

Thermo LCMS 化合物优化细则

1. 准备材料

- 准备需要优化的色谱纯标准化合物，浓度范围 0.5~1.0mg/L
- 准备色谱柱、流动相、甲醇溶液、废液瓶、优化用 peak 管、小段 peak 管、三通、样品注射针、无尘纸以及无尘手套

2. 准备工作

- 此部分请戴无尘手套操作
- 用甲醇仔细清洗注射针、三通以及 peak 管
- 用样品注射针吸取校正用化合物溶液，擦干将针头上的溶液，
- 将针插入 peak 管，peak 管的另一头接到三通上，小段 peak 管也接到三通上
- 将针固定在蠕动泵插槽内并夹紧
- 将流动相一端的 peak 管也插入三通内，将小段 peak 管插入质谱离子源室上的金属二通上

3. 软件准备

- 双击打开桌面 Tuantum Tune 软件，打开扫描
- 点击快捷条中液相泵控制按钮，打开泵控制界面，选择“Accela

Pump” 界面，输入流动信息，点击运行按钮，此时六通阀按钮指示 Waste 状态

- 点击快捷条中的注射器蠕动泵 (syringe pump on/off) 控制按钮或点击菜单中的 setup 选项选择 syringe pump 打开蠕动泵，输入蠕动泵流速，选择注射针型号及体积，然后点击 Apply
- 点击快捷条中的 “Load/Detectot” 按钮将六通阀按钮切换到 Load 状态

4. 质谱初试条件准备

- 点击快捷条中化合物优化按钮设置质谱初试条件，“Spray Voltage” 介于 4000-4500，“Sheath gas pressure” 介于 30-35，“Aux1 Gas Pressure” 介于 5-10，“Capillary Temperature” 介于 300-350
- 点击快捷条中扫描模式设置按钮设置扫描条件，选择 “Full Scan”、“Q1MS”、“Central Mass”，输入中心离子分子量以及扫描宽度，输入扫描时间 0.5-1，点击 Apply
- 在软件中可看到所需优化的化合物的分子离子峰，正离子的强度最好能大于 e^6 ，负离子最好能大于 $5 * e^5$ ，点击快捷条中总离子流图按钮 (Total Ion Current Plot) 显示总离子流状态查看喷雾是否稳定 (即总离子流强度没有数量级的变化)，待喷雾稳定后点击快捷条中的化合物优化界面开始化合物优化

5. 化合物优化

- 选择“MS Only”，输入化合物的分子离子峰，在右面的参数表内选择需要优化的参数，点击“Start”。待优化完成后点击“Accept”（若点击 Redo 表示不接受优化参数，重新优化），跳出对话框提问是否要保存，点击“No”。优化参数包括鞘气、辅气、喷雾电压、Skimmer offset（一般小于 10，大部分化合物为 0）等参数，最好手动优化。
- 点击“MS+MS/MS”进行二级优化，输入分子离子峰，输入电荷数为 1，在子离子内输入 3 表示寻找丰度最强的 3 个子离子，选择“Collision Energy”进行优化，找到丰度最强的子离子及其最佳轰击能量范围（此项最好能多优化几次，找到可重现的最佳轰击能量范围），如果要将轰击能量保存入报告，选择“Save report”将结果保存（可以不存，自己记录）。
- 找到丰度最强的子离子后，选择“SRM”，输入母离子和子离子，点击“Start”开始优化，优化完成后点击“Accept”，可以观察到“SRM”优化的轰击能量和“MS+MS/MS”优化的轰击能量相似。Tube lense offset 可采用自动优化，自动优化后优化结果上下 20 的范围内手动检验自动优化结果。点击“Save Tune As”选择合适路径保存 Tune 方法文件，将“SRM”优化得到的轰击能量用“Save report”保存在合适路径下
- 点击快捷条中扫描模式设置按钮，选择“SRM”模式，将“Use Tubelense”后方打钩，点击 Apply

- 点击鼠标右键，选择“copy scan event”；打开 Xcalibur，点击“set up”，选择“TSQ Quantum”，点击“Paste Scan Event”，然后保存该方法。也可记录下优化得到的扫描参数，在分析方法中自行输入
- 注意：正离子和负离子优化后存在不同的 tune 文件中