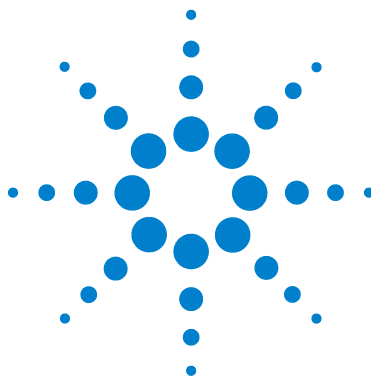




Agilent 6100 系列 四极杆 LC/MS 系统

入门指南



安捷伦科技

注意

© Agilent Technologies, Inc. 2011

根据美国和国际版权法，未经安捷伦科技有限公司事先同意和书面许可，不得以任何形式、任何方式（包括存储为电子版、修改或翻译成外文）复制本手册的任何部分。

手册部件号

G1960-97080

版本

版本 A，2011 年 9 月

美国印刷

Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051

在有新文件替换之前，本指南适用于 Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统 B.03.01 版或更新版本的安捷伦化学工作站软件。

如果您对本指南有任何建议，请发送电子邮件至 feedback_lcms@agilent.com。

声明

本书内容在将来的版本中如有变动，恕不另行通知。此外，在适用法律允许的最大范围内，安捷伦对本手册以及此处包含的任何信息不作任何明示或默示担保，包括但不限于针对某一特殊用途的适销性和适用性的默示担保。对于本手册或此处包含的任何信息可能出现的错误，或者因修改、使用本手册或此处包含的任何信息或因其性能方面的原因而造成的偶然或必然的损失，安捷伦不承担任何责任。如果安捷伦与用户签订了单独的书面协议，其中涉及本书内容的声明条款与这些条款冲突，则以单独协议中的声明条款为准。

技术许可

本书对硬件和 / 或软件的介绍已获得特许，未经许可，不得使用或复制。

权利限制说明

美国政府有限权利。授予联邦政府的软件和技术数据权利仅限最终用户通常享受的权利。根据 FAR 12.211（技术数据）和 12.212（计算机软件），以及针对国防部的 DFARS 252.227-7015（技术数据 - 商业项目）和 DFARS 227.7202-3（商业计算机软件或计算机软件文档的相关权利），安捷伦提供软件和技术数据的通用商业许可。

安全注意事项

小心

小心提示表示危险。提醒您注意某个操作步骤、某项操作或类似问题，如果执行不当或未遵照提示操作，可能会损坏产品或丢失重要数据。除非您已完全理解并满足所指出的条件，否则请不要忽视小心提示而继续进行操作。

警告

警告提示表示危险。提醒您注意某个操作步骤、某项操作或类似问题，如果执行不当或未遵照提示操作，将导致人身伤害或死亡。不要忽视警告提示，直至完全理解和符合所指出的条件。

内容提要 ...

本指南提供了一系列的练习可帮助您了解 Agilent 6100 系列 LC/MS 系统的基本操作。

如果您对本指南有任何建议，请发送电子邮件至 feedback_lcms@agilent.com。

1 准备分析

使用以下练习来准备 LC，稀释磺胺演示样品，以及检查 MS 上的调谐。

2 建立并运行扫描方法

了解如何为磺胺演示混合物建立扫描方法并采集数据。

3 定性数据分析

了解如何检查色谱图和质谱图以识别样品组分。在以下练习中，您将处理在第 2 章中分析的磺胺样品的数据，或处理通过化学工作站软件得到的数据文件中的数据。

4 建立并运行 SIM 方法

了解如何为磺胺演示混合物建立选择离子监测 (SIM) 方法并采集数据。

5 建立并运行一个序列

使用以下练习来建立一个自动序列，用于对各种浓度的磺胺混合物进行 SIM 分析，并使用此序列采集数据。

6 定量数据分析

了解当您需要确定样品组分的含量时如何分析数据。以下练习将使用您用化学工作站软件得到的咖啡因数据文件。

目录

1	准备分析	7
	练习 1. 准备 LC 以运行样品	8
	任务 1. 启动化学工作站	8
	任务 2. 冲洗泵	9
	任务 3. 准备分析用的色谱柱	10
	练习 2. 准备分析用的样品	12
	练习 3. 检查当前 MS 调谐值并在必要时调整	14
2	建立并运行扫描方法	15
	练习 1. 建立全扫描采集方法	16
	任务 1. 输入 LC 采集参数	16
	任务 2. 输入 MS 采集参数	19
	练习 2. 以全扫描方法采集数据	23
	任务 1. 输入样品信息	24
	任务 2. 采集数据	25
3	定性数据分析	27
	练习 1. 显示并处理色谱图	28
	练习 2. 检查质谱	31
	练习 3. 对色谱图进行积分	36
	练习 4. 打印报告	40
4	建立并运行 SIM 方法	43
	练习 1. 建立 SIM 采集方法	44

任务 1. 调用您先前创建的扫描方法	44
任务 2. 输入 MS 采集参数	45
练习 2. 以 SIM 方法采集数据	48
任务 1. 输入样品信息	49
任务 2. 采集数据	50
5 建立并运行序列	51
练习 1. 建立一个序列	52
任务 1. 准备创建新序列	52
任务 2. 编辑序列参数	53
任务 3. 建立序列表	55
任务 4. 建立序列输出	58
练习 2. 运行序列	60
6 定量数据分析	61
练习 1. 创建用于定量分析的方法	62
任务 1. 创建新方法	62
任务 2. 设置定量分析的信号	63
任务 3. 对低浓度标样进行积分	65
任务 4. 设置一般校正参数	67
任务 5. 设置校正曲线	68
任务 6. 浏览改进校正的选项	72
练习 2. 处理样品并打印报告	73



1

准备分析

- 练习 1. 准备 LC 以运行样品 8
 - 任务 1. 启动化学工作站 8
 - 任务 2. 冲洗泵 9
 - 任务 3. 准备分析用的色谱柱 10
- 练习 2. 准备分析用的样品 12
- 练习 3. 检查当前 MS 调谐值并在必要时调整 14

本章提供了一些可帮助您了解如何执行以下操作的练习：

- 准备用于分析的 LC 和色谱柱
- 准备在这些练习中分析用的样品
- 检查 MS 调谐设置并在必要时调整。

准备工作

- 订购样品：安捷伦电喷雾 LC 演示样品，*部件号 59987-20033*。
- 订购色谱柱：Agilent ZORBAX SB-C18，2.1 mm x 30 mm，3.5 μm ，*部件号 873700-902*。
 - 您可以使用其他类似色谱柱，但是您可能需要调整 HPLC 条件以得到良好的分离。
- 确保电喷雾源已安装。
- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统快速入门指南*和 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统概念指南*的第 2 章。



1 准备分析

练习 1. 准备 LC 以运行样品

练习 1. 准备 LC 以运行样品

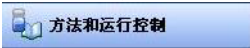
对于以下任务，请尝试第一栏中的步骤。如果需要更多的帮助，请遵循中间栏的详细说明。

任务 1. 启动化学工作站

步骤	详细说明	注释
1 打开“化学工作站”窗口。	单击桌面上的“化学工作站”图标。 	替代方法： 从开始菜单选择： 所有程序 > 安捷伦化学工作站 > 仪器 1 联机。

任务 2. 冲洗泵

对二元泵和四元泵使用这些说明。请参见化学工作站联机帮助，以获取有关毛细管泵和纳流泵的说明。

步骤	详细说明	注释
1 显示“方法和运行控制”视图。	在左下方的视图选择区域，单击方法和运行控制。 	
2 将泵置于待机模式。	- a 在“仪器”菜单上单击更多泵 > 控制 HPLC 泵打开“泵控制”对话框。 - b 选择待机并单击确定。	替代方法： 从“泵”上下文菜单中选择待机。
3 准备在这些进阶练习中使用的溶剂。 - A – 5 mM 甲酸铵水溶液 - B – 5 mM 甲酸铵甲醇溶液	- a 在装有 1 升 HPLC 级水的容器中，加入 1 mL 的 5 M 甲酸铵。 - b 在装有 1 升 HPLC 级甲醇的容器中，加入 1 mL 的 5 M 甲酸铵。	- 甲酸铵的部件号为 G1946-85021。 - 每安瓿含有 2.2 mL 的甲酸铵溶剂。
4 用您刚刚准备好的溶剂瓶替换原有溶剂瓶。	替换通道 A 与通道 B 的溶剂瓶。	
5 打开清洗阀。	- a 将泵前端的黑色吹扫阀逆时针旋转两圈。 - b 将泵的出口管线放入 250 mL 或更大的大口杯中。	
6 对流量和 B 分别输入 5 mL/min 和 50%，在通道 A 中使用水，在通道 B 中使用甲醇。	- a 单击泵图标。 - b 选择设置泵。 - c 输入步骤 6中的参数并单击确定。	务必使用 HPLC 级溶剂。
7 开启泵并监视管线中的气泡。	- a 要开启泵，请单击“溶剂输送（泵）”图标右下角的小按钮。 - b 监视气泡。	 - 吹扫大约 3 分钟以保证有 3 倍体积的溶剂通过二元泵。 - 您也可以先单独吹扫每个通道，以确保它们都不堵塞。

1 准备分析

任务 3. 准备分析用的色谱柱

步骤	详细说明	注释
8 当气泡消失、吹扫完成后，对流量和 B 分别输入 1 mL/min 和 100%。	a 右键单击泵图标。 b 选择设置泵。 c 输入步骤 8中的新参数，然后单击确定。	
9 吹扫一会儿，然后关闭吹扫阀。	a 继续吹扫一会儿。 b 关闭黑色阀。	有关冲洗泵的更多信息，请参见随泵附带的参考手册。

任务 3. 准备分析用的色谱柱

在下几章的练习中，您将分析四种磺胺类化合物的混合物。要执行以下章节中的分析，您必须先老化并平衡色谱柱。

步骤	详细说明	注释
1 断开色谱柱与检测器和 MS 的连接。	a 通过单击“溶剂输送（泵）”图标右下角的小按钮关闭泵。 b 断开色谱柱与检测器和 MS 的连接。 c 将色谱柱出口管线的开放端放入大口杯中。	• 要避免检测器污染，可使色谱柱的排出物直接进入废液大口杯中。
2 用 100% 的甲醇以 1 mL/min 的流量冲洗色谱柱 5 到 10 分钟。 • ZORBAX SB-C18, 2.1 mm 30 mm, 3.5 µm, 部件号 873700-902	a 开启泵。 b 以任务 2（步骤 8）中的条件将甲醇注入色谱柱。	• 柱箱附带的数据文件建议您用 20 到 30 倍柱体积的 100% 甲醇（大约为 5 到 7.5 mL）冲洗。

步骤	详细说明	注释
3 使用任务 2 (步骤 6) 中调制的溶剂如下老化色谱柱。 • 流速 – 0.4 mL/min • 100% B 持续 1/2 小时 • 50% B 持续 1/2 小时	a 在“仪器”菜单中单击 设置仪器方法 ，打开“设置方法”对话框。 b 单击 泵 选项卡。 c 输入 步骤 3 中的流速。 d 在 溶剂 B 中，输入 100 并单击 应用 。 e 等 30 分钟。 f 在 溶剂 B 中，输入 50 并单击 应用 。 g 等 30 分钟。	• 以 0.4 mL/min 的流速，校验色谱柱应该产生大约 70 到 80 bar 的压力（色谱柱出口不连接任何接头的情况下测量）。 • 在您执行了这些步骤之后，如果通过色谱柱的泵压太高，请订购色谱柱 SB-C18（部件号 873700-902）替换。 • 如果您的色谱柱不是新的，则可以缩短老化色谱柱的时间长度。
4 以以下分析条件使色谱柱达到平衡： • 12% B 持续 1/2 小时，温度为 40 °C	a 在 溶剂 B 中，输入 12 并单击 确定 。 b 在“设置方法”对话框中单击 TCC 选项卡。 c 在 温度 中，输入 40 并单击 确定 。	• 在您老化并平衡色谱柱的同时，您可以完成本练习中的步骤 5，然后进行本章中的其余练习。务必先完成步骤 6，再进入下一章。
5 当色谱柱平衡时，设置 MS 雾化室的参数，这样它可以同时加热并平衡。 • 干燥气流速：8 L/min • 雾化气压力：35 psig • 干燥气温度：300 °C • 毛细管电压：3000 V 对于使用安捷伦喷射流技术的 6150： • 鞘气流速：12 L/min • 鞘气温度：360 °C • 喷嘴电压：0 V	a 右键单击系统视图上的 MSD 图标，并选择 雾化室 。 b 输入 步骤 5 中介绍的参数。 c 单击 确定 。 d 在调谐 MS 之前请等待 10 分钟。	
6 重新将色谱柱连接到 DAD 和 MS。		• 完成“练习 3. 检查当前 MS 调谐值并在必要时调整”时，可以将色谱柱连接到 DAD 和 MS，也可以不连接；但是在开始第 2 章“建立并运行扫描方法”中的练习之前您需要重新连接。

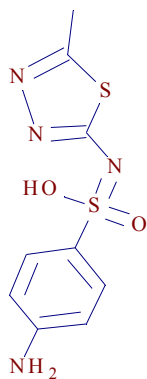
1 准备分析

练习 2. 准备分析用的样品

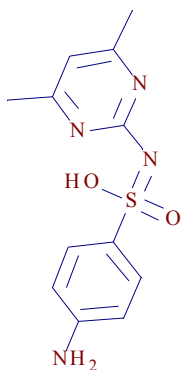
练习 2. 准备分析用的样品

在下几章的练习中，您将分析四种磺胺类化合物的混合物。电喷雾 LC 演示样品（部件号 59987-20033），包含 5 只安瓿，其中以下化合物各 100 ng/μL：

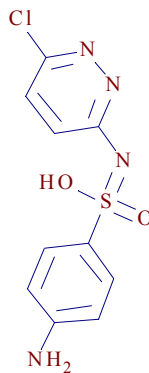
- 磺胺甲二唑 (M+H)⁺ = 271
- 磺胺二甲嘧啶 (M+H)⁺ = 279
- 磺胺氯吡嗪 (M+H)⁺ = 285
- 磺胺二甲氧嘧啶 (M+H)⁺ = 311。



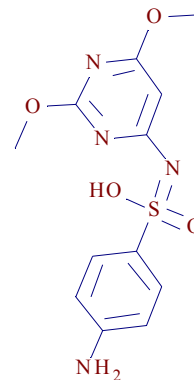
磺胺甲二唑



磺胺二甲嘧啶



磺胺氯吡嗪



磺胺二甲氧嘧啶

要执行以下章节中的分析，必须先以多种稀释比例准备样品。最后的浓度将为 1、5 和 10 ng/μL。您还要准备一份溶剂空白。

步骤	详细说明	注释
1 在 1-mL 自动进样瓶中按 1:10 稀释原始样品。 - 最后的浓度为 10 ng/μL - 此样品将用于第 2 章中的扫描分析，以及第 4 章和第 5 章中的 SIM 分析。	a 将 100 μL 的磺胺混合物注入自动进样瓶中。 b 加入 900 μL 的 90:10 水: 甲醇（含有 5 mM 甲酸铵）(NH ₄ HCO ₂)。 c 盖好瓶盖。	原始磺胺混合物溶解在由 70% 的水与 30% 的乙腈组成的混合溶剂中。
2 在 1-mL 自动进样瓶中按 1:20 稀释原始样品。 - 最后的浓度为 5 ng/μL - 此样品将用于第 5 章中的 SIM 分析。	a 将 50 μL 的磺胺混合物注入自动进样瓶中。 b 加入 950 μL 的 90:10 水: 甲醇（含有 5 mM 的甲酸铵）。 c 盖好瓶盖。	
3 在 1-mL 自动进样瓶中按 1:100 稀释原始样品。 - 最后的浓度为 1 ng/μL - 此样品将用于第 5 章中的 SIM 分析。	a 将 10 μL 的磺胺混合物注入自动进样瓶中。 b 加入 990 μL 的 90:10 水: 甲醇（含有 5 mM 的甲酸铵）。 c 盖好瓶盖。	
4 在 1-mL 自动进样瓶中准备一份溶剂空白。 此样品将用于第 5 章中的 SIM 分析。	a 将 990 μL 的 90:10 水: 甲醇（含有 5 mM 的甲酸铵）加入自动进样瓶中。 b 盖好瓶盖。	

1 准备分析

练习 3. 检查当前 MS 调谐值并在必要时调整

练习 3. 检查当前 MS 调谐值并在必要时调整

MS 非常稳定，不需要经常调谐。通常，您可以一个月调谐一次，或最多一周一次。您可以使用此练习中介绍的“检查调谐”程序来确认 MS 是否已经过调整。

步骤	详细说明	注释
1 切换到“MSD 调谐”视图。	在左下方的视图选择区域，单击 MSD 调谐。 	
2 选择调谐文件。	- a 在“选择调谐文件”对话框中，选择 ATUNES.TUN。 - b 保持缺省值正极性（标准）。 - c 单击确定。 - d 在“MSD 调谐”视图的顶部附近的状态栏中，验证您是否可看到以下内容： 模式为 API-ES 源为 ESI（电喷雾）	确保您对相应的源使用了相应的调谐液。
3 运行检查调谐。	在调谐菜单中，选择检查调谐。请注意，“检查调谐”需要从上次自动调谐中获取的比较值。自动调谐通常在安装过程中运行。	“检查调谐”通常包括了您确认 MS 设置是否正确所需要执行的所有操作。 - 如果检查调谐指示您的 MS 设置有问题，请继续执行步骤 4和 / 或步骤 5。
4 如果检查调谐报告建议您调整峰宽或质心轴，请进行相应调整。	- a 在调谐菜单中，选择调整质量峰宽。 - b 在调谐菜单中，选择校正质心轴。	
5 如果检查调谐报告显示灵敏度较差（表示您的 MS 设置严重失调），请运行全部“自动调谐”。	从调谐菜单中，选择自动调谐 > 正极性。	此手册中的练习仅使用正离子模式和标准扫描速度，因此不必对负极性或快速扫描进行调谐。

2

建立并运行扫描方法

- 练习 1. 建立全扫描采集方法 16
 - 任务 1. 输入 LC 采集参数 16
 - 任务 2. 输入 MS 采集参数 19
- 练习 2. 以全扫描方法采集数据 23
 - 任务 1. 输入样品信息 24
 - 任务 2. 采集数据 25

以下练习说明了如何为演示样品（磺胺混合物）建立扫描数据采集方法，以及如何使用此方法采集数据。

您在以下这些练习中输入的 LC 参数适用于标准的 Agilent 1100/1200/1260/1290 系列液相色谱 (LC) 系统。必须输入适用于您的 LC 型号的 LC 参数。

要查看以下练习的结果，请参见第 3 章“定性数据分析”。

准备工作

- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统快速入门指南*和 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统概念指南* 的第 3 章。
- 如第 1 章“准备分析”所述准备 LC、色谱柱和样品。

对于以下几页中的任务，请尝试执行左边未详细说明的步骤。如果需要更多的帮助，请遵循右边的详细说明。

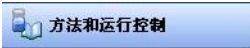


练习 1. 建立全扫描采集方法

此练习可更改默认方法并将其另存为新方法。此练习包含以下几项任务：

- 第 16 页的 “任务 1. 输入 LC 采集参数”
- 第 19 页的 “任务 2. 输入 MS 采集参数”

任务 1. 输入 LC 采集参数

步骤	详细说明	注释
1 显示 “方法和运行控制” 视图。	• 在 “化学工作站” 窗口左下方的视图选择区域中，单击方法和运行控制。 	
2 打开方法 DEF_LC.M。	- a 选择文件 > 调用 > 方法。 - b 如果需要，请浏览至 C:\CHEM32\1\METHODS。 - c 选择 DEF_LC.M 并单击确定。	
3 以新名称 SULFA MS SCAN 1.M 保存方法。	- a 选择文件 > 另存为 > 方法。 - b 在对话框中为名称输入 SULFA MS SCAN 1.M。 - c 单击确定。 - d 在方法历史注释框中，输入注释。 - e 单击确定。	• 此时用新名称保存方法可避免以后意外覆盖默认方法。
4 输入进样量 1 µL。	- a 在 “仪器” 菜单中单击设置仪器方法，打开 “设置方法” 对话框。 - b 单击 ALS 选项卡。 - c 单击标准进样。 - d 在进样量框中，输入 1 代表 1-µL 的进样。	

步骤	详细说明	注释
5 输入泵参数。	a 在“设置方法”对话框中单击泵选项卡。 b 如下所示设置参数： 流速 =0.400mL/min 停止时间 =7.00 min 后运行时间 =3.00min 溶剂 A=88% 的水 溶剂 B=12% 的甲醇	
6 建立梯度时间表，如下图所示。	a 打开选项卡下部的时间表区域，单击插入，然后输入第一行。 b 单击追加并输入第二行。 c 重复步骤 b以输入第 3 行和第 4 行。	如下所示设置时间表参数： 第 1 行时间 1:00, %B=12, 流速 =0.4 第 2 行时间 3:00, %B=100, 流速 =0.4 第 3 行时间 6:00, %B=100, 流速 =0.4 第 4 行时间 7:00, %B=12, 流速 =0.4
7 输入柱温箱温度 40 °C。	a 在“设置方法”对话框中单击TCC选项卡。 b 单击°C的选项按钮。 c 输入 40.0 作为°C。	
8 输入二极管阵列检测器 (DAD) 的参数。	a 在“设置方法”对话框中单击DAD选项卡。 b 如下所示输入参数： - 使用信号 A: 波长 272 nm, 带宽 16 nm - 参比波长: 360 nm, 参比带宽 100 nm - 光谱存储: 峰中的全部 - 峰宽: > 0.1 min c 单击确定关闭具有新设定值的“设置方法”对话框。	在本例中使用了 DAD, 但是也可以使用可变波长检测器 (VWD)。

2 建立并运行扫描方法

任务 1. 输入 LC 采集参数

步骤	详细说明	注释
9 仅选择“运行时选项表”中的“数据采集”。	a 在“运行控制”菜单中单击运行时选项表。 b 选中数据采集复选框。 c 单击确定。	• 虽然通常将“数据分析”包含在“运行时选项表”中，但在以下练习中您将在第 3 章“定性数据分析”中查看这些结果。
10 将新参数保存到方法文件 SULFA MS SCAN 1.M 中。	a 选择文件 > 保存 > 方法。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	

任务 2. 输入 MS 采集参数

步骤	详细说明	注释
1 输入四极杆质谱仪 (MS) 的参数： - 信号 1、扫描模式和正极性 - 扫描范围：100 到 500 - 碰撞诱导解离： - 对于 Agilent 6120 型号，为 100 V； - 对于 Agilent 6130 或 6150 型号，为 125 V - 增益：1.00 - 阈值：150 - 步径：0.10 - 峰宽：0.05 min - 扫描数据存储：压缩 - 活动信号：仅 1	a 右键单击系统视图上的 MSD 图标，并选择 设置 MSD 信号。 b 输入 步骤 1 所述的参数，如下图所示。注意输入与您的 MS 型号相应的碰撞诱导解离电压。 c 单击 确定。	为节省磁盘空间，通常可采集线质谱图（扫描数据存储 = 压缩）。但是，当您从完整蛋白质或蛋白质酶解 / 肽中采集质谱图时，您必须采集并解卷积轮廓图质谱图。（扫描数据存储 = 全部）。
	 对于 6120 型号，设置为 100 对于 6130 或 6150 型号，设置为 125	

2 建立并运行扫描方法

任务 2. 输入 MS 采集参数

步骤	详细说明	注释
2 输入离子源雾化室的参数： - 干燥气流速：9 L/min - 雾化气压力：40 psig - 干燥气温度：300 °C - 毛细管电压：3000 V 对于使用安捷伦喷射流技术的 6150：	a 右键单击系统视图上的 MSD 图标，并选择雾化室。 b 输入步骤 2所述的参数，如下图所示。 c 单击确定。	

- 雾化气压力：30 psi
- 干燥气流速：7 L/min
- 干燥气温度：350 °C
- 鞘气流速：12 L/min
- 鞘气温度：360 °C
- 毛细管电压：4000 V
- 喷嘴电压：0 V
- 碰撞诱导解离：200 V
- 倍增器增益：3

MSD 雾化室

方法雾化室: APT-ES 灯状态: ☐ 开 ☐ 关

安装的雾化室: APT-ES

温度、压力和流速

	实际值	设定值	最大值
干燥气体流速 (L/min) (Q):	12.0	12.0	13.0
雾化器压力 (psig) (Q):	35	35	60
干燥气体温度 (°C) (Q):	350	350	350
汽化器温度 (°C) (Q):		N/A	N/A

参数

	正	负
毛细管电压 (V) (Q):	3000	3000
电晕电流 (pA) (Q):	N/A	N/A
充电电压 (V) (Q):	N/A	N/A

时间表 (T)

时间	参数	值
----	----	---

插入 (I) 添加 (A) 剪切 (C) 复制 (C) 粘贴 (P)

确定 (O) 取消 帮助 (H)

对于使用安捷伦喷射流技术的所有型号（6150 型号除外）

MSD Spray Chamber

Method Spray Chamber: AJS-ES 灯: ☐ ON ☐ OFF

Installed Spray Chamber: AJS-ES

Temperatures, Pressure, and Flow

	Actual	Setpoint	Maximum
Drying Gas Flow (l/min):	0.5	12.0	13.0
Nebulizer Pressure (psig):	1	35	60
Drying Gas Temperature (°C):	22	250	350
Vaporizer Temperature (°C):		N/A	N/A
Sheath Gas Temperature (°C):	28	150	150
Sheath Gas Flow (l/min):	0.5	3.0	12.0

Parameters

	Positive	Negative
Capillary Voltage (V):	1300	1300
Corona Current (pA):	N/A	N/A
Nozzle Voltage (V):	2000	2000

Time Table

Time (min)	Parameter	Value
------------	-----------	-------

Insert Append Cut Copy Paste

OK Cancel Help

对于使用安捷伦喷射流技术的 6150 型号

步骤	详细说明	注释
3	建立以在整个运行过程中存储碰撞诱导解离电压。 a 右键单击系统视图上的 MSD 图标，并选择数据曲线。 b 选择碰撞诱导解离 - 1。 c 单击添加按钮。 d 单击确定。	 
4	保存方法。 a 选择方法 > 保存方法以覆盖方法 SULFA MS SCAN 1.M。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	

2 建立并运行扫描方法

任务 2. 输入 MS 采集参数

步骤	详细说明	注释
5 打印方法。	a 选择方法 > 打印方法。 b 选中如下图所示的复选框。 c 单击打印按钮。	

打印方法：仪器 1

方法打印选项：

全选 (A)

选项 (M)

☒ 方法信息 (M)

☒ 方法变更历史 (C)

☒ 运行时选项表 (R)

仪器/采集 (I)

☒ 检测器 (D)

☒ 进样器/AFC

☒ 泵/柱温箱/芯片 (U)

☒ + 时间表

☒ + 时间表

☒ + 时间表

数据分析 (A)

☐ 报告设置 (R)

☐ 积分事件 (V)

☐ 校正数据 (B)

☐ 谱库检索与其他 (L)

选择打印输出方式：

☒ 打印机 (P)

☐ 文件 (F)

打印 (P)

取消

帮助 (H)

练习 2. 以全扫描方法采集数据

现在您已准备好用您刚刚创建的方法来采集磺胺混合物的数据。包含以下几项任务：

- 第 24 页的 “任务 1. 输入样品信息”
- 第 25 页的 “任务 2. 采集数据”

任务 1. 输入样品信息

步骤	详细说明	注释
1 显示“单个样品”工具栏。	在顶部工具栏中，单击单个样品图标。	
1 显示“样品信息”对话框。	a 在“运行控制”菜单中单击样品信息。	
2 输入样品信息： - 操作者姓名 - 子目录: Sulfas - 前缀: Sulfa_scan - 位置: 样品瓶 1 - 样品名称: Sulfas 10 ng/μL - 注释: 扫描进阶练习	- a 输入步骤 2所述的参数，如下图所示。 - b 单击确定。	如果选择前缀 / 计数器，则文件名自动随运行次数递增。

样品信息: 仪器 1

操作者姓名 (N):

数据文件 (D)

路径: 子目录 (B):

☐ 手动 (M) 前缀: 计数器:

☒ 前缀/计数器 (E)

样品参数 (S)

样品位置 (C): (若未输入则运行空白)

样品名称 (N):

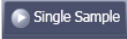
样品量 (A): 乘积因子 (L):

内标量 (I): 稀释因子 (D):

目标信息 (G):

注释 (T):

任务 2. 采集数据

步骤	详细说明	注释
1 将您准备好的 10 ng/μL 磺胺样品瓶放置到自动进样器的位置 1 中。		• 您在第 12 页的“ 练习 2. 准备分析用的样品 ”中准备了此样品。
2 注入磺胺混合物样品。	• 单击 单个样品 按钮开始运行。 	仅当从顶部工具栏中选择了单个样品模式时才显示此按钮。 
3 在数据采集过程中监视总离子色谱图和 UV 色谱图。	a 在“联机图谱”窗口中，单击 更改 按钮。 b 在可用信号列表中，选择 DAD A: 信号 =272.16 参比 =360.100 并单击 添加 。 c 在“可用信号”列表中，选择 MSD: 信号 1 并单击 添加 。 d 监视 MS 信号以确保基线稳定。	• 如果 MS 信号的基线波动大于 10%，则可能需要维护雾化器和源室。请参见 <i>Agilent 6100 系列单四极杆 LC/MS 系统维护指南</i> 。



2 建立并运行扫描方法

任务 2. 采集数据

步骤	详细说明	注释
4 保存“联机图谱”窗口中的信号。	a 在编辑信号图对话框中，单击应用于方法按钮。 b 保存方法。	
5 当分析完成时，查看结果。	要查看结果，请转到下一个练习。	C18 色谱柱可能需要一次或两次进样，才能完全老化好。在这些初始进样过程中，无效的体积中的所有物质都可能从色谱柱中洗脱。重复这一过程，将会发生分离。



3 定性数据分析

- 练习 1. 显示并处理色谱图 28
- 练习 2. 检查质谱 31
- 练习 3. 对色谱图进行积分 36
- 练习 4. 打印报告 40

以下练习将使用您在第 2 章中生成的数据文件。您也可以选择使用通过化学工作站软件得到的磺胺演示数据文件。

本章说明当您需要识别或确认样品组分时如何分析数据。

准备工作

- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统快速入门指南*。
- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统概念指南* 中的“数据分析”一章。
- 设置并运行第 2 章“建立并运行扫描方法”中的采集方法，或系统上 **MSDEMO** 数据文件夹中的 **mssulfas.d** 数据文件。

对于以下几页中的任务，请按任务显示的顺序依次执行。请尝试执行左边未详细说明的步骤。如果需要更多的帮助，请遵循右边的详细说明。



3 定性数据分析

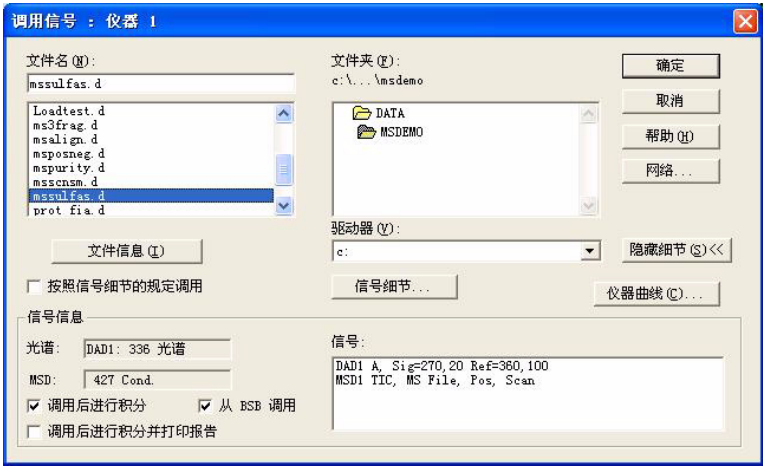
练习 1. 显示并处理色谱图

练习 1. 显示并处理色谱图

在此练习中，您将调用色谱图并更改色谱的显示。

步骤	详细说明	注释
1 显示“数据分析”视图。	在“化学工作站”窗口的视图选择区域，单击数据分析。 	
2 调用方法 SULFA MS SCAN 1.M 。	a 选择文件 > 调用 > 方法。 b 浏览至文件夹 C:\CHEM32\1\METHODS。 c 选择方法文件并单击确定。	如果您刚刚完成前一练习，则此方法已被调用。
3 显示“信号”工具组。	单击信号图标，它靠近窗口的中间。 	

步骤	详细说明	注释
4	执行以下操作之一： - 打开您在第 2 章中获取的数据文件 SULFA_SCAN00001.D。 - 打开位于 MSDEMO 文件夹中的数据文件 mssulfas.d。	- 有关调用信号的其他方法，请参见 <i>概念指南</i> 中的“数据分析”一章。 - 如果您想完成第 4 章“建立并运行 SIM 方法”，则您需要处理在第 2 章中生成的数据文件。您还需要来自此数据文件的报告以设置 SIM 组。
	a 选择 文件 > 调用信号。 b 浏览到相应的文件夹： C:\CHEM32\1\DATA\SULFAS - 或 C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO。 c 选择数据文件。 d 如下所示设置其他参数并单击 确定。	

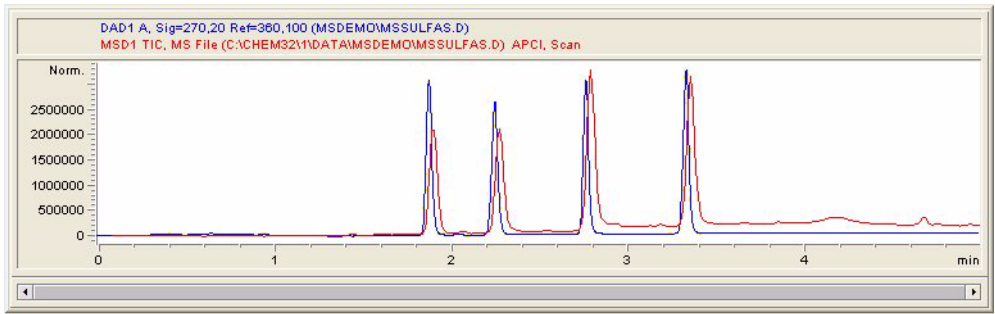


5	验证您是否看到 DAD 和 MS 色谱图。	- a 检查您所看到的显示是否相似于下图。 - b 验证在顶部色谱图中是否看到 DAD 信号。 - c 确认在底部色谱图中是否看到 MSD 信号。
---	------------------------------	---

3 定性数据分析

练习 1. 显示并处理色谱图

步骤	详细说明	注释
6 更改“色谱图”视图，以便 MS 与 UV 色谱图重叠显示。	a 在窗口中间附近的“信号”工具组中，单击该图标以显示重叠信号。 b 检查是否看到重叠色谱图，如下所示。 c 单击该图标以显示独立的信号。	• 步骤 a 中的图标在“图形”工具组中也可用，但是在“图形”工具组中它可切换重叠 / 独立。单击如上所示图标可开启显示“图形”工具组。



7 从显示中删除 DAD 信号。	a 在导航表中，单击 + 可显示详细信息。 b 在信号选项卡下，请双击标识为 MSD1 TIC 的信号。 c 看到有关方法的消息时，请单击 确定。 d 验证 DAD 窗口是否已关闭并仅显示 TIC 图。	• 如果您在顶部工具栏中未看到如下所示的导航表，请单击如上所示的图标。 • 有关删除信号的其他方法，请参见 <i>概念指南</i> 中的“数据分析”一章。
------------------	---	---

数据分析

日期时间	操作者	瓶	数据文件	样品名称	方法名称
1997-10-30 6:1...	C. Miller	样品瓶 1	MSSULFAS.D	sulfa drug mix	MSPURITY.M

数据分析

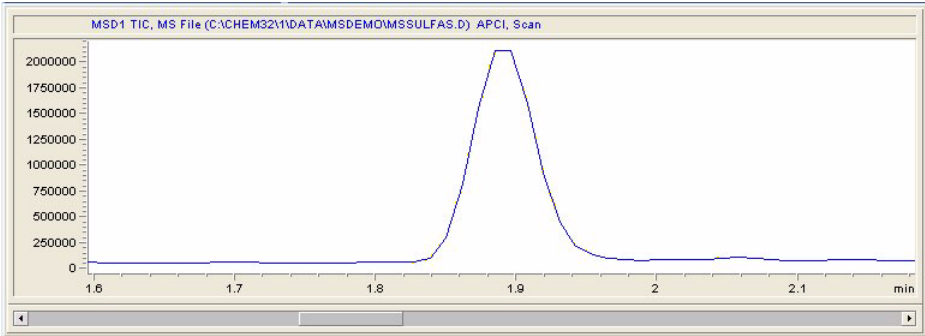
日期时间	操作者	瓶	数据文件	样品名称	方法名称
1997-10-30 6:1...	C. Miller	样品瓶 1	MSSULFAS.D	sulfa drug mix	MSPURITY.M

信号 基本信息 仪器曲线

说明	调用 ?
DAD1 A, Sig=270,20 Ref=360,100	☒
MSD1 TIC, MS File, Pos, Scan	☒

练习 2. 检查质谱

在此练习中，您将了解如何显示质谱。选择背景（参比）质谱图，以后可将该质谱图从目标峰的质谱图中扣除。您将了解如何显示一个峰的单个质谱图和平均质谱图。

步骤	详细说明	注释
1 放大色谱图中的第一个峰。	a 单击该图标以放大。 b 用鼠标指针围绕此峰划一个矩形。请注意，要包括色谱基线。 c 检查峰的外观是否与下图类似。 d 注意，峰宽是指峰在半高处的宽度。您将需要此信息建立第 4 章中的 SIM 分析。	 - 如果要再次尝试，可以再将其缩小。执行以下操作之一： - 双击色谱图窗口。 - 单击该图标以缩小。
		
2 显示“光谱”工具组。	a 单击光谱图标，它靠近窗口的中间。 b 如果在色谱图窗口下没有足够的空间可显示质谱图，请使用鼠标指针降低色谱图窗口的高度。	

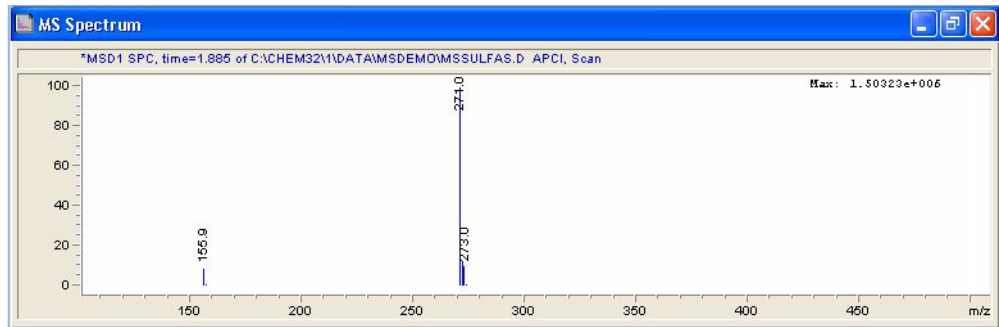
3 定性数据分析
练习 2. 检查质谱

步骤	详细说明	注释
3 在峰的左边，获取第一个参比质谱图。	a 要选择第一个参比质谱图，单击此处高亮显示的图标。 b 在色谱图窗口中，在峰前的色谱基线处执行以下操作之一： - 单击可选择单个质谱图。 - 单击并拖动可选择平均质谱图。	
4 在峰的右边，获取第二个参比质谱图。	a 要选择第二个参比质谱图，请单击此处高亮显示的图标。 b 在色谱图窗口中，请在峰后的色谱基线处执行以下操作之一： - 单击可选择单个质谱图。 - 单击并拖动可选择平均质谱图。	
5 查看您的参比质谱图。	a 如果您无法看到此质谱图，请调整标识为参比质谱 (a)窗口的大小和位置。 b 请注意两个背景质谱图 — 一个在峰前，另一个在峰后。	

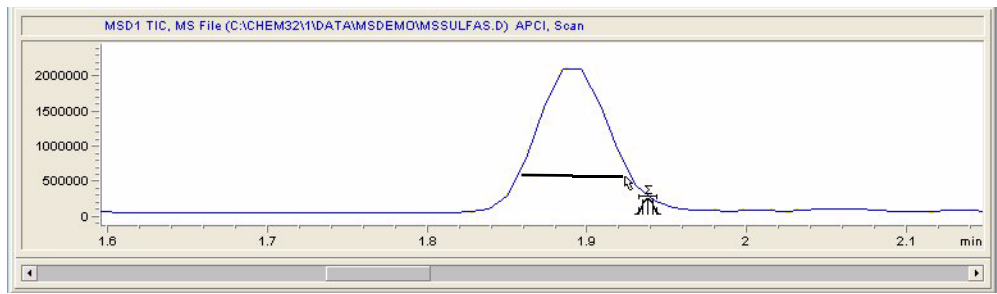
步骤	详细说明	注释
6 设置光谱选项以执行手动背景扣除。	a 单击该图标以显示 “光谱选项” 对话框。 b 单击 MS 参比 选项卡。 c 在参比光谱下，单击手动。 d 选中 Ref1 和 Ref2 的复选框。注意您刚才所选的参比质谱图的时间范围在此处指定。 e 单击确定。	- 在更改选项之前，光谱选项应用于所有后续质谱图。 - 如果色谱基线在运行过程中有更改，请选择在时间上与每个目标峰接近的新参比质谱图。 - 在“数据分析”窗口的中间附近，您可以查看并更改背景扣除的设置。 MSD, 手动参比 光谱选项 光谱参比显示纯度质谱MS参比MS显示 参比光谱 无 手动 参比1: 从 1.000 到 1.000 分钟 参比2: 从 2.000 到 2.000 分钟 自动 所有光谱: 将最近积分的基线起点和止点作为参比光谱时间。 峰控制光谱: 将最近记录的基线光谱作为参比光谱。 平均时间窗口 使用窗口: 0.200 分钟 确定取消帮助

3 定性数据分析
练习 2. 检查质谱

步骤	详细说明	注释
7 获取第一 LC 峰的单个扣除了背景的质谱图。	a 单击该图标以获取任意时间点的质谱。 b 在色谱图窗口中，单击峰上的某处以获取质谱图。 c 为方便查看，请调整标识为 MS 质谱图 的窗口的大小和位置（如果需要）。 d 验证质谱图是否与下图类似。	• 在用于采集演示数据文件 (mssulfas.d) 的条件下，化合物的洗脱顺序如下： 磺胺甲二唑, $m/z = 271$ 磺胺氯吡嗪, $m/z = 285$ 磺胺二甲嘧啶, $m/z = 279$ 磺胺二甲氧嘧啶, $m/z = 311$ • 根据有机流动相与改良剂的不同，279 与 285 的洗脱顺序可能会更改。



步骤	详细说明	注释
8 获取第一 LC 峰扣除背景后的平均质谱图。	a 单击该图标以获取一个平均质谱。 b 在色谱图窗口中，单击鼠标并从此峰上拖过，如下所示。 c 查看标识为 MS 质谱 的窗口中的平均质谱。	 • 当色谱峰包括单一化合物时，平均质谱图通常更准确。



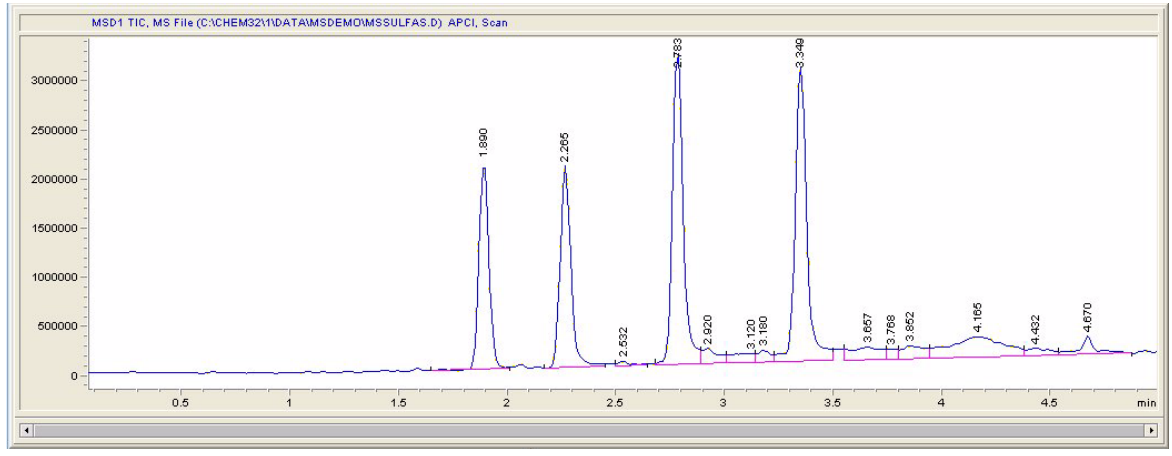
9 务必查看“练习 3. 对色谱图进行积分”中的步骤 6 以获取一种更方便，更快捷的质谱图显示方法。

练习 3. 对色谱图进行积分

在此练习中，您将了解设置积分事件以及对色谱图进行积分。即使不关注定量，积分也有助于查找用于其他目的的峰值。例如，在积分后，每个峰的质谱可随报告一起打印。

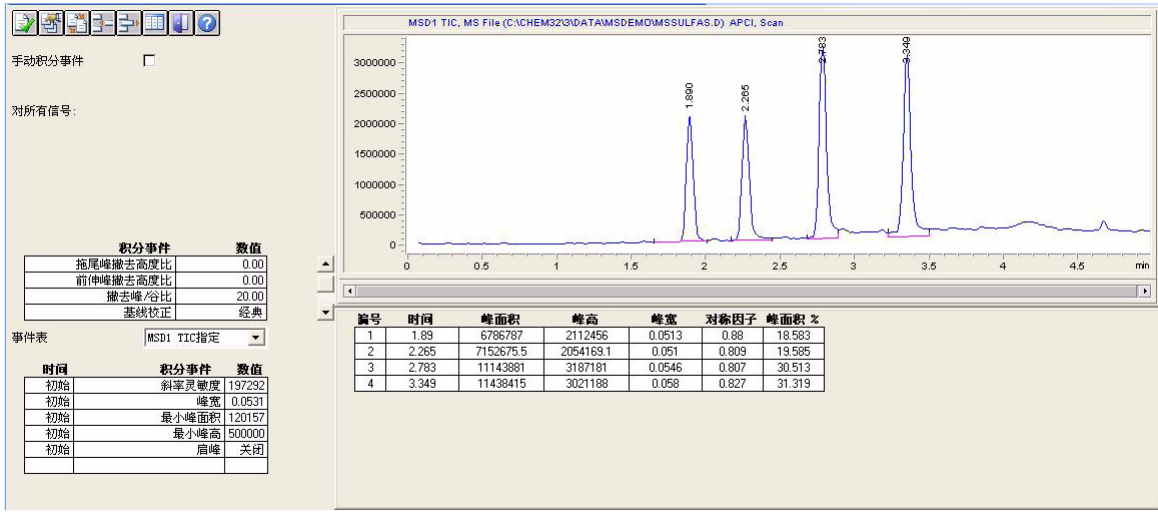
步骤	详细说明	注释
1 完整地显示总离子色谱图。	a 将所有隐藏色谱图窗口的质谱图窗口最小化。 b 单击该图标以缩小。	
2 显示“积分”工具组。	• 单击积分图标，它靠近窗口的中间。	

步骤	详细说明	注释
3 对色谱图进行积分。	a 单击自动积分图标，它靠近窗口的中间。 b 验证结果是否与下图类似。	• “自动积分”可估计初始积分参数。 • 如果您在图形工具中没有看到保留时间，请单击该图标以显示保留时间。 • 如果您在图形工具中没有看到峰积分基线，请单击该图标以显示基线。

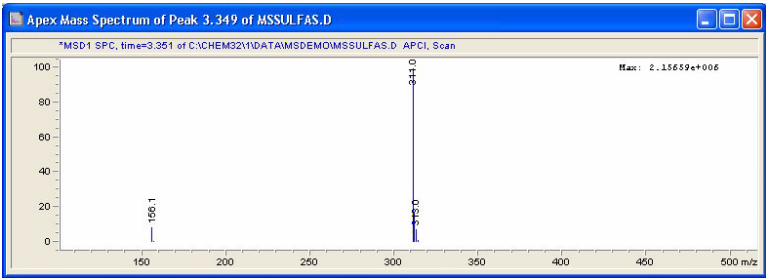


3 定性数据分析
练习 3. 对色谱图进行积分

步骤	详细说明	注释
4 调整积分参数以得到仅四个积分峰。	a 单击该图标，或选择编辑 / 设置积分事件表。 b 在积分事件表中为基线修正选择高级。 c 为最小峰高输入 500000。 d 单击对当前色谱图积分图标。 e 验证结果是否与下图类似。	 有关积分事件的详细信息，请参见安捷伦化学工作站：了解您的化学工作站。 



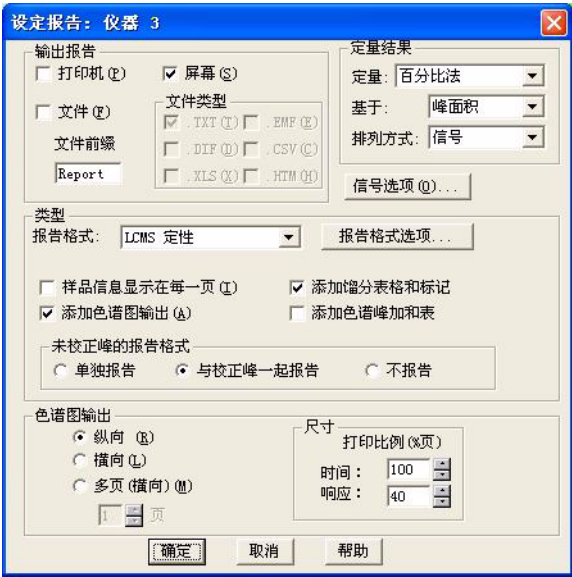
步骤	详细说明	注释
5 将积分事件保存到内存中的方法。	单击该图标可退出并保存积分结果。 	要将事件保存到磁盘上的方法中，您还需要将方法保存到磁盘，如第 41 章中的步骤 3 所述。
6 使用积分色谱图作为基础，以一种更快捷的方式来显示扣除背景的质谱图。	a 单击光谱图标。  b 单击该图标以显示“光谱选项”对话框。  c 单击MS 参比选项卡。 d 在参比光谱下，单击自动。 e 单击确定。 f 单击该图标以获取峰顶点处的质谱。  g 在色谱图窗口中，单击第四峰上的某处以获取质谱图。 h 验证质谱图是否与下图类似。	当您将参比光谱设置为自动时，软件会自动地为每个峰选择参比质谱图，如“光谱选项”对话框中所述。 仅当对色谱图进行积分后，获取峰顶点处质谱的图标才可用。无论您单击峰的任何位置，都会获取顶点处的质谱图。使用此工具，您可以不需要在色谱图中放大便可获取质谱图的准确位置。



练习 4. 打印报告

在此练习中，您将打印一份报告，该报告将在第 4 章 “建立并运行 SIM 方法” 中使用。

步骤	详细说明	注释
1 指定 LCMS 定性报告类型，并将报告打印到屏幕。	a 选择报告 > 设定报告。 b 在“设定报告”对话框中的目标中，选中屏幕复选框。 c 在报告类型中，选择LCMS 定性。 d 检查其他设置是否如下所示。 e 单击确定。	



步骤	详细说明	注释
2 打印报告。	a 选择报告 > 打印报告。 b 稍候，查看“报告”窗口。 c 验证报告的第 1 页是否包含标题信息和积分色谱图。 d 在报告窗口的底部，单击下一步按钮。 e 验证报告的第 2 页是否显示了提取离子色谱图和第一色谱峰的质谱。 f 继续单击下一步按钮以查看三个其他色谱峰的结果。 g 在报告窗口的底部，单击打印按钮。这将打印此报告的一份硬拷贝。 h 在报告窗口的底部，单击关闭按钮。	• 如果您希望完成第 4 章“建立并运行 SIM 方法”，请保存该硬拷贝，在设置 SIM 组时作为参考。 • 提取离子色谱图是峰纯度的指示器：如果保留时间未能一致，则峰很可能代表有多种化合物。
3 保存方法。	a 选择文件 > 保存 > 方法以覆盖方法 SULFA MS SCAN 1.M。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	• 现在保存此方法，这样积分参数、光谱显示选项、报告设置和其他数据分析设置将成为此方法的一部分。

3 定性数据分析

练习 4. 打印报告



4 建立并运行 SIM 方法

练习 1. 建立 SIM 采集方法 44

任务 1. 调用您先前创建的扫描方法 44

任务 2. 输入 MS 采集参数 45

练习 2. 以 SIM 方法采集数据 48

任务 1. 输入样品信息 49

任务 2. 采集数据 50

以下练习说明了如何建立使用选择离子监测 (SIM) 的数据采集方法。建立用于演示样品（磺胺混合物）的方法，然后使用此方法运行样品。

要建立 SIM 方法，您将修改在[第 2 章](#)中创建的扫描方法。要建立 SIM 采集，需要所有四个磺胺化合物的以下信息：

- LC 保留时间
- 质谱图中离子的质量

您将从[第 3 章](#)中生成的报告中获取这些信息。

准备工作

- 完成本手册前面的练习。



练习 1. 建立 SIM 采集方法

在此练习中，您将从现有的扫描方法开始并对其修改用于 SIM 分析。保持 LC 条件不变，仅修改 MS 条件。包含以下几项任务：

- “任务 1. 调用您先前创建的扫描方法”（下文）
- 第 45 页的 “任务 2. 输入 MS 采集参数”

任务 1. 调用您先前创建的扫描方法

步骤	详细说明	注释
4 显示 “方法和运行控制” 视图。	• 在 “化学工作站” 窗口的视图选择区域，单击方法和运行控制。 	
5 打开方法 SULFA MS SCAN 1.M 。	- a 选择文件 > 调用 > 方法。 - b 如果需要，请浏览至 C:\CHEM32\1\METHODS。 - c 选择 SULFA MS SCAN 1.M，然后单击确定。	
6 以新名称 SULFA MS SIM 1.M 保存方法。	- a 选择文件 > 另存为 > 方法。 - b 在对话框中为名称输入 SULFA MS SIM 1.M。 - c 单击确定。 - d 在方法历史注释框中，输入注释。 - e 单击确定。	• 现在保存方法以避免无意中覆盖了扫描方法。

任务 2. 输入 MS 采集参数

步骤	详细说明	注释
1 输入 SIM 分析用的色谱图峰宽度。	a 右键单击系统视图上的 MSD 图标，并选择 设置 MSD 信号。 b 当“设置 MSD 信号”对话框显示时，为 峰宽 输入 0.05。 c 单击 确定。 	• 峰宽是重要设置。它用来计算相应的 SIM 驻留时间，从而为整个色谱峰提供足够的点，进而达到良好的定量效果。 • 峰宽定义为半幅全宽 (FWHM)，即 50% 峰高处的宽度。

4 建立并运行 SIM 方法
任务 2. 输入 MS 采集参数

步骤	详细说明	注释
2	用您从扫描分析的质谱图中获得的（最接近 0.1）质量建立第 1 个 SIM 图标： - 磺胺甲二唑：时间 0，SIM 离子 271 和 156。 a 在 MSD 信号设置下，在信号 1 下的模式中，选择 SIM。 b 在表中的碰撞诱导解离中，输入以下一项： 150，适用于 Agilent 6120 型号 200，适用于 Agilent 6130 或 6150 型号 c 在表中，将组 1 更改为磺胺甲二唑，对于 SIM 离子，请参阅打印输出中的质谱图并输入 271 离子的质量（最接近 0.1）。 d 单击添加离子，并输入磺胺甲二唑 156 离子的质量。	- 在此示例中，每个 SIM 组包括一个准分子离子和一个碎片离子用于确认。 - 注意，下图不显示第四种磺胺药物。

Set Up MSD Signals

MSD Control

☒ Use MSD

StopTime: noLimit

FIA Disabled

General

Tune File: atunes.tun

Source: API-ES

Peakwidth: 0.050 min

Cycle Time: 0.30 sec/cycle

☐ Ultra Fast Scan

☒ Time Filter

Scan Data Storage: Condensed

Active Signals:
☒ 1
☐ 2

MSD Signal Settings

Signal: 1

☐ SIM on Sample Target Masses

Mode: SIM

Polarity: Positive

% cycle time: 100.0

Time(min)	On/Off	Group	SIM Ion	Frag-mentor	Gain	Dwell (msec)	%Rel Dwell
1 0.00	☒	Sulfamethiz	156.10	150	1.00	139	50.0
1			271.00	150		139	50.0
2 1.30	☒	Sulfachloro	156.10	150	1.00	92	33.3
2			285.00	150		92	33.3
2			287.00	150		92	33.3
3 2.30	☒	Sulfametha	186.10	150	1.00	139	50.0

Sort

Add Ion

Add Grp

Cut

Copy

Paste

Signal: 2

Frag. Ramp

Mode: Scan

Polarity: Positive

% cycle time:

Time(min)	On/Off	Mass Range Low High	Frag-mentor	Gain	Thres-hold	Step size
1 0.00	☒	100.00 1000.00	70	1.00	150	0.10

步骤	详细说明	注释
3 用您从扫描分析的光谱中获得的（最接近 0.1）质量建立其余 SIM 图标： • 磺胺氯吡嗪：时间 1.3，SIM 离子 285、287 和 156。 • 磺胺二甲嘧啶：时间 2.3，SIM 离子 279 和 186。 • 磺胺二甲氧嘧：时间 3.3，SIM 离子 311 和 156。	a 单击添加组并输入磺胺氯吡嗪的名称、开始时间和质量（大约为 285）。 b 单击添加离子，并输入磺胺氯吡嗪 156 离子的质量。 c 单击添加离子，并输入磺胺氯吡嗪 287 离子的质量。 d 重复这些步骤，直到已为其余化合物各输入了两个或三个离子。 e 单击确定关闭设置 MSD 信号对话框。	• 或者，不像这里所述的一样对每种化合物建立单独的组，而将所有 SIM 离子归入“组 1”，重命名为“磺胺类”。第一个 SIM 组最多可包含 100 个离子。 • 您可能需要调整每个 SIM 组的开始时间。请参阅第 3 章中的打印输出来确定开始时间，这样每个组的更改大约发生在色谱峰的中间。 • 如果磺胺氯吡嗪和磺胺二甲嘧啶之间的保留时间之差小于 0.3 分钟，则将这些离子合并为一组。 • 磺胺氯吡嗪另外还包括氯同位素 (m/z 287)。
4 保存方法。	a 选择方法 > 保存方法以覆盖方法 SULFA MS SIM 1.M。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	

练习 2. 以 SIM 方法采集数据

现在您已准备好用您刚刚创建的方法来采集磺胺混合物的数据。包含以下几项任务：

- 第 49 页的 “任务 1. 输入样品信息”
- 第 50 页的 “任务 2. 采集数据”

任务 1. 输入样品信息

步骤	详细说明	注释
1 显示“单个样品”工具栏。	• 在顶部工具栏中，单击单个样品图标。 	
1 显示“样品信息”对话框。	a 在“运行控制”菜单中单击样品信息。	

2 输入样品信息：	a 输入步骤 2 所述的参数，如下图 b 单击确定。	• 如果选择前缀 / 计数器，则文件名自动随运行次数递增。
-----------	--	--

- 操作者姓名
- 子目录: Sulfas
- 前缀: Sulfa_SIM
- 位置: 样品瓶 1
- 样品名称: 磺胺 10 ng/μL
- 注释: SIM 进阶练习

样品信息: 仪器 1

操作者姓名 (O): 您的名字

数据文件 (D)

路径: C:\Chem32\1\DATA\ 子目录 (B): SULFAS

☐ 手动 (M)

前缀: sulfas_sim 计数器: 00001

☒ 前缀/计数器 (E)

样品参数 (S)

样品位置 (C): 样品瓶 1 (若未输入则运行空白)

样品名称 (N): sulfas 10 ng/ul

样品量 (A): 0 乘积因子 (L): 1

内标量 (I): 0 稀释因子 (U): 1

目标信息 (G):

注释 (T):

运行方法 (R)

确定

取消

帮助 (H)

任务 2. 采集数据

步骤	详细说明	注释
1 将您准备好的 10 ng/μL 磺胺样品瓶放置到自动进样器的位置 1 中。		• 您在第 12 页的“ 练习 2. 准备分析用的样品 ”中准备了此样品。
2 注入磺胺混合物样品。	单击单个样品开始按钮。 	仅当从顶部工具栏中选择了 单个样品 模式时才显示此按钮。 
3 在数据采集过程中监视总离子色谱图和 UV 色谱图。	- a 激活“联机图谱”窗口。 - b 监视 MS 信号以确保基线稳定。	• 如果 MS 信号的基线波动大于 10%，则可能需要维护雾化器和源室。请参见 <i>Agilent 6100 系列单四极杆 LC/MS 系统维护指南</i> 。
4 当分析完成时，查看结果。	- a 显示“数据分析”视图。 - b 调用您刚刚创建的数据文件。 - c 检查 DAD 和 MS 色谱图。	• 如果您需要帮助，请遵循第 3 章中第 28 页的“ 练习 1. 显示并处理色谱图 ”的常规过程。

5 建立并运行序列

- 练习 1. 建立一个序列 52
 - 任务 1. 准备创建新序列 52
 - 任务 2. 编辑序列参数 53
 - 任务 3. 建立序列表 55
 - 任务 4. 建立序列输出 58
- 练习 2. 运行序列 60

以下练习说明了如何建立一个序列，用于对演示样品（磺胺混合物）进行 SIM 分析以及如何使用此序列采集数据。

在此序列中，您将分析三种不同浓度的磺胺混合物：1、5 和 10 ng/μL。您还要分析一份溶剂空白。

准备工作

- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统快速入门指南* 和 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统概念指南* 的第 3 章。
- 完成本手册前面的练习。

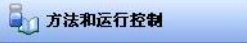
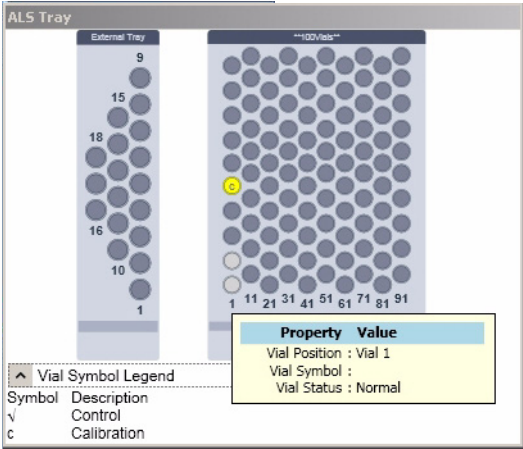
有关序列的详细信息，请参见 *安捷伦化学工作站：了解您的化学工作站*。



5 建立并运行序列
练习 1. 建立一个序列

练习 1. 建立一个序列

任务 1. 准备创建新序列

步骤	详细说明	注释
1 显示“方法和运行控制”视图。	在“化学工作站”窗口的视图选择区域，单击方法和运行控制。 	
2 显示 序列工具组 。	在顶部工具栏中，单击该图标以显示序列工具组。 	
3 显示 自动进样器样品盘 视图。	在“视图”菜单中单击进样视图。 	
4 新序列的初始设置。	选择序列 > 新序列。	会自动调用空的默认序列文件 DEF_IC.S 。
5 以新名称 SULFA MS SIM 1.S 保存序列	- a 选择序列 > 序列另存为。 - b 为名称输入 SULFA MS SIM 1.S。 - c 单击确定。	

任务 2. 编辑序列参数

步骤	详细说明	注释
1 打开“序列参数”对话框。	单击序列 > 序列参数。	序列参数设置通用于序列中的所有样品。
序列参数: 仪器 1 操作者姓名 (O): 您的名字 数据文件 路径 (P) C:\Chem32\1\DATA\ 子目录 (S) SULFAS ☐ 自动 (A) 前缀: 计数器: ☒ 前缀/计数器 (E) sulfa_seq 000001		
2 输入 操作者姓名 和 数据文件 的序列参数。	a 输入步骤 1中显示的下列参数。 - 操作者姓名: <i>您的姓名</i> - 子目录: Sulfas - 前缀: Sulfa_seq	- 为避免覆盖数据文件, 请为每个序列输入一个新子目录。如果您的计算机上没有此目录, 将会创建此目录。 - 系统会自动为子目录中的每个数据文件创建唯一的文件名。

5 建立并运行序列
任务 2. 编辑序列参数

步骤	详细说明	注释
3 输入其余序列参数：	a 输入下图所示的下列参数。 - 要运行的部分方法：依据运行时间选项表 - 静置：10 分钟，在调用新方法之后 - 关闭：待机 - 未就绪超时：15 分钟 - 序列注释：序列进阶练习 b 单击确定。	- 如果您仅要运行再处理（数据分析），应在要运行的部分方法中设置此内容。 静置允许仪器在调用新方法时达到平衡。
		
	“后序列命令 / 宏”是关闭灯、泵等的便捷方法。在序列结束或发生错误时应用命令或宏。	“后序列命令 / 宏”的两个典型示例为： - MSSetState 是一个命令，它可以将 MS 的状态更改为“待机”。请参见联机帮助了解命令。 - SHUTDOWN.MAC 是用于关闭系统的宏，但在使用前必须自定义。

任务 3. 建立序列表

步骤	详细说明	注释
1 建立序列表，以执行以下操作： - 运行空白的重复进样。 - 运行三种不同浓度的磺胺混合物的重复进样：1、5 和 10 ng/μL。 - 使用在第 4 章“建立并运行 SIM 方法”中创建的方法 SULFA MS SIM 1.M。	- a 选择序列 > 序列表。 - b 选择序列表中的第一行。在序列表中的行下，单击数字 1。 - c 单击剪切按钮可以删除此行。 - d 单击插入 / 批量输入向导的按钮，如下所示。 - e 填写值并单击确定。	• 在此步骤中，您将设置对所有样品都通用的序列表的各部分。 • 您将在此练习的后期指定样品名称。 • 有许多种方式可以将样品添加到序列表中。此练习仅说明了其中一种方法 — 使用插入 / 批量输入向导。

插入/批量输入向导

操作

☒ 追加 (A)

☐ 插入 (I)

☐ 批量输入 (E)

每 行 (Y)

插入行数 (N)

检测范围列表 (D):

-> 全部 1 行 <-

位置指定

开始位置 (S)

增量 (B)

字段

清除全部字段 (C)

☐ 忽略其他样品类型 (M)

☒ 覆盖已存在的值 (V)

方法名称

样品名称 (P) 校正级别 (Y)

进样次数 更新响应因

样品类型 更新保留时

样品量 (Q) 间隔

内标量

乘积因子

稀释因子

进样量

确定 (O)

取消 (C)

帮助 (H)

5 建立并运行序列
任务 3. 建立序列表

步骤

2 查看您创建好的序列表。

详细说明

a 对照以下所示的表。

b 注意任何不同之处，例如包含的列和列宽。

注释

• 您的结果将有可能不同，但是在下一步中您可以重新创建下面的表格式。

行	样品瓶	样品名称	方法名称	进样次数/瓶	样品类型
1	样品瓶 1	ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品
2	样品瓶 2	ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品
3	样品瓶 3	ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品
4	样品瓶 4	ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品

- 3 （可选）自定义序列表，以与步骤 2 中的格式匹配。
- a 在对话框中的右下角，单击该图标以自定义序列表。
- b 清除任何不必要列的复选框，如下所示。
- c 增加样品名称列的宽度，如下所示。
- d 减小方法名称列的宽度，如下所示。
- e 单击**确定**。



设置序列表编辑器

列	是否显示	列宽
样品瓶	☒	12
样品名称	☒	20
方法名称	☒	35
进样次数/瓶	☒	12
样品类型	☒	21
校正级别	☐	14
更新响应因子	☐	18
更新保留时间	☐	17
间隔	☐	14
样品量	☐	20
内标量	☐	18
乘积因子	☐	17
稀释因子	☐	17
数据文件	☐	25
进样量	☐	15
LIMS ID	☐	25
目标质量	☐	25
自动平衡	☐	19

确定 取消 缺省

步骤

4

将以下样品名称输入到表中：

- 样品瓶 1 – 空
- 其余样品瓶 – 1、 5 和 10 ng/μL 时的磺胺混合物

详细说明

a 修改每个样品的**样品名称**，如下所示。
b 单击**确定**。

注释

行	样品瓶	样品名称	方法名称	进样次数/瓶	样品类型
1	样品瓶 1	blank	SULFAS MS SIM 1	2	样品
2	样品瓶 2	1 ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品
3	样品瓶 3	5 ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品
4	样品瓶 4	10 ng/ul sulfas	SULFAS MS SIM 1	2	样品

5

保存序列。

- 在序列工具组中单击**保存序列**按钮。



任务 4. 建立序列输出

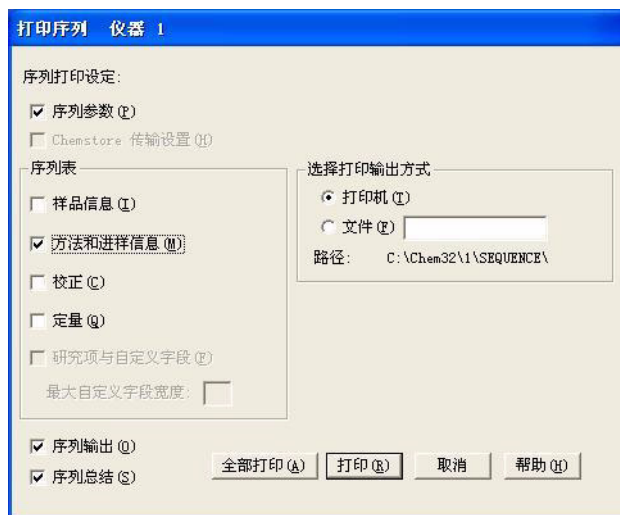
步骤	详细说明	注释
1 建立序列以将一份简短的序列总结打印到打印机。	a 单击序列 > 序列输出。 b 选中打印序列总结报告复选框。 c 选中输出到打印机复选框。 d 单击设置按钮。 e 如下所示填写对话框。 f 单击“序列总结参数”对话框中的确定。 g 单击“序列输出”对话框中的确定。	- 除序列总结报告外，您还可以根据方法中的指定打印单独的样品报告。（在此练习中您不用打印单独的报告。） - 有关序列报告的详细信息，请参见安捷伦化学工作站：了解您的化学工作站。 - 下面对话框所显示的设置将打印最简单的摘要报告。



- 2 保存序列。
- 在序列工具组中单击**保存序列**按钮。

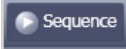


步骤	详细说明	注释
3 打印序列。	a 选择 序列 > 打印序列。 b 选中如下图所示的复选框。 c 单击 打印 按钮。	如果您单击 全部打印 按钮，您将打印序列的全部内容，而不只是您刚才指定的项目。



练习 2. 运行序列

现在您已准备好用您刚刚创建的序列来采集数据。

步骤	详细说明	注释
1 确认您的序列是否包含四种样品。	验证自动进样器样品盘视图中显示有四个样品。	
2 将第 1 章中准备的样品放置到自动进样器中相应的位置上。		您在第 12 页的“ 练习 2. 准备分析用的样品 ”中准备了这些样品。
3 注入样品。	单击“运行控制”栏中的序列开始按钮。	 此按钮仅在您从主工具栏中选择了“序列”模式后才可用。 
4 （可选）对于第一个空白分析，在数据采集过程中监视总离子色谱图和 UV 色谱图。	- a 激活“联机图谱”窗口。 - b 监视 MS 信号以确保基线稳定。	当序列进程执行时，自动进样器样品盘视图采用如下颜色编码： 灰色 - 已经分析的样品。 白色 - 样品尚未分析。 蓝色 - 当前的样品。
5 当序列完成时，查看“序列总结报告”。	- a 检索来自打印机的报告。 - b 检查报告以确认是否所有样品都已分析。	
6 当序列完成时，查看结果。	- a 显示“数据分析”视图。 - b 调用您刚刚创建的第一份数据文件。 - c 检查 DAD 和 MS 色谱图。 - d 对其他数据文件重复步骤 b和步骤 c。	- 如果您需要帮助，请遵循第 3 章中第 28 页的“练习 1. 显示并处理色谱图”的常规过程。 - 当您分析自己的样品时，可以建立您自己的方法，为序列中的每个样品自动生成数据分析报告。

6

定量数据分析

练习 1. 创建用于定量分析的方法 62

任务 1. 创建新方法 62

任务 2. 设置定量分析的信号 63

任务 3. 对低浓度标样进行积分 65

任务 4. 设置一般校正参数 67

任务 5. 设置校正曲线 68

任务 6. 浏览改进校正的选项 72

练习 2. 处理样品并打印报告 73

本章说明了如何使用化学工作站的“数据分析”来执行定量分析。本章中的练习说明了一种简单的校正方法，该校正使用通过化学工作站软件得到的数据文件。

准备工作

- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统快速入门指南*。
- 阅读 *Agilent 6100 系列四极杆 LC/MS 系统概念指南* 中的“数据分析”一章。
- 确保在化学工作站上已有咖啡因数据文件。检查 **C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO** 下的文件。文件名为 **CAFCAL0X.D**，其中 **x** 是从 **1** 到 **5** 的数字。



练习 1. 创建用于定量分析的方法

在此练习中，您将创建一种校正方法，可以用于定量分析演示数据中的咖啡因。

任务 1. 创建新方法

在此任务中，您将调用一种缺省方法并以新名称保存。以后您可修改这个新方法来创建校正方法。

步骤	详细说明	注释
1 显示“数据分析”视图。	在“化学工作站”窗口左下方的视图选择区域中，单击数据分析。 	
2 调用方法 DEF_LC.M 。	- a 单击文件 > 调用 > 方法。 - b 浏览至文件夹 C:\CHEM32\1\METHODS。 - c 选择方法文件并单击确定。	
3 以新名称 CAFFEINE CAL.M 保存此方法。	- a 选择文件 > 另存为 > 方法。 - b 浏览至文件夹 C:\CHEM32\1\METHODS。 - c 在对话框的名称中，输入 CAFFEINE CAL.M。 - d 单击确定。 - e 在方法历史注释框中，输入注释。 - f 单击确定。	

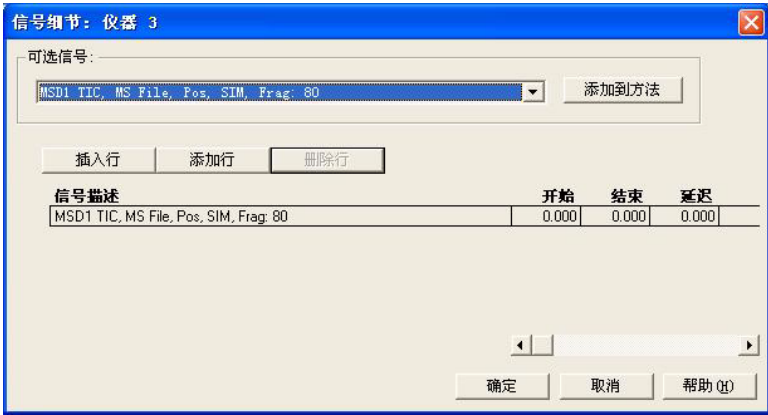
任务 2. 设置定量分析的信号

在此练习中，您将把提取离子色谱图 (EIC) 添加到此方法的可用信号列表中。然后您可以将此 EIC 添加到“信号细节”中，这样您就可以自动调用其余咖啡因标样的信号并对其进行积分。

步骤	详细说明	注释								
1 打开位于 MSDEMO 文件夹中的数据文件 CAFCAL01.D 。	- a 选择文件 > 调用信号。 - b 浏览到文件夹： C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO。 - c 选择数据文件 CAFCAL01.D。 - d 如果需要，请清除使用“信号细节”调用的复选框。 - e 在信号框中，单击以 MSD1 TIC 开头的信号。 - f 单击确定。	• 有关调用信号的其他方法，请参见概念指南中的“数据分析”一章。								
2 提取咖啡因中的主离子。	- a 选择文件 > 提取离子。 - b 在“离子 1”中，输入 195.1。 - c 在“离子 2”中，输入 195.1。 - d 单击确定。	• 195 离子是 (M+H)⁺ 离子。								
提取离子： 仪器 1 选择数据文件 C:\CHEM32\1\DATA\MSDEMO\MSSULFAS.D 浏览(B)... 提取的离子表 输入要提取的离子。可以在列离子1 内指定单个离子，或使用由离子1和离子2 定义的范围指定离子。 从信号细节中添加离子 插入 追加 删除 <table><tr><th>信号</th><th>离子 1</th><th>离子 2</th><th>信号 ID</th></tr><tr><td>MSD1_Pos</td><td>195.1</td><td>195.1</td><td>195</td></tr></table>			信号	离子 1	离子 2	信号 ID	MSD1_Pos	195.1	195.1	195
信号	离子 1	离子 2	信号 ID							
MSD1_Pos	195.1	195.1	195							
3 显示“校正”工具组。	• 单击校正图标，它靠近窗口的中间。									

6 定量数据分析

任务 2. 设置定量分析的信号

步骤	详细说明	注释
4 设置定量分析的信号。	a 执行以下操作之一： - 单击编辑当前方法信号  图标。 - 选择校正 > 信号细节。 b 在可用信号列表中，选择 MSD1 195, EIC=195.1:195.1。 c 单击添加到方法。 d 单击确定。	只有当您调用了步骤 2 中的 195 EIC 时，EIC 信号才可用。
		
5 （可选）以相同名称 (CAFFEINE CAL.M) 保存此方法。	a 选择文件 > 保存 > 方法。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	对于以下练习，您将经常保存方法，但是您可以等到建立了所有方法设置后再进行保存。

任务 3. 对低浓度标样进行积分

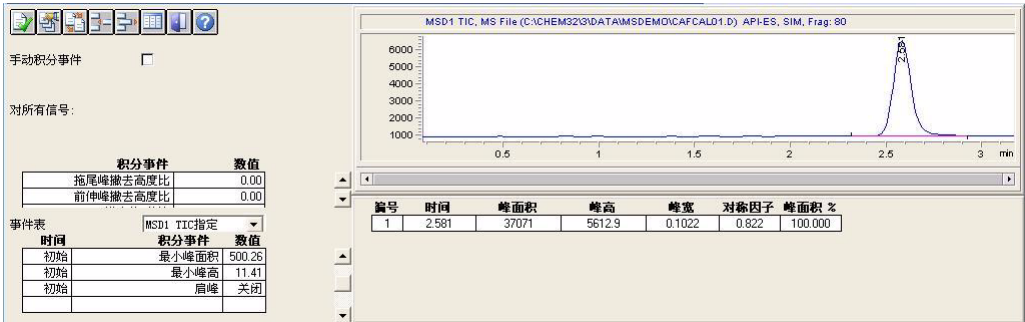
在此练习中，您将为校正方法建立积分参数。使用低浓度标样的原因是这通常是最难积分的。

步骤	详细说明	注释
1 显示“积分”工具组。	• 单击积分图标，它靠近窗口的中间。 	
2 对色谱图进行积分。	a 单击自动积分图标，它靠近窗口的中间。 b 检查在使用这些初始设置的情况下是否有五个积分峰。 	• 自动积分会估计初始积分参数，然后执行积分。

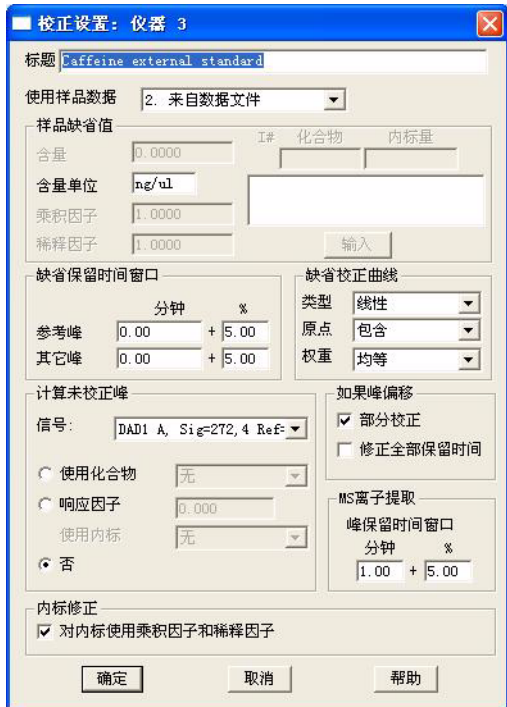
6 定量数据分析

任务 3. 对低浓度标样进行积分

步骤	详细说明	注释
3 调整积分参数以得到一个积分峰。	a 单击编辑 / 设置积分事件表图标。 b 在所有信号的积分事件中，为基线修正选择高级。 c 单击自动积分图标。 d 当系统提示您保存事件表时，单击是。 e 验证您的结果是否与以下显示的结果相同或非常相似。	• 有关积分事件的详细信息，请参见 <i>安捷伦化学工作站：了解您的化学工作站</i>。
4 用内存中的方法保存积分事件。	• 单击该图标可退出并保存积分结果。	
5 （可选）以相同名称 (CAFFEINE CAL.M) 保存此方法。	a 选择文件 > 保存 > 方法。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	



任务 4. 设置一般校正参数

步骤	详细说明	注释
1 建立校正参数。	- 选择校正 > 校正设置。 - 在标题框中输入标题，例如 Caffeine external standard。 - 其余项目保持缺省设置，如下所示。 - 单击确定。	
		
2 (可选) 以相同名称 (CAFFEINE CAL.M) 保存此方法。	- 选择文件 > 保存 > 方法。 - 在方法历史注释框中，输入注释。 - 单击确定。	

任务 5. 设置校正曲线

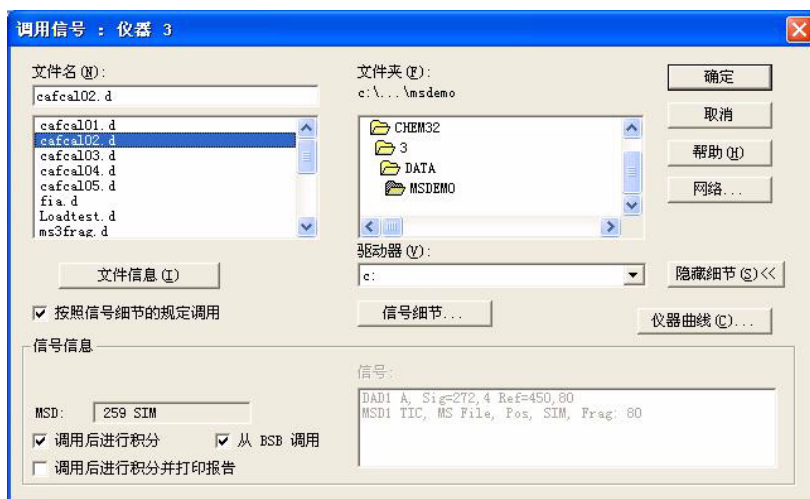
在此练习中，您可以对其余标样进行积分，并将所有标样都添加到校正曲线中。

步骤	详细说明	注释
1 显示“校正”工具组。	单击校正图标，它靠近窗口的中间。	
2 将低浓度标样添加到校正曲线中。	- a 执行以下操作之一： - 单击新建校正表图标。 - 选择校正 > 新建校正表。 - b 单击自动设置级别 1。 - c 单击确定。 - d 在“校正表”窗格（如下所示）中的化合物处，输入 <code>caffeine</code> 并在含量（含量）中输入 <code>0.5</code>。	如果您的校正曲线显示消息提示此曲线无效，请不要担心这一点。 

校正表

输入	删除	插入...	打印	确定	帮助	
编号	保留时间	信号	化合物	级别	含量[ng/ul]	面积
1	2.581	MSD1 TIC		1	0.500	37071.000

步骤	详细说明	注释
3 调用第二个标样并对其积分。	a 选择文件 > 调用信号。 b 在文件名中，选择 CAFCAL02.D。 c 选中使用 ‘信号细节’ 调用复选框。 d 选中调用后进行积分复选框。 e 检查您的对话框外观是否与下图类似。 f 单击确定。	使用这些设置，只需一步即可完成调用相应的信号并进行积分。



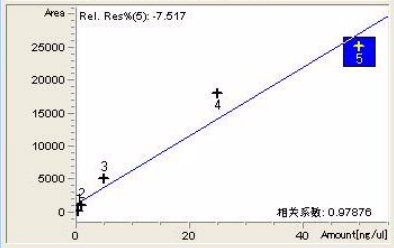
- 4 将第二个标样添加到校正曲线中。
- 单击**添加新级别**图标。
 - 在对话框中的**缺省含量**中，输入 1 并单击**确定**。
 - 验证校正表现在是否有两个条目，以及校正曲线是否包含两个点。



6 定量数据分析
任务 5. 设置校正曲线

步骤	详细说明	注释
5 将其余三个标样添加到校正表中: • CAFCAL03.D: 5 ng/μL • CAFCAL04.D: 25 ng/μL • CAFCAL05.D: 50 ng/μL	a 选择文件 > 调用信号。 b 在文件名中, 选择下一个数据文件。 c 验证色谱图是否已正确积分。 d 单击添加新级别图标。 e 在对话框中的缺省含量中, 输入步骤 5中显示的含量并单击确定。 f 验证校正表和校正曲线是否包含新条目。 g 重复步骤 a至步骤 f, 直到添加了所有标样。 h 请确认您的校正表与校正曲线的外观是否如下图所示。	• 如有多个峰在色谱图中积分, 可使用保留时间来查找校正曲线的正确峰。



步骤	详细说明	注释
6 改进校正曲线。	a 选择校正 > 校正设置。 b 在缺省校正曲线下的类型中，选择二项式。 c 单击确定。 d 验证校正曲线的外观现在是否如下图所示。	
	校正曲线 咖啡因, MSD1 TIC Area = 519.386788*Amt + 1140.4345 Rel. Res%(5): -7.517  相关系数: 0.97876	
7 （可选）以相同名称 (CAFFEINE CAL.M) 保存此方法。	a 选择文件 > 保存 > 方法。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	

任务 6. 浏览改进校正的选项

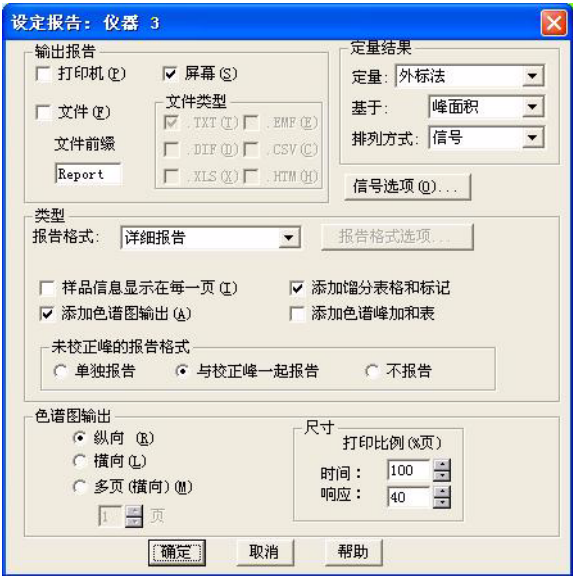
此练习描述了其他校正表格式，这些格式提供了更多的校正选项。您不需要这些选项来处理咖啡因演示数据，但是您可能在处理自己的样品时需要它们。

步骤	详细说明	注释
1 浏览选项以更改校正曲线的构建方式。	a 选择校正表选项 > 峰细节表。 b 验证您是否可以在校正表中看到这些列： • 曲线类型 • 原点 • 权重	• 注意，此校正表格式允许您更改以下内容： • 曲线类型：校正曲线的类型（线性和二项式等。） • 原点：原点（零点）的处理方式。 • 权重：数据点的相对权重。
2 浏览选项以添加确认离子。	a 选择校正表选项 > 定性细节表。 b 验证您是否可以在校正表中看到这些列： • 响应百分比（响应百分比） • + -（响应百分比窗口） • 峰用途（峰的用途）	• 注意，此校正表格式允许您定义以下内容： • 峰用途：校正使用峰的方式，例如，作为主校正离子还是作为确认离子使用 • 响应百分比：确认离子的预期响应值，作为与主峰的百分比 • + -：预期百分比的窗口。
3 显示校正表的原始选项。	a 选择校正表选项 > 概述。 b 验证校正表的外观是否与第 70 章上的步骤 5中的相同。	

练习 2. 处理样品并打印报告

在此练习中，您将指定一个报告并通过处理一种标样（假设为样品）测试您的校正方法。打印结果报告。

步骤	详细说明	注释
1 用以下设置指定报告：	a 执行以下操作之一： - 选择报告 > 设定报告。 - 单击指定报告图标。 b 输入在步骤 1中介绍的参数，如下图所示。 c 单击确定。	



6 定量数据分析
练习 2. 处理样品并打印报告

步骤	详细说明	注释
2 以相同名称 (CAFFEINE CAL.M) 保存此方法。	a 选择文件 > 保存 > 方法。 b 在方法历史注释框中，输入注释。 c 单击确定。	
3 调用中等浓度的标样。	a 选择文件 > 调用信号。 b 在文件名中，选择 CAFCAL03.D。	
4 处理中层标样并打印报告。	a 执行以下操作之一： • 选择报告 > 打印报告。 • 单击该图标以预览结果。 b 验证报告的第 1 页是否包含标题信息，积分的色谱图和外标报告。 c 检查咖啡因含量是否约为 5 ng/μL。 d 在报告窗口的底部，单击下一步按钮。 e 验证报告的第 2 页是否显示了校正曲线，并用点线标识测量点。 f （可选）在报告窗口的底部，单击打印按钮，这样可得到一份硬拷贝。 g 在报告窗口的底部，单击关闭按钮。	• 生成硬拷贝的另一种方式是单击打印报告图标。

内容提要

当您进行本书中的练习时，
您将了解如何完成以下操作：

- 准备用于分析的 LC/MS 系统
- 建立用于扫描和选择离子监测分析的方法
- 采集数据
- 建立自动样品分析的序列
- 执行定性和定量分析。

© Agilent Technologies, Inc. 2011

美国印刷
版本 A，2011 年 9 月



G1960-97080



安捷伦科技