

文件编号：Q/WU FLHA19010006R022

版本号：V1.0

受控状态：

分发号：

理化公共实验平台

质量管理文件

高分辨飞行时间液质联用仪 Waters SYNAPT-G2-Si 标准操作规程

2019年9月30日发布

年 月 日实施

理化公共实验平台 发布

理化公共实验平台

目 录

1. 目的	1
2. 范围	1
3. 职责	1
4. 重要说明	1
5. 实验室安全管理规范.....	1
6. 质谱实验室仪器设备管理规范.....	2
6.1. 高分辨飞行时间液质联用仪预约与使用.....	2
6.2. 预约制度	2
6.3. 培训考核制度.....	3
7. 实验内容	4
7.1. 样品的准备	4
7.2. 7.2. 新建/打开项目	4
7.3. 仪器调谐	7
7.3.1 仪器状态初判.....	7
7.3.2 Create Calibration	9
7.4. LockSpray source setup	18
7.5. 灌注操作	23
7.5.1 溶剂管理器灌注操作.....	24
7.5.2 样品管理器灌注操作.....	25
7.6. 项目序列文件.....	26
7.6.1 文件名(File name).....	27
7.6.2 建立色谱方法文件(Inlet File).....	28
7.6.3 建立质谱方法文件(MS File)	32
7.6.4 选择色谱、质谱方法.....	36
7.6.5 样品位置选择(Bottle).....	37
7.6.6 注入体积(Inject Volume).....	38
7.7. 方法运行	38
7.8. 数据查看	41
7.8.1 查看色谱图.....	41

7.8.2 查看质谱图.....	41
7.9. 实验结束处理.....	43
8. 相关/支撑性文件	43
9. 记录	44
附件：简洁版操作流程.....	46

理化公共实验平台

1. 目的

建立高分辨飞行时间液质联用仪使用操作规程, 使其被正确、规范地使用。

2. 范围

本规程适用于所有使用高分辨飞行时间液质联用仪(直接进样)的用户。

3. 职责

3.1. 用户: 严格按本程序操作, 发现异常情况及时汇报实验室技术员。

3.2. 实验室技术员: 确保操作人员经过相关培训, 并按本规程进行操作。

4. 重要说明

4.1. 进入实验室, 请仔细阅读实验室安全管理规定;

4.2. 严禁将自己授权的门卡转借他人, 一旦发现将进行禁用处理;

4.3. 禁止将实验无关人员带入实验室;

4.4. 严禁在实验室饮食、吸烟或随意走动;

4.5. 禁止随意使用本实验室制样间相关耗材;

4.6. 夜间实验, 需两人在场;

4.7. 请严格按送样要求进行制样。由于样品问题导致 ESI 毛细管堵塞或仪器配件更换, 费用将由操作者所在课题组承担;

4.8. 实验操作前请核对流动相体积及背景气压 0.6-0.7 MPa;

4.9. NAS 网盘是本实验室获取数据的唯一有效途径, 禁止用 U 盘、移动硬盘等进行数据拷贝;

4.10. 请严格按仪器操作规程进行操作。实验过程中有任何不确定或报错提醒必须联系技术员, 否则造成损伤或实验室损失的, 操作人将承担相关责任并进行通报批评。

5. 实验室安全管理规范

5.1. 严格遵守色质谱实验室的各项安全注意警示标识。

5.2. 色质谱实验室通道及消防紧急通道必须保持畅通, 所有实验人员应了解消防器具与紧急逃生通道位置。

5.3. 严禁戴手套接触门把手。禁止随意丢弃实验废弃物。禁止将锐器、玻璃、枪头丢弃在常规垃圾箱中。

- 5.4. 实验室应保持整洁, 严禁摆放与实验无关的物品。严禁在实验室饮食与抽烟。严禁动物进入实验室。
- 5.5. 当没有气体时, 严禁开启仪器。
- 5.6. 非常规实验测试须技术员同意并指导方可进行。个人 U 盘、移动硬盘等易带入病毒的存储设备不得与色谱工作站电脑连接。
- 5.7. 空压机房所处的房间应使用空调, 要保持室内空气干燥, 在潮湿的季节应做好除湿。至少每周检查一次有无积水。

6. 色谱实验室仪器设备管理规范

6.1. 高分辨飞行时间液质联用仪预约与使用

该仪器遵从学校“科研设施与公共仪器中心”对大型仪器设备实行的管理办法和“集中投入、统一管理、开放公用、资源共享”的建设原则, 面向校内所有教学、科研单位开放使用; 根据使用机时适当收取费用; 并在保障校内使用的同时, 面向社会开放。

该仪器的使用实行预约制度, 请使用者根据样品的测试要求在学校“大型仪器共享管理系统”(以下简称大仪共享)进行预约, 并按照要求登记预约信息。校内用户使用的流程包括:

- (1) 大仪网进行预约/送样申请;
- (2) 按规定制样;
- (3) 进入实验室进行登记;
- (4) 上机测试。

6.2. 预约制度

为充分利用仪器效能、服务全校科研工作, 根据测试内容与时间的不同, 实验室制定了 7*24 小时预约制度。根据预约制度可登陆大仪共享网站最少提前 2 小时预约机时, 包括周末; 寒暑假及国庆假期最少提前一天预约机时。

请严格遵守预约时间使用仪器, 以免浪费机时。如需调换时间段, 在技术员同意下可与其他使用者协商。因故不能在预约时间内测试者, 请提前 2 小时取消预约并通知技术员。如无故不遵预约时间, 将被取消一个月的预约资格。

预约时段		预约时间/每人	测试内容
周一至周五	09:00 至 22:00	每人次可预约最短机时为 60 分钟	一级质谱

- (1) 校内使用者须经过技术员的实验操作培训, 考核合格后方可上机使用;
- (2) 实验开始时务必在实验记录本上登记, 结束时如实记录仪器状态;
- (3) 严禁擅自处理、拆卸、调整仪器主要部件。使用期间如仪器出现故障, 使用者须及时通知技术员, 以便尽快维修或报修, 隐瞒不报者将被追究责任, 加重处理;
- (4) 因人为原因造成仪器故障的(如硬件损坏), 其导师课题组须承担维修费用;
- (5) 本实验室所有原始数据不允许在仪器工作站上删改, 尤其不允许用 U 盘与移动硬盘直接拷贝。使用者应根据要求通过科研仪器网/数据服务器传送下载原始数据至本地电脑, 以保存并做数据处理; 实验数据在本实验室电脑中保留 2 年。
- (7) 使用者应保持实验区域的卫生清洁, 测试完毕请及时带走样品, 技术员不负责保管。使用者若违犯以上条例, 将酌情给予警告、通报批评、罚款及取消使用资格等惩罚措施。

6.3. 培训考核制度

校内教师、研究生均可提出预约申请, 由技术员安排时间进行培训, 培训内容包括仪器使用规章制度、送样须知及安全规范、基本硬件知识、标准操作规程(自主测试-初、中、高三级 SOP) 及相应数据处理。

培训结束后, 两周内培训者需管理人员监督下进行 5 次左右操作, 培训者根据自己的掌握程度, 联系技术员进行上机考核, 初级考核合格后, 可在管理人员监督下上机操作, 一周后复考;

仪器管理员认为培训者达到相应级别的独立操作水平后, 给予培训者授权在相应级别所允许的 *可操作实验*^a 范围内独立使用仪器。如果在各级别因为人为操作错误导致仪器故障者, 除按要求承担维修费用之外, 给予降级重考惩罚、培训费翻倍。

对接受培训人员的核心要求:

- (1) 了解质谱的基本原理及其应用的多学科背景知识;
- (2) 熟悉质谱仪器、电喷雾离子源的原理、构造及各部分的功能, 严格遵守仪器部件的开关顺序, 在突然停电时能及时处理仪器并上报, 关注仪器各部件有无异常;

- (3) 熟练掌握 Masslynx 软件系统, 严格按照标准操作规程操作, 防止因人为操作不当造成仪器故障, 认真做好仪器的使用及故障记录。

7. 实验内容

7.1. 样品的准备

- (1) 去盐;
- (2) 溶剂: 乙腈/甲醇/水或以上两种混合溶剂, 严禁测试遇到乙腈/甲醇/水析出的样品溶液; 禁止用二氯甲烷或氯仿等二氯类溶剂; 样品中禁止含三苯基膦类化合物;
- (3) 样品浓度: 1-2 ppm;
- (4) 样品量: 1-1.5 ml;
- (5) 制备溶液之后, 过 0.22 μm 的滤膜。

注意: 由于样品问题导致仪器异常或配件更换, 所有责任将由操作者及所在课题组或单位承担。

7.2. 新建/打开项目

- ✦ 系统中没有课题组项目文件的用户, 请按以下步骤新建项目文件;
- ✦ 系统中已有项目文件的用户, 请在图 1.1 (b) 页面, 选择 File - Open project 打开项目文件, 并进行 file-open 打开自己的 sample list。

Step1: 点击电脑桌面Masslynx图标(图1.1(a)), 进入Masslynx操作界面(图1.1(b)), 当前显示为上一次仪器实验的测试序列(图1.1(b)蓝色方框显示)。

- **注:** 测试结束, 通常不关闭Masslynx软件操作界面, 主窗口及子菜单操作窗口会显示在电脑桌面下方(图1.1蓝色方框显示), 直接点击Masslynx图标即可。

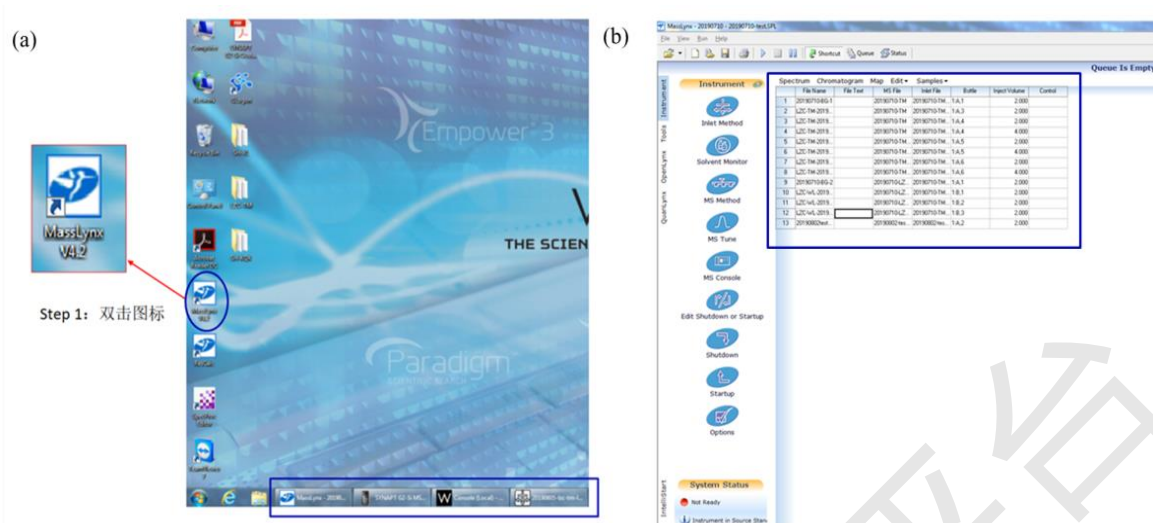


图 1.1 操作电脑桌面显示(a)及 Masslynx 软件操作界面(b).

Step2: 点击 File - Project wizard(图 1.2(a), 蓝绿色方框), 弹出对话框(图 1.2(b)), 点击 Yes 进入项目新建向导(图 1.3(a)).

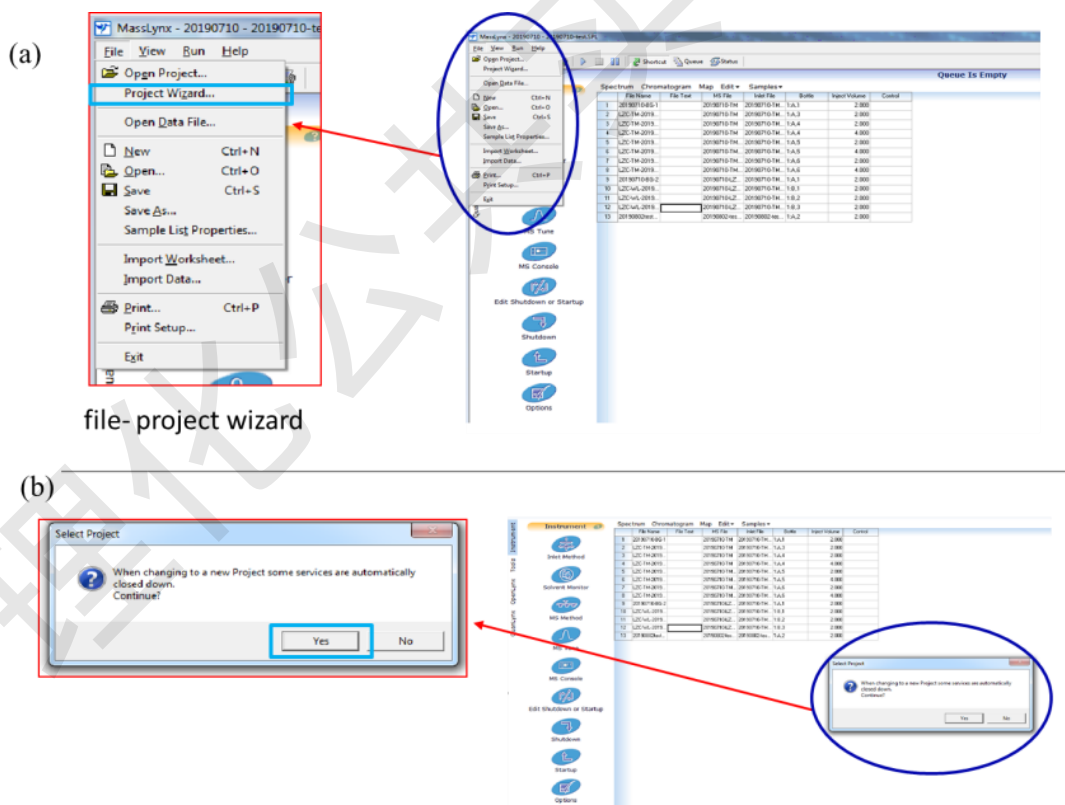


图 1.2 File - Project wizard 选项(a)及弹出对话框(b).

Step3: 项目新建向导。如图1.3, 通过Browse选择正确的项目路径(location), 输入项目名称(Project name), 点击Next, 弹出对话框(图1.3 (b)), 勾选**Create using current project as template**选项, 点击Finish, 弹出显示序列文件无效提醒窗口(图1.4), 点击OK进行确认。至此完成新建项目。

➤ **注:** 本实验室所有文件按课题组进行分类和命名。每一个测试的课题组均会有一个项目文件存在于 PI folder 路径下。如果没有课题组项目, 请以 PI 全名进行新建, 如张三, 则输入 Zhang San, 点击 Next。

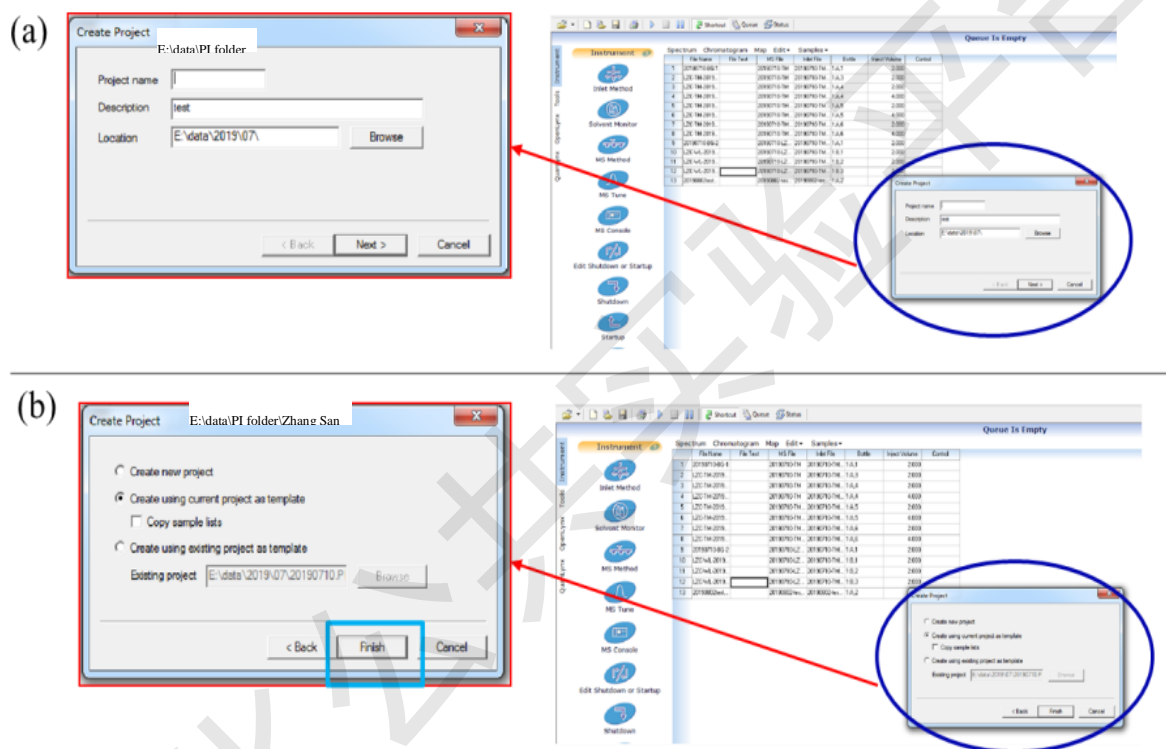


图 1.3 项目新建向导 (a)及弹出对话框(b)

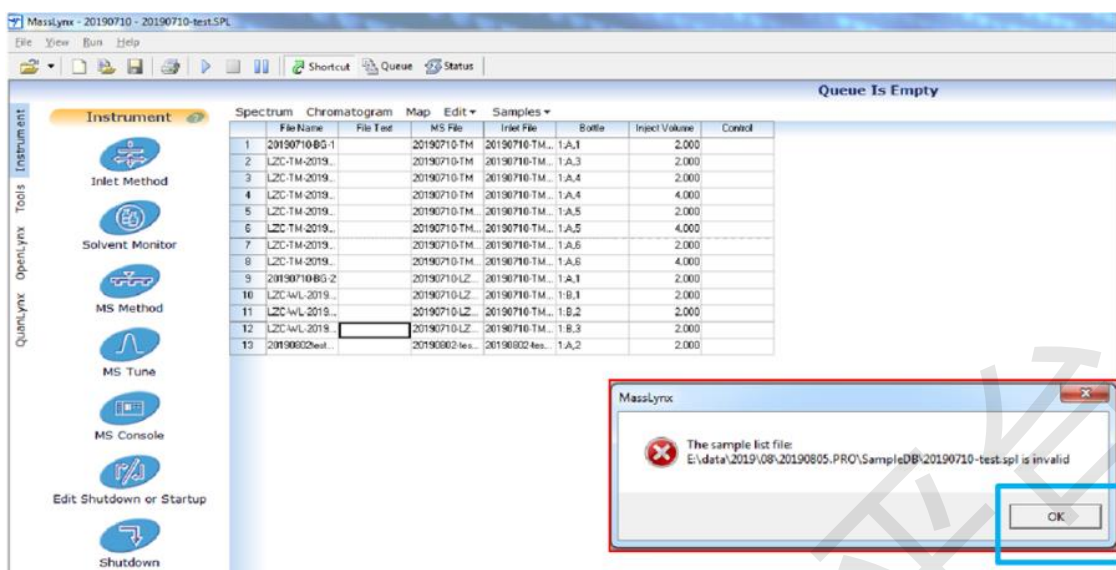


图 1.4 序列名称无效提醒窗口显示

7.3. 仪器调谐

✦ 接受培训的用户，请直接进入 7.3.2 create calibration 进行操作；

7.3.1 仪器状态初判

Step1: 在 Masslynx 操作主界面，选择 MS tune 图标(图 2.1)，进入质谱操作界面(图 2.2)。

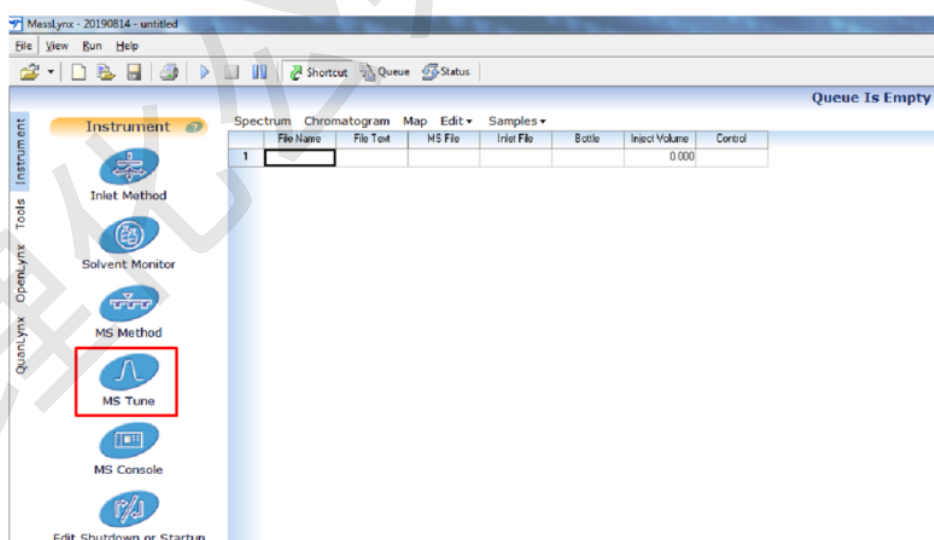


图 2.1 Masslynx 主操作界面 MS tune 选项

Step2: 在 MS 操作界面(图 2.2)，需要进行以下三项操作：

1. 选择离子模式和分辨率模式

注： 离子模式根据待测样品需求进行选择；分辨率模式：选择 Resolution

2. Fluidics 选项下，查看 Lockspray control，选择 Spray position: **Lock spray**; Reservoir: **B**, Flow state: **Infusion**;

3. 操作窗口右下角，点击 Operate 开关。（点击后，红色方框变为绿色为正常）

1: 选择离子模式和分辨率模式

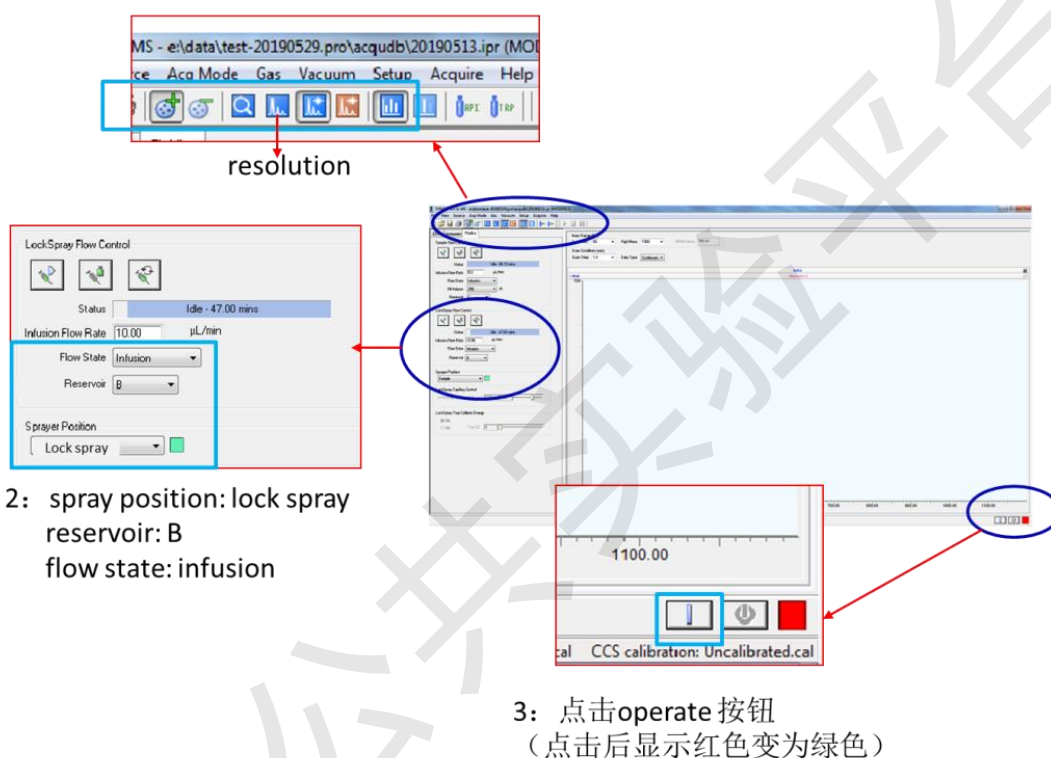


图 2.2 MS tune 操作窗口

默认为 ESI+, Resolution 模式

Step3: 进行Step2操作后，显示质谱图，在m/z=556.2771附近出峰为正常。至此完成仪器状态初判。

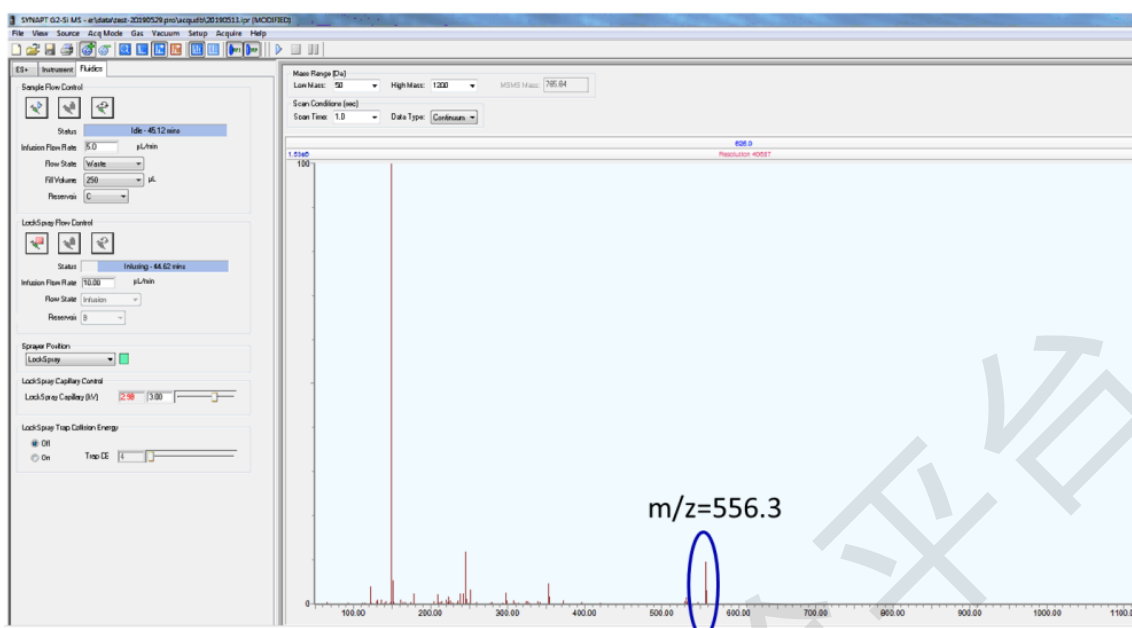
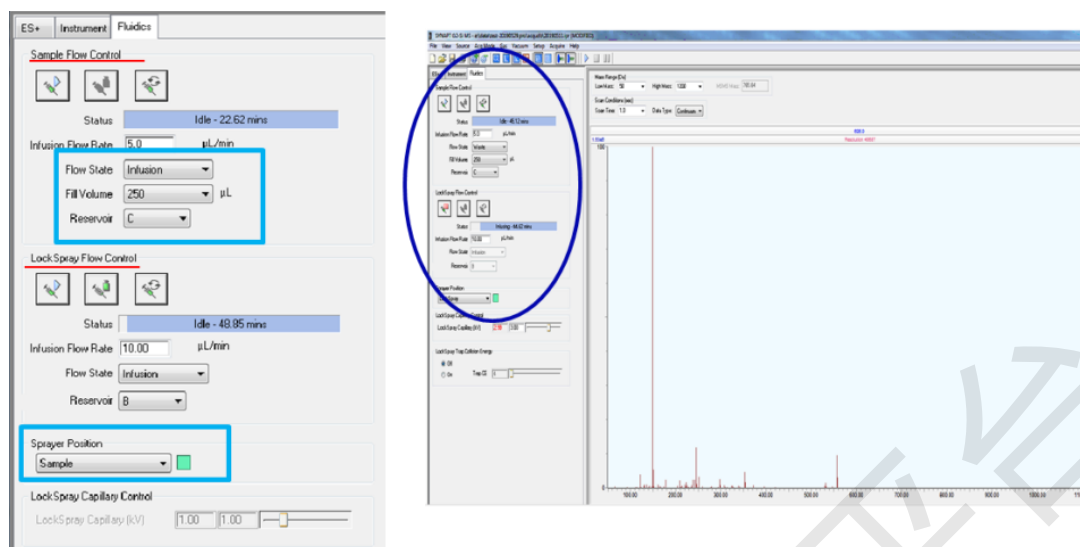


图 2.3 step2 操作后 MS 操作窗口显示

7.3.2 Create Calibration

Step1: 在质谱操作窗口, 点击右下角 Operate 按钮, 进行两项设置(图 2.4)

Fluidics 项目栏, Sample flow control, 选择 Flow state: **Infusion**; ?Reservoir: **C**; Spray position: **Sample**, 点击 **Start infusion**。完成之后, 显示 Sample spray 下质谱显示窗口如图 2.5 所示。



Sample flow control: spray position: reservoir: C
 flow state: infusion
 Lock Spray Flow Control: sample

图 2.4 Create calibration MS 操作窗口

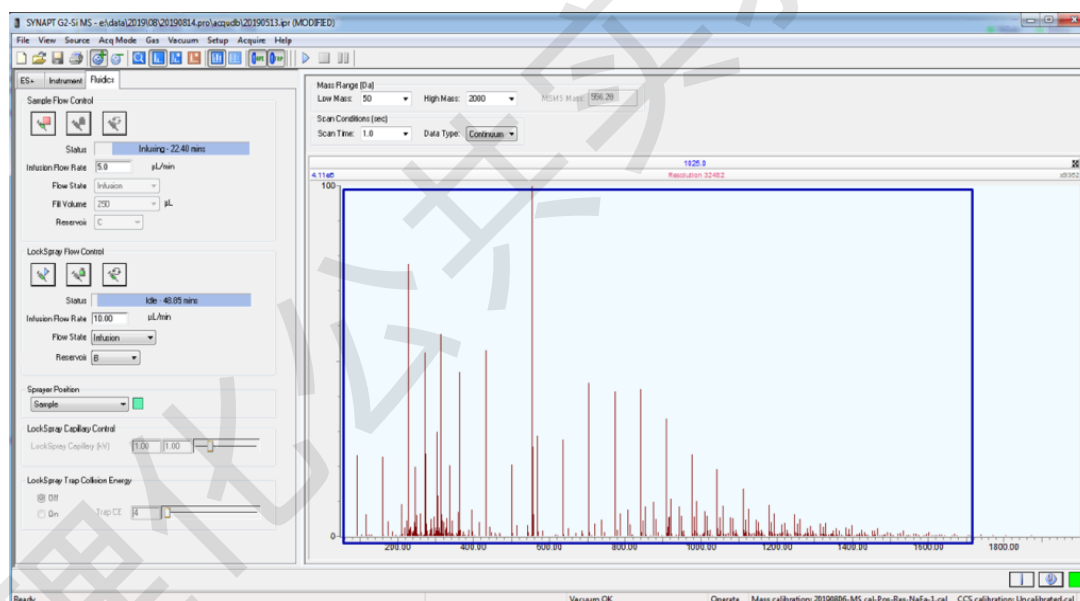


图 2.5 Sample spray 质谱窗口显示

Step2: 返回 Masslynx 操作主界面, 选择 MS Console 图标(图 2.6), 进入 MS Console 操作界面(图 2.7)。

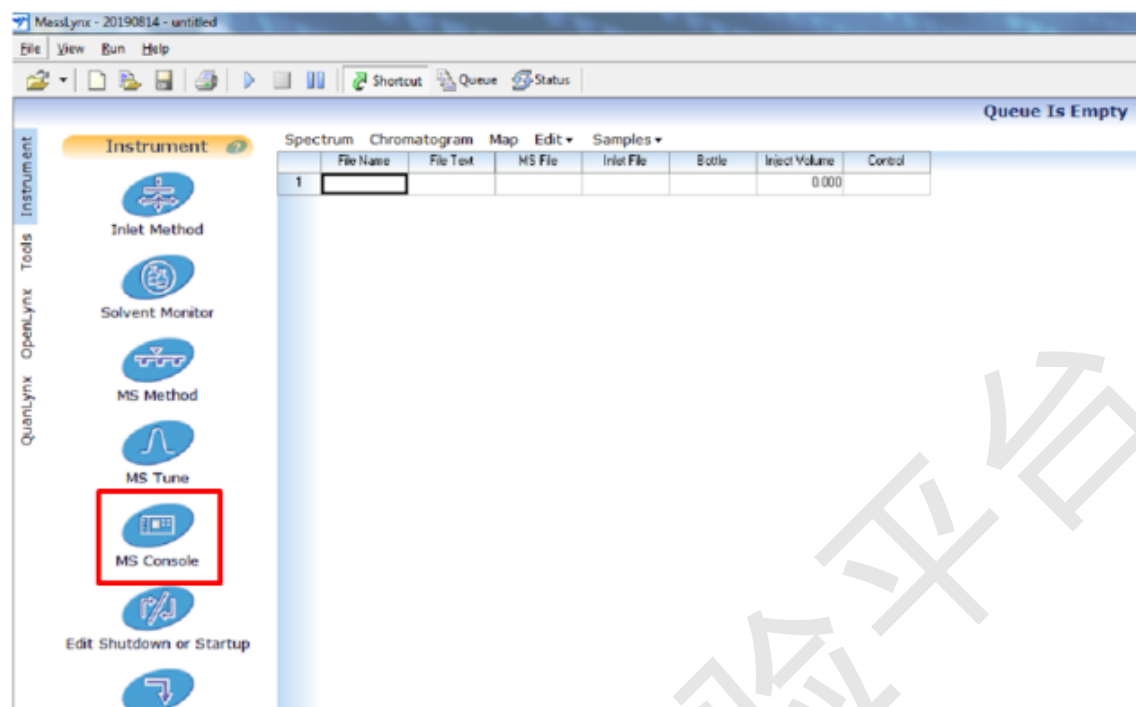


图 2.6 Masslynx 主操作界面 MS tune 选项

Step3: 建立 Create calibration 质量轴调谐文件并运行。如图 2.7, 在 MS Console 界面, 点击 SYNAPT G2-Si 选项前加号+, 显示 2.8(a)界面。

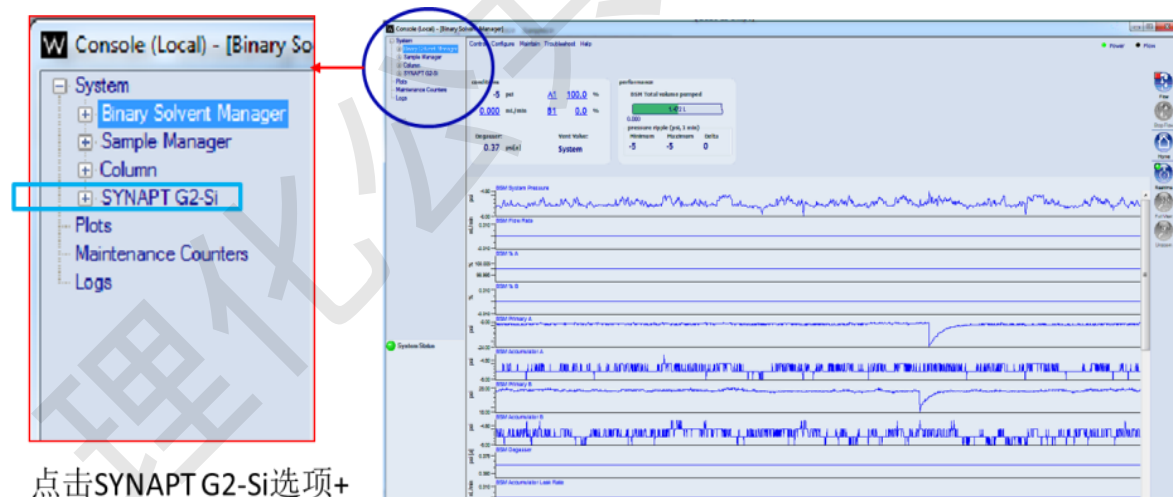


图 2.7 MS console 操作界面

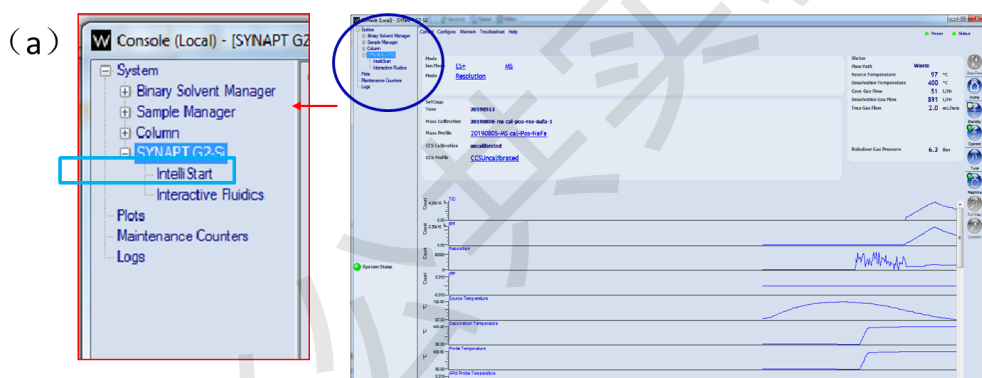
请按图 2.8(a)-2.8(g)显示进行如下操作:

- 图 2.8(a): 点击 SYNAPT G2-Si 选项下 Intelli start, 显示图 2.8(b);

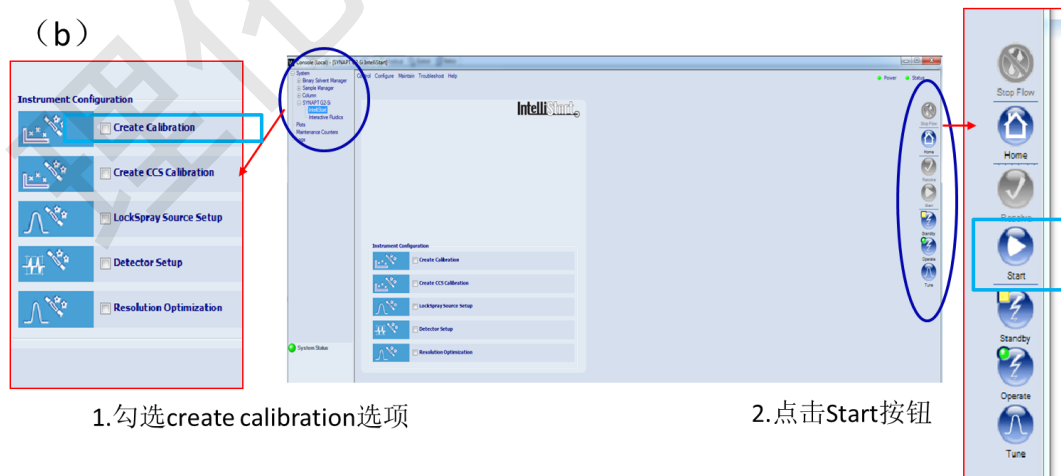
- 图 2.8(b): 勾选 Create calibration 选项并点击 Start 按钮, 显示图 2.8(c);
- 图 2.8(c): 点击 Next, 显示图 2.8(d);
- 图 2.8(d): 点击 Calibration profile editor 显示图 2.8(e);
- 图 2.8(e): 选择 File - New, 新建文件, 显示图 2.8(f);
- 图 2.8(f): 首先输入文件名, 然后选择 Type of calibration 子菜单下的 Assisted - Acquire data automatically, and identify the peaks manually 选项, 如输入 20190814-Pos-Res-NaFa, 选择 Assisted 选项后, 显示如 2.8(g);

注: 文件名命名原则: 日期-离子模式-分辨率模式-调谐溶液。离子模式与分辨率模式均须与 2.1 中的选择一致, 以正离子, 分辨率模式, 调谐溶液为甲酸钠溶液为例, 命名文件名为: 20190814-Pos-Res-NaFa

- 图 2.8(g): 根据自己样品测试需求, 选择 Positive polarity 或者 Negative polarity 下的 Edit 选项 (必须与 2.1 中选择的离子模式一致), 本文中以正离子为例。进入图 2.9 操作步骤。

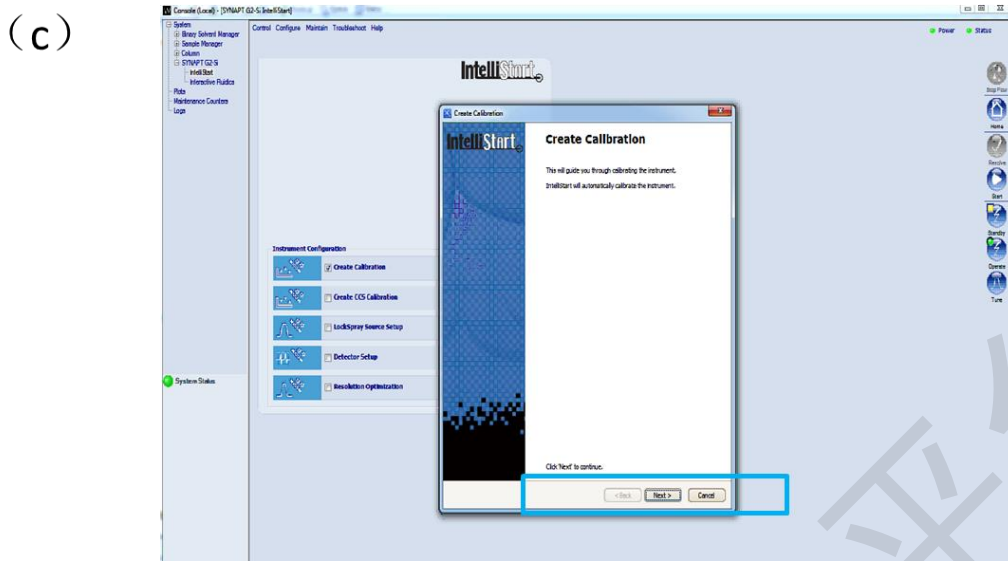


点击SYNAPT G2-Si选项下intelli start

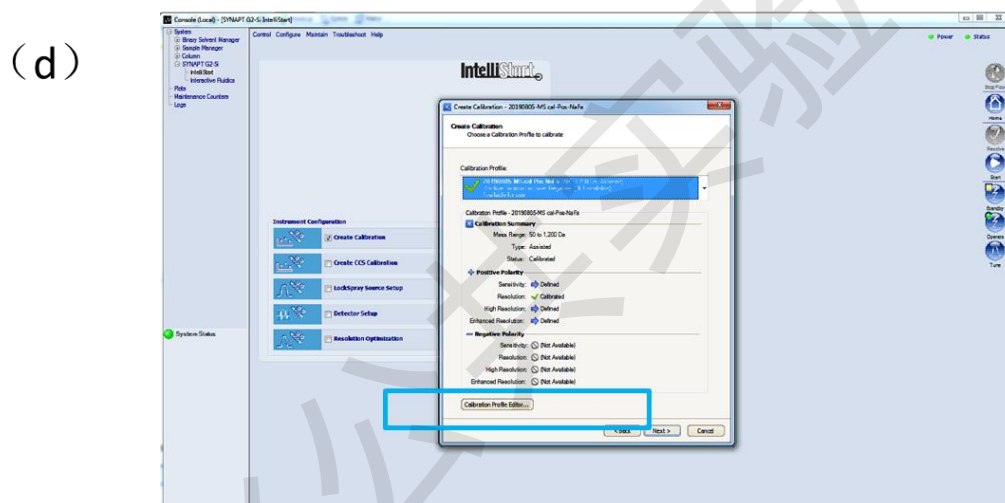


1.勾选create calibration选项

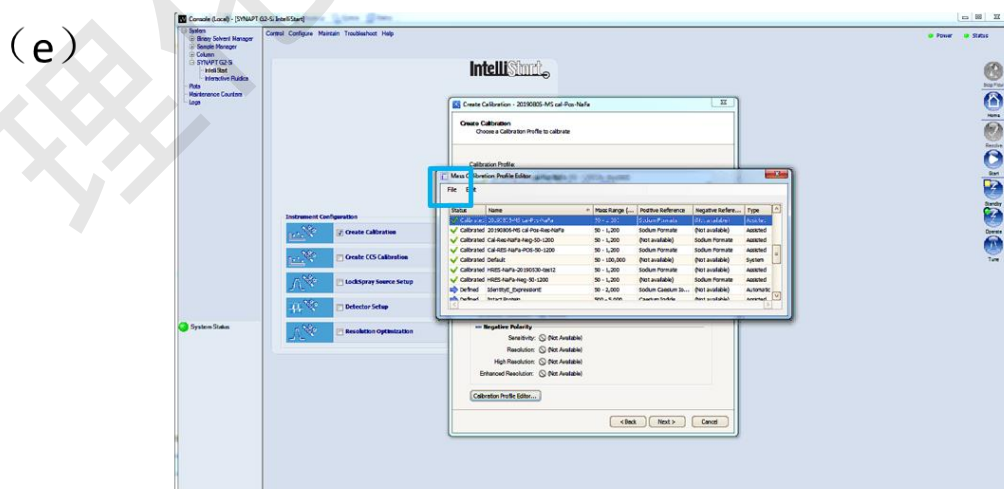
2.点击Start按钮



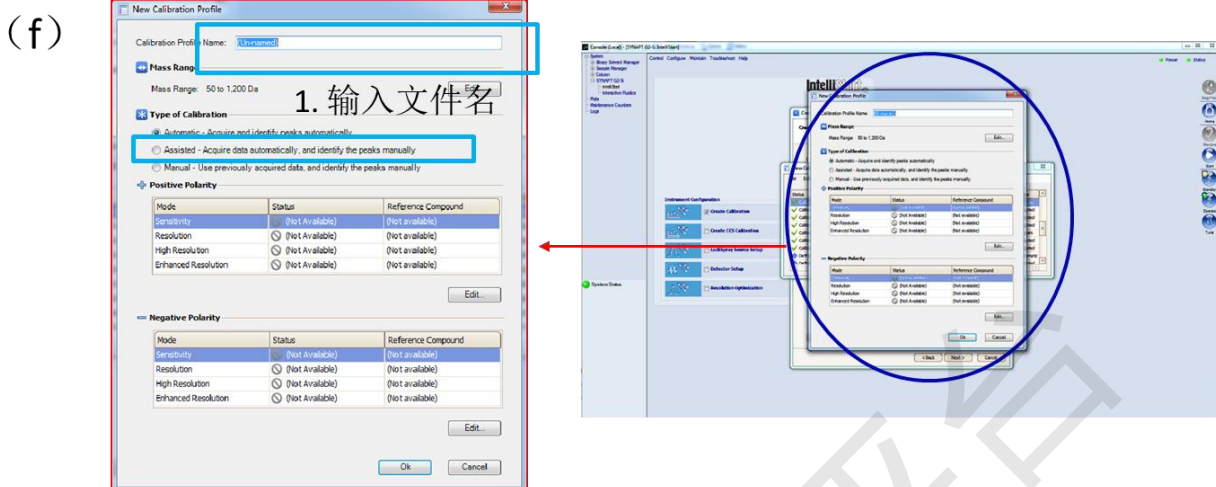
点击next,进入下一步



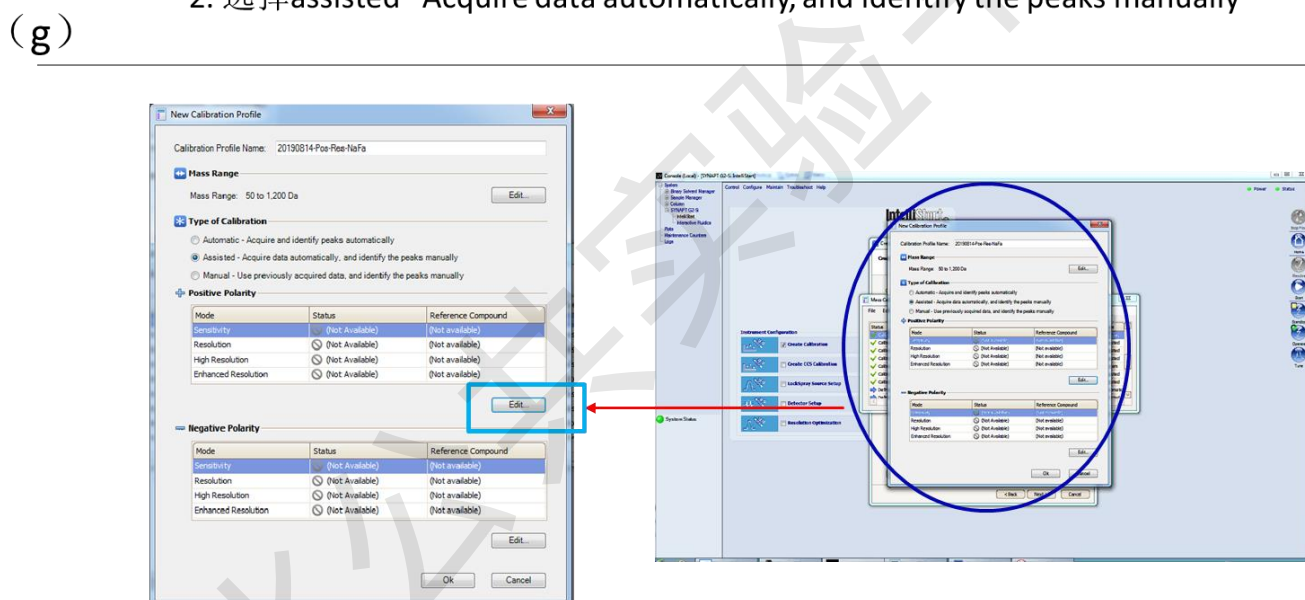
点击calibration profile editor



File-new 新建质量校正文件文件



2. 选择assisted—Acquire data automatically, and identify the peaks manually



根据自己样品测试需求, 选择positive polarity 或者negative polarity下的edit选项

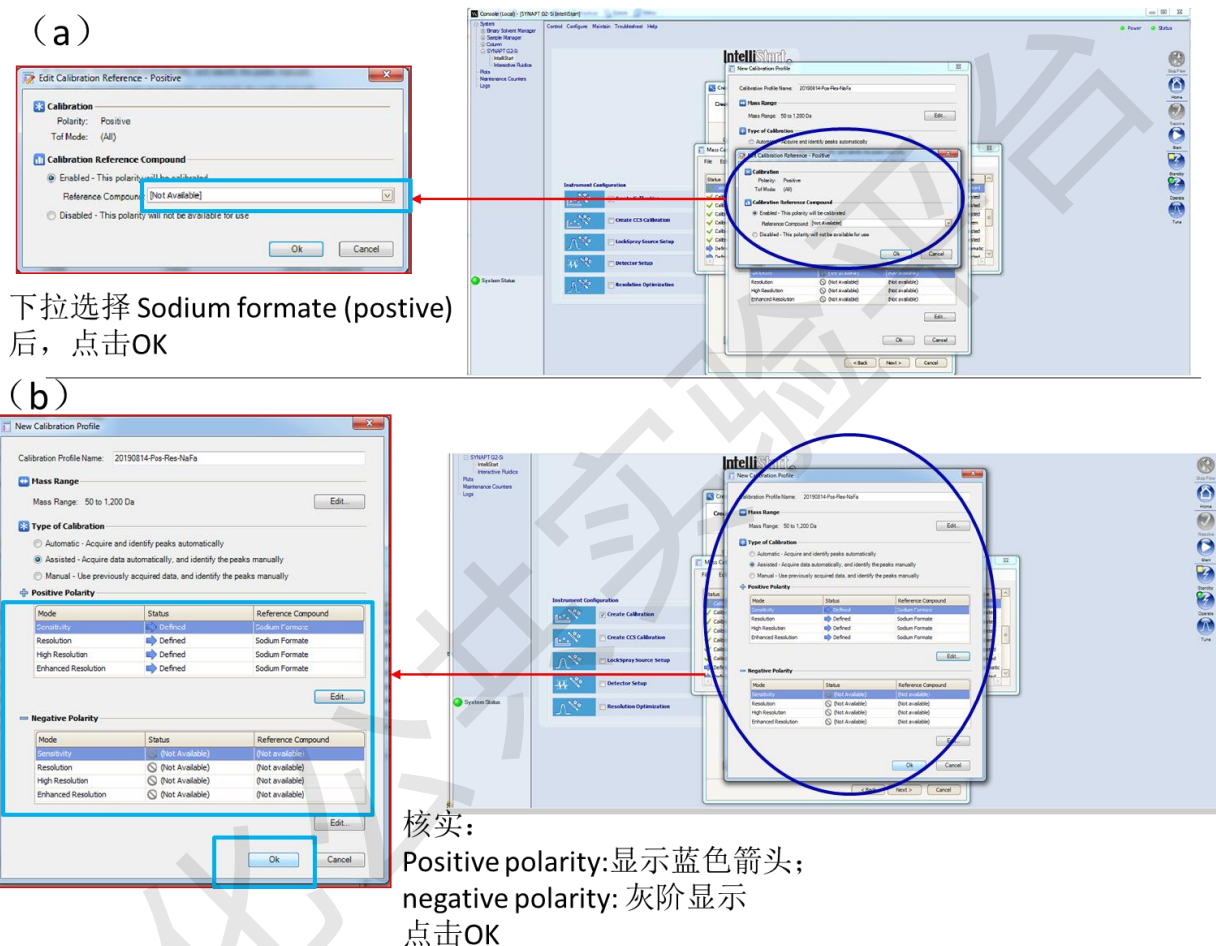
图 2.8 质量轴调谐文件操作

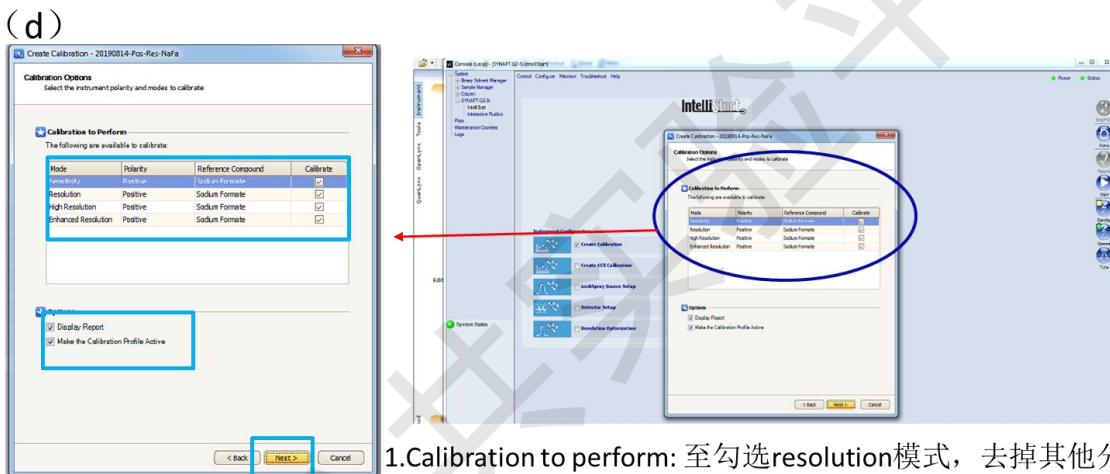
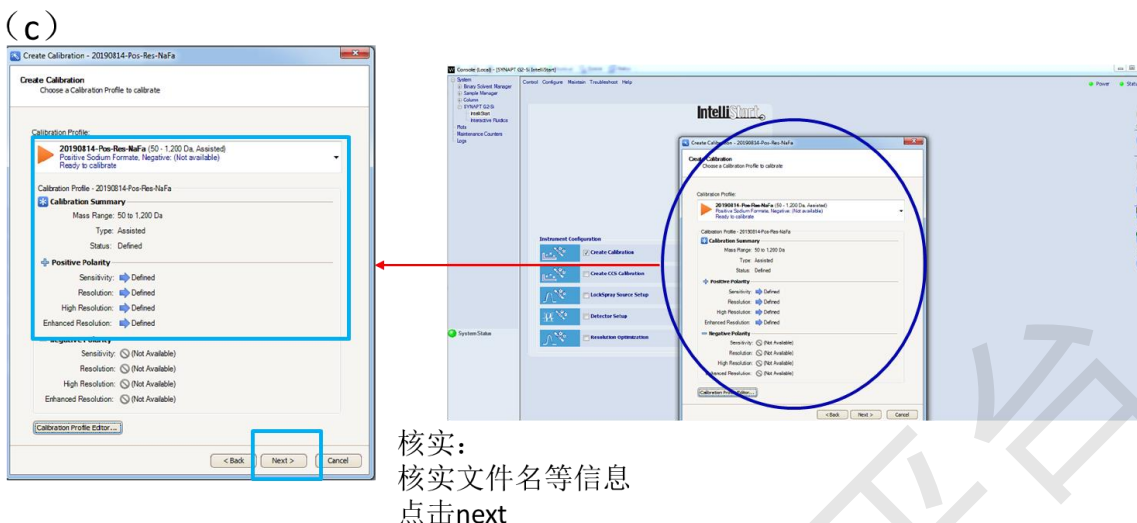
完成图 2.8(g)操作后, 请按图 2.9(a)-2.9(e)显示进行如下操作:

- 图 2.9(a): 下拉选择 Sodium formate (Positive)后, 点击 OK, 显示图 2.9(b);
- 图 2.9(b): 核实: Positive polarity: 显示蓝色箭头; Negative polarity: 灰阶显示。点击 OK, 显示图 2.9(c);
- 图 2.9(c): 核实文件名等信息, 点击 Next, 显示图 2.9(d);
- 图 2.9(d): 1.Calibration to perform: 至勾选 Resolution 模式, 去掉其他分辨率模式

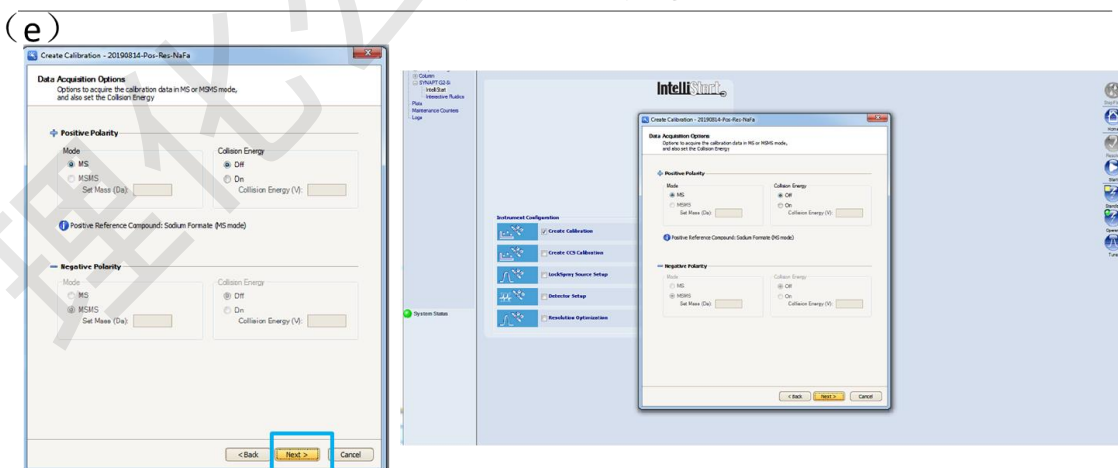
2. 勾选 Display report 和 Make the calibration profile active 选项
3. 点击 Next, 进入下一步点击 Calibration profile editor 显示图 2.9(e);

- 图 2.9(e): 点击 Next, 进入下一步。进入图 2.10 操作步骤。





1. Calibration to perform: 至勾选resolution模式，去掉其他分辨率模式
2. 勾选display report 和make the calibration profile active选项
3. 点击next，进入下一步



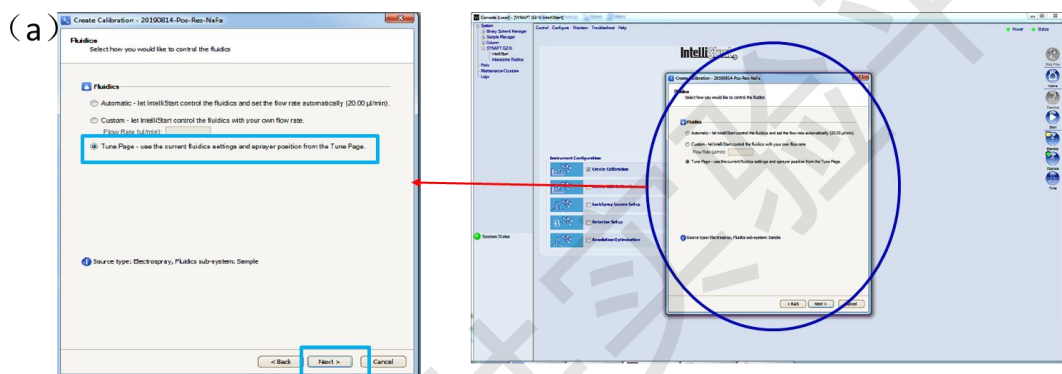
点击next，进入下一步

图 2.9 质量轴调谐文件操作

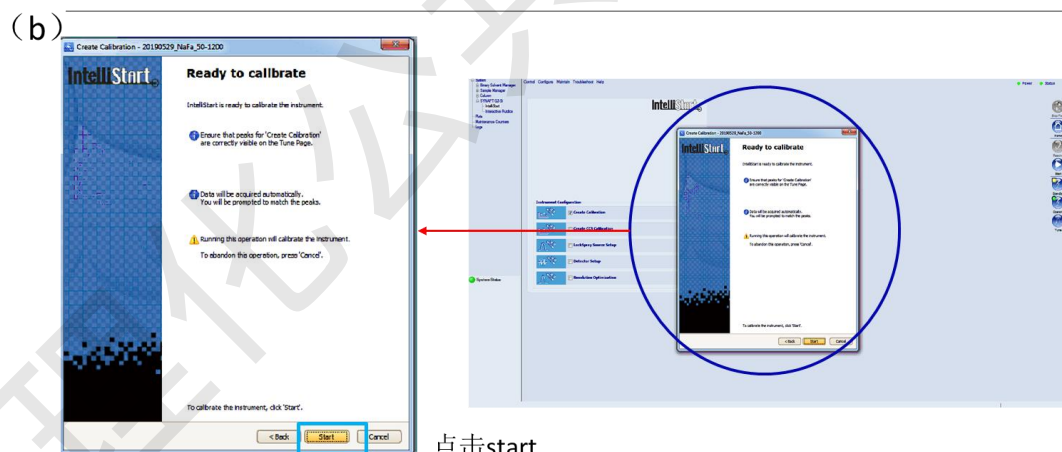
图 2.9(e)操作完成后, 请按图 2.10(a)-2.10(e)显示进行如下操作:

- 图 2.10(a):选择 Tune page 选项, 点击 Next, 显示图 2.10(b);
- 图 2.10(b): 点击 Start 显示图 2.10(c);
- 图 2.10(c): 核实显示绿色进度条, 弹出显示图 2.10(d)调谐报告;
- 图 2.10(d): 1. 核对数值均< 1 ppm; 2. 点击对号进行确认显示图 2.10(e);
- 图 2.10(e): Create calibration 选项前出现绿色对勾。

至此完成Create calibration操作。



选择tune page选项, 点击next, 进入下一步



点击start

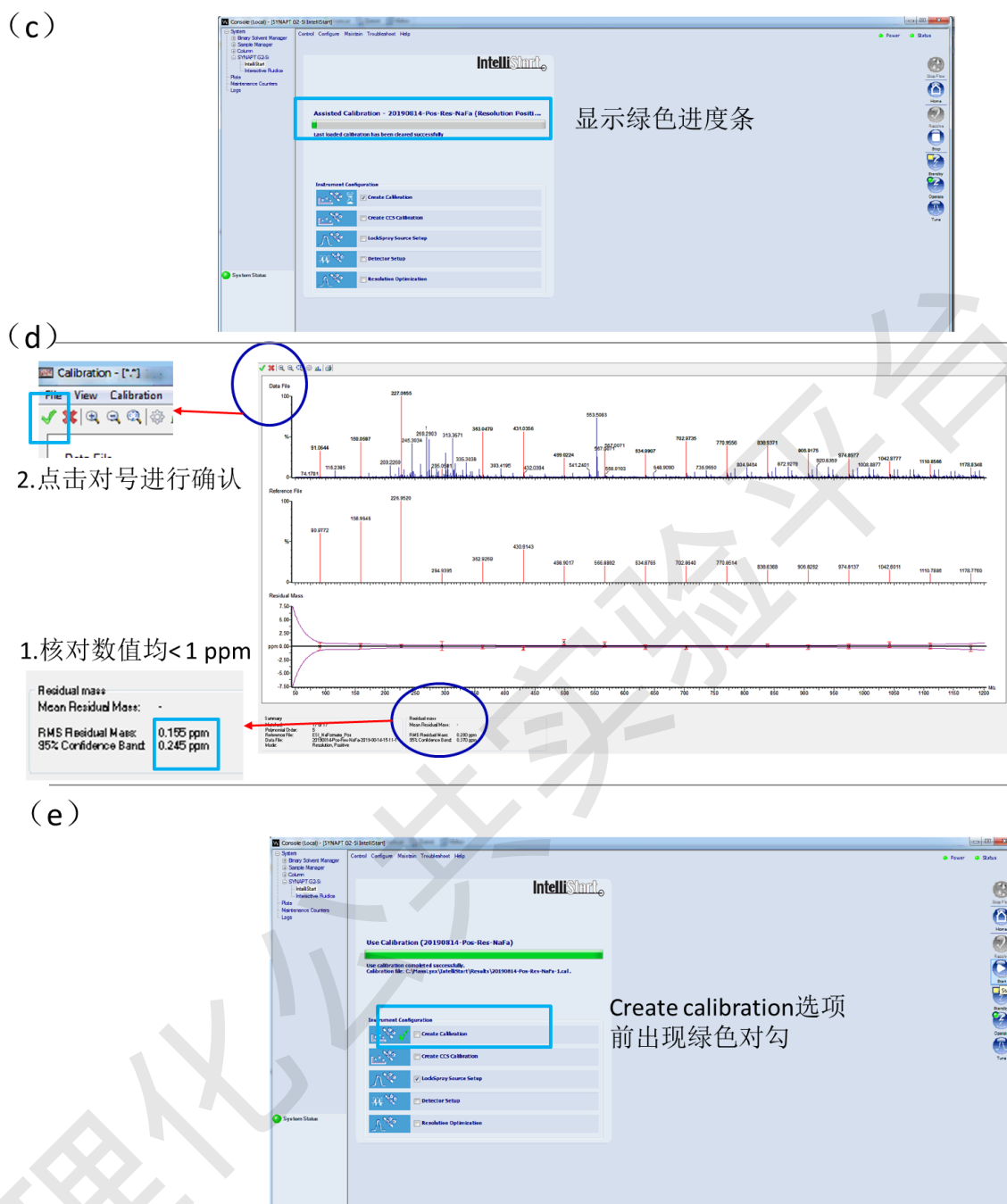


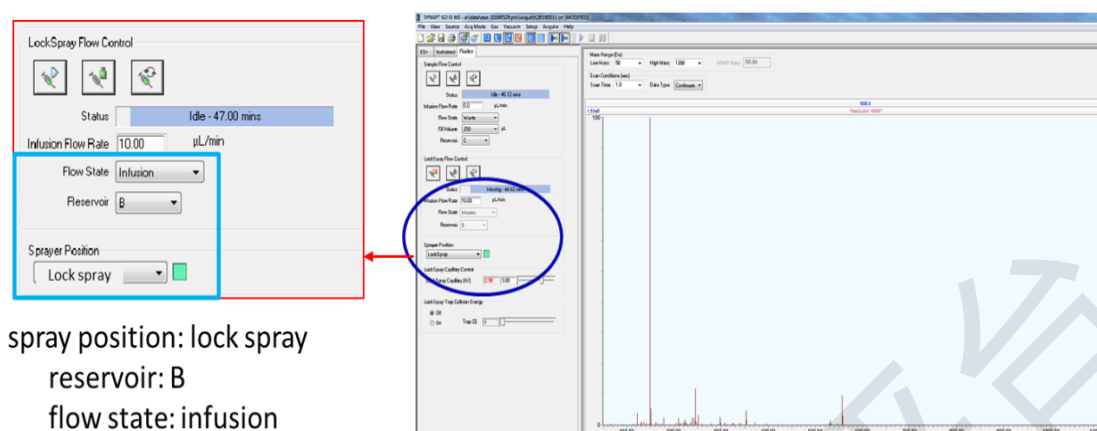
图 2.10 质量轴调谐文件操作

7.4. LockSpray source setup

完成 Create calibration 校正后, 返回到在 MS 操作界面(图 2.11)在 **Sample flow control** 操作栏, 先点击 **Stop infusion**, 随后按以下步骤进行 Lockspray source setup 校正。

Step1: 在 MS 操作界面, Fluidics 选项下, 查看 Lockspray control, 选择 Spray position: **Lock spray**; Reservoir: **B**, Flow state: **Infusion**, 点击 Lockspray 下的 **Start infusion**。

注：质谱图在 $m/z=556.2771$ 附近出现质谱峰。



spray position: lock spray
reservoir: B
flow state: infusion

图 2.11 MS 操作界面

Step2: 建立 Lockspray 质量轴调谐文件并运行。回到在 MS Console 界面(如图 2.12)

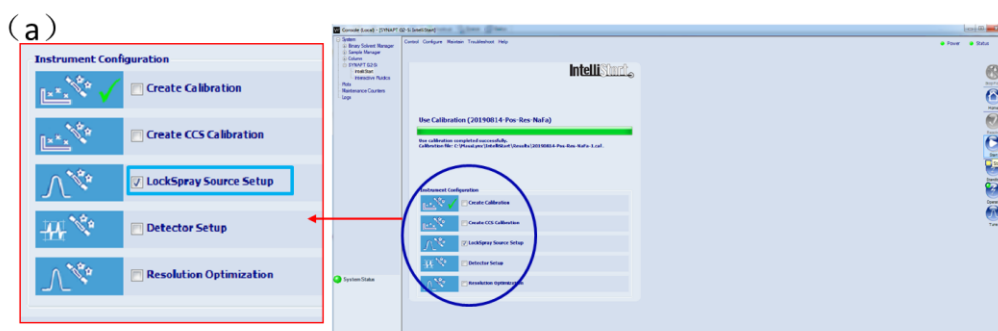
请按图 2.12(a)-2.12(f)显示进行如下操作：

- 图 2.12(a): 勾选 LockSpray source setup 选项并点击 Start 按钮，显示图 2.12(b)；
- 图 2.12(b): 点击 Next,进入下一步，显示 2.12(c)
- 图 2.12(c): 点击 Lockspray profile editor，显示图 2.12(d)；
- 图 2.12(d): 选择 File - New，新建文件，显示图 2.8(e)；
- 图 2.12(e): (1)输入文件名，(2)选择 Reference compound 子菜单下的 Leucine enkephalin 选项，(3)根据自己样品测试需求，选择 Positive polarity 或者 Negative polarity 下的勾选正/负离子模式下的 LE 精确分子量(正离子：556.2771，负离子：554.2615) (4)点击 OK 进入下一步，显示 2.12 (f)；

注：文件名命名原则：日期-离子模式-分辨率模式-调谐溶液

离子模式与分辨率模式均须与 2.1 中的选择一致，以正离子，分辨率模式，调谐溶液为亮氨酸脑啡肽为例，命名文件名为：20190814-Pos-Res-LE

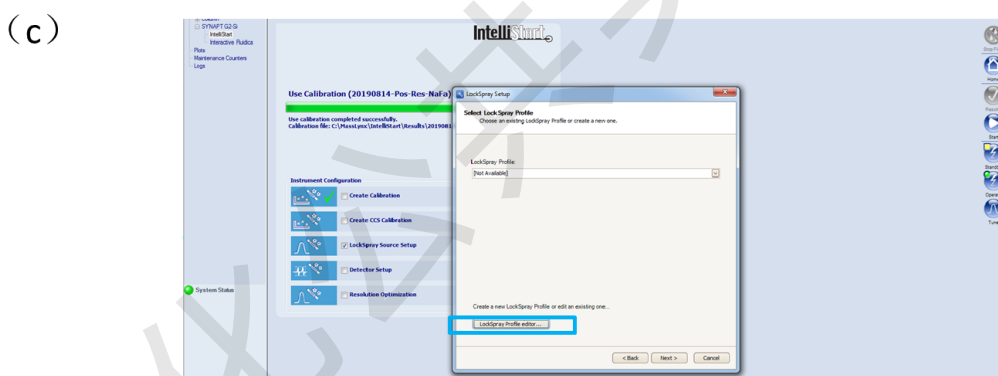
- 图 2.12 (f)：点击 Next, 进入下一步，显示图 2.13.



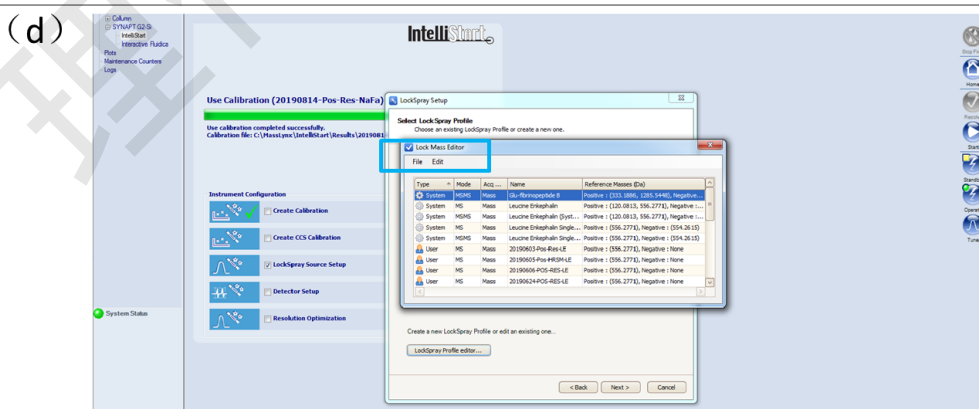
勾选Lockspray source setup选项



点击next,进入下一步



点击Lockspray profile editor



File-new 新建lockspray校正文件

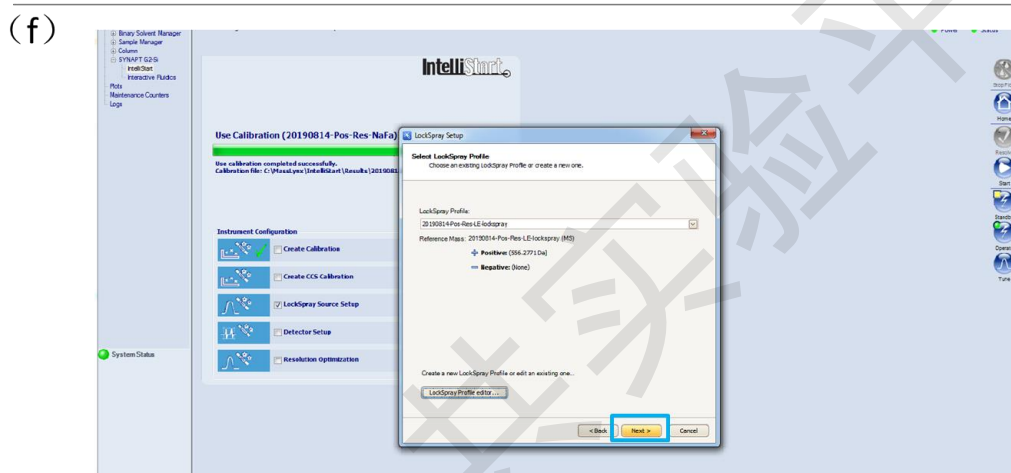
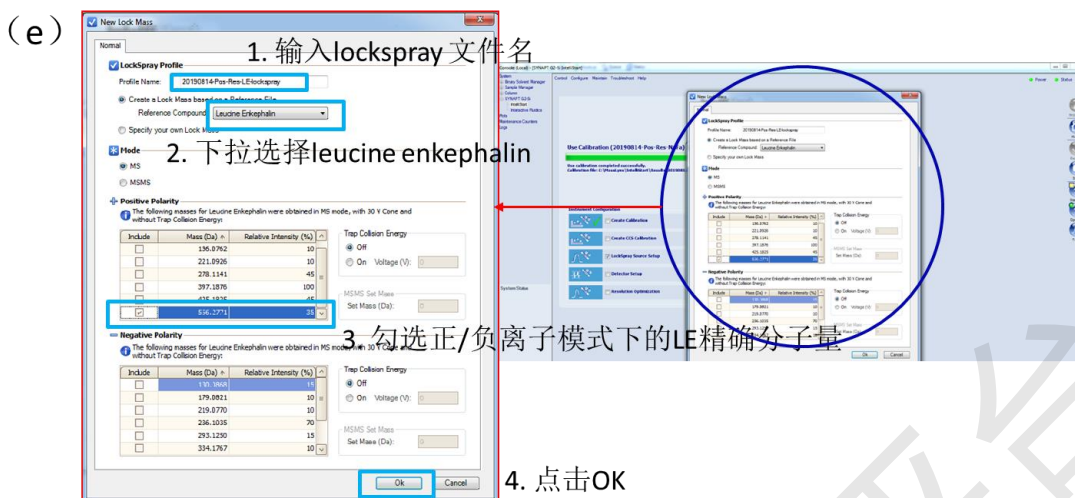
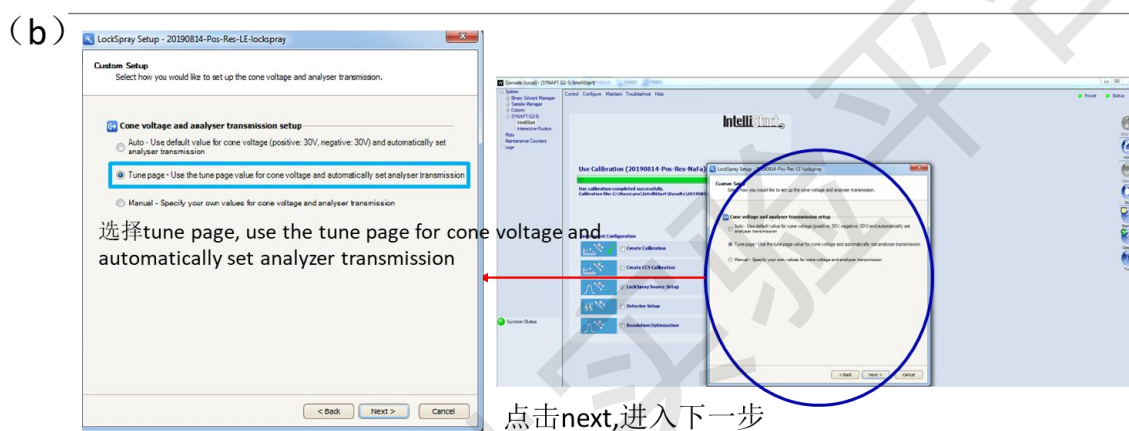
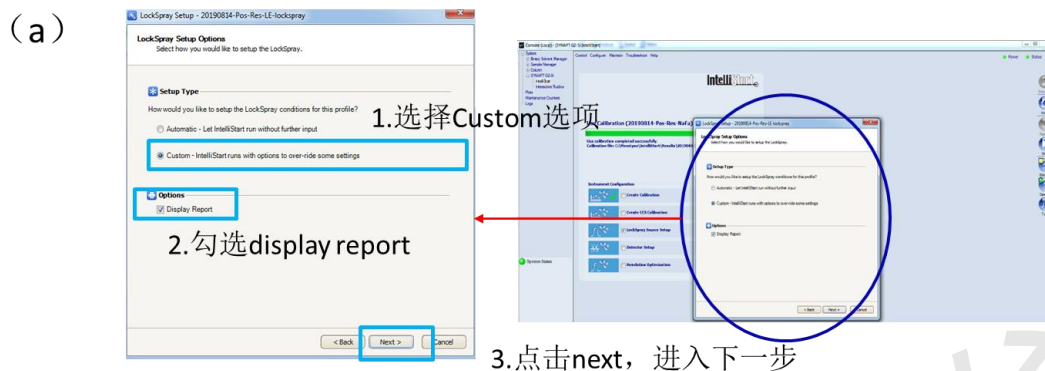


图 2.12 Lockspray 调谐文件操作

完成图 2.12(f)操作后, 请按图 2.13(a)-2.13(e)显示进行如下操作:

- 图 2.13(a):选择 Custom 选项, 勾选 Display report, 点击 Next, 显示图 2.13(b);
- 图 2.13(b): 选择 Tune page, use the tune page for cone voltage and automatically set analyzer transmission, 点击 Next, 显示图 2.13(c);
- 图 2.13(c): 选择 Tune page, use current fluidics settings from the Tune Page, 点击 Next, 显示图 2.13(d);
- 图 2.13(d): Lockspray 校正进度条显示绿色;
- 图 2.13(e): Lockspray 校正报告弹出, 出现对勾。

至此完成 Lockspray 操作。



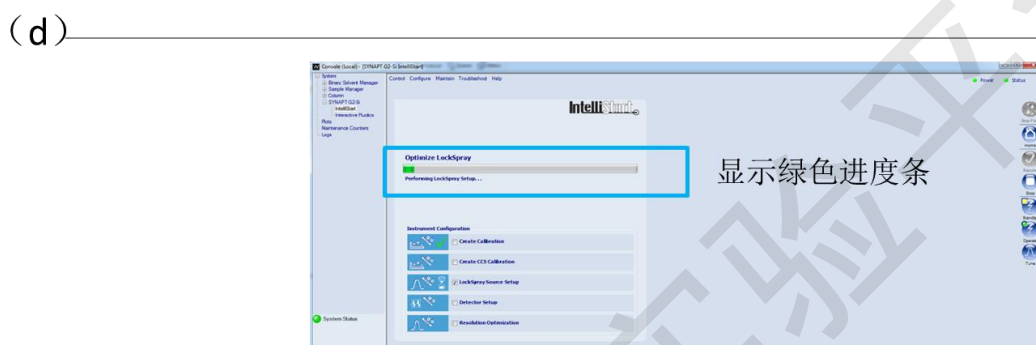
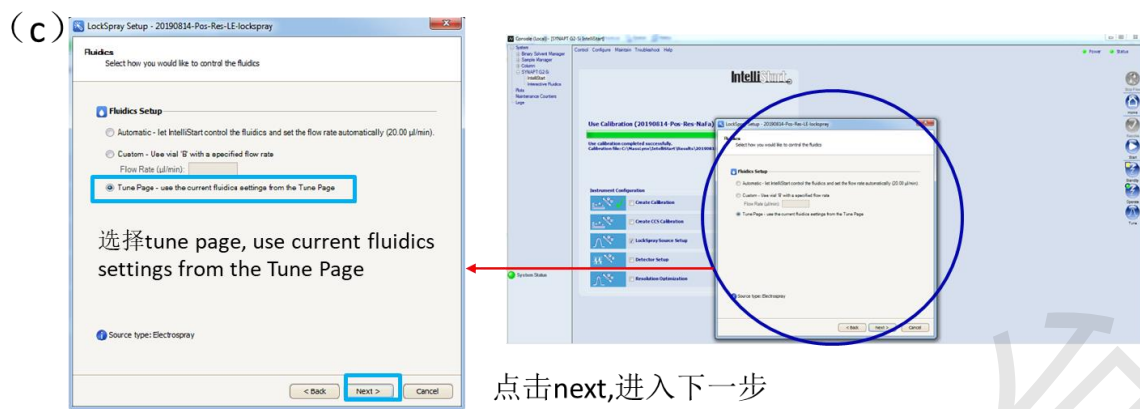


图 2.13 Lockspray 调谐文件操作

7.5. 灌注操作

7.5.1 溶剂管理器灌注操作

Setp1: 在 MS Console 界面, 点击 Binary solvent manager 选项, 显示 3.1 界面, 自上而下显示系统压力(System pressure), 流速(Flow rate), 流动相 A 比例, 流动相 B 比例, Prime A, Prime B 等二元溶剂管理器状态。

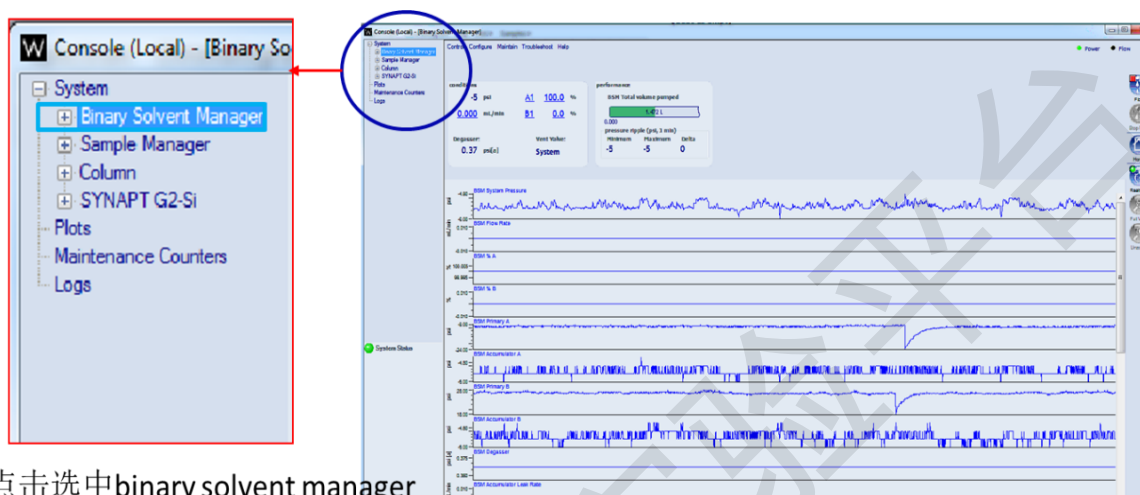


图 3.1 MS console 操作界面

Setp2: 选择 Control - Prime A/B solvents 操作(图 3.2(a)), 弹出对话框(图 3.2(b)), 勾选流动相 A, B, 设置时间 2-4 min, 点击 Start。二元流动相开始运行, Binary solvent manager 显示 Priming 提醒。

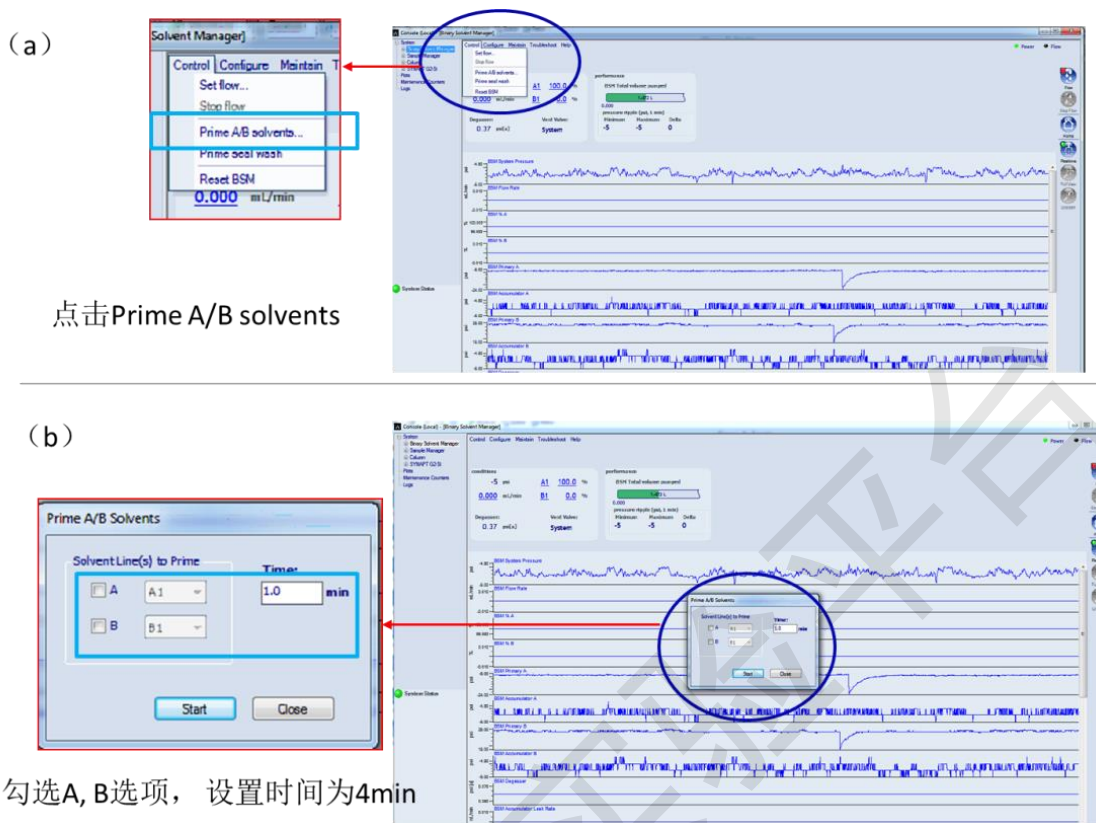


图 3.2 二元溶剂管理器灌注操作

7.5.2 样品管理器灌注操作

Step1: 在 MS Console 界面, 点击 **Sample manager** 选项, 显示 3.3 界面, 自上而下显示系统压力 (System pressure), 流速 (Flow rate), 流动相 A 比例, 流动相 B 比例, Prime A, Prime B 等二元溶剂管理器状态。

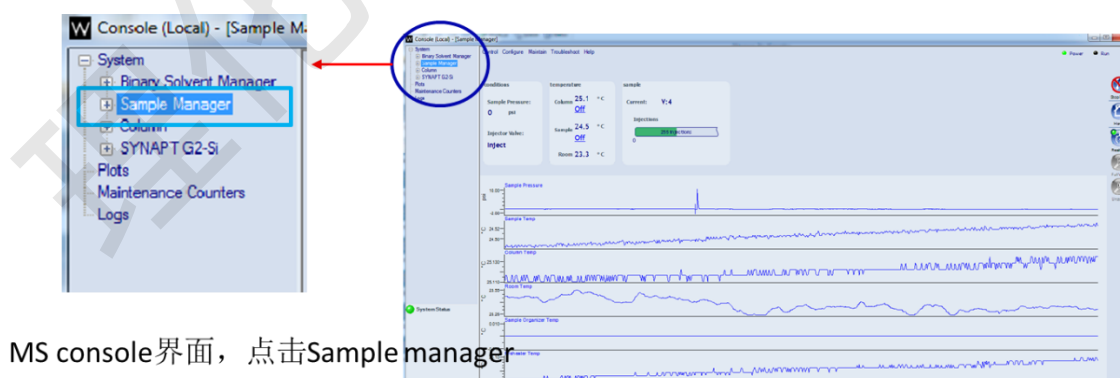


图 3.3 MS console 操作界面

Setp2: 选择 **Control - Prime syringes** 操作(图 3.4(a)), 弹出对话框(图 3.4(b)), 选择 **Sample**

syringe and wash syringes, 设置循环次数为 2 次, 点击 OK。溶剂管理器开始启动灌注操作, Sample manager 显示 Priming 提醒。

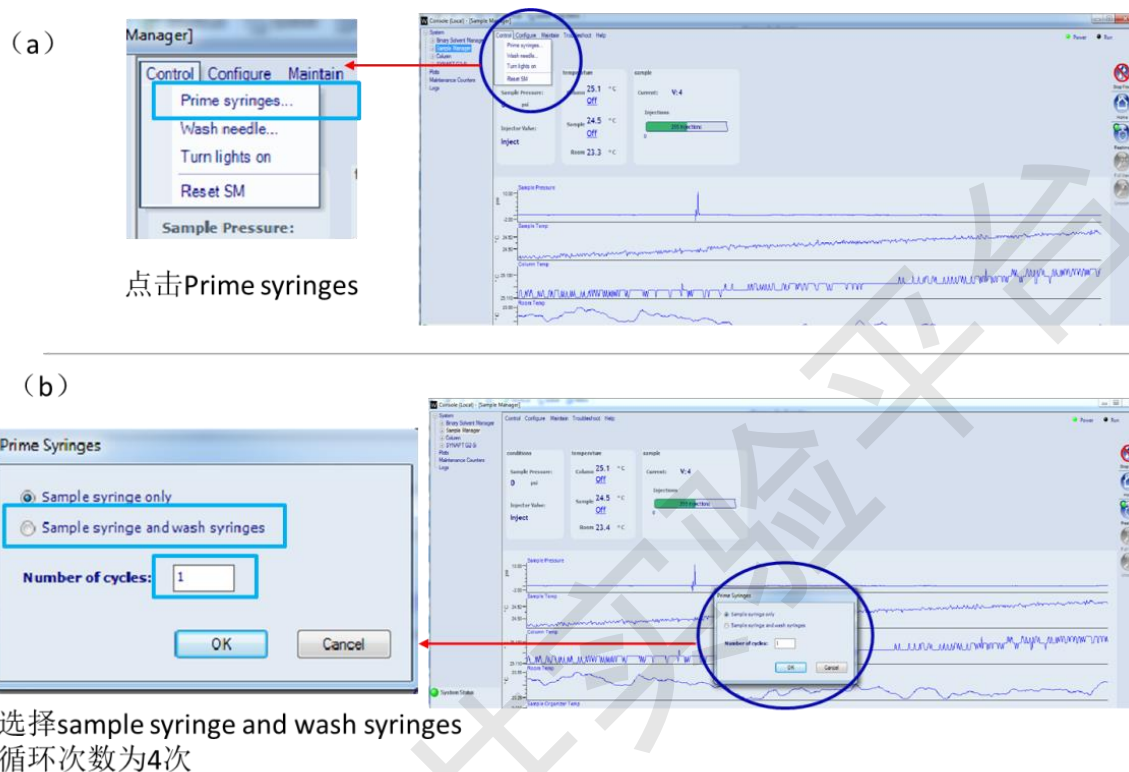


图 3.4 溶剂管理器灌注操作

7.6. 项目序列文件

回到已新建项目的 Masslynx 主界面, 新建项目后显示空白序列 (如图 4.1) (每一行空白称为一个序列), 每一行序列共包含: 序列编号, File name, File text, MS File, Inlet File, Bottle, Inject volume 和 Control 共 8 列。选择序列, 右键, Add, 可在当前基础上增加数个序列, 序列编号是默认的, 将连续增加。

- File name: 必填项, 文件名称, 即某一样品测试所有结果的总文件命。
- File text: 选填项, 可输入样品名称或编号等信息;
- MS File: 必填项, 质谱方法文件;
- Inlet File: 必填项, 色谱方法文件;
- Bottle: 必填项, 样品瓶位置;
- Inject Volume: 必填项, 注入体积;

- Control: 选填项。

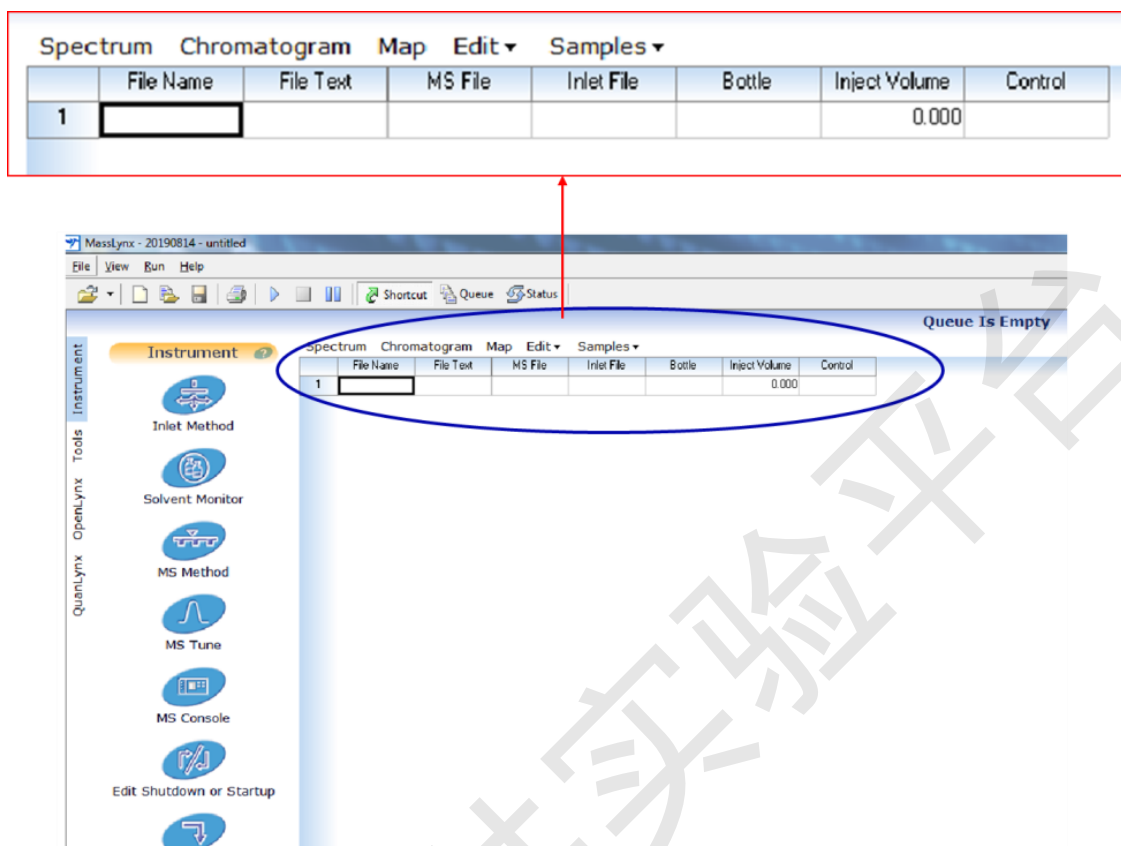


图 4.1 Masslynx 操作界面主页

7.6.1 文件名(File name)

Step1: 如图 4.1, 在 Masslynx 操作界面主页, 选中 File name 下方空格, 双击至显示光标, 即可输入文件名。

- 命名原则: 导师姓名首字母-个人首字母-日期-样品编号-测试序号

例如: 张三老师李四的样品, 测试时间为 2017 年 6 月 15 日, 样品编号为 sm1, 进行第一针测试, 那么文件命设为: ZS_LS_20170615_sm1_01

- 进行二次测试, 则增加另一序列, 文件名为 ZS_LS_20170615_sm1_02, 以此类推。

注: 每个序列, 只能进行一次测试, 同一样品, 进行两次测试, 需重新添加序列。

- 选中该序列, 右键, add, 可增加若干实验序列, 默认添加的序列, File name, Bottle 的编号, 以数字结尾的, 系统自动按数字或样品瓶序列进行增加。

7.6.2 建立色谱方法文件(Inlet File)

✧ 不接色谱柱，直接进样的用户，请右键-browse，选择默认的液相方法文件（default_课题组负责人姓名全拼_LC），调用该默认文件后，右键 edit,弹出液相方法对话框，如图 4.4，直接 load 方法。

注：Load 液相方法后，溶剂管理器开始运行，待 Console 界面，溶剂管理器系统压力差 < 30-50 psi，流动相初始比例达到平衡。

✧ 其他用户可参看以下方法进行色谱方法新建。

Step1: 如图 4.2，在 Masslynx 操作界面主页，选中 Inlet Name 下方空格，右键, Edit, 弹出 Inlet method 对话框，请按 4.2(b)-4.2(d)进行如下操作：

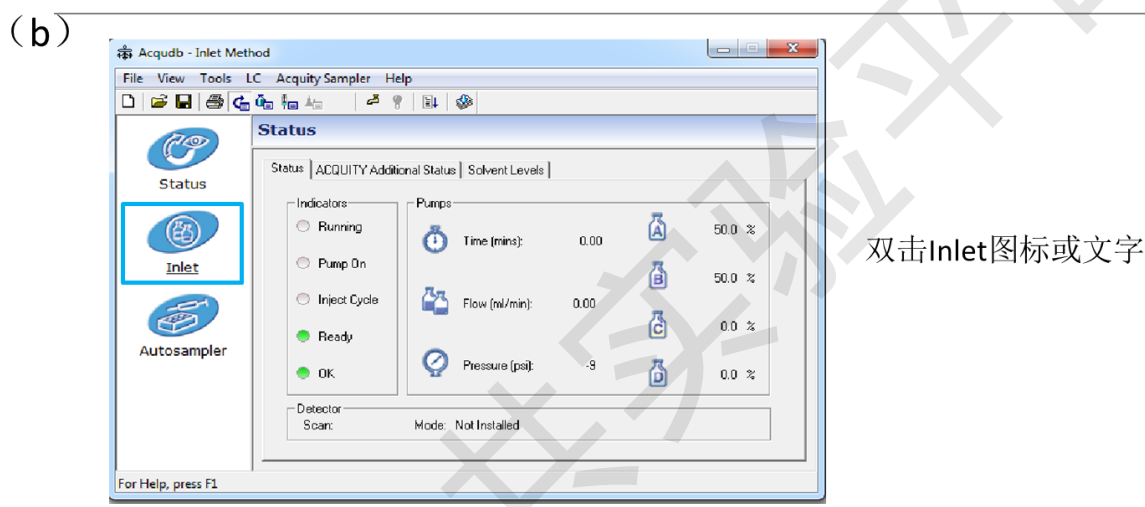
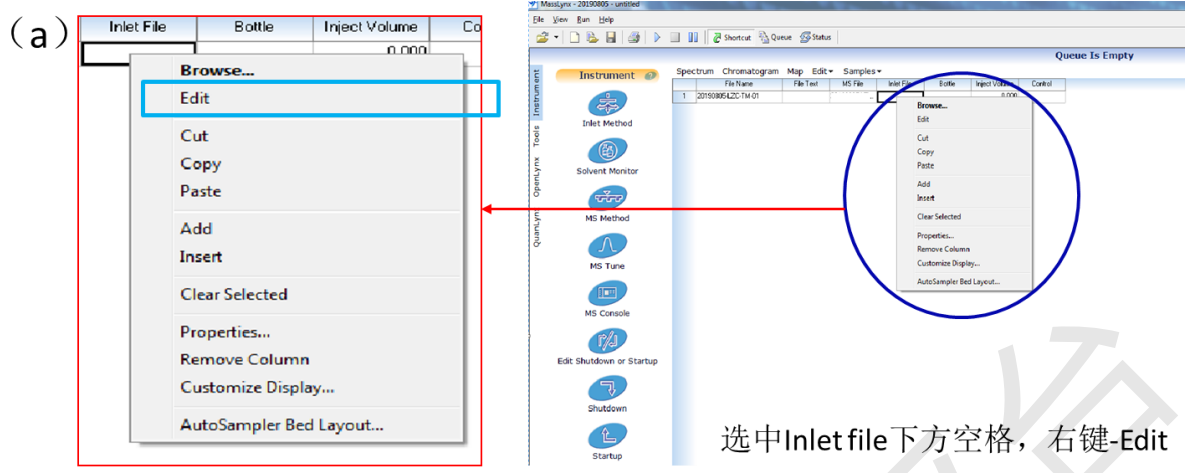
图 4.2(b): 双击 Inlet 图标或文字，显示图 4.2(c)；

注：请根据测试需求，进行图 4.2(c)或者图 4.2(d)操作

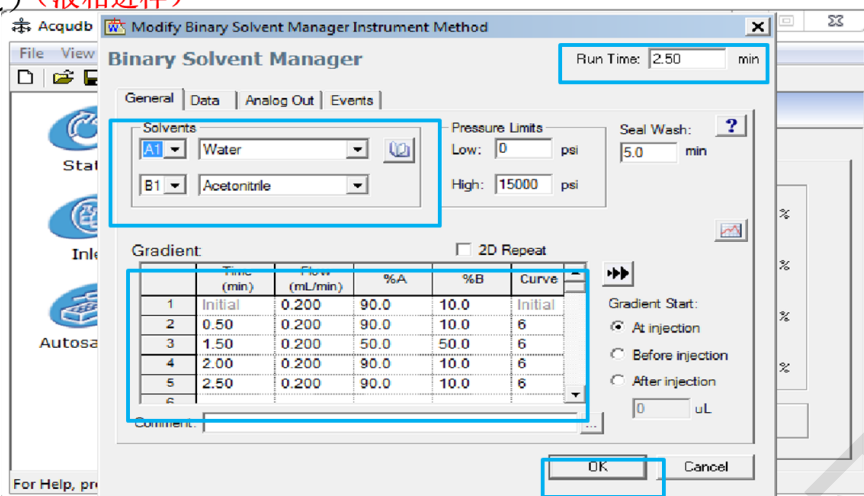
图 4.2(c) (过色谱柱分离): 共进行 4 项设置。①选择 A1,B1 流动相；②设置液相洗脱梯度；③设置液相运行时间 Run time；④点击 OK 选择；显示图 4.3。

图 4.2(d) (直接进样，不过色谱柱): 共进行 4 项设置。①选择 A1,B1 流动相；②设置液相等洗脱梯度；③设置液相运行时间 Run time；④点击 OK 选择；显示图 4.3。

注：Run time 与梯度洗脱时间一致。

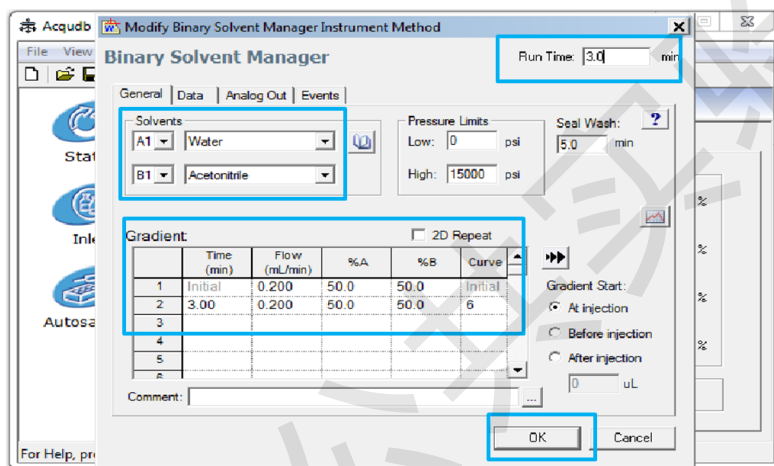


(c) (液相进样)



1. 选择A1,B1流动相
2. 设置液相梯度
3. 设置run time
4. 点击OK

(d) (直接进样)



1. 选择A1,B1流动相
2. 设置等梯度洗脱, 时间通常为3 min
3. 设置run time
4. 点击OK

图 4.2 色谱方法建立界面

Step2: 完成 4.2 操作, 点击 OK, 显示图 4.3, 请按图 4.3 进行如下操作:

图 4.3(b): 双击 Autosampler 图标或文字, 显示图 4.3(b);

图 4.3(d)(过色谱柱分离): 共进行 4 项设置。①选择弱洗和强洗溶剂; ②设置色谱柱柱温及样品箱温度; ③设置运行时间 Run time; ④点击 OK 选择; 显示图 4.4。

注: Run time 与液相洗脱时间一致。

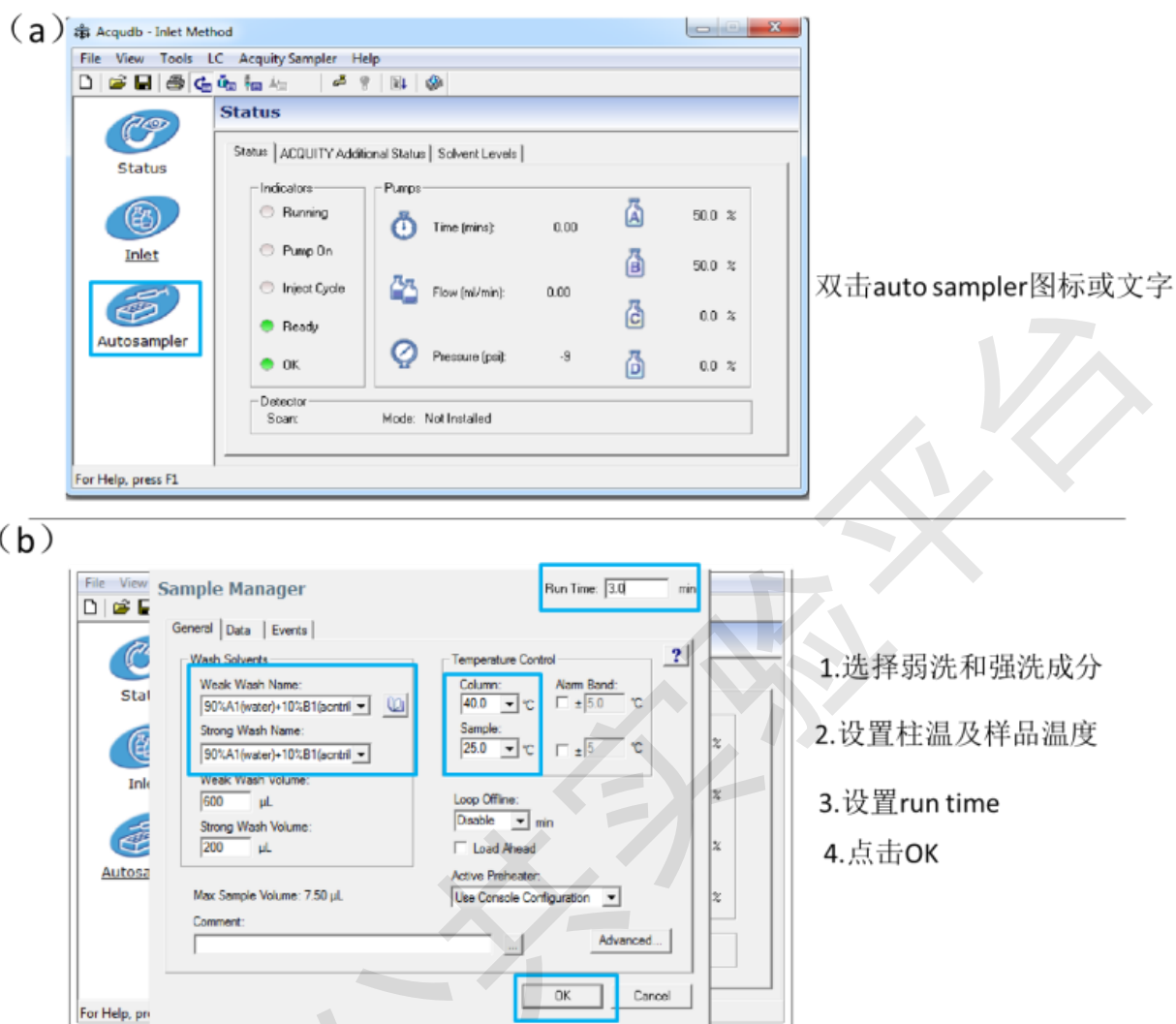


图 4.3 色谱方法建立界面

Step3: 完成图 4.3 操作，点击 OK，显示图 4.4，点击 File - Save，保存液相方法到新建的项目的 ACQUDB 文件夹下；保存完毕，点击 Load 图标，加载液相方法。

注：文件名命名：导师名首字母-测样人首字母-日期-样品-LC method

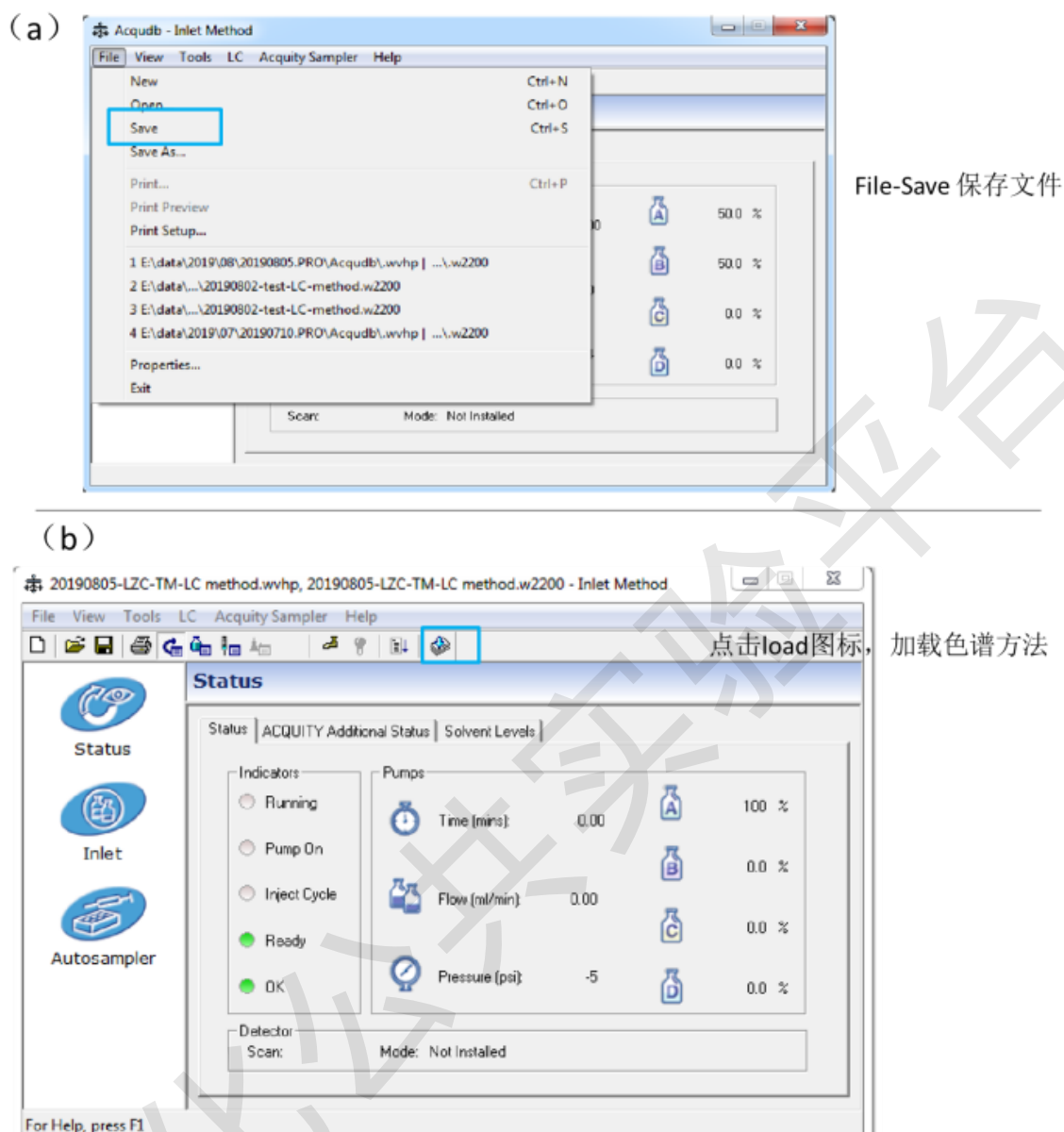


图 4.4 色谱方法建立界面

7.6.3 建立质谱方法文件(MS File)

✧ 不接色谱柱，直接进样的用户，请右键，Browse，选择默认的质谱方法文件，调用该默认文件后，右键 Edit,弹出质谱方法对话框，如图 4.6，修改质合比扫描范围，更新 Lockspray 选项的校正文件，保存方法进行使用。（参见图 4.6）

✧ 其他用户可参看以下方法进行质谱方法新建。

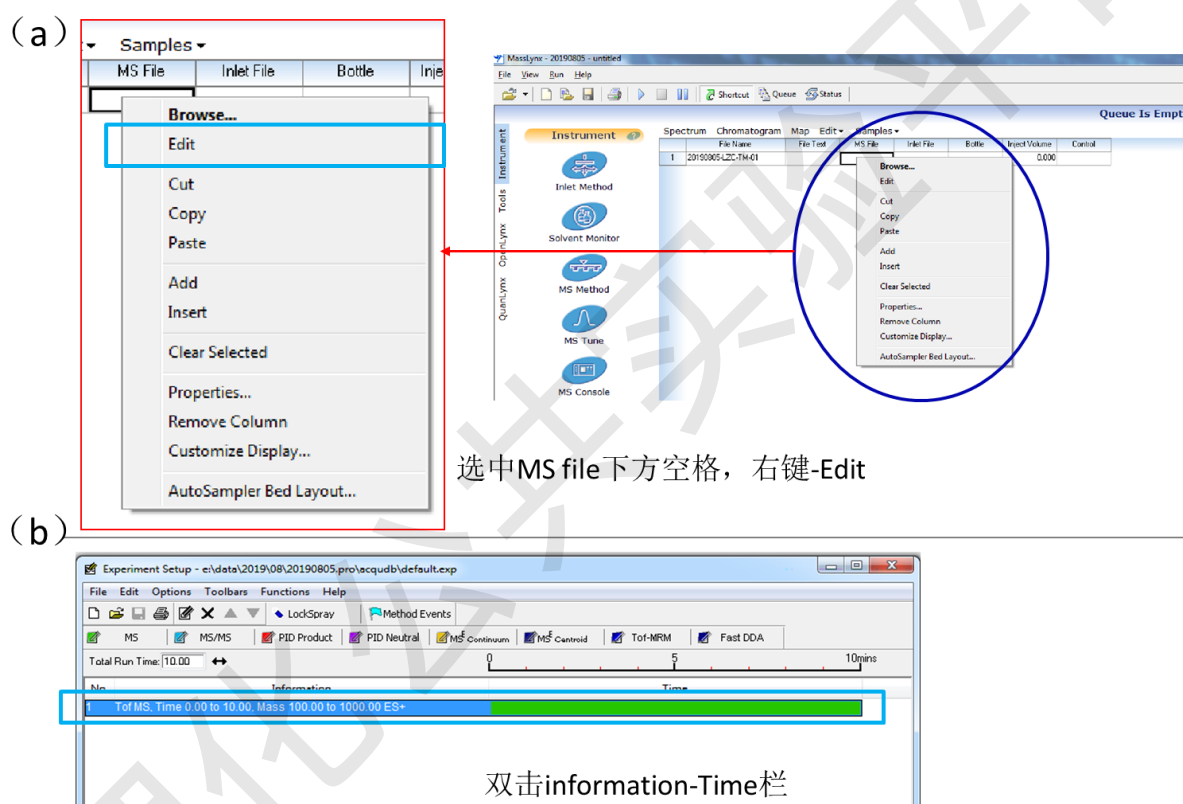
Step1: 如图 4.5，在 Masslynx 操作界面主页，选中 MS File 下方空格，右键，Edit，弹

出 Experiment setup 对话框, 请按 4.5(b)-4.5(e)进行如下操作:

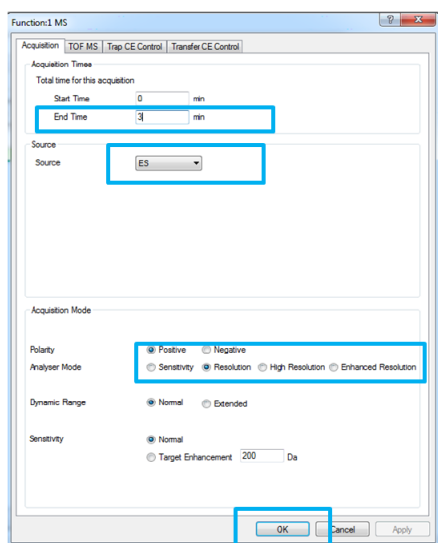
- 图 4.5(b): 双击 Information-Time 栏, 显示图 4.5(c);
- 图 4.5(c): 共进行 4 项设置。①设置数据采集总时间, 与液相方法一致; ②设置离子源种类: 电喷雾离子源; ③设置扫描模式: Polarity (离子极性), Analyzer mode(质量分析器模式); ④点击 OK 选择; 显示图 4.5(d)。

注: 扫描模式必须与质量轴校正(2.2)及 Lockspray 校正(2.3)选择的的模式一致。

- 图 4.5(d): 共进行 3 项设置。①设置扫描质荷比范围; ②设置设置扫描条件: Scan time 0.2 s; Data format: Continuum; ③点击 OK 选择; 显示图 4.5(e)。

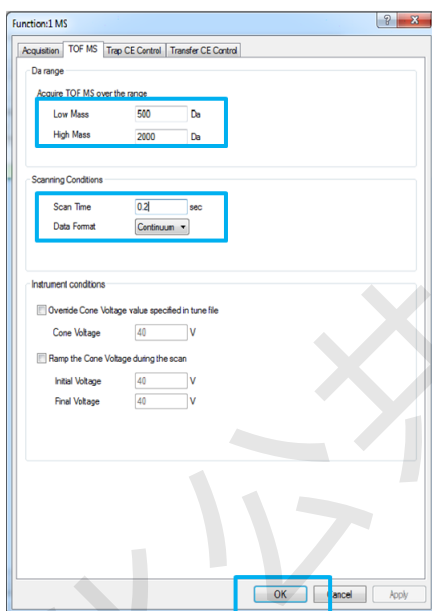


(c)



1. 设置数据采集总时间, 与液相方法一致
2. 离子源种类: 电喷雾离子源。
3. 扫描模式: polarity (离子极性), analyzer mode (质量分析器模式) 与 create calibration 及 lockspray 校正文件一致
4. 点击 OK

(d)



1. 设置扫描质荷比范围;
2. 设置扫描条件: scan time 0.2 s; data format: continuum
3. 点击 OK

(e)

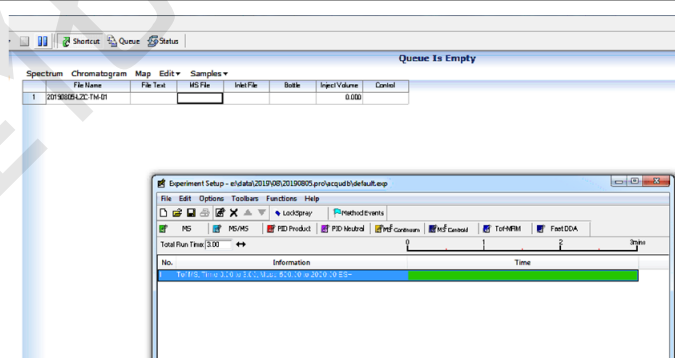
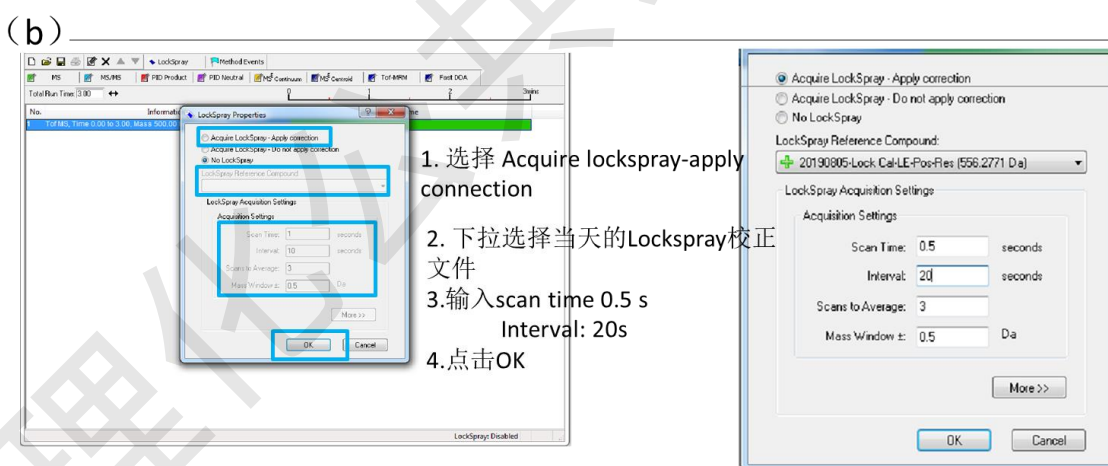
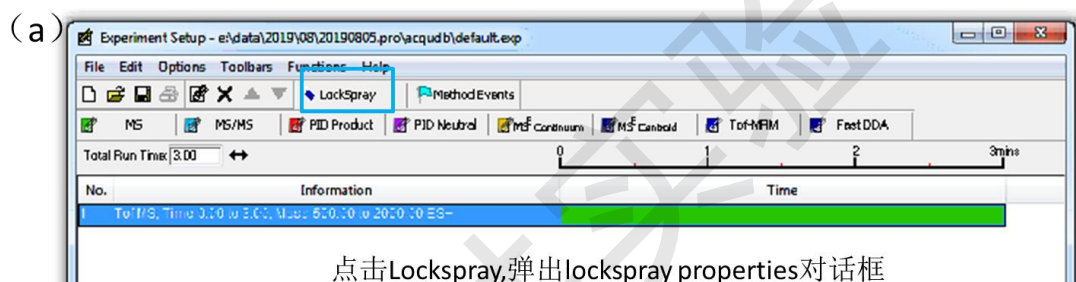


图 4.5 质谱方法建立界面

Step 2: 图 4.5 操作完成后, 按图 4.6 进行一下操作:

- 图 4.6(a): 点击 Lockspray, 弹出 Lockspray properties 对话框, 显示图 4.6(b);
- 图 4.6(b): 共进行 4 项设置。①选择 Acquire lockspray - Apply connection; ②下拉选择当天的 Lockspray 校正文件; ③输入 Scan time 0.5 s; Interval: 20s; ④点击 OK 选择; 显示图 4.6(c)。
- 图 4.6(c): 点击 Method events, 弹出 Method events 对话框, 显示 4.6(d);
- 图 4.6(d): 勾选 Enable, 点击 OK 选择; 显示图 4.6(e);
- 图 4.6(e): 点击 File - Save, 保存液相方法到新建的项目的 ACQUDB 文件夹下。

注: 文件名命名: 日期-导师名首字母-测样人首字母-样品-MS method。



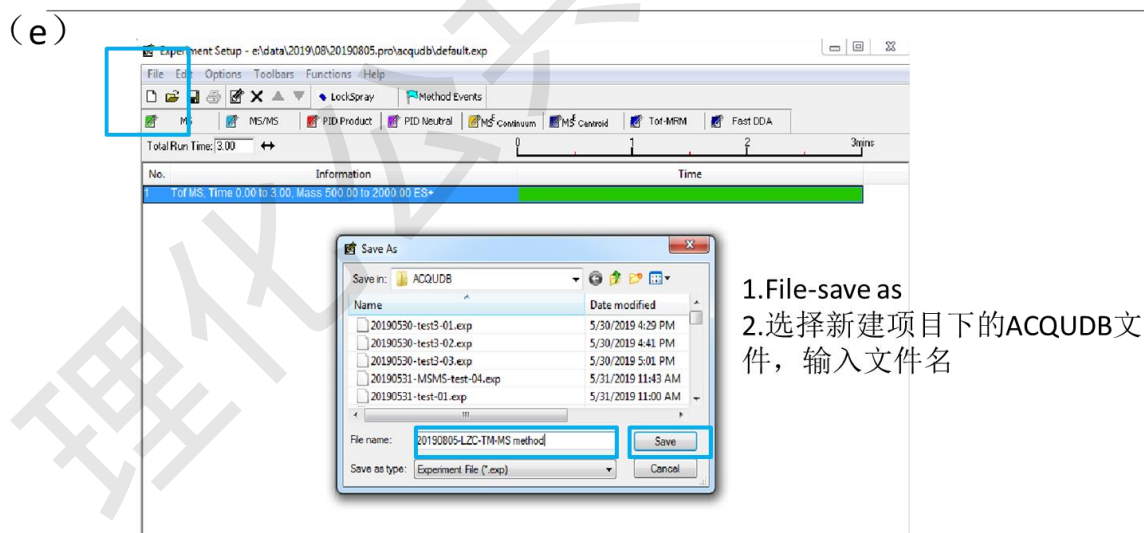
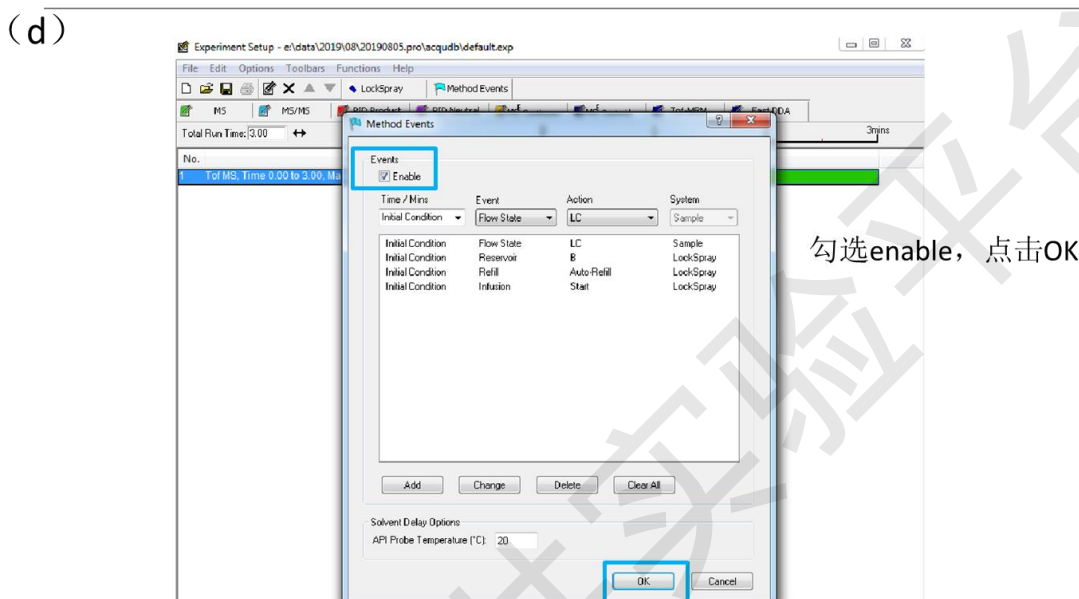
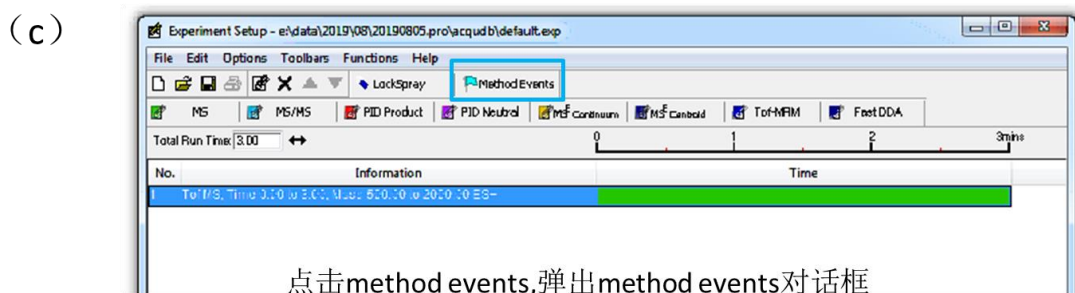


图 4.6 质谱方法建立界面

7.6.4 选择色谱、质谱方法

回到 Masslynx 主页，在 Masslynx 操作界面主页，选中 Inlet File (或 MS file)下方空

格, 右键, Browse, 选择 4.2, 4.3 步骤中建立的色谱及质谱方法文件。

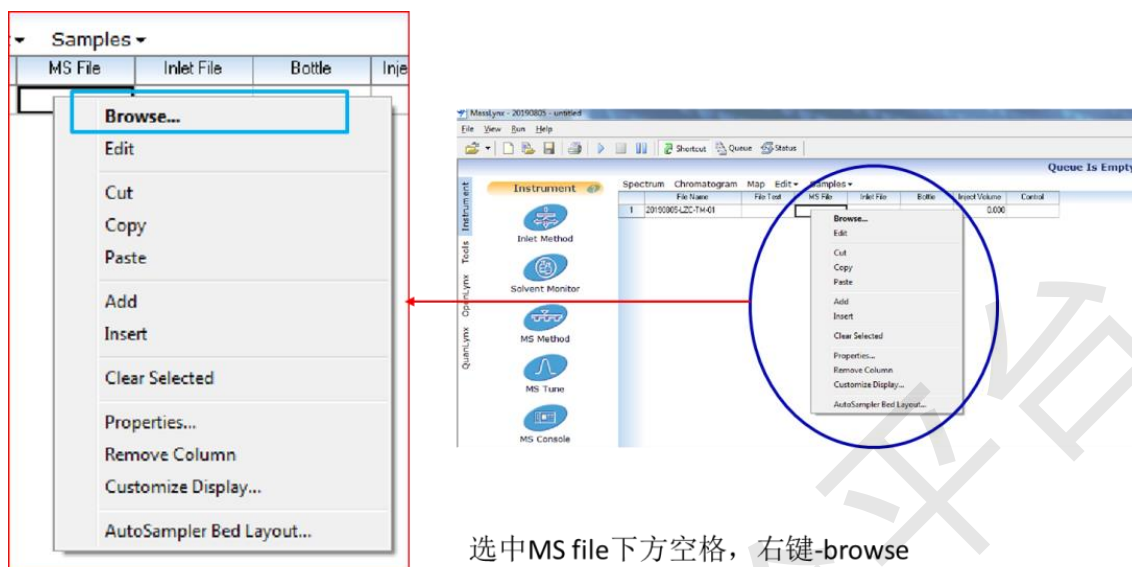


图 4.7 选择方法操作界面

7.6.5 样品位置选择(Bottle)

图 4.8 是自动进样样盘实物图。样品盘规格为 6*8, 以缺角至于左上角为正向, 放置在样品管理器中, 每个样品管理器共有两个。

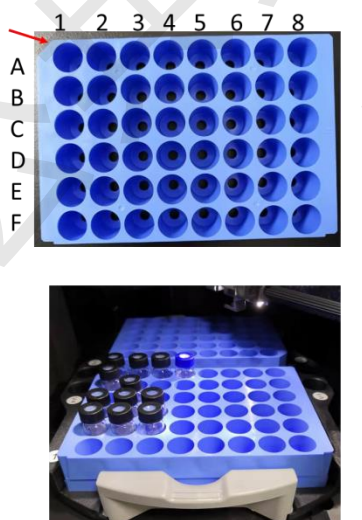


图 4.8 选择方法操作界面

样品瓶位置有两种输入方法, 操作如下:

手动输入: 选中 Bottle 下方空格, 双击至出现光标, 输入格式如下

样品盘:行标, 列标

例如:1 号样品盘, A 列, 2 号位, 则输入: 1:A,2

自动输入: 选中 Bottle 下方空格, 右键-Auto Sampler Bed Layout, 出现样品盘选择器(图 4.9 (b))。根据自己放置的样品盘位置, 首先选中样品盘, 然后点击行标列标的具体位置, 最后点击 Instead, 关闭窗口, 即可。

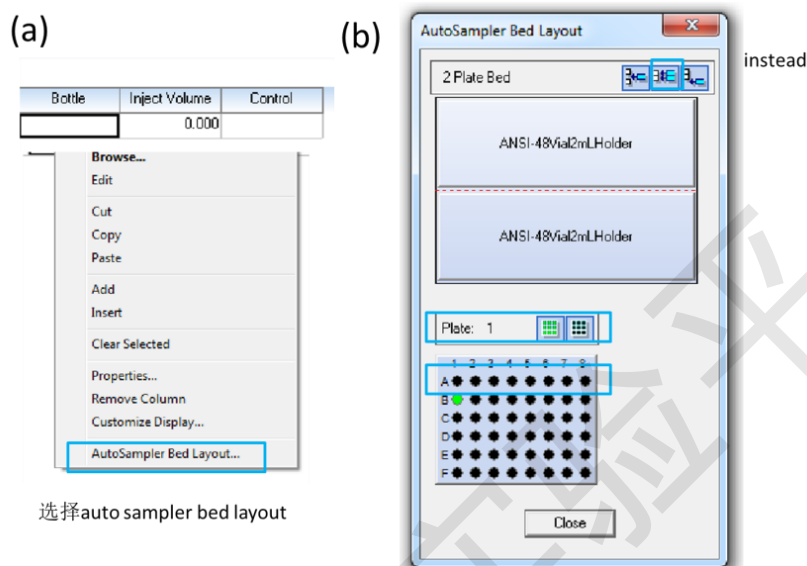


图 4.9 选择方法操作界面

7.6.6 注入体积(Inject Volume)

选中 Inject volume 下方空格, 双击至出现光标, 输入 2, 回车。

注: 单位为 ul。

7.7. 方法运行

Step1: 如图 5.1, 核对方序列中的方法和其他信息无误后, 保存序列。File - Save, 弹出 5.2 对话框。

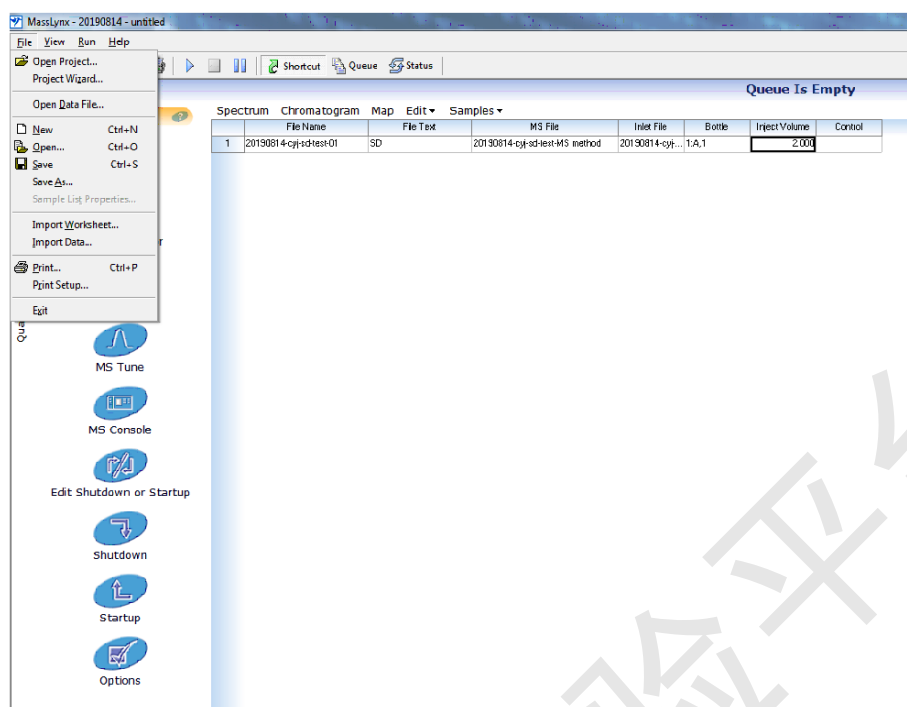


图 5.1 完成的方法序列保存界面

Step2: 如图 5.2, 保存方法序列名称, 一般以操作者姓名命名, 保存路径为当前项目中的 SampleDB 文件夹。序列保存结束, 在 Masslynx 主界面, 左上角显示 Project 和 sequence 名称, 如图 5.3 所示。

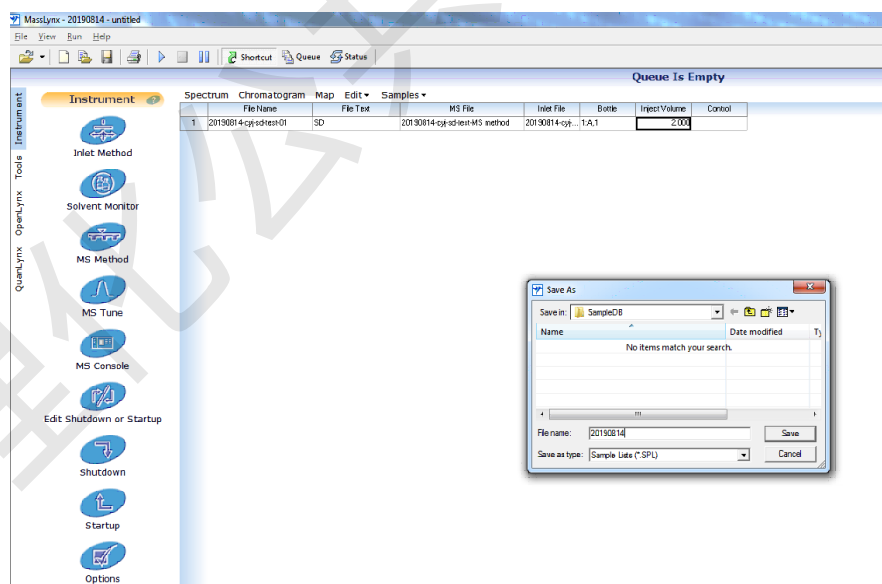


图 5.2 保存序列文件

Step3: 选中编辑好的序列, 点击三角形图标(Start run), 弹出 5.3 对话框。

注: 运行样品之前, 一定要先加载液相方法, Load 液相方法后, 溶剂管理器开始运行,

待 Console 界面，溶剂管理器系统压力差 < 30-50 psi，流动相初始比例达到平衡。

)

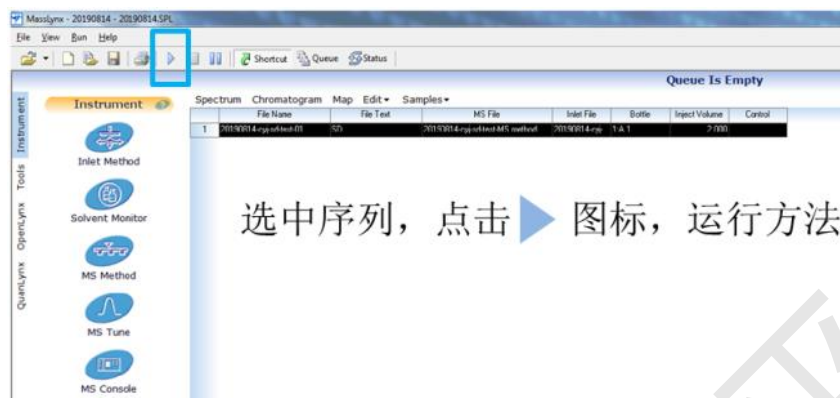


图 5.3 运行序列文件

Step4: 点击 Start run，弹出 Start sample list run，显示要运行的序列编号范围，确认无误，点击 OK。此时序列开始运行，当前运行的序列，有绿色进度显示。运行结束，绿色进度状态消失。

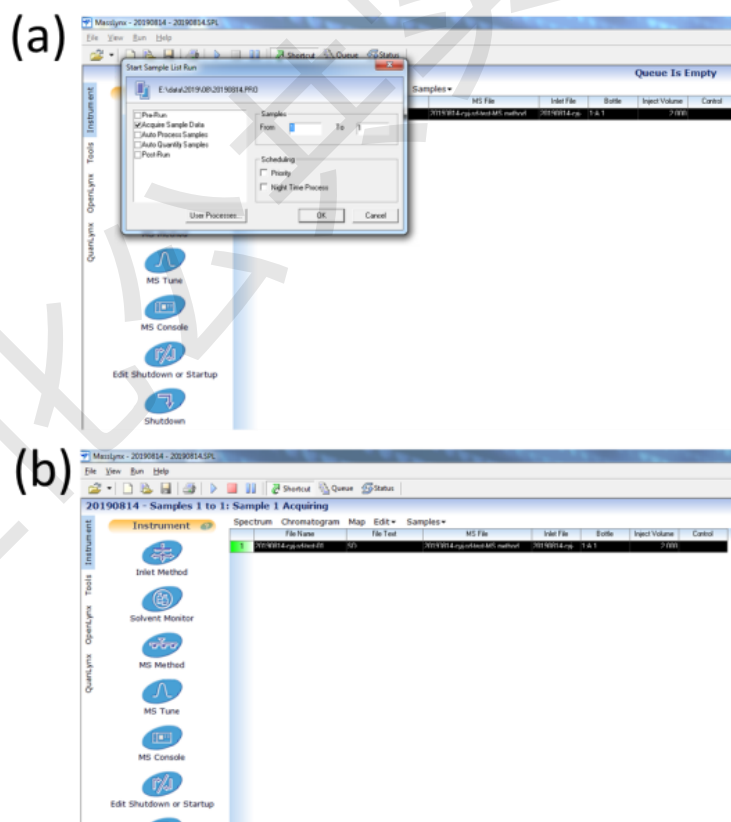


图 5.4 运行序列文件

7.8. 数据查看

7.8.1 查看色谱图

选中运行结束的序列，点击 Chromatogram。

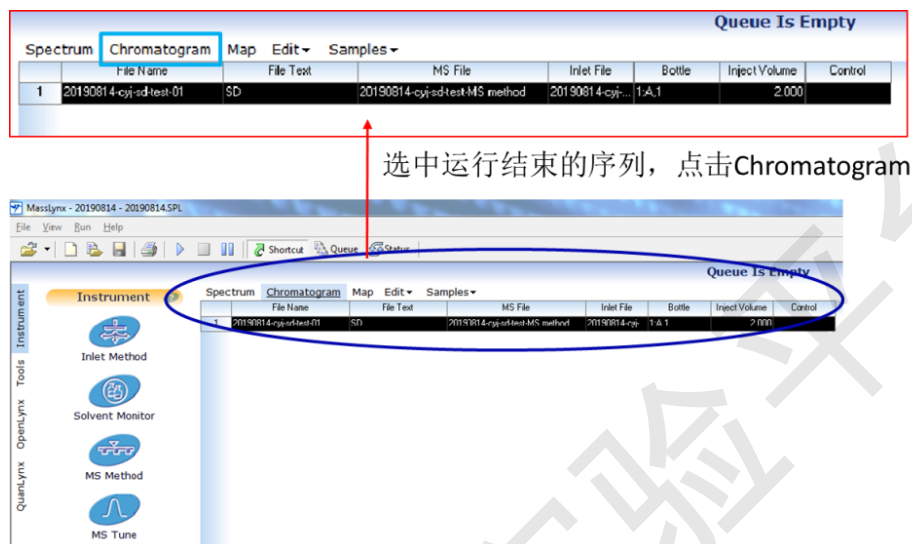


图 6.1 色谱图查看

7.8.2 查看质谱图

- 查看某保留时间处的质谱图：在色谱图上某点处双击。
- 查看某段保留时间的质谱图：在色谱图上，按住右键拖拽目标时间段即可。

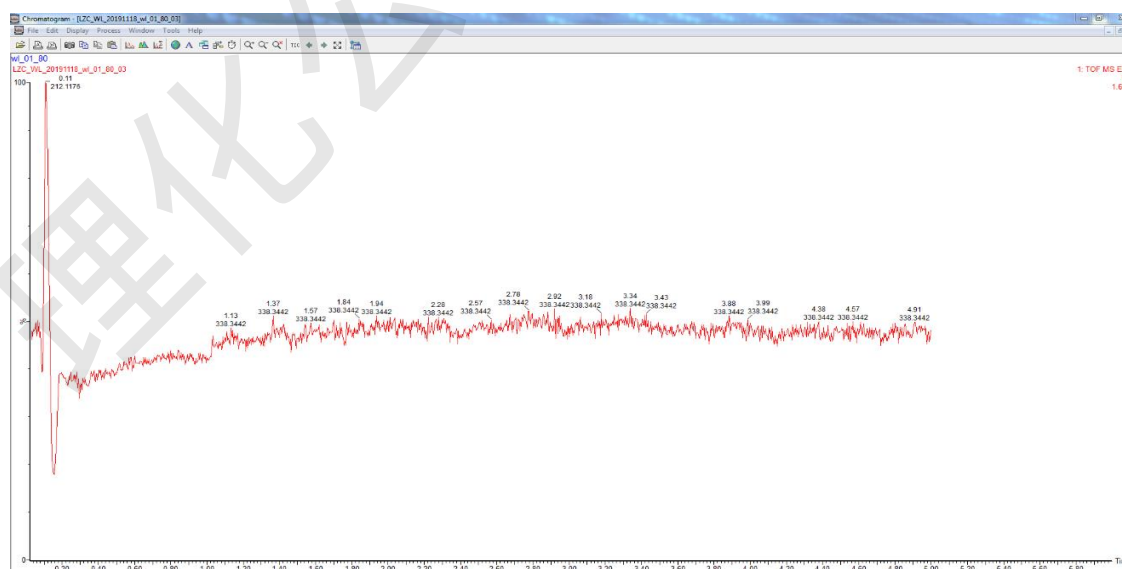
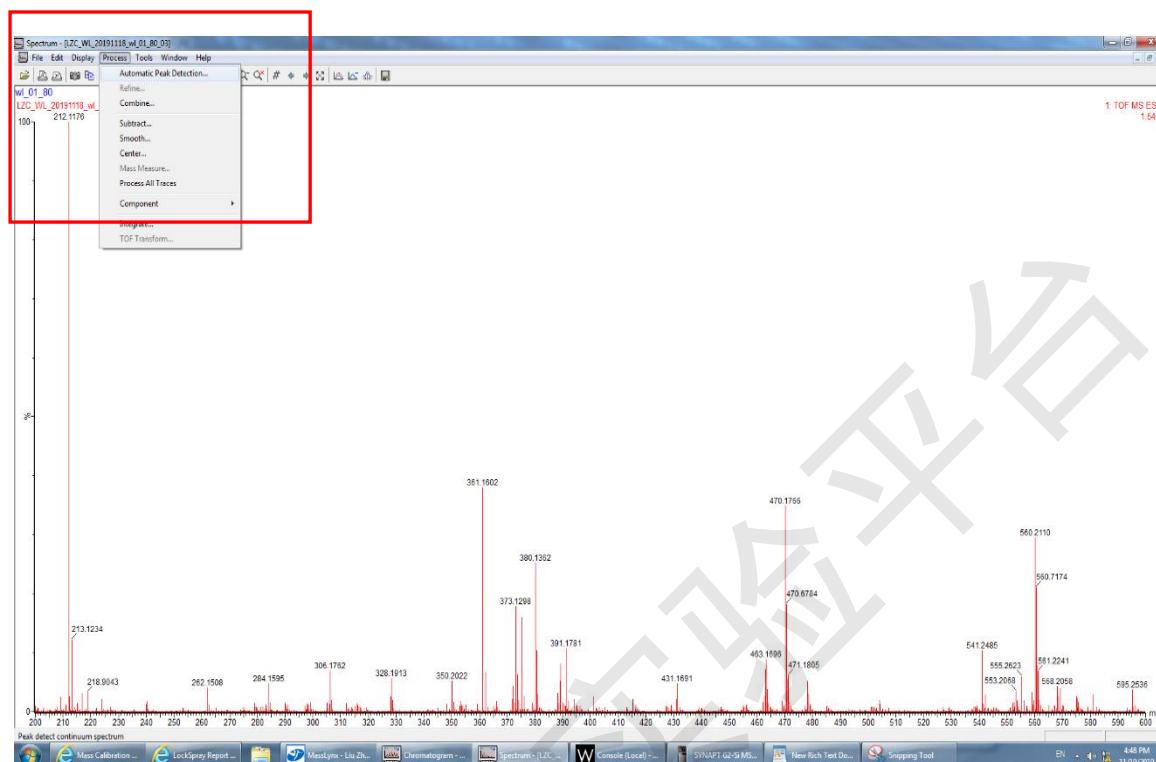
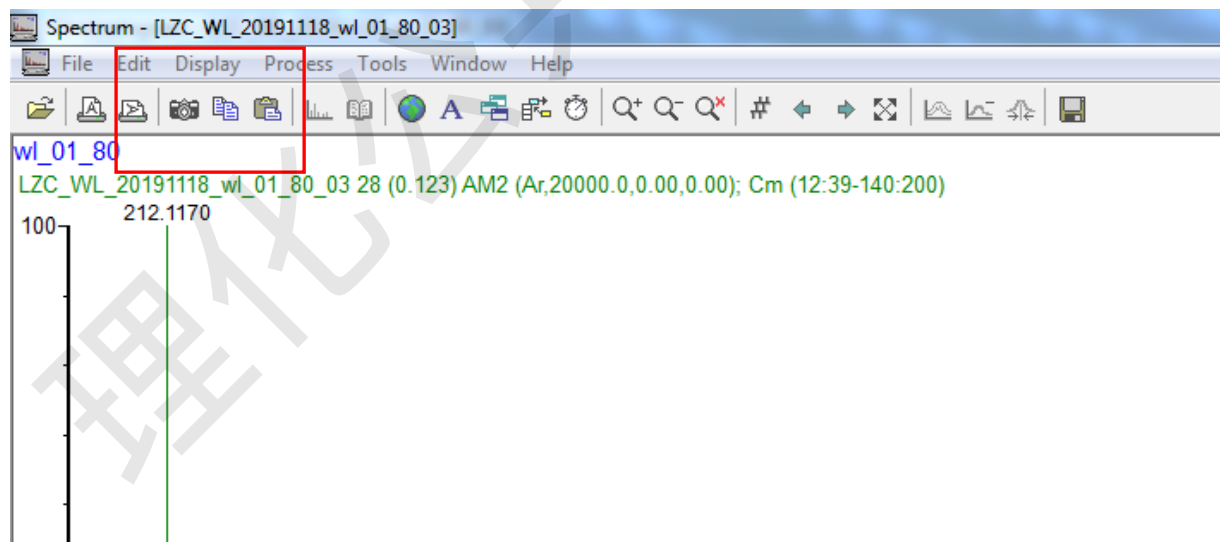


图 6.2 质谱图查看

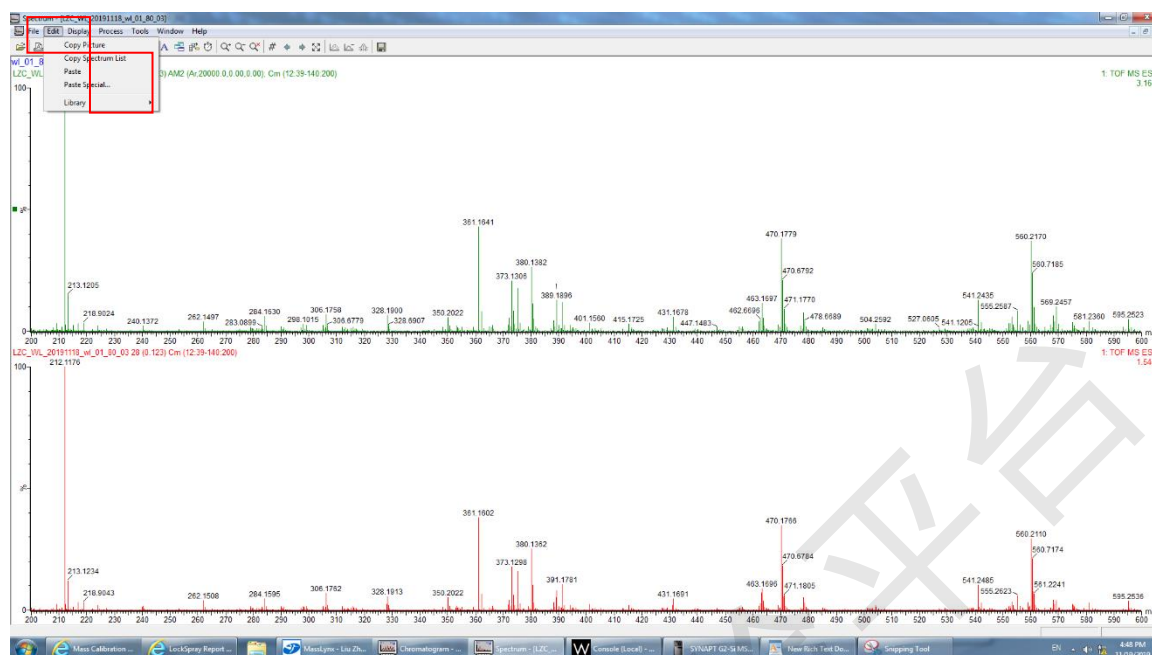
- 弹出质谱图, Process - Automatic peak detection 查看棒状图



- 捕获质谱图。在质谱图窗口, 点击照相机, 复制质谱图, 打开电脑中的Paint画图, 粘贴并另存;



- 获取原始数据。选择Edit - Copy spectrum lists复制质谱原始二维数据, 新建Text document文本文件进行粘贴即可。该txt文本可以进一步用Origin进行处理。



Step3: 实验室数据禁止采用U盘或硬盘进行下载传输。唯一获取方式：打开Internet browser浏览器，输入平台分享的课题组链接进行数据上传；或者将处理好的数据暂时存在在桌面，由技术员上传到网盘，用户通过链接下载。

7.9. 实验结束处理

- 实验结束之后，需要对流路进行清洗，确保没有自己样品的没有残留；另外ESI有正常的喷雾。
- 停流动相，就流速设为0，回车，会显示Off
- 柱温箱及样品管理器温度设为Off
- 仪器Standby
- 退出学校基理系统
- 实验结束，请完成测试登记，整理实验桌并将自己的测试样品带出实验室。

请注意：使用前先检查谱仪状况，一切正常方可操作；一旦开始实验，默认为使用前谱仪状况良好；使用过程中出现故障须立即联系技术员；测试后请及时取回样品。

8. 相关/支撑性文件

Q/WU FLHR001 文件编写规范

9. 记录

Q/WU FLHS021 高分辨飞行时间液质联用仪 Waters SYNAPT-G2-Si 使用记录

理化公共实验平台

高分辨飞行时间液质联用仪 Waters SYNAPT-G2-Si 使用记录

20__年

日期 (月.日)	使用人	课题组 导师	样品名称 或代号	检测方式 (√)		测试内容(√)			样品数	样品位置 (自动进样)	文件名 导师名首字母- 使用人名首字 母-日期-数字	仪器使用后状态		备注
				送样	自主	MS	LC-MS	定量				正常	报错及问 题描述	
05.06	张三	王五	蛋白质	√	√	√			2	/	WW-ZS-20190506001	√		

**请注意：使用前先检查谱仪状况，一切正常方可操作；一旦开始实验，默认为使用前谱仪状况良好；使用过程中出现故障须立即联系技术员；测试后请及时取回样品。

附件：简洁版操作流程

- (1) 申请上机培训-培训-两周内上机考核-取得上机资格。
- (2) check 流动相的更换情况及体积：
A--水相（超纯水,+0.1%甲酸）； B--有机相（LC-MS）
- (3) 打开文件：Masslynx 主界面，file-open project 打开项目文件； file-open 打开 sample list。
- (4) 质谱准备：
create calibration: SYNAPT-G2-SI 界面，(a) 点击 operate； (b) sample flow control； (c) MS console 界面建立校正文件。弹出校正报告后，确认相关参数<1 ppm，勾选。
Lockspray source setup: SYNAPT-G2-SI 界面，(a) Lockspray flow control； (b) MS console 界面建立校正文件。弹出校正报告后，显示 pass。
- (5) 液相准备：
 - a) 灌注操作： binary solvent manger-control-prime A/B solvent；
 - b) 清洗注射器： sample manger-control-prime string。
- (6) 放样：样品盘缺口位于左上角为正，记住样品瓶位置。
- (7) 建立序列：
 - a) file name: PI 姓名缩写_个人姓名缩写_日期_样品名_01；
 - b) MS file: 直接调用，请右键 edit，双击颜色栏修，改扫描范围，更新 lockspray 文件；
 - c) Inlet file: 直接调用；请右键 edit，在编辑窗口 load method，观察系统压力差<30psi；
 - d) Bottle: 样品瓶位置；
 - e) Volume: 2ul 或 1 ul
- (8) 保存序列并运行： save,选中序列行，点击 start run。
- (9) 查看并处理、上传数据。
- (10) 确认无信号残留，关闭流动相，仪器 standby。
- (11) 登出基理系统。
- (12) 取出样品。
- (13) 登记测试信息。
- (14) 整理实验桌，离开。