

# TSQ Quantum液质联用仪操作说明

本操作说明适用于Thermo Fisher Scientific TSQ Quantum液质联用仪，介绍了包括Surveyor AS自动进样器，Surveyor LC Pump, Surveyor MS Pump, Accela Pump溶剂输送泵，TSQ Quantum系列三重四极杆质谱仪及其工作站的使用方法。主要包括以下内容：

任务	页码
Step 1. 使用LC-MS/MS前的准备工作	第1页
Step 2. 开机、关机方法	第1页
Step 3. LC-ESI/MS/MS分析方法建立	第2页
Step 3.1 化合物ESI/MS/MS质谱条件优化建立	第2页
Step 3.2 化合物LC/MS/MS方法建立	第2页
Step 4. 样品序列建立及样品分析	第3页
Step 5. 定量数据处理	第3页
Step 5.1 定量数据处理方法建立	第3页
Step 5.2 定量数据处理及定量结果浏览	第4页
Step 6. 样品报告生成	第5页
Step 7. 分析结束	第6页
注意事项	第6页
日常维护	第6页






## Step 1. 使用LC-MS/MS前的准备工作

1. 查阅文献，获得目标分析物质或相近物质的液质条件。
2. 阅读Thermo Accela UPLC操作说明，熟悉UPLC的操作方法及注意事项。
3. 检查线路是否连接完好。检查流动相是否充足，不足则根据要求添加。
4. 有机流动相必须为进口HPLC级，水相可使用Millipore纯水机出水或娃哈哈屈臣氏纯净水。流动相中添加的酸或胺类物质必须为色谱纯，其中水相需每天更换以保持新鲜。
5. 标样和样品在使用前必须用0.2 μm的针头式滤器（进口非分装）过滤。
6. 在做LC/MS/MS之前，需将样品放置在样品托盘上，并记录相应的位置。且第一个和最后一个样品为空白采用不含盐或酸的流动相做样，用于清洗进样系统及管路。




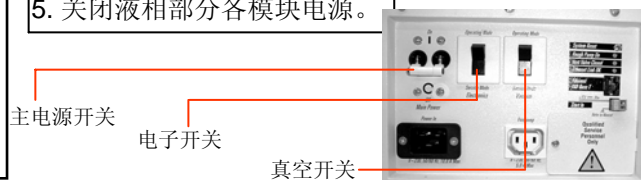
## Step 2. 开机、关机方法

### Step 2.1 开机方法

1. 打开质谱电源，即打开质谱主电源开关（Main Power Switch）至On (I) 位置；
2. 打开真空开关（Vacuum Switch）在Operational状态；真空开关开启约一小时后，打开电子开关Electronics Service Switch）在Operational状态；
3. 用密封垫或者放电针堵上离子传输毛细管；
4. 打开数据处理系统，即打开计算机和打印机；
5. 双击桌面图标，打开Quantum Tune Master界面；
6. 单击Quantum Tune Master界面上图标，查看质谱状态，确认Ion Gauge Pressure小于 $5 \times 10^{-6}$  Torr。
7. 打开液相部分各模块电源。


### Step 2.2 关机方法

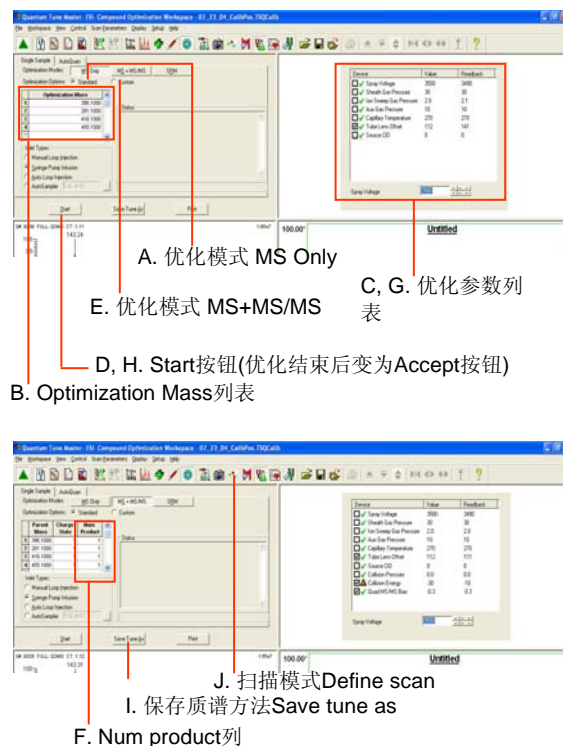
1. 双击桌面图标，打开 Quantum Tune Master界面，将质谱设置为待机 Standby状态；
2. 关闭电子服务开关 (Electronics Service Switch)；
3. 关闭真空开关 (Vacuum Switch)；
4. 3分钟后关闭质谱主电源开关 (Main Power Switch) 至Off (O) 位置；
5. 关闭液相部分各模块电源。



## Step 3. LC-ESI/MS/MS分析方法建立

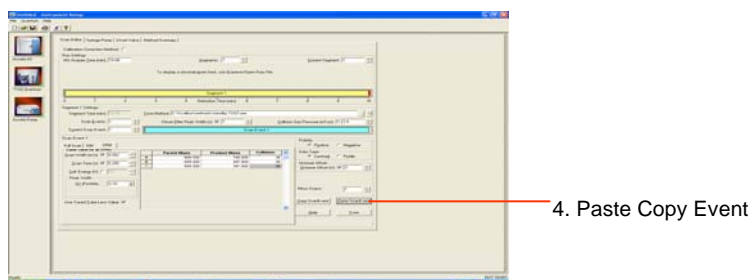
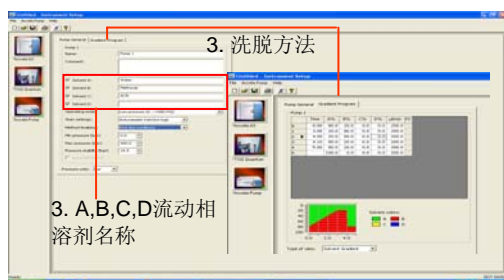
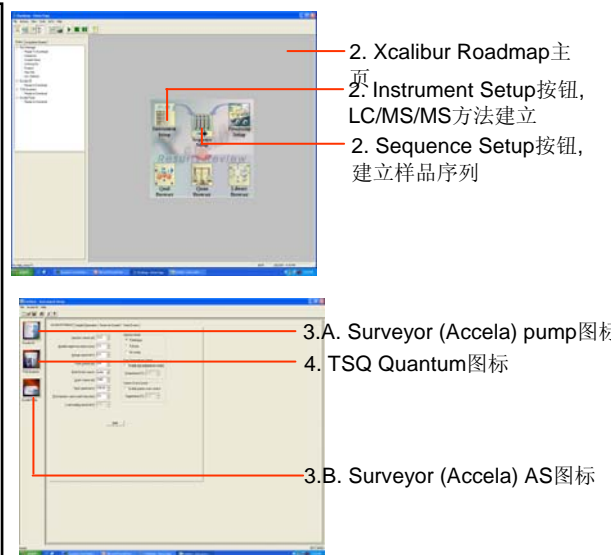
### Step 3.1 化合物ESI/MS/MS质谱条件优化建立

1. 双击桌面  图标, 打开 Quantum Tune Master 界面;
2. 在 Tune Master 中界面上, 选择菜单 Workspace, 选择 Compound Optimization Workspace 按钮, 显示 Compound Optimization 工作界面;
3. 使用标示了“Sample”字样的进样针及管线, 按照优化要求连接管线, 并选择合适的标样浓度。
4. 设置优化参数:
  - A. 选择 Optimization Modes (优化模式): MS Only按钮;
  - B. 在 Optimization Mass 列表中, 输入母离子质量数;
  - C. 在优化参数列表中, 选择 (✓) 优化的参数 (Spray Voltage, Sheath gas pressure, Aux gas pressure, Tube lens offset, Skimmer offset);
  - D. 单击 Start 按钮, 开始优化; 优化结束后, 选择Accept按钮;
  - E. 选择 Optimization Modes (优化模式):MS+MS/MS按钮;
  - F. 在 Optimization Mass 列表 Num product 列中, 输入子离子个数 (1~8);
  - G. 在优化参数列表中, 选择 (✓) 优化的参数 (Collision energy);
  - H. 单击 Start 按钮, 开始优化; 优化结束后, 选择Accept按钮;
  - I. 参数优化完成, 保存质谱方法: 选择 Save tune as 按钮, 选择保存位置, 输入文件名称, 保存质谱方法(.TSQTune文件);
  - J. 单击定义扫描模式 Define scan 快捷图标, 在扫描模式区单击鼠标右键, 选择Copy scan event.






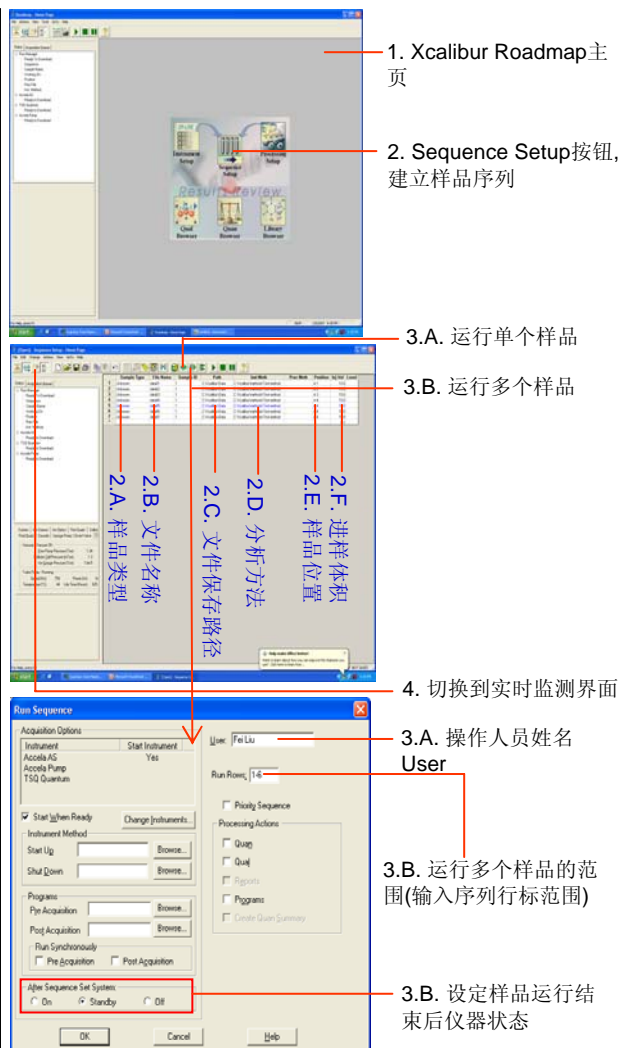
### Step 3.2 化合物LC/MS/MS方法建立

1. 双击桌面上 Xcalibur 快捷图标, 打开 Xcalibur 工作站;
2. 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击 Instrument Setup按钮, 建立LC/MS/MS方法;
3. 设置液相色谱部分参数:
  - A. Surveyor 液相泵的参数设置:
    - 1) 点击Instrument Setup窗口中Surveyor (Accela) pump图标;
    - 2) 输入A,B,C,D流动相名称, Column Description(色谱柱标注);
    - 3) 设置流动相条件(流动相比例, 流速等)。
  - B. Surveyor自动进样器参数设置:
    - 1) 点击Instrument Setup窗口中的 Surveyor (Accela) AS图标;
    - 2) 输入Wash Volume (如400  $\mu$  l), Flush Volume (如400  $\mu$  l);
4. 设置质谱部分(TSQ Quantum)参数:
  - 1) 点击Instrument Setup窗口中的TSQ Quantum图标;
  - 2) 单击Paste scan event按钮。
5. LC/MS/MS方法保存: 单击File菜单, 选择Save As, 选择保存路径并输入文件名称, 保存方法(.Meth文件)。



## Step 4. 样品序列建立及样品分析

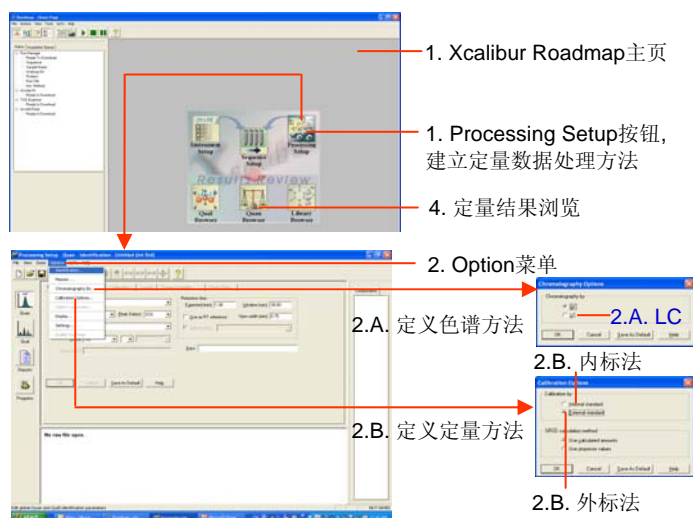
- 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击 Sequence Setup 按钮, 建立样品序列;
- 序列建立:
  - 选择样品类型 **Sample Type: Unknown, QC, Blank, Std Bracket.**
  - 输入文件名称 **File Name:** 可以手动输入, 也可点击鼠标右键浏览, 选择已经存在的文件的文件名;
  - 设定文件保存路径 **Path:** 双击鼠标左键(或者点击鼠标右键, 选择 <Browser>), 设定文件保存路径;
  - 选择分析方法 **Inst Meth:** 双击鼠标左键(或者点击鼠标右键, 选择 <Browser>), 打开 Step 1.2 中所建立的分析方法;
  - 设定样品瓶在进样器中的位置 **Position: A:1-A:40, B:1-B:40, C:1-C:40, D:1-D:40. E:1-E:40;**
  - 输入进样体积;
  - 保存序列: 单击 **File** 菜单, 选择 **Save As**, 选择保存路径并输入序列文件名称, 保存序列 (. Sld 文件)。
- 样品分析:
  - 运行单个样品: 在 **Sequence** 序列列表中鼠标点击选择需要运行的样品, 单击按钮 , 在出现的界面中输入操作人员姓名 **User**, 设定样品运行结束后仪器状态 **After Sequence Set System (On, 仪器仍在扫描状态, Standby, 仪器处在待机状态 Off, 仪器关机)**, 单击 **OK**, 开始进样分析;
  - 运行多个样品: 单击按钮 , 在出现的界面中, 输入操作人员姓名 **User**, 在 **Run Rows** 空格中输入要运行的样品范围 (在序列列表中的行标, 如 1-6), 设定样品运行结束后仪器状态 **After Sequence Set System (On, 仪器仍在扫描状态, Standby, 仪器处在待机状态, Off, 仪器关机)**, 单击 **OK**, 开始进样分析。
- 样品运行时可将界面切换到实时监测界面: 单击  按钮进行界面切换。



## Step 5. 定量数据处理

### Step 5.1 定量数据处理方法建立

- 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击 **Processing Setup** 按钮, 建立定量数据处理方法;
- 设置定量方法:
  - 定义色谱方法: 单击 **Option** 菜单, 单击 **Chromatography by**, 选择液相色谱方法 **LC**, 点击 **OK**;
  - 定义定量方法 (内标法, 外标法): 单击 **Option** 菜单, 单击 **Calibration by**, 选择定量方法 (内标法, **Internal Standard**, 外标法 **External Standard**), 点击 **OK**;
  - 打开一演示数据文件: 单击 **File** 菜单, 选择 **Open Raw File**, 打开一原始数据文件 (在要作定量处理的数据中选择一个, 最好是打开一个标样的数据文件);



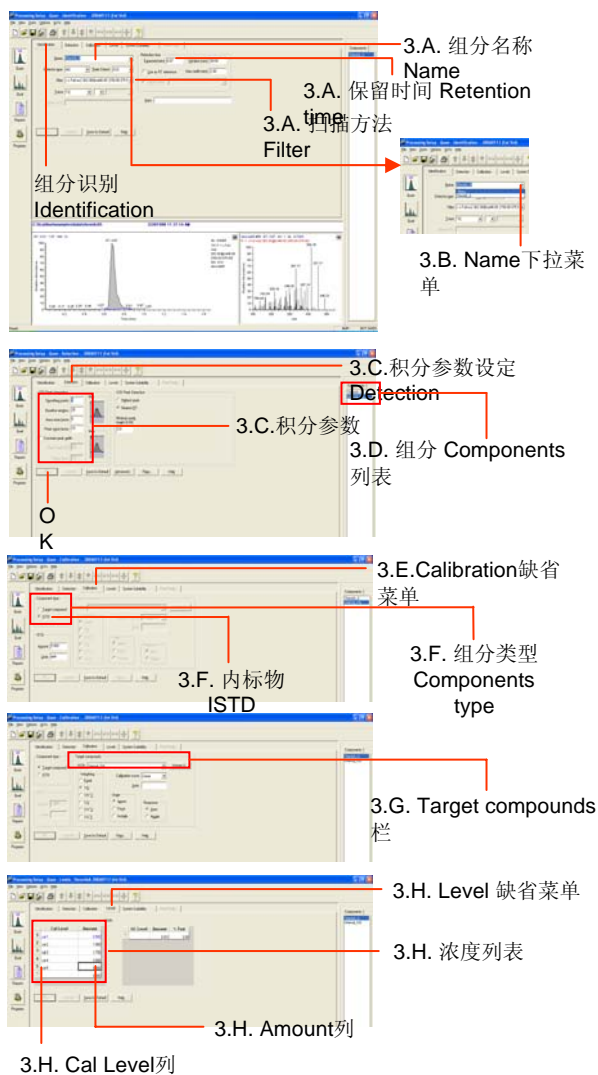


### 3. 设置定量方法 (内标法)参数:

- A. 定量组分的识别 Identification 参数: 设定定量组分的名称 **Name** (下拉菜单中选择 **New**, 直接输入该组分名称), 扫描方法 **Filter** (下拉菜单中选择该组分对应的扫描方法), 点击 **OK**, 输入保留时间 **Retention time**, 点击 **OK** (如果是多组分定量, 点击 **Name** 栏内下拉菜单, 选择 **NEW**, 输入第二个组分名称, 其他参数设定相同).
- B. 内标物的识别 Identification 参数: 在 **Name** 下拉菜单中选择 **New**, 直接输入内标物名称, 扫描方法 **Filter** (下拉菜单中选择内标物对应的扫描方法), 点击 **OK**, 输入内标物保留时间 **Retention time**, 点击 **OK**;
- C. 内标物积分参数设定 **Detection**: 单击 **Detection** 缺省菜单, 输入内标物各积分参数, 点击 **OK**;
- D. 定量组分积分参数设定 **Detection**: 点击界面右上角组分 (**Components**) 列表栏内定量组分的名称, 输入该组分各积分参数, 点击 **OK**;
- E. 校正曲线 **Calibration** 参数设定: 单击 **Calibration** 缺省菜单;
- F. 点击界面右上角组分 (**Components**) 列表栏内内标物的名称, 定义其为内标物: 在组分类型 **Component type** 栏内选择 **ISTD**, 点击 **OK**;
- G. 点击界面右上角组分 (**Components**) 列表栏内定量组分的名称, 在 **Target compounds** 栏内, **ISTD** 的下拉菜单中选择内标物, 点击 **OK**;
- H. 标准溶液浓度 **Levels** 设定: 单击 **Level** 缺省菜单, 在左侧浓度列表内, **Cal Level** 列内从上到下依次输入每个浓度的代号 (如 1, 2, 3 ..., 或 cal-1, cal-2, cal-3 ..., 或者 A, B, C ... 等等), **Amount** 列内从上到下依次输入各标准溶液浓度值, 单击 **OK**, 定量方法 (内标法) 建立完成.
- I. 保存方法: 单击 **File** 菜单, 选择 **Save As**, 选择保存路径并输入文件名称, 保存方法 (.pmd 文件).


### 4. 设置定量方法 (外标法)参数:

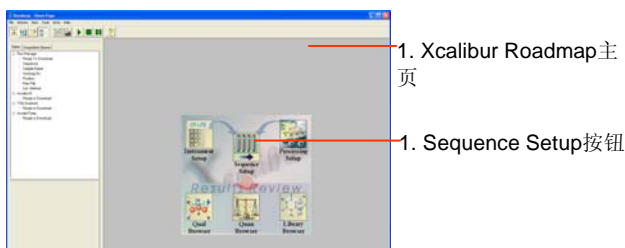
- A. 定量组分的识别 **Identification** 参数: 设定定量组分的名称 **Name** (下拉菜单中选择 **New**, 直接输入该组分名称), 扫描方法 **Filter** (下拉菜单中选择该组分对应的扫描方法), 点击 **OK**, 输入保留时间 **Retention time**, 点击 **OK**; (如果是多组分定量, 点击 **Name** 栏内下拉菜单, 选择 **NEW**, 输入第二个组分名称, 其他参数设定相同).
- B. 定量组分积分参数设定 **Detection**: 点击界面右上角组分 (**Components**) 列表栏内定量组分的名称, 输入该组分各积分参数, 点击 **OK**;
- C. 校正曲线 **Calibration** 参数设定: 单击 **Calibration** 缺省菜单, 设定各参数.





- D. 标准溶液浓度 **Levels** 设定: 单击 **Level** 缺省菜单, 在左侧浓度列表内, **Cal Level** 列内从上到下依次输入每个浓度的代号 (如 1, 2, 3 ..., 或 cal-1, cal-2, cal-3 ..., 或者 A, B, C ... 等等), **Amount** 列内从上到下依次输入各标准溶液浓度值, 单击 **OK**, 定量方法 (外标法) 建立完成.
- E. 保存方法: 单击 **File** 菜单, 选择 **Save As**, 选择保存路径并输入文件名称, 保存方法 (.pmd 文件).

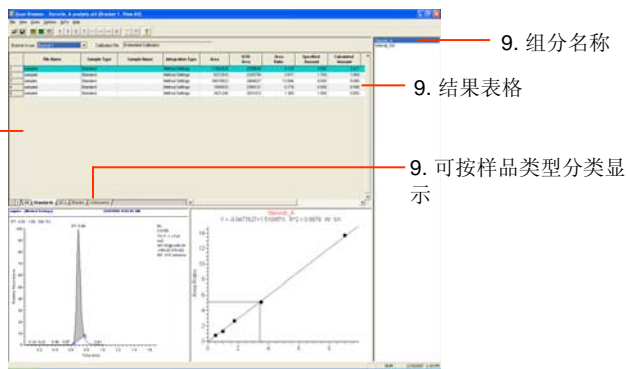
## Step 5.2 定量数据处理及定量结果浏览

1. 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击 **Sequence Setup** 按钮;
2. 打开序列: 打开在 **Step 2** 所保存的序列 (单击 **File** 菜单, 选择 **Open** 打开序列);
3. 检查序列中是否有 **Proc Meth** 和 **Level** 两列. 如没有, 点击  **Column Arrangement** 快捷图标, 出现序列列表设置工具栏, 在左侧可选项下选中 **Proc Meth**, 点击 **Add**, 选中 **Level**, 点击 **Add**, 然后单击 **OK**.
4. 设定样品类型: 将标准样品的样品类型 (**Sample type**) 设定为 **Std Bracket**, 待测未知样品设定为 **Unknown**, 空白样品设定为 **Blank**;




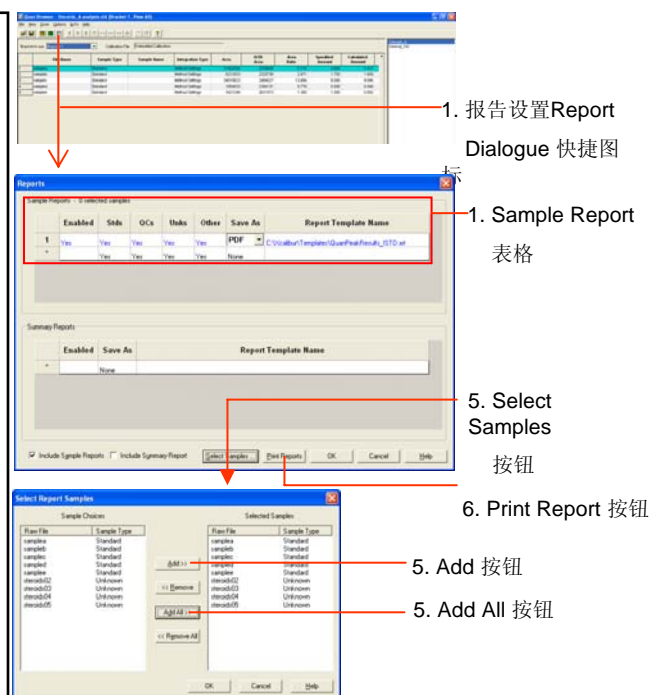
- 选择数据处理方法 Proc Meth: 在Proc Meth列中双击鼠标左键 (或者点击鼠标右键, 选择<Browser>, 打开 Step3.1 中所建立的数据处理方法);
- 设定标准样品浓度水平: 点击各样品类型为 Std Bracket 的标准样品对应的 Level 列单元格, 出现一下拉菜单, 选择该标准样品对应的 Cal Level 名称;
- 保存该序列: 点击保存序列快捷图标 ;
- 数据批处理: 点击批处理 Batch Reprocess 快捷图标 ; 出现数据处理选项工具, 选择 (✓) Quan 及其项下 Peak Integration, Quantitation, 点击OK;
- 定量结果浏览: 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击定量结果浏览器 Quan Browser 按钮. 在出现的对话框中打开保存的序列 (第7项), 在出现的 View Sample Types 对话框中选择 Show All sample types, 点击OK, 显示定量结果;
- 保存定量结果: 单击 File 菜单, 选择 Save As, 选择保存路径并输入定量结果文件名称, 保存定量结果(. rst 文件).

9. 定量结果浏览界面



## Step 6. 样品报告生成

- 在定量结果浏览界面上, 点击报告设置 Report Dialogue 快捷图标 , 出现报告设置对话框;
- 在样品报告 Sample Reports 项下表格中, 点击 Enable 下单元格, 点击鼠标左键, 出现 ✓;
- 点击 Save As 下单元格, 点击鼠标左键, 出现下拉菜单, 选择需要生成报告的文件类型 (PDF, Doc, Text, Html...);
- 双击报告模板 Report Template Name 下单元格, 选择并打开需要的报告模板 (Xcalibur 软件提供的模板位置: C:\Xcalibur\ Template);
- 点击 Select Samples 按钮, 选择要生成报告的数据文件: 选中数据文件名称, 点击 Add 按钮 (或直接点击 Add All 按钮, 全部选择), 单击 OK;
- 单击 Print Report 按钮, 生成报告;
- 打开报告 (报告保存位置与原始数据保存位置相同).



## Step 7. 分析结束

1. 化合物ESI/MS/MS质谱条件优化请使用标示了“Sample”字样的进样针及管线，优化结束，取下连接管路及注射针，用甲醇清洗至少3次后放回原位；并将六通阀出口处的进样管线恢复原样（和进样的石英毛细管以两通连接在接地杆上）。
2. 分析结束后，将喷雾电压设为0，流动相接入条件下scan15~20min；然后将流动相切换为waste状态，继续scan15~20min，停止Scan。
3. 清洗液相色谱柱。关闭软件及电脑，关闭UPLC仪器面板Accela AS、Accela Pump的电源开关。其余电源开关请勿动。并及时登记“仪器使用记录”包括异常情况的详细信息。
4. 卸下自己使用的分析柱后请用指定两通连接管路，避免流动相管路暴露于空气之中。

## 注意事项

1. 开UPLC主机时，只需打开仪器面板Accela AS、Accela Pump的电源开关。如分析过程需要使用PDA，请事先说明。
2. 更换气体时，请先用钢瓶内的气体吹扫钢瓶口，再将钢瓶接入管路。
3. 每次开液相都先purge流动相管路及自动进样机械手以防止起泡进入系统。
4. 所有需戴手套进行的操作（包括样品预处理及流动相过滤等），必须使用无尘手套（其它手套中的粉末会堵塞管路及色谱柱，造成严重损失）。拭擦仪器管路及其它部件时必须使用无尘纸。
5. 样品瓶盖为一次使用，以免密封垫片的碎屑堵塞进样针及UPLC系统。
6. 质谱加热传输毛细管温度未升到设定值时，流动相绝对不能进入质谱。
7. 注意废液瓶中废液的液位，废液倒至指定废液桶。为保持室内空气清洁，其它废液请带离质谱房间，并每天倾倒垃圾。
8. 注意保持室内清洁，不要接触任何和LC/MS无关的电源开关，未经许可不要使用另一台UPLC及其控制电脑，请勿关闭空调。离开实验室请锁门。
9. 其它故障说明：
  - A) 如UPS出现警报声，表明市电中断，请立即保存数据，清洗离子源，关闭电脑和仪器电源。
  - B) 出现任何紧急状况，请与负责老师联系。
10. 有关Accela UPLC的操作说明及注意事项请仔细阅读“Thermo Accela UPLC 工作原理及使用说明”。
11. 关于LCMS化合物的优化方法细则请阅读“LCMS化合物优化方法”。
12. 关于定量分析的数据处理方法请阅读“Xcalibur 定量过程 for UPLC & LCMS.pdf”。

## 日常维护

维护项目	频率
真空泵震气	每周（由每周第一位使用液相的同学操作）
离子传输毛细管清洗	需要时
质谱防尘海绵清洗	每月
真空泵检查油位	需要时、每月
真空泵更换泵油	工作半年~1年左右