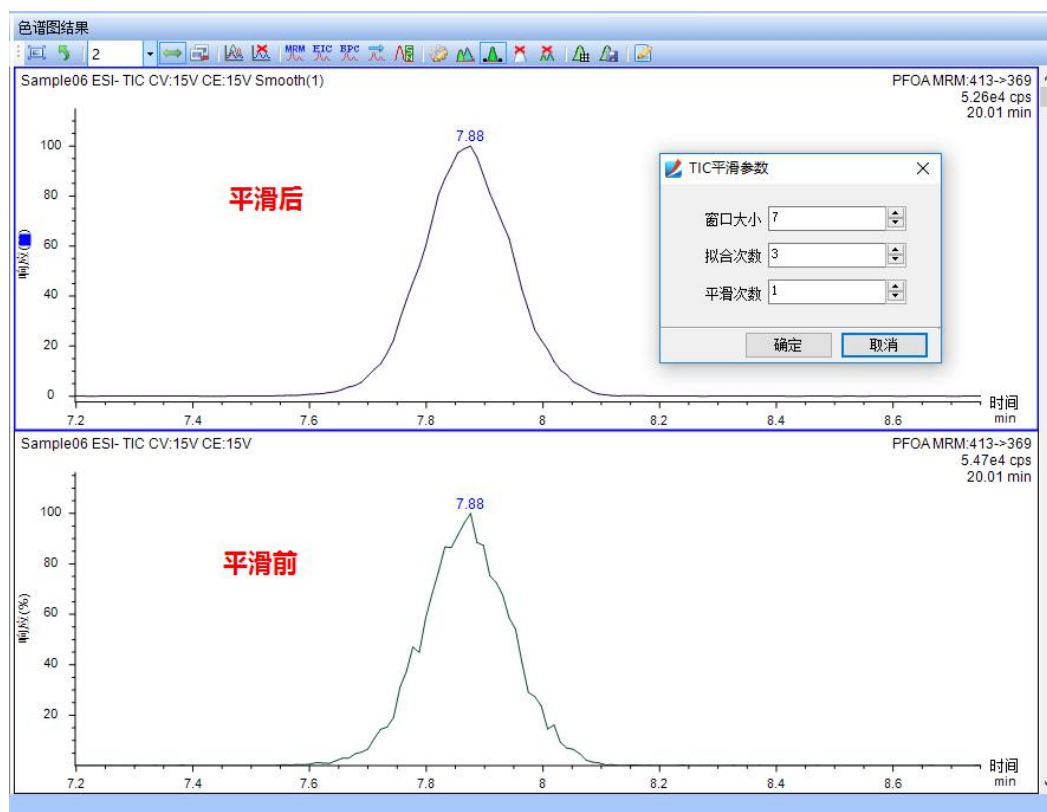


图 4- 26 色谱图平滑设置界面

(9) 半峰宽计算

在质谱图窗口中点击快捷图标, 然后在弹出对话框中, 用鼠标左键在质谱图上选择待计算半峰宽的时间范围和计算峰高处, 点击按钮即可计算该质谱峰的半峰宽。

注意: 半峰宽计算仅在质谱图为连续图格式时有效。

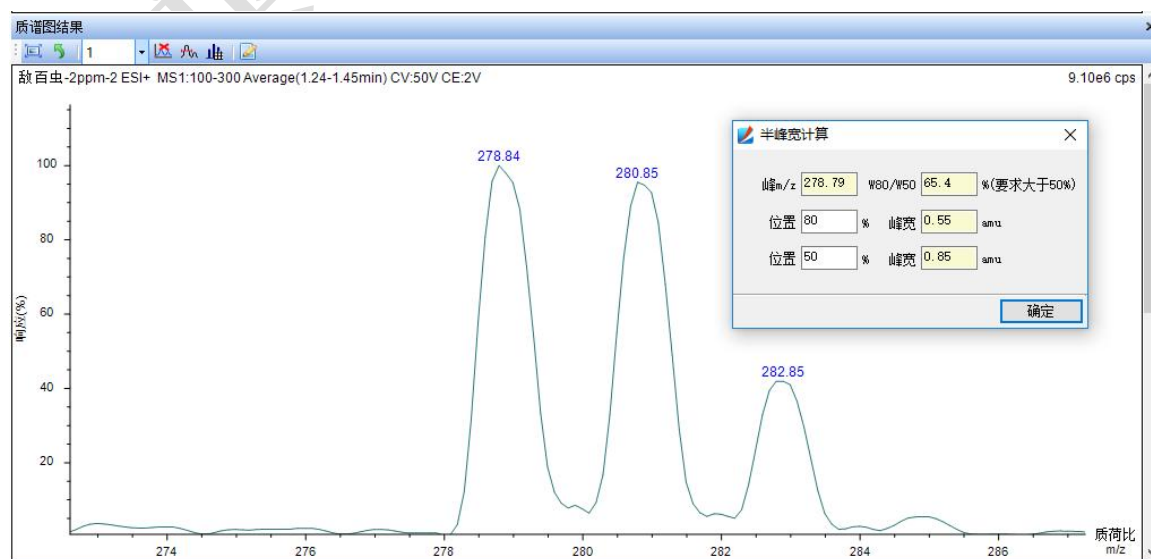


图 4- 27 半峰宽计算界面

10) 文本添加

在谱图区域点击鼠标右键，在弹出的菜单中选择“添加文本”，输入想要添加的文本内容，设置好字体和格式，点击确定，即可在谱图上指定位置添加文本。

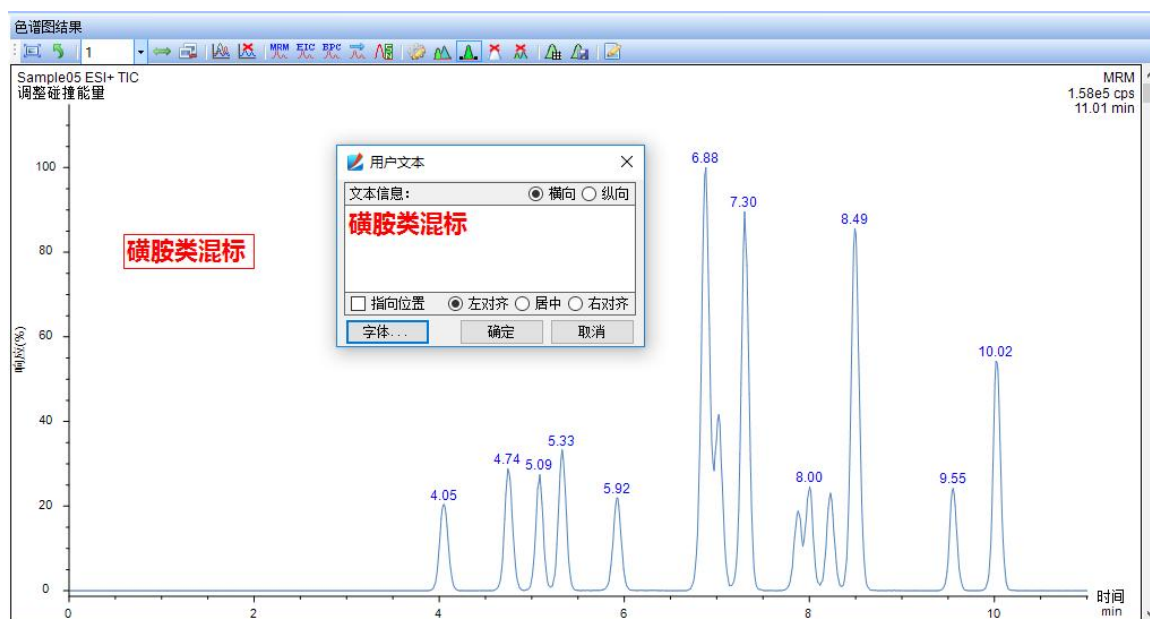


图 4- 28 谱图文本添加功能界面

11) 谱图设置

点击上方“工具”菜单栏，选择“谱图设置”或者在谱图区域点击鼠标右键，在弹出的菜单中选择“谱图设置”，可以设置同时可显示的最大谱图数、显示数据的小数位数、曲线宽度、坐标显示阈值等信息。其中同时可显示的最大谱图数量可在色谱图快捷图标栏中图标  的下拉菜单中进行设置。

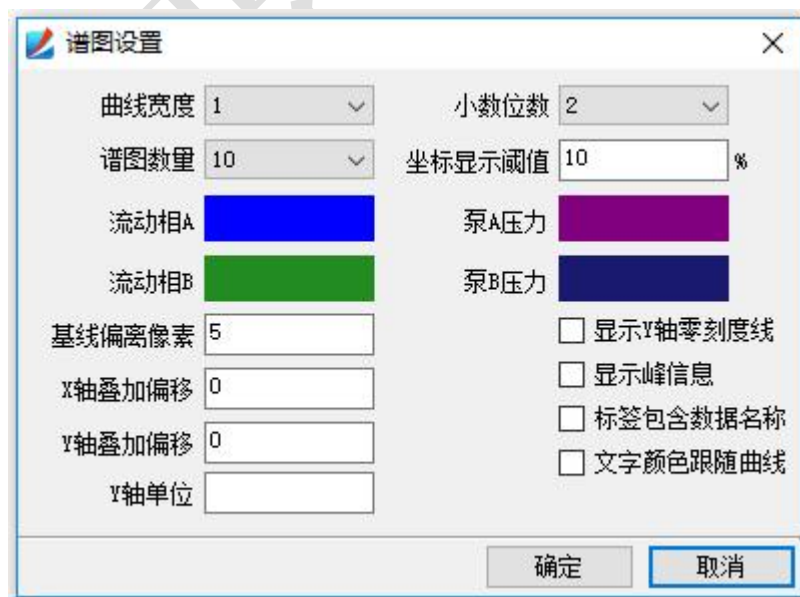


图 4- 29 色谱图设置界面

在质谱图设置窗口中还会出现棒状图显示设置，可按峰高显示质谱峰。

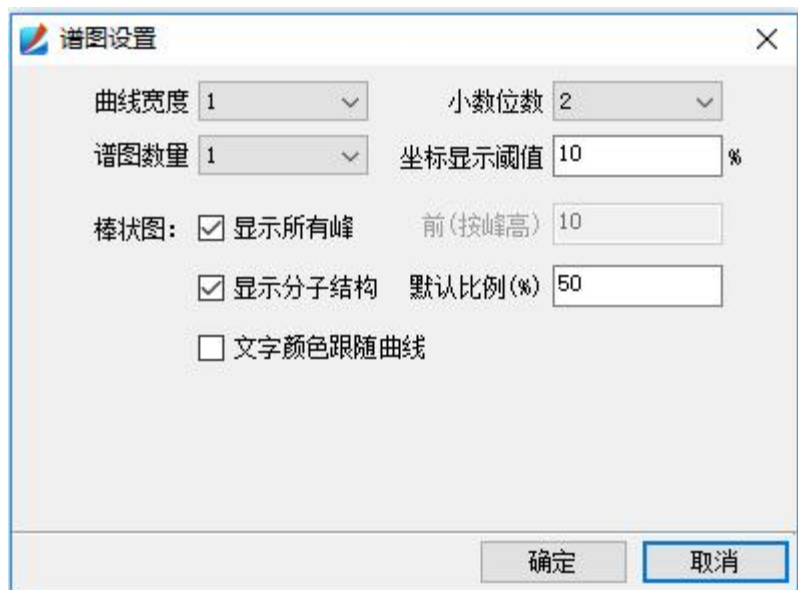


图 4- 30 质谱图设置界面

5.2 定量分析

本部分基于已经采集到的 MRM 数据来创建定量方法和批处理，参考以下步骤进行

练习。首先在主界面中点击图标  分析软件，打开数据分析软件。然后在弹出的窗口上方菜单栏选择“定量方法—新建方法”，打开定量方法设置界面。

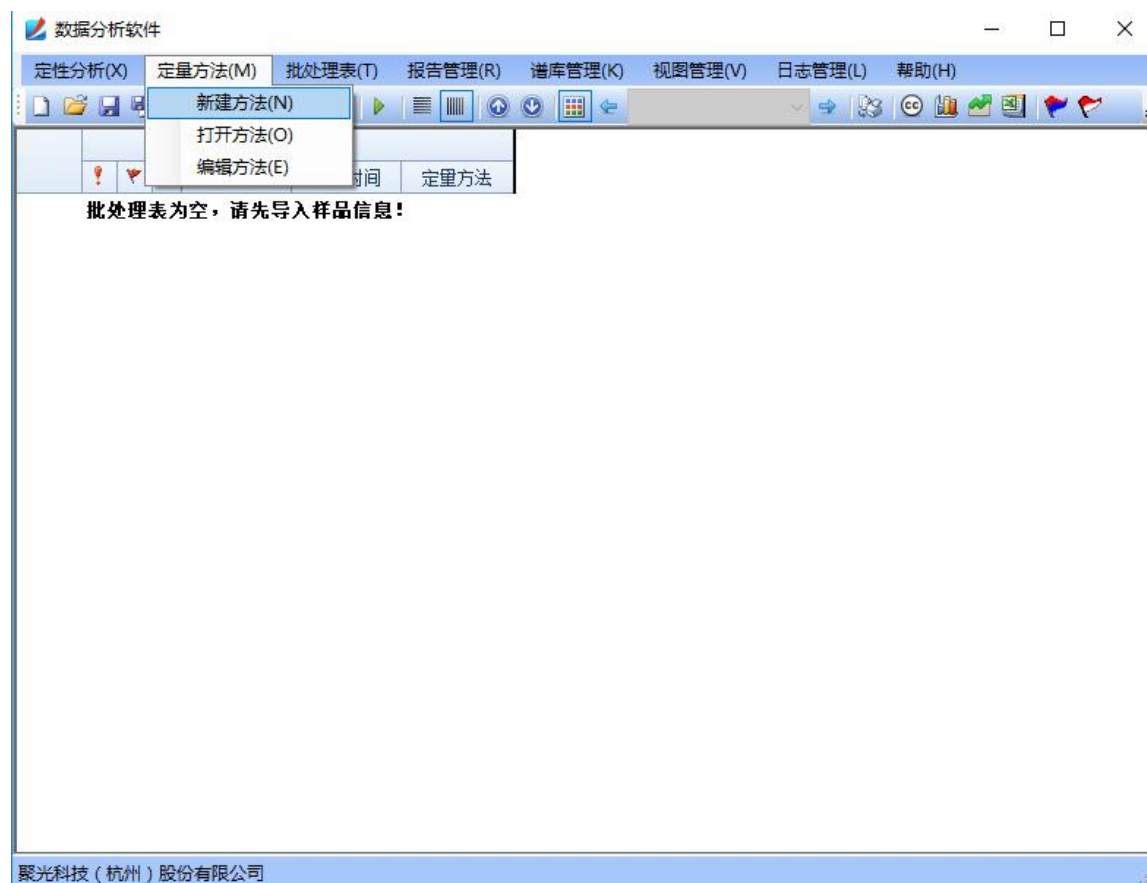


图 4- 31 创建定量方法界面

外标法

外标法定量练习数据包含 16 种磺胺化合物的校正/QC/Sample 样品，数据保存路径为 Mass Analyst/定量练习数据/外标法定量练习，数据目录如下所示。



图 4- 32 外标法练习样品数据界面

1) 在定量方法设置界面的左侧导航栏点击“从数据中添加化合物”，导入已经采集到的 MRM 数据 SA-100ppb.lcmsDat（此处建议选择具有代表性的谱图，一般

选择较高浓度样品数据，这样保留时间、定性比率等比较准确。

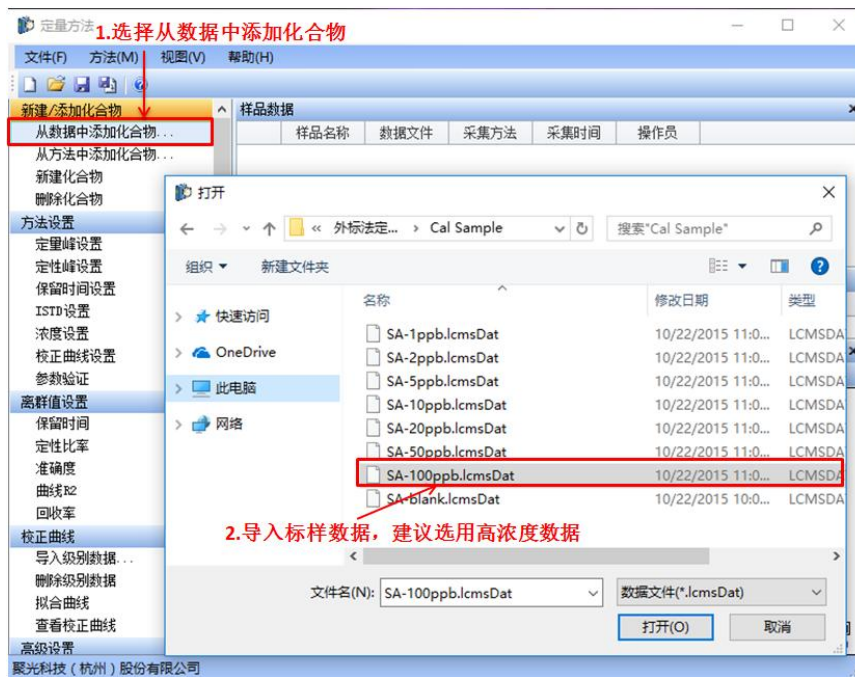


图 4- 33 数据导入界面

2) 数据导入后，在界面下方弹出的样品信息窗口，会显示该样品的 TIC 色谱图，鼠标左键选择一段包含待分析化合物的时间范围，在右键菜单中选择“添加化合物”，将需要定量分析的化合物添加至化合物列表。

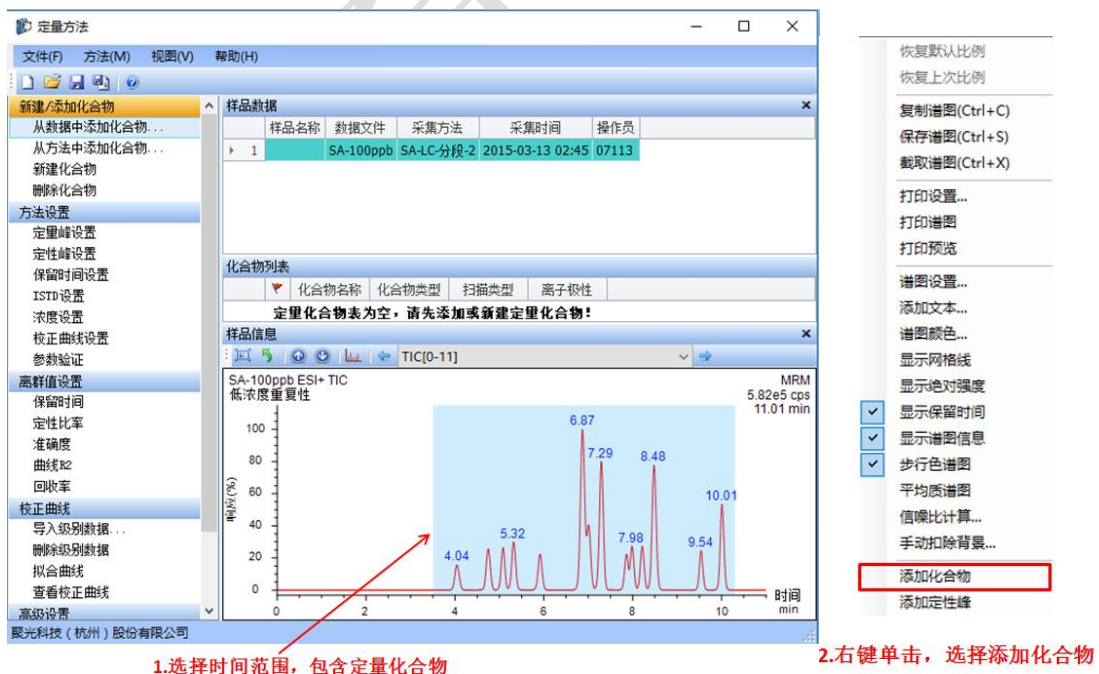


图 4- 34 添加化合物界面

3) 软件会自动生成化合物列表，检查化合物是否有遗漏，如下图所示。

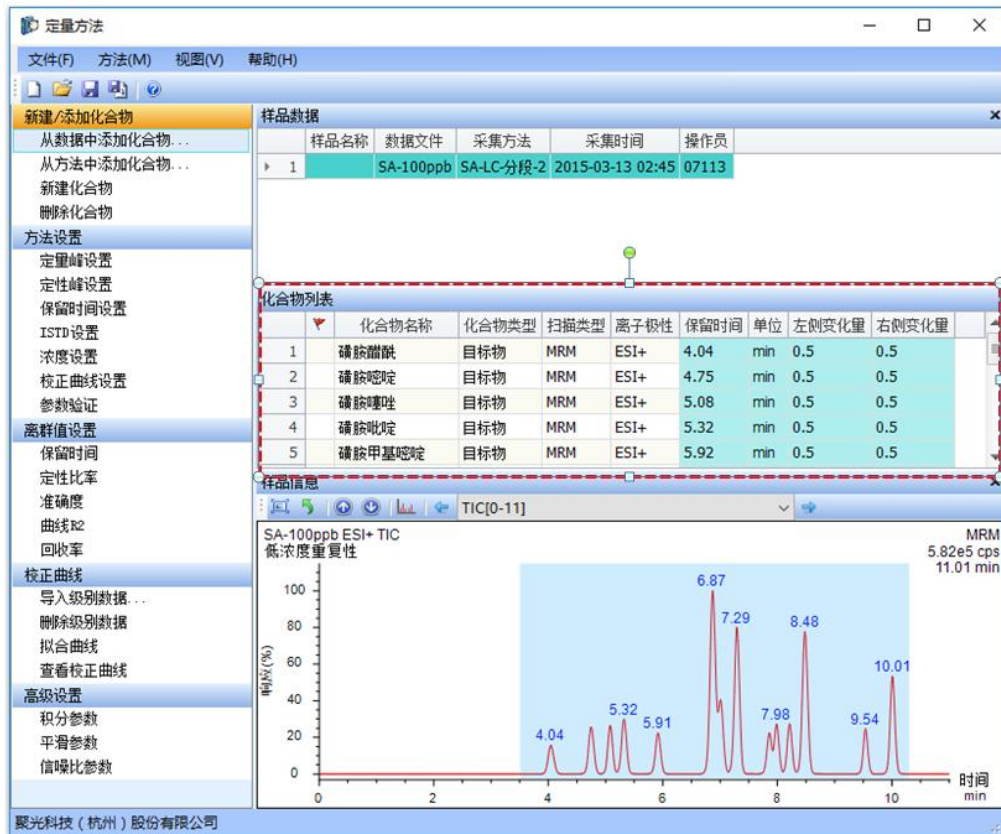


图 4- 35 已添加的化合物列表界面

4) 左侧导航栏“方法设置”选项下自上而下进行，首先点击方法设置→定量峰设置，检查添加的化合物定量离子是否正确，默认选择每个化合物强度较高的离子对进行定量。

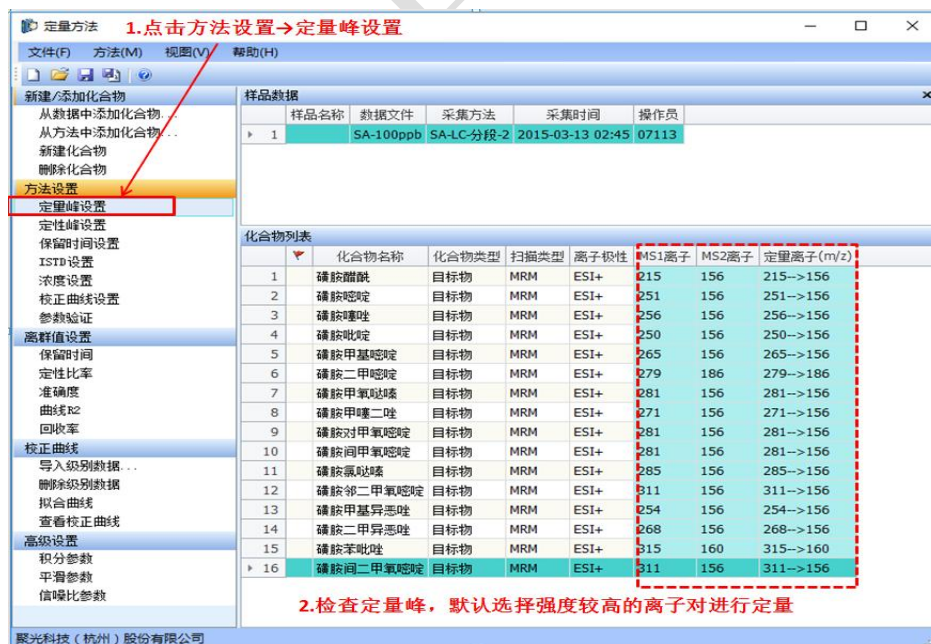


图 4- 36 定量峰设置界面

5) 单击方法设置→定性峰设置，检查添加的化合物定性离子参数，在添加化合物时定性离子参数自动产生，默认选择每个化合物强度较弱的离子对进行定性。



图 4- 37 定性峰设置界面

6) 单击方法设置→保留时间设置，检查添加化合物的保留时间和设定积分范围。

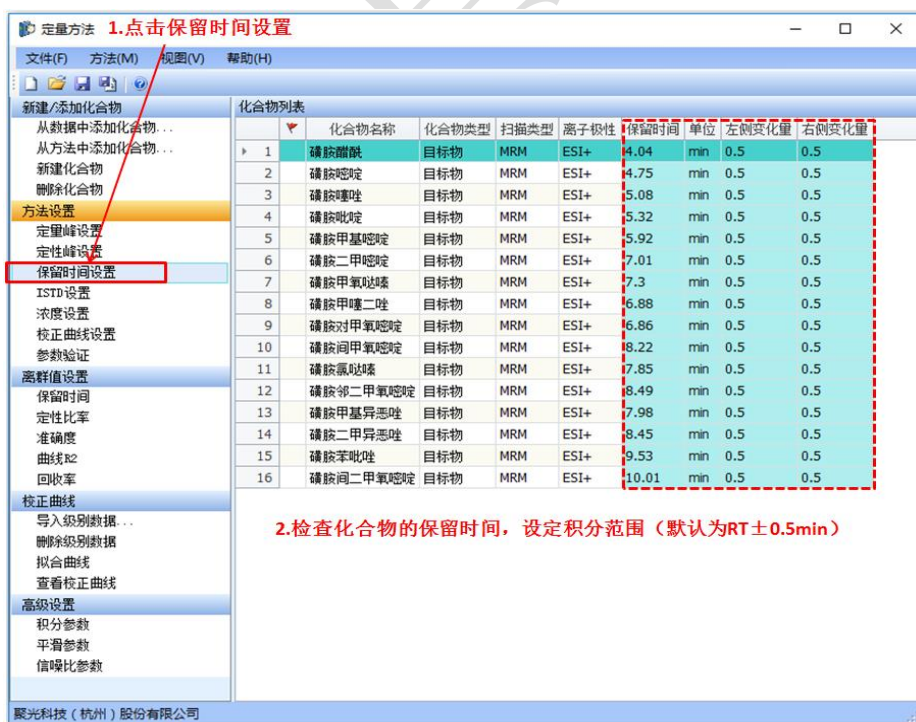


图 4- 38 保留时间设置界面

7) 本例中未使用内标, 因此不需要点击 ISTD 设置。

8) 单击方法设置→浓度设置, 首先在稀释最高浓度处输入校正曲线中该化合物的最高浓度, 在稀释模式列从高到低输入每一浓度级别的稀释倍数, 稀释倍数为上一级浓度与下一级浓度的比值 (最高级别则为 1)。

本例中, 16 种磺胺化合物均有 6 个浓度级别, 每一级别中目标化合物磺胺类药物的具体浓度分别为 1ppb、2ppb、5ppb、10ppb、20ppb、50ppb 和 100ppb。因此在此在稀释最高浓度处输入 100, 稀释模式输入 1:2:2.5:2:2.5:2。最后选择浓度单位和乘积因子。乘积因子是经过前处理后的实际浓度折算系数, 批处理表中的最终浓度=计算浓度*乘积因子。

浓度设置方法1: 输入稀释最高浓度和稀释倍数

1. 点击浓度设置

2. 输入校正曲线的最高浓度

3. 输入稀释模式
从高到低输入每一浓度级别的稀释倍数, 稀释倍数为上一级别与当前级别浓度的比值

浓度	稀释倍数
100	1
50	2
20	2.5
10	2
5	2
2	2.5
1	2

4. 浓度单位和乘积因子
浓度单位是选择标准曲线的浓度单位; 乘积因子是经过前处理后的实际浓度折算系数, 批处理表中的是最终浓度=计算浓度*乘积因子

稀释模式为: 1:2:2.5:2:2.5:2

图 4- 39 浓度设置方法 1 界面

还有另外一种方法设置浓度, 即在稀释模式列中直接双击图标, 在弹出窗口中直接由大到小输入每一级别的浓度, 如下所示。

The screenshot displays the '定量方法' (Quantification Method) software interface. The main window shows a table of compounds with columns for compound name, type, scan type, ionization mode, concentration, scan mode, concentration unit, and multiplier. A red arrow points to the '浓度单位' (Concentration Unit) column header. To the right, a '浓度设置' (Concentration Settings) dialog box is open, showing a list of concentration units and multiplier factors. A red arrow points to the '100' value in the '级别浓度' (Level Concentration) column of the dialog box.

1. 左键单击图标

2. 在弹出窗口中直接由大到小输入浓度

3. 选择浓度单位和乘积因子

#	化合物名称	化合物类型	扫描类型	离子极性	稀释最高浓度	稀释模式	浓度单位	乘积因子
1	磺胺嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
2	磺胺噻唑	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
3	磺胺嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
4	磺胺噻唑	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
5	磺胺甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
6	磺胺二甲嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
7	磺胺甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
8	磺胺甲噻唑二唑	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
9	磺胺对甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
10	磺胺间甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
11	磺胺嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
12	磺胺邻二甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
13	磺胺甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
14	磺胺二甲嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
15	磺胺嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1
16	磺胺间二甲氧嘧啶	目标物	MRM	ESI+	100	1:2:2.5:2:2:2.5:2	ng/mL	1

级别浓度
100
50
20
10
5
2
1

取消 确定

9) 单击方法设置→校正曲线，选择拟合类型（线性、平方和3次幂）、拟合原点设置（忽略、强制、包含和空白偏移）和权重类型（ $1/x$ 、 $1/x^2$ 等）。



40

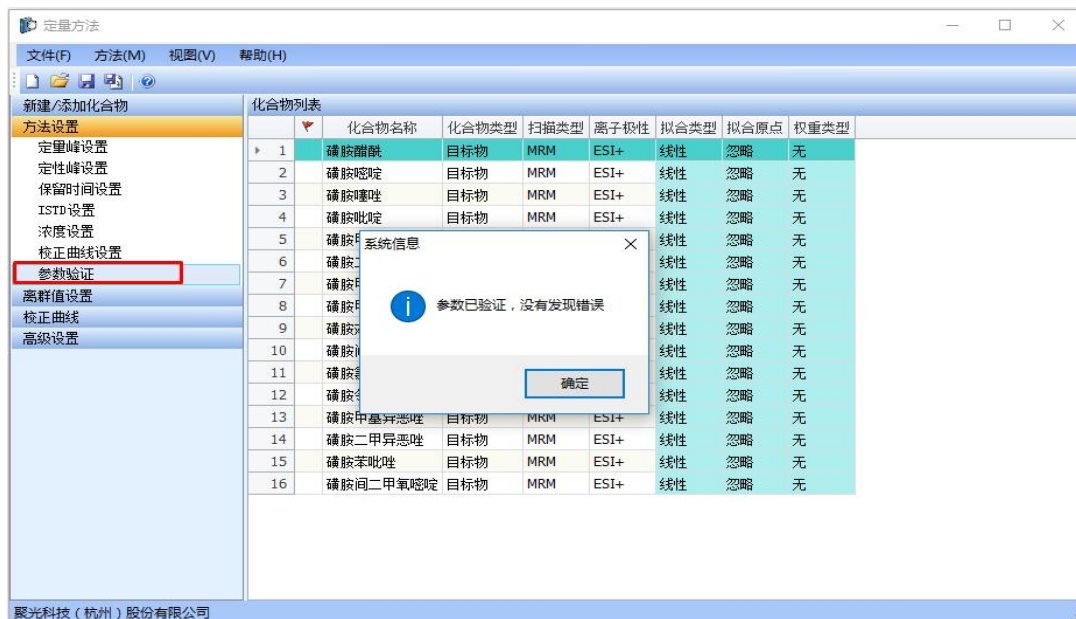


图 4- 42 参数验证界面

11) 离群值设置

离群值是实际值与预期值（或理论值）的偏离度。设置该参数可对定量结果进行监控，帮助用户快速筛选出可疑数据。离群值中缺省情况下启用的参数有保留时间、准确度、定性比率、曲线拟合 R2 这几个参数。比如将保留时间离群值设为 20%，若某个化合物设定的保留时间是 10.00min, 则软件寻峰过程允许的化合物实际保留时间误差范围为 8-12min。一旦化合物出峰时间偏移到了 8.0min 前或者 12.0 min 后，软件将会报错提示。

① 保留时间离群值

RT 窗口：输入允许的保留时间偏差范围，缺省值为 20。

RT 单位：设定保留时间单位，分钟或者百分比，缺省值为百分比。



图 4- 43 保留时间离群值设置

② 定性比率离群值

不确定度是定性比率的允许偏差范围，缺省值为 20%。不确定度类型：相对值、绝对值，缺省值为相对值。



图 4- 44 定性比率离群值设置

③ 准确度离群值

准确度：计算所得的浓度与预期的浓度的比值，缺省值为 20%。

准确度最大百分比偏差：可接受的计算浓度值的百分比偏差范围，缺省值为 1.0。

LOD 准确度乘积因子：调整校正曲线中最低浓度级别的允许偏差，因为在最低校正级别时准确度一般会比较差，计算浓度可能只有预期浓度的 40-60%，因此需要将最低点的准确度允许误差放宽。若乘积因子显示为 2.0，偏差设为 20%，则最低浓度级别的允许偏差为 40%。



图 4- 45 准确度离群值设置

④ 曲线 R2 离群值

可接受的拟合曲线最小 R2，缺省值为 0.99。



图 4- 46 曲线 R2 离群值设置

⑤ 回收率离群值

设定方法回收率的阈值，若超过阈值，需注意方法准确性，缺省值为 80%-120%。



图 4- 47 回收率离群值设置

12) 高级设置

① 积分参数

设置定量分析时的积分参数，该参数是全局变量。

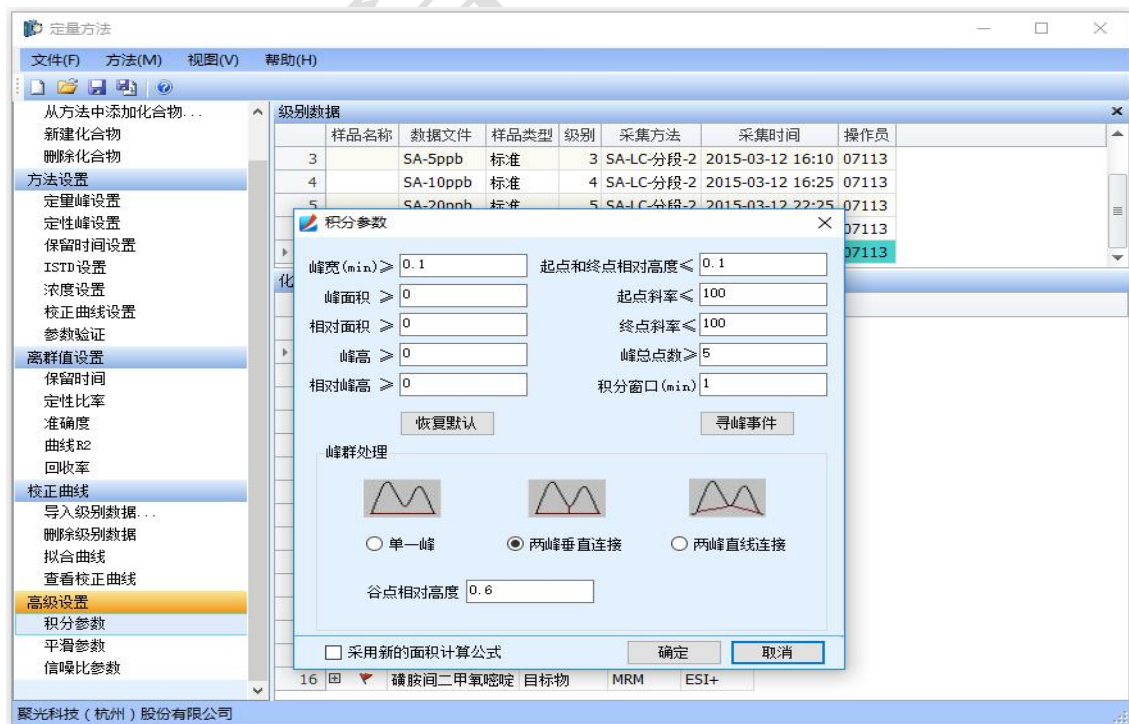


图 4- 48 积分参数设置界面

② 平滑参数

设置定量分析时的平滑参数，勾选后对色谱峰自动进行平滑。

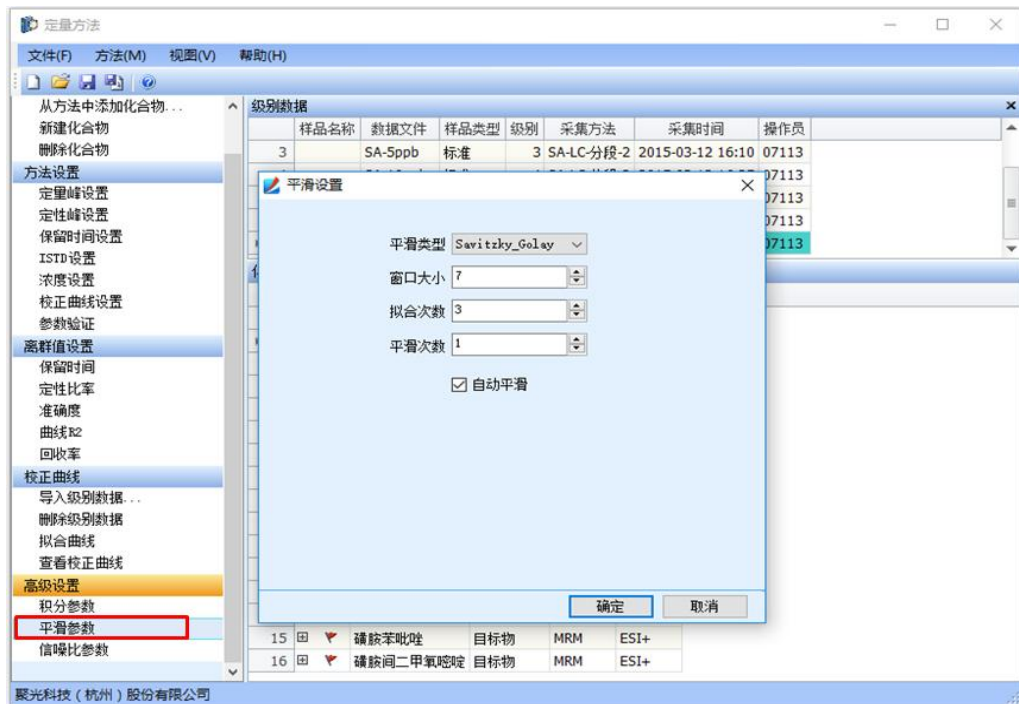


图 4- 49 平滑参数设置界面

③ 信噪比参数

设置定量分析时的信噪比参数，勾选后对色谱峰自动计算信噪比。

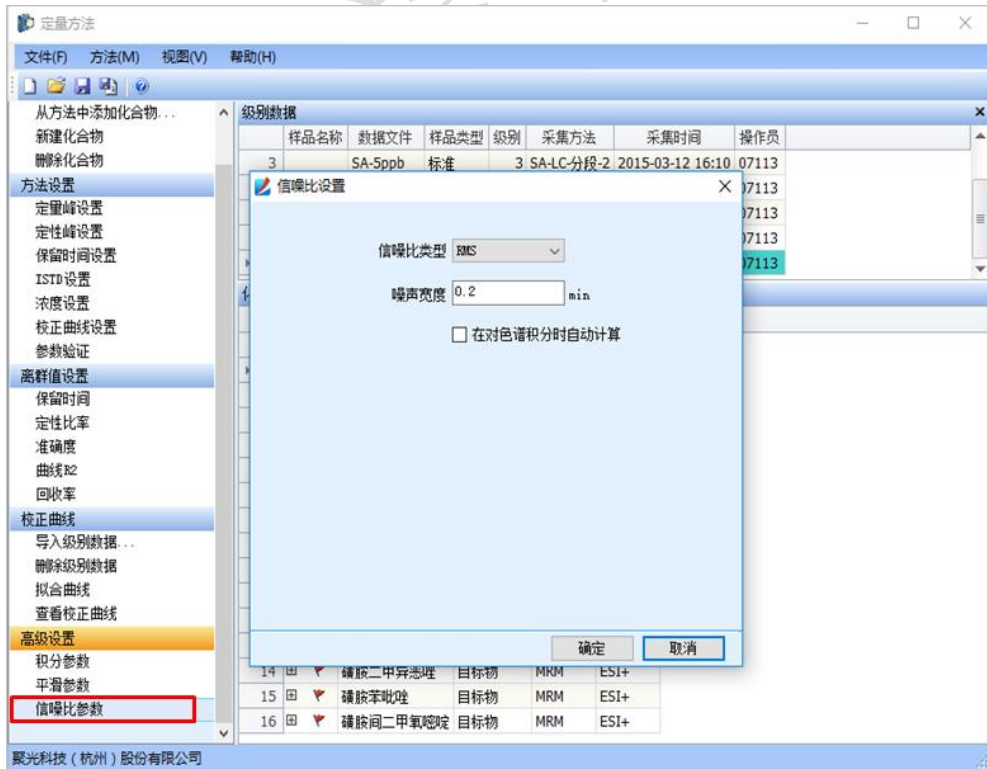


图 4- 50 信噪比参数设置界面

13) 在左侧导航栏双击校正曲线→导入级别数据，选择校正样品数据并导入。

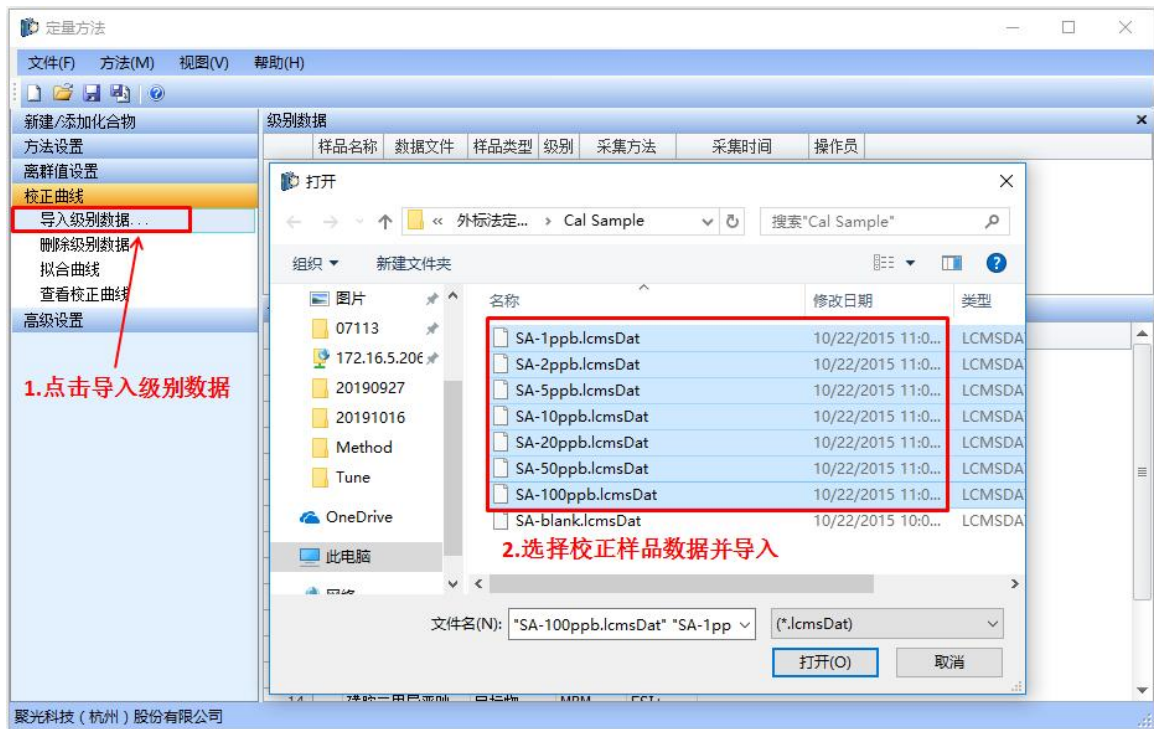


图 4- 51 校正曲线级别数据导入界面

14) 在级别数据页面中设置样品类型和校正级别，空白样品的浓度级别为 0，校正样品的浓度级别为从 1 开始递增的整数(1-n)，浓度越低，级别数越低, 浓度最低的校正样品为 1。然后点击选项“拟合曲线”，软件依据设置的方法参数开始拟合校正曲线。

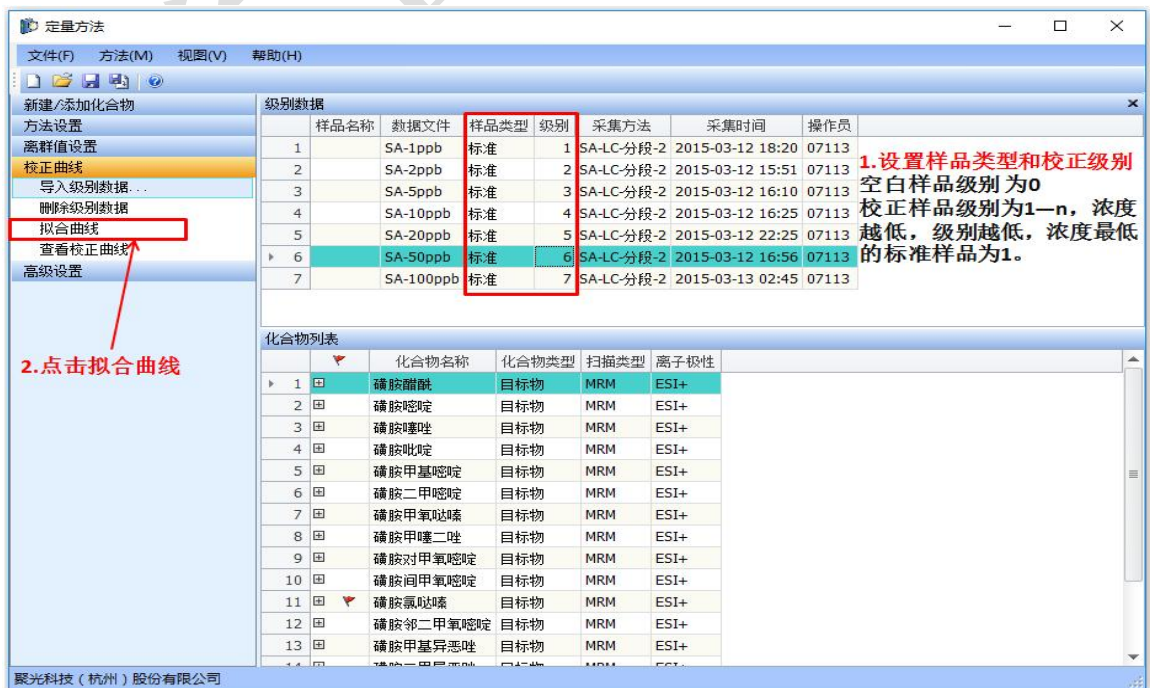


图 4- 52 拟合曲线设置界面

15) 点击选项“查看校正曲线”，右侧显示化合物列表、化合物信息和定量曲线窗口。单击化合物行可以展开化合物的校正信息，显示该化合物每一个浓度级别的计算浓度、准确度、定性比率和相对响应。将光标置于  图标上，会自动显示该化合物的离群值信息。

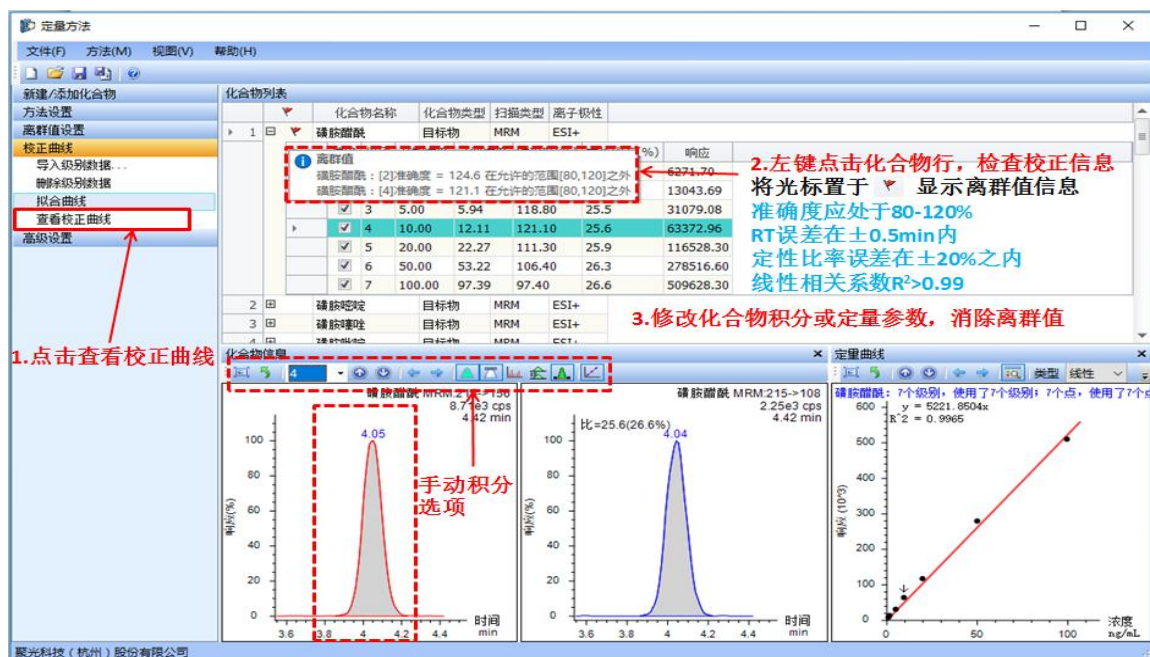


图 4- 53 校正曲线查看界面

检查这些可疑的离群值信息，通常可接受的离群值范围为

- ① 准确度处于 80~120% 区间，最低浓度点可放宽至 60~140%；
- ② 保留时间的误差范围在 $\pm 0.5\text{min}$ 内；
- ③ 定性比率的相对误差在 $\pm 20\%$ 以内；
- ④ 校正曲线的线性相关系数 $R^2 > 0.99$ ；

通过修改化合物积分或者定量方法参数可消除离群值，则  不显示。如果异常离群值是由软件积分错误引起的，可通过化合物信息窗口中的手动积分选项  对化合物的色谱峰进行手动积分，也可以通过修改高级设置中的积分参数和平滑参数来改善积分结果。

当所有化合物的  都消失后，表示该校正曲线可以应用于样品的批处理分析。

点击定量方法设置上方图标 ，保存该定量方法，然后退出该窗口。经过以上步骤后，一个完整的外标定量方法就设置完成了。

内标法

内标法定量练习数据包含 2 种全氟化合物（PFOA 和 PFOS）以及对应的内标

（M4-PFOA 和 M4-PFOS）的校正/Sample 样品，数据保存路径为 Mass Analyst/
定量练习数据/内标法定量练习，数据目录如下所示。



图 4-54 外标法练习样品数据界面

内标法定量的步骤与外标法定量相似，需要额外增加 ISTD 设置这一步骤。

1) 在定量方法设置界面点击“从数据中添加化合物”，导入已经采集到的 MRM 数据 PFC-200ppb.lcmsDat（此处建议选择具有代表性的谱图，一般选择较高浓度样品数据，这样保留时间、定性比率等比较准确。

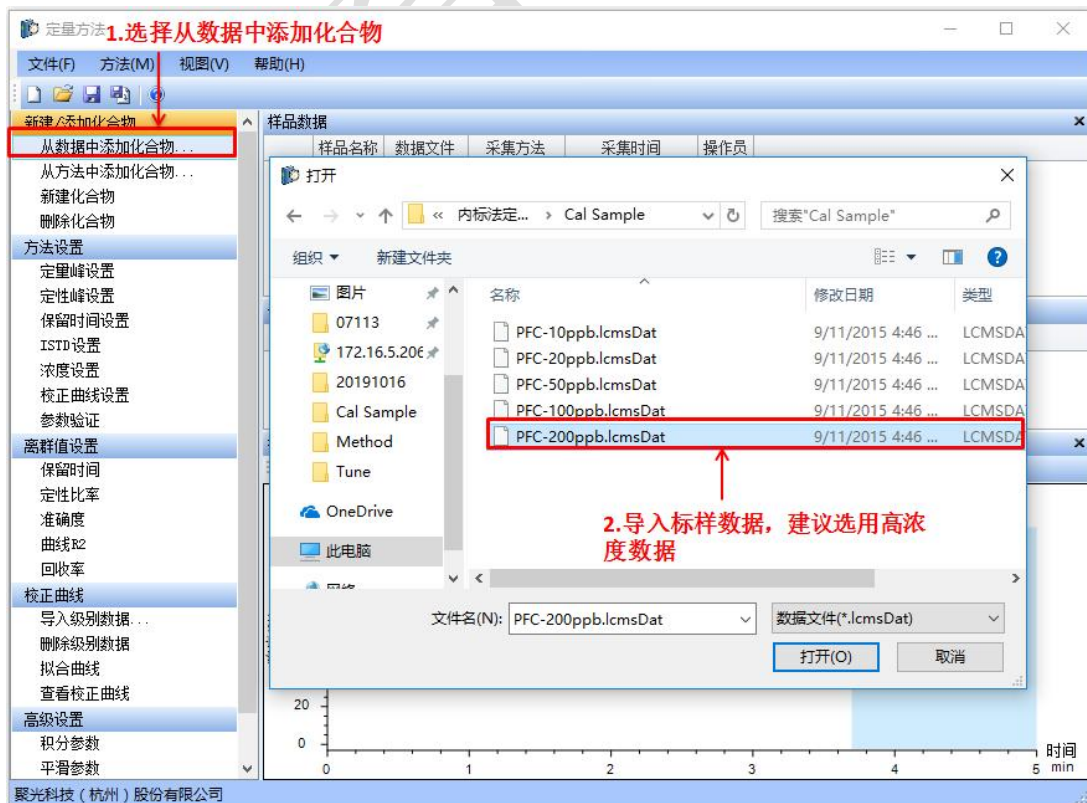


图 4- 55 数据导入界面

2) 数据导入后, 在界面下方弹出的样品信息窗口, 会显示该样品的 TIC 色谱图, 鼠标左键选择一段包含待分析化合物的时间范围, 在右键菜单中选择“添加化合物”, 将需要定量分析的化合物添加至化合物列表。

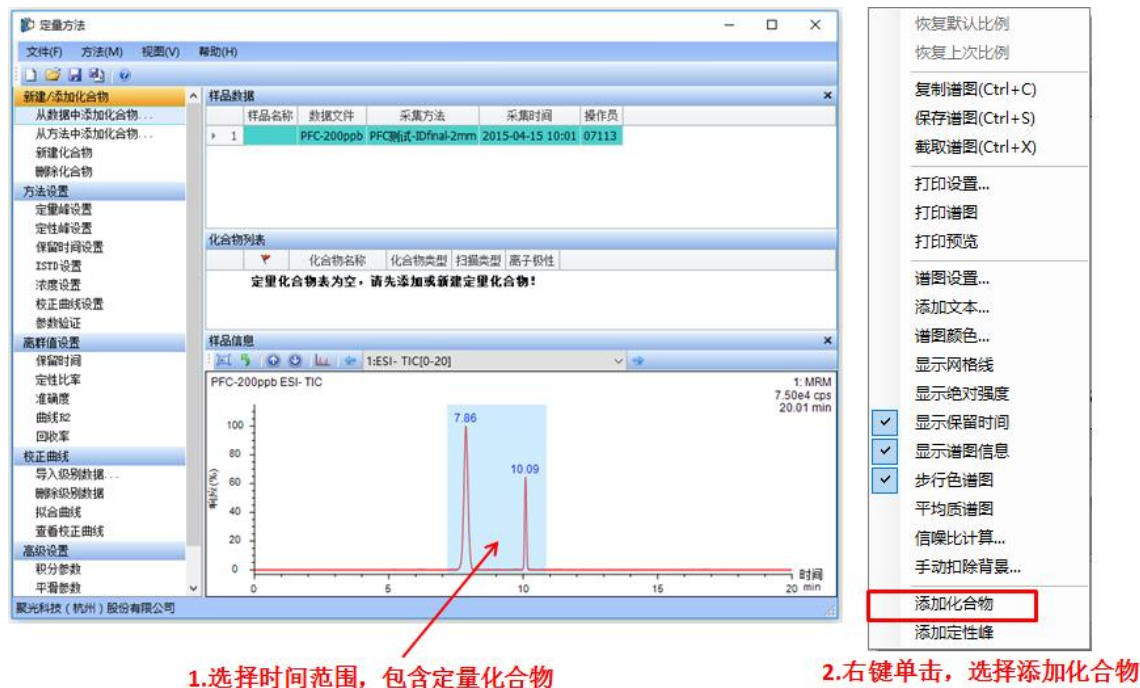


图 4- 56 添加化合物界面

3) 软件会自动生成化合物列表, 检查化合物是否有遗漏, 如下图所示。

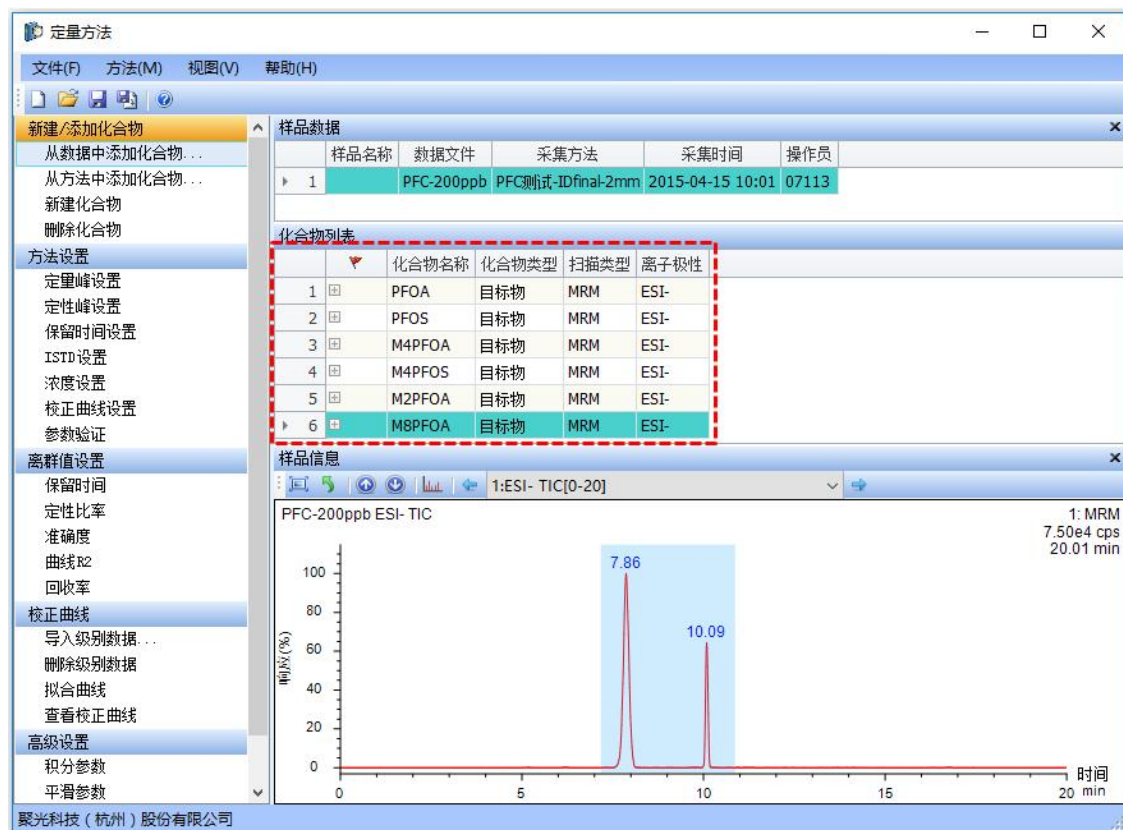


图 4- 57 已添加的化合物列表界面

4) 左侧导航栏“方法设置”选项下自上而下进行，首先点击方法设置→定量峰设置，检查添加的化合物定量离子是否正确，默认选择每个化合物强度较高的离子对进行定量。



图 4- 58 定量峰设置界面

5) 单击方法设置→定性峰设置，检查添加的化合物定性离子参数，在添加化合物时定性离子参数自动产生，默认选择每个化合物强度较弱的离子对进行定性。



图 4- 59 定性峰设置界面

6) 单击方法设置→保留时间设置，检查添加化合物的保留时间和设定积分时间范围（默认为 $RT \pm 0.5min$ ）。



图 4- 60 保留时间设置界面

7) 单击方法设置→ISTD 设置，首先更改欲标记为内标的化合物类型（目标物→ISTD），然后勾选“采用 ISTD”，在“内标物名称”下拉菜单中为每个目标化合物指定内标化合物。本例中，目标化合物“M4PFOA”为“PFOA”的内标，目标化合物“M4PFOS”为“PFOS”的内标。

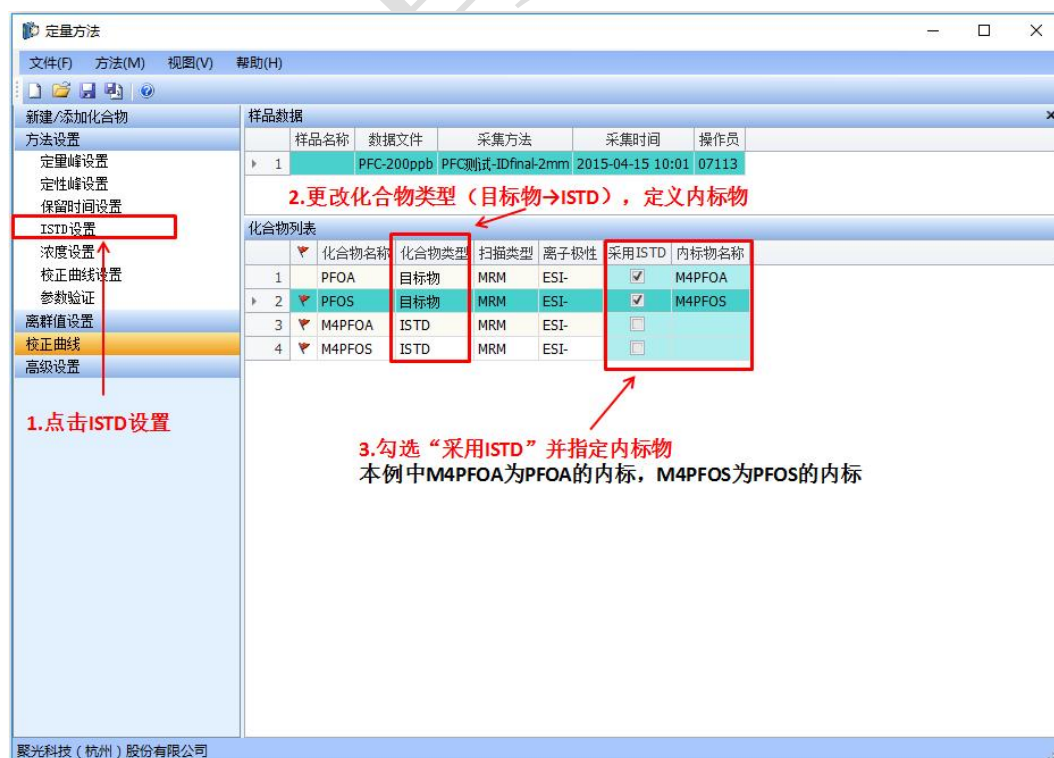


图 4- 61 ISTD 设置界面

8) 单击方法设置→浓度设置，首先在稀释最高浓度处输入校正曲线中该化合物的最高浓度，在稀释模式列从高到低输入每一浓度级别的稀释倍数，稀释倍数为上一级浓度与下一级浓度的比值（最高级别则为 1）。

本例中，PFOA 和 PFOS 均有 5 个浓度级别，每一级别中目标化合物 PFOA 和 PFOS 的具体浓度分别为 10ppb、20ppb、50ppb、100ppb 和 200ppb，每一级别中内标物的浓度均为 5ppb。因此在 PFOA 和 PFOS 的稀释最高浓度处输入 200，稀释模式输入 1:2:2:2.5:2；在 M4PFOA 和 M4PFOS 的稀释最高浓度处输入 5，稀释模式输入 1:1:1:1:1。最后选择浓度单位和乘积因子。乘积因子是经过前处理后的实际浓度折算系数，批处理表中的最终浓度=计算浓度*乘积因子。



图 4- 62 浓度设置方法 1 界面

还有另外一种方法设置浓度，即在稀释模式列中直接双击图标，在弹出窗口中直接输入每一级别的浓度，如下所示。

定量方法

文件(F) 方法(M) 视图(V) 帮助(H)

新建/添加化合物

方法设置

定量峰设置

定性峰设置

保留时间设置

ISTD 设置

浓度设置

校正曲线设置

参数验证

离群值设置

校正曲线

高级设置

样品数据

样品名称	数据文件	采集方法	采集时间	操作
1	PFC-200ppb	PFC测试-IDfinal-2mm	2015-04-15 10:01	07113

化合物列表

化合物名称	化合物类型	扫描类型	离子极性	稀释最高浓度	稀释模式	浓度单位	乘积因子
1 PFOA	目标物	MRM	ESI-	200	1:2:2:2.5	ng/mL	1
2 PFOS	目标物	MRM	ESI-	200	1:2:2:2.5:2	ng/mL	1
3 M4PFOA	ISTD	MRM	ESI-	5	1:1:1:1:1	ng/mL	1
4 M4PFOS	ISTD	MRM	ESI-	5	1:1:1:1:1	ng/mL	1

浓度设置

级别浓度

200

100

50

20

10

取消 确定

浓度设置

级别浓度

5

5

5

5

5

取消 确定

1. 单击图标

2. 目标物浓度设置

3. 内标物浓度设置

4. 选择浓度单位和乘积因子

聚光科技(杭州)股份有限公司

图 4-63 浓度设置方法 2 界面

9) 单击方法设置→校正曲线，选择拟合类型（线性、平方和3次幂）、拟合原点设置（忽略、强制、包含和空白偏移）和权重类型（ $1/x$ 、 $1/x^2$ 等）。

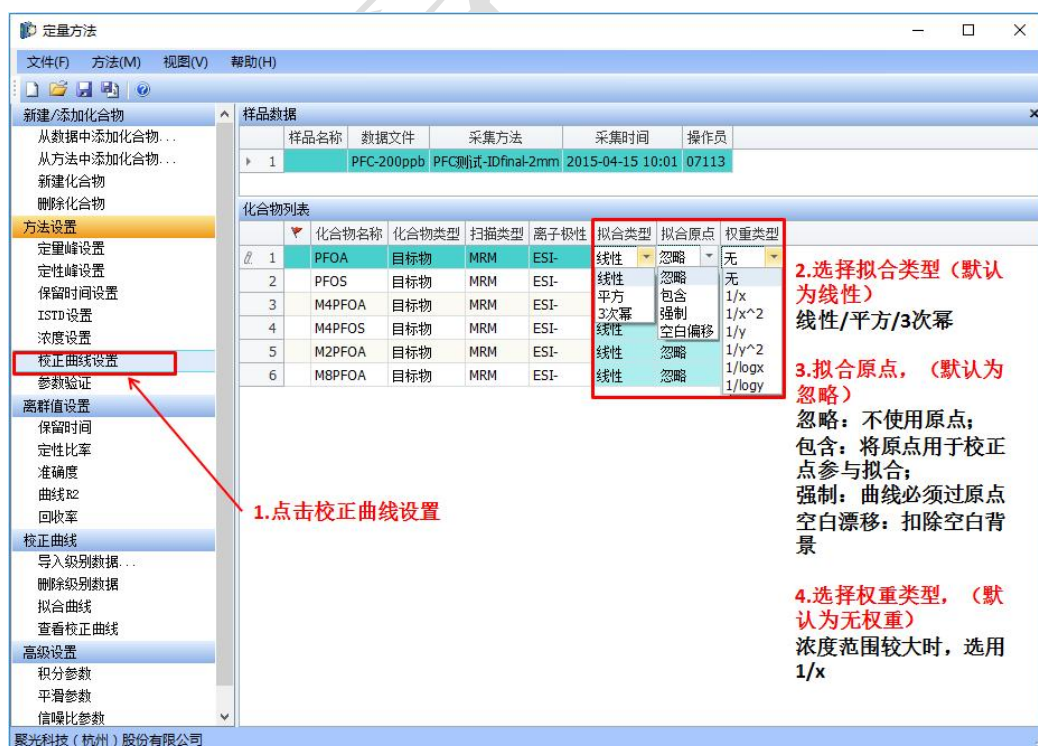


图 4-64 校正曲线设置界面

10) 单击“参数验证”对定量方法进行校验，若参数无误，将弹出如下对话框。

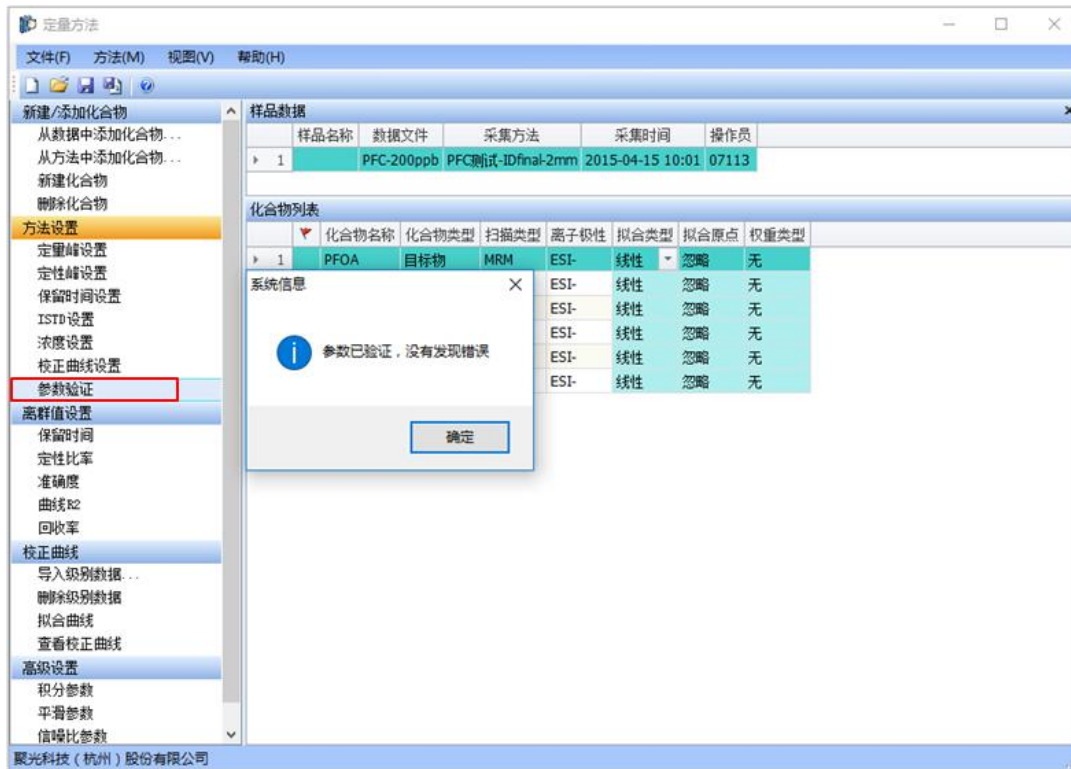


图 4- 65 参数验证界面

11) 设置离群值和高级参数，具体可参考外标法部分。

12) 在左侧导航栏双击校正曲线→导入级别数据，选择校正样品数据并导入。

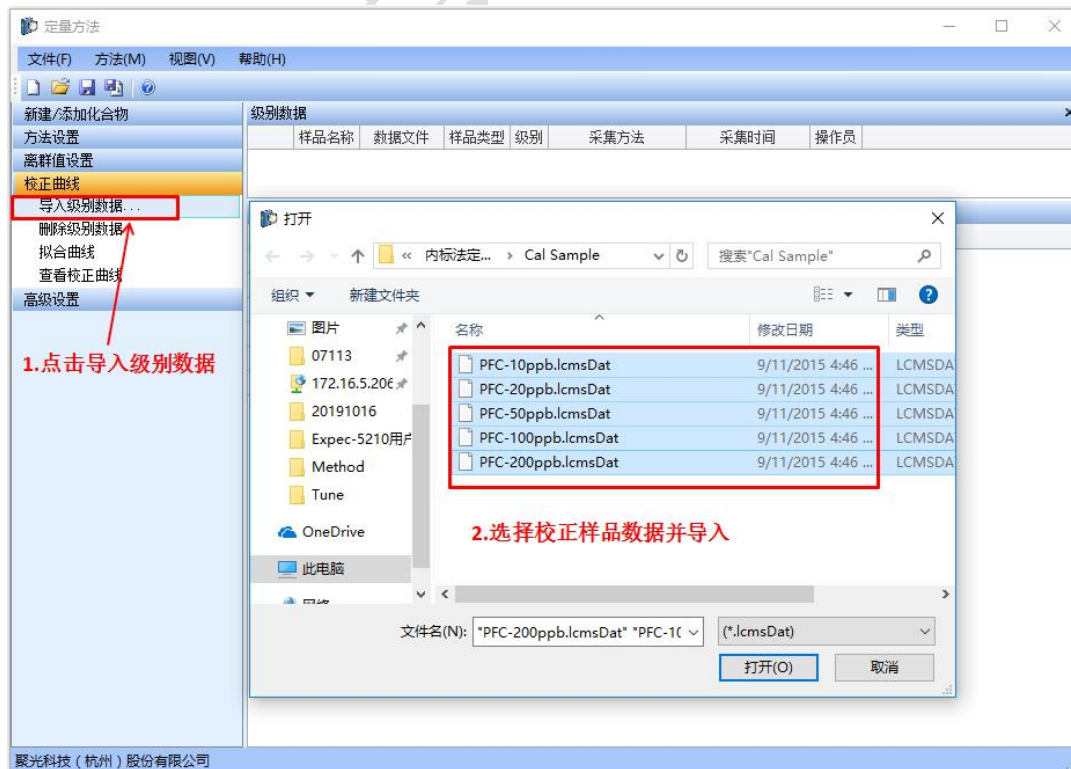


图 4- 66 校正曲线级别数据导入界面

13) 在级别数据页面中设置样品类型和校正级别，空白样品的浓度级别为 0，校正样品的浓度级别为从 1 开始递增的整数，浓度越低，级别数越低，浓度最低的校正样品为 1。然后点击选项“拟合曲线”，软件依据设置的方法参数开始拟合校正曲线。

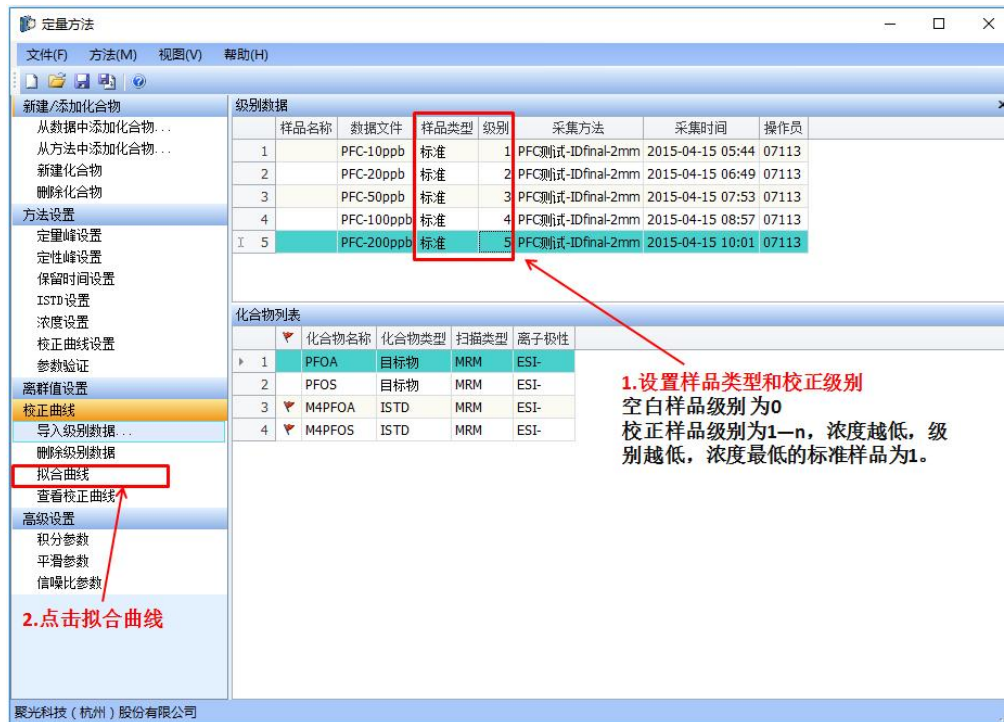


图 4- 67 拟合曲线设置界面

14) 点击选项“查看校正曲线”，右侧显示化合物列表和化合物信息窗口。单击化合物行可以展开化合物的校正信息。点击图标可显示内标 ISTD 的定量色谱图。将光标置于图标上，会自动显示该化合物的离群值信息。

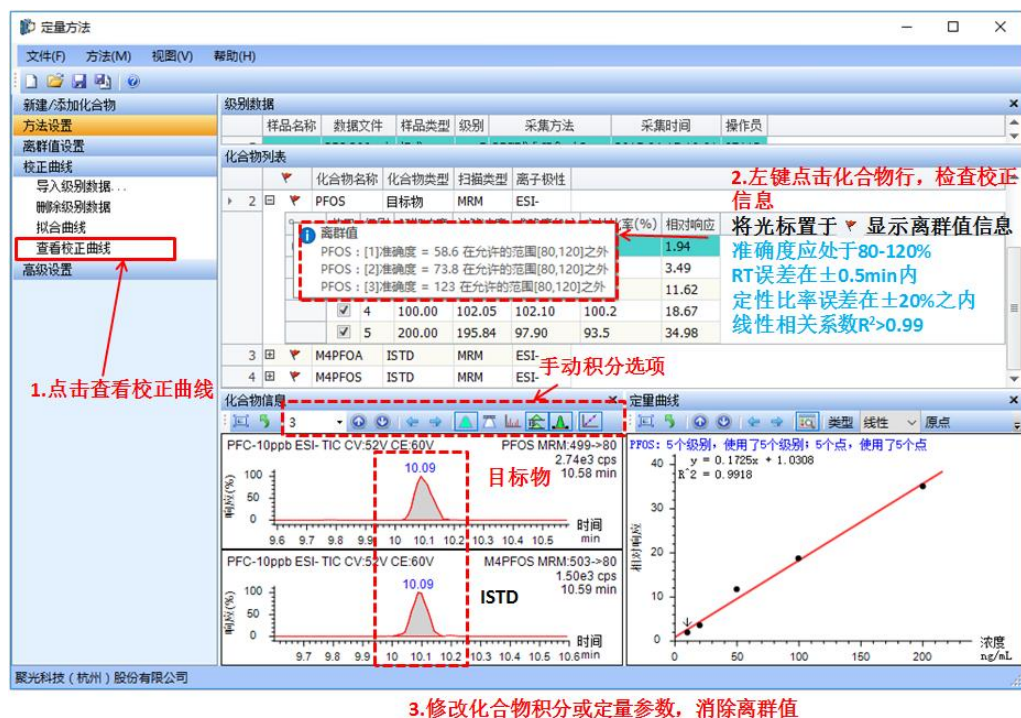


图 4- 68 校准曲线查看界面

检查这些可疑的离群值信息，可接受的离群值范围可参考外标法部分，在此不再赘述。

通过修改化合物积分或者定量方法参数可消除离群值，则  不显示。如果异常离群值是由软件积分

错误引起的，可通过化合物信息窗口中的手动积分选项  对化合物的色谱峰进行手动积分，也可以

通过修改高级设置中的积分参数和平滑参数来改善积分结果。

当所有化合物的  都消失后，表示该校正曲线可以应用于样品的批处理分析。

点击定量方法设置上

方图标 ，保存该定量方法，然后退出该窗口。经过以上步骤后，一个完整的内标定量方法就设置

完成了。

批处理分析

1) 数据导入与方法选择

以外标法处理的磺胺数据为例，在批处理界面中点击图标 ，导入待分析的数据。

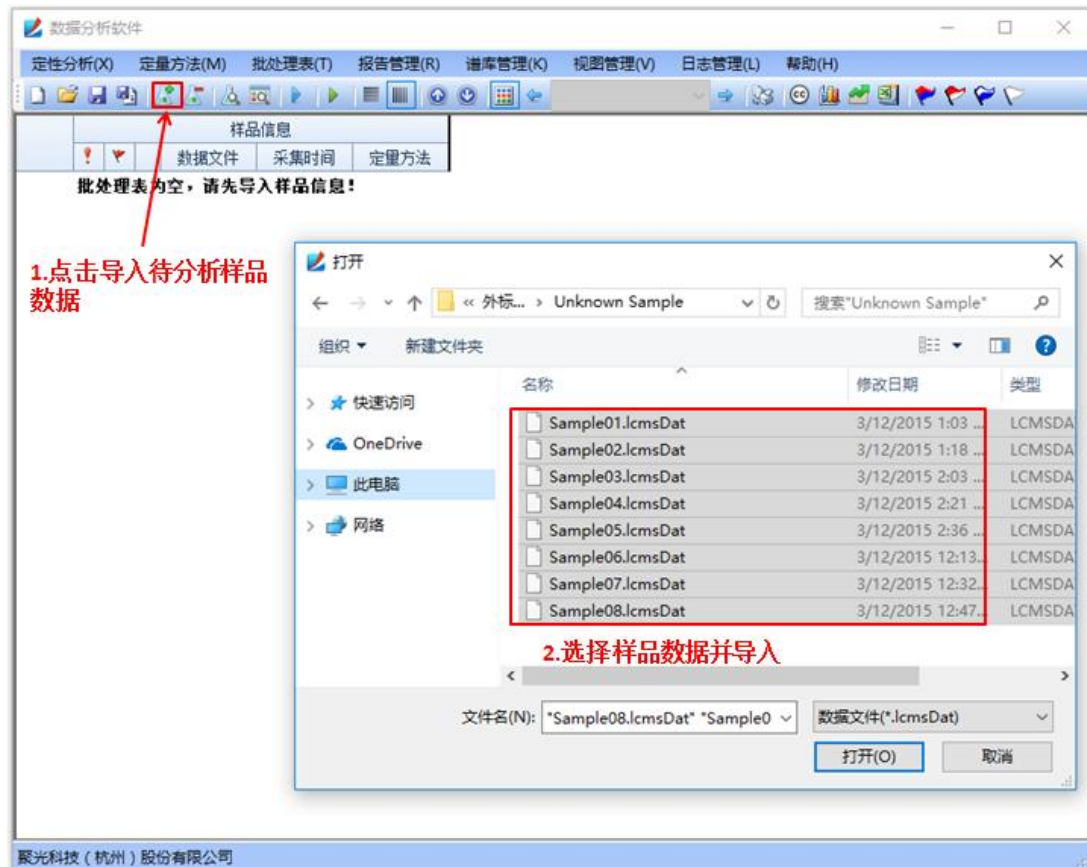


图 4- 69 样品数据导入界面

选择样品行，在右键菜单中加载刚才新建的定量方法 SA-ESTD.dlmth。为了方便灵活使用，在同一批处理表中可根据不同的样品来选择不同的定量方法，如果导入的该批数据使用相同的定量方法，可使用右键菜单中的“向下填充”选项。

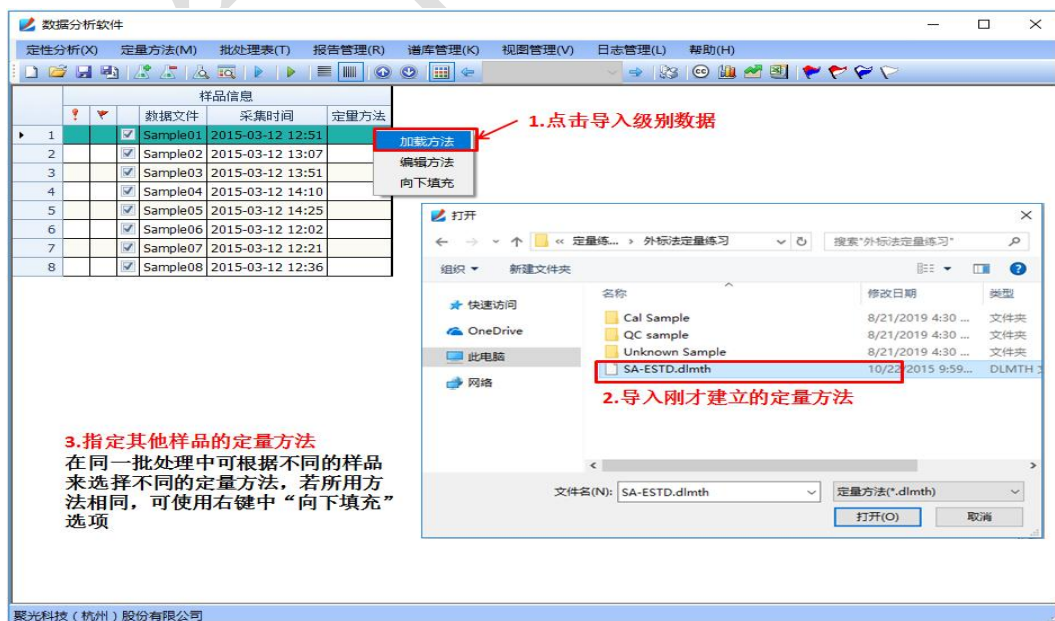


图 4- 70 定量方法加载界面

2) 样品批处理

选中要分析的样品，首次加载的样品数据默认处于勾选状态，未勾选的样品数据不会进行批处理。点击“分析批处理”图标，软件开始对样品进行批处理分析，自动积分和计算化合物浓度，在批处理表中会显示样品处理结果，同时在批处理下方自动弹出化合物信息窗口，里面包含定量色谱图和校正曲线。点击“定量批处理”图标，会保留之前的积分结果，仅对当前批处理重新计算浓度，适用于校正曲线变更等情况。



图 4-71 样品批处理设置界面

3) 批处理结果浏览

批处理表中默认显示单个化合物的批处理结果，点击图标可显示所有化合物列。点击快捷图标在界面下方显示/关闭当前化合物信息和校正曲线信息。在批处理表和化合物信息窗口中点击快捷按钮来进行不同样品结果的快速浏览，也能通过点击按钮可进行化合物之间的快速切换。化合物信息窗口中部分快捷图标作用如下：

- ① 点击图标显示定量峰色谱图，默认显示。
- ② 点击图标显示定性峰色谱图，默认不显示。
- ③ 点击图标显示质谱图结果，默认不显示。

- ④ 点击图标显示校正曲线，默认显示。
- ⑤ 点击图标显示内标 ISTD 的定量色谱图，默认不显示。
- ⑥ 点击图标可对化合物的色谱峰进行手动积分。

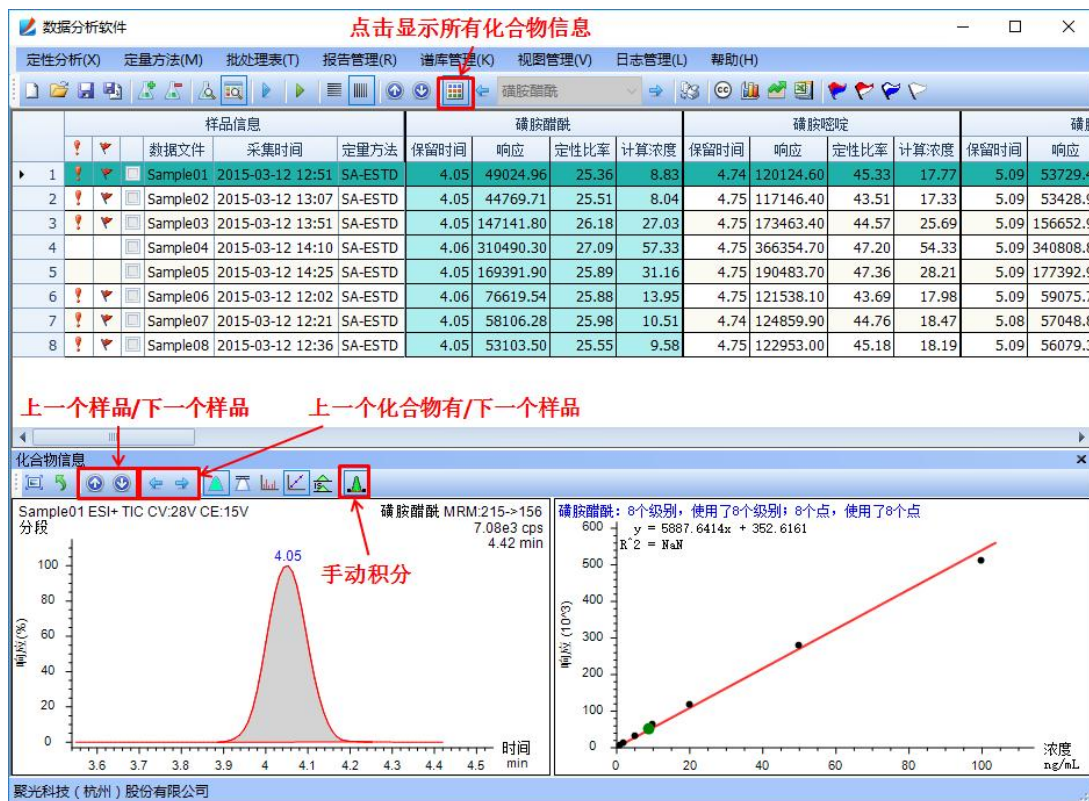


图 4-72 批处理结果界面

4) 离群值筛查

在批处理运行中，软件根据离群值设置来自动筛查可疑数据，在样品信息第二列如果有图标显示，则该样品行存在离群值，同时在批处理表中用不同颜色高亮标记，提醒用户进行数据复查，当实际值高于允许误差范围时，则离群值为高，单元格用红色标记；当实际值低于允许误差范围时，则离群值为低，单元格用蓝色标记。还可以通过单击来显示不同离群值的样品信息。如果对离群值设置不满意，可进入定量方法进行参数编辑，然后再重新进行分析批处理。批处理表最右侧的快捷图标为离群值相关按钮，作用如下：

- ① 点击图标，批处理中仅显示高/低于离群值的样品。
- ② 点击图标，批处理中仅显示高于离群值的样品。

③ 点击图标，批处理中仅显示低于离群值的样品。

④ 点击图标，批处理中仅显示没有离群值的样品。



图 4- 73 离群值筛查界面

5) 数据统计

点击图标可对批处理表中的样品进行数据统计，统计结果显示在样品行的最下方。结果包括当前 列表中所有样品中每一化合物列的最小值 (Min)、最大值 (Max)、平均值 (AVG)、标准偏差 (SD) 和相对标准偏差 (RSD)。该功能适用于样品的数据整理或者加标回收数据的重复性等情况，使用时需要移除不相关样品，否则会造成统计结果不准确。



图 4- 74 数据统计界面

6) 结果保存与导出

单击 保存当前样品列表，或者单击 将当前样品列表另存。以后可通过单击 打开之前保存的样品列表。单击 将批处理结果导出为 Excel。



图 4- 75 结果保存与导出功能界面

报告输出

单击快捷图标，弹出“报告选项”窗口，单击报告模版的“选择”选项，打开“报告模板”，选择合适的模版（后缀名为 repx）并导入，选择报告存储路径和填写报告名称，最后选择报告输出类型（PDF/Xls/xt 等），输出报告，也可以单击“报告预览”，查看报告是否满意，然后进行报告输出。

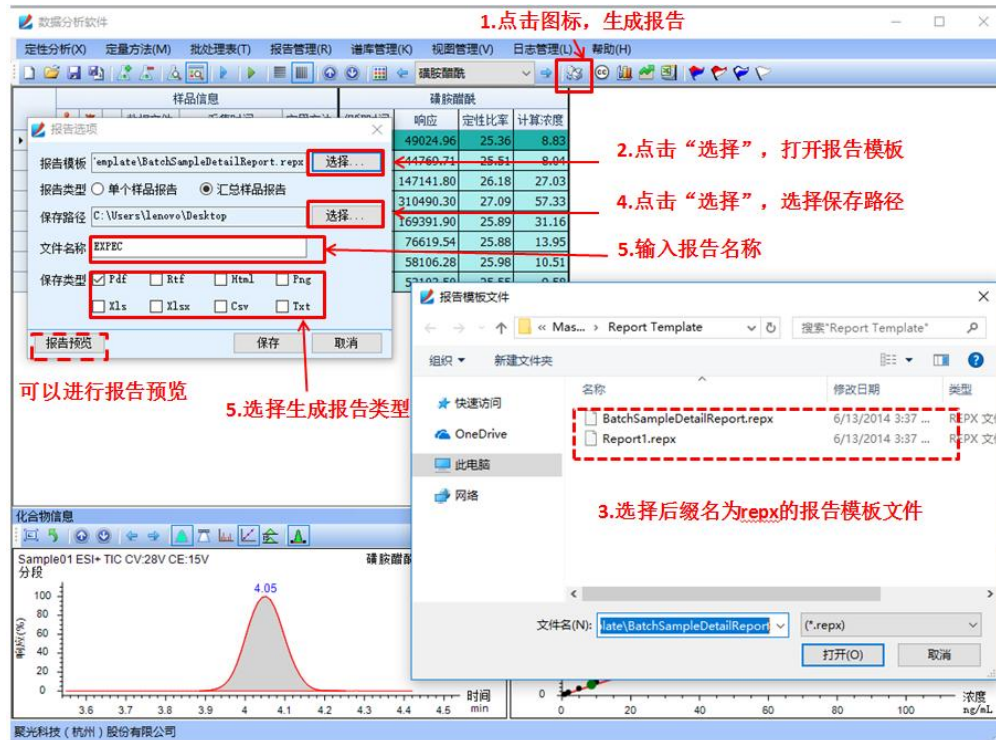


图 4- 76 报告输出设置界面

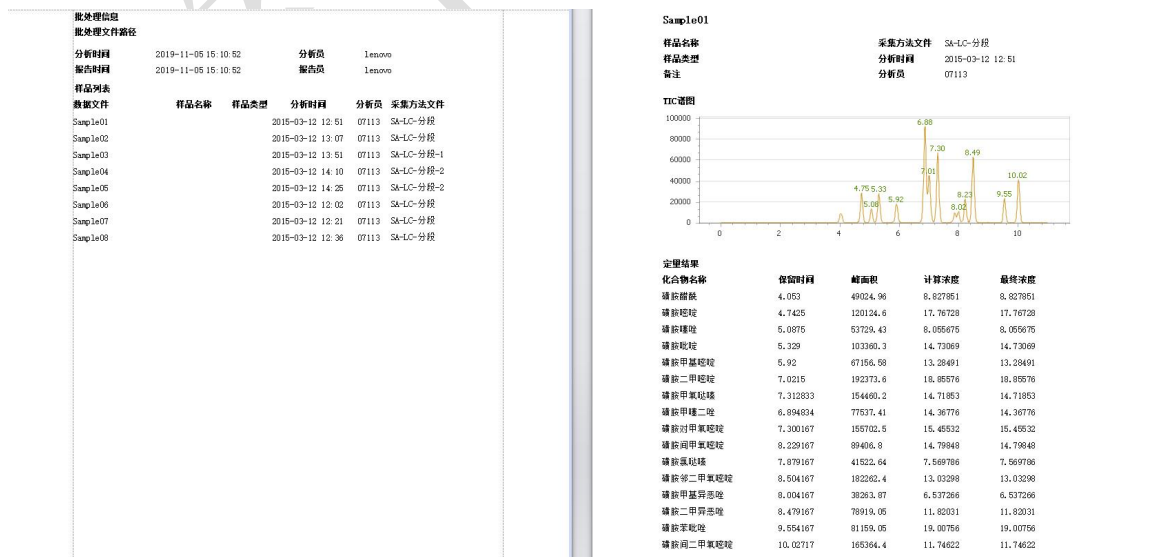


图 4- 78 报告预览界面

五. 关闭仪器



- 1) 在控制软件主界面中点击图标 ，打开真空控制界面，点击“待机”按钮，使质谱仪处于待机状态。
- 2) 点击“卸载真空”按钮，涡轮分子泵开始降低转速，质谱内部开始放空，分子泵转速逐渐降低，整个过程需要 10~15min。当分子泵转速低于 50Hz 时，可关闭机械泵。
- 3) 关闭主机电源。
- 4) 关闭控制软件，然后关闭电脑。
- 5) 如果使用氮气钢瓶，请同时关闭气体钢瓶阀门。如果使用氮气发生器，请关闭氮气发生器。
- 6) 关闭液相自动进样器，流动相泵，柱温箱的电源开关。