Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

MassLynx®



四極桿式質譜儀

與 TargetLynx 定量軟體

操作手冊

目錄

I. 建立專案資料夾 Project 與樣品清單(Sample List) 2

1. 建立專案資料夾 Project 2
2. 建立樣品清單 Sample List 4

II. 切換專案資料夾 Project 與樣品清單(Sample List) 8

1. 切換專案資料夾 Project 8
2. 切換樣品清單 Sample List 11

III. 樣品分析 13

1. 建立儀器方法 13
2. 準備質譜儀系統-MS Tune 14
3. 平衡液相層析系統-Inlet 18
4. 編輯樣品清單 22
5. 執行樣品清單 27

IV. 數據處理 29

1. 建立定量數據處理方法-TargetLynx 29
2. 數據處理 36
3. 閱覽數據 37

V. 列印報告 41

1. 編輯報告格式 41
2. 輸出報告 43

VI. 附錄一、儀器方法設定 45

1. Inlet File – 泵浦設定 45
2. Inlet File – 自動注射器設定 47
3. Inlet File – 管柱設定 ..... 錯誤! 尚未定義書籤。
4. MS File –質譜儀紀錄模式設定 49
5. MS Tune File –離子化介面設定 51

VII. 附錄二、數據處理方法設定 52

1. 層析峰命名設定 52
2. 檢量線設定 52
3. 層析峰積分設定 54
4. 定量與定性離子對設定 55
5. 法規閾值設定 56

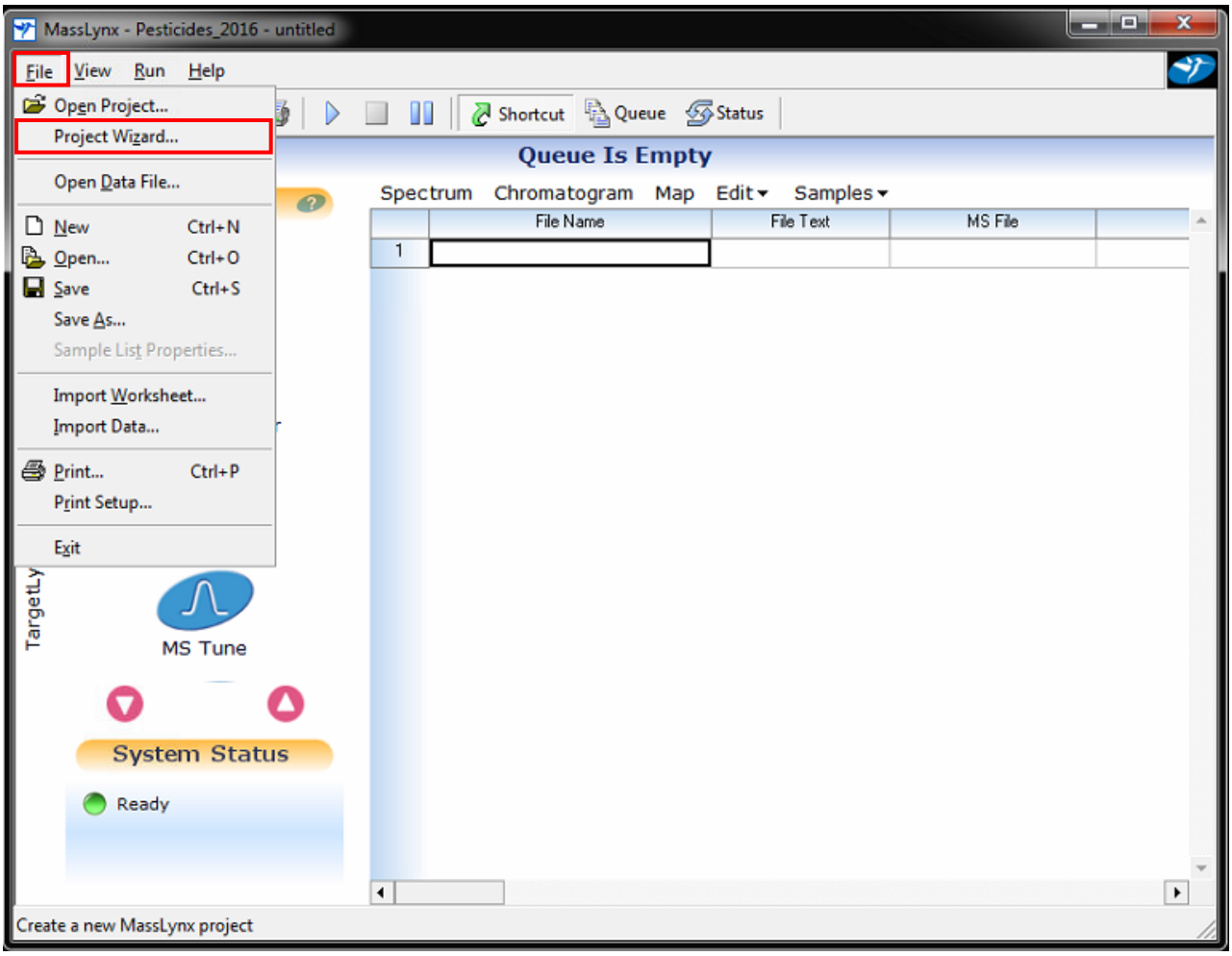
I. 建立專案資料夾 Project 與樣品清單(Sample List)

1. 建立專案資料夾 Project

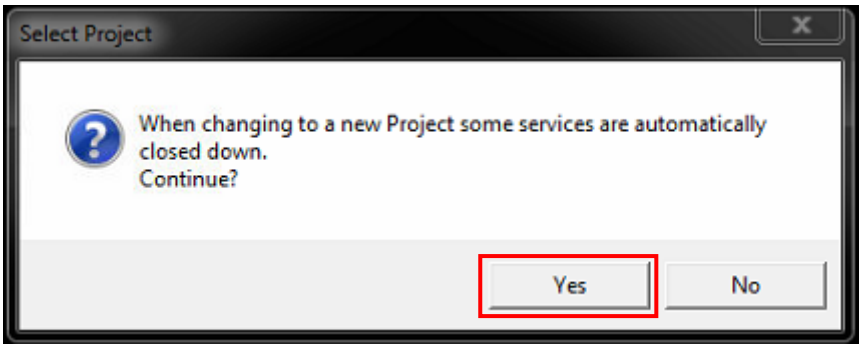
A. 執行 MassLynx 軟體 

。

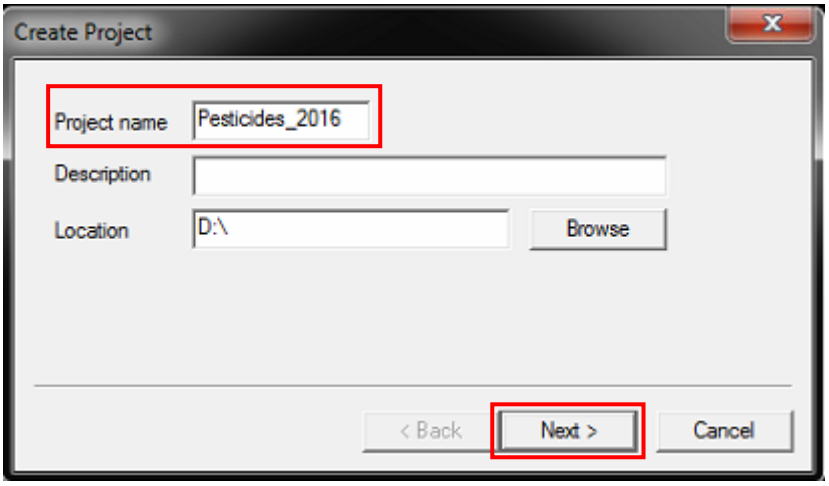
B. 選擇 File > Project Wizard。



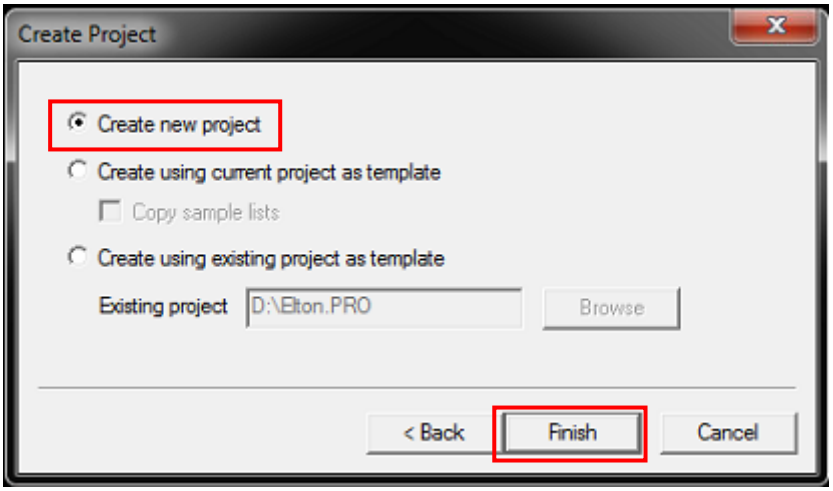
C. 按下 Yes



D. 在 Project name 輸入專案資料夾名稱後，按下 Next

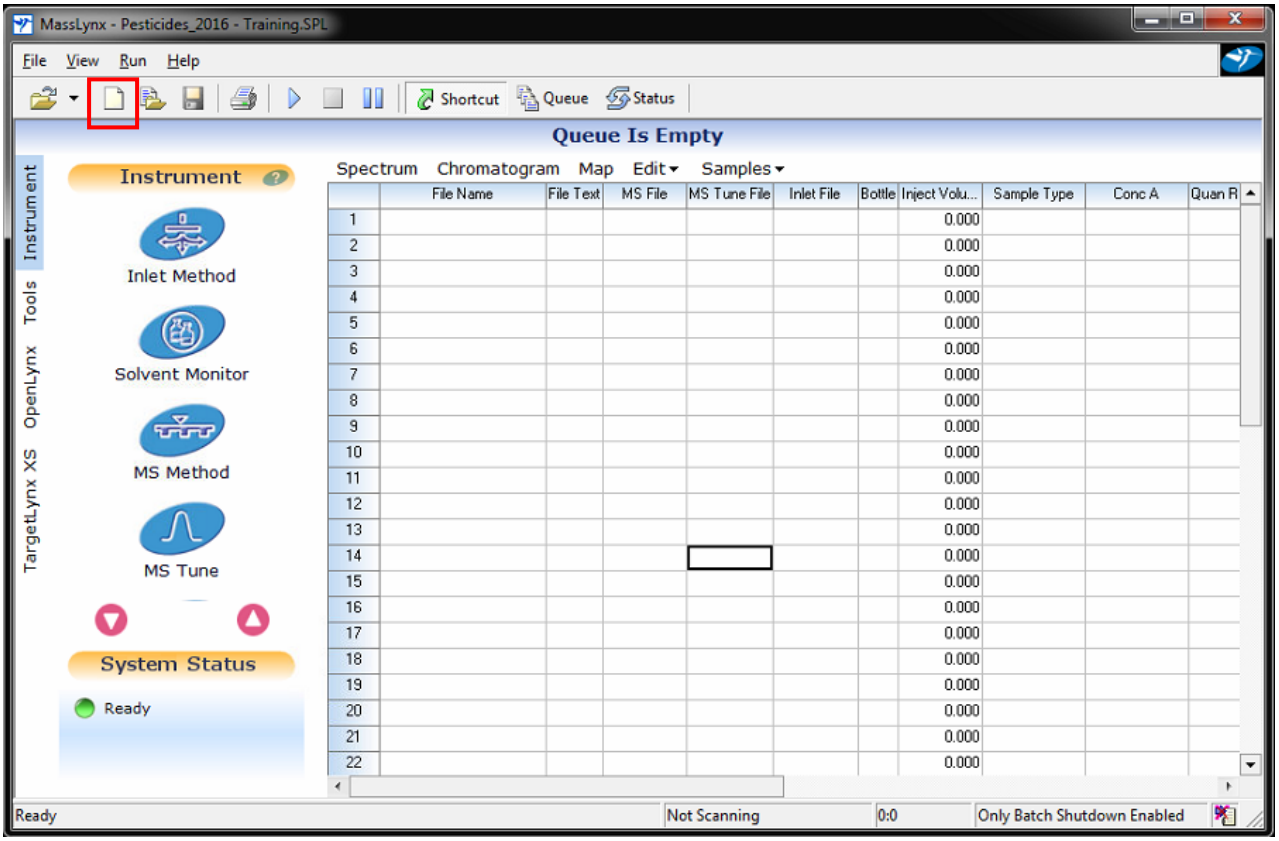


E. 選擇 Create new project，按下 Finish

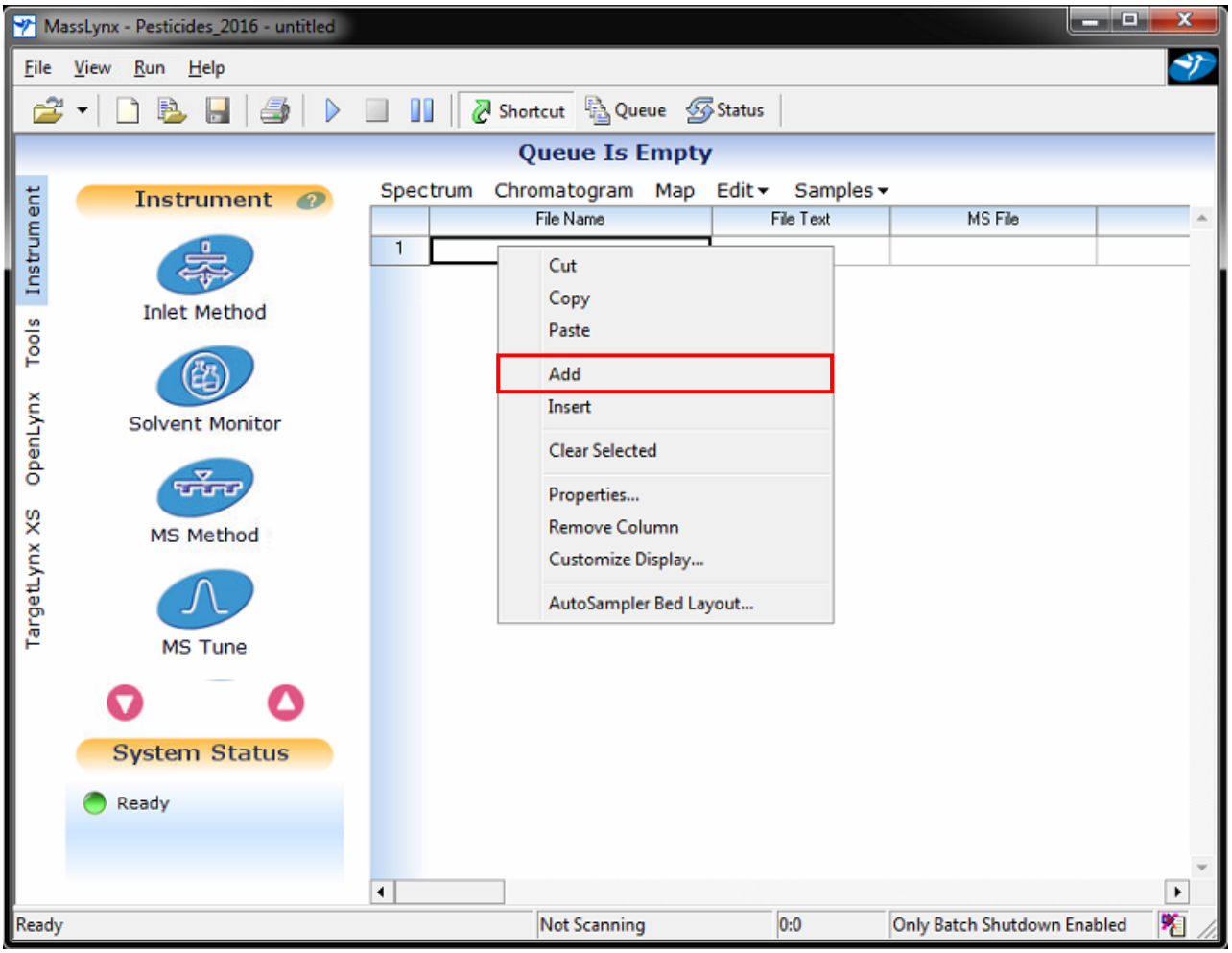


2. 建立樣品清單 Sample List

A. 按下按鈕，建立新的樣品清單。



B. 在表格空白欄位處，按下滑鼠右鍵，選擇 Add。

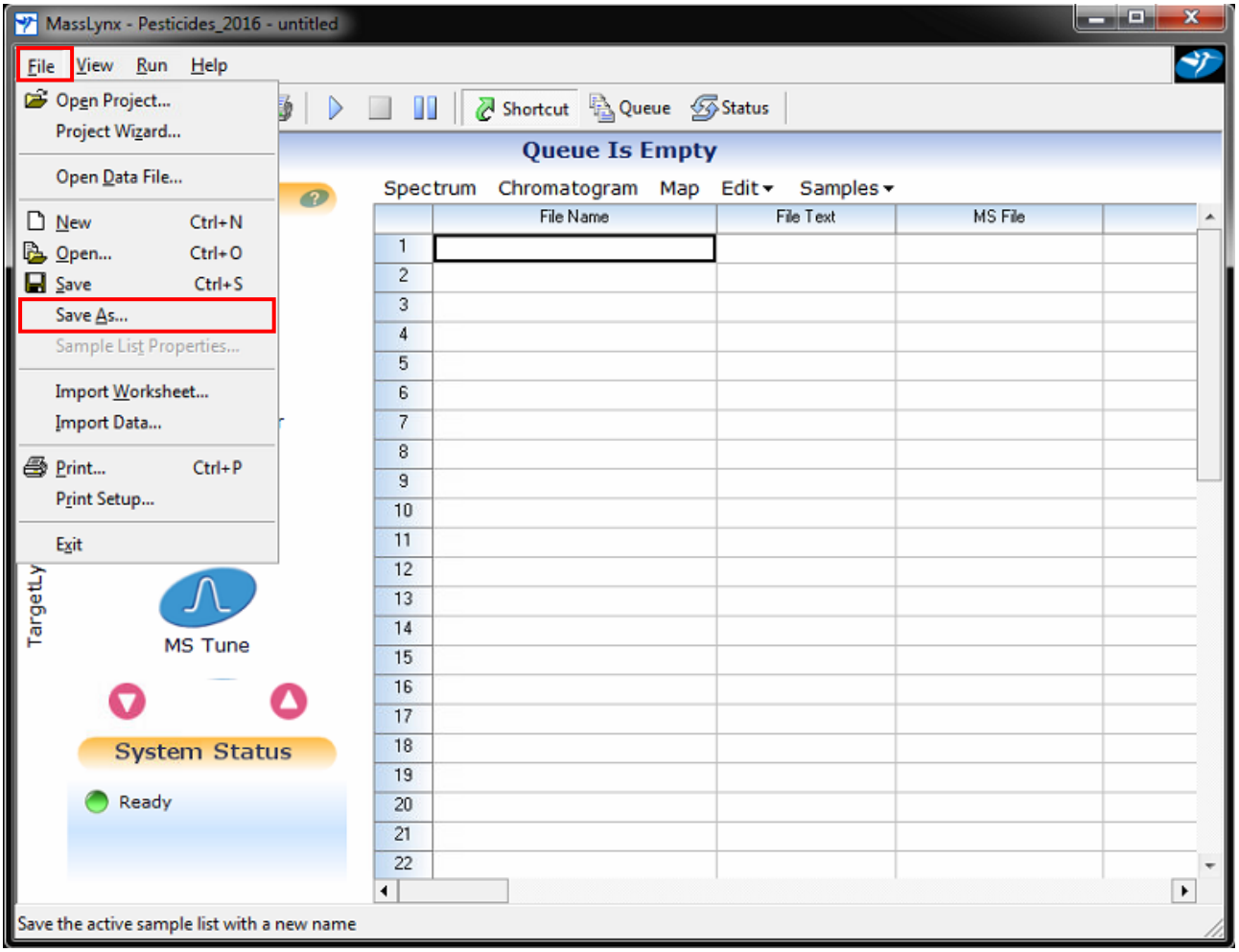


C. 輸入想增加的 Sample List 表格列數，按下 OK。

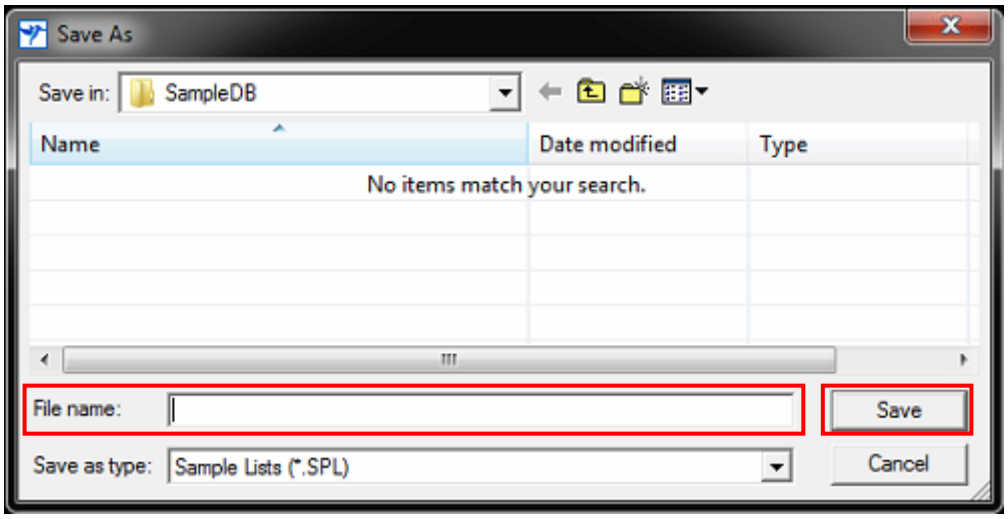


D. 點選 Samples

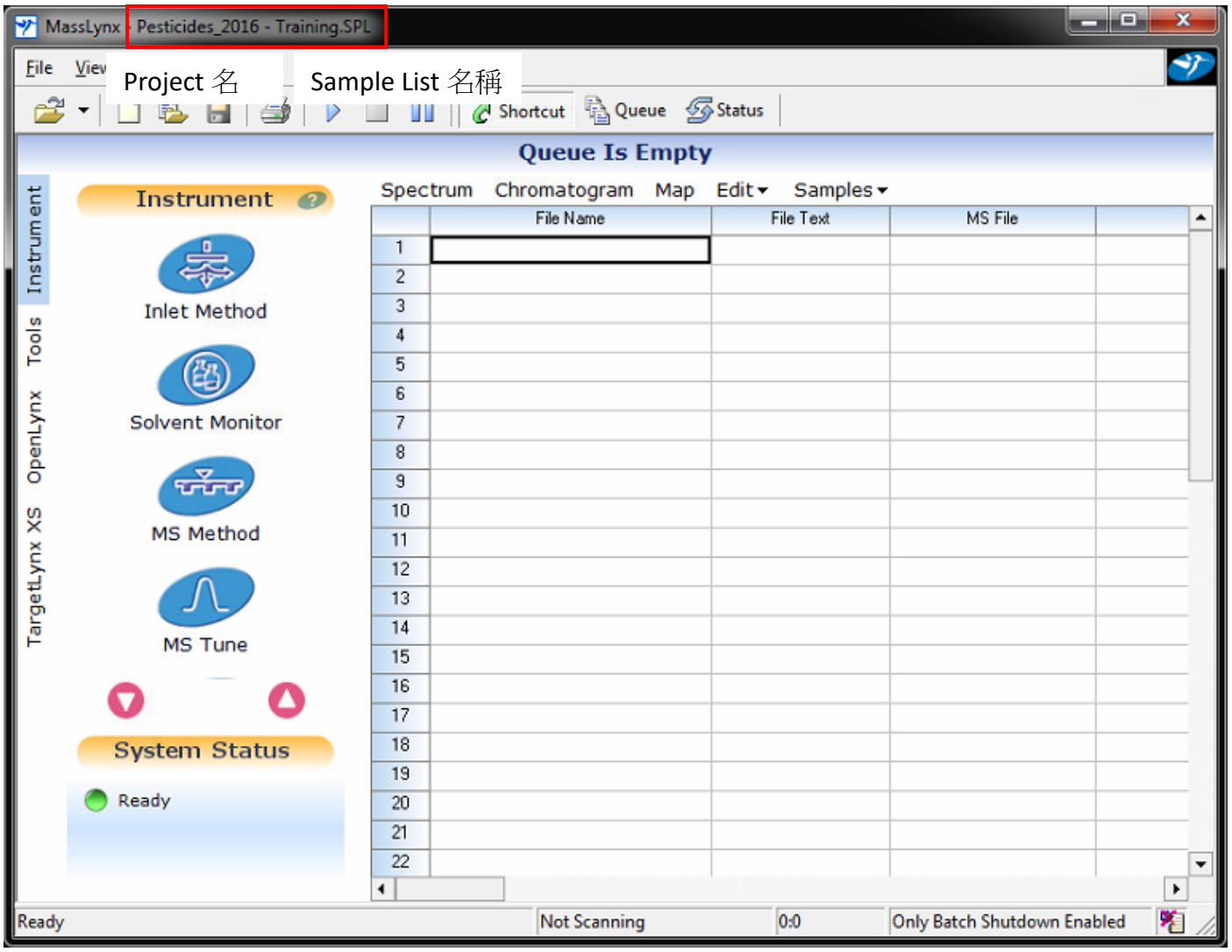
E. 選擇 File > Save as，以儲存樣品清單名稱。



F. 輸入樣品清單名稱後，按下 Save。



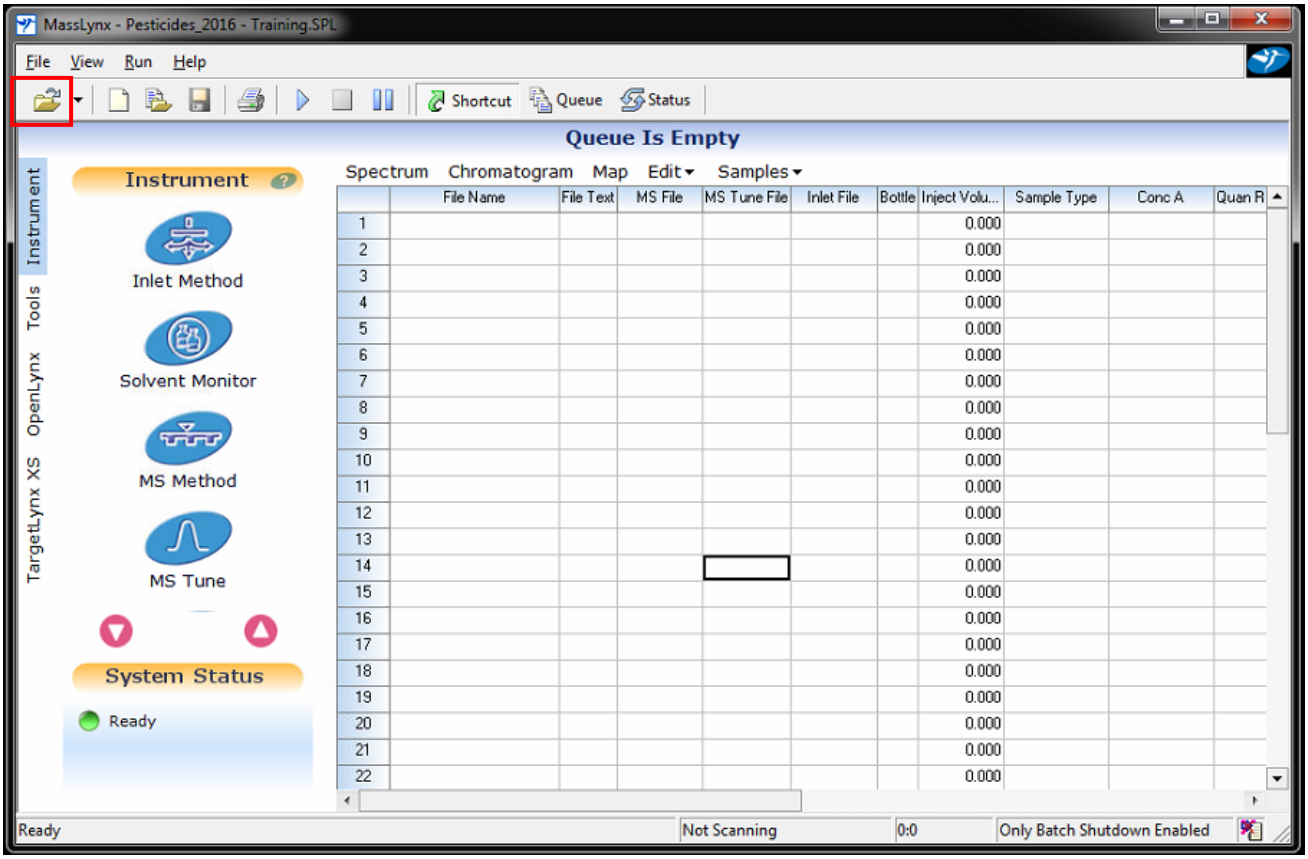
G. 視窗上出現 Project 與 Sample List 名稱即建立完成。



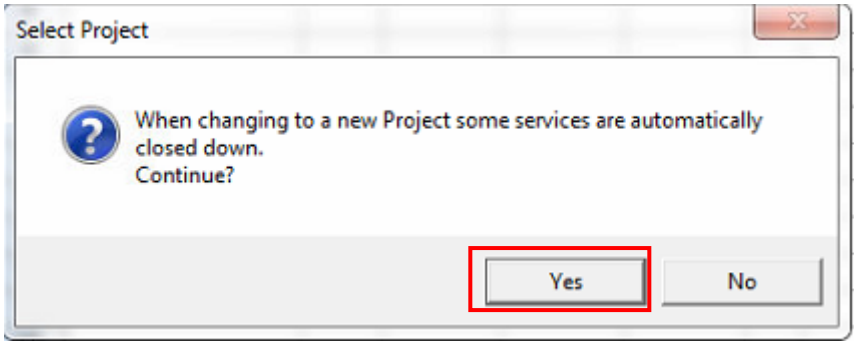
II. 切換專案資料夾 Project 與樣品清單(Sample List)

1. 切換專案資料夾 Project

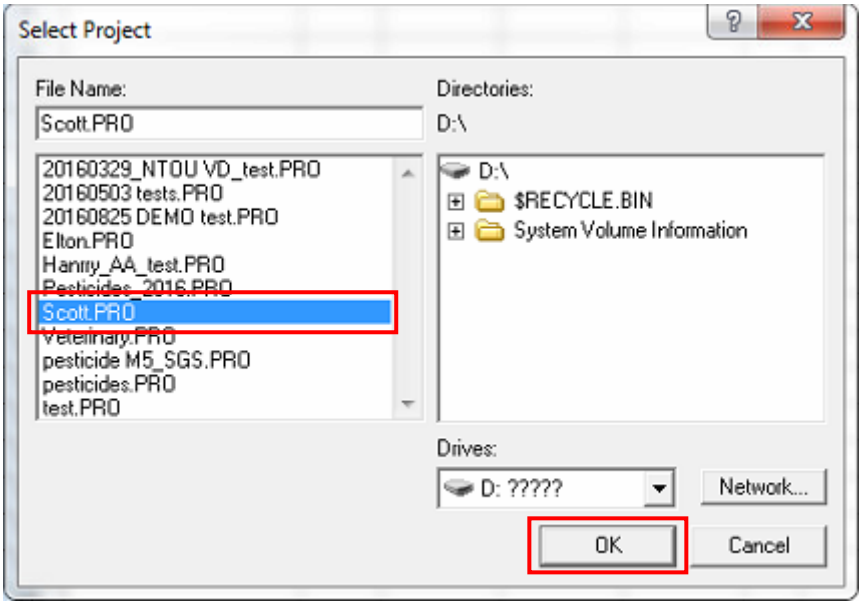
A. 點選按鈕。



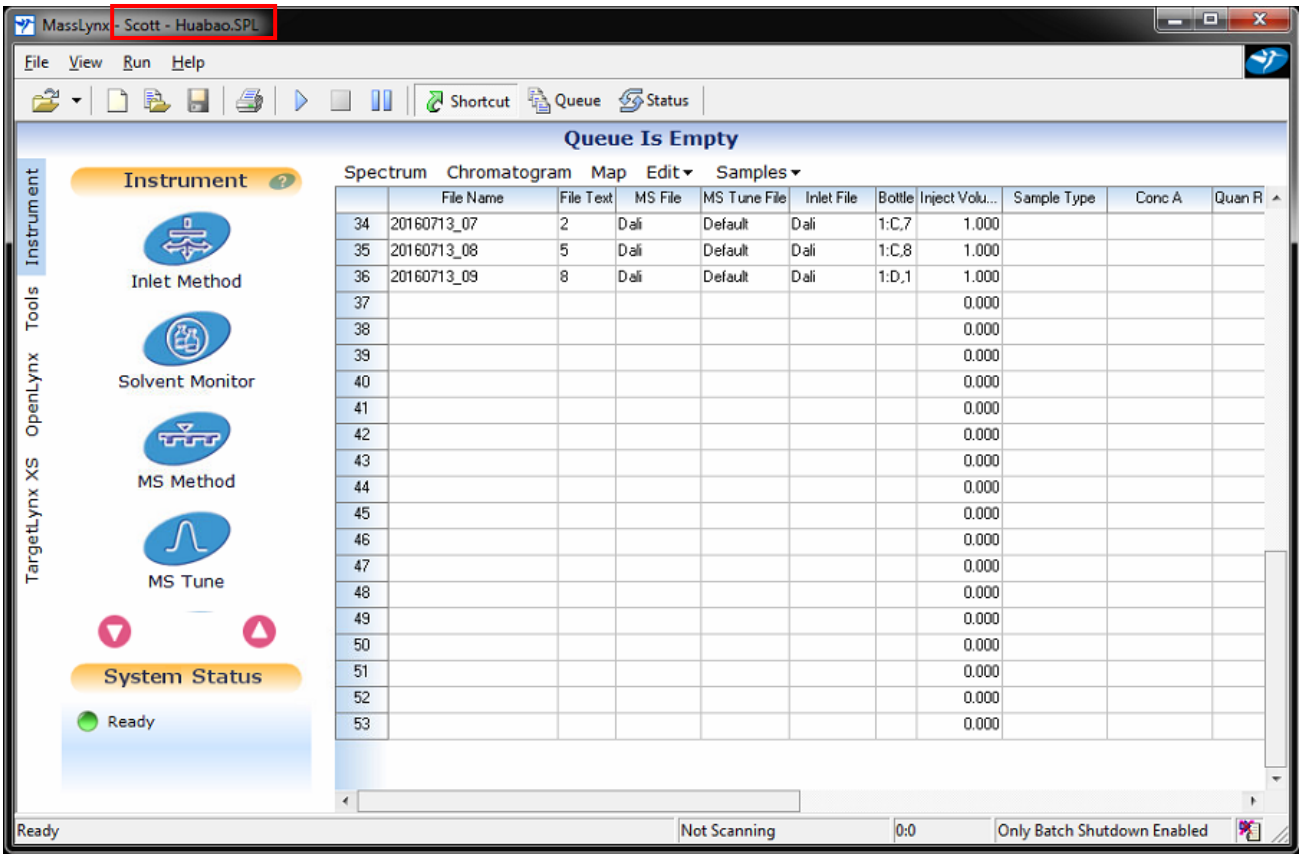
B. 按下 Yes。



C. 在左側選擇專案資料夾，按下 OK。

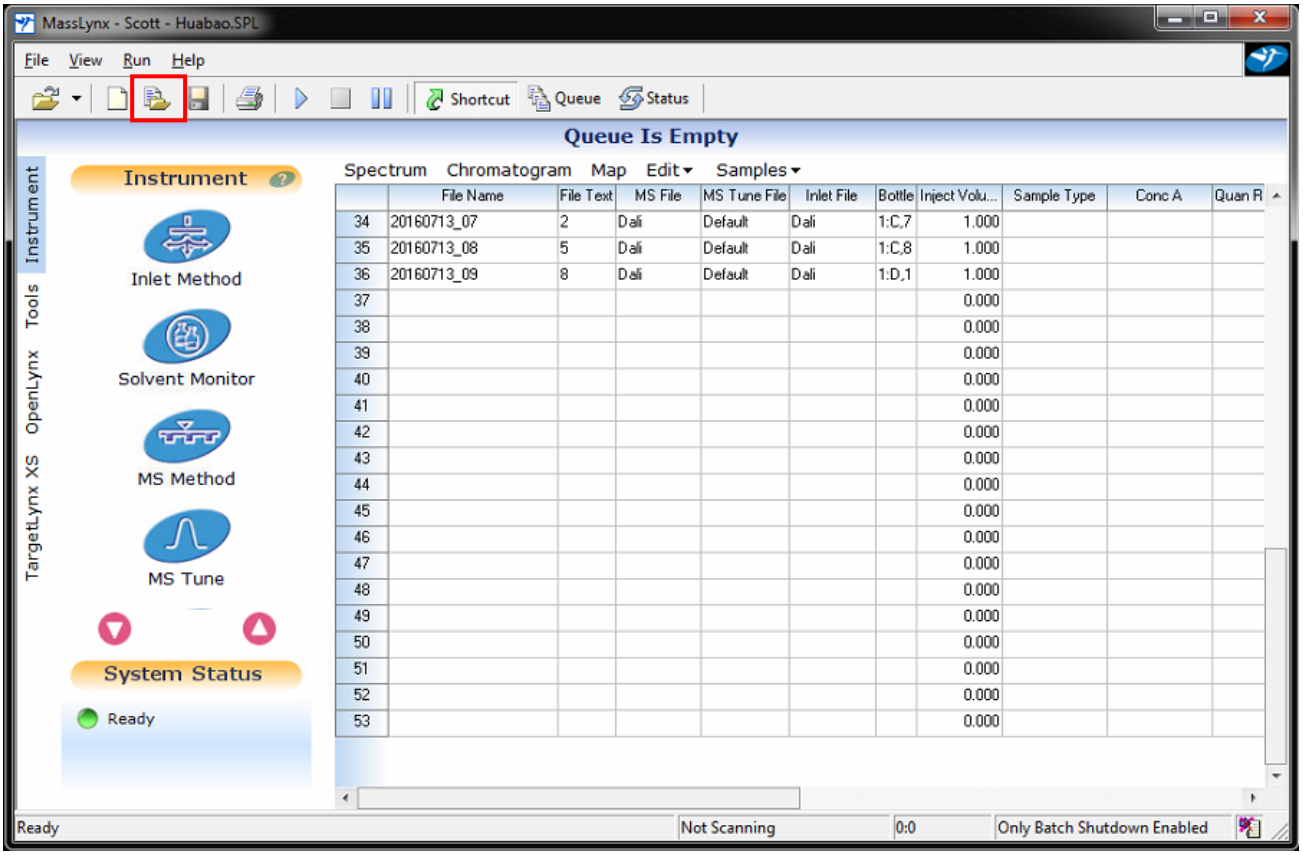


D. 軟體開啟專案資料夾後，會自動開啟此資料夾最後一次執行的樣品清單。

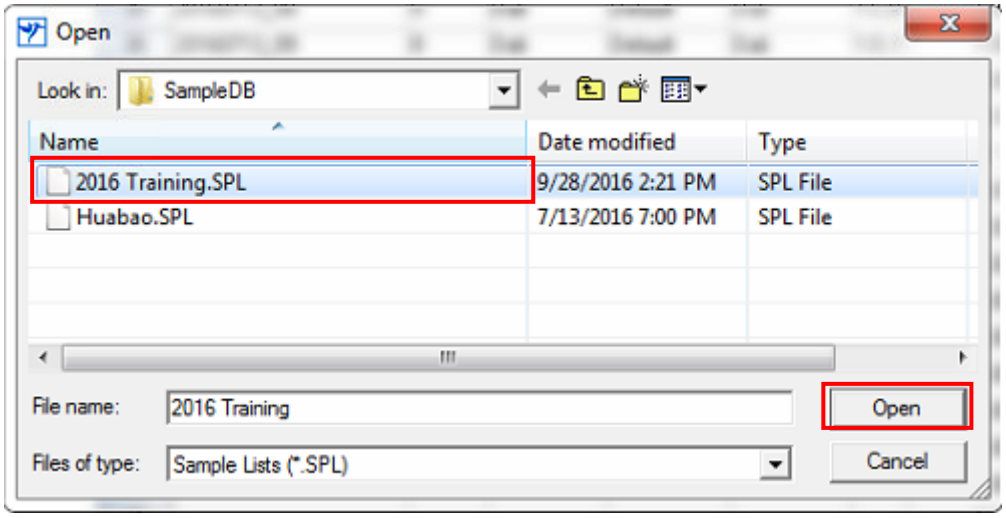


2. 切換樣品清單 Sample List

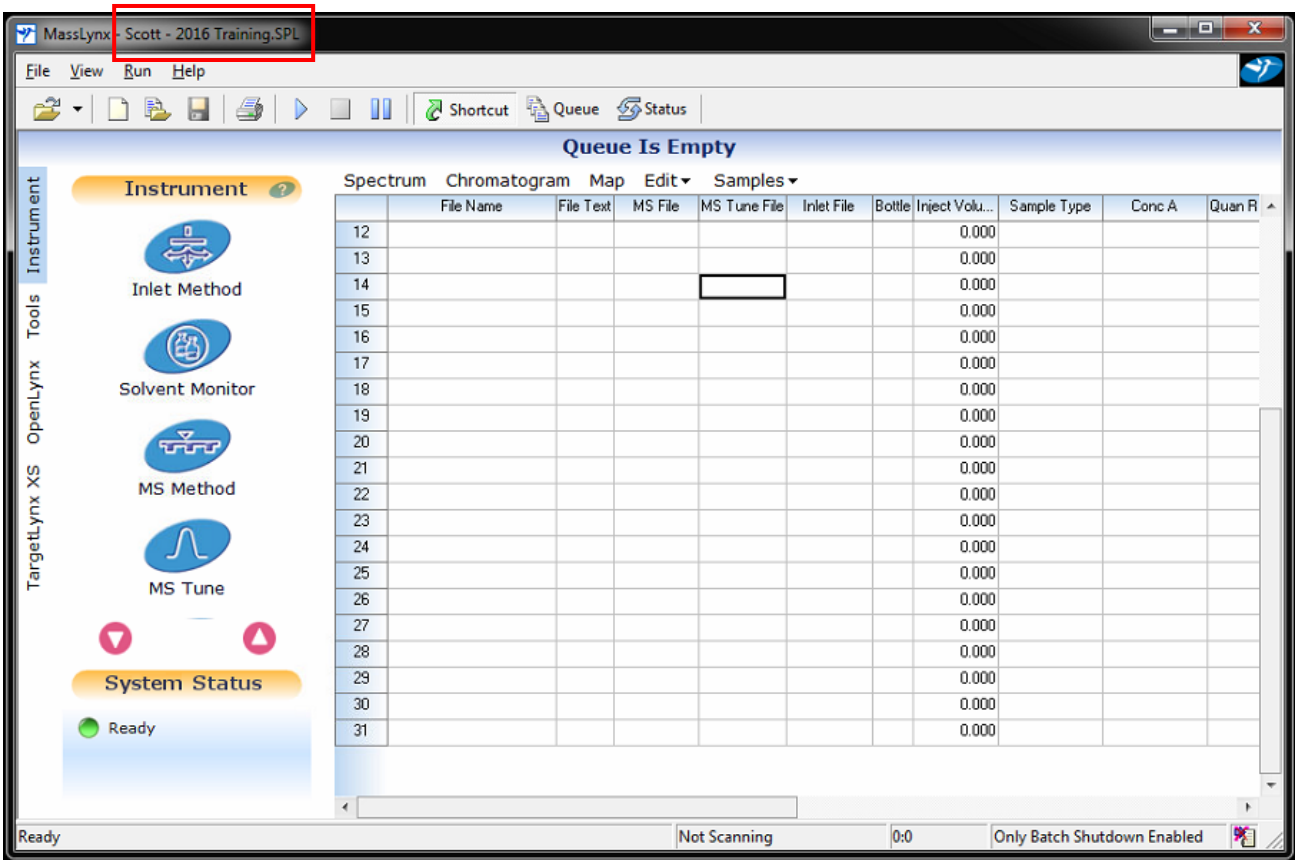
E. 點選按鈕。



F. 選擇樣品清單，按下 Open。



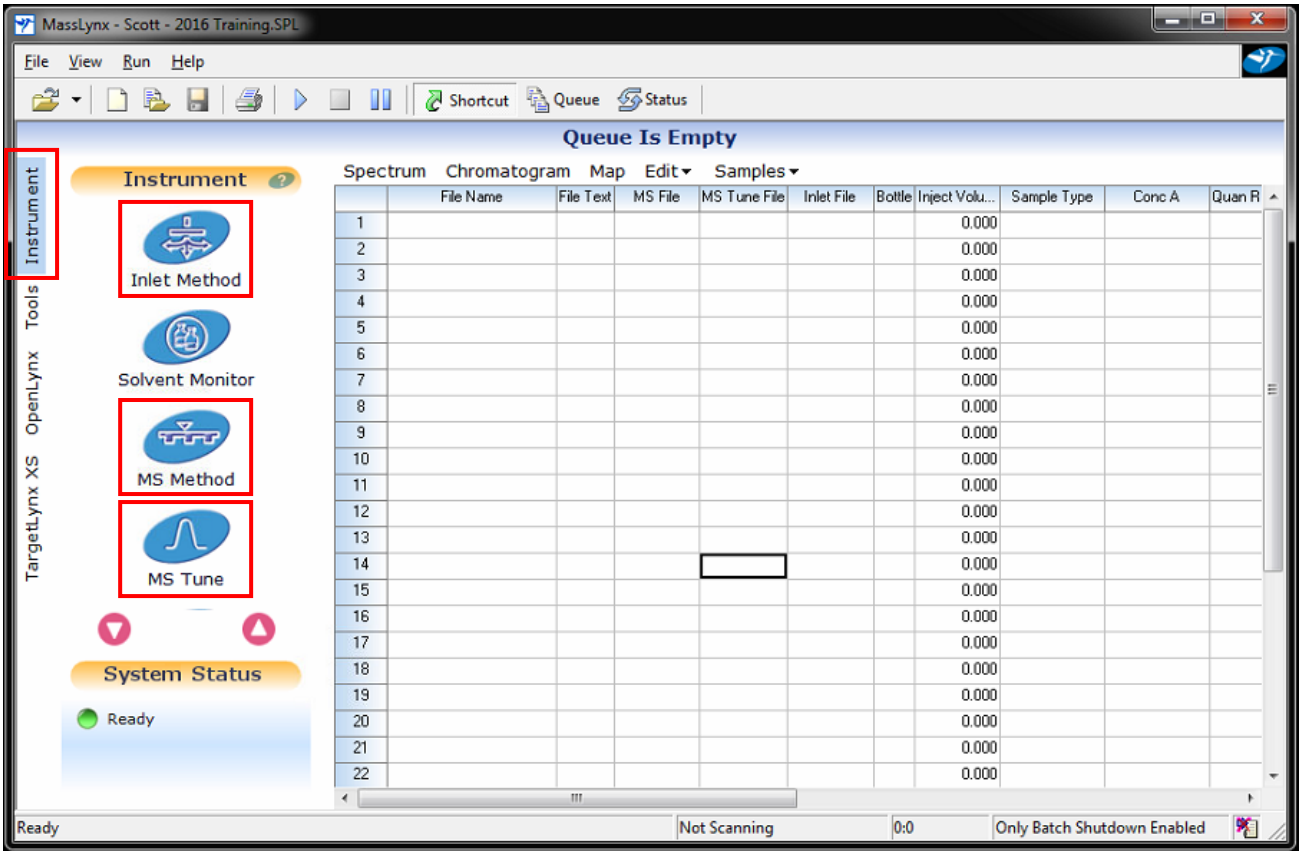
G. 樣品清單開啟成功


MassLynx - Scott - 2016 Training.SPL
File View Run Help
Shortcut Queue Status
Queue Is Empty
Instrument
Inlet Method
Solvent Monitor
MS Method
MS Tune
System Status
Ready
Instrument Tools OpenLynx TargetLynx XS
Spectrum Chromatogram Map Edit Samples
File Name File Text MS File MS Tune File Inlet File Bottle Inject Volu... Sample Type Conc A Quan R
Ready
Not Scanning
0:0
Only Batch Shutdown Enabled

III. 樣品分析

1. 建立儀器方法

A. 點選軟體畫面左側 Instrument 分頁。

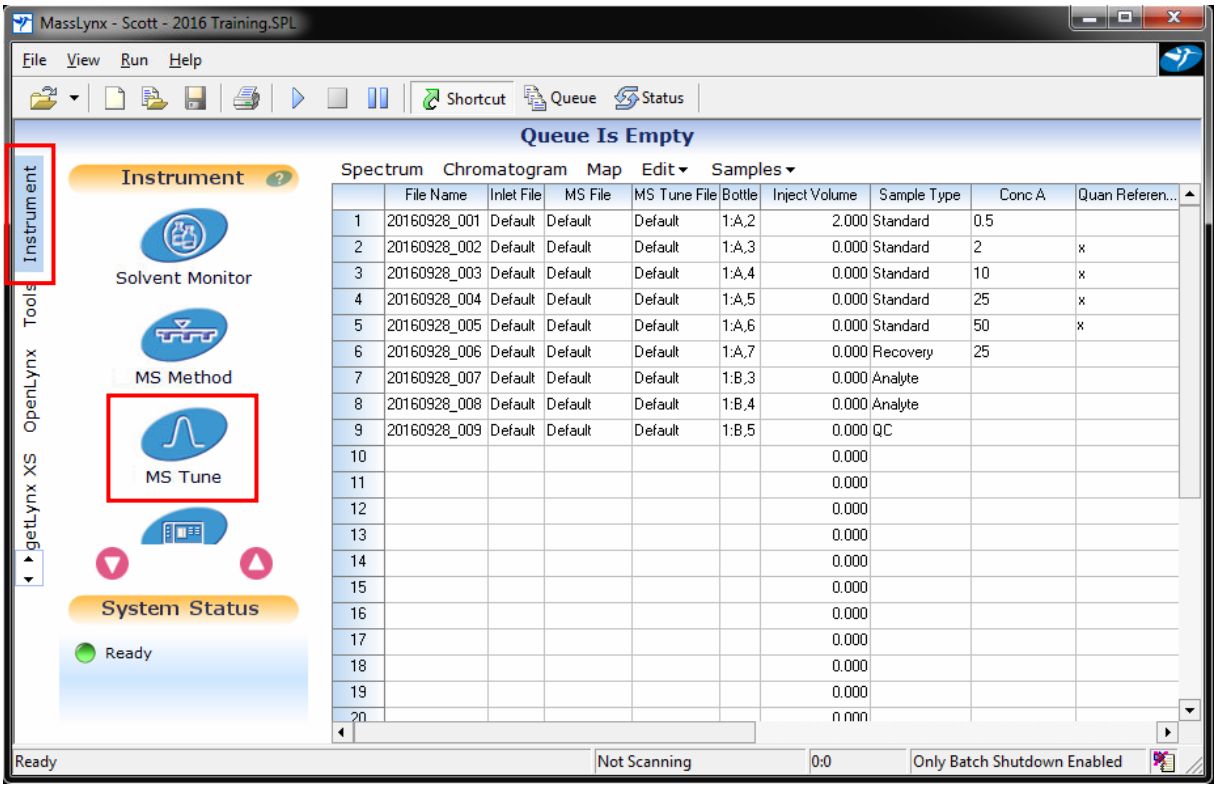


B. 儀器方法總共有以下三種，請參考**附錄一、儀器方法設定**，依序設定完成。

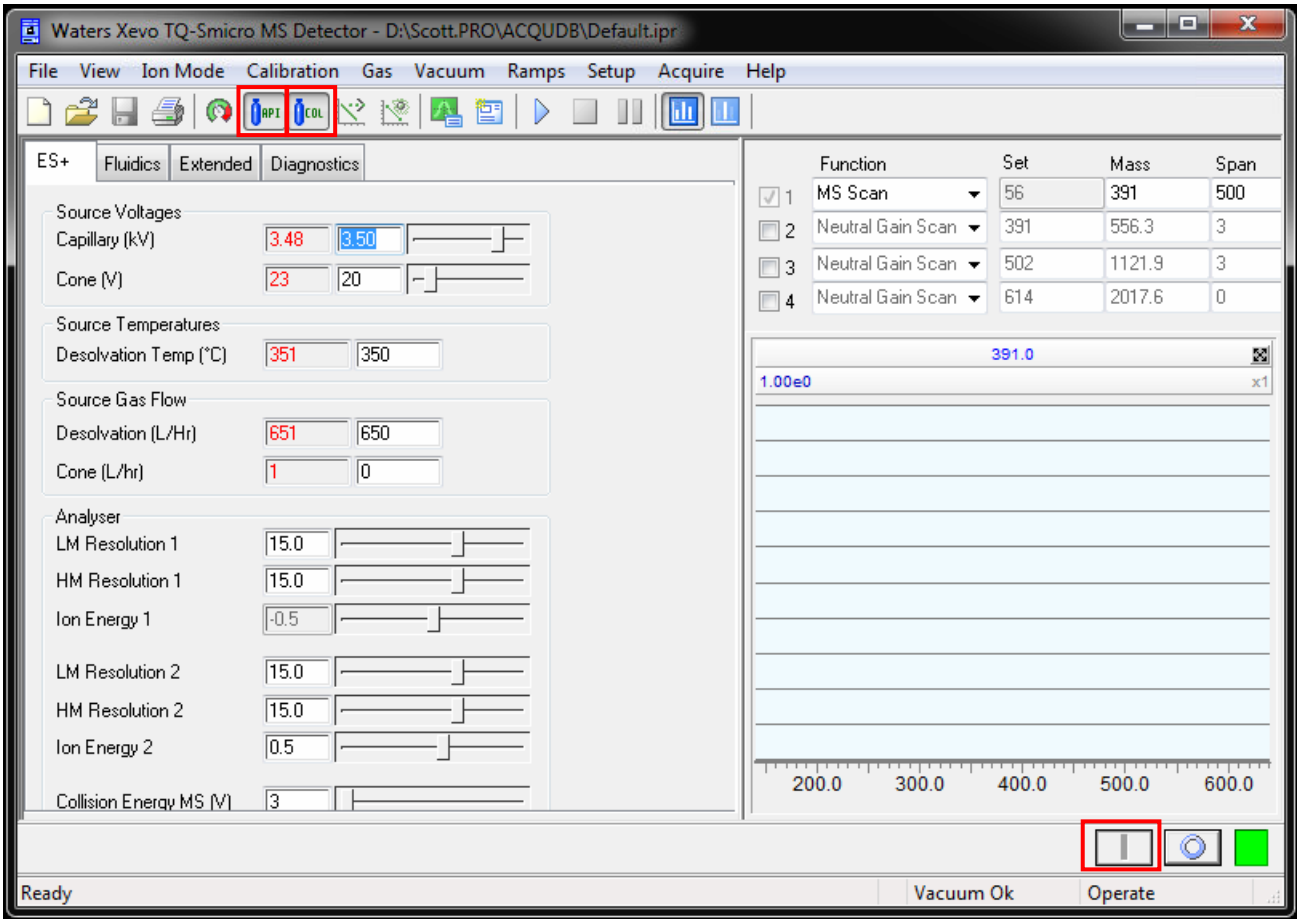
儀器方法種類	液相層析系統	質譜儀-數據紀錄	質譜儀-大氣游離法
設定按鈕圖示	Inlet Method	MS Method	MS Tune

2. 準備質譜儀系統-MS Tune

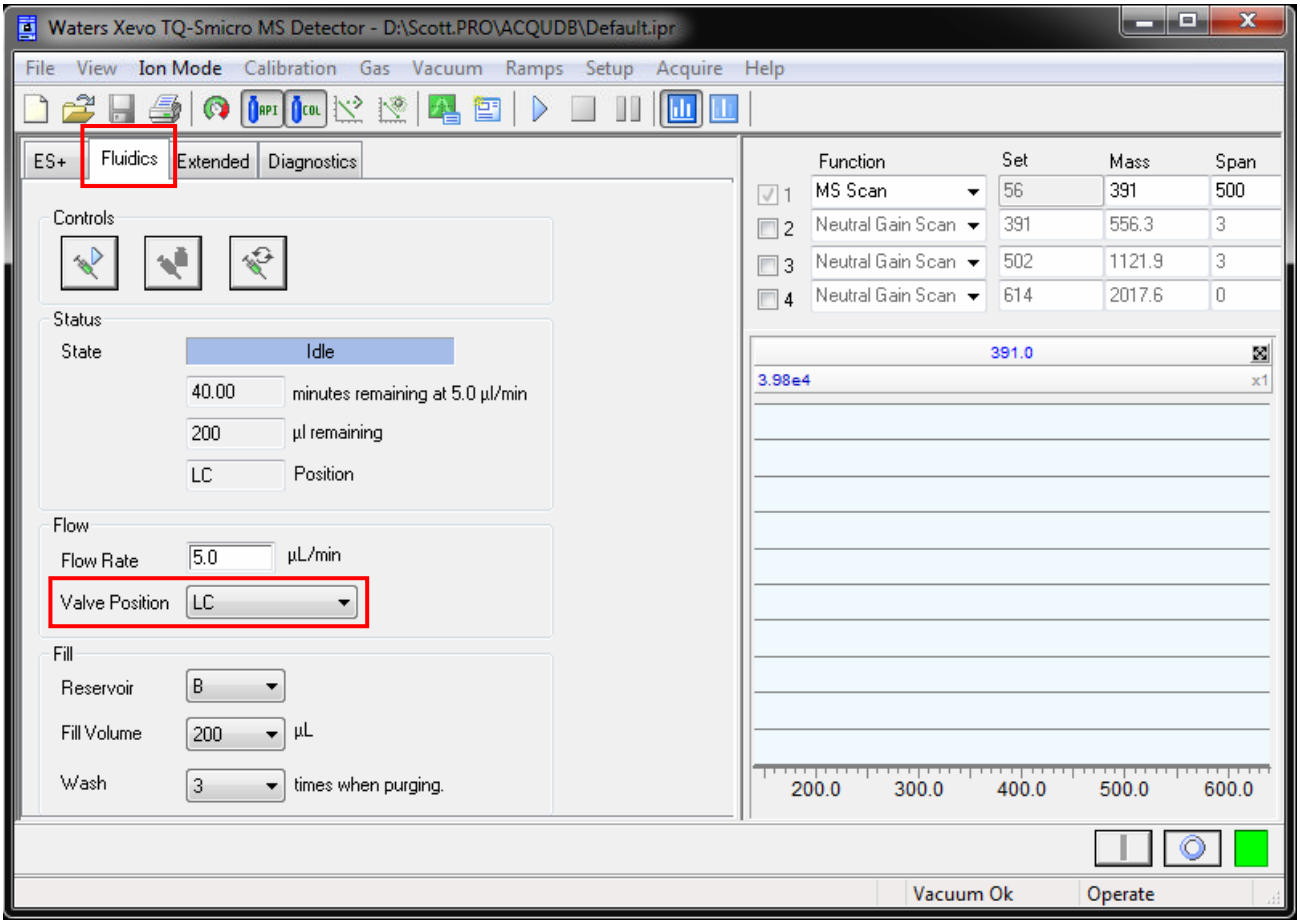
A. 點選左側 Instrument 分頁裡的 MS Tune，出現視窗。



B. 點選  按鈕，開啟氮氣，檢查 Desolvation(L/Hr) 與 Cone(L/Hr)有達到設定值。點選  按鈕，開啟氬氣。點選  按鈕，開啟電壓，檢查 Capillary (kV)、Cone (V)與 Desolvation Temp (℃)有達到設定值。



C. 切換到 Fluidics 分頁，將 Valve Position 轉換成 LC。

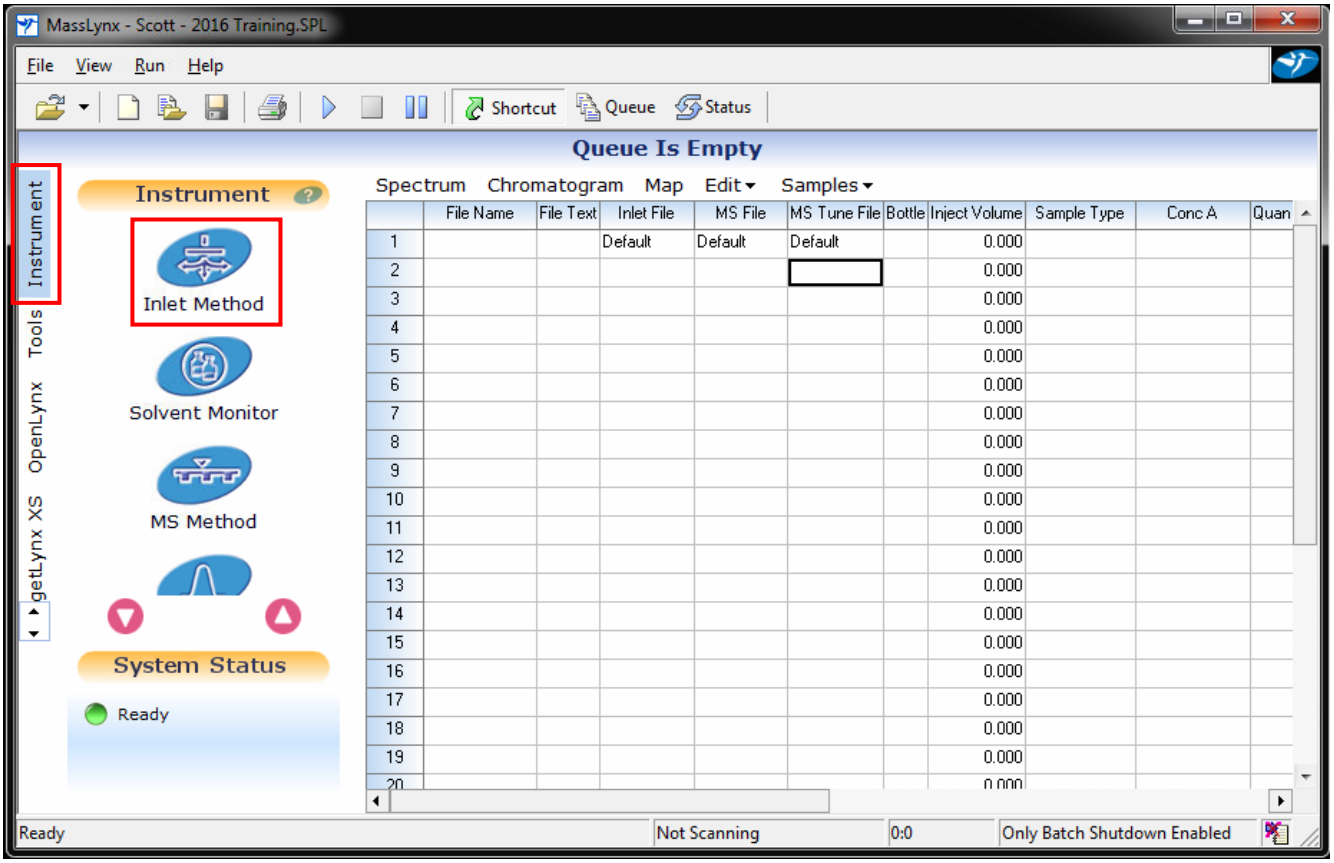


其他功能說明:

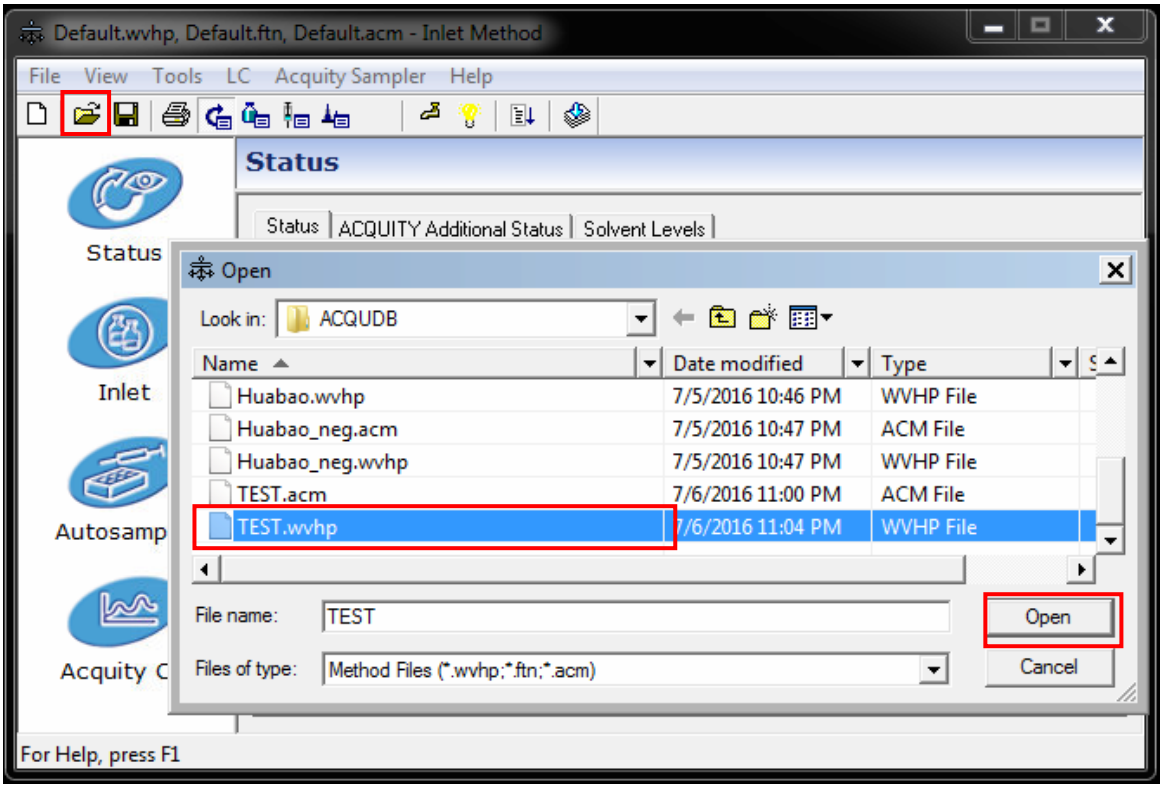
	質譜儀內建 Syringe 推送樣品
	質譜儀內建 Syringe 裝填樣品
	質譜儀內建 Syringe 清洗置換
Flow Rate	質譜儀內建 Syringe 直接進樣流速
Valve Position	質譜儀流路轉閥: Infusion - 只有質譜儀內建 Syringe 推送樣品電噴灑 Combine- 質譜儀內建 Syringe 推送樣品，並與移動相溶液結合後才電噴灑。移動相溶液流速，需在 Console 畫面設定 (p.23)。 LC- 將層析系統導入電噴灑 Waste- 將層析系統導入廢液管
Reservoir	質譜儀內建 Syringe 要抽取樣品的位置
Wash	按鈕的清洗次數

3. 平衡液相層析系統-Inlet

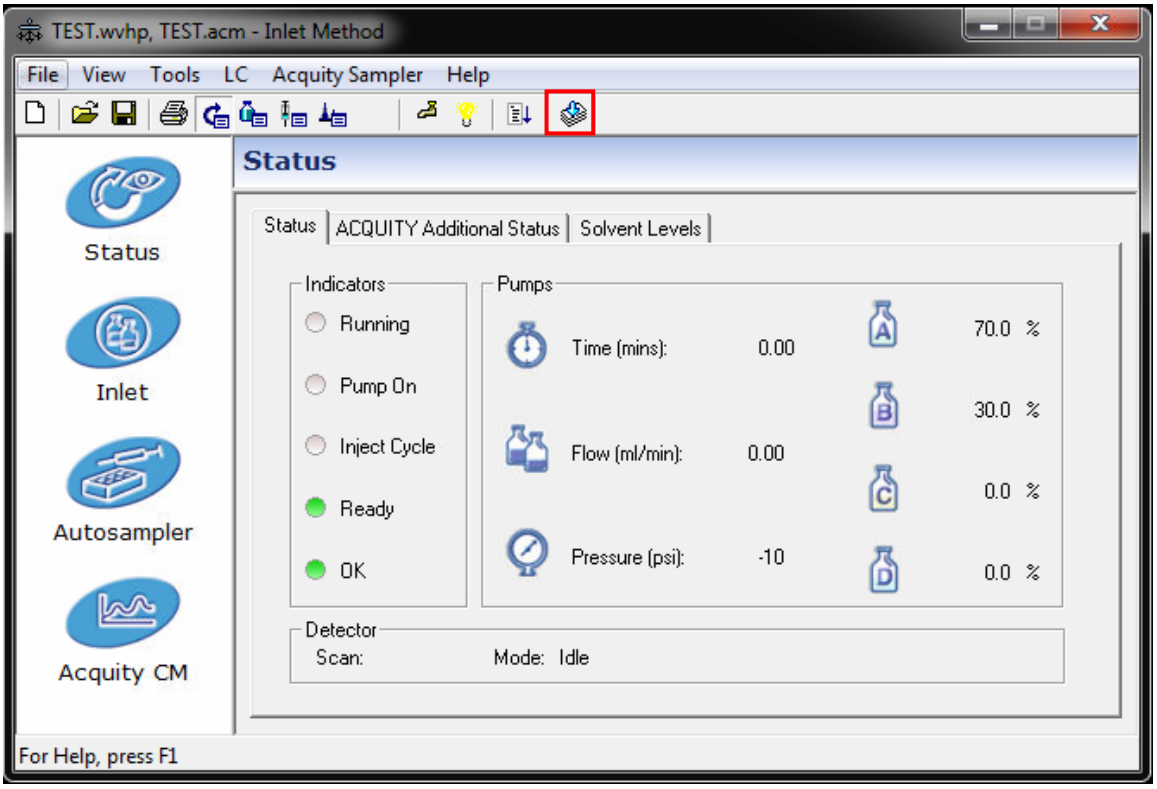
A. 點選左側 Instrument 分頁裡的 Inlet Method，出現視窗。



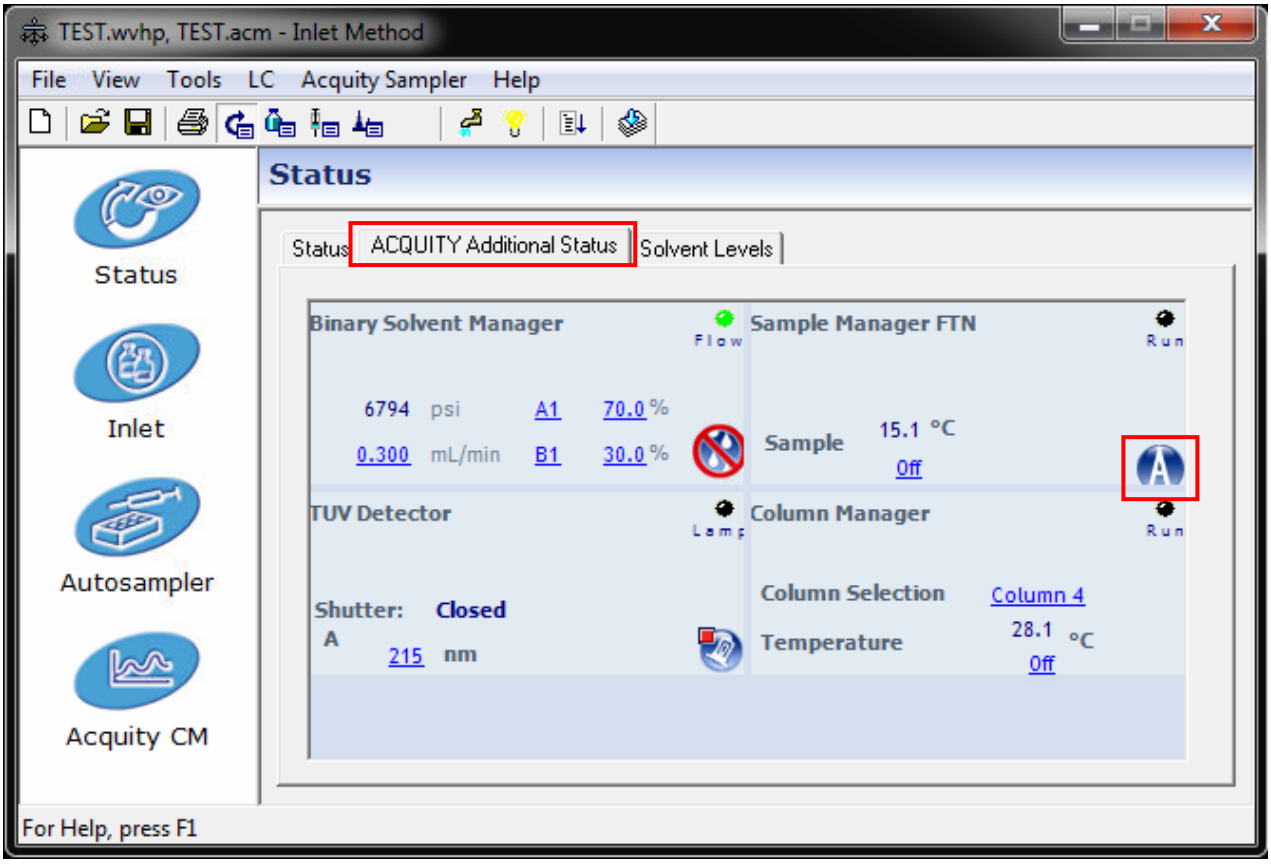
B. 點選視窗中的，選擇液相層析方法，按下 Open 開啟。



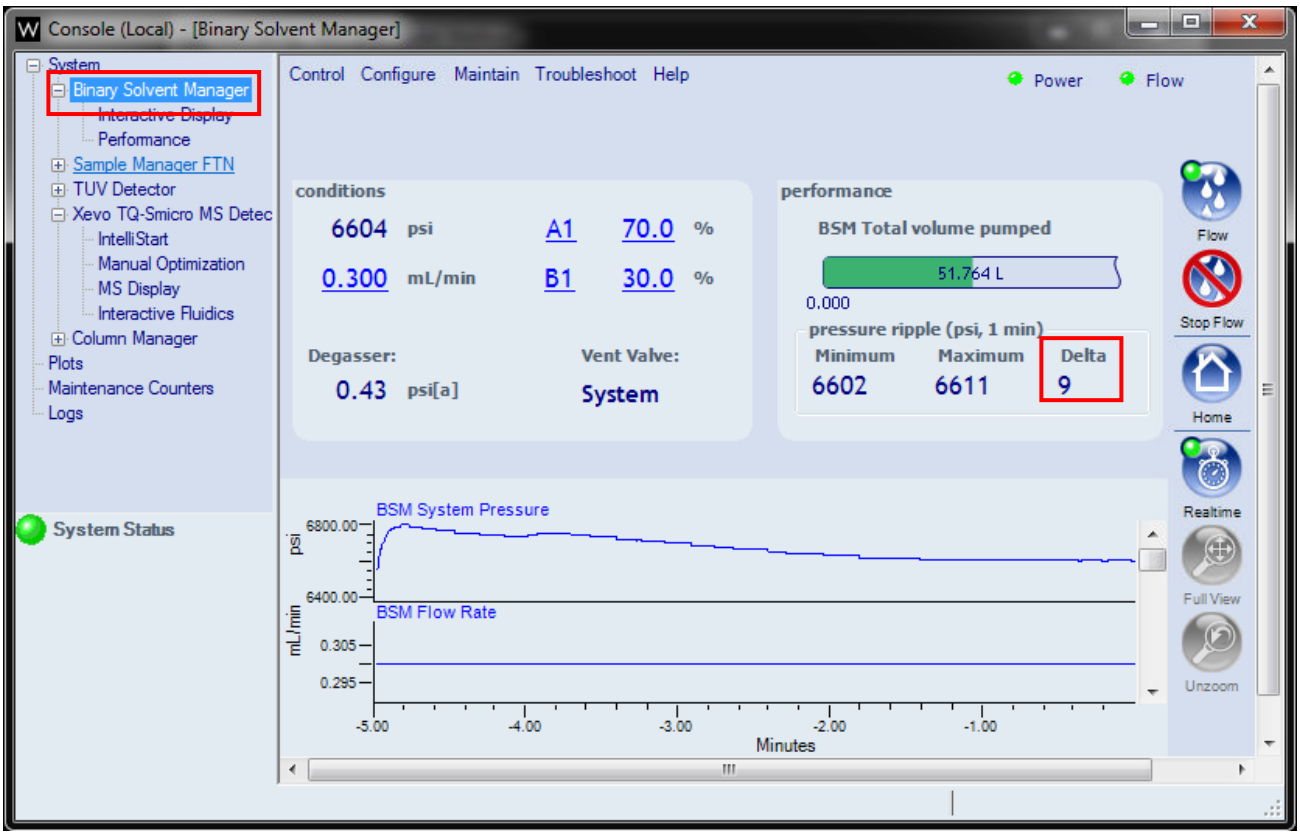
C. 按下按鈕，執行流速與移動相起始比例。



D. 切換到 ACQUITY Additional Status 分頁，點選  按鈕。

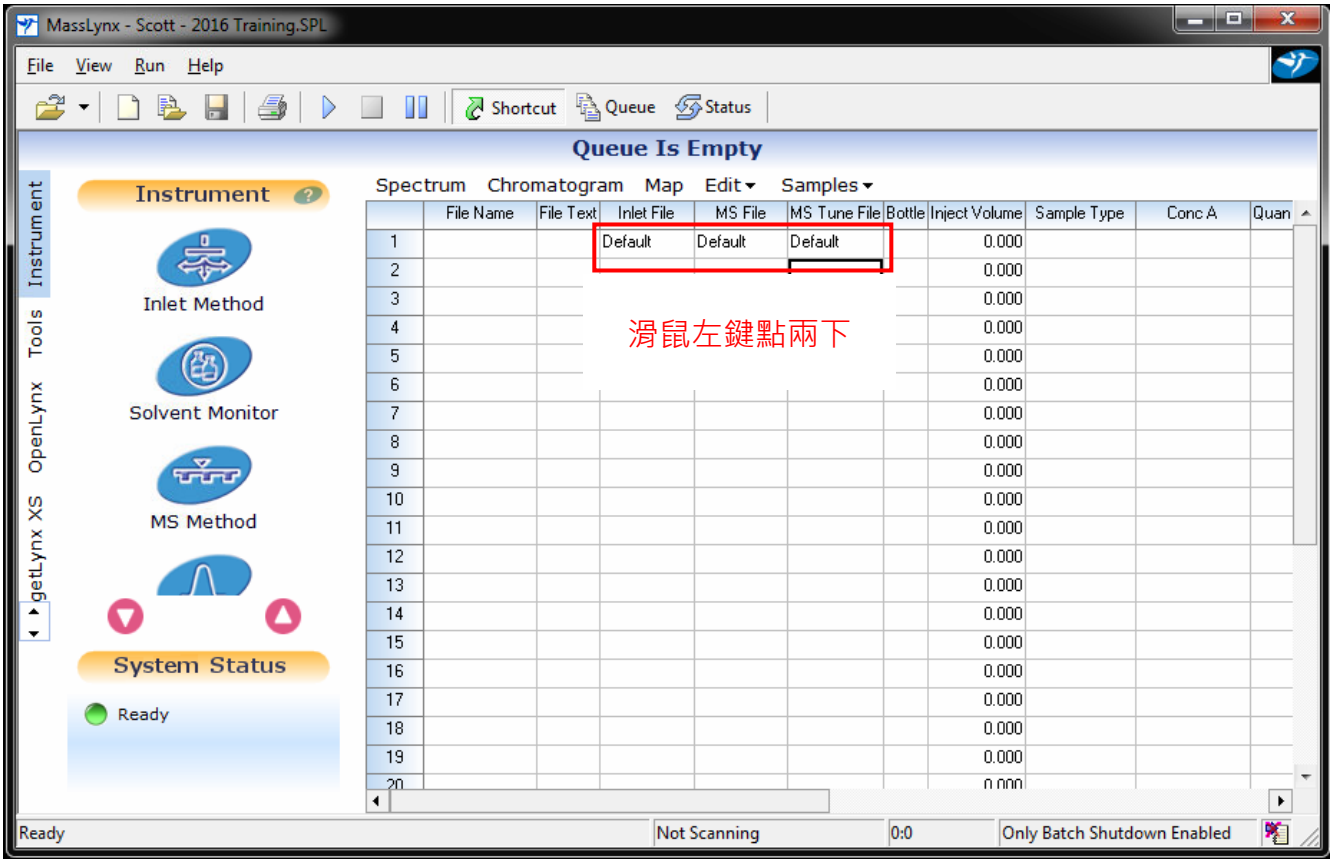


E. 出現視窗，點選左側泵浦選項，確認壓力差值 Delta 小於 50psi，即代表液相層析系統平衡穩定。

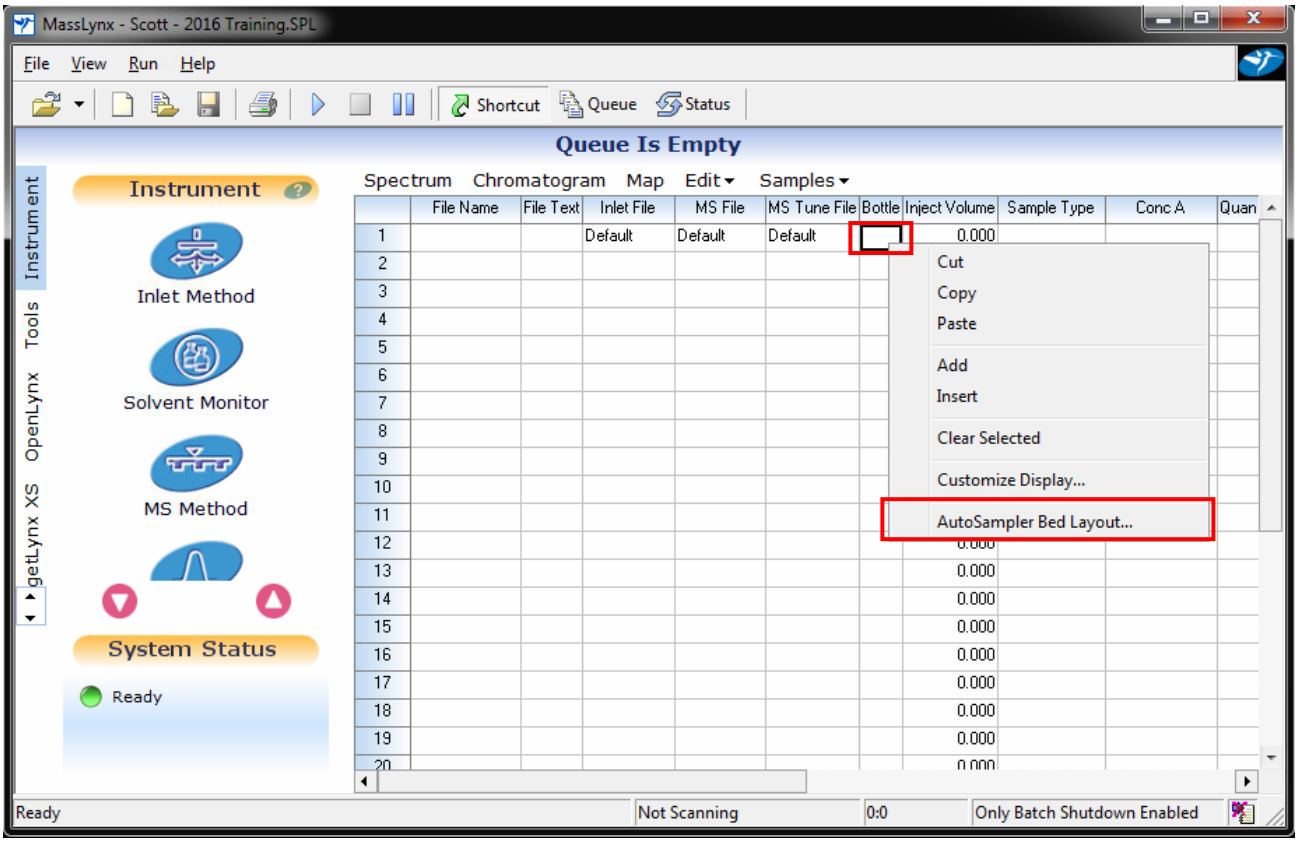


4. 編輯樣品清單

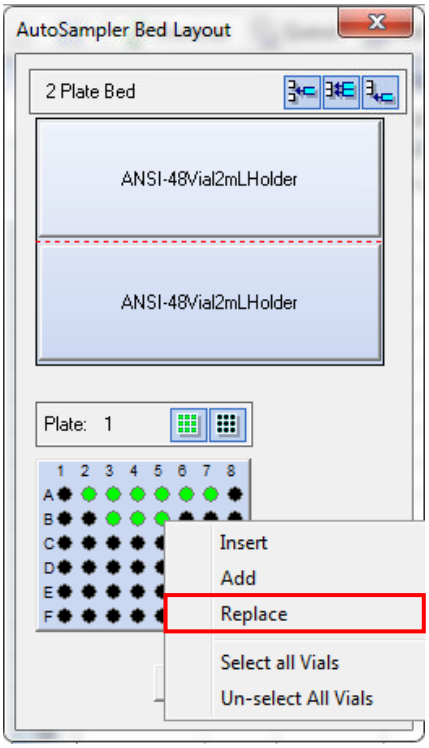
A. 分別在 Inlet File、MS File、MS Tune File 欄位點滑鼠左鍵兩下，即可選擇儀器方法。



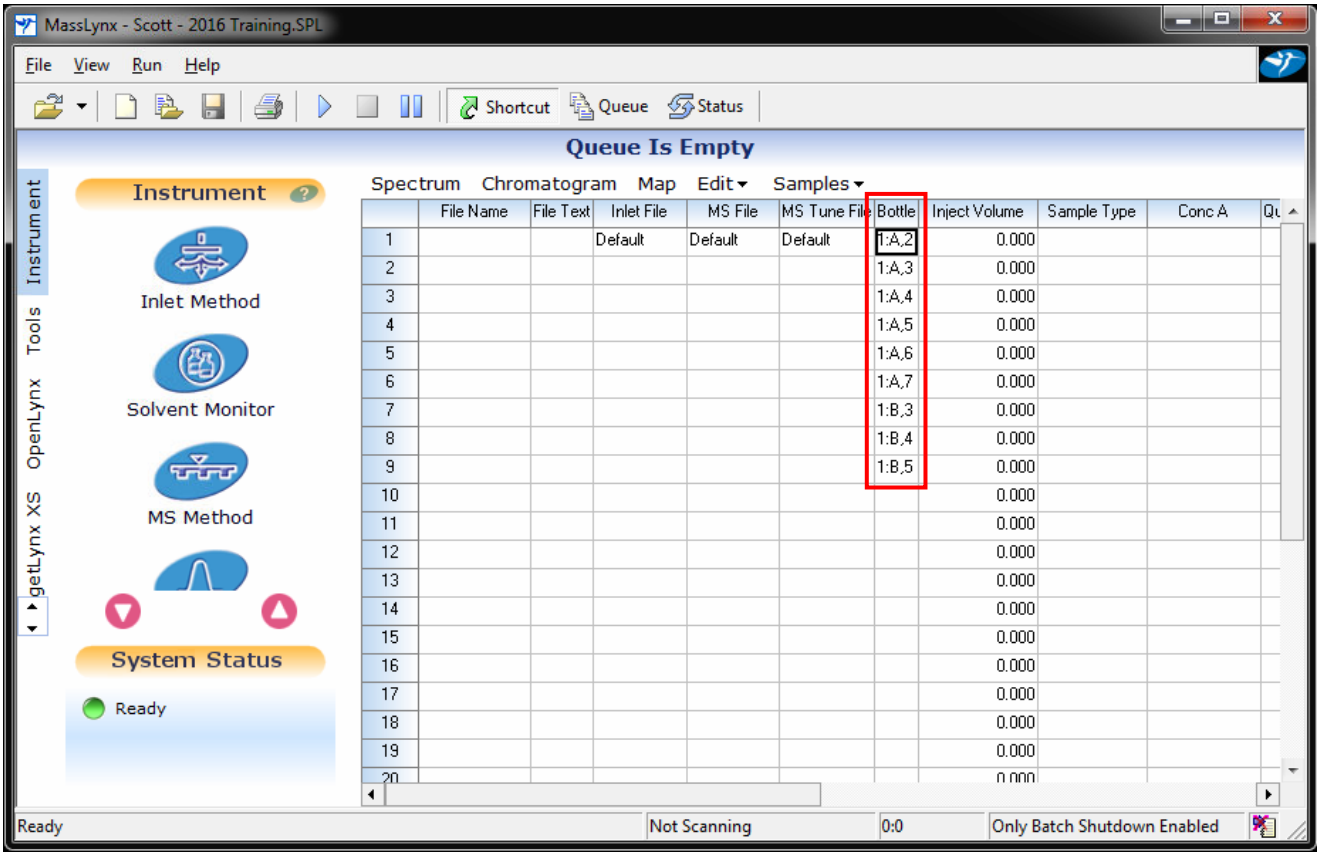
B. 在 Bottle 欄位按下滑鼠右鍵，選擇 Auto Sampler Bed Layout。



C. 在樣品盤示意圖點選樣品位置，按下滑鼠右鍵，選擇 Replace。



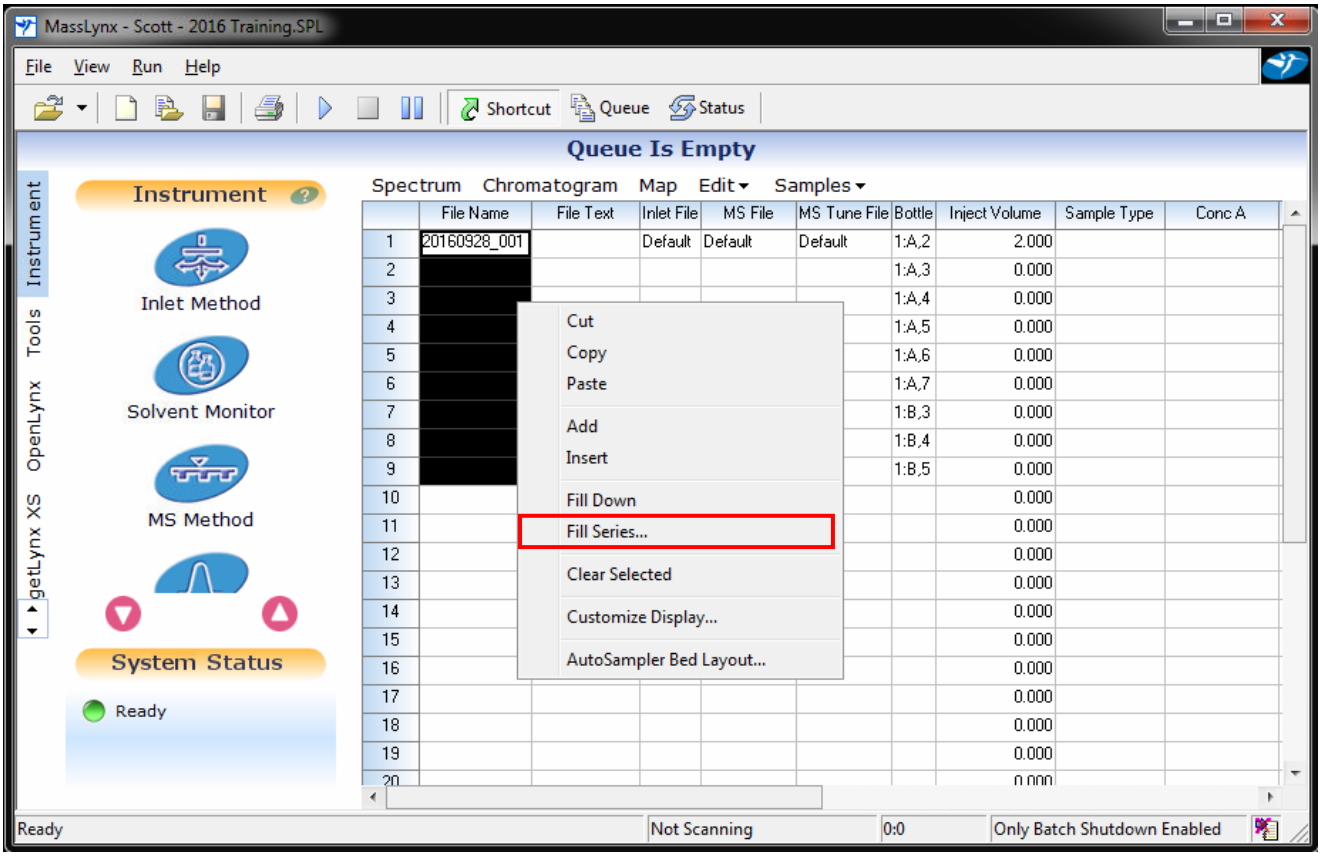
D. 樣品位置自動填入樣品清單中



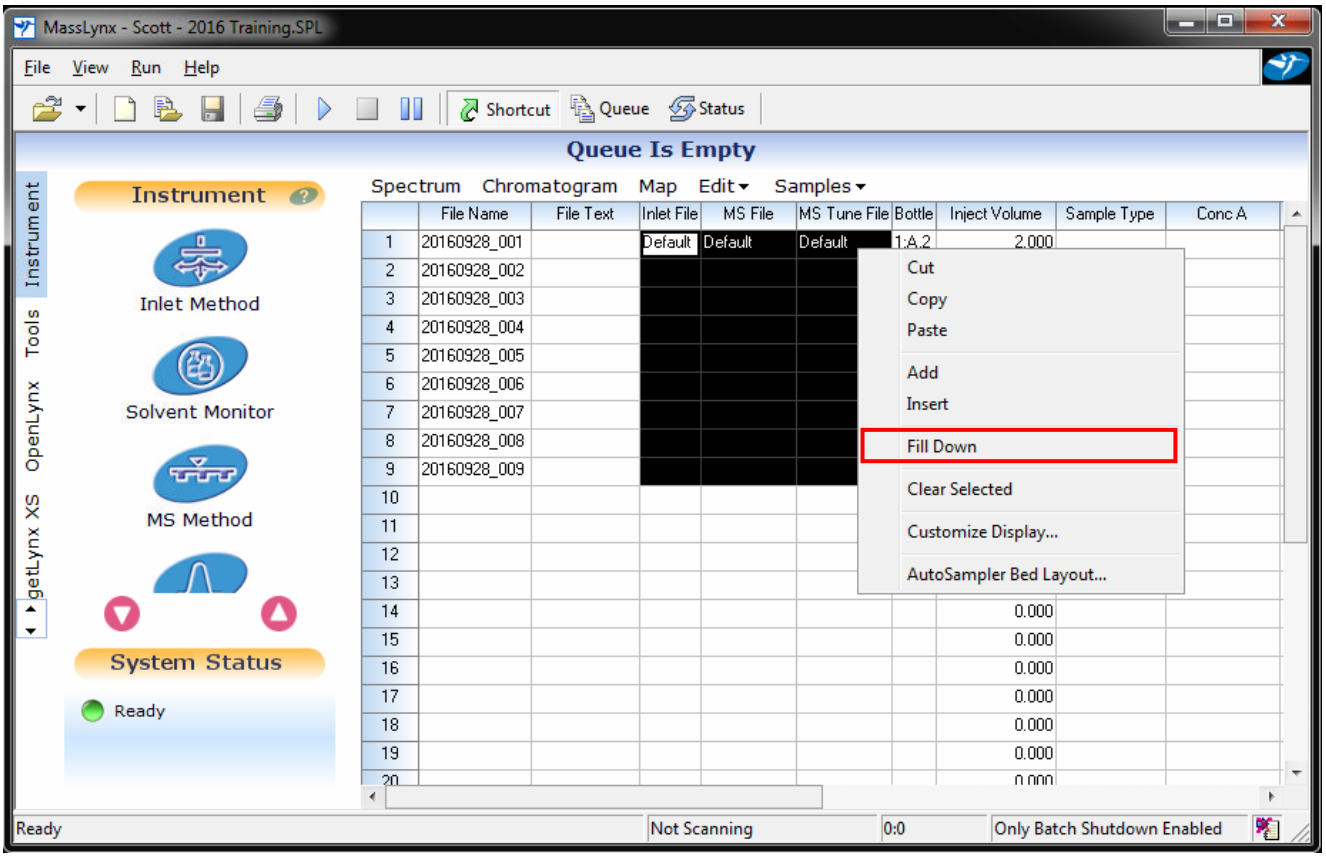
E. 輸入其他欄位，欄位說明如下表

欄位名稱	填入內容
File Name	樣品檔案名稱，建議以不會重複的流水編號命名。例如:20160928_001、20160928_002...等。
File Text	樣品註解資訊。
Injection Volume	樣品注射體積(μL)。
Sample Type	檔案類型。標準品選擇 Standard；樣品選擇 Analyte；品管標準品選擇 QC；回收率樣品選擇 Recovery。
Conc A/Conc B	標準品濃度或回收率樣品期望濃度。
Quan Reference	填入 x，此檔案會列入 TargetLynx 計算標準 ion ratio。

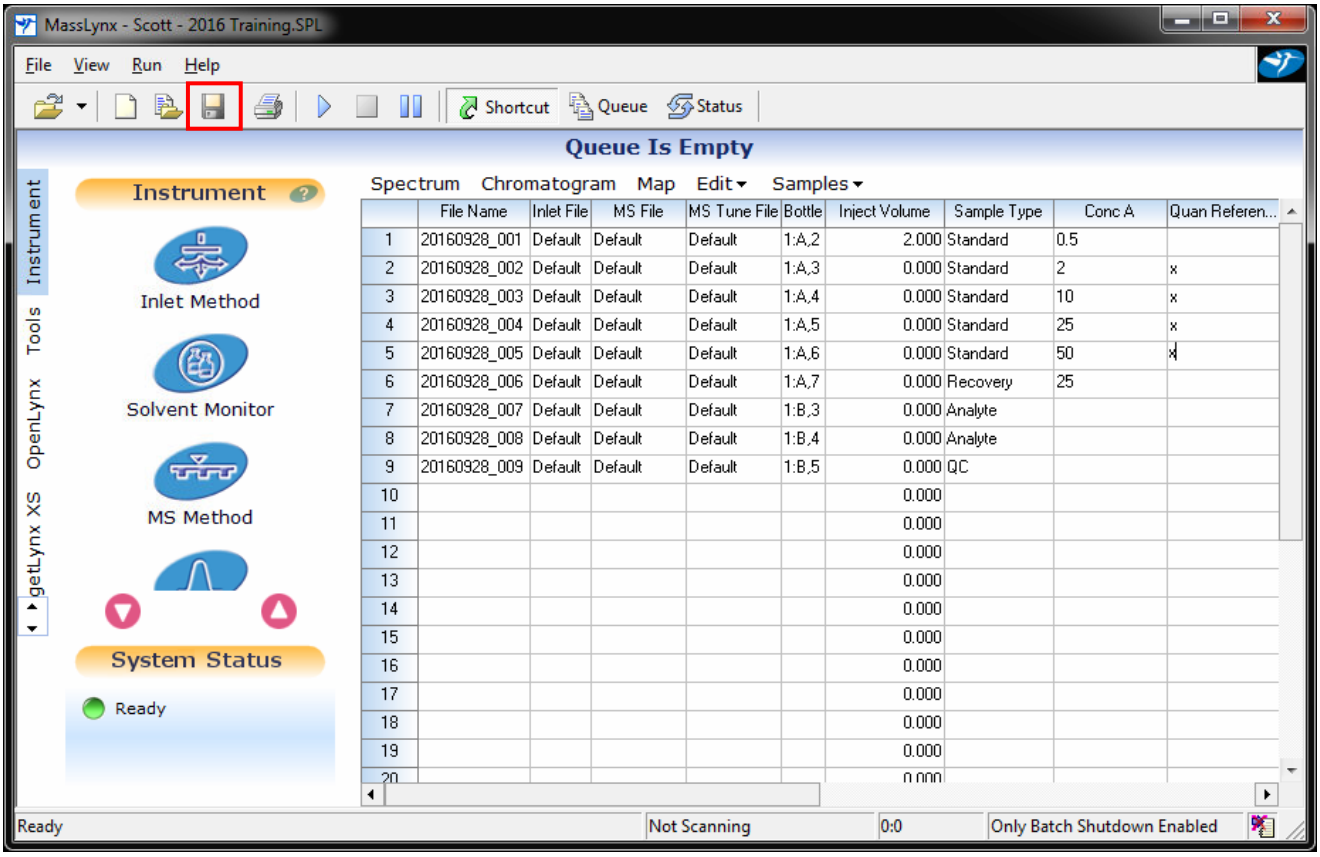
F. 滑鼠左鍵按住下拉，選擇 Fill Series，可連續編號。



G. 滑鼠左鍵按住下拉，選擇 Fill Down，可連續編號。



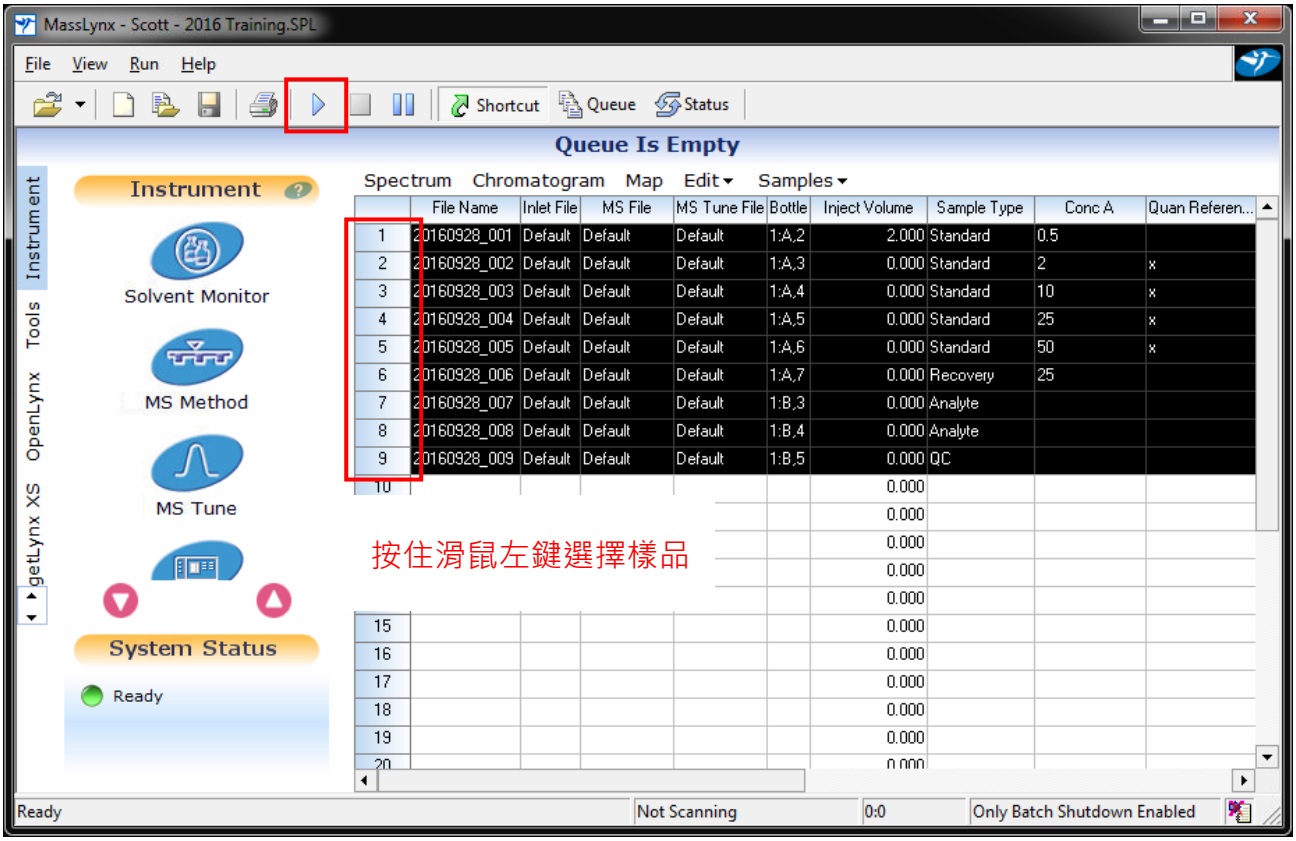
H. 樣品清單填寫完畢後，按下  按鈕，儲存樣品清單內容。



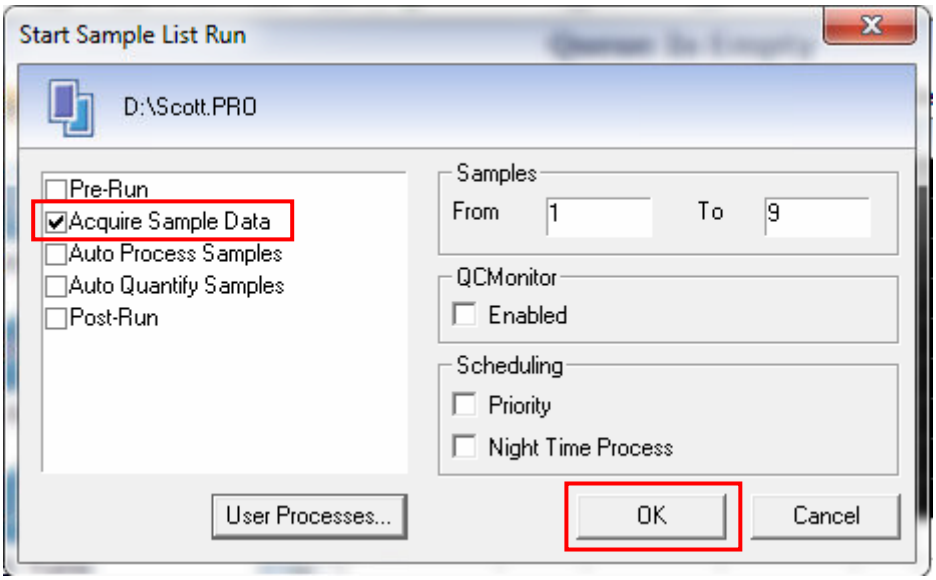
	File Name	Inlet File	MS File	MS Tune File	Bottle	Inject Volume	Sample Type	Conc A	Quan Referen...
1	20160928_001	Default	Default	Default	1:A,2	2.000	Standard	0.5	
2	20160928_002	Default	Default	Default	1:A,3	0.000	Standard	2	x
3	20160928_003	Default	Default	Default	1:A,4	0.000	Standard	10	x
4	20160928_004	Default	Default	Default	1:A,5	0.000	Standard	25	x
5	20160928_005	Default	Default	Default	1:A,6	0.000	Standard	50	x
6	20160928_006	Default	Default	Default	1:A,7	0.000	Recovery	25	
7	20160928_007	Default	Default	Default	1:B,3	0.000	Analyte		
8	20160928_008	Default	Default	Default	1:B,4	0.000	Analyte		
9	20160928_009	Default	Default	Default	1:B,5	0.000	QC		
10						0.000			
11						0.000			
12						0.000			
13						0.000			
14						0.000			
15						0.000			
16						0.000			
17						0.000			
18						0.000			
19						0.000			
20						0.000			

5. 執行樣品清單

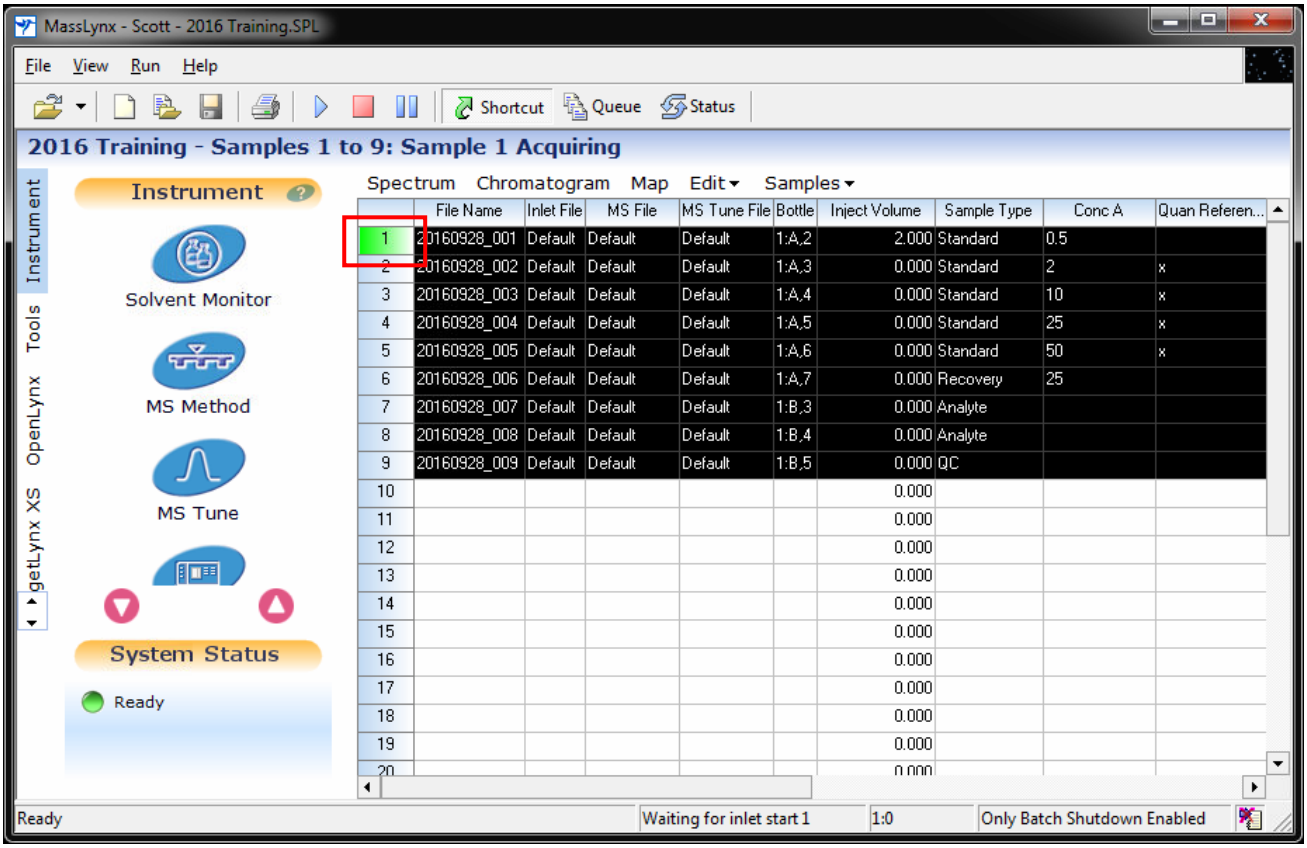
A. 按住滑鼠左鍵選擇樣品，點選 按鈕。



B. 勾選 Acquire Sample Data，點選 OK



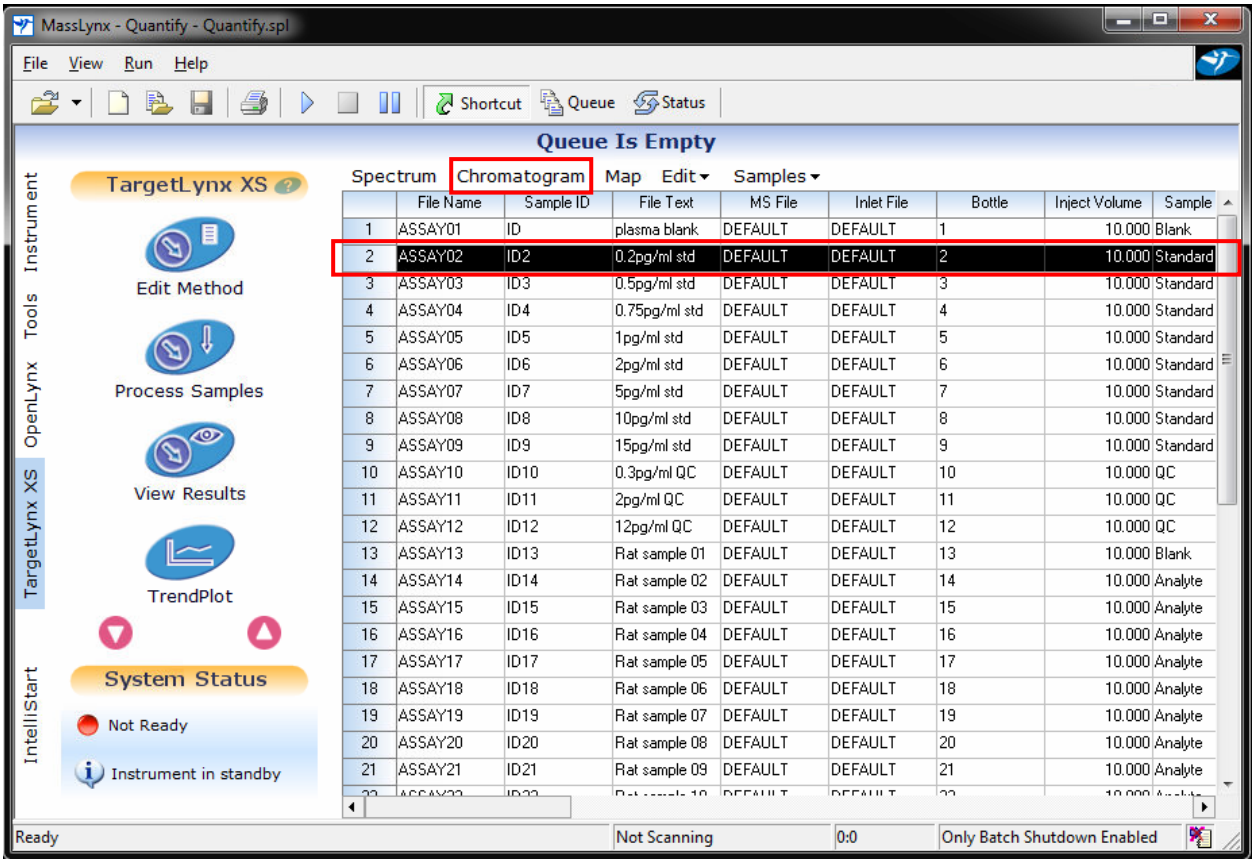
C. 綠色方塊圖示表示目前正在分析的樣品。



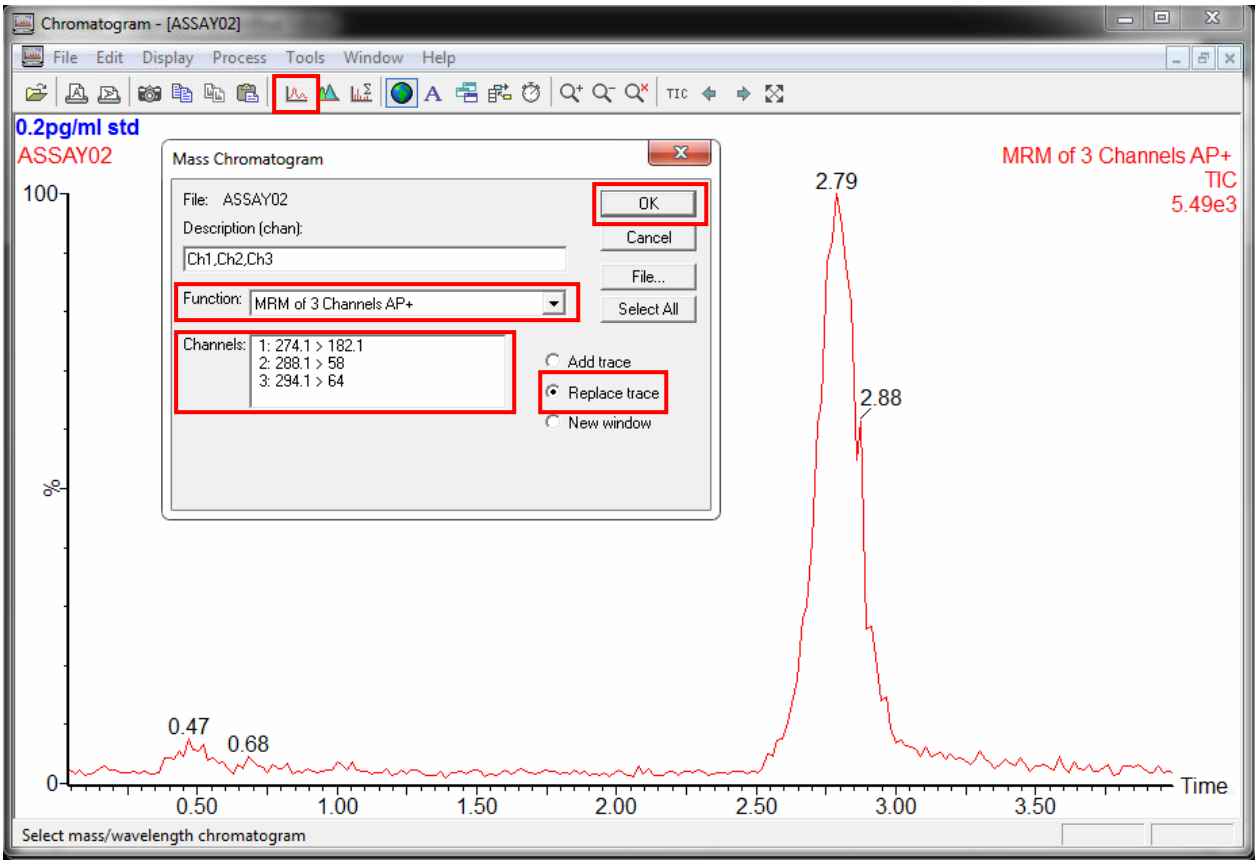
IV. 數據處理

1. 建立定量數據處理方法-TargetLynx

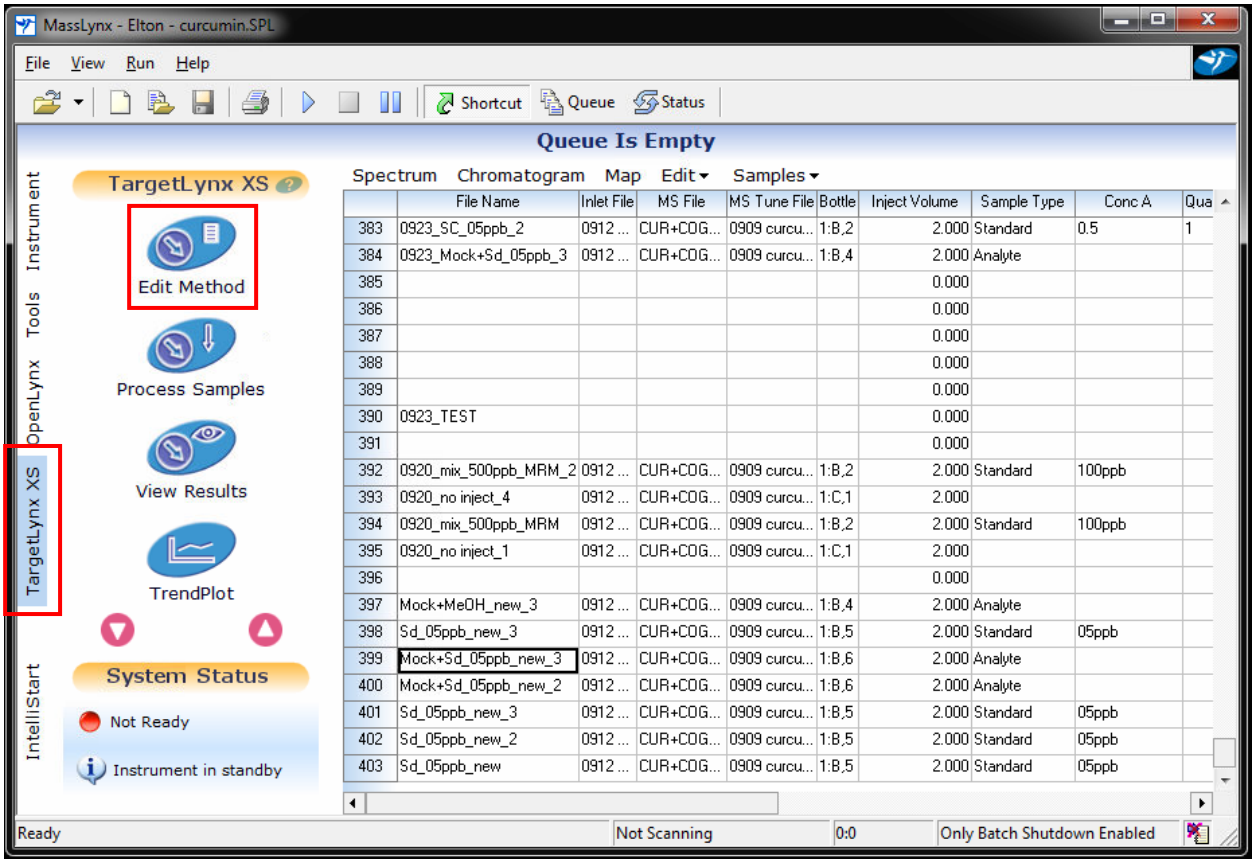
A. 在樣品清單選擇一筆數據，點選表格上方的 Chromatogram，開啟層析圖。



B. 在層析圖視窗，點選  按鈕，在 Function 選單選擇成分，在 Channels 滑鼠左鍵點選兩下要開啟的圖檔，點選 Replace trace，按下 OK。

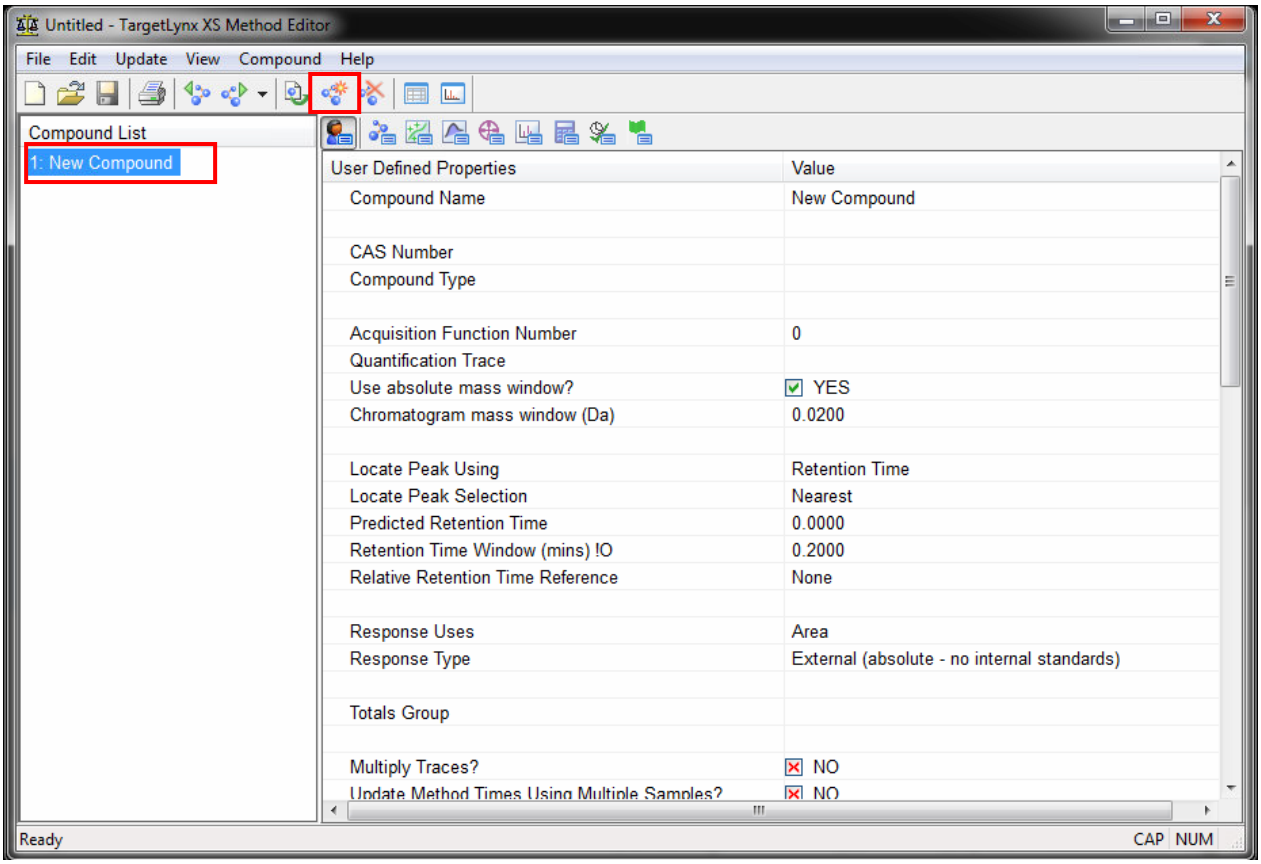


C. MassLynx 主畫面左側點選 TargetLynx 分頁，再點選 Edit Method，出現 TargetLynx 設定視窗  。

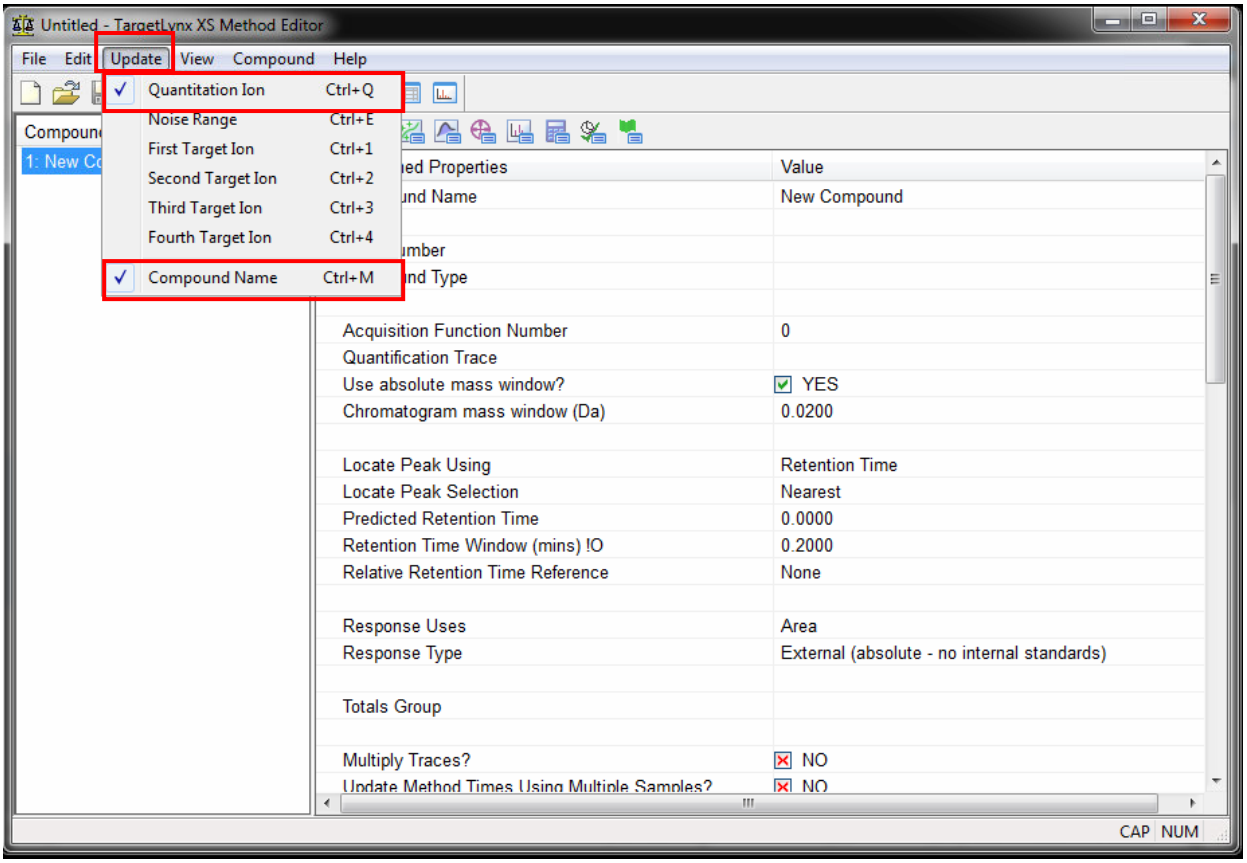


	File Name	Inlet File	MS File	MS Tune File	Bottle	Inject Volume	Sample Type	Conc A	Qua
383	0923_SC_05ppb_2	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,2	2.000	Standard	0.5	1
384	0923_Mock+Sd_05ppb_3	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,4	2.000	Analyte		
385						0.000			
386						0.000			
387						0.000			
388						0.000			
389						0.000			
390	0923_TEST					0.000			
391						0.000			
392	0920_mix_500ppb_MRM_2	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,2	2.000	Standard	100ppb	
393	0920_no inject_4	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:C,1	2.000			
394	0920_mix_500ppb_MRM	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,2	2.000	Standard	100ppb	
395	0920_no inject_1	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:C,1	2.000			
396						0.000			
397	Mock+MeOH_new_3	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,4	2.000	Analyte		
398	Sd_05ppb_new_3	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,5	2.000	Standard	05ppb	
399	Mock+Sd_05ppb_new_3	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,6	2.000	Analyte		
400	Mock+Sd_05ppb_new_2	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,6	2.000	Analyte		
401	Sd_05ppb_new_3	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,5	2.000	Standard	05ppb	
402	Sd_05ppb_new_2	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,5	2.000	Standard	05ppb	
403	Sd_05ppb_new	0912 ...	CUR+COG...	0909 curcu...	1:B,5	2.000	Standard	05ppb	

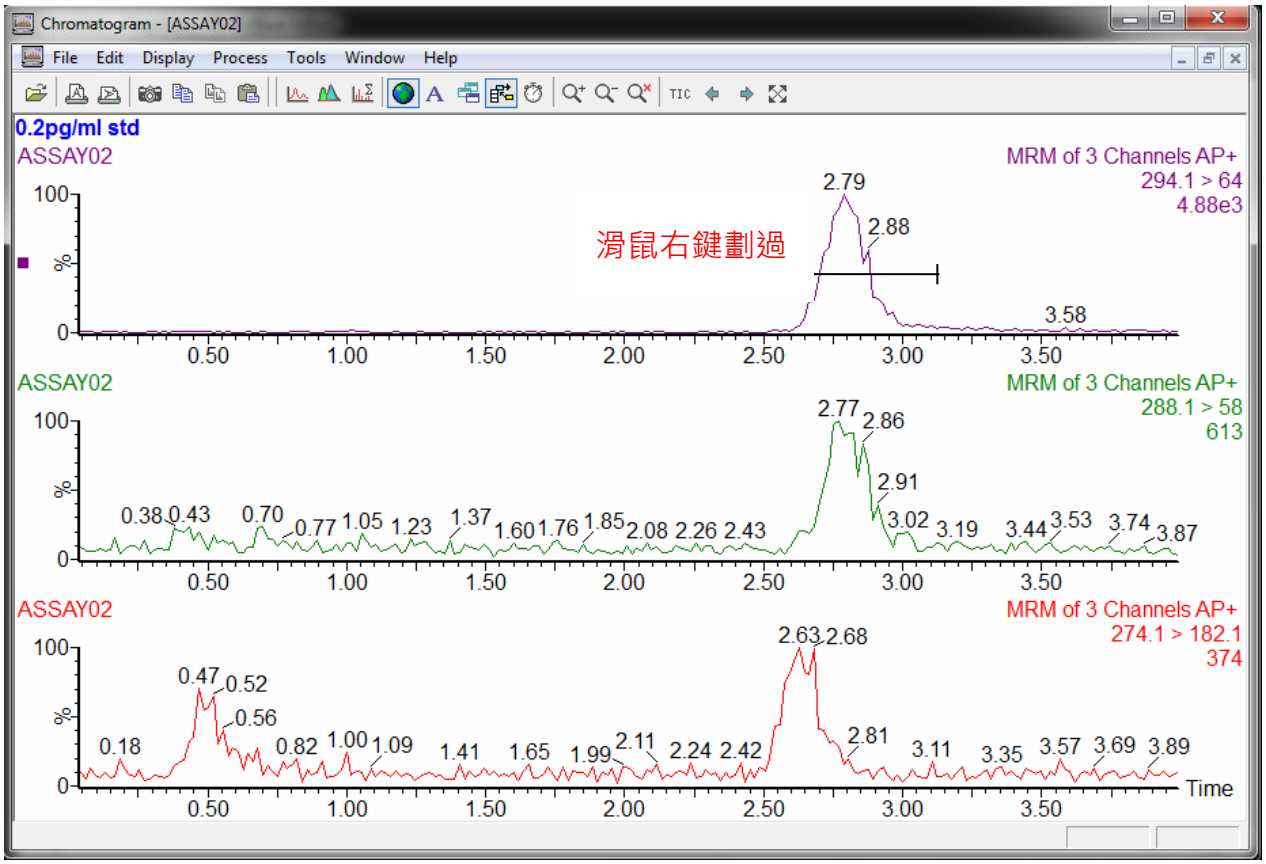
D. 點選  按鈕，新增一項成分數據處理指令。



E. 點選 Update，勾選定量離子對 Quantitation Ion 以及成分名稱 Compound Name。



F. 在定量離子對的層析圖上，按住滑鼠右鍵，劃過待測物訊號峰。

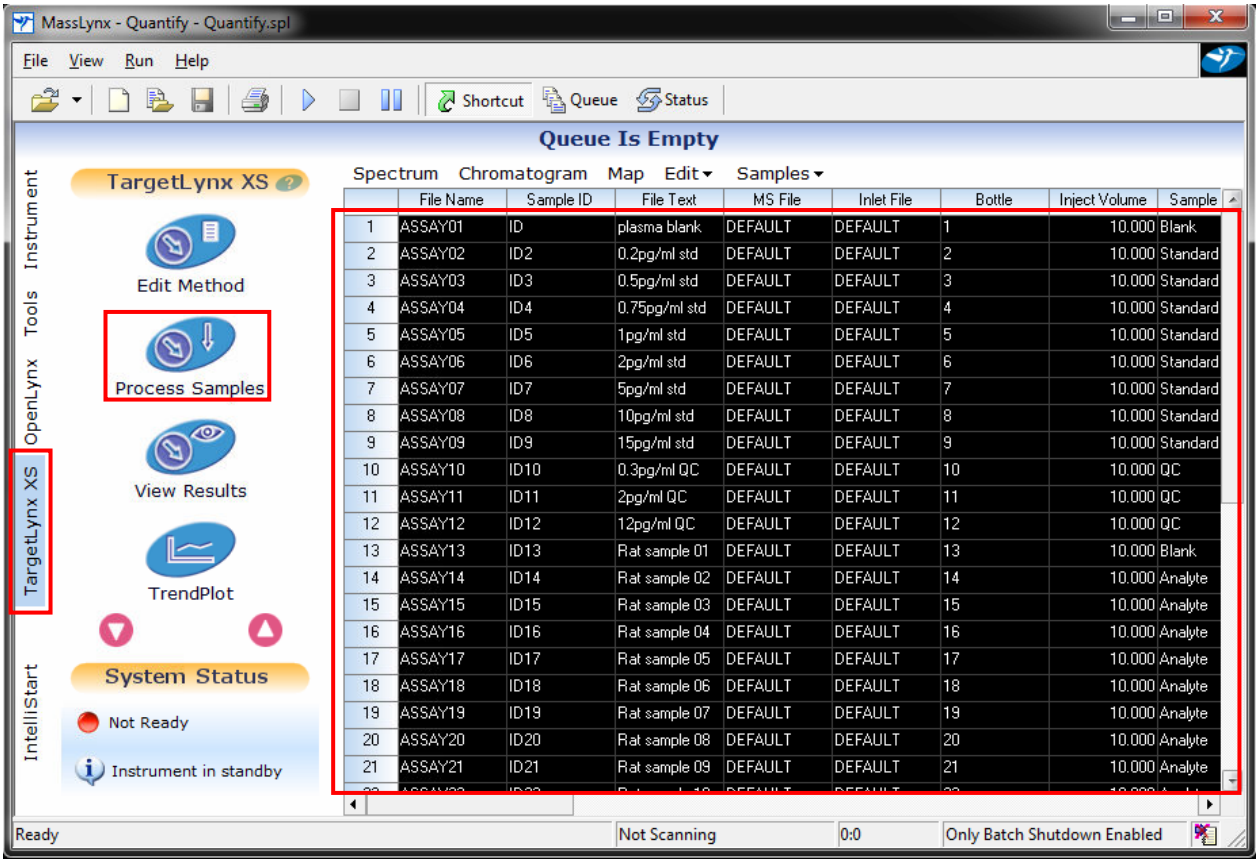


G. 重複步驟 C~H，將每個待測物成分都建立定量分析指令。

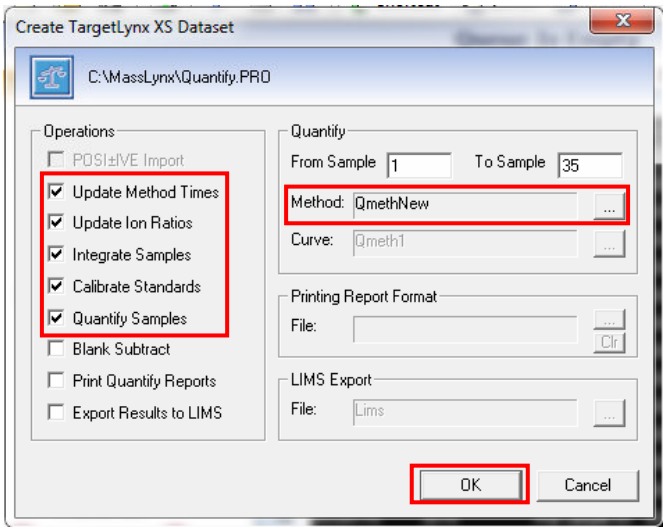
H. 詳細 TargetLynx 設定說明，請參考**附錄二、TargetLynx 設定說明。**

2. 數據處理

A. 樣品清單選擇數據，點選 TargetLynx 分頁，再點選 Process Samples。

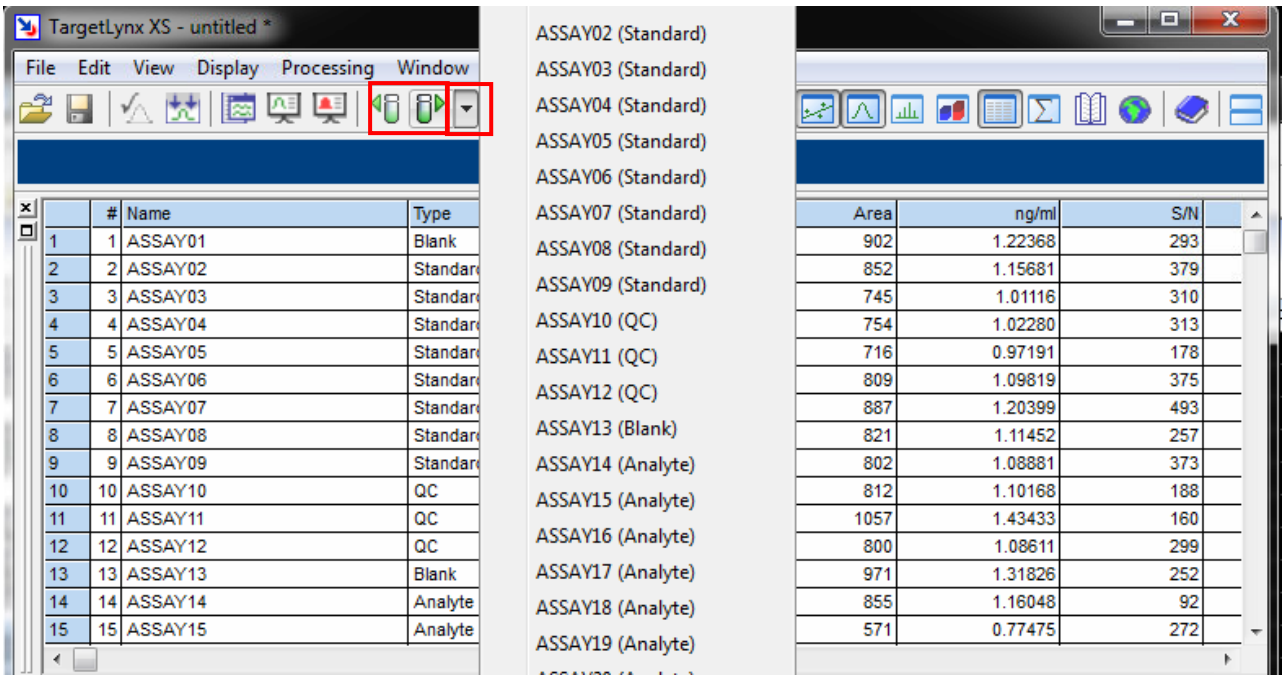


B. 勾選 Update Method Times、Update Ion Ratios、Integrate Samples、Calibrate Standards、Quantify Samples。Method 選擇要套用的 TargetLynx 方法。按下 OK。出現數據處理結果視窗 。



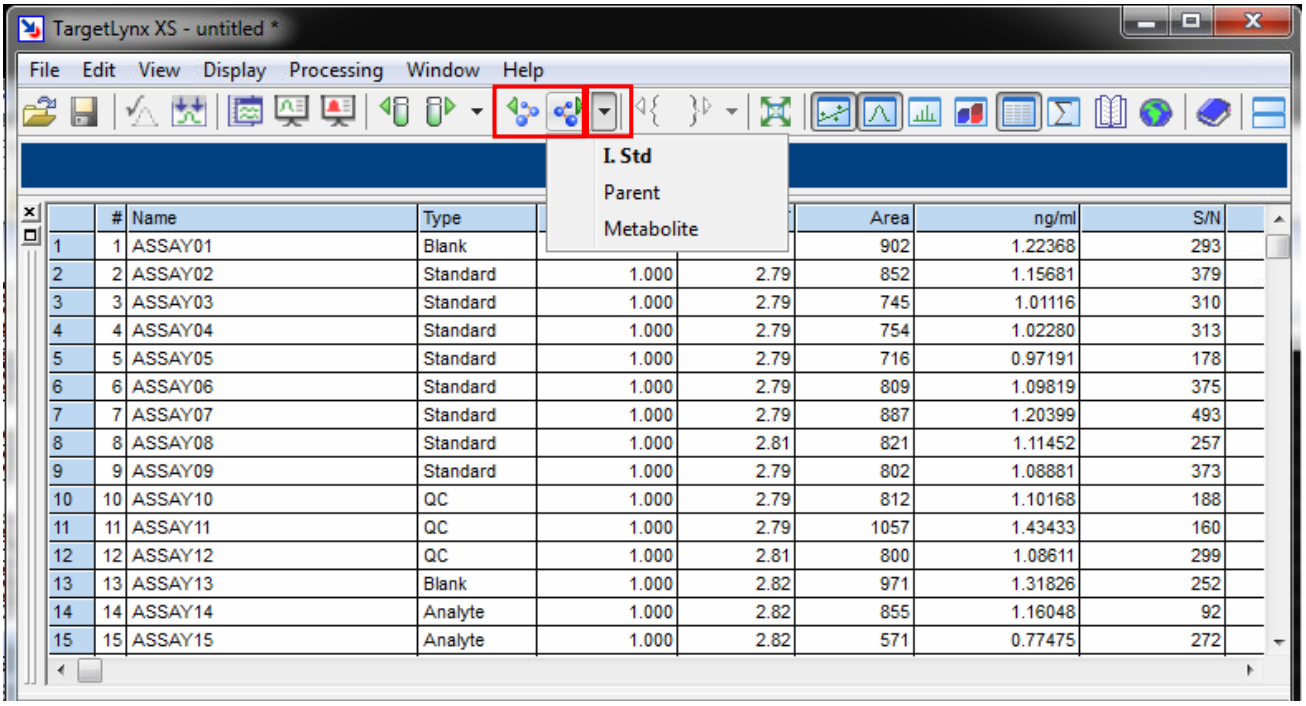
3. 閱覽數據

A. 點選  按鈕，可以切換樣品檔案。或是以下拉選單直接選擇樣品檔案。



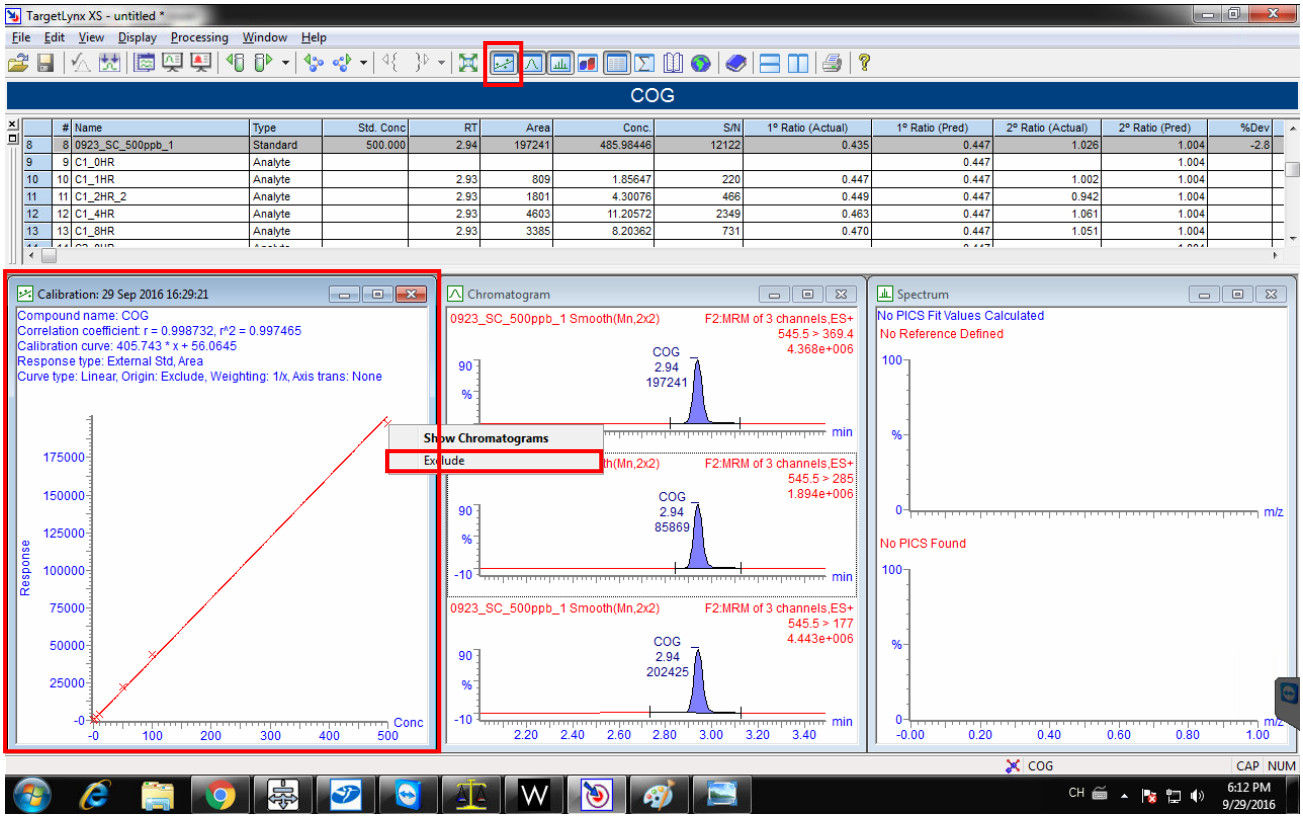
#	Name	Type	Area	ng/ml	S/N
1	ASSAY01	Blank	902	1.22368	293
2	ASSAY02	Standard	852	1.15681	379
3	ASSAY03	Standard	745	1.01116	310
4	ASSAY04	Standard	754	1.02280	313
5	ASSAY05	Standard	716	0.97191	178
6	ASSAY06	Standard	809	1.09819	375
7	ASSAY07	Standard	887	1.20399	493
8	ASSAY08	Standard	821	1.11452	257
9	ASSAY09	Standard	802	1.08881	373
10	ASSAY10	QC	812	1.10168	188
11	ASSAY11	QC	1057	1.43433	160
12	ASSAY12	QC	800	1.08611	299
13	ASSAY13	Blank	971	1.31826	252
14	ASSAY14	Analyte	855	1.16048	92
15	ASSAY15	Analyte	571	0.77475	272

B. 點選  按鈕，可以切換成分。或是可以以下拉選單直接選擇成分。



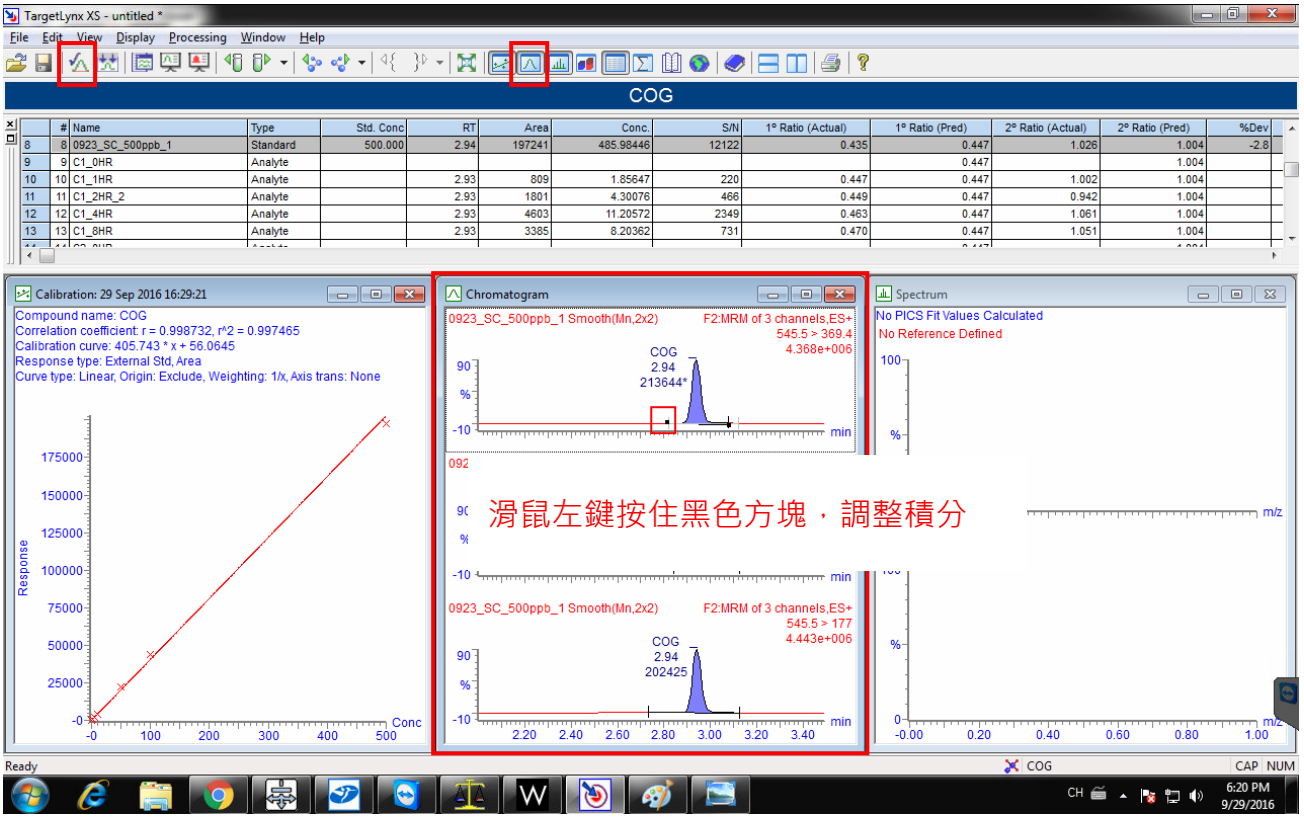
#	Name	Type			Area	ng/ml	S/N
1	ASSAY01	Blank			902	1.22368	293
2	ASSAY02	Standard	1.000	2.79	852	1.15681	379
3	ASSAY03	Standard	1.000	2.79	745	1.01116	310
4	ASSAY04	Standard	1.000	2.79	754	1.02280	313
5	ASSAY05	Standard	1.000	2.79	716	0.97191	178
6	ASSAY06	Standard	1.000	2.79	809	1.09819	375
7	ASSAY07	Standard	1.000	2.79	887	1.20399	493
8	ASSAY08	Standard	1.000	2.81	821	1.11452	257
9	ASSAY09	Standard	1.000	2.79	802	1.08881	373
10	ASSAY10	QC	1.000	2.79	812	1.10168	188
11	ASSAY11	QC	1.000	2.79	1057	1.43433	160
12	ASSAY12	QC	1.000	2.81	800	1.08611	299
13	ASSAY13	Blank	1.000	2.82	971	1.31826	252
14	ASSAY14	Analyte	1.000	2.82	855	1.16048	92
15	ASSAY15	Analyte	1.000	2.82	571	0.77475	272

C. 點選按鈕，開啟檢量線視窗，檢示檢量線品質。在檢量線上的標準品點，按下滑鼠右鍵，選擇 Exclude，可排除標準品點。



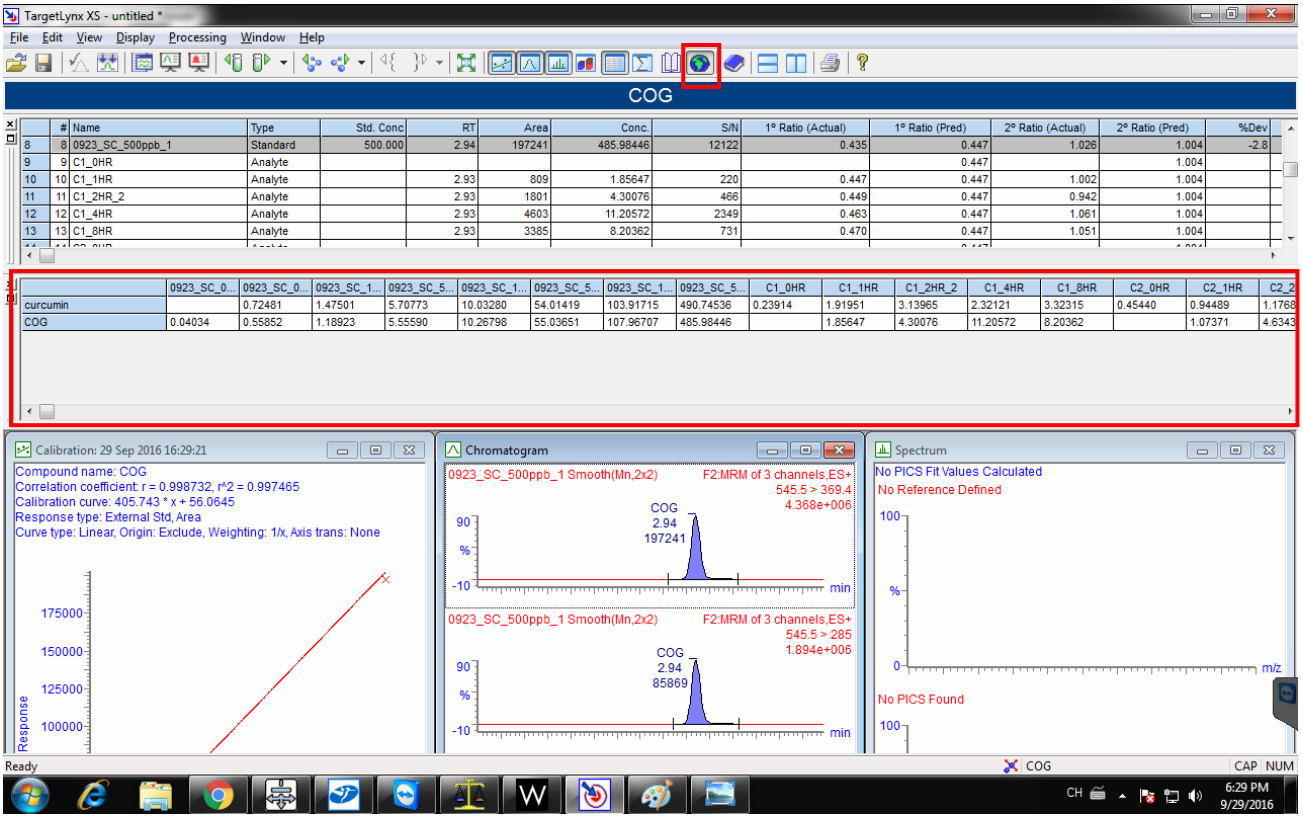
#	Name	Type	Std. Conc	RT	Area	Conc.	S/N	1° Ratio (Actual)	1° Ratio (Pred)	2° Ratio (Actual)	2° Ratio (Pred)	%Dev
8	0923_SC_500ppb_1	Standard	500.000	2.94	197241	485.98446	12122	0.435	0.447	1.026	1.004	-2.8
9	C1_0HR	Analyte							0.447		1.004	
10	C1_1HR	Analyte		2.93	809	1.85647	220	0.447	0.447	1.002	1.004	
11	C1_2HR_2	Analyte		2.93	1801	4.30076	466	0.449	0.447	0.942	1.004	
12	C1_4HR	Analyte		2.93	4603	11.20572	2349	0.463	0.447	1.061	1.004	
13	C1_8HR	Analyte		2.93	3385	8.20362	731	0.470	0.447	1.051	1.004	

D. 點選按鈕，開啟層析圖視窗，檢示層析峰積分品質。滑鼠左鍵點選層析峰，再以滑鼠左鍵按住黑色方塊，調整層析峰積分範圍。按下按鈕，儲存調整積分的結果。



E. 點選按鈕，開啟總表視窗，檢視所有樣品的每一個成分的定量濃度結果。

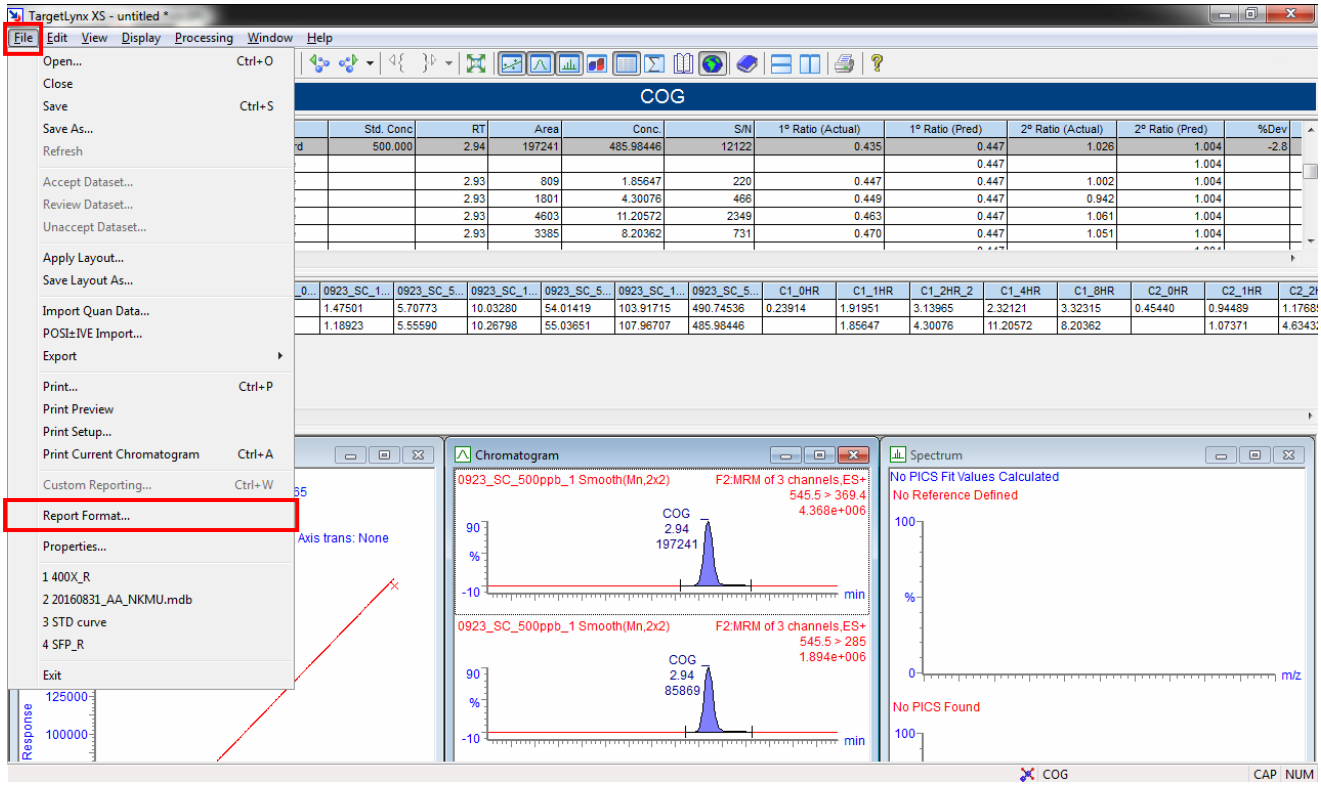
若有超過品管法規限制的成分，儲存格會標示為紅色。



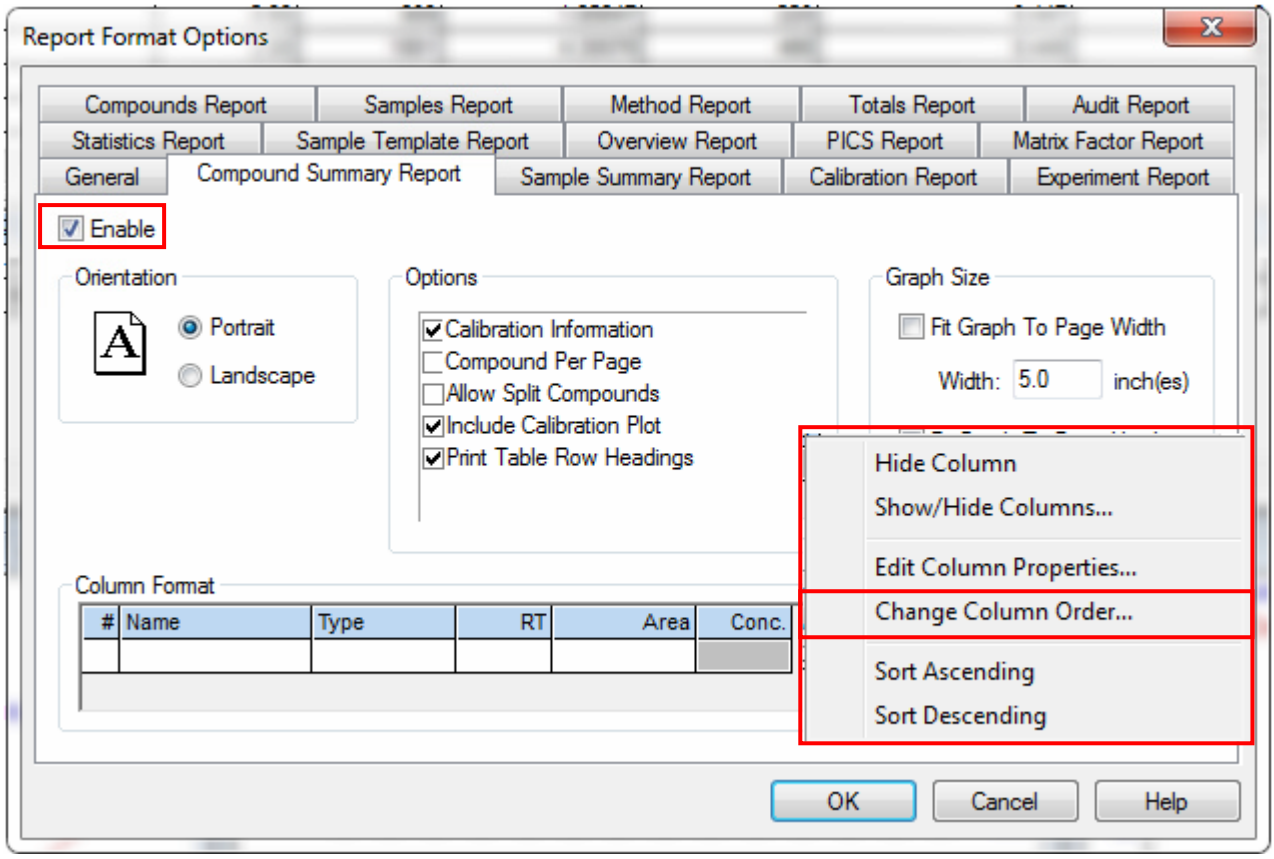
V. 列印報告

1. 編輯報告格式

A. 在 TargetLynx 視窗，點選 File>Report Format

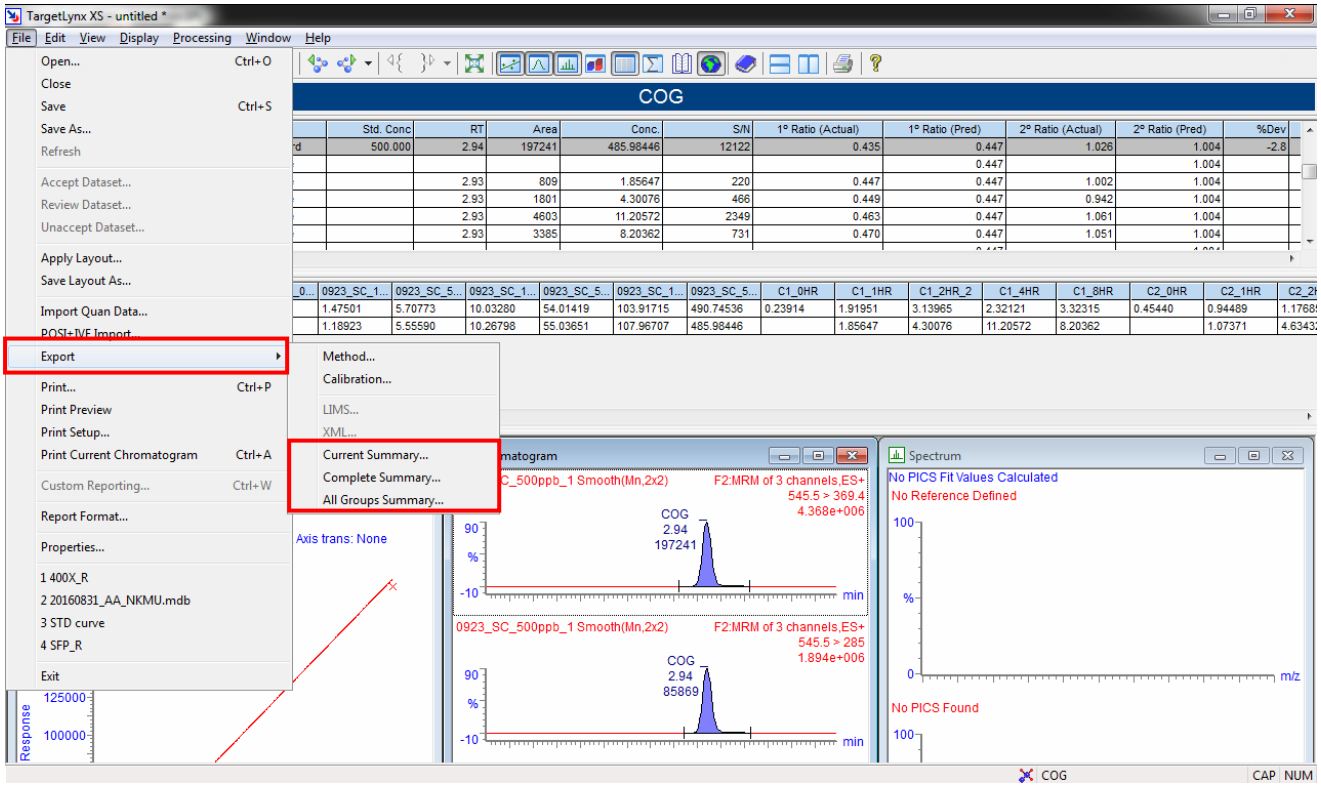


B. 選擇想要的範本，勾選 enable。在表格上按下滑鼠右鍵，點選 Change Column Order，可增加表格其他欄位。

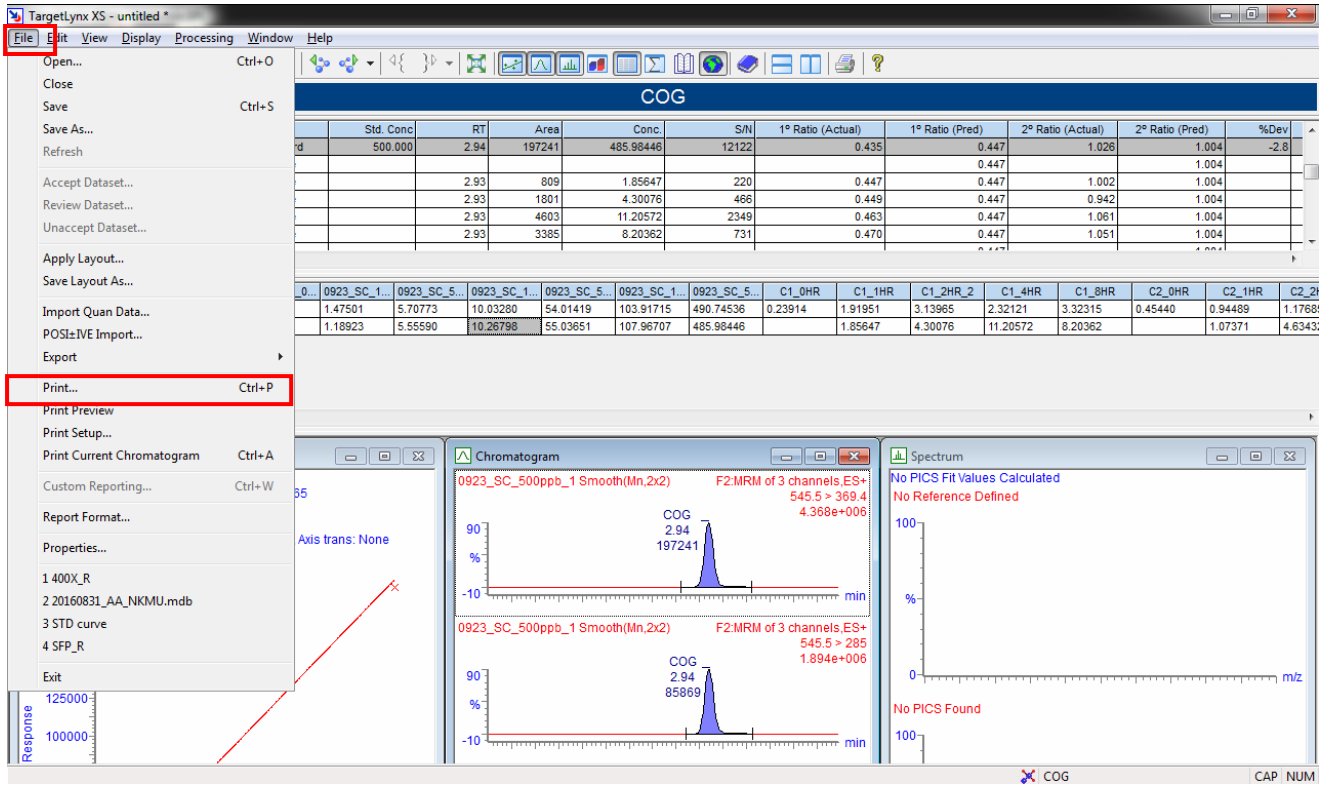


2. 輸出報告

A. 在 TargetLynx 視窗，點選 File>Export，選擇 Current Summary 可匯出當下瀏覽的樣品與成分的定量結果。選擇 Complete Summary 可匯出所有樣品與成分的定量結果。匯出的表格格式與瀏覽畫面中的表格相同。

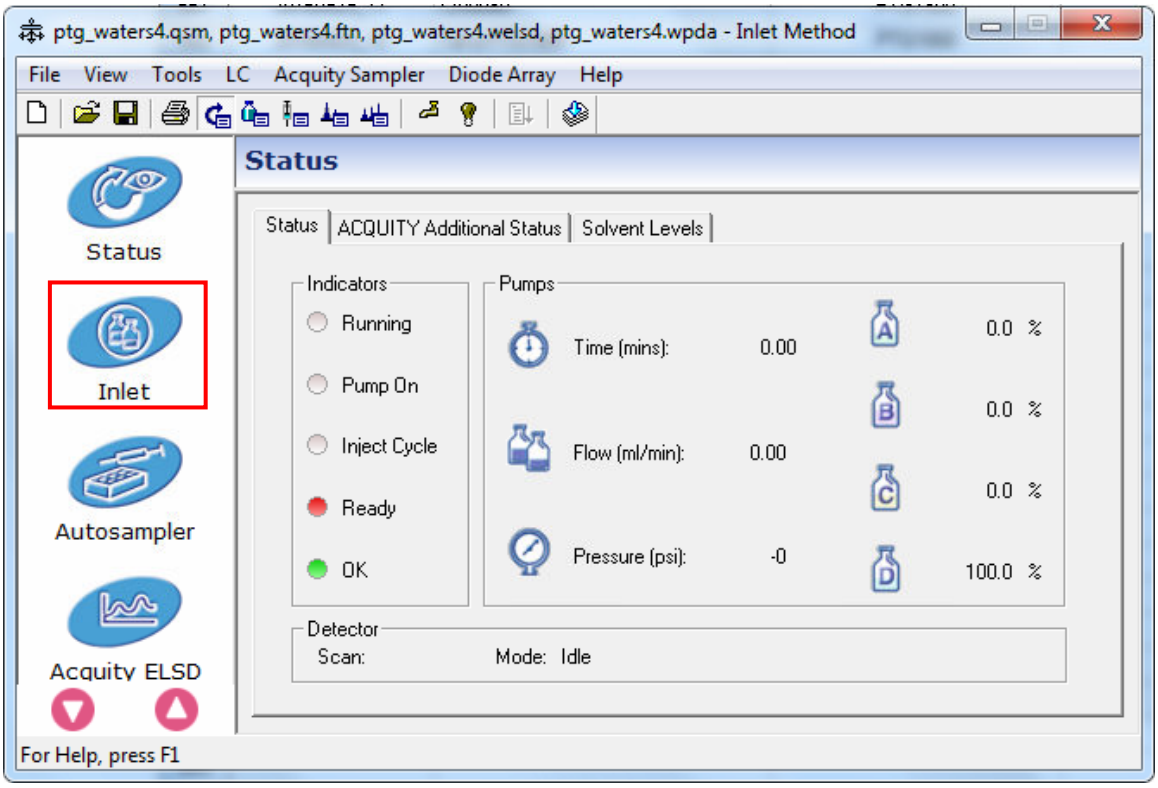


B. 點選 File>Print，可列印紙本報告。

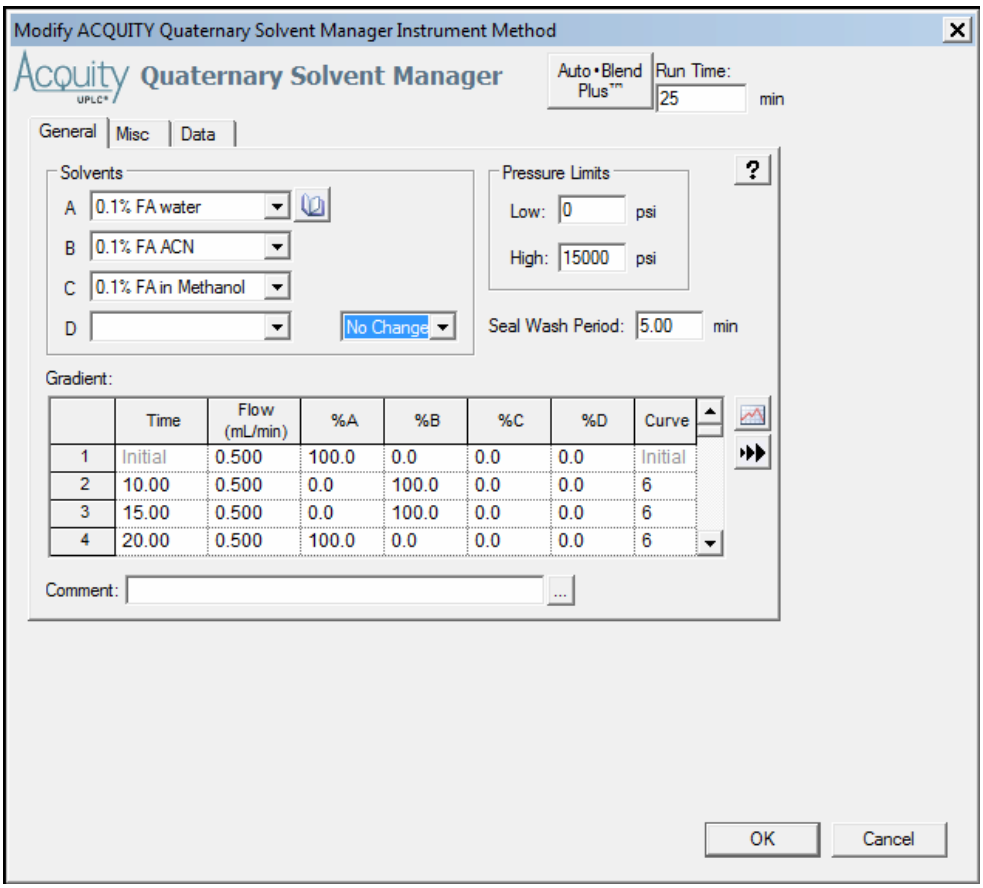


VI. 附錄一、儀器方法設定

1. Inlet File – 泵浦設定

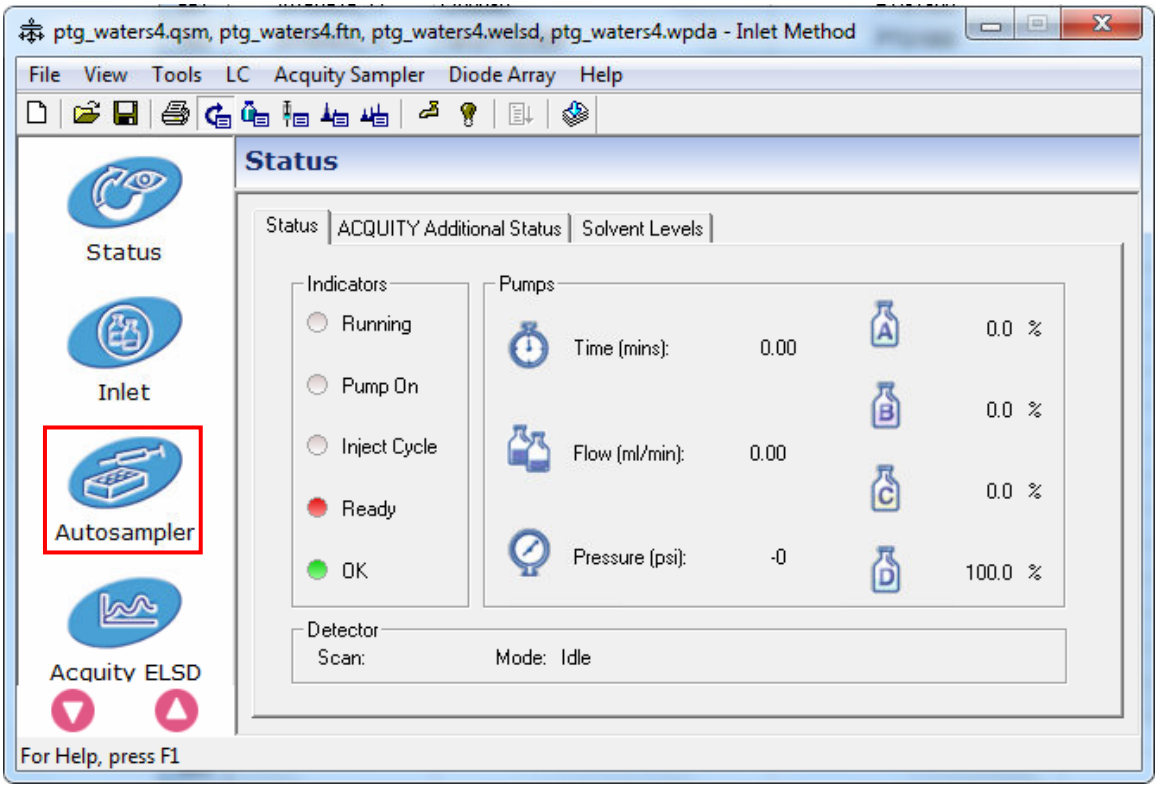


A. Arc HPLC，設定四溶媒系統 Quaternary Solvent Manager

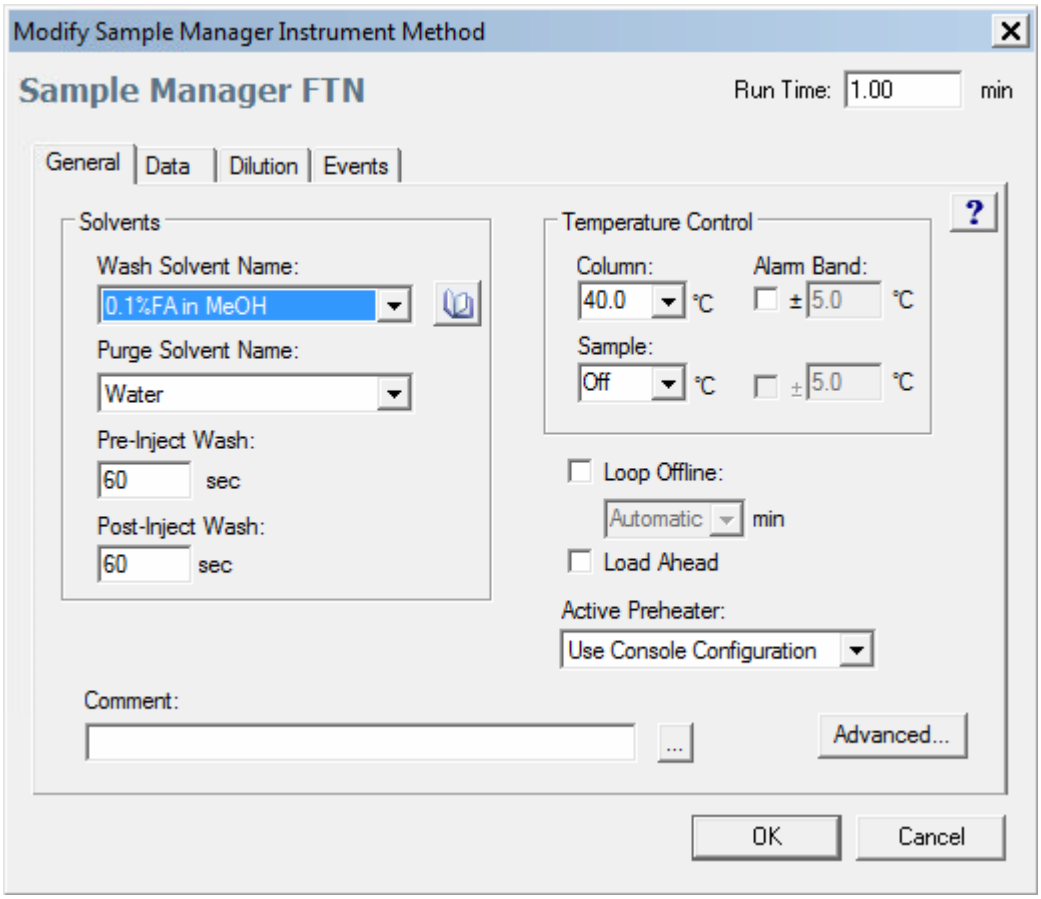


- ✓ **Solvent：** 可選擇移動相溶劑種類。
- ✓ **Flow (mL/min)：** 輸入移動相流速。
- ✓ **Pressure Limits：** 最高 15000psi。
- ✓ **Gradient**
  - ■ **Time(min)**：輸入梯度變化的時間點。
  - ■ **Flow (mL/min)**：輸入移動相流速。
  - ■ **%A/%B**：移動相比例。
- ✓ **Run Time**：須大於或等於梯度表最後時間

2. Inlet File – 自動注射器設定



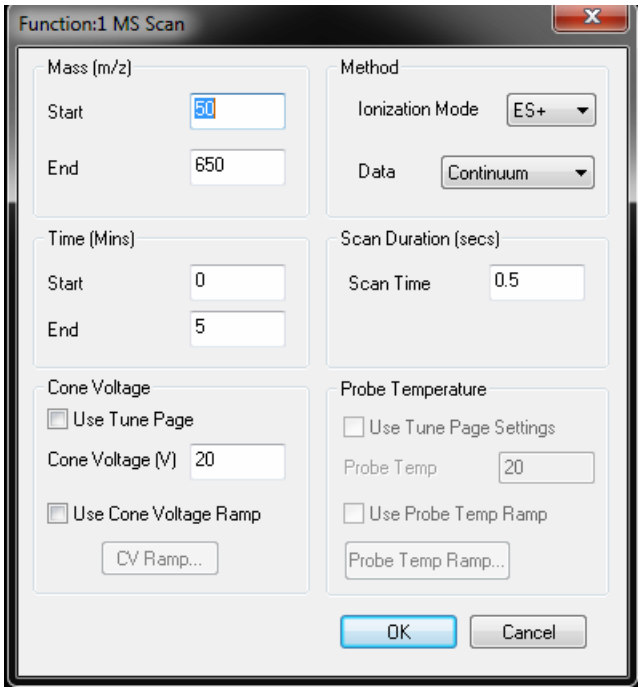
A. Sample Manager FTN



- ✓ **Wash Solvent Name**：選擇 Wash Solvent 溶劑種類。
- ✓ **Purge Solvent Name**：選擇 Purge Solvent 溶劑種類。
- ✓ **Pre-Inject Wash**：抽樣前洗針時間。
- ✓ **Post-Inject Wash**：注射後洗針時間。
- ✓ **Temperature Control**
  - ■ **Column**：外掛 30cm 管柱烘箱時的管柱控制溫度。
  - ■ **Sample**：輸入樣品控溫。

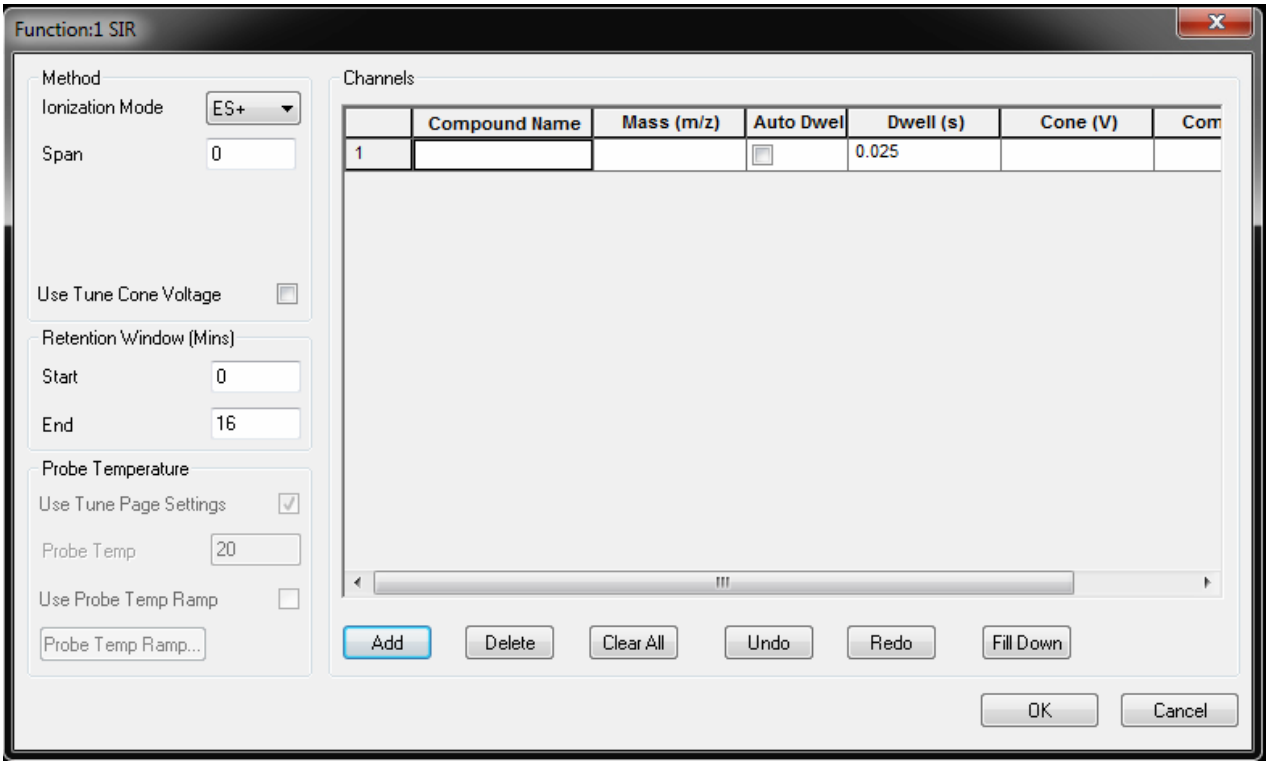
3. MS File –質譜儀紀錄模式設定

A. MS Scan 



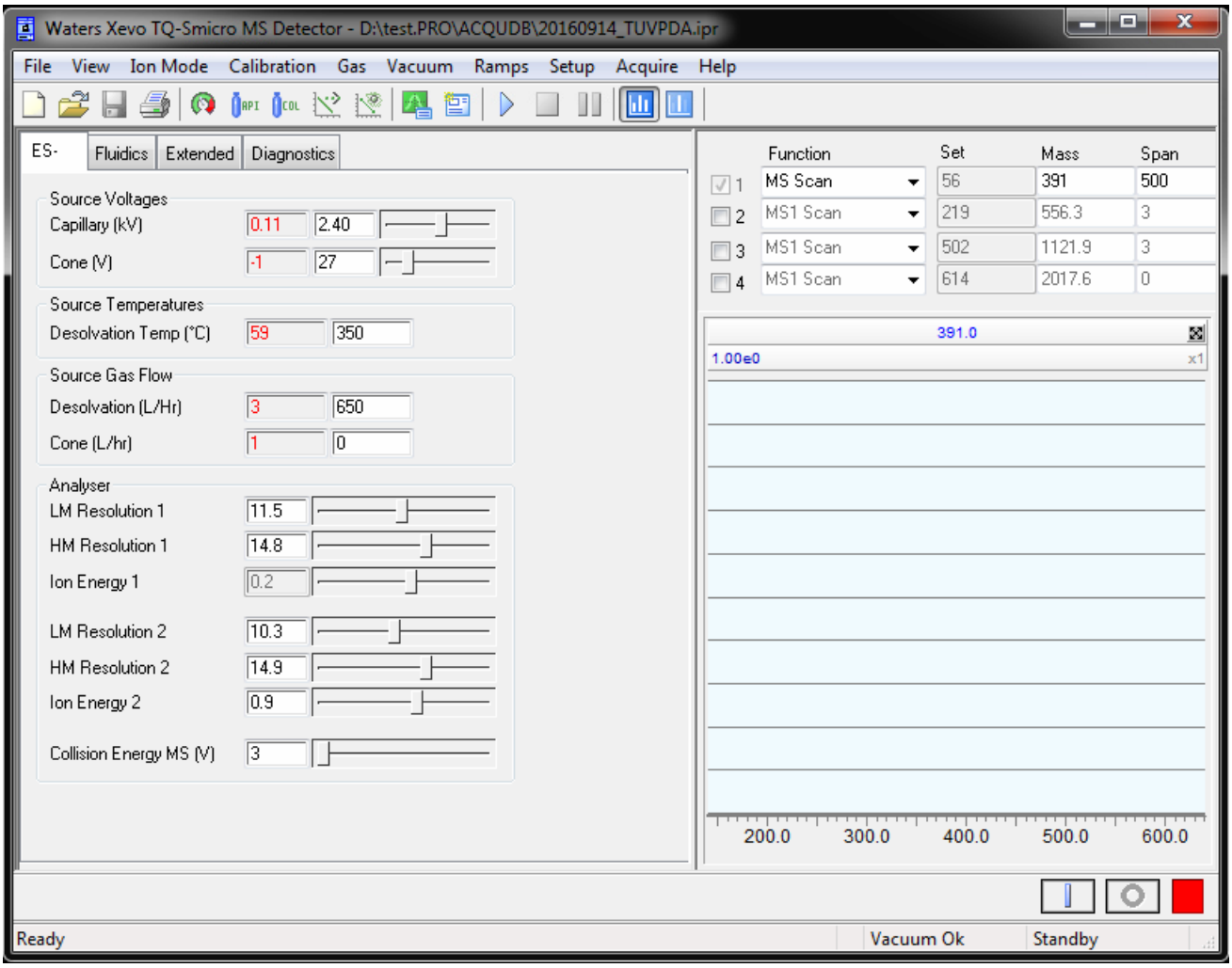
- ✓ **Mass (m/z) Start/End**：指定掃描的 m/z 範圍。
- ✓ **Time (Mins) Start/Stop**：層析圖紀錄的時間範圍。
- ✓ **Ionization Mode**：選擇游離法。(ES，電噴灑游離法；API，大氣壓化學游離法；APPI，大氣壓光化學游離法；ASAP，固態氣化化學游離法。)
- ✓ **Data**：質譜圖中質量訊號峰的紀錄方式。Centroid，直條圖；Continuum，連續波峰圖。
- ✓ **Scan Duration(secs)**：質譜圖指定之 m/z 範圍的掃描速率。設定值越大，質譜圖感度越弱，層析圖點數越多。採用預設值即可。
- ✓ **Cone Voltage**：指定進樣錐電壓。或是 Use Tune Page 依照 Tune Page 的進樣錐電壓。設定值越大，離子在進樣錐碎裂的機會越大，越不容易發現指定的離子訊號。

B. SIR 



- ✓ **Ionization Mode**：選擇游離法。(ES，電噴灑游離法；API，大氣壓化學游離法；APPI，大氣壓光化學游離法；ASAP，固態氣化化學游離法。)
- ✓ **Span**：允許 m/z 的質量誤差。
- ✓ **Retention Window (Mins) Start/Stop**：層析圖紀錄的時間範圍。
- ✓ **Compound Name**：成分名稱。
- ✓ **Mass (m/z)**：指定 m/z。
- ✓ **Dwell (s)**：四極桿分析 m/z 的維持時間。設定值越大，質譜圖感度越強，層析圖點數越少。採用預設值即可。
- ✓ **Cone Voltage**：指定進樣錐電壓。或是 Use Tune 依照 Tune Page 的進樣錐電壓。設定值越大，離子在進樣錐碎裂的機會越大，越不容易發現指定的離子訊號。

4. MS Tune File –離子化介面設定

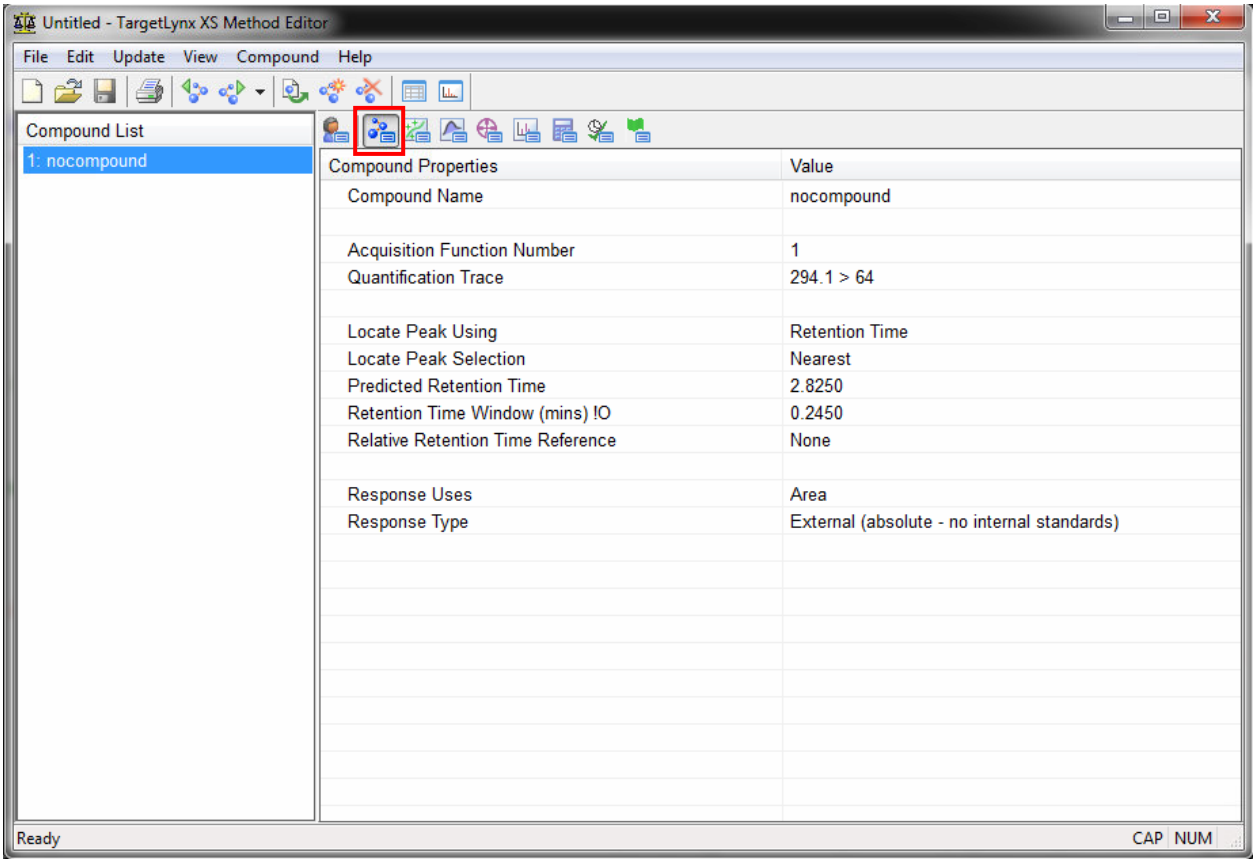


- ✓ **Capillary (kV)：** 毛細管電壓。
- ✓ **Cone (V):** 進樣錐電壓。
- ✓ **Desolvation Temp(℃)：** 溶媒氣化溫度。
- ✓ **Desolvation (L/Hr)：** 毛細管氮氣氣簾流速。
- ✓ **Cone (L/Hr)：** 進樣錐氮氣氣簾流速。

VII. 附錄二、數據處理方法設定

1. 層析峰命名設定

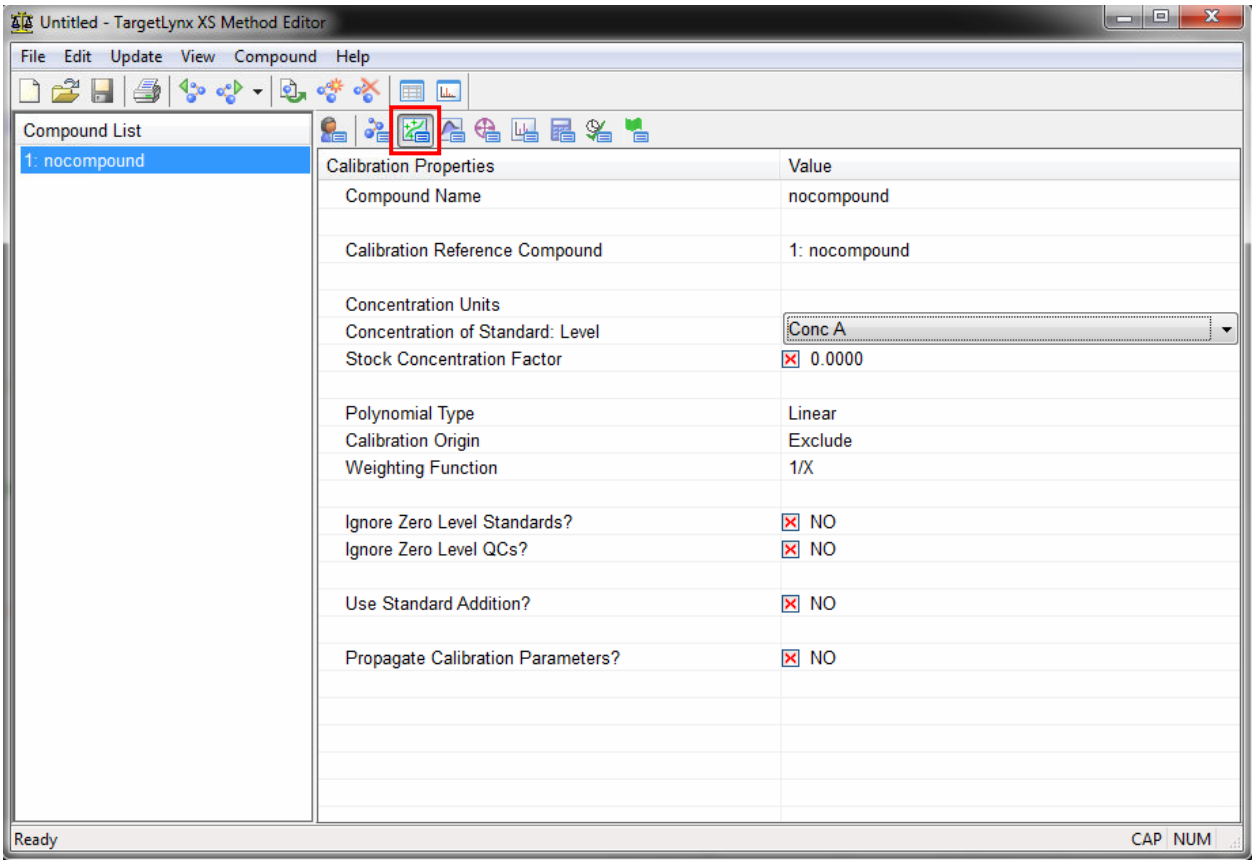
A. 在 TargetLynx 設定視窗，點選  按鈕



- ✓ **Compound Name:** 輸入成分名稱
- ✓ **Acquisition Function Number:** 對應於 MS File 中的紀錄指令編號
- ✓ **Quantification Trace:** 定量離子對
- ✓ **Locate Peak Using:** Retention Time，以層析峰滯留時間辨識成分
- ✓ **Locate Peak Selection:** Nearest，最靠近滯留時間的層析峰才命名
- ✓ **Predicted Retention Time:** 層析峰預計滯留時間
- ✓ **Retention Time Window (mins):** 允許的層析峰滯留時間偏移範圍
- ✓ **Response Uses:** Area，以面積做為檢量線的 y 軸。
- ✓ **Response Type:** External，不含內標準品的檢量線；Internal，含內標準品的檢量線。當選擇內標法時，內標準品成分須選擇 External。

2. 檢量線設定

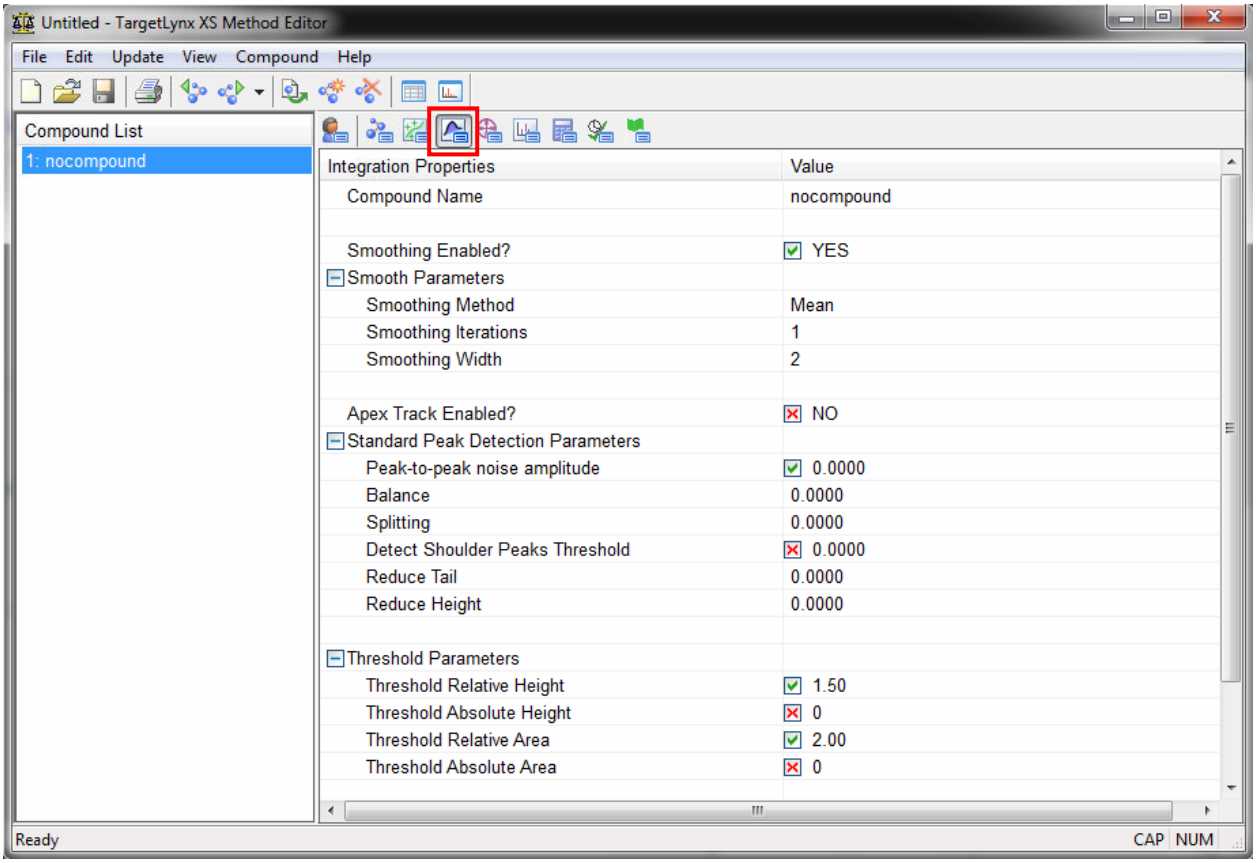
A. 在 TargetLynx 設定視窗，點選  按鈕



- ✓ **Concentration Units:** 濃度單位，例如 ppb。
- ✓ **Concentration of Standard Level:** 標準品或品管標準品的濃度，對應於樣品清單的濃度欄位。
- ✓ **Polynomial Type:** Linear，檢量線為線性模式。
- ✓ **Calibration Origin:** Exclude，檢量線不通過原點。
- ✓ **Weighting Function:** 檢量線加權計算方式，1/x 或 $1/x^2$。

3. 層析峰積分設定

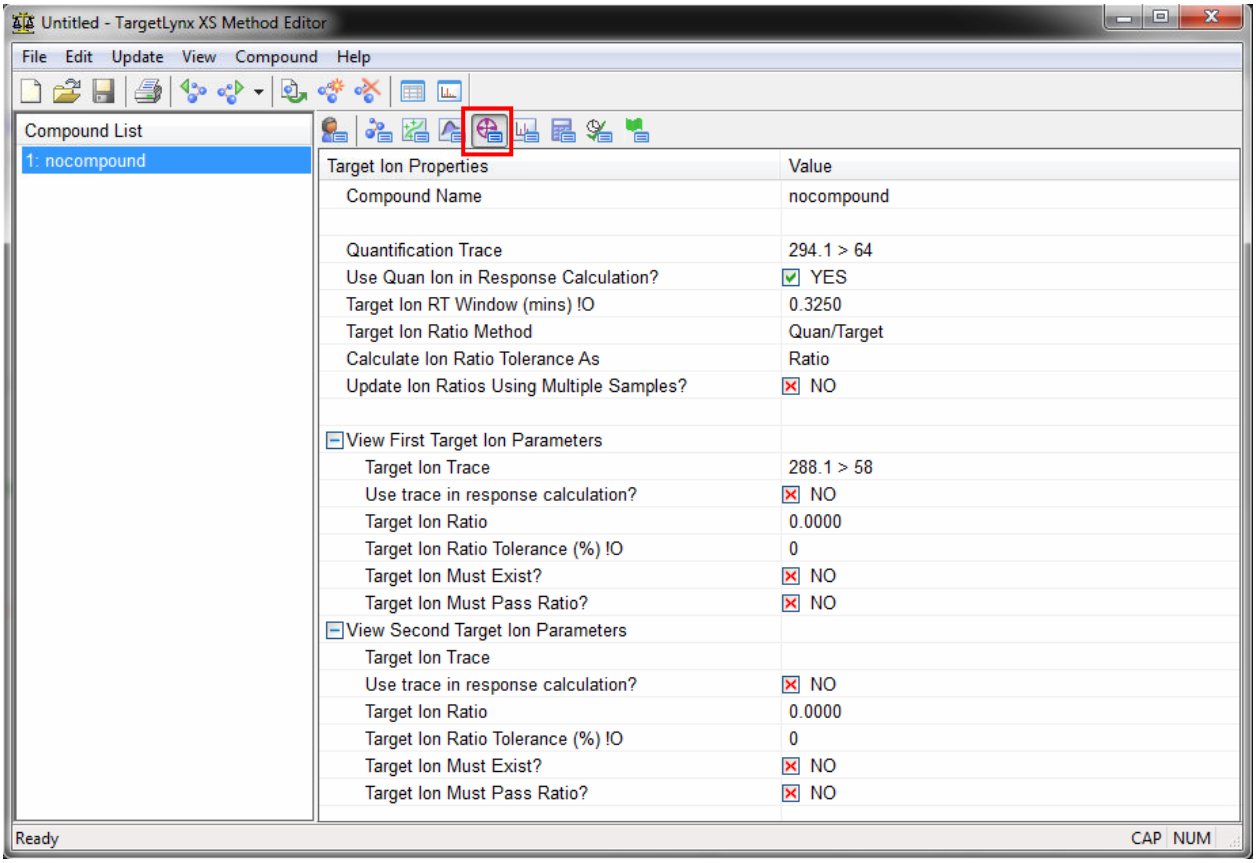
A. 在 TargetLynx 設定視窗，點選  按鈕



✓ **可在 Chromatogram 測試積分後，複製積分方式，在此頁貼上**

4. 定量與定性離子對設定

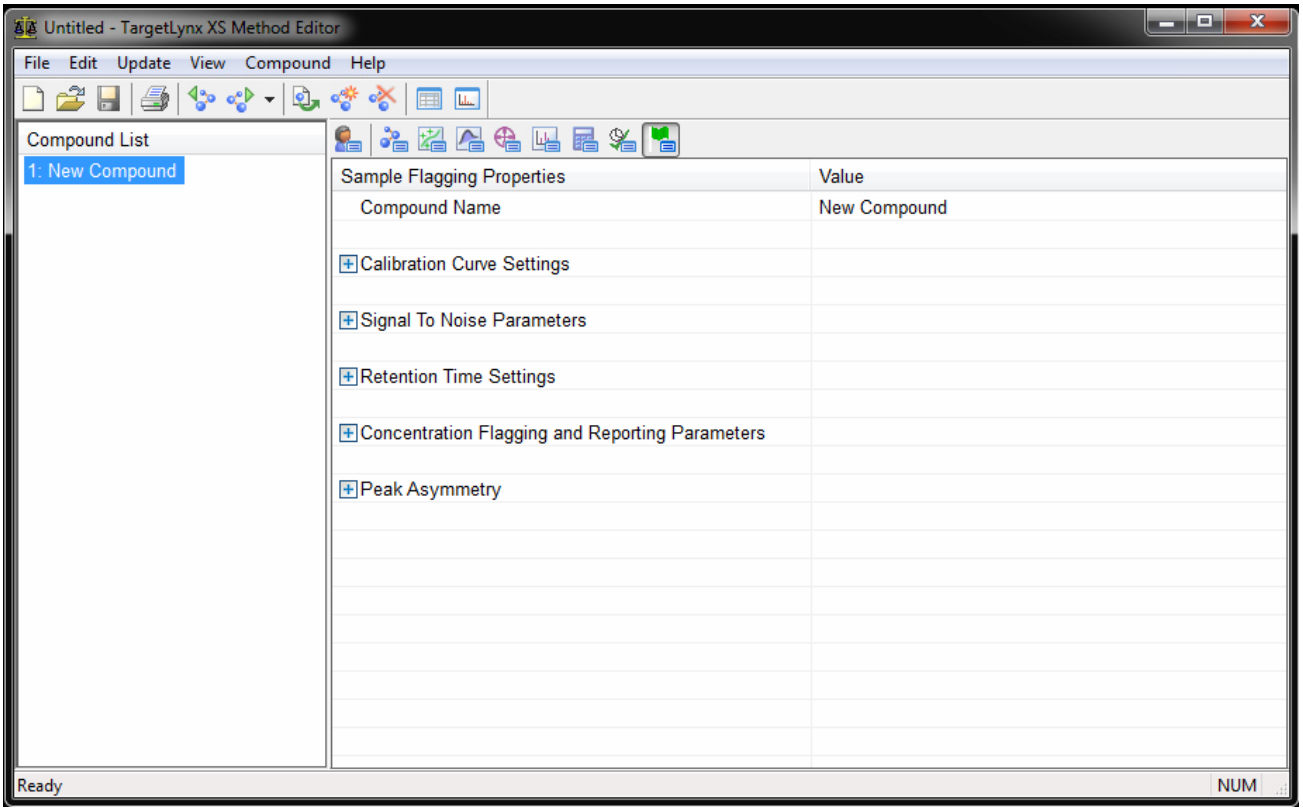
A. 在 TargetLynx 設定視窗，點選  按鈕



- ✓ **Quantification Trace:** 定量離子對。
- ✓ **Target Ion RT Window (min):** 定性離子對層析峰的滯留時間的允許誤差範圍。
- ✓ **Target Ion Ratio Method:** 離子對比值的計算方式。Quan/Target，定量/定性。
  Target/Quan，定性/定量。
- ✓ **Update Ion Ratios Using Multiple Samples:** 勾選的話，Ion Ratio 期望值來自於，樣品清單的 Quan Reference 欄位有註記的標準品之 Ion Ratio 的平均值。
- ✓ **Target Ion Ratio:** Ion Ratio 期望值。
- ✓ **Target Ion Ratio Tolerance (%):** 允許樣品中監控成分的 Ion Ratio 的誤差範圍。

5. 法規閾值設定

A. 在 TargetLynx 設定視窗，點選  按鈕



- ✓ **Calibration Curve Settings:** 檢量線迴歸係數閾值。
- ✓ **Signal To Noise Parameters:** 訊噪比計算方式，噪音時間範圍設為 0，可自動計算。
- ✓ **Retention Times Settings:** 層析峰滯留時間誤差閾值。
- ✓ **Concentration Flagging and Reporting Parameters:** 上限濃度與報告濃度閾值。
- ✓ **Peak Asymmetry:** 層析峰對稱性閾值。