# SCIEX OS ソフトウェア

(Version 2.1.6)

操作マニュアル

X500 QTOF System

> 株式会社 エービー・サイエックス アプリケーションサポート



2022年1月版

#### SCIEX OSソフトウェアについて

本文書は、AB SCIEX 製装置を購入した顧客が、本 AB SCIEX 製装置を操作するときに活 用するものとして提供されています。本文書は著作権で保護されており、本文書の一部また は全部を複製することは、AB SCIEX が書面で許可する場合を除き、厳しく禁止されてい ます。

本文書に記載の装置は、米国、カナダおよびその他の国で申請された単数または複数の特許 のもとに保護されています。さらなる特許が出願中です。

本文書に記載のソフトウェアは、ライセンス契約のもとに提供されます。ライセンス契約で 特別に許可される場合を除き、ソフトウェアの複製、変更または配布は、いかなる媒体にお いても法律に違反します。さらに、ライセンス契約では、ソフトウェアの逆アセンブル、リ バースエンジニアリング、逆コンパイルを、いかなる目的においても禁止します。

## 目次

1	SCIE	X OS Software について	. 5
	1.1	SCIEX OS Software の起動と各モードについて	. 5
2	測定の	)準備	. 6
	2.1	装置の Configuration	. 6
	2.2	装置の Status	. 6
	2.3	キャリブレーション溶液の準備	. 7
	2.4	分析のワークフロー	. 7
	2.5	各種パラメータ(参考値)	. 8
	2.6	プロジェクトの作成	. 8
	2.7	MS Check の実施	. 9
9	3 分析>	マンッドの作成と測定	12
	3.1	MS Method の作成	12
	3.2	LC Method の作成	15
	3.3	Valve の設定	16
	3.4	平衡化	17
	3.5	Batch の作成	17
	3.6	Batch を使用した測定	20
	3.7	Queue の確認	20
4	Explo	re によるデータ解析	22
	4.1	解析	23
	4.2	IDA Explorer からの解析	23
	4.3	クロマトグラムからの解析	30
	4.4	組成分析 (Formula Finder)	37
	4.5	フラグメントの帰属 (Fragments Pane)	43
	4.6	Mass Calculators について	46

5 4	Analy	rtics によるデータ解析	47
ł	5.1	検索に使用する Library の準備	47
ł	5.2	はじめに	47
ł	5.3	定量解析とターゲットスクリーニング	49
ł	5.4	ノンターゲットスクリーニング	66
ł	5.5	ライブラリー追加方法	72
6 )	定量測	l定 MRM <sup>HR</sup> Method の作成と解析	74
(	3.1	MS Method の作成	74
(	3.2	定量解析	79
7 -	その他	<u>b</u>	82
,	7.1	Tune の概要	82
,	7.2	Tune 機能について	83
,	7.3	試薬について	83
,	7.4	MS Tune の実施(例)	83
,	7.5	検出器の最適化	87
*	操作 す。	F方法の詳細は、SCIEX OS Software の Help メニューからご覧いただけま	ŧ

## 1 SCIEX OS Software について

## 1.1 SCIEX OS Software の起動と各モードについて

## <u>SCIEX OS Software</u> ホーム画面

<b>Q</b> -			💋 🚫 Stopped	? – 🗆 X
	则定	Processing 解析	Management 管理	
••••		À	Configuration	
Batch	Queue	Explorer	Library	
••••••	LC Method	CO Janar	Event Log	
MS Method	MS Tune	Analytics	A Users	

① Desktop の右図アイコンをダブルクリックし、software を起動します。



- Acquisition:装置のチューニングや測定用のメソッドおよびバッチ SCIEX OS を作成し、データを取り込みます。
- Processing: データの閲覧や組成解析等の定性解析、定量解析、ライブラリー検 索等を行います。
- Management:機器の認識やライブラリーのインポート、ユーザー登録等を行います。
- 複数の Window を表示した際、最初の画面に戻る際は Home



## 2 測定の準備

#### 2.1 装置の Configuration



- ① Configuration をクリックし画面を開きます。
- Devices をクリックし、X500 QTOF と LC (ここでは Shimadzu)の Active に チェックが入っていることを確認して、Active Devices をクリックします。

General	Devices			
LIMS Communication Devices Queue About	•	X500 QTOF Type Mass Spectrometer X500 QTOF AB Sciex Last Modified 2016/01/25	Subdevices	🖌 Activa
	f	Shimadzu Nexera Prominence LO Type Integrated System Shimadzu Nexera Prominence LC AB Sciex Last Modified 2016/01/25	Subdevices Binary Gradient Autosampler Column Oven System Controller	Activa

③ 画面上部の⊗をクリックして画面を閉じます。

#### 2.2 装置の Status

ソフトウェアから Status を確認できます。

- ① 画面上部右上の Status Panel (例: *❷* Ready ) をクリックします。
  - ※ クリックを繰り返すことで表示/非表示になります。
  - 装置名(例:<u>X500 QTOF</u>あるいは<u>ExionLC</u>)をクリックし、Device Details で状況を確認作成します。



※ 本体からも確認できます。





""

- 2.3 キャリブレーション溶液の準備
  - ① キャリブレーション溶液の残量を確認します。
  - ② ボトルを外すには時計回りに回し、ボトルごと交換 また は溶液を補充します。
    - $\therefore$  1 : Positive, 2 : Negative
    - ※ 残量は、ボトルの 1/3 程度以上が望ましいです。
- 2.4 分析のワークフロー

分析を行う前にご確認ください。



- ※ 感度は、導入時の MS Check や MS Tune の結果、あるいはお客様の標品などで 確認を行い指標にすることをお勧めします。
- ※ スプレーのポジションは Infusion および LC/MS 分析時で変更します。
- Infusion:縦5mm、横5mm
- LC/MS:縦 3mm、横 7mm(実際の分析時は適宜変更することも可能です)

	パラメータ	説明	Ingusion	LC/MS
	Declustering Potential	オリフィスプレートにかかる電圧 (V)	80 (-80)	80 (-80)
Compound	Collision Engage	コリジョンエネルギー (V):MS	5 (-5)	5 (-5)
	Collision Energy	コリジョンエネルギー (V):MS/MS	35 (-35)	35 (-35)
	Ion Source gas 1	ネブライザーガス (psi)	20	60
	Ion Source gas 2	ターボガス (psi)	0	60
Sauraa/Caa	Curtain gas	カーテンガス (psi)	25	30
Source/Gas	CAD gas	Q2に入るガス	7	7
	Temperature	ヒーター温度 (°C)	0	350
	Spray voltage	プローブにかかる電圧 (V)	5500 (-4500)	5500 (-4500)

2.5 各種パラメータ(参考値)

※ ( ) : Negative Mode

※ 参考値のため分析対象に合わせて適宜ご変更ください。

2.6 プロジェクトの作成

- ① 画面上部右上の Status Panel (例: *O* Ready ) をクリックします。
  - ※ クリックを繰り返すことで表示/非表示になります。
  - Projects の (+)をクリックし、新規プロジェクト を作成します。
  - ※ 既存のプロジェクトを選ぶ場合はプルダウンか ら選択します。
  - ③ 名称を入力し OK をクリックします。
  - ※ プロジェクトの保存先: D:¥SCIEX OS Data

२ 🕢 Ready	? – □ ×
Projects	
Training_X500R	✓ (+)
In Root: C:\SCIEX OS Data	
New Project	
Type a project name.	
Training	
ОК	Cancel

- 2.7 MS Check の実施
  - ※ 装置の状態を確認します。
  - ※ 分析に使用する極性(Positive および Negative Mode)を実施します。

## <u>例:Positve Mode の場合</u>

- - ② CDS Channel は 1 を選び、Start をクリックして図を 選び閉じます。
  - $\therefore$  1 : Positive, 2 : Negative
  - ※ パージする場合は Wash Mode にチェックを入れ、数 分経過しましたらチェックを外します。
  - ③ Status Panel の MS Check の  $\square$  アイコンをクリックします。
  - ※ 同様の操作は、MS Tune の Tuning Procedures > Positive Quick Status Check でも行えます。
  - ※ 以下の画面が表示された際、パージが不十分な場合は終わるま で待ちます。パージが十分な場合は Cancel ボタンを押します。

CDS purging in progress	X				
The polarity has been changed. The CDS will now purge for 2 minutes.					
Purging 20% done					
	Cancel				

- ④ 画面が開いたら右下の Next -> をクリックします。
- MS Tune Restore Ir Tuning Procedures Restore Ir Positive Quick Status Check Negative Quick Status Check Detector Optimization Positive Q1 Unit Tuning Negative Q1 Unit Tuning Negative TOF MS Tuning Negative TOF MS Tuning Positive Q1 High Tuning Negative Q1 High Tuning Advanced Troubleshooting

Device Control

CDS Channel 1

Wash Mode

MS Check

⑤ 自動的にサンプルが導入されますので、TIC が安定するまで数 分待ちます。

O ▪ MS Tune	🛆   🗏 🖄 🎢 🛛 💥	🕢 Ready	? – 🗆 ×
	Tuning Procedures 🔹 Restore Instrument Data 🗙 🗙	Projects	
Positive Quick Status Check		X500R-00	<b>v</b> (+)
1. Positive MS Check	Introduction		
Introduction		Queue	
Achieve Stable Spray / Modify	Purpose	Samples waiting:	
Channel Alignment	<ul> <li>Quickly calibrate the system and verify mass accuracy and resolution in TOP MS and TOP MS (MS)</li> </ul>	Sample time remaining: Acquisition time remaining:	Od Oh Om Os Od Oh Om Os
TOF MS Mass Check	In for Ms and for Ms/Mis	Dovicos	
Report	Prerequisites  Use the Direct CDS Control icon in the status papel to open the Davise	Devices	
Save Tuning Settings	Control dialog	(simulation)	
, see a s	<ul> <li>Select the CDS channel that delivers the positive tuning solution and start the flow (XS00 FS) Positive Calibration Solution)</li> </ul>	Binary Gradient	
	Click Next	Autosampler	
		Column Oven	
		System Controller	
		X500 QTOF (simulation)	ft 🕐
		Calibrant Delivery System	(1)
	Next->	MS Check	+-
Data Acquisition <sub>MS</sub>	Start 🔹 🖬 Stop Save 🕺	Direct Control	*

 ⑥ 安定すると、自動的に Channel Alignment、 TOF MS Mass Check、 TOF MS/MS Mass Check の順で進みます。



- ⑦ 数分後、下図 Report 画面で Pass ♥が表示されたら Save Report as をクリックし、必要に応じて結果を xps ファイルとして保存します(拡張子.xps)。
- ※ 保存先はお使いのプロジェクト内あるいは Desktop 等適宜フォルダを作成して 保存します)。
- <complex-block>

O - MS Tune		📕 🔗 Ready 🧳 🤋 – 🗆 🗙
Positive Quick Status Check		Tuning Procedures • Restore Instrument Data • 🗙
L Positive MS Clock     Introduction     Achives Stable Spray / Modify     Channel Alignment     TOF MS Mass Check     TOF MS/MS Mass Check     Save Turing Settings	Report We the report like in XPS format. The report like in	Processing Procedures: 1 of 1 Pages: 2 of 2 Licenser and of Statistics, Statisti

- ⑧ 下図のように全ての項目で Pass ♥しており、この設定を保存する場合は Next -> をクリックし、 Save Settings をクリックします。
- ⑨ 画面上部の をクリックして画面を閉じます。
- ※ この画面を閉じたタイミングで CDS ポンプの送液も止まります。



- Report 上で Fail、あるいは Navigation で右図のよう に<sup>20</sup>と表示された場合は手動でキャリブレーション を行います。
- TOF MS Mass Check を ク リ ッ ク し、 Auto Calibrate Start の をクリックします。TOF MS/MS Mass は自動で進みます。



- ※ いずれも Pass が表示されたらキャリブレーションは成功です。
- ※ Fail と表示された場合は、MS Tune を行い精度を補正します([7.1 MS Tune の実施] を参照してください。)
- ⑫ 終了したら画面上部の<sup>≥</sup>をクリックし、メッセージが表示された後 Yes を選んで 画面を閉じます。

#### <u>例:Negative Mode の場合</u>

- ① X500R QTOF 横の Direct CDS Control アイコン 起 をクリックします。
  - ② CDS Channel は 2 を選び、Start をクリックして×を選び閉じます。
  - ※ Positive Mode から連続して操作する場合はパージが必要です。Wash Mode に チェックを入れパージを実施し、数分経過した後チェックを外します。
  - ③ Status Panel の MS Check の r d =
  - ④ 前頁④~⑫を参考に、Positive Mode と同様に操作します。

### 3 分析メソッドの作成と測定

#### 3.1 MS Method の作成

#### <u>IDA メソッドの作成</u>

TOF MS 分析から自動的に MS/MS 分析を実施する分析方法です。MS 情報より MS/MS 分 析の対象となるイオンを選択する基準(IDA criteria: ピーク強度、最大個数など)をあら かじめ設定しておくことで、ソフトウェアが自動的に選択して MS/MS 分析を行います。

- ① Home 画面上の MS Method をクリックします。
  - ② New から IDA を選択します。
- MS Method
   Method Overview
   Perice: XS00 QTOF
   Ion Source: TurboSpray
   TOF MS
   Control
   Source: and Ga
   Source: and Ga
   Source and Ga
   Source and Ga
   Source gas 1
- ③ Duration には測定時間(例:15min)を入力 します。
- ④ イオンソースおよび TOF MS は下図を参考に設定します。
- ⑤ Temperature および DP は、熱に不安定な化合物やインソース CID が起きる化合物を分析される際は低い値に設定してください。(例 TEM: 300、DP: 30 程度)

C - MS Method	이콜				8	Ready ?
		測定時間	<b></b> 間	New 👻 Open	👻 Save 👻	Print Advanced
℃ 01_IDA_pos						
Method Overview Device: X500 QTOF Ion Source: TurbolonSpray	Method duration 1	15 🔹 min	Total scan time:	0.795 s	1 Cycle の測定	時間(自動計算)
イオンソースの記点	Source and Gas Parameter     Ion source gas 1     Ion source gas 2	50 🗘 psi 50 🗘 psi	Curtain gas CAD gas	30 <b>\$</b> 7 <b>\$</b>	Temperature	350 € °C
	Experiment IDA     Polarity	Positive V	Spray voltage	5500 V	を 極性と Spra	y Voltage
MSの設定	TOF MS TOF start mass 1 TOF stop mass 1 Accumulation time 0	100 Da 1000 Da 0.1 S	Declustering potential DP spread	80 C V	Collision energy CE spread	5 ¢ v 0 ¢ v
Add IDA Criteria TOF MSMS Q1		積算時間		定レンジ	DP と	CE
SWATH MRM HR Delete TOF MS (of MRM Delete experiment	нпр — — — — — — — — — — — — — — — — — — —	測定法は変	更可			



## ※ Dynamic background subtract を使用する場合はチェックを入れます。

#### ⑥ TOF MSMS は下図を参考に設定します。



※ Total Scan Time は設定する MS/MS 数や積算時間に応じて変わりますので、実際のピーク幅を考慮してこれらの値を設定してください。

CE Spread (CES) について

数値を入力することで、CE-CES から CE+CES の値で CE を掃引しながらスペクトルを 取得します。

例) CE 45, CES 15 の場合: CE 30-60V で測定を行い、全 CE の平均のスペクトルが表示されます。

IDA や SWATH など、低分子から高分子、開裂しやすい化合物から開裂しにくい化合物 など、網羅的な成分の自動測定を行う場合に有効です。

定量時など、化合物ごとに最適な CE がある場合は、通常 CES 0 を使用します。

得られるスペクトルは平均のスペクトルになります。得られた結果から各 CE のスペクトルの閲覧はできません。

Inclusion List, Exclusion List について

必ず MS/MS を行いたい *m/z*、MS/MS の測定対象から除外したい *m/z* がある場合に使用 します。

チェックをいれ、Include List...をクリックします。

起動した右の画面で、目的の Mass, RT や Tolerance を入力します。

Excel からのフピー&ペーストもでき		IDA: Inclusion List						
	Include the	following candidate i	ons					
ます。		Compound name	m/z (Da)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/	- sec)		
	1		609.2807	5.00	30			
Intensityには強度の閾値を入力しOK	*							
します	Intensity	/ 10 🗘 c	ps					
					OK			

- ⑦ Save をクリックし Save As を選択して、名前を付けて保存します。
- ※ トレーニングでは IDA と保存します。

3.2 LC Method の作成



- ① Home 上の LC Method をクリックします。
  - ② New をクリックします。
  - ③ Binary Gradient タブは下図を参考に、Binary Gradient では注入量、分析時間、 タイムプログラム等を設定します。
  - ※ 溶媒比の設定は、B. Conc に値を入力します。
  - ④ Flow program の Table を表示するには、Flow program 上をクリックします。

Injection Volume 10.0 µL 注入量							
Binary Gradient Autosampler Column Ov	en Detector A Syster	m Controlle	r				
LC-30AD		Binary	Gradient		ガラジ	テント	
測知	<b></b> を終了時間				//~	201	
Stop time: 15.00 min		r Flow	program –		(B Co	onc をフ	(力)
	1		Flow progra	⊔ m ⊖Simple			
B.Conc A.Conc	_		Time	Flow	A.Conc	B.Conc	B.Curve
80		1		0.2000	95.0	5.0	0
60		2	5.00	0.2000	5.0	95.0	0
%		3	10.00	0.2000	5.0	95.0	0
40		4	10.01	0.2000	95.0	5.0	0
20		5	▶ 15.00	0.2000	95.0	5.0	0
0 0.00 3.00 6.00 mi	00 15.00	6					
Flow: 0.2000 mL/min 流:	速	- Com	pressibility s	settings			
A.Conc 95.0 %	溶媒比	- Auto	purge settir	ngs —			
B.Conc 5.0 % B.Curve	e 0				1		
Pressure limits: Minimum:0.0 MPa Maximu	Pressure limits: Minimum: 0.0 MPa Maximum: 66.0 MPa						

⑤ Autosampler タブは下図を参考に設定を行います。

Autosampler Binary (	Gradient Column Oven System	Controller
SIL-30AC		Direct injection
<ul> <li>Autosampler</li> </ul>		- Sample rack settings
□ Injection settings —		-Injection settings
Sampling speed:	5.0 µL/s	- Acquisition cycle time optimization —
Cooler temperatu	ure: 5 °C	-Rinse settings
Rinse settings		- Purge settings
Rinse type:	External only 👻	- Autopurge settings
	Refer flow channels	]
External		
Rinse mode:	Before and after aspiration, Dip time:0s	
Rinse pump method:	Rinse pump, then Port, Time:2s	

- ※ Rinse Settings の各項目のプルダウンをクリックすると設定が変更できます。
- ※ 右側の Sample Rack Settings 等をクリックすると各種設定が表示できます。

		r Column Oven Detector A	Syster Binary Gradient Autosar	npler Column Oven	Detector A	System Controller	
і сто	D-30A		▲ SPD-20AV			Detector A	
	_		Data acquisition			Advanced	
Column C	Oven		Lamp:	D2&W -		<ul> <li>Auto zero</li> </ul>	
Oven temp	erature:	40 °C	- Wavelength				
Temperatu	re limit	160 °C	Wavelength Ch1:	254	nm	Auxiliary range:	1.0 • AU/V
(Maximum	a).		Wavelength Ch2:	254	nm	- Peserder settings	
Valve				254		necorder settings	
Valve L:	None	None 🔻	Sampling:	1 -	Hz		
Value Pr	None	Nono	C	1000 -	ms		
valve it.	None	None +	Response	0.5	c		
Ready check		On	nepoliser	0.5	-		
,			Polarity:	+ •			
			Cell temperature:	40	°C		

- ⑥ カラムオーブンタブや Detector A タブではカラムオーブンや UV 等を設定します。
- ⑦ Save をクリックし Save As を選択して、名前を付けて保存します。

3.3 Valve の設定

- ① 必要に応じて Valco Valve の設定を行います。
- 下記はAポジション(Waste)、Bポジション(MS online)の設定です。
- ※ 測定開始時の MS に入れます。 例:0~0.5 分
- ※ 終了時間は分析時間よりやや短めに設定します。 例:測定時間が15分の場合は、14.5分の間で設定します。
- ※ Position はAおよびBが交互になるよう設定します。

•	Time (min)	Position
IntegratedSystem : Shimadzu Nexera Prominence LC	0	В
Valve : Valve Model	10	A
	14.5	в ~
		А
		в

③ Save  $b \neq 0$   $b \neq 0$ 

- 3.4 平衡化
  - 装置を平衡化します。Status Panelの Equilibrate をク リックします。
    - 使用する MS Method および LC Method を選び、平衡 化時間(Time:1)を選択し OK をクリックします。
    - ③ LCの溶媒が流れ、ガスやターボガスの加熱が始まります。1 分後に画面右上の Status Panel が
       ⊘ Ready
       に変わります。
    - ※ Status Panel の表示を消すには Status Panel
    - ※ (例: <a></a> <a></

#### 3.5 Batch の作成

- ① Home 上の Batch をクリックします。
  - ② Sample Name、Data File にサンプル情報やファイル名等を入力します。
  - ※ Data File は同一名は使用せず別名になるよう設定してください。
  - ※ Data File にサブフォルダを使用する場合は「\ (バックスラッシュ)」を使いま す。

(	<b>)</b> - C	Batch		合 🗰				्र 🖉		?	- 8 X
	<b>~</b>	Auto-Calibrate	Plate Layout	New	Open 🔹	Save	♥ Print	M	anage 🔹 👻	Submit	
	01										
Г		Sample Name	MS Method	LC Method	Rack code	Rack position	Plate code I	Plate Position	Vial position	Data File	Â
	1	SampleA	01_IDA_pos	01_LC	54 Vial Rack	1			1	01_20IDA_pos(	01
	2	SampleB	01_IDA_pos	01_LC	54 Vial Rack	1			2	01_20IDA_post	02

【注意】特殊文字(スペース+ - \* .,@ # % /& ^0など)の使用は推奨していません。 Software によって Data が開かないなど、不具合が起きる場合がありますので、使用 されないことを強く推奨します。以下にも類似の例がありますのでご参照ください。

https://support.microsoft.com/ja-jp/kb/826763

- ③ MS Method および LC Method は、先ほど作成したファイルをプルダウンから選 択します。
- ④ Rack Code 等を選択し、Vial position を入力あるいはプルダウンから選択します。
- ※ Vial position は Plate Layout...でも設定できます。

Direct Control	
(U)	)
Standby	Equilibrate

Equilibrate	
MS Method 01_20IDA_pos	~
LC Method 01_LC	•
Time (min.) 1	
OK Cancel	

⑤ Auto Calibrate...にチェックをかけ、クリックして下図を 参考に Ion reference tabel から極性に合わせて条件を選び ます。



⑥ Calibration every と CDS channel を入力、設定します。

#### Positive Mode

#### <u>Negative Mode</u>

Batch - Automat	ic Calibration Editor		E	Batch - Automati	ic Calibration Editor			
Provide ion reference and o	alibrant delivery settings to be applied automatic	ally, at the correct frequency during a	cquisition. p	Provide ion reference and ca	the correct frequenc	y during acquisition.		
Ion reference table	X500 ESI Positive Calibration Solu 💙	Edit	<b>–</b> (	Ion reference table	X500 ESI Negative Calibration	n Sol 💙	I	Edit
Calibrate every	5 \$ sample	is		Calibrate every	5	samples		
Calibrant delivery	CDS	CDS channel 1	•	Calibrant delivery	CDS 👻	CD	S channel	2 👻
何サンプル	レ毎に1回Calibratio	m を行うかの割	定		Positive : 1			
* 連続分析	斤の際は、数時間お	きに入るよう討	定		Negative : 2			

※ 開いた画面の Edit.... では、使用するキャリブレーションイオンを変更できます。

#### 【Tips】 Ion reference table の編集

- ※ LC 条件等によりイオン強度は変わります。分析の際特定のイオン強度が低く Cal がパスできない場合は該当するイオンの Use のチェックを外します。
- ※ Training では設定しません。

	ne:	X500 ESI Positive Calibration Solut V	Po	osit	ive I	Mode	e			New	Copy De
		Positive Negative									
Refe	ren	ce lons for TOF MS Calibration:							Refe	rence lons for l	AS/MS Calibration:
4	Use	Compound Name	Precursor m	/z (Da) U	se for MS/MS_C	E for MS/MS D	P for MS/MS		Pro	duct of 609.28066	Da)
1		Cil	132.904	190		10	50			Use Fragment I	lame Fragment m/z (Da)
2	2	amino-dPEG 4-acid	266.159	81		30	50		1	C11H12N0	174.09134
2	6	amino-dPEG 6-acid	254.212	24		20	50		2	C10H1104	195.06519
	÷	amino dPEG 8-acid	AA2 26/	67		20	50		3	C13H18NC	3 236.12812
	č		600.200	107	ě	46	50		4	C22H25N2	Q3 365.18597
2	Ľ	reserpine	0094280	00		43	00		5	C23H29N2	O4 397.21218
0	~	Abbitys	829.535	13.5		40	50		6	C23H30NC	448.19659
1	~	AUDITVS + LS	961.436	190		50	50		7	C33H40N2	09 609.28066
8	~	Heptakos(2,3,6-tri+O-methyl)-β-cyclodextrin +N.	1446.73	224		30	50		8		
9	~	Heptakis(2,3,6-tri-O-methyl)-β-cyclodextrin + C	1561.60	332		30	50		-		
10	~	Triacetyl-β-cyclodextrin + NH3	2034.62	545		30	50				
11		Triacetyl-β-cyclodextrin + Cs	2149.49	653		30	50				
de io	n re	ference details for the calibration settings									
de io Name	n re r: [	ference details for the calibration settings       X500 ESI Negative Calibration Sol •       Positive •       Negative	Ne	ga	tive	Mod	e		iew (	Сору	Delete
de io Nami	п ге с: [ с	ference details for the calibration settings X500 ESI Negative Calibration SoL. V Positive () Negative Jons for TOF MS Calibration:	Ne	ga	tive	Mod	e	Referen	ce lons fr	Copy or MS/MS Calibrat	Delete
ide io Nami	п ге к [ свка Лзе	ference details for the calibration settings XSOO ESI Negative Calibration Sol. Positive Negative Non for TOF MS Calibration: Compound Name Prec	Ne	ga Ise for MS/	tive .	Mod	e <sub>les</sub>	Referens Product Ube	ce lons fr of 792.85 Fragme	er MS/MS Calibrat 903 Da) et Name	Delete lon: insoment m/s (Da)
Refer	n re r: [ ( ence		<b>Ne</b> ursor m/z (Da) ( 60.99576	ga Ise for MS/	tive 1	Mod	e Ies 、	Referen Product Use	ce lons fi of 792.85 Fragme TFA- lo	CCPy or MS/MS Calibrat 563 Da) et Name in CO2	Delete
Refer	n re r: [ ( ence	KISO ESI Negative Calibration settings KISO ESI Negative Calibration Positive Negative Negative Negative Compound Name Pre Tria- Name CO Tria	Ne	ga Ise for MS/	MS CE For MS/MB	<b>Mod</b>	e	Reference Product Use 1 2	ce lons fr of 792.85 Fragme TFA- lo TFA-	Copy or MS/MS Calibrat G63 Da) et Name is CO2	Delete fragment m/z (DA) 68.99576 112.98559
Refer			Ne 40.99576 112.90559 154.97375 154.97375	ga Ise for MS/	MS CE For MS/MB -10 -10 -10	Mod DP for MS/MS -50 -50 -50	e Retr	Referens Product Use 1 2 2 2	ce lons fr of 792.85 Fragme TFA- lo TFA- TFA-NA	Copy or MS/MS Calibrat 663 Day of Name on CO2	Delete inspirent m/z (DA) 66.99276 112.80559 152.80559 152.87376
Refer		KISO (SI Negative Calibration settings     KISO (SI Negative Calibration Sol., v)     Notive (Negative Calibration Sol., v)     Notive (Negative Calibration Sol., v)     Solar for OM Scalibration     Compared Name     Pre     Trach	Ne 86.99576 112.96559 154.97376 294.97057 246.96040	ga Ise for MS/	MS CE for MS/MC -10 -10 -10 -15	<b>Mod</b> DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference Product Uber 1 2 3 4	ce lons fi of 792.85 Fragme TFA- lo TFA- NA (TFA-NA	er MS/MS Calibrat 663 Da) et Name to CO2 L+F- L+F- L+TA Joss CO2	Delete           Instrument (m)/z (DA)         66,09976           112,09559         154,97376           154,97376         354,97057
de io Name Refer 1 2 3 4 5 5 6		Stor Dis Negative Calibration settings     Stor Dis Negative Calibration Set.      Stor Dis Negative Calibration     Store Tot ON Scalausion     Second New      New      No.	Ne 66.99576 112.96559 154.97375 284.96040 344.93520	ga Ise for MS/	MS CE for MS/MD -10 -10 -10 -15 -15	Mod -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e Res	Reference Product 1 2 3 4 5 5	ce lons fi of 792.85 Fragme TFA- lo TFA-NA (TFA-NA 1(TFA-9)	Copy or MS/MS Calibrat 963 Da) of Name is CO2 (+F- a)+TFA- loss CO2 (a)-TFA-	04469 Fregment M/2 (Do) 66.99376 154.99376 154.99376 254.97077 244.9504
de io Name Refer 1 2 3 4 5 6 7			Ne 60.99576 112.96559 154.97375 284.97057 284.90640 284.93520 320.91001	ga Ise for MSJ	tive 2	Mod DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50	e <sub>les</sub>	Reference Product Use 1 2 3 4 4 5 5 6	ce lons fr of 792.85 Fragme TFA- lo TFA- TFA-NA (TFA-M 1(TFA-M 2(TFA-F	CCOP7 or MS/MS Calibrat 603 Day ort Name us CO2 L+F- sig)+TFA- loss CO2 is)+TFA- is)+TFA- is)+TFA-	Delete           fregment m/z (Da)         66.99270           112.86959         153.492376           204.97037         204.97037           204.97038         204.97037
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8		Reserve details for the calibration settings         \$\$500 ESI Megative Calibration Set.         \$\$           Station ESI Megative Calibration         \$\$           Perform @         Negative Calibration         \$\$           Markine Calibration         \$\$         \$\$           Table Calibration         \$\$         \$\$	Ne wsor m/z (Pa) 1 609576 1529559 15497057 20497057 20499000 38493520 20291001 558,08482	ga Ise for MSJ	10 -10 -10 -10 -15 -15 -15 -15 -20	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e Res	Reference Product Use 1 2 3 4 4 5 5 7 7	ter lons fr of 792.85 Fragme TFA- lo TFA- lo TFA- NA (TFA-NA 1(TFA-3) 2(TFA-3) 3(TFA-3)	Copy or MS/MS Calibrat 563 Day of Name os CO2 i+F- io)-TFA- io)+TFA- ia)+TFA- ia)+TFA- ia)+TFA-	Celetre  sor.  ***********************************
de io Name Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9			Ne utor m/z (De) 1 66.99576 112.96559 154.97577 248.96640 384.93520 528.97001 656.86482	ga Ise for MS/	MS CE For MS/ME -10 -10 -10 -10 -10 -15 -15 -15 -20 -20	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference Product Use 1 2 3 4 4 5 7 2 4 2 2 4 2 4 2 2 4 2 4 2 2 4 2 2 2 4 2 2 2 4 2 2 2 4 2 2 2 2 4 2	TFA- Io TFA- Io TFA- Io TFA- TFA-NA (TFA-NA 2(TFA-4) 3(TFA-4) 4(TFA-4)	Copy or MS/MS Calibrat 661 Da) et Name et Name (a)=TFA- (a)=TFA- (a)=TFA- (a)=TFA- (a)=TFA- (a)=TFA-	Delete           box           Tragment m/s(Db)           64.9976           10.89559           554.9276           204.9057           245.9057           204.9050           50.01001           964.6842
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10		Store Calibration Settings Store Calibration Settings Store Calibration Set. Store Calibration Compared line Compa	Ne 46.99576 112.96559 154.97375 264.97057 265.97057 265.9705	ga Ise for MS/	10	Mod -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference Product Ube 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	ce lons fr of 732.85 Fragme TFA-lo TFA-M I(TFA-M 1(TFA-M 2(TFA-M 2(TFA-M 3) TFA-M 3) TFA-M 3) TFA-M 3 (TFA-M 3)	Copy or MS/MS Calibrat 66 D a) or TA- or TA- or TA- ta- ta- ta- ta- ta- ta- ta- ta- ta- ta	Central           Instrument Ank (Da)         69,977.8           05,977.8         134,972.9           134,972.95         346,960.0           346,960.0         346,950.0           555,960.0         555,868.0
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9 9 10 11		Prevent details for the calibration settings           3500 ED Regarive Calibration Sci           Profile         • Regarive           Profile         • Regarive           Status ED Regarive Calibration Sci         • Regarive           Profile         • Regarive           The Net COD         • Reg           The Net The Origin	Ne ursor m/z (Do) 1 66.99576 112.905576 112.905576 204.97057 204.90600 304.90520	ga Ise for MSJ	<b>tive</b> -10 -10 -10 -15 -15 -15 -20 -20 -30 -30	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e 、	Reference           Product           Use           1           2           3           4           5           6           7           8           9           10	Ce lons f of 792,85 Fragme TFA- Io TFA- NA I(TFA-30, I(T	Copy or MS/MS Calibrat 661 Do) mt Name on CO2 .=F. 0)+TFA- (0)+TFA- (0)+TFA- (0)+TFA- (0)+TFA- (0)-TFA- (0)-TFA- (0)-TFA-	Delete ber Trippent mit (Da) 60097/1 112,8059 112,8059 124,8079 304,8707 304,8
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12		State	Nee 48,995% 112,96559 154,973% 284,96563 284,95663 284,95663 284,95664 284,8442 792,85963 282,83444 200,78405	ga Ise for MSJ	MS CE for MSMC 4	DF for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference Product Use 1 2 3 4 4 5 5 6 6 7 7 8 9 10	Ce lons f of 792.85 Fragme TFA- Io TFA- Io TFA- NA (TFA-NA 2(TFA-3) 2(TFA-3) 2(TFA-3) 2(TFA-3) 2(TFA-3)	Copy or MS/MS Calibration 660 Da) on CO2 (*F. 1)+ TFA- Ioss CO2 (a)-TFA- (a)-TFA- (a)-TFA- (a)-TFA- (a)-TFA- (a)-TFA-	Color Ingenet Atk (Da) 48,927% 112,84595 124,8255 204,9707 124,8255 204,9707 124,8255 204,9707 124,8255 204,9707 124,8255 204,9707 124,8255 124,825 124,855
Refer 1 2 3 4 5 5 6 7 8 9 10 11 12 13		Prevent details for the calibration settings           3500 ED Regarive Calibration Sci.           Profile         Negative           Status ED Regarive Calibration Sci.         Profile           Profile         Negative           Status ED Regarive Calibration Sci.         Profile           The Sum CO         Profile           The Auto CO         Profile           Status ED Regarive Calibration Sci.	Nee wroor m/z (Do) ( 80,995% 112,96559 154,973% 155,973% 154,973% 154,973% 154,973% 155,973% 154,973% 154,973% 155,973% 154,973% 154,973% 155	ga lee for MSV	MS CE IN MCMC -10 -10 -10 -15 -15 -15 -15 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference           Pinoduct           Use           1           2         ¥           3         ¥           4         ¥           5         ¥           6         ¥           9         10	ce lons fi fragme TFA- log TFA- log TFA- % 1(TFA-% 2(TFA-% 2(TFA-% 2(TFA-% 2(TFA-% 2(TFA-% 2(TFA-% 2(TFA-%) 2(TFA-%) 2(TFA-%)	Copy or MS/MS Calibrate Sel Day ont Name (a) CO2 -rFe. (a) -TFA. (a) -TFA. (a) -TFA. (a) -TFA. (a) -TFA. (b) -TFA.	Delete           Wer           Wegneten find (Ja)           66 40978           112,8999           134,49278           344,4950           344,4950           354,4950           556,6862           752,5961
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14		State De Negative Calibration settinge State De Negative Calibration Settinge State De Negative Calibration State De Negative Calibration Compound Name Proceedings Compound Name Proceedings Trans- Tr	Nee 66.995% 112.96559 134.97376 204.96040 284.93520 284.93520 284.93520 284.93520 284.93520 284.93520 284.93520 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9354 284.9355 284.9555 284.9555 284.9555 284.9555 284.9555 284.9555 284.95555 284.95555 284.95555 284.955555 284.9555555555555555555555555555555555555	ga like for MSJ	MS CE for MS.MC 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e Nes	Reference           1           2         2           3         2           4         2           5         2           6         2           9         10	ce lons fi fragme TFA- log TFA- log TFA- 30 (TFA-30 (TFA-30 (TFA-30 ) (TFA-30) (T	Copy or MS/MS Collect of Name of Name of TA- op-TRA- (a)-TTA- (a)-TTA- (a)-TTA- (a)-TTA- (a)-TTA- (a)-TTA- (a)-TTA-	Obids           incr           Internet in (Da)           64/97/16           248/96/00           344/97/15           248/96/00           344/97/01           248/96/00           344/97/01           248/96/00           344/97/01           248/96/00           344/97/01           248/96/00           346/97/01           248/96/00           346/97/01           248/96/01           346/97/01           34
Refer 1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 14		Prevence details for the calibration settings           SIGD ED Regaritive Calibration Sci.           Proferer         Impactive           <	Nee 4699576 112.96559 154.07376 248.96040 288.95040 288.96040 288.96040 288.96040 288.96040 288.96040 288.96040 288.96040 200.76055 130.75055 130.75055 130.75055	ga tee for MS/S	MS CE For MSARE -10 -10 -10 -15 -15 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	Re	References Product 1 Use 1 Use	ce lons fi of 792.85 Fragme TFA-Io TFA-Io 1(TFA-9 2(TFA-9 2(TFA-9 2(TFA-9 5) TFA-9 5(TFA-9 5)	Copy or MS/MS Calibrat 66 Da) mt Name ns CO2 isFe 10)-1TR- 10)-1TR- 10)-1TR- 10)-1TR- 10)-1TR- 10)-1TR- 10)-1TR- 10)-1TR-	Delete           See           112,8959           154,8959           155,8959
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16		State Dia Negative Calibration settings State Dia Negative Calibration Set.  State Dia Negative Calibration Set.  State Dia Negative Calibration Settings  State Dia Negative Calibration  State Dia Negative Calibration  State Dia Negative Calibrative  State Dia Negative  State Dia Negat	Ne 66.99576 112.96559 154.97276 284.97057 284.97057 284.97057 284.97057 284.97057 284.97057 284.97057 284.940520 281.9101 195.9596 195.95967 195.95967 195.95966 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.95967 195.9597 195.95777 195.957777 195.95777 195.957777 195.9577777 195.957777 195.95777 195.9577	ga ise for MS/	NS CE for MSARC 10 10 15 15 15 15 15 20 20 20 30 30 30 30 30 30 30 30	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	Re	Reference           1         Ube           1         2           2         3           3         2           4         5           5         7           7         7           9         10	се Ions fi of 792.85 Fragme TFA-Io TFA-N 1(TFA-N 2(TFA-N 2(TFA-N 2(TFA-N 2(TFA-N 5)) S(TFA-3)	Copy or MS/MS Calibrat 663 Da) mt Name or CO2 or TFA- lab TTA- lab TTA- lab TTA- lab TTA- lab TTA- lab TTA- lab TTA-	Ocidité           Internet min (Dit)           66           11/2/05/9           12/2/15/           2/4/3/26
Refer 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17		Prevence details for the calibration settings           \$5500 ES Megative Calibration Set.           Proferer         Regative           Proferer         Regative           Total Calibration         Proferer           Restard         Regative           Total Calibration         Proferer           Restard         Restard           Total Calibration         Proferer           Total Calibratintinic         Proferer <t< td=""><td>Nee 68.99375 134.07376 134.07376 134.07376 234.97077 234.97077 234.97077 234.99040 284.9040 284.9040 284.8044 200.78405 1346.7550505 1346.755050505 1346.755050505050</td><td>ga ke for MSF</td><td>HINE CE For MESARE -10 -10 -10 -10 -10 -15 -55 -20 -20 -20 -20 -30 -30 -30 -30 -30 -30 -30 -3</td><td>Mod -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50</td><td>e</td><td>Reference           Product           Use           1           2           4           5           7           8           9           10</td><td>ce lons fi er 792.85 Fragme (TFA-10 TFA-10 TFA-10 (TFA-30 (TFA-30 2(TFA-3) 2(TFA-3) 2(TFA-3) 5(TFA-3)</td><td>Copy or MS/MS Caliesta 661 Da) mt Name on CO2 of TAR- ion CO2 of CO2 of</td><td>Defense           Star           112.8959           132.8959           132.8959           134.8959           134.8959           344.9506           364.9506           364.9507           364.9508           364.9509           364</td></t<>	Nee 68.99375 134.07376 134.07376 134.07376 234.97077 234.97077 234.97077 234.99040 284.9040 284.9040 284.8044 200.78405 1346.7550505 1346.755050505 1346.755050505050	ga ke for MSF	HINE CE For MESARE -10 -10 -10 -10 -10 -15 -55 -20 -20 -20 -20 -30 -30 -30 -30 -30 -30 -30 -3	Mod -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference           Product           Use           1           2           4           5           7           8           9           10	ce lons fi er 792.85 Fragme (TFA-10 TFA-10 TFA-10 (TFA-30 (TFA-30 2(TFA-3) 2(TFA-3) 2(TFA-3) 5(TFA-3)	Copy or MS/MS Caliesta 661 Da) mt Name on CO2 of TAR- ion CO2 of	Defense           Star           112.8959           132.8959           132.8959           134.8959           134.8959           344.9506           364.9506           364.9507           364.9508           364.9509           364
Refer 8 1 2 3 4 5 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 12 13 14 15 16 17 18		Store EX Negative Calibration settings Store EX Negative Calibration Settings Store EX Negative Calibration Settings Store For MA Set Calibration Cali	Nee 66.995% 112.96559 132.96559 134.9707 284.9707 284.9500 250.9101 66.80435 250.9101 66.80435 250.9101 66.80435 250.9101 120.5056 120.505		NS CE IN MS.MC -10 -10 -10 -15 -15 -15 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20 -20	DP for ASANS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference           1           2         2           3         3           5         2           6         2           7         3           8         2           9         10	ce lons fi de de 792.85 Fragme TFA-lo 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30 10 FA-30	Copy or MS/MS Calibrat 963 Da) mf Name 0 = TG 0 = TFA- 10 = TFA- 10 = TFA- 10 = TFA- 10 = TFA- 10 = TFA- 10 = TFA-	Delete tergeneti mid (Da) 6605075 11365959 113659 11365959 1
Refer 1 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 10 11 11 12 13 14 15 16 17 17 18		Percence details for the calibration settings         \$3500 ESI Megative Calibration Set.         \$           \$5500 ESI Megative Calibration Settings         \$	Nee 66.995% 13.4972% 23.4972%24.4972% 24.4972% 24.4972% 24.4972%24.4972% 24.4972% 24.4972%25.4972% 24.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972%25.4972% 25.4972%25.4972%25.4972%25.4972%25.4972% 25.4972%		tive 2 10 10 10 10 10 10 10 10 10 10	DP for MS/MS -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50 -50	e	Reference           Product           1           2         2           3         4           5         5           6         2           7         8           8         9           10         10	ce lons f fragme TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo TFA-lo	Copy ar MS/MS Calibrat 961 Do.) 162 Do.) 163 CO2 445- 164 - TMA- 166 -	<b>Exercise</b> <b>10</b> , 2007 (10), 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10, 10

⑦ Save をクリックして Batch を保存します。

【※Tips】自動トリガー解析 (SCIEX OS 1.6 以降)

		•						R	🔗 Ready	? - 🗆
	🖌 🖌 Auto-Cali	brate Plate	Layout	New	Open	•	Save 👻	Print	Manage 👻	Submit 🛛 🗙
VIS Method	LC Method	Rack Type	Rack Position	n Plate Type	Plate Position	Vial Position	Injection Volume (µl)	Data File	Processing Me	thod Results File
01_IDA_pos	01_LC	54 Vial Rack				1	10	0.0 01_20IDA_pos0	1 01_Target	Training
01_IDA_pos	01_LC	54 Vial Rack				2	10	0.0 01_20IDA_pos0	2 01_Target	Training

- 1) Batch 上に、Processing Method と Results File のカラムが表示されます。
- 既存の Results Table にデータを追加する場合は、Results File をプルダウンから 選択します。既存の Results Table で使用した Processing Method が自動で表示さ れます。
- 新規で Results Table を作成する場合は、Results File に File 名を入力し、使用する既存の Processing Method をプルダウンから選択します。(Processing Method については、5 Analytics によるデータ解析の章を参照して下さい。)
- 4) データ取得が終わると、自動的に解析が始まります。Queue 画面の Processing Status で解析の進行具合を確認できます。
- ※ Training では設定しません。

- 3.6 Batch を使用した測定
  - ① サンプルを Vial Position で入力したポジションにセットします。

	🗸 Auto-Calibra	ate Plate Layout.	New Op	en 👻 Save	♥ P	rint	Manage	•	Submit
test									
	Sample Name	MS Method	LC Method	Rack Type	Vial Position	Injection Vol	Data File		Comment
1	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24	5.0	Test\gly_01		
2	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24	5.0	Test\gly_02		
3	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24	5.0	Test\gly_03		
4	test	IDA_Pos	InertSustain Amide	1.5mL (105 vial)	24	5.0	Test\gly_04		

- ② 入力したサンプルのうち、限定したサンプルを分析する場合はその行を選択します。
- ③ Submit をクリックします。
- ④ メッセージが出たら内容を確認して OK を選びます。
- ※ 分析する本数や実施する Calibration を確認します。



## 3.7 Queue の確認

① Home 上の Queue をクリックします。

• Queue	습   📰 🛛				💓 ⊘ Stop	ped
				▶ Start	Stop Print	Manage
Acquisition Status	Est. Start Time	Sample Name	LC Method	MS Method	Data File	Project
<ul> <li>Untitled - 7 Samples</li> </ul>						
0	9/2/2016 11:28:49 AM	Cal		01_20IDA_pos	Cal	Training
$\odot$	9/2/2016 11:32:05 AM	SampleA	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos01	Training
0	9/2/2016 11:47:09 AM	SampleB	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos02	Training
0	9/2/2016 12:02:13 PM	SampleC	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos03	Training
0	9/2/2016 12:17:17 PM	SampleD	01_LC	01_20IDA_pos	01_20IDA_pos04	Training
0	9/2/2016 12:32:21 PM	Cal		01_20IDA_pos	Cal	Training
Ø	9/2/2016 12:33:37 PM	SampleF	01 LC	01 20IDA pos	01 20IDA pos05	Training

- ② 左側の Acquisition Status 上の▼をクリックすると、Auto Calibration を含めた サンプルが Waiting
   ◎ の状態で待機しているのを確認します。
- ※ 平衡化が終わると、自動で分析が開始します。
- ※ Submit したサンプルの MS Method が異なる場合は、それぞれについて Auto Calibration が挿入されます。

- ※ 途中で中止する場合は、Stopをクリックしてください。
- ※ 進行中は が表示され、分析が終了すると ◇ が入ります。
- ③ 測定中の Data を確認するには、画面下部の Data Acquisition をクリックすると、リアルタイムの TIC およびスペクトルが表示されます。
- ※ Data Acquisition を隠すには再度クリックします。

Da	ta Acquisition MS			Sta	irt	👻 🔳 Stop	Save	
Intensity, cps	from Cal-2016-02-09-16-16-32.wiff2 (sample 1) - Cal TIC from Cal-2016-02-09-16-16-32.wiff2Cal Experiment 1, + TOF MS (100 - 1000) 12e7 - 0.09 0.31 9.0e6 - 0.0e9 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 10 11 1.2	Intensity, cps	ectrum fro Spectrum 1.5e5 - 1.2e5 - 9.0e4 - 6.0e4 - 3.0e4 - 0.0e0 -	m Cal-2016-02-09- from Cal-2016-02-09- from Cal-2016-02-0 331 174.1277 266.1600 00 300 300	16-16-32. •09-16-16 9-16-16- 2169 400	wiff2 (sample : 5-32, +TOF I 32.wifSMS of 442.2646 443.2681	1) - Cal M5 (100 - 1000), fro 829.5 (50 - 1000), fr 609.2806 610.2840 611.2865 829.1 0 700 800	m 0.360 min om 0.377 min 922.0104 5387 900
	Time, min					m/z, Da		

 分析中あるいは分析終了後のデータを確認するには、該当する Queue をダブルク リックすると Explore 上でデータが開きます。

Acquisition Status	Est. Start Time	Sample Name
<b>S</b>	5/8/2020 4:01:34 PM	Cal
<b>V</b>	5/8/2020 4:03:28 PM	blank
<b>O</b>	5/8/2020 4:34:21 PM	sample

⑤ Auto Calibration の結果を確認するには、Queue の cal 左側 
◆ をダブルクリック します。

Peak fin Mass tol Intensit; Min. pea Max. pe Calibrat R square	ding crit erance thresh ik resolu ak resolu ion Succ ed range	teria: = 50 ppm old = 100 cp ition = 100 ation = 600 reededt :: 0.00000	ps 00 00 - 1.00000											
Solected	Used	m/z Expected (Da)	Min. Search miz (Da)	Max. Search m/z (Da)	m/z Before Calibration (Da)	Delta m/z Before Calibration (De)	PPM Error Before Calibration	m/z After Calibration (Da)	Delta m/z After Calibration (Da)	PPM Error After Calibration	intensity (cps)	Resolution	Charge State	Mono- Isotopic
Yes	Yes	132.90488	132.89823	132.91153	132.90505	0.00017	1.31	132.90479	-0.00009	-0.67	74902	28497	Undefined	Yes
Yes	Yes	266.15981	265.14650	266.17312	266.16015	0.00034	1.29	266.15990	0.00009	0.35	41581	31504	1	Yes
Yes	Yes	315.16225	315.14649	315.17801	315.16244	0.00019	0.61	315.16221	-0.00004	-0.13	48296	32251	1	Yes
Yes	Yes	354.21224	354.19453	354.22995	354.21256	0.00032	0.89	354.21234	0.00010	0.29	58498	33544	1	Yes
Yes	Yes	442.26467	442.24256	442.28678	442.26497	0.00030	0.65	442.26450	0.00013	0.30	507951	40427	1	Yes
Yes	Yes	609.28066	609.25020	609.31112	609.28082	0.00016	0.26	609.28076	0.00010	0.17	224103	36962	1	Yes
Yes	Yes	829.53933	829.49785	829.58081	829.53826	-0.00107	-1.29	829.53838	-0.00095	-1.15	55238	33062	1	Yes
Yes	Yes	922.00980	921.96370	922.05590	922.01025	0.00045	0.49	922.01045	0.00065	0.71	241215	38214	Undefined	Yes
Yes	No	1,521.9714 8	1,521.8953 8	1.522.0475	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Use
No	No	2,121.9331 6	2,121.8270 6	2,122.0392 6	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Used	Not Use
TOF MS	/MS Hi	gh Resoluti	on	Parent = 8	829.5393	3 Da								

**4 Explore** によるデータ解析

#### <u>データの表示方法について</u>

- TIC から(A)、IDA Explore から(B)の2種類のDataの開き方があります。
- IDA Explorer は IDA で取得した Data 用の解析手法になります。SWATH など、 他の測定方法については、対応していません。
- どちらの方法からも他の解析画面を開くことができます。
- TIC からの解析の初期画面 А. . ReakView - [IDA Survey from IDA\_withUV.wiff (sample 1) - E-2] 💦 File Edit Show MasterView Graph Process Bio Tool Kit Window đΧ -\* すべての測定方法に 🖆 🖆 🗀 02\_Demo\_Training\_2 🗸 | 🚓 🐟 📌 | 蘭 🔍 🧮 🥅 🍏 対応しています。 🖞 ᆃ 슈 - 🔊 🖾 🛦 👄 - | ← → 수| 비 표 - | 🏛 🔍 🚍 🚍 🏟 **d**⊒⊒ IDA Survey from IDA\_withUVwiff (sample 1) - E-2
   IDA Dependent Sum from IDA\_withUVwiff (sample 1) - E-2 + \* 初期画面は使用した & 2.918 90% 80% 全測定 Method の TIC の (Intensity (of 2.9e7) 70% 60% 重ね書きになります。 50% 6.368 40% 30% 0.360 2.480 6.456 20% 3.912 10% 8 Time, min

B. IDA Explore からの解析の初期画面



- 複数の Data を同時に解析する(Open Multiple Samples...)、File 名や File 内の Sample Name や Sample Info.から目的のデータファイルを検索する (Find Wiff Samples)ことも可能です。
- 詳細な説明につきましては Software User Guide(日本文、英文)を参考ください。
- 英文の資料につきましては、Windowsのスタートメニュー>SCIEX OS>SCIEX OS Documentation からも参照できます。

4.1解析

① Home 上の Explore をクリックします。



- ※ IDA で取得した Data について、スペクトルの確認から構造解析、類縁体検索な ど、様々な解析を容易に行うことができます。
- ① Open Sample...あるいは File Menu の Open Sample...から目的の File を選択します。該当するデータが表示されない場合はBrowseから該当 する Project 中の Data を選択します。
  - Training では以下のファイルを選択しま Ж す。

## D:¥SCIEX OS Data¥Training X500R¥Data 中

- $\mathcal{O}$  04 10.wiff2
- ② With the IDA Explorer (IDA Explorer から開 く)、As a standard TIC (TIC から開く) のどち らかを選び、OK をクリックします。
- ※ Training では With the IDA Explorer を選択し てください。
- ※ 以下の形式の初期画面が開きます。









File



4.2.1 縦軸の切り替え、リスト表示

目的に応じ、Graphの縦軸の切り替えやリスト表示にすることが可能です。

#### 縦軸の切り替え

- ① 画面上を右クリックし、Graph Y-Axis から目的の縦軸を選択します。
  - ※ Fragment Match TIC は後述の Fragment Matching 使用時に使用できます。



※ Training では②Dependent TIC(強度)に変更してください。



- 4.2.2 Table 表示
  - 画面上部の Table タブを選択することで 表示されます。
    - ※ Training では Graph のタブをクリック し、上述②Dependent TIC(強度)にし てください。
    - ※ Table の各項目をクリックすることで ソートすることができます。
- 4.2.3 スペクトルの統合 (Merge)
  - ※ 指定の m/z、RT の Tolerance 内の Peak について、積算して表示します。

				Table O	項目名を	ク	
+ Filtering Control				リックす	ることて	÷ • •	
Graph Table				ソートさ	れます。		
	In	dex 🛆	Time	m/z	Mass Def	TIC	
		1	0.10	109.1013	0.1013	4.8e1	
Γ		2	0.11	758.2229	0.2229	1.1e2	Т
Γ		3	0.12	386.1523	0.1523	2.3e2	T
Γ		4	0.32	157.0839	0.0839	1.8e2	Ť
Γ		5	0.32	239.1623	0.1623	2.5e2	Ť
Γ		6	0.32	301.1412	0.1412	1.5e2	Ť
		7	0.33	429.2408	0.2408	1.0e2	
1	_			1			<b>—</b>

- ※ 解析が容易になり、より質のよい MS/MS が得られる可能性があります。
- ※ 前の解析時の設定が保存されます。LC条件の変更後など、必要に応じて確認してください。
- ① 画面左上の Pイコンで Options (右下)を開きます。
  - Merge...にチェックをかけ、Mass, RT gap Tolerance に適当な値を入力します。
  - ※ RT の Tolerance は LC の Peak 幅に依存 します。

**Training** ではそれぞれ 10、 0.1 を入力 してください。

Options					
General	Mass Defect	Isotope	Pattern	Fragment Matc	nir
Mer	ge spectra wit	h similar p	recursor	masses	
Mass t	tolerance:	[	10.0	ppm 🔻	
RT gap tolerance:			0.10	min	



- 4.2.4 Filtering
  - ※ MS/MS 取得された Precursor Ion に Filter をかけ、目的のイオンを抽出し、解 析を容易にすることが可能です。
  - ※ グレーアウトの項目は、条件を設定することで利用できるようになります。
  - ① 画面左上の Filtering Control の左の + をクリックし、画面を開きます。
    - ② 次ページの備考を参考に を左ドラッグで移動、あるいはダブルクリック後数 値を入力し、目的の制限をかけます。
    - ※ Training では以下のように、m/zを 250~300 に制限してください。
    - ※ 終了後、Filtering Control 左の から Filtering Control を閉じてください。

E Filtering Contro	ols	<ul> <li>Filtering Contr</li> </ul>	rols
Time:	JJ	Time:	$\overline{\bigcirc}$
m/z:	□□	m/z:	250 300
TIC:	₽	TIC:	□
Quality:	ŪŪ	Quality:	ᄀフ
Matched Int. (%)	□ □	Matched Int. (%)	: ↓
Similarity:	ᄀᄀ	Similarity:	□□
Mass Defect:	ᄀᄀ	Mass Defect:	□
Defect in Range:	Filter using Precursor Mass Defect	Defect in Range:	Filter using Precursor Mass Defect
Isotope Pattern:	Filter using Precursor Isotope Pattern	Isotope Pattern:	Filter using Precursor Isotope Pattern
Graph Table		Graph Table	
Time versus T	IC Intensity for IDA Depen 338 34154 Filtor 前	Time versus Pr	recursor Mass/Charge for IDA $ { m Filter} eta$
3.0e5 2.5e5 2.0e5 1.5e5 1.0e5 5.0e4 0.0e0	675.6744/12.54 279.1588/11.41 397.0542/9.46 324.1206/9.36 256.1592/9.13 267.0645/8.77 109.1013/0.19	900 - 800 - 20 - 20 - 20 - 20 - 200 - 200 -	643.4041/11.50 649.6110/13.80 608.3856/6.36 648.5395/13.28 5 10 15
	Time, min		Time, min
2169 merged	spectra visible	129 of 2169 m	erged spectra visible
F	'ilter 前の MS/MS 数	Filt	er 後の MS/MS 数

## 備考 【 Filtering Controls について】

以下の Filter が可能です。

- ※ グレーアウトの項目(\*) は条件を設定することで利用できるようになります。
  - Time (Retention Time、RT)
  - m/z
  - TIC: Fragment Ion の強度の積算
  - Quality (%):

Product ion の強度の積算 / 全 Product ion の強度の積算 (Precursor Ion、 noise を除く。)

• Matched Int (%)\*:

設定した Product ion、 Neutral Loss に一致したイオンの強度 / 全 Product Ion の強度の積算(Precursor Ion、noise、Background ion を除く。Fragment Matching の項を参照ください。)

 Similarity (%)\*: 設定した基準化合物と一致する Fragment Ion, Neutral Loss / 全 Product Ion の強度の積算(Precursor Ion, Background Ion を除く。)

Mass Defect
 Defect in Range\*: 設定(複数可能)した Defect 内の Precursor Ion のみを表示
 Isotope Pattern\*: 設定(複数可能)した同位体比を持つ Precursor Ion のみを表示

## 4.2.5 IDA Explorer を用いた目的物質の MS, MS/MS, XIC の表示

## IDA Explorer を用いた目的物質の MS、 MS/MS スペクトルと XIC の表示

- ① Table から目的の数値をクリックします。
  - ※ Training では RT:10.75、*m/z* 272.1644(Napropamide)をクリックします。
  - ※ 右側に MS/MS スペクトルが表示されます。



 画面左上の <u>血 洗 止</u> (左から MS、XIC、MS/MS) から MS、XIC をクリッ クして表示します。



#### Paneの移動、足し合わせ、差し引き、重ね書き

- 各 Pane 右上にある、目的のアイコン(下図、上から、移動、足し合わせ、差し引き、 重ね書き)をクリック&ドラッグしてください。
  - ※ Training では以下のように画面を移動してください。



#### <u>Pane を隠す、消す、全画面にする</u>

 目的の Pane を選択後、画面上部にある Tool Bar 
 □ □ □ □ □ □ □
 から目的のア イコン(左から、消す、全画面表示、選択した Pane を隠す、選択した Pane 以外を 隠す、隠した Pane を表示する、選択した Pane 以外を消す)を選択してください。 ※ Training では、IDA Viewer、MS/MS を隠し、以下の画面にしてください。



- 4.2.6 Fragment Matching (共通のフラグメントを持つプリカーサーイオンの検索)
  - ① Filtering Controls の 画面左上の Matching タブを クリックします。
    - ② Fragment M/Z には共通するフラグメントイオンを入力し OK します。
    - ③ Filtering Controls の Matched Int (%):最小値を 10 と設定します。
    - ※ 値はデータにより適宜変更してください。

Options		Filtering Cont	rols	
General Mass Defect Isotope Patterr	Fragment Matching MS/MS Sim	Time:	0-	
Mass tolerance: 15.0	Set Using Ref. Spectr	m/z:	Ŭ-	
Minimum Intensity: 1.0e1		TIC:	0-	Specify Min or Max Value
Adjust precursor m/z using residual	parent	Our fear		
Fragment M/Z	Neutral Loss M/Z	Quality:		Value: 10
129.1150		Matched Int. (%)	: 🗖 –	>
11				OK Cancel

- ④ <u>Neutral Loss M/Z</u>には共通の脱離するフラグメントを設定することにより、その 共通骨格を持つプリカーサーイオンが検索できます。
- ※ Adjust...にチェックを入れるとプリカーサーイオンから設定値の差分を持つ成 分を検索します。

	+ Filter	ring Cont	rols
	Graph	Table	
	Time ve	ersus TIC	Intensity for IDA Dependents
	TIC	6.0e5 5.5e5 5.0e5 4.5e5 4.0e5 3.5e5 3.0e5 2.5e5 2.5e5	272.1649/10.72
		1.5e5	272.1648/10.69
		1.0e5	272.1646/10.76
		5.0e4	317.2231/10.74 -
		0.0e0 1	
			5 IU IS
0	0 -6 6 7 6		and a deside the second se
1944	9 01 030	2 spect	ra visible

- 4.3クロマトグラムからの解析
- Standard TICを用いた解析 (IDA) 4.3.1
  - ① Open Sample... から目的の File を選択します。
    - Training では以下の IDA のデータを選択します。 ్

D:¥SCIEX OS Data¥Training\_X500R¥Data 中の 04 10.wiff2

- ② As a standard TIC (TIC から開く) を選びます。
- ③ 目的のクロマトグラム上の時間(ここでは 7.5 分付 近)をダブルクリックします。
- ④ TIC、UV 上をダブルクリックすると、表示方法を選択するウィンドウ(図)が立 ち上がり、選択後にスペクトルが表示されます。

Open IDA Sample

How do you want to open this IDA sample? O With the IDA Explorer As a standard TIC

Only show this dialog again if the shift key is down OK

 $\times$ 

Cancel

※ Training では、Overlayを選択して	IDA Dependents 🛛 🔀
ください。	Specify the mode for viewing IDA dependent spectra. In both cases there is one graph for survey experiments and one graph for dependent experiments.
ODD Survey from 0     ODD     ODD	10) 💿 Qverlay spectra for dependent experiments
<sup>1.0e7</sup> ] 青: MS の TIC	11 Use use spectrum for dependent experiments (navigation
° ≩ 5.0e6 1.9	) 10 between experiments is with the left and right arrow keys)
<sup>達</sup> 0.570 桃: MS/MSのTIC	🖸 Only show this dialog again if the shift key is down
Spectrum from 05 100.wif/2 (sample 1) - 100,A TOF MS (100 - 1000) from 7.479 to 7.654 min 📝 Sp	
g 6e4 192.1388 293.1052	192.1388 293.1052
ू <sup>4e4</sup> 295.1023	5.1023
2e4 296.1052 ダブルクリックした時	間の MS 6.1053
0007 200 300 400 500 600 700 800 900 Mass/Charge Da	200 300 400 500 600 700 800 900 Mass/Charne Da
Spectrum from 05 100.wif/2 (sample 1) - 100,t 9, +IDA TOF MSMS (50 - 1000) from 7.487 min	Spectrum from 05 100.wiff2 (sample 1) - 1 MSMS (50 - 1000) from 7.481 to 7.684 min Spectrum from 05 100 wiff2 (sample 1) - 10 - E MGMS (50 - 1000) from 7.482 to 7.687 min
	Spectrum from 05 100.wiff2 (sample 1) - 10F MSMS (50 - 1000) from 7.483 to 7.690 min nole 1) - 10F MSMS (50 - 1000) from 7.484 to 7.690 min
8 3000 124.9819 $ \vec{x} = 2000 $ 124.9819 ダブルカリッカした時間のM	nple 1) - 10F MSMS (50 - 1000) from 7.485 to 7.690 min nple 1) - 10F MSMS (50 - 1000) from 7.486 to 7.690 min
	3/1413
100 200 300 400 500 600 700 800 900 Mass/Charge, Da	7 100 200 300 400 500 600 700 800 900 Mass/Charge, Da
Useを選択した場合:	Overlayを選択した場合:
ダブルクリックした時間の MS には、	ダブルクリックした時間と同じ IDA の
MS/MS したプリカーサーイオンが赤くハイ	サイクルに含まれる MS/MS がすべて
ライトされます。目的のプリカーサーイオ	重ね書きで表示されます。
ン(赤い部分)をクリックすると、MS/MS	
がリンクして表示されます	

#### Overlay...を選択すると表示される MS/MS について

- ※ Training では行いません。
- ① 重ね書きされた Pane を個々の Pane に分割したいときは、メニューバーから、Graph > Split Traces into Separate Panes を選択してください。
  - ② 重ね書きされた Pane から 1 つの Pane を抽出したいときは、スペクトル上部のタイトル (Spectrum from …)を左クリックして選択後、右クリックし、Remove All Traces Except Active を選択します。あるいは、目的以外のスペクトルタイトルを選択後、Remove Active Trace を選択し、1 つずつ削除してください。

#### 4.3.2 UV 等の解析

#### <u>UV (Analogue) クロマトグラムの表示</u>

- ① Open Sample... (ご) (ご) から目的の File を選択します。
  - ※ Training では以下のデータを選択します。
  - ② D:¥SCIEX OS Data¥Training\_X500R¥Data 中の UV\_IDA\_withUV.wiff
  - ③ メニューバーの Show から UV/DAD/ADC Channel を選択します

Show		Graph	Process	Window	Help						
Û	To	Ctrl+T									
$\hat{\mathbf{U}}$	Extract Ions Using Dialog (XIC) Ctrl+E										
Û	Ba	ase Peak C	hromatogra	am (BPC)	Ctrl+B						
	IC	A Explore	r								
	LC	I/MS Cont	our Pane								
Û	U	V/DAD/AD	C Channel								
	Di	AD Total V	/avelength	Chromatogr	am (TWC)						
	D	AD Chrom	atogram Usi	ng Dialog (X	WC)						



#### DAD クロマトグラムの表示

- ① メニューバーの Show から DAD Total weavelength chromatogram(TWC)を選択します。
  - ※ Training では行いません。



#### UV (XWC) クロマトグラムの表示 (DAD データからの抽出)

- メニューバーの Show から DAD Extracted weavelength chromatogram(XWC)を選 択し、抽出したい波長を入力します。
  - ※ Training では行いません。



### <u>UV スペクトルの表示</u>

- ※ Training では行いません。
- TWC あるいは XWC 上で、目的のピークを左ドラッグして選択後、ダブルクリック します。
  - ② 選択した範囲の平均の UV スペクトルが表示されます。
  - ※ クロマトグラム上の選択部分の上にマウスを移動させると、⇔が表示されます。 表示された状態でマウスの左クリックで⇔を移動させることで、UV スペクトル が同時に変更されます。



#### <u>オフセット</u>

- ※ UVの Chromatogram の時間軸を MS 側に合わせます。
- 目的の UV、DAD、XWC のクロマトグラム上をクリックし、メニューバーの Process から Offset Chromatogram を選択します。
  - ※ Training では先ほど解析した UV データを使用し、0.06 と入力します。



【※Tips】隠れたダイアログを表示する方法

TIC や BPC、UV のオフセットなどを表示する際、通常表示されるダイアログが隠れてい て表示できない場合があります。その際は、シフトキーを押しながら通常の操作をすると復 活します。

- シフトキーを押しながら通常の操作を行うと、下記 Only show this dialog again
   にチェックが入っているのでチェックを外しますと以後ダイアログが復活します。
- ※ 逆に簡略化して非表示にするには、下記 Only show this dialog again ... に チェックをいれます。

	BPC Options X	
例	Mass tolerance: 0.2 Da	
·	Use limited mass range	
Open IDA Sample X	Start mass: Da	Offset X
Haw da way wast to says this IDA says 1-2	End mass: Da	
How do you want to open this IDA sample?	Use limited time range	Total offset: 0.060 min
With the IDA Explorer	Start time: min	Process all overlays (otherwise active data only)
As a standard TIC	End time: min	Use incremental offset (to fan out overlays)
☑ Only show this dialog again if the shift key is down	Only show this dialog again if the shift key is down	Only show this dialog again if the shift key is down
OK Cancel	OK Cancel	OK Cancel

4.3.3 TIC の表示と Background の差し引き、スペクトルの平均

#### <u>TIC クロマトグラムの表示</u>

- ① Open Sample...から目的の File を選択します。
  - ※ 04 10.wiff2 を選びます。
  - ※ IDA の場合は IDA Explorer から As a standard TIC を選びます
  - ② メニューバーから、Show > Total Ion Chromatogram (TIC)をクリックします。
  - ③ Select Experiment ダイアログの Experiment1 +TOF MS を選びます。
  - ④ TIC、XIC などのクロマトグラムで、目的付近の横軸を ドラッグして拡大します。
  - ※ Training では 10~12 分付近を拡大します。

#### Background の差し引き、スペクトルの平均

- バックグラウンドとなる部分をドラッグして選択した 後に、画面上部の
   (Set Subtraction Range) アイ コンを選択します。
  - ※ 2 箇所選択する場合はシフトキーを押しながら選択 してください。
  - ※ バックグラウンド領域がピンクで表示されます。



		/				- • •				, 0
TIC from	n 04 10.wiff2 (sam	nple 1) - 10, Experimen	t 1, +IDA TOF MS (10	0 - 1000)						
Intensity, cps	1.0e7 <sub>1</sub> 解析例	1	0.680	11.123 11	1.394	11.698	12.018	12.317	12.531	12.872   13.015
	0.0e0	10.5		10	11.6		12.0		12 5	13.0
		10.0		1.0	11.5	, Timo min	12.0		12.5	10.0
						nine, nin				
Spectrur	m from 04 10.wiff.	2 (sample 1) - 10, Exp	eriment 1, +IDA TOF	MS (100 - 1000) fro	m 10.6 <u> 1</u>	0.wiff2 (sample 1)	- 10, Experime	ent 1, +IDA TOF I	MS (100 - 1000) fror	n 10.801 to 11.133 min]
	3e4 +		N							
ő			272 1645			H		182 441	コレン	
3	2e4 -		272.1010			ハツクク	フリン	トを左し	ン別ざ	
÷.		235.1693	272 1677							
6Ü	1e4 -		2/3.10//			平均した	スペク	トル		
Ĕ	<u>ا</u> د		í .			1		1 7 1		
	0e014					· · ·				
		200	300	400	500	600		700	800	900
					Mas	s/Charge, Da				
Spectrur	m from 04 10.wiff.	2 (sample 1) - 10, Expe	eriment 1, +IDA TOF I	MS (100 - 1000) from	n 10.675 to	10.732 min				
· ·	2-4-1		- N							1
S	364 -		272 1645							
o	201		272.1045			バックク	゛ラウン	ドを引く	(前の	
₹	204	235.1692	070 4077							
su	1e4 -	1	2/3.16//	371 1012		1測定の	マペカ	トル		
të -			K .	571.1012		I 例足の	A• • •	1.10		
-	0e0	I have a second second		<u>( , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,</u>						·
		200	300	400	500	600		700	800	900
					Mas	s/Charge, Da				
L										

Sh	ow	MasterView	Graph	Process	Window	He						
슌	То	tal Ion Chroma	Ctrl+	+Τ								
슌	Ex	Extracted Ion Chromatogram (XIC) Ctrl+E										
슌	Base Peak Chromatogram (BPC) Ctrl+											
	ID	A Explorer										
	LC	/MS Contour Pa	ane									
	UV	//DAD/ADC Cha	innel									
	DA	D Total Wavele	ength Chro	omatogram	(TWC)							
	DA	D Extracted Wa	avelength	Chromato	gram (XWC	)						

DAD Contour Pane

Select Experiment						
	Period 1					
	Period 1, Experiment 1	+IDA TOF MS (100 - 1000)				
	Period 1, Experiment 2	+IDA TOF MSMS (50 - 1000)				
	Period 1, Experiment 3	+IDA TOF MSMS (50 - 1000)				
	Period 1, Experiment 4	+IDA TOF MSMS (50 - 1000)				
	Period 1, Experiment 5	+IDA TOF MSMS (50 - 1000)				



- ※ 選択した部分はマウスのドラッグで移動可能です。
- ※ 特定の時間1回の測定結果を表示させる場合は、目的の時間をダブルクリック してください。
- 必要に応じて、 ・アイコンの右の下矢印から、Clear Subtract Range を選択し、 バックグラウンドの指定を解除します。
- ※ Training では、解除してください。
- ※ TIC クロマトグラムは残して不要な Pane は削除します( 💼 アイコン使用)。
- 4.3.4 BPC クロマトグラムの表示
  - ※ BPC (ベースピーククロマトグラム)は、スペクトル上で最も強度の高いピークの強度のみを使用してプロットしたクロマトグラムです。



- 4.3.5 XIC クロマトグラムの表示
  - ① メニューバーから、Show > Extract Ions Chromatogram (XIC)をクリックします。
    - ※ Select Experiment ダイアログが開いた場合は Experiment1 +TOF MS を選び ます。
    - ② 左から順に、*m/z*、Width(Da)、化合物名を入力しOK します。
    - ※ Center: m/z あるいは組成式(中性)を入力します。
    - ※ Center に組成式を入力した場合、表示 される m/z は Positive Mode は+H、 Negative Mode は-H として自動計算 します。
    - ※ あらかじめ Excel でリストをしておき ますと、コピー&ペーストができます。

1	Specify XIC Ranges			x
	Center	Width	Compound	*
	C12H15NO4	0.02	3-hydroxycarbofur	
	C10H11CIN4	0.02	acetamiprid	
	C9H9N3O2	0.02	carbendazim	Ξ
	C14H15N3	0.02	cyprodinil	1
	C11H15N04S	0.02	methiocarbsulfon	
	C11H15N03S	0.02	methiocarbsulfoxi	

③ 重ね書きされたクロマトグラムに名前を割り当てたり、ピークを塗りつぶすには
 (Label all overlaid traces, Fill peaks) アイコンを選びます。



#### 画面のコピー

- クロマトグラム等をコピーするには、メニューバーから、Edit > Copy Graph あるいは Copy Window を選択します。
  - ※ Copy Graph:メタファイル形式
  - ※ Copy Window : ビットマップ形式
  - ② ペイントや ppt ファイル等にペーストします。

💙 PeakView - [Formula Finder]						
💦 File	Edit	Show	MasterView			
🖻 🙆 🛎	Сору		Ctrl+C			
🖂 Ref 🗉	Copy Graph					
	Copy Window					
- 4.4 組成分析 (Formula Finder)
  - ※ MS および MS/MS から組成解析、フラグメントイオンの帰属を行う機能です。
  - ① 前述を参考に IDA Explore から、組成分析を行うピークの MS および MS/MS スペ クトルを表示します。
    - ※ Training では、04 10.wiff2 のデータを選び、Napropamide について解析、 表示してください。(RT:10.75、*m/z* 272.1644)
    - ② MS のスペクトル上で、目的のピークについて同位体を含めて左ドラッグし、 目的のピークを選択します。
    - ※ m/z のラベルが表示されていないピークは、以降の解析で数値が読み込まれません。必要に応じて、スペクトルのY軸上で、Label Threshold ♥ の矢印を動かし、目的のピークをラベルしてください。
  - ③ メニューバーから Show > Formula Finder を選択し Formula Finder を開きます。
  - ④ Formula Finder の右端にある *ゴ* ボタンを MS/MS のスペクトル上にドラッ グ&ドロップして、Formula Finder と MS/MS のスペクトルをリンクさせます。



- ⑤ m/z Tolerance (ppm) に 5 を入力します。
- ⑥ Intensity Tolerance (%)に 15 を入力します。
- ※ 他のイオンが重なっているなどの場合は大きく設定してください。

- ⑦ #C / #heteroatoms > に適当な値(Training では 1)を入力します。
- ⑧ 炭素と水素以外の元素の比を制限します。
- ※ 未知成分で不明な場合は0にします。
- ⑨ Elements from, to には、検索する元素とその数の下限、上限を入力し、Isotope cluster details のリスト上では、組成分析に使用したい *m/z* の Use にチェックをかけます。
- ① Elements from, to に入力した元素、元素数 の範囲内で検索が行われます。
- ※ 既知の含有元素がわかる場合は、Elements from, Elements to にその情報を入力してく ださい。
- ※ Training では、右図のように入力を行ってください。
- Formula Finder ウィンドウ上で (Show Options) アイコンをクリックし、 必要に応じて設定を変更します。
- ※ Training では、下図のように設定を行ってください。

#### <u><Elemental Composition タブ></u>

Formula Finder Settings		×
Elemental Composition Result Summary Dictionaries		
RDB from:       0.5       Oxvaen count Phosphorus count       >=       2         RDB to:       100.0       Oxvaen count Sulphur count       >=       2         Use element limits of natural products         Consider also odd electron state for       MS       fragment, if common any fragment	Positive ions [M+H]+ [M-N]+ [M-N]+ [M-K13OH+H]+ [M-K13OH+H]+ [2M+N]+ [2M+N]+ [2M+N]+ [2M+N]+ [2M+N]+ [2M+N]+ [M-H]+N]++ [M-H+N]++ [M+H+N]++ [M+H+N]++ [M+H+K]++ v	Negative ions
	ОК	Cancel

- RDB: 不飽和度
- 必要に応じて変更してください。RDBの大きい化合物については、RDB toの値 を変更してください。
- Oxygen count / Phosphorous count, Sulfur Count:
- P(リン)、S(硫黄)を含む化合物の場合、Oxygen count/Phosphorus count や、 Oxygen count/Sulphur count にチェックをかけ、適当な数値を入力します。

Isotope	e cluste	details	Charg	je +1 🔻						
Peak	Use	m/z	% Intensity	Width						
0	<b>V</b>	272.1646	100.0	0.008						
1	<b>V</b>	273.1678	19.9	0.008						
Elemer										
Elemer	nts to	C50 H200 I	N10 010 S5							
Mass t	toleranc	e (ppm)	5							
Intens	ity toler	ance (%)	15							
#C/#he	eteroato	ms greater tha	in 0 (7	0						

- Use element...: 合理的な元素比率の組成式を表示します。
- Consider also...: ラジカルイオンの検索を行う場合はチェックをかけてください。
- Positive ions / Negative ions: 想定される付加体の種類や多価イオン等を選択します。

# <u><Result Summary タブ></u>

Formula Finder Settings				
Elemental Composition Res	ult Summary Dictionaries			
m/z reporting format	0.0000 ~		MS m/z error in	ppm ~
Order results by	combined ranking	$\sim$	MS/MS m/z error in	mDa 🗸
Combined ranking co	ntribution			
MS data		MS/MS	S data	
Weight MS/MS dat	ta in log scale			

- m/z reporting format: m/zの表示形式を選択します。
- Order results by: 検索結果の順番を指定します。

Combined ranking contribution, Weight MS/MS data...を使用することで、MS、 MS/MS の結果に比重をかけることも可能です。

### <u> <Dictionaries タブ></u>

Formula Finder Settings		<b>—</b>
Elemental Composition Result Summary Dictionaries		
Confirm elemental composition in		V ChemSpider Service
🔽 File 1:	Browse	MDB
D:\SCIEX OS Data\Tuchi 1_2 Pesticides	Screen 1.0 a	🔽 PubChem
File 2:	Browse	VIST NIST
		📝 MassBank
File 3:	Browse	🗹 ACD Labs 👻
		Show all databases

- Confirm elemental...: 化合物情報を含むデータベースなどのファイルを 3 つま で選択することができます。化合物名や構造を予測するのに使用します。選択可 能なファイルの種類は、Analyst Database ファイル(\*.mdb)、XIC Manager ソ フトウェアリスト(\*.xiclist)、タブ区切りテキスト(\*.txt)、構造データフォーマッ ト(\*.sdf)の4種類です。
- ChemSpider Service: ライセンスを購入された方は検索可能です。使用するデー タベースにチェックを入れてください。
- 12 OK を押して画面を閉じます。

 ③ FormulaFinderの Find ボタンを押すと、組成解析の結果が⑨の Result Summary タブの Order results by で指定した順でソートされて表示されます。

Foun	d elemental c	ompositio	Find An	y C	Find	>			
Hit	Formula	m/z	RDB	ppm	MS Rank	MSMS ppm	MSMS Rank	Found	
1	C17H21NO2	272.1645-	8.0	0.3	1	3.0 (20)	1	1/1043	
付加⑫を除いた中性の組成式を表示 付加を加味した m/z									'z

- ppm カラム:プリカーサーイオンのモノアイソトピックイオンの精度を表示。
- MS/MS ppm カラム: "平均精度(帰属できたフラグメント数)"を表示。
- Found カラム: ⑨の Dictionaries タブで設定した検索条件でヒットした化合物数 を表示(左:ライブラリーファイル、右:オンラインデータベースから (ChemSpider) ヒットしたもの)。
- ※ 表示される候補組成式は⑨Result Summary タブで設定したランキングで表示 します。
- ※ Find any ボタンを押すと、設定した検索条件に合致しない結果も表示されます。
- ※ Find ボタンを押した際、下図エラーが表示された場合は Ion Type を認識でき なかった可能性があります。 ⑫を参考に Ion type のプルダウンから想定する付 加イオンを選び、再度 Find ボタンを押してください。



 ④ 組成分析の結果、Ion type には観測された付加イオン、右横に表示される(数字) additional ion をクリックすると、観測された他の付加イオン情報が表示されます。



- ※ 結果の組成式が予想される組成式ではない、あるいは付加イオンが予想と異なる 場合は、Ion type のプルダウンから想定する付加イオンを選び、再度 Find ボタ ンを押して結果を確認してください。
- ※ プルダウンで選択できる付加イオンは、⑨の Elemental Composition タブで設 定したイオンです。
- ⑤ 特定の組成式を選択して MS/MS details のタブをクリックすると、この組成あるいは他の組成をプリカーサーとしたフラグメントイオンの組成の帰属結果が表示されます。
- (b) Display type のプルダウンから Best fragments for formula を選択すると、選択した組成式のフラグメント帰属結果が表示されます。

MS Details MSMS Details Co	mpound Details
Parent mass 272, 1644	Charge <= +1 v Mass tolerance (mDa 5 #C/#heteroatoms > 0
24 MS/MS peaks Display typ	e: All 🔽 🔽 🖪 📴 😥
Fragment details for C17H22N	O2 All All even electron
4 - 	Best fragments for formula C5H11NO

※ 複数の候補組成式が表示された際には、⑨で正しい組成式を選択した場合は、組成分析の対象としたフラグメントイオンのピークが精度良くすべて帰属され、 一方、選択した組成式が正しくない場合は、帰属できないフラグメントが残ったり、帰属できても精度が著しく悪い結果になることがあるので、結果、選択した 組成が正しいかどうか判断することができます。



- ※ 帰属できたフラグメント本数が想定より少ない場合は Mass tolerance (mDa)の 値を大きくし再度 Find ボタンを押します。
- ※ MS/MS フラグメントの組成分析の対象を変更する場合には、MS/MS の Y 軸上の Label Threshold ▶ を変更して再度 Find ボタンを押します。
- ⑦ Compound Details タブをクリックすると、⑨Dictionaries タブで設定したデータベースでヒットした化合物名や構造を見ることができます。リストアップされた化合物名をクリックすると、選択した化合物の構造が表示されます。
- ※ 構造式が表示されない場合があります。

ſ	MS Details MSM	IS Detail Compound Details
	Details for C Matches in	33H40N209, Chem5pider match # 2
	1 🔲 Re: ChemSpid	serpine Composition: C33H4UN2D9, Mass:608.2728
	*	🚰 🕥 🔄 🗱 🛛 は左から以下の通りです。
	•	表示している構造を.mol 形式で保存。
	•	表示している化合物についての詳細を ChemSpider のウェブサイトを開
		いて表示。
	•	表示している構造をクリップボードにコピー。
	•	検索された化合物を一覧表示。

- 4.5 フラグメントの帰属 (Fragments Pane)
  - ※ 推定された構造式から Fragment Ion の計算を行い、Fragment Ion から構造上の解裂部分を帰属する機能です。

#### 保存した\*.molファイルを読み込む方法

※ 予め構造式を\*.mol (Mol File) 形式で保存しておきます。

- ① 前述を参考に IDA Explore から、フラグメントの帰属を行う MS/MS を表示します。
- ※ Training では Napropamide について解析します。MS/MS のみを残し、残りの Pane を削除、あるいは隠してください。
- メニューバーから File > Open mol file...を選択し、推定構造の mol file を開きます。
- ※ Training ではこのフォルダ内の Napropamide.mol を開いてく ださい。

File	Edit	Show	Graph	P					
<b>2</b>	Open S	ample							
Ê	Open Multiple Samples C								
	Open Heat Map TICs from Wi								
	Find Wiff Samples								
	Open T2D Data								
	Open Text Data								
	Open N	1ol File							
	3								

- ③ 構造式の右上にある ボタンを MS/MS のスペクトル上にドラッグ&ドロッ プして、構造式と MS/MS のスペクトルをリンクさせます
- ④ メニューバーから Show > Fragments Pane を選択します。
- ⑤ Fragment pane の左上の をクリックするとフラグメントの帰属が行われます。
- ⑥ スペクトル上の目的のピークをドラッグして選択することで、対応する構造上の帰属された部分および Fragment のリストがハイライトされます。



 ⑦ アイコン (Add arrows markers...)から Use Arrows for Relative Peak Labeling のチェックを外すと MS/MS ラベル表示が差分から実測値に変わります。



- ⑧ Fragment pane の左上の<sup>▶●</sup> アイコンをクリックし、以下を参考に帰属の条件を 設定後、OK します。
- ※ 化合物の構造に適した設定を行ってください。



- ※ Training では、以下の条件を使用してください。
- ※ 設定の詳細は Software User Guide(日本文、英文)をご参照ください。

#### ChemSpider 等の検索結果から構造を読み込む方法

- ※ ChemSpider はライセンスをお持ちの方が使用可能です。
- ① 前述を参考に Formula Finder から、フラグメントの帰属を行う化合物の組成分析 を行います。この際、ChemSpider を用いてオンラインデータベースの検索を行います。
  - ※ Training では Napropamide について解析します。Formula Finder のウィンド ウと MS/MS のみを残し、残りの Pane を削除、あるいは隠してください。
  - ② Compound Details タブをクリックし、検索された化合物の構造を表示します。
  - ③ Formula Finder ウィンドウ上の ジーボタンをクリックすると、②で表示していた 構造が編集可能な Structure Pane として新たに開きます。
  - ④ 「保存した\*.mol ファイルを読み込む方法」の③以降に従ってフラグメントの帰属 を行います。
  - ※ Sutucture Pane と MS/MS をリンクするには、Structure Pane 上の血 を目的の MS/MS スペクトル上にドラッグ&ドロップします。



⑤ アイコンをアクティブにすると、Formula Finder と Structure Pane がリンク されます。複数化合物がリストアップされている場合、Formula Finder 上で他の 化合物を選択すると、Structure Pane に表示される構造式も自動で切り替わりま す。

- 4.6 Mass Calculators について
  - ① メニューバーの Show > Mass Calculators で行います。

### <u>精密質量の計算</u>

- Mass Property タブで解析する組成式を Formula、Charge State に価数(数字)を 入力します。
  - ※ Formula には中性の組成式、'H+' charge agent (else electron)のチェックボッ クスにチェックを入れ、Charge Stateには1ないしは - 1と入力すると、Positive Mode は+H、Negative Mode は-H として精密質量を自動計算できます。
  - ※ Charge State 入力例: Positive Mode: 1, Negative Mode: -1
  - ※ チャージした状態の精密質量が知りたい場合は 1、-1 を入力。 Neutral Loss などチャージしていない状態の精密質量が知りたい場合は 0 を入力。
  - ※ H 付加体の計算例: C33H40N2O9, Charge State:1、H+のチェック有
  - ※ Na 付加体の計算例: C33H40N2O9Na, Charge State:1、H+のチェック無
  - ② Calculate p p p

Mass Property AA Property	Positive Mode	emental Composition	Mass Property AA Prop Neg	gative Mode	Elemental Composition
Formula:	C33H40N2O9	Calculate	Formula:	C33H40N2O9	Calculate
Charge state:	1	agent (else electron)	Charge state:	-1 🗹 'H+' char	rge agent (else electron)
Composition:	C33H41N2O9+		Composition:	C33H39N2O9-	
Charged monoisotopic mass:	609.28066		Charged monoisotopic mass:	607.26610	
Monoisotopic m/z:	609.28066		Monoisotopic m/z:	607.26610	
Charged average mass:	609.696		Charged average mass:	607.673	
Nominal mass:	609		Nominal mass:	607	
RDB:	15.0		RDB:	15.0	

#### 同位体分布の計算と重ね書き

 Isotopic Distribution タブをクリックし、組成を入力すると理論上の同位体ピークが 表示されます。

AA List AA Modi	fications			<b>)</b>				ш
Mass Property A	A Property Mas	s Accuracy Isoto	pic Distribution	Elemental Compo	sition Hypermass	Unit Conversion	Custom Elements	
Formula:	C33H40N2O9		Charge state	:: 1	🗌 Cverlay	pattern on spectru	m	
Merge distance:	25000	Resolution -	🕑 🗹 'H+' char	ge agent (else elec	tron) Calculate			
		Instanic Distr	ibution for C22	H40N209 H +				
m/z	Intensity	100		114014203114				
609.28066	100.000							
610.28393	38.217	80	-					
611.28673	8.902	<u></u> ∠= 60	1					
612.28944	1.542	ters						
613.29208	0.217	<sup>40</sup>	1					
614.29467	0.026	20	-					
615.29723	0.003	0	1				· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
616.29976	2.519e-4		609	610 611	612 613 Mass/Charge, D	614 615 Da	616	
<u> </u>								

※ その他のタブについては英文 Manual を参照ください。

# 5 Analytics によるデータ解析

- 5.1 検索に使用する Library の準備
  - ※ この設定は、装置導入時あるいはライブラリーファイルを購入した際など、最初の段階で設定します。装置導入時および Training では弊社担当者が設定します。

※ ライブラリーファイル入手した際は以下を参考に設定します。

① Home 上の Library をクリックします。



- インポートする形式を選び、該当するファイルを選択しOpen します。
- ③ All をクリックして全化合物を選択し、Add To Compound Library に適宜名称を入力、Next をクリックしてインポート操作を行います。
- ※ Training では Free\_Pesticide.mdb をインポートします。
- ④ Finish をクリックして終了します。次回からはこの作業は不要になります。
- 5.2 はじめに
  - ① Home 上の Analytics をクリックします。
    - ② Projects をプルダウンし、Training\_X500R を選択します。

					R	- O I	Ready		? – 🗗 X
Project: Training_X500R	Projects 👻	Results	•	Reporting	*	Views	*	Process I	Method 👻 🗙

#### 5.2.1 初期設定の変更

- ※ 最初に設定することで当該プロジェクトでは共通の解析パラメータとして使用できます。
- Projects をプルダウンし、 Project Default Settings を選択 します。

1g_X500R	Pro	ojects	٠	Results	•
		Default	(500D		
	v	Project de	fault sett	ings	

- Quantitative Processing では、 図を参考に、定量解析に使用するアルゴリズムや積分条件、検 量線の条件等を設定します。
- ※ Signal to Noise Algorithm は 変更可能です。



Project Default Settings								
Quantitative Processing +	Set Project wide defaults for qu	antitative proce	essing metho					
Qualitative Processing	Method Defaults							
Workspace Lavout	Signal to Noise Algorithm Relative Noise 💙							
	Integration Defaults	Integration Defaults						
	Integration Algorithm	IQ4	*					
	Retention Time (RT)							
	XIC width	0.02 Da						
	Expected RT	0.000 mi	n					
	RT Half Window	30.0 sec	:					
	Update Expected RT	No 💙						
	Report Largest Peak							
	▼ Integration							
	Minimum Peak Width	3 ро	ints					
	Minimum Peak Height	100.00						
	S/N Integration Threshold	3						
$\searrow$	Gaussian Smooth Width	1.0 ро	ints					
	Noise Percentage	40.0 %						
	Baseline Subtract Window	2.00 mi	n					
	Peak Splitting	2 ро	ints					
	Units & Calibration Defaults —							
	▼ Units & Calibration Defaults							
	Concentration units							
	Regression parameter	Area 💙						
	Regression type	Linear 💙						
	Weighting type	None 💙						
	Save	Close	Help					

- ③ Qualitative Processing では、下図を参考に定性解析に使用するライブラリーサー チや各種パラメータ等を設定します。
- ※ 各設定は状況に応じて変更します。

Quantitative Processing	Set Project wide defaults for qualitative p	processing method parameters	
Qualitative Processing 🔸	Library Search		
Workspace Layout	Library Search Algorithm	Candidate Search	•
Workspace Layout	Results Sorted By Algorithm Parameters	Purity	•
	✓ Precursor Mass Tolerance +/-	- 0.4 Da	
	Collision Energy +/-	- 5 eV	
	Retention Time +/-	- 0.5 min	
	Fragment Mass Tolerance +/-	- 0.4 Da	
	Ignore Isotopes In Unknown	Maximal Number Of Hits 5	
	Use Polarity	Intensity Threshold 0.05	
	Use Collision Energy Spread	Minimal Purity 10.0 %	
	Use Compound Specific Purity Thresh	hold Intensity Factor 5	

- ④ Workspace Layout は、事前に設定した画面のレイアウトファイル(テーブルの表示項目やサイズ、検量線の表示、クロマトグラム数、各 Pane の位置やサイズなど)を読み込みます。
- ※ SCIEX OS ソフトウェア version 2.1.6 からの機能です。
- ※ ファイルがない場合は設定せず、事前に保存したレイアウトファイルがある場合はBrowse...から選択します。
- ※ 事前にデフォルト設定されている場合は、該当ファイルが Default layout used …で自動選択されます。

保存先:D:\SCIEX OS Data\Training\_X500R\Project Information

roject Default Settings			
Quantitative Processing Qualitative Processing	Set the workspace layout default for the current project and newly created projects.		
Vorkspace Layout	Default layout used for new results C:\n\training.qlayout	Browse	Apply
	Preview:		
	Save	Close	Heip

⑤ すべての設定が終了しましたら Save をクリック後、 Close をクリックします。

- 5.3 定量解析とターゲットスクリーニング
- 5.3.1 解析メソッドの作成
  - ① Results をクリックし New を選択します。



- ② 解析するデータをすべて選択し、=>アイコンで画面右側にサンプルを移動します。
- ※ Training では下図を参考に選びます。



- ③ 2. Select a Processing Method では New をクリックします。
- ※ 2回目以降の解析の際は、Select a Processing Method の Browse...から既存の ファイルを選択します。
- ④ Workflow では解析するワークフローを選択します。定量とターゲットスクリーニングは、Quantitation and target identification にチェックを入れます。
- ※ 定量のみの解析の場合は、Quantitation にチェックを入れます。
- ※ 代表サンプルを選択します。選択しない場合は自動選択されます。

Workflow 🔸	Select the workflow and then select a reference sample, if applicable
Components	Quantitation
components	
Integration	Non-targeted screening
Library Search	The recommended Reference Sample has been automatically selected. Channe the selection only if required
Calculated Columns	Sample Name
Calculated Columns	02 1 wiff2 (comple 1) 1
Flagging Rules	04 10.wiff2 (sample 1) - 10
	05 100.wiff2 (sample 1) - 100
Advanced	samples 03_rucola.wiff2 (sample 1) - rucola
, la	samples 04_ org banana.wiff2 (sample 1) - org banana
Formula Finder	samples 05_avocado.wiff2 (sample 1) - avocado
i officiale i filder	samples 06_carrot.wiff2 (sample 1) - carrot
Non-targeted Peaks	samples 07_strawberry.wiff2 (sample 1) - strawberry samples 08 tomato wiff2 (sample 1) - tomato
	TC from 05_100 wiff2 (cample 1)_100
	Tic nom os Too.winz (sample 1) - Too
	1.0e7 -
	5.0e6
	a and a constant when the
	0.0e0
	Time, min

- ⑤ Components では、下図を参考に、定量あるいはターゲットスクリーニングに使用 するイオンの情報として化合物名と組成式、解析する幅、わかれば保持時間を入力 し、付加イオンを選択します。
- ※ Retention Time Mode: 予想される RT 情報がない場合、プルダウンで選択した ピーク数に応じて微小なピークを認識します。

R	ow	IS	Group	Name	Chemical Formula	Adduct/Ch	Precursor Mass (Da)	Fragment Mass (Da)	XIC Width (Da)	Retention Time Mode
•	1		1-Naph	1-Naphthalenea	C12H11NO	[M+H]+	186.09134		0.01	RT value 🛛 💌
	2		3-hydr	3-hydroxycarbof	C12H15NO4	[M+H]+	238.10738		0.01	RT value
	3		asulame	asulame	C8H10N2O4S	[M+H]+	231.0434		0.01	Find top peak
	4		atrazin	atrazine-deseth	C3H4CIN5	[M+H]+	146.0228		0.01	Find 5 peaks
	5		averme	avermectin B1a	C48H72O14	[M+NH4]+	890.52603		0.01	Find 10 peaks
	6		bendio	bendiocarb	C11H13NO4	[M+H]+	224.09173		0.01	Find all peaks

- ※ あらかじめ Excel で作成しておくとコピー&ペーストができます。
- ※ 雛形を Export しておき Excel で編集したのち Import することもできます。
- ※ 内標による定量を行う場合は、IS カラムの該当成分にチェック入れ、各成分の IS Name カラムではプルダウンから内標成分をします。すべての成分の内標を 設定する場合は IS Name カラム上を右クリックして Fill down on columns を 選びます。

										Import	◆ Ехроп	Options
Row	IS	Group	Name	Chemical Formula	Isotope	Adduct/Ch	Precursor (Q1) Mass (Da)	Fragment (Q3) Mass (Da)	XIC Width (Da)	Retention Time Mode	Retention Time (min)	IS Name
1		1-Naph	1 - Naphthalenea	C12H11NO	1	[M+H]+	186.09134		0.01	RT value	4.9	IS_xxx
2		3-hydr	3-hydroxycarbof	C12H15NO4	1	[M+H]+	238.10738		0.01	RT value	3.29	IS_xxx
3		asulame	asulame	C8H10N2O4S	1	[M+H]+	231.0434		0.01	RT value	1.85	IS_xxx
4		atrazin	atrazine-deseth	C3H4CIN5	1	[M+H]+	146.0228		0.01	RT value	0.58	
5	$\checkmark$		IS_xxx	C48H72O14	1	[M+NH4]+	890.52603		0.01	RT value	12.53	

- ※ Library 情報からも Import 可能です。Import->Import components from a library database...から操作します。 「mport v Export. Options
- ※ Training では Import->Import components from a Import components from a Ibrary database... text...を選び、D:¥SCIEX OS Data¥Training¥Quantitation Methods 中の Pesticide.txt を選択します。
- ⑥ Integration では、各成分の積分の確認および変更を行います。ピークがうまく積分されていない場合は、各パラメータを変更後、Applyをクリックしクロマトグラムに反映します。
- ※ 目的のピークが積分されていない場合は、左ドラッグでピーク部分を囲みます。
- ※ 複数化合物がある場合は同様の操作で確認します。

Workflow	or each component, configure the parameters to optimize peak integration
Components	tegration Algorithm: MQ4 Signal to Noise Algorithm: Peak to Peak Options 💌
Library Search Calculated Columns Flagging Rules Advanced Formula Finder	Reparting Anglorithm MC     Signal to Node Algorithm Peak to Peak     Options       1-Naphthalenescetamide (NAD) (186.0863 - 186.0963) from 100 (05 100.wiff2 (sample 1)))       3-hydroxytarb       astulame datasine-deset       bendiocarb       bendiocarb       berdinawilker       bifenaate       bifenaate       butafenacil       butafenacil       butarbining       butarbining       Apply peak parameters to all of the components       taiter of the components       bifenaate       butarbining
Non-targeted Peaks	Categradaming Minimum Peak Width 3 points Chioantaniing Minimum Peak Height 100.000 Cethodim S/N Integration Threshold 3 Consentation Consentation Peak Splitting 2 Concentration units diametershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameters to all of the components dimetershour Apply units and calibration parameter Area ethiofencarbour Apply and the calibration curve ethiofencarbour Apply and the calibration curve tethofencarbour Apply and the calibration curve tethofencarbour Apply and the calibration curve tethofencarbour Apply and the calibration curve Apply Ap

### 【スムージングおよび積分パラメータ】

・Min. Peak Width:設定したピーク幅 (points) を超えるピークを積分します。

・Min. Peak Height:設定した高さ(Intensity, cps)を超えるピークを積分します。ベースラインよ

りも高めに設定することで、ノイズや強度の低いピークは積分されなくなります。

・S/N Integration Threshold:設定した S/N を超えるピークを積分します。

・Gaussian Smooth Width:スムージングをかける場合、値を入力します。

・Noise Percentage:値を大きくする程、ベースラインが上がり、ピーク面積値が小さくなります。

Baseline Sub. Window: ベースラインとして設定する最小強度を検索する幅になります。Peak 幅の 2-3 倍程度が Default 値になります。

・Peak Splitting: 値を大きくする程、割れたピークを一つのピークとして認識しやすくなります。

# 【検量線】

・単位や検量線の種類、重み付け等を設定します。

- □ **Apply unit and calibration parameter to all of the components**: 設定した検量線のパラメータ を他のすべての成分も反映する際にチェックを入れます。
- □ Remove outliers automatically from the calibration curve: 検量線から外れ値を自動で除外し ます。

※ 設定を変更した際は Apply をクリックします。

- ⑦ Library Search では、Perform Library Search にチェックを入れ、図を参考に使用するライブラリーや各種パラメータを設定します。
- ※ ライブラリーが複数ある場合や、Precursor Mass Tolerance や Collision Energy など検索条件に制限をつける場合など、状況に応じて設定します。



# 【検索アルゴリズムとソートについて】

Algorithm	検索方法
Candidate Search	Algorithm Parameter に基づき、未知成分として MS/MS を検索 推奨:ノンターゲットスクリーニング
Confirmation Search	<b>Components</b> で設定した化合物名で登録された MS/MS を検索。 <b>Components</b> の化合物名がライブラリー登録名と異なる場合はヒットしな い。 推奨:ターゲットスクリーニング
Smart Confirmation Search	<ul> <li>Confirmation Search 、Candidate Search の順に検索。</li> <li>Components で設定した化合物名と一致するものを検索し、ヒットしない場合は Algorithm Parameter に基づいて検索。</li> <li>結果の表示</li> <li>・成分名:設定した化合物名とそのライブラリーがヒット</li> <li>・成分名 [Smart Confirmation]:成分名で登録したライブラリーでは ヒットせず、別の化合物の MS/MS でヒット。</li> <li>推奨:ターゲットスクリーニング</li> </ul>
Fit	ライブラリー中の MS/MS のピークが、Unknown スペクトルに対して、 どれだけ Hit しているのかで算出
RevFit	Unknown の MS/MS のピークが、ライブラリー中の MS/MS に対して、 どれだけ Hit しているのかで算出
Purity	両方のスペクトル間で、一致しなかったピークを算出

- ⑧ Calculated Columns をクリックし、必要に応じて設定を行います。
- ※ Training では行いません。設定例は 64 頁をご参照ください。
- ⑨ Fragging Rules では、真度からの外れ値や実サンプル想定濃度の上限・下限値を外れた結果についてハイライトすることができます。また、質量誤差、保持時間、同位体比、ライブラリースコア等、各項目における信頼度の設定を行います。必要に応じて設定します。
- ⑩ 設定する Rule にチェックを入れます。
- ※ Training では、下図を参考に、Concentration Acceptance と Qualitative Rules にチェックを入れます。

Workflow	Define a rule	to flag results in the table.					
Components			Add Rule Delete Rule Import Export				
Integration	Apply Rule	Rule Name	Formulas or Columns Used in the Rule				
Library Search		Ion Ratio Acceptance	Ion Ratio Confidence				
		Accuracy Acceptance	Accuracy				
Calculated Columns		Concentration Acceptance	Calculated Concentration				
Flagging Rules		Integration Acceptance	Quality, Asymmetry Factor, Total Width, Retention Time Error (%)				
Advanced	✓	Qualitative Rules					

- ※ 各 Rule Name をクリックすると、設定画面が表示されます。
- ※ 各 Rule を変更後、上部の Accept changes and return to Fragging Rules をク リックすると、元の画面に戻ります。

#### Fragging Rule の各項目について

- Ion Ratio Acceptance では、Components で2つ以上のAnalyteを1グループとして設定した場合の強度比の信頼度を設定します。MRM-HRなどデータにおいて、同じ成分のフラグメントイオン違いで解析を行う際のイオン比の確認に有用です。
  - ※ Constant...:日本、US 向き、Variable…:EU 向 き
  - ※ Results Table の Ion Ratio Confidence のカラム に設定した信頼度に従って ✓ ▲ ● で表示さ れます。
  - ※ Training では設定しません。
  - Accuracy Acceptance では、Standard や Quality Control のサンプルについて、真 度の許容誤差を設定します。
  - ※ 設定値から外れた場合、Results Table の セルがピンクにハイライトされます。
  - ※ Training では設定しません。

<ul> <li>Accept changes and return to F</li> </ul>	lagging Rules		
Configure the confidence	levels for the ior	n ratios, as appl	icable
Rule name Ion Ratio Acceptar	ice		
<ul> <li>Constant Tolerance</li> </ul>			
Variable Tolerance			
	Acceptable	Marginal	Unacceptabl
Qualitative Rule	% Difference	% Difference	% Difference

<ul> <li>Accept changes and return to Flagging Rules</li> </ul>									
Identify the standards and QCs that are outside of the specifications									
Rule name	Rule name Accuracy Acceptance								
Maximum	tolerance for accuracy:								
🗸 Standa	urds at Lower Limit of Quantitation (1100)	+/-	20.0	%					
🗸 Standa	inds at cower clinit of Quantitation (ccoQ)								
	irds	+/-	15.0	%					

- Concentration Acceptance では、 unknown サンプルについて、想定 濃度の上限・下限値を設定します。
- ※ 設定値から外れた場合、Results Table のセルがピンクにハイライ トされます。
- ※ Upper Limit に 10 と入力、カラム を選んで右クリックして、Apply to all analytes the Upper Limit of Calc. Concentration を選ぶと、他の成分に ついても 10 が自動入力されます。

Accept changes and return to Flagging Rules

Analyte

Rule name Conc

1-Naphthalene

asulame

3-hydroxycarbofurar

•

Identify the unknown samples that are outside of the concentration range

Lower Limit

Apply to all analytes the Lower Limit of Calc. Concentration

Upper Limit

- ④ Integration Acceptance では、積算されたピーク形状について Integration Quality、 Asymmetry factor などの許容範囲を設定します。
- ※ 設定値から外れた場合、Results Table の Integration Acceptance のカラムに

	か表示されよう。	<ul> <li>Accept changes and return to Fla</li> </ul>	<ul> <li>Accept changes and return to Flagging Rules</li> </ul>									
*	Trainingでは設定しま	Identify the peaks that are Rule name Integration Accepta	outside of the int	ns								
	セん。	Integration Settings	Lower Limit	Upper Limit	Tolerance (+/-)	Tolerance Units						
		Integration quality	0.800									
		Asymmetry factor	0.500	20.000								
		Total width	0.250	0.500			Error %					
		Retention Time Error			10.0	%	Absolute					

 ⑤ <u>Qualitative Rules</u>では、質量誤差、保持時間、同位体比、ライブラリースコア等、 各項目における信頼度の設定を行います。

ule nan	ne Qualitative Rules								
			~				•		
Apply	Qualitative Rule	A D	cceptable ifference	I C	Marginal Difference	Una Dit	cceptable fference	Combined Score Weight (%)	
<ul> <li>✓</li> </ul>	Mass Error (ppm)	<	5	<	10	>=	10	30	
	Fragment Mass Error (ppm)	<	5	<	10	>=	10	0	
✓	Error in Retention Time	<	0.2	<	0.4	>=	0.4	20	<ul> <li>Error %</li> <li>Absolute</li> </ul>
<ul> <li>Image: A start of the start of</li></ul>	% Difference Isotope Ratio	<	20	<	40	>=	40	20	
<b>~</b>	Library Hit Score	>	60	>	40	<=	40	30	
	Formula Finder Score	>	50	>	20	<=	20	20	

- ※ Training では、図を参考に設定します。
- ※ 各項目の値は適宜変更します。Combined Score Weight (%)は合計 100 になる ように各項目に値を入力します。

- ⑥ Save をクリックし、解析メソッドに名前を付けて保存します。
- ※ Training では MTS と入力します。

[MQ4] Untitled Method			X
Workflow	Define a rule	to flag results in the table.	
Components		Add R	tule Delete Rule Import Export
Integration	Apply Rule	Rule Name	Formulas or Columns Used in the Rule
Library Search		Ion Ratio Acceptance	Ion Ratio Confidence
		Accuracy Acceptance	Accuracy
Calculated Columns	✓	Concentration Acceptance	Calculated Concentration
Flagging Rules	✓	Integration Acceptance	Quality, Asymmetry Factor, Total Width, Retention Time Error (%)
Advanced		Qualitative Rules	
Formula Finder			
Non-targeted Peaks			
			Save 🗸 Close Help

- ⑦ Process New Results の画面に戻り、3. Select a workspace layout では、 1\_MTS.qlayout を選びます。
- ※ 変更する際は Browse... から選択します。
- ※ 保存先:D:\SCIEX OS Data\Training\_X500R\Project Information

Current Location: C:\SCIEX OS Data\Training_> Available	500R\Data\ Wiff: URL  Selected  M 10 31 1.wiff2  M 104 10.wiff2  M 104 10.wiff2  M 10  M 05 100.wiff2  M 10  M 55 100.wiff2  M 10  M 53 mples 04_org banana.  M 5 amples 04_org banana  M 5 amples 05_avocado.wiff  M 5 amples 05	Browse
<	《 Training_XSOOR > Project Information ↓ ルフォルダー クト ↑ 名前 ↑ 1.MTS.qlayout	ひ Project Inf     更新日時     2021/09/01 14:10
2. Select a processing method     C:¥SCIEX OS Data¥Training_X500R¥Quantit     3. Select a workspace layout	」 2,GUS:qlayout v く ファイル名(N): 1_MTS:qlayout	2021/09/02 10:18
1_MTS 4. Select a comparison sample for Non- <none></none>	argeted workflow	Browse

⑧ Process をクリックし解析を実行します。

#### 5.3.2 結果の確認

- ① 解析が終わると、Results Table が表示されます。
  - ② 左側の Components and Groups タブを選び、Sample Type, Dilution Factor, Actual Concentration は下図を参考に入力します。

Samples Components and Groups	[M	Q4] Resi	ults Table (U	ntitl	ed)			
Options 🔹	۲	13	rows Fil	ter	s: 0 🔽 Qu	alify for Ru	les Filter 🕺 🚺 🔒	A Az
All Components		Index	Sample Name	v	Sample Type ∀	Dilution Factor ⊽	Component Name	Actual Concentration ⊽
2 hudennachafurer		1	1		Standard	1.00	I - Naphthaleneacetami	1.000
3-nydroxycarboturan		78	10		Standard	1.00	I - Naphthaleneacetami	10.000
asulame	•	155	100		Standard 🗸	1.00	I - Naphthaleneacetami	100.000
atrazine-desethyl-desisopropyl		232	rucola	Ur	hknown	10.00	I - Naphthaleneacetami	N/A
avermectin B1a		309	org banar	a St	andard	10.00	I - Naphthaleneacetami	N/A
bendiocarb		386	avocado	- Qi Bl	ank	10.00	I - Naphthaleneacetami	N/A
benthiavalicarb-isopropyl		463	carrot	De	ouble Blank	10.00	I - Naphthaleneacetami	N/A
bifenazate		540	strawberry	So	lvent	10.00	I - Naphthaleneacetami	N/A
boscalid		617	tomato		Unknown	10.00	I - Naphthaleneacetami	N/A

- ③ Sample Type はプルダウンから選択します。すべてのサンプルについて入力しま す。
- ※ Sample Type は、1~100: Standard、rucola 以下: Unknown を選びます。
- ④ Dilution Factor は、Unknown: 10 を入力します。
- ⑤ Actual Concentration には標準溶液の濃度として 1~100 を入力します。この値を 他の全ての Component に反映させるには、テーブル上を右クリックし、Apply Current Analyte's Actual Concentrations to All を選択します。

Actual Concen	. ▼ Retenti ▼ Area ▼ Found At Mass ▼ Calculated Concentrati	T Accu
1.0	Сору	Ctrl+C
10.	Paste	Ctrl+V
10(	Copy Entire Table	
N//	Fill Down	Ctrl+D
N//	Select All Rows	
N//	Apply Current Analyte's Actual Concentrations to All	

### <u>クロマトグラム、検量線の表示</u>

Image: Market Market Component Carbon Curve)
 Image: Comparison Curve Curve

② Components and Groups タブから 3-Hydroxycarbofuran をクリックします。

	Project: Training_X500R Projects 🔹 Results 🔹 Reporting 💌 Views 💌 Process Method 🗙 🏵
Samples Components and Groups	[MQ4] Results Table (01_Target spession)
Options	
All Components	
	Index Sample Name v Sample v Dilut v Component Name v Actual Retenti v Retenti v Accuracy v Confin_ Error [Confin_ Confin_ Library Hit
1-Naphthaleneacetamide (NAD)	2 1 Spatial 100 2 Indexembleion 1000 2 20 4/822 222100 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
3-hydroxycarbofuran	79 10 Standard 100 3-hydroxarbofran 10,000 3.25 440365 230100 00 05595 0000000 000000000000000000
asulame	156 100 Standard 1.00 3-hydroxycarbofuran 100.000 06 98.999 99.00 🕁 县 公士 田 droxycarboft.
atrazine-desethyl-desiso	233 rucola Unknown 10.00 3-hydroxycarbofuran N/A 宏昌·信 108 < 0 N/A 化重柏禾 cquired MS.
avermectin <u>B1a</u>	310 om basene Ulakown 10.00 3-hydroxycarbofuran N/A 人生生旧 A N/A N/A
bendiocar	0.00 3-hydroxycarbofuran N/AB.108 < 0 N/ABccquired MS v
Component	t ごとに表示 ^ ^
bifenazate COMPONCI	
boscalid	RegressionOptions VV 2 😒 🗙
butafenacil	Calibration for 3-hydroxycarboturan: y = 3472;94915 x + 1357.66209 (r = 0.99931, r' = 0.99863) (weighting: 1 / x)
butocarboximsulfoxide	365
buturon	2 265
carbendazim	
chiorantraniliprole	iez
cintoon-enyi	0e0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95
clematone	Concentration
clothianidin	🕅 A Manual Integration 🖸 🔥
crimidine	
cycloxydim	Area 4433 Head, R1:32 min Area 34912 min Area 3914 Head, R1:32 min Area 33526; Head, R1:32 min Area 34556; Head, R1:32 min Area 3456; Head, R1:32 min Area 3
cyflufenamid	▼ Retention Time (RT) 10000 13,290 100001 13,290 43,293 ✓ % Y-axis (spectra only)
cyromazine	Expect in $0 - 2345$ $0 - 2345$
DEET	RT Ha
demeton-S-methyl-sulfone	Updat / L Y L org banana - 3-hsample Index: 1) avocado - 3-hydrsample Index: 1) carrot - 3-hydrox(sample Index: 1) V Mirror MS spectra
desmedipham	R Area: N/A, Heigh_N/A, RT: N/A min Area: 1.069e3, Hee2, RT: 3.59 min Area: N/A, Heigh_N/A, RT: N/A min
diethofencarb	▼ Integration Nirror MS/MS spectra
dimefox	Minimum Peak Width         3         points         2         3         4         5         2         3         4         5         Integration parameters
v	Minimum Peak Height 100.00 v Time, min Time, min Time, min
	<ul> <li>Get ChemSpider hit cour</li> </ul>
	Chow povingtion control
	Show havigation control

- ③ 表示するクロマトグラム数(縦、横数)について変更します。変更するには、クロ マトグラム右上の Options > Peak review display settings を選択します。
- ※ Peak review display settings では、表示するクロマトの数や X 軸の拡大の有 無、Y 軸の拡大などが設定できます。
- ④ Appearance タブの Number of rows、Number of columns で変更後、OK します。

Peak Review Optio	ns	X	Peak Review Option	is 🛛 🛛
Appearance Zooming	例		Appearance Zooming	
Number of rows: Number of columns:	1	•	Zoom time axis to view	peak Windows
Overlay:	<b>V</b> anada and a second sec		Zoom intensity axis to: 100.0 pe	rcent of largest peak
Don't overlay		~	5.0 tim	nes the baseline height
Highlight active graph using:			1000.00 cp	s
Bold, italic title and grey b	packground	~	1000 cp:	s, or largest peak
Mark expected RT with	n arrow		When overlaying: Zoom y-axis NOT using (	overlays 💙

世 を
クリックすると、前後のページが表示されます。

- ※ 各 Pane 右上の 🔤 🐹 アイコンは、順に、別ウィンドウ表示、移動、消す、 です。
- ※ A (Open data exploration)アイコンは選択したデータを Explore へ展開します。

### 解析パラメータの変更

- 必要に応じてクロマトグラム左に表示されているパラメータ値 を変更し、クロマトグラムのピーク認識方法を変更します。
  - ※ 各パラメータの詳細については、[5.3.1 解析メソッドの作成] を参照ください。
- 変更後 Apply をクリックすると、選択したサンプルピークに 変更したパラメータが反映されます。
- ※ 全サンプルピークにこのパラメータ設定を反映させる場合は 以下を参照ください。

#### <u>全サンプルピークに変更したパラメータを反映させる</u>

- 選択したサンプルに値を反映させた後、クロマトグ ラム上を右クリックします。
- ② Update Processing Method for Component を選択 します。

#### 解析メソッドの変更と保存

- Process Method から Edit embedded method...を選び、メソッドを変更後、Process & Close をクリックします。
  - ② 変更した解析メソッドに保存するには、Process Method から Save embedded method as...を選び、既存のものに上書きするには既存のファイルを選択、あるい は別名を入力して Save をクリックします。

### 手動積分

- ※ 必要に応じて行います。
- ※ 選択したクロマトグラムを拡 大表示するには、2をクリッ クします。
- クロマトグラム画面上部の Aをクリックします。
- ピークの左端をクリックします。
- そのままドラックしてピークの 右端で離します。

A A Manual Integration 🛛 🖸 Apply 10 - 251.2 / 108.2 (Standard) 251.2 / 108...Data\curve\_sulfa.wiff), (sample Ind Area: 60403, Height: 5.960e3, RT: 1.71 min 6000 1.707 Minimum Peak Width noints 5500 Minimum Peak Height 5000 S/N Integration Threshold 4500 points 4000 Noise Percentage % 3500 Baseline Subtract W min 3000 Peak Splitting 2 points 2500 tion Time (RT) 2000 1500 Expected RT min 30.0 sec RT Half Windov 1000 Update Expected RT 500 No 💙 Report Largest Peak 2.5 3.0 0.5 1.0 2.0 1.5



Copy Integration Parameters

Update Processing Method for Group

Revert Peak to Original Method

Revert All Peaks for Component

Apply integration parameters to sample with



1 - 1-Naphthal...ple ind

Area: 1.050e4...., RT: 4.5

2000

1000

Time

å

Process Method から Save embedded するには既存のファイルを選択、あるい	Process Method から Save embedded するには既存のファイルを選択、あるい	
するには既存のファイルを選択、あるい	するには既存のファイルを選択、あるい	Process Method から Save embedded
,	, ,	するには既存のファイルを選択、あるい

※ 元のパラメータに戻す場合は Manual Integration 横のチェックを外します。

### <u>ピークとしての認識を外す</u>

ブランク等、ピークとして認識したくない場合、ピーク不検出アイコン をクリックすることにより、ピークを不検出にします。



### 検量線の表示、重みづけ、検量線の種類を変更

- ① 検量線が表示されていない場合は Results Table 画面右上の <br/>
  <br/>
  <br/>
  をクリックします。
  - ※ 必要に応じて Regression をクリックし、重みづけや検量線の種類を変更します
  - Regression Parameter : Area→Hight の変更
  - Regression Type: 検量線の種類の変更
  - Weighting Type: 重みづけの変更



※ 全ての成分の検量線の重みづけなどを一括で変更するには、All Components を クリックし、Regression で変更します。



### データの追加と削除

- 追加するには、Results Table 画面右上の More > Add Samples を選択し、Available で追加したいサンプルを選択後、→で Selected に移動します。
- ※ Training では行いません。
- ② OK をクリックすることで Results Table に追加されます。

	♥ Vie	ews • Process Method	Select Samples	
			Select the desired samples	
_			Current Location: C:\SCIEX OS Data\Training_X500R\Data	Browse
=	88	🔥 🖊 More 🗸 😒	Available	
		Table display settings	▷ 🗒 03 1.wiff2 ▷ 🗒 04 10.wiff2	
7	Addu	Recent Table Settings	<ul> <li>▷</li></ul>	
	[M+H	Add custom column	▷	
	[M+F	Rename custom column	<ul> <li>▷ III samples 05_avocado.wiff2</li> <li>▷ III samples 06_carrot.wiff2</li> </ul>	
S	[M+⊦ [M+⊦	Remove custom column	<ul> <li>▷</li></ul>	
_	[M+N]	Hide selected row(s)	B samples 09_grapes.wiff2     B samples 10 orange.wiff2	
	[M+⊦	Show previously hidden rov(s)	▷ 🖹 samples 11_banana.wiff2	
-	[M+	Add samples	<ul> <li>▷ (iii) samples 12_lemon.wift2</li> <li>▷ (iii) unknown screening_2 Data EURL 014.</li> </ul>	
		Remove selected samples	Image: Second seco	

- ③ データを削除するには、Results Table で削除したい行を選択し、Results Table 画 面右上の More > Remove Selected Samples を選択することで削除されます。
- ※ 削除後、元に戻すことはできません。必要に応じて削除前に画面上部の Results>Save as で定量結果を保存してください。

#### <u>スクリーニング結果の確認</u>

 RT や Mass 等の Confidence カラムでは、解析メソッド作成時の Qualitative Rules で設定した項目についてパスしたかどうかが表示されます。

J	índex	Sample Name	Sample Type	Dilution Factor	Component Name
۲	2	1	Standard	1.00	3-hydroxycarbofura
	79	10	Standard	1.00	3-hydroxycarbofura
	156	100	Standard	1.00	3-hydroxycarbofural
	233	rucola	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofuran
	310	org banana	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofuran
	387	avocado	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofura
	464	carrot	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofura
	541	strawberry	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofura

- ※ 通常はすべての結果を表示しますが、外れた ものや不確かな結果を非表示にするには、左 上の Define a qualifying row:をクリックし、 展開した 7 項目について該当する項目の チェックを外します。
- ※ Training では行いません。



- ② 適宜、クロマトグラムの積分を変更します。
- ※ Training では行いません。
- ③ Options では、表示するクロマトのカラム数や縦 軸の%表示、MS および MS/MS のミラー/重ね書 き、成分パラメーターの表示/非表示などが設定で きます。
- ※ Training では Integration parameters のチェッ クを外します。
- フィルター機能を使って、解析メソッド作成時の Concentration Acceptance で設定した外れ値の結果 を確認できます。
- ※ Results Table の Calculated Concentration のフィル ターアイコン▼をクリックすると右図のような画面 が表示されます。Filter by Flag→Fail を選択すると、 Upper Limit >10 の結果がハイライトされます。



recursor , Mass	⊽ Cor	alculated ncentration ♡	RT Confi	Mass Error	ls ^ Ci
186.091	0.92	Clear Filte	er		
23 Pa	ss	Filter by F	lag		)
<sup>23</sup> Fa	il	Text Filter	rs		,
40.023	0.92		ID		
390.526	1.20	- (B	lanks)		

- ※ 解除するには、フィルターアイコン▼をクリックして Clear Filter を選びます。
- ※ Results Table の Used カラムのチェックを外すと、そのデータポイントを検量 線から除外します。
- ※ 複数の化合物がある時、比較したい成分を Control キーを押しながら複数選択 することができます。この場合、Results Table とクロマト表示画面には選択し た化合物のすべての情報が表示され、検量線は重ね書きされます。

### <u>ターゲットスクリーニング解析の表示</u>

<u>View</u>をクリックして XIC+MS+MS/MS を選びます。選択したピークの XIC および MS(青色:実測、灰色:理論パターン)、MS/MS(青色:実測、灰色:ライブラリー)が表示されます。



※ Unknown サンプルにおいて、Library Confidence が陽性となった結果については XIC および MS、MS/MS をしっかりと確認します。

### 陽性の確認例

Results Table の Sample Type のフィルターアイコン▼をクリックすると右図のような画面が表示されます。Unknown にチェックを入れます。

Sample Difference Type Facto	on V Component V Actual or Name V Concentra	Define a qualifying row:	∕oz √	"C 🔨	/ Ilk	V C	R
Jnknown (	Clear Filter		$\checkmark$		٠		Con
Jnknown	Standard	Y Ion ratio					
Jnknown	Blank	A					
Jnknown	Double Blank	Mass error				×	
Jnknown	Quality Control	🛕 Frag. mass error	$\checkmark$			$\checkmark$	
Jnknown	Solvent		$\checkmark$			✓	
Jnknown		<sup>14</sup> C   estant					
Jnknown		C isotope					
Jnknown		Library	$\checkmark$			$\checkmark$	
Jnknown	OK Capcel	C.H. Formula					

- ※ 図を参考に、Define a qualifying row: に $\checkmark$ チェックを入れます。  $| \bullet | \circ$ の チェックを一括で外すには  $| \bullet |$ 上をクリックします。
- Components and Groups では All Components をクリックします。Results Table の Library Score カラムを選択して
   (Sort selected column from largest to smallest) アイコンをクリックしてスコアの高い順に並び替え、各成分の結果を順 に確認します。
- ※ Training では Grapes/Boscalid、Librar y Hit: Nicobifen をクリックします。

	IWC	24) Resu	ilts Table (02_GUS.	qsession)	(MQ4) Resu	Its Table (01_Target.qsessio	n)							-		_		
Options	Z	58	0 of 1001 rows	Filters: 1	5 🔽 Q	ualify for Rules Filters			%	A d A	/ Az 🗸 "C y	ilk 🗸 🤇	H, 🗸 🗸	Ξ	Ξ		More •	• 🖬 😸 🗵
All Components	ь	ndex	Sample Name 🏹	Sample Type	Dilut ⊽ Factor	Component Name 5	Actual Concen V	Retenti Time	Area 🌱	Found At Mass	Calculated Concentrati ⊽	Accuracy V	RT Confi	Mass Error	Isotope Confi	Library Confi	Library Hit 🛛 🖓	Library Score
1-Naphthaleneacetamide (NAD)		552	strawberry	Unknown	10.00	carbendazim	N/A	1.88	1.679e4	192.077	4.196	N/A	~	~	~	~	Carbendazim	100.000
3-hydroxycarbofuran	<u> </u>	702	grapes	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.80	7.268e5	343.040	748.933	N/A	V	V	<ul> <li>V</li> </ul>	<ul> <li>V</li> </ul>	Nicobifen [Smart Confirmation]	100.000
asulame	<b>I</b> .	471	carrot	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.79	4.387e3	343.040	1.771	N/A	<ul> <li>Image: A second s</li></ul>	<b>~</b>	<ul> <li>Image: A set of the set of the</li></ul>	~	Nicobifen [Smart Confirmation]	97.471
atrazine-desethyl-desisopropyl		856	banana	Unknown	10.00	boscalid	N/A	9.79	2.851e3	343.040	0.183	N/A	<ul> <li>Image: A set of the set of the</li></ul>	× .	×	×	Nicobifen [Smart Confirmation]	90.828
avermectin B1a		232	rucola	Unknown	10.00	1 - Naphthaleneacetamid.	. N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						N/A
bendiocarb		233	rucola	Unknown	10.00	3-hydroxycarbofuran	N/A	3.48	5.788e2	238.108	< 0	N/A	<ul> <li>Image: A set of the set of the</li></ul>	× .	× .		No Acquired MSMS	N/A
benthiavalicarb-isopropyl		234	rucola	Unknown	10.00	asulame	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						N/A
bifenazate		235	rucola	Unknown	10.00	atrazine-desethyl-desiso.	. N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						N/A
boscalid		237	rucola	Unknown	10.00	bendiocarb	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A						N/A
butafenacil	tenad																	
butocarboximsulfoxide		_			_							-						
buturon	ß	🕼 A 🔤 Manual Integration 😰 🛦 🗢 🕞 🖉 😓 Options 🗸 🖾 🗴																
carbendazim						Apply grapes - bos	calid (Unknow	n)es.wiff2),	(sample Inde	c 1) 🖂	Spectrum from s	amplesfrom	9.782 to	9.810 mir	. =	Spectru	um from samples 0: 343.0 Da, +	1, CE: 35.0
chlorantraniliorola	l					Area: 7.268	e5, Height: 1.4	51e5, RT: 9.80	min	•	C18H12CI2N2O	+H]+			•	Library	Spectrum: Nicobifen , CE=35±0	
cinidan-athul	1 °.	Retent	ion Time (KT) —				1	9.	303		1	343.0402				100	*]	307.0629
dathadia	L '	Expecte	d RT	9	.830	min		- I			3e4 -							
cietnoaim	1	RT Half	Window	3	0.0	sec 1.0	e5 -						345 0373		365)	50'	% 271.08	372
clomazone		Update	Expected RT	1	lo 💙	de la				b C	264			·	ef3		243.0923	
clothianidin		Re	port Largest Peak			disu				nsity					, Ag	09	»	<b>↓↓</b> −−↓−−−−
crimidine	-	Integra	tion			뢛 5.0	e4 -			Inte	1				nten			
cycloxydim	μ.,	Minimu	m Peak Width	3		points	1				1e4 ·			346.040	1 8	-50	% -	
cyflufenamid		Minim	m Daak Hainht		00.00		1											
cyromazine			in reak neight		00.00	0.0	eo I	, A			0e0					-100	×1	
DEET		5/N Inte	gration Threshold	3			8	9 10 Time	11	12		342 34 Marr/Ch	14 3 Iarce D-	46			100 200 S	300
demeton-S-methyl-sulfone	•	Gaussia	n Smooth Width	1	.0	points Peak Deta	ails	nme, mi		- F	ormula Finder Resu	ults	aige, Da	•	3 <b>T</b> L	ibrary Se	arch Results	Q
desmedipham		Noise P	ercentage	4	0.0	% Precursor	n/z Mass Erro	r (ppm) Ret	ention Time (	(min)	Name Formu	la Score	m/z (Da	) Erro	r (p	Name	CAS#	Formula
diethofencarb		Baseline	Subtract Window	2	.00	min 343.040	0.715	9.80							- R	Nicobife	en (Smart Confirmation)	
		Peak Sn	litting	2		points v												

 ライブラリーサーチの詳細を確認するに はMS/MS下のLibrary Search Resultsを クリックします。



- ※ Nicobifen は Boscalid の別名。
- ※ 他の候補がある場合は一覧で表示されます。別候補をクリックすると MS/MS の グレーのスペクトルが連動します。その候補を結果に反映するには<sup>■</sup>をクリッ クすると Table 上の Library Hit/ Library Score が連動します。

- 結果を保存するには、Resultsから Save を選び名前を付けて 保存します。
- ※ Training では、Training と名前を付けて保存します。
- Results
   Repo

   New...
   Open...

   Recent results
   Save

   Save as...
   Save as...
- ⑤ 表示するカラムや桁数を変更したい場合は、More をクリックし Table display settings...を選び設定を行います。



- <u>Visible</u>ではカラムの表示/非表示が選択でき、<u>Number</u> onfile Confile
   <u>Format</u>では入力した通りに有効数字や指数表示が切り替わります。
- ※ ここで入力した有効桁数以上の値は、定量テーブルに入力表示されないだけで なく、定量計算にも反映されません。
- ※ Export...では設定をファイルとし て保存、Import...では保存したファ イルを読み込むことができます。

Results Table Display	y Settir	ngs			Х
Project: TrainingX500R					
show and hide specific columns in	n the result	s table			
Column Groups:					
All Columns	•	Impo	rt	Export	
Column Name 🖉	Visible	Number F	LIS S	upported	^
Accuracy	$\checkmark$	0.00		$\checkmark$	
Accuracy Acceptance					
Acq. Method Name					
Acquisition Date & Time				$\checkmark$	
Actual Concentration	$\checkmark$	0.000			

- ※ Training では、 <u>Import...</u>から D:¥SCIEX OS Data¥Training\_X500R 中の target quantitation.cset を選びま す。
- ⑥ 必要に応じ、レイアウト(テーブルの表示項目やサイズ、 検量線の表示、クロマトグラム数、各 Paneの位置やサイ ズなど)を保存します。

<u>Views</u>をクリックして Save current layout...を選び、名 称および保存先を適宜設定します(拡張子: glayout)。

※ デフォルト設定として保存するには、Set current layout as project default...を選び、名称を設定します。

保存先:D:\\$CIEX OS Data\Training\_X500R\Project Information

Views 🔹 Pro	cess Method 💌
Peak Review	
Calibration Curve	
Statistics pane	
Show hidden panes	
Tabbed view	
Tile vertically	
Tile horizontally	
Turn off tiling	
Apply different layout to	current results
Set current layout as pro	ject default
Save current layout	Þ

※ 別のレイアウトをインポートするには、Apply different layout to current results...を選びます。

- ⑦ 必要に応じて Report を report and save Result ト、出力形式を選択しま
- ⑧ Browse... で保存先を指 し、名前を付けます Create をクリックし す。

※ Default 𝒫 Template

作成	します。	Reporting から Create	Reporting
s Tal	ble…を選	び、目的のテンプレー	Create report and save Results Table
とす。			Export results
	Create Report		×
'定	Generate a report usir	ng a predefined template and specified logo	Template View
	Template name	All Peaks Qual	Cartering and a set of the s
。ま	Template description	Report showing result table for analytes for each sample in [All Peaks Qual] Template	n WISYMG style.
	Report form at	Word OPDF CSV OHTML	
	Report title	All Peaks Qual_Report_2016_02_18_154332	Browse
は		Create an individual report for each sample (Recommended for large reports; Report titles will be appended with	sample reference) Create Close

- C:¥ProgramData¥SCIEX¥Analytics¥Reporter に保存されています。
- その他、<u>https://sciex.jp/support-tools/analyst-multiquant-reporttemplate</u>から ※ ダウンロード可能です。

【※Tips】任意の計算値を Results Table に表示させる機能 (SCIEX OS ソフトウェ ア version1.5 以降)

※ 任意の計算式を設定することで、計算から外れた値を目視で簡単に判定するこ とができます。

例:内部標準(IS)の面積の変動を評価します。(ISの面積値を平均値で割った 値を算出し、80~120の間に無い場合、フラッギングする設定をします。)

- ※ Training では行いません。
- 画面上部の Results > Open を選択し、既存の Results Table を表示します。 1)



- 2) 画面右上の Process Method > Edit embedded method を選択します。
- 3) Calculated Columns をクリックし、Add Formula をクリックします。
- 4) 図を参考に、入力と設定を行います。
  - Formula Name : ISTD variation •
  - 式:100\*[IS Area]/MEAN([IS Area]) •
  - Sample Type : Standard •

[MQ4] Modify Method		
Workflow	Define a custom formula	to use in flagging r
Components	Add	d Formula Delete Fo
Integration	Create Calculated Column	Formula Name
Library Search		
Calculated Columns		
Flagging Rules		

Recent methods

[MQ4] Modify Method						×			
Workflow	← Accept chang	ges and return to	o Calculated Colu	ımns 🗙 Di	scard				
Components	Use the calo	culator to cr	eate a new fo	ormula.					
Integration	Formula name	ISTD variatio	on 🖊						
Library Search	= 100*	[IS Area	1/MFAN(	[IS Area					
Calculated Columns		[10 / 100	],,(	[10 / 1104	J/	MCAN setup will be relevabled using the			
Flagging Rules	COUNT	MAX	STDEV	Clear	End Time at 5%	<ul> <li>MEAN value will be calculated using the following sample types:</li> </ul>			
Advanced	SUM	MIN	MEDIAN	(	End Time at 10% Expected Ion Ratio	Unknowns			
Formula Finder	MEAN	ABS	MAD	)	Expected RT Only if the sample name of Only if t				
Non-targeted Peaks	1	*	-	+	Height	Only if the sample name contains			
	Treat "N/A" valu	Jes as Error		` \	Height Ratio Injection Volume Integration Acceptance Integration Type Ion Ratio Ion Ratio Confidence IS IS Actual Concentration IS Area IS Area / Height IS Baseline Deta / Height IS Comment IS Comment	CCS Only if the sample name contains Blanks Solvent Blank C			
						Process & Close Help			

- 5) Fragging Rules をクリックすると Warning が表示されますので Yes を選びます。
- 6) Add Rule をクリックし、下図参考に、入力と設定を行います。
  - Role name : ISTD variation
  - Flag a results columns : ISTD variation

[MQ4] Modify Method	l		
Workflow	<ul> <li>Accept changes and ret</li> </ul>	urn to Flagging Rules 🗙 Discard	
Components	Rule name	ISTD variation	
Integration	Flag a results column	ISTD variation	
integration	Flagging criteria	Range	
Library Search	Step 1: Define the value	ues for the flagging criteria	Step 2: Apply the values to the following sample types
Calculated Columns	<ul> <li>Value for all cor</li> </ul>	nponents Value: per component type	✓ Unknowns
Flagging Rules	Lower limit 80	By component 👻	Only if the sample name contains Type comma separ
	Upper limit 120	)	Standards
Advanced			Only if the sample name contains Type comma separ

- 7) Process & Close をクリックすると Warning が表示されますので Yes を選びます。
- 8) Results table が再計算されます。Results table には ISTD variation の欄が追加され、IS 面積の変動 について許容値外のものはハイライトさ れます。 Components

	Concer	·			variation
[MQ4] Modify Method					
Workflow	Define a rule	to fla	ig results i	n the ta	ble.
Components					Add Rule
Integration	Apply Rule	Ru	le Name		Formulas o
		lon	Ratio Accep	tance	Ion Ratio Co
	✓	Accu	iracy Accep	tance	Accuracy
Calculated Columns	✓	Con	centration A	Acceptan	ce Calculated C
Flagging Rules	✓	Inte	gration Acc	eptance	Quality, Asyr

\*ISTD

- 5.4 ノンターゲットスクリーニング
- 5.4.1 解析メソッドの作成
  - ① Results をクリックし New を選択します。
    - ② 解析するデータをすべて選択し、=>アイコンで画面右側にサンプルを移動します。
    - ※ Training では下図を参考に選びます。

Process New Results		X	
1. Select batch samples to process Current Location: C:\SCIEX OS Data\Training_X500R\Data\	Selected	Browse	
B 03 1.wiff2     B 04 10.wiff2     B 35 100.wiff2     B 3samples 03_rucola.wiff2     B 3samples 04_ org bananawiff2     B 3samples 06_arucodo.wiff2     B 3samples 06_structwiff2     B 3samples 07_strawbery.wiff2     B 3samples 09_grapes.wiff2     B 3samples 10_erange.wiff2     B 3samples 11_banana.wiff2     G 3samples 11_banana.wiff2     G 3samples 11_banana.wiff2     G 3samples 11_banana.wiff2     G 3samples 12_etemtorxitf2     D 4 3samples 14_etemtorxitf2     D 4 3samples 14_etemtorxitf2     D 4 3samples 14_etemtorxitf2     D 4 3samples 14_etemtorxitf2     D 4 3samples     D 4 4samples     D 4samples     D 4sampl		Data\	Erowse Selected ▲ Munknown screening_2 Data EURL 014.wiff Wunknown screening_Control_2 Data EURL Worg banana
2. Select a processing method	Browse	New Edit	Browse

- ③ 2. Select a processing method の New...をクリックします。
- ※ 2回目以降の解析の際は、Select a processing method の Browse...から既存の ファイルを選択します。
- Workflow では解析するワークフ ローとして、Non-targeted screening にチェックを入れます。

Workflow	Select the workflow and then select a
Components	Quantitation
late and a s	Quantitation and targeted identification
	Non-targeted screening
Library Search	
Calculated Columns	The recommended Reference Sample has beer Sample Name
Flagging Rules	unknown screening_2 Data EURL 014.wiff2 (sa unknown screening_Control_2 Data EURL 008.
Advanced	
Formula Finder	
Non-targeted Peaks	TIC from unknown screening_Control_2 Data El 1

Results

Projects

- ⑤ Library Search では、Perform Library Search にチェックを入れ、図を参考に使用するライブラリーや各種パラメータを設定します。
- ※ Training では、Candidate Search、Free\_Pesticide を選択します。

※ Training では、Minimal Purity に 10 を入力します。設定した値以上のものが 検索対象となります。

Confi	gure the library search param	eters					
	Library Search Algorithm		Candic	date Search			~
	Results Sorted By		Purity				~
	Library Spectra Type		All Spe	ectra			~
	Libraries To Search		Sear	rch All Librari	es		
N			V Fre	ee_Pesticide			<b>*</b>
			<u> </u>				
	Algorithm Parameters						
	Precursor Mass Tolerance	+/-	0.4		Da		
	Collision Energy	+/-	5		eV		
	Retention Time	+/-	0.5		min		
	Fragment Mass Tolerance	+/-	0.4		Da		
	Ignore Isotopes In Unknown			Maximal N	umber Of Hits	5	
	✓ Use Polarity			Intensity T	hreshold	0.05	
	Use Collision Energy Spread			Minimal Pu	ırity	10.0	%
	Use Compound Specific Purity T	hresho	ld	Intensity Fa	actor	5	

- ⑥ Flagging Rules では、Qualitative Rules にチェックを入れてクリック すると設定画面が表示されます。ラ イブラリースコア、組成解析結果に おける信頼度の設定を行います。
- ※ Training では、図を参考に設定します。



- ※ 各項目の値は適宜変更します。
   Combined Score Weight は合計 100 になるように各項目に値を入力します。
- ※ Flagging Rules の画面に戻るには、Accept changes and return to Fragging Rules をクリックします。

			<b>~</b>		<b></b>		•	
Apply	Qualitative Rule	Ac D	cceptable ifference	I C	Marginal Difference	Una Di	cceptable fference	Combined Score Weight (%)
	Mass Error (ppm)	<	5	<	10	>=	10	20
	Fragment Mass Error (ppm)	<	5	<	10	>=	10	0
	Error in Retention Time	<	2.5	<	40	>=	40	20
	% Difference Isotope Ratio	<	5	<	20	>=	20	20
$\checkmark$	Library Hit Score	>	60	>	40	<=	40	50
✓	Formula Finder Score	>	50	>	20	<=	20	50

⑦ Formula Finder では自動組成解析時の組成の上限と Tolerance を設定します。 Use Formula Finder にチェックを入れ、Man-Made Compounds を選びます。 Limits の Max Element、Mass Tolerance は適宜変更します。

*	Training	では図を参考に入力し	Configure the Formula Finder options that are used to identify compounds					
	ます。		Type of Compound					
			<ul> <li>Naturally Occurring 0</li> <li>Man-Made Compound</li> </ul>	Compounds nds				
			Other					
			Limits					
			Max. Element	C49 H75 Br2 CI5 F3 I3 N10 O16 P1 S3				
			Mass Tolerance	10 ppm				

- ⑧ Non-targeted Peaks では解析する保持時間の範囲とピーク抽出条件を設定します。
- ※ Training では図を参考に設定します。
- ※ Exhaustive に近いほど、微量なピークも検出するので解析時間がかかります。
- ※ Area Ratio Threshold: ②でデータを2つ以上選び、かつ⑩で一方をコントロー ルとして差分比較する場合、その比を入力します。設定した値以上のものが検索 対象となります。

Configure the parameters to use to	find the nor	n-targeted peaks to ad	d to the extract
Minimum retention time	0	min	
Maximum retention time	0	min	
Peak detection sensitivity	Fast	I I I	Exhaustive
Area Ratio Threshold (Unknown/Control)	10		
Group peaks by adduct or charge	✓		

- ※ Group Peaks by adduct or charge にチェックを入れると、付加体や多価イオン を特定し、重複した成分としてグループ化されます。
- ⑨ Save をクリックし、解析メソッドに名前を付けて保存します。
- ※ Training では GUS と入力します。
- Process New Results の画面に戻り、3. Select a workspace layout では Browse...
   をクリックし、2\_GUS を選びます。
- ※ 保存先:D:\SCIEX OS Data\Training\_X500R\Project Information

		≪ Training_X500R →	Project Information
2. Select a processing method	امار	フォルダー	
C:¥SCIEX OS Data¥Training_X500R¥Quantitation Methods¥02_GUS.qı	rows ^	名前	^
3. Select a workspace layout		1_MTS.qlayout	
2_GUS			Browse
4. Select a comparison sample for Non-targeted workflow			
org banana (C:\SCIEX OS Data\Training_X500R\Data\unknow	n scree	ning_Control_2	2 Da 💙
	rocess	Cancel	Help

- 4. Select a Comparison sample...では、差分解析をする場合のコントロールデータ を選択します。
- ※ Training では図を参考に、org banana を選びます。
- ※ 差分解析をしない場合は、何も選択しません。
- 12 Process をクリックし解析を実行します。
- 5.4.2 結果の確認
  - ① 解析が終わると、Results Table が表示されます。
    - ② 必要に応じてレイアウトを変更します。
    - ※ Training では変更しません。
    - ※ 設定済みのレイアウトをインポートするには、Views をクリックして Apply different layout to current results...から該当ファイルを選びます。
    - ※ レイアウトを保存するには Save current layout...を選び、適宜設定します。
    - ※ デフォルト設定として保存するには、Set current layout as project default...を 選び、名称を設定します。
    - ③ 必要に応じて表示するカラムや桁数を変更します。More をクリックし Table display settings...を選び設定を行います。<u>Visible</u>ではカラムの表示非表示が選択 でき、<u>Number Format</u>では入力した通りに有効数字や指数表示が切り替わります。
    - ※ Training では変更しません。
    - ※ 新規に Results Table を表示した際、すべての結果が表示されていない場合は、 各カラムのフィルターや Define a qualifying row に前の条件が設定されている があります(設定時:アイコン紺色。未設定:水色)。その場合は確認してくだ さい。

#### 陽性の確認例

Results Table の Sample タブをクリックします。



 ② Library および Formula Finder の Confidence カラムについて、陽性の結果のみ表示し陰性あるいは不確かな項目を 非表示にするには、Define a qualifying row: メーム トレートレートレート リックし、各項目のチェックを外すか、まとめて外す場合は▲● 上をクリック します。

Samples Components and Groups	[MQ	4] Resu	Its Table (Untitled)										
Options 👻	Դ	12	94 of 1319 rows	Filters: 14	Qualify for	%√ &√ &	V /az	🗸 "с 🗸	/ ik	V C	"H" 🗸 🔹	0	7 1
banana I org banana	In	dex	Sample Name 🛛	Sample T ⊽	Component Name স	Define a qualifying	row:	/	•		Adduct / Charge	v	Precursc Mass
	▶	1	banana	Unknown	371.1020 / 0.01	Y Ion ratio				<	[M+H]+		371.102
		2	banana	Unknown	445.1169 / 0.03	<b>A</b> Manual Annual					[M+H]+		445.117
		3	banana	Unknown	114.0907/0.11	• Wasserfor				×	[M+H]+		114.091
		4	banana	Unknown	152.0465/0.19	🗛 Frag. mass er	rror 💊			✓	[M+K]+		152.047
		5	banana	Unknown	355.0722 / 0.15					✓	[M+H]+		355.072
		6	banana	Unknown	279.0922 / 0.16	14					[M+H]+	_	279.092
		7	banana	Unknown	177.0534 / 0.16	C isotope					[M+H]+		177.053
		8	banana	Unknown	149.0228/0.29	Library				$\checkmark$	[M+H]+		149.023
		9	banana	Unknown	166.0491/0.71	C,H, Formula				✓	[M+NH4]+		166.049
		10	banana	Unknown	159.0649 / 0.29	Quantifiers	N/A	N/A			(M+H]+		159.065

- ③ Confidence カラムでは、解析メソッド作成時の Qualitative Rules で設定した項目 についてパスしたかどうかが表示されます。
- ④ Area Ratio comparison カラムを選択し、
   〔Sort selected column from largest to smallest) アイコンをクリックしてスコアの高い順に並び替えます。

Γ	Samples	Components and Groups	][	[MC	Q4] Res	ults Table (Unti	itled)													•		
		Options •		Դ	12	94 of 1319	rows Filte	rs: 14 🗹 Qualif	y for Rules	Filters			% <del>\</del>	<u>Å</u> Å	/22	v "cv ⊪v	C,H, 🗸 🗸	<b>0</b> 7	966		More	
	banar	a nana		h	ndex	Sample Name	, Sample Type ⊽	Component V Name	Area ⊽	, Retention Time ♥	Used ⊽	Found At Mass	Precursor Mass	Library Confi	Form Confi	Library Hit ⊽	Library Score	Formula Finder R	Formula Finder S	Combi v Score	Area Ratio o <sup>V</sup> ¥	Non-Ta Peak
L				$\mathbb{Z}$	205	banana	Unknown	202.0428 / 5.30	3.846e6	5.30		202.043	202.043	<b>v</b>	<b>v</b>	Thiabendazole	96.132	C2H3N9O3	87.008	91.570	446.272	
L				7	440	banana	Unknown	297.0557 / 8.29	4.989e6	8.29		297.056	297.056	×	×	Imazalil	91.468	C14H14Cl	89.322	90.395	144.162	
l					655	banana	Unknown	123.0794 / 10.14	2.218e5	10.01		123.080	123.079		×	No Acquired MSMS	N/A	C2H11N4P	91.958	91.958	68.574	

⑤ Table から図を参考に 202.042 / 5.30 をクリックします。

- ⑥ (Display the Peak Review) アイコンをクリックし、ピークとスペクトルを表示させます。 Results Table とクロマトグラムはリンクしており、別の Component を選択すると表示が変わります。
- ※ MS および MS/MS が表示されない場合は View で変更します。
   XIC+MS+MS/MSを選ぶと、選択したサンプルの XIC および MS (青色: 実測、 灰色: 理論パターン)、MS/MS (青色: 実測、 灰色: ライブラリー)を表示します。



⑦ 組成解析結果を確認するには MS下の Formula Finder Results をクリックします。
 候補とする組成式を Results Table に反映するには▲をクリックします。

A Formula Finder F	esults				mass/cnarge	, υ				
- formula inder i	Name		Score	m/z (Da)	Error (ppm)	Error MSMS (ppm)	Hit Count		Formula	
			85.1	202.04277	1 2.5		0		Finder Results	
			84.1	202.04335	1.9	1	131			
	K	C4H6F3N3O3	82.8	202.0434	2.2	0.9	0	/	C10H7N3S	
	ĸ	C7H5F2N3O2	72.8	202.04226	3.5	1.2	3			
	ĸ	C5H10F2NO3P	56.8	202.04391	4.7	3.6	0			

- ※ ChemSpider のライセンスを購入された方は Hit Count に値が表示されます。
- ⑧ ライブラリーサーチの結果を確認するには MS/MS下の Library Search Results を クリックします。
- ⑨ 候補 とする化合物を Results Table に反映するには $\mathbf{N}$ をクリックします。

Library Search R	esults							
	Name	CAS#	Formula	MM (Da)	Fit	Rev. Fit	Purity	CE (eV)
$\sim$	🔨 Thiabendazole	148-79-8	C10H7N3S	201.03607	100.0	88.1	88.1	35

- ※ 解析メソッドを保存するには、Process Method から Save embedded method as...を選び、既存のものに上書きするには既 存のファイルを選択、あるいは別名を入力して Save をクリック します。



- ① クロマトの表示数の変更は Options で設定します。
- ※ 積分パラメータを非表示にするには、Integration Parameter の チェックを外します。
- <sup>12</sup> 結果を保存するには、Results から Save を選び名前を付けて保存します。
- ③ 必要に応じて Report を作成します。Reporting から Create report and save Results Table...を選び、目的のテンプレート、出力形式を選択し、名前を付けて OK をクリックします。Create Report



- 5.5 ライブラリー追加方法
- 5.5.1 ライブラリーファイルの新規登録
  - ※ LibraryView<sup>™</sup> ソフトウェアがインストールされているお客様が対象です。
  - ※ 新規登録はせずに既存のライブラリーを活用される場合はこの操作は不要です。
  - ① LibraryView<sup>™</sup> ソフトウェアの起動します。デスクトップにある、 [LibraryView]アイコンをクリックします。



② Manage 上の チアイコン (Add New Library) をクリックします。

LibraryView						
	Views: 🎛 📃 目					
Manage	All Compounds					
VLIBRARIES	1 (1.2 Diphopyleth					
WRTMD1 Lets yo selecte	Lets you add a new library with selected compounds.					

③ Enter Library Name には名称を入れ、右下のAdd を選びます。メッセージが表示されたら Yes をクリックします。これにより Test のライブラリーが保存できます。



### 5.5.2 MS/MS の登録

① Home 上の Analytics をクリックします。

② ライブラリーに登録する MS/MS を表示します。



※ Training では、[5.4.2 結果の確認] で使用した MS/MS を表示します。
※ ここでは Area Ration of comparison の値の高い順でソートをかけ、 [301.0487/8.29]の成分を選びます。

Samples Components and Groups	[MQ4] Results Table (02_GUS.qsession)
Options 👻	1 2640 rows Filters: 0 🔽 0 🛠 🗛 🗛 🖉 10 🗥 C.H. ▼ 🔿 🐼 🗄 🗐 🗐 🗚 🖉 More 🔹
All Components	Index Sample Name V Component N V Area V Retenti V Found Time V Grand At Mass V Us V Area Ratio of comparison V Confi Library Hit V
102.1266 / 5.53	▶ 641 banana 301.0487 / 8.29 3.662e5 8.29 301.049 🗹 666.287
102.1266 / 15.73	1314 banana / 903.7385 / 14.41 6.724e5 14.25 903.738 ⊻ 497.746 ● No Match
	[MQ4] Peak Review (02_GUS.qsession)
	🕼 🗛 📃 Manual Integration 😰 🛕 View 🔹 Options 🔹 🗖 📓 🗙
	org banana - 301 0497 / 8.29 (Unknown) 30 Data EURL 008.wiff2). (sample Index: 1) Area: 5.495c2, Height: 6.000e2, RT: 8.30 min 2000 1000 0 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0 9.5 Time. min V Library Search Results V Library Search Results
	Precursor m/z Mass Error (ppm) Retention Time (min) Ion Ratio Name CAS# Formula MM (Da) Fit Rev. Fit Purity CE (eV)
	301.049 N/A 8.30 N/A
	banana - 301 0487 / 8.29 (Unknown) 301Data EURL 014.wiff2), (sample Index: 1)       Spectrum from unknown screening_2 Data278 min Precursor: 301.0 Da, CE: 35.0         Area: 3.662e5, Height: 1.309e5, RT: 8.29 min       8.293         1e5       8.29         0e0       7.0         7.0       7.5         8.0       8.5         9.0       9.5         Time, min       Mass/Charge, Da         V Peak Details       Mass/Charge, Da         Otion 109       N/A         8.29       N/A

- ③ MS/MS 上を右クリックし、Add spectrum to library を選びます。
- ④ Add spectrum to library の画面では化合物名 や登録するライブラリファイル、スペクト ル情報を入力して OK します。



⑤ LibraryView<sup>™</sup> ソフトウェアがインス トールされているお客様は、登録したスペ

クトル情報などが編集できます。LibraryView<sup>™</sup>ソフトウェアを開き、該当成分 をダブルクリック>右下の Edir Mode で編集します。



#### 定量測定 MRM<sup>HR</sup> Method の作成と解析 6 6.1 MS Method の作成 MRM<sup>HR</sup>メソッドの作成 6.1.1① Home 上の MS Method をクリックします。 Nev ٠ TOF MS Ξ ② New から MRM HR を選択します。 TOF MSMS ③下図を参考に設定します。 01 IDA ④ Temperature および DP は、熱に不安定な化合物や SWATH インソース CID が起きる化合物を分析される際に 低い値に設定してください は、 2 Guided MRM HR (例 TEM : 30、DP : 30程度) **Ъ** мкмнк 測定時間 1 Cycle の測定時間(自動計算) Method Overview д Total scan time: 🗘 min 0.468812 sec Method duration 5 Device: X500 QTOF Ion Source: TurboSpray Estimated cycles: 639 イオンソースの設定 MRM HR Source and Gas Parameters (TOF MSMS Scans: 6) 🗘 psi 0 ≎ °C Curtain gas 25 Ion source gas 1 60 Temperature 400 🗘 psi \$ Ion source gas 2 50 CAD gas 7 極性 測定レンジ Experiment MRM HR • MS の設定 ≎ v Polarit Positive \* Spray voltage 5500 TOF MS 🗘 Da ≎ v **\$** v 100 80 10 TOF start mass Declustering potential Collision energy 🗘 v 🗘 Da v TOF stop mass 1000 DP spread 0 CE spread 0 Accumulation time 0.1 і€1) MRM<sup>HR</sup>の設定 TOF MSMS $(\times 2)$ Enhance dynamic range і‰5) Apply TOF start/stop mass Import and autofill... Apply fragment ion mass Apply Scan Schedule Sort by precursor ion і‰4) Compound Group Precursor Fragment Accumulation Declustering Collision potential (V) ID name ion (Da) ion (Da) time (sec) energy (V ₩3) 1 Acetamiprid 1 Acetamiprid 223.07 126.0181 0.0500 80 30 2 Acetamiprid 2 Acetamiprid 223.07 72.9861 0.0500 80 75 DP CE 化合物名 グループ名 Q3 積算時間 Q1

⑤ Save のプルダウンから Save をクリックし、名前を付けて保存します。

# [XTips!]

- 1) 指定した Fragment Ion を±10Da の幅でデータ取得します。(四重極: MRM に相当)
- 2) 指定した範囲の Product Ion データを取得します。(四重極: Product Ion Scan に相当)
- ※ CE spread: CE±「設定値」の幅で Ramping しながらデータ取得を行います。

	Compound	Group	Precursor	TOF	TOF	Accumulation	Declustering	Collision	CE
	ID	name	ion (Da)	start mass (Da)	stop mass (Da)	time (sec)	potential (V)	energy (V)	spread (V)
1	Acetamiprid	Acetamiprid	223.07	50.00000	240.00000	0.0500	80	30	0

- 3) Import and Autofill MSMS Scan Information 機能。High Resolution Library から Fragment Ion 情報を選択・設定する事が可能です(詳細は次項をご参照下さい)。
- 4) Precursor Ion を小さい順にソートすることが可能です。
- 5) 検量線の高濃度側を拡げ、定量上限値を伸ばしたい場合は Enhanced dynamic range にチェックを入れます。
- ※ Accumulation Time が 0.025sec 以下の場合、チェックを入れると警告の!マークが表示されますので、0.025sec 以上の値を入力して下さい。

## 【※Tips!】

- より感度を上げたい場合は、Q1の分解能をLowに変更することで検討が可能です。
- ① 右上の Advanced から Show advanced paramters を選択します
- ② Mass Table 上には Q1 Resolution カラムが追加されますので、
   常 <u>Unit</u>と表示されている箇所をダブルクリックして Low を選択します。

より。	Advanced 🔹 🗙							
	Apply experime	ent scheduling						
で、通	Show advanced parameters							
Declustering potential (V)	Collision energy (V)	Q1 resolution						
80	30	Low						
80	75	Low						

ady

## <u>※3) Import and Autofill MSMS Scan Information 機能を使用</u>

# <u>したメソッド作成方法</u>

•

5) Apply をク

- 1) Import and Autofill MSMS Scan Information をクリックします。
- 2) 測定条件設定
  - Accumulation time :各化合物の積算時間
  - Default declustering potential :各化合物の DP 値
  - Number of fragments to include:測定するトランジション数
  - Populate the MSMS table
  - Append to existing list :トランジションを既存リストに追加する
    - Overwrite existing list :トランジションを上書きする
- 3) 目的の化合物が収められているライブラリーを選択します。

# 4) メソッドに追加したい Compound Name の前に ✓ を入れます。

Accumulation time Default declustering potential	0.05 80		sec V	0	Append to existing list Overwrite existing list		
Import information from selected	libraries f	for sp	ecific compounds:				
 Number of fragments to include	2		<b>~</b>				
Select one or more compounds to	populate	e the	MSMS table			Show selected compounds	< Find compound
Drug_CH	â		Compound Name		CAS	Formula	Mass (Da)
Benz(v4) 3		$\checkmark$			94-75-7	C8H6CI2O3	219.9694
 HRAM AI		$\checkmark$			94-82-6	C10H10Cl2O3	248.0007
 MassBank_revIQC2	- 11	$\checkmark$	4)	acid	120-23-0	C12H10O3	202.0630
 MassBank					2686-99-9	C11H15N02	193.1103
 Desticidas Seven ed 1			3-Hydroxycarbofura	n	16655-82-6	C12H15NO4	237.1001
 Pesicides screen VII			3-Keto-carbofuran		16709-30-1	C12H13N04	235.0845
 Water quality management pesticides	Libra		4-CPA		122-88-3	C8H7CIO3	186.0084
 Mycotoxin Library v1			5-Hydroxy-clethodir	n-sulfone	not available	C17H26CINO6S	407.1169
 Antibiotics AM library 20141120_upda	ted ni		5-Hydroxy-Clethodi	m-sulfone (-	not available	C17H26CINO6S	407.1169
 Water_pesticieds_v2			5-Hydroxy-imidaclo	prid	not available	C9H10CIN5O3	271.0472
Meta Library v1			5-Hydroxy-thiabend	azol	948-71-0	C10H7N3OS	217.0310
Natural Toxins v2 TT			6-Chlor-3-phenyl-py	ridazin-4-ol	40020-01-7	C10H7CIN2O	206.0247
 particidas avalated PBCP HR 2014112	L clear		Acephate		30560-19-1	C4H10NO3PS	183.0119
Turkit 2 Manut	U		Acequinocyl		57960-19-7	C24H32O4	384.2301
 Tuchi1_2_water1			Acetamiprid		135410-20-7	C10H11CIN4	222.0672
Metabolites			Acetochlor		34256-82-1	C14H20CINO2	269.1183
Tuchi 1_2 Pesticides Screen 1.0 and W	ater P 👳		Acibenzolar-S-meth	yl	135158-54-2	C8H6N2OS2	209.9922
		1			R	0.0 H 10 0 H 0 H 0 H 0 H	B 4 8 8 8 4 8

- 6.1.2 sMRM<sup>HR</sup> メソッドの作成
  - ① Apply Scan Schedule に✓を入れます。
    - ② Retention time と Retention time tolerance<sup>\*\*</sup>を入力します。
    - ※ 化合物ごとに設定が可能です。

TOF MS Mass T	MS Table		Apply fragmen	t ion mass 🔵 App	ly TOF start/stop	① Apply Scan Sch	edule Import and autofil	Sort by precursor in	on	2
	Compo	ound ID	Group name	Precursor ion (Da)	Fragment ion (Da)	Accumulation time (sec)	Declustering potential (V)	Collision energy (V)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/- se
1	Aceph	ate 1	Acephate	184.00	49.0000	0.0500	80	31	1.00	30
2	Aceph	ate 2	Acephate	184.00	143.0000	0.0500	80	13	1.00	30
	qu	inocyl 1	Acequinocyl	402.10	100.0000	0.0500	80	19	2.00	30
砺	tar	miprid 2	Acetamiprid	223.10	100.0000	0.0500	80	49	2.00	30
11	cal	lid 1	Boscalid	343.00	100.0000	0.0500	80	27	3.00	30
*	boscal	lid 2	Boscalid	343.00	100.0000	0.0500	80	27	3.00	30

【Tips!】上記②を入力する前に、TOF MS もしくは MRM<sup>HR</sup> によりリテンション タイムを確認する必要があります。



※ LC Method の作成および Batch の作成は [3 分析メソッドの作成と測定] を ご参照ください。

- 6.1.3 Guided MRM HR を使用したトランジションの作成
  - ※ MRM<sup>HR</sup> のトランジションを自動最適化で作成することが 出来ます。
  - ※ 外付けのシリンジポンプを用意します。
  - ① HOME で MS Method をクリックします。
    - ② New > Guided MRM HR をクリックします。
    - ③ Preparation を設定します。
    - ④ Automatic (自動最適化) もしくは Guided (マニュアルによる最適化)を選択します。
    - ⑤ Polarity (Positive or Negative) を選択します。
    - ⑥ Find transitions automatically (トランジション自動作成) もしくは Use known transitions (既知のトランジションの最適化) を選択します。

#### [Find transitions automatically]

- 1) Compound Name を入力します。
- 2) Charge(価数)を選択します。
- 3) Precursor Ion を入力します。
- 4) Number of Fragments to Use: 作成するトランジション数の選択。

#### Use known transitions

 Compound ID(化合物名)、Precursor Ion(Q1 で選択するイオン)、Fragments to Use(プロダクトイオン)を指定します。

Guided MRM HR	Preparation				Continue
1. Preparation	Select the mode of	optimization.			
2. Initial Conditions	Method Creation	• • • · · · · (all do	e for you)		
3. Optimize DP		Automatic (un do			
4. Obtain the Produ	ct Ions	Guided (you have	some control)	,	
5. Optimize CE	Polarity	y 💿 Positive			
6. Review Report					
7. Send MRM to Me	thod Editor	Negative	·		
	Find transitions	s automatically		1	
	Compound Name	e: Reserpinr	6		
	Charge:	1	<b>v</b>	]	
	Precursor Ion:	609.3	🗘 Da	Number of Fragments to Use: 5	~
	Use known tra	nsitions			
	Enter the transition	ons:			
	TOF MS	SMS ———			
	Mass Ti	able			
		Compound Precu	sor Fragment		
		ID Ion (D	a) to Use (Da)		
	1	Compound 1 829.5	200.00000		
	Charge: Precursor Ion: Use known trai Enter the transitio TOF MS Mass Ti 1	1       609.3       nsitions       ons:       SMS       able       Compound       D       Compound 1       829.51	sor Fragment a) to Use (Da) 000 200.00000	Number of Fragments to Use: 5	~

⑦ Continue p



1. Guided MRM HR     Preparation     Initial Conditions     Optimize DP     Obtain the Product Ions     Optimize CE     Optimize CE	Initial Conditions Source and Gas Pa Curtain gas Spray voltage	25 5500 V	Ion source gas 1 Temperature	20	Start
Send MRM to Method Editor	TOF MS TOF Start mass Polarity     Searching on mass: 568.4 Mass Information: Found a m Intensity: 1	100 C Da Positive ass at: 568.4	TOF Stop mass Declustering Potential	1000 Da	Accumulation Time Collision Energy
	Area: 0	01 0.02 0.03	80 21 139 139 139 139 139 139 139 13	568.3154 9.5824 568.3354 9.5784 569.3383 609.7	2901 3285 2759 800

- ⑧ Initial Conditions を設定します。
- ⑨ Initial Conditions(イオンソースパラメータ)を調整します。
- ※ 初期値でまずはお試しください。
- TOF MS の調整を行います。
- ※ 初期値でまずはお試しください。適宜、TOF Start Stop、DE、CE を微調整 します。
- ① Start をクリックし、測定を開始します。
- ※ TIC が安定(平に推移)していること、目的の Precursor Ion が観測されていることを確認します。
- ※ 上記が確認できない場合は、STOP をクリックし、⑨、⑩を再調整します。
- 12 Next をクリックします。
- ※ DPの調整、Fragment Ion 候補の取得、各トランジションの CE 調整が行われ ます。
- IB Next をクリックすると、Guided MRM HR Report が作成されますので、Save as report からレポートを保存します。
- ④ Continue をクリックすることで MRM<sup>HR</sup>メソッドが自動作成されますので、名前を付けて保存します。
- ※ Mass table の左上クリックによる全選択後、「Ctrl+C」でコピーし Excel にペー ストすることで、オリジナルの MRM<sup>HR</sup>カタログの作成や他成分のトランジショ ンのマージをすることが可能になります。

#### 6.2 定量解析

※基本操作は、5 Analytics によるデータ解析の章をご参照下さい。

- ① Home 上の Analytics をクリックします。
  - ② Projects をプルダウンし、Training\_X500R を選択します。



- 6.2.1 初期設定の変更
  - ※ 最初に設定することで当該プロジェクトでは共通の解析パラメータとして使用 できます。
  - ※ 詳細は [5.2.1 初期設定の変更] をご参照ください。
- 6.2.2 解析メソッドの作成と結果の確認
  - ① Results をクリックし New を選択します。
    - 2 解析するデータを選択し、=>アイコンで画面右 側にサンプルを移動します。
    - ※ Training では図を参考に選びます。
    - ③ 2. Select a Processing Method では New をクリックします。
    - ※ 2 回目以降の解析の際は、Select a Processing Method の Browse...から既存のファイルを選択 します。



- ④ Workflow では解析するワークフローを選択します。定量とターゲットスクリーニングは、Quantitation and target identification にチェックを入れます。
- ※ 定量のみの解析の場合は、Quantitation にチェックを入れます。代表サンプル を選択します。選択しない場合は自動選択されます。

[MQ4] Untitled Method	
Workflow •	Select the workflow and then select a reference sample, if applicable
Components	Quantitation
Integration	Quantitation and targeted identification Non-targeted screening
Library Search	The recommended Reference Sample has been automatically selected. Change the selection only it
Calculated Columns	Sample Name
Flagging Rules	x_MRMHR.wiff2 (sample 4) - 0.01ppb x_MRMHR.wiff2 (sample 5) - 0.1ppb x_MRMHR.wiff2 (sample 6) - 1ppb

⑤ **Components** で表示される情報は、MS method で入力した MRM HR の化合物情 報が自動的に反映されます。

Group、Name, Precursor Mass, Fragment Mass, XIC width, Experiment Index

R	ow	IS	Group	Name	Che Form	Add	Precursor (Q1) Mass (Da)	Fragment (Q3) Mass (Da)	XIC Width (	Reten Time	Retention Time (	IS N	Experiment Index
	1		Acetamiprid	Acetamiprid 1			223.07	126.0181	0.02	RT val			2 +TOF MSMS of 223.1 (
	2		Acetamiprid	Acetamiprid 2			223.07	72.9861	0.02	RT val			3 +TOF MSMS of 223.1 (
2	3		Acetamiprid	MS ~			223.07		0.02	RT val			1 +TOF MS (100 - 620)

- ⑥ Group、Name は適宜変更します。
- ※ Fragment (Q3) Mass は、目的の精密質量を入力します。
- ※ MRM<sup>HR</sup>だけでなく、TOF MS による定量も可能です。
- ※ Excel からのコピー&ペーストも可能です。
- ※ Experiment Index が表示されない場合は、Options > Table settings から設定 が可能です。
- ⑦ Integration 以降の操作は、[5.3.1 解析メソッドの作成]を参考に設定します。
- ⑧ 結果を確認します。

	[AutoPeak] Results Table (03_MRMHR.qsession)											
Options 👻	Դ_ 1	3 rows Filt	ers: 0 🔽 Qualif	y for Rules Filters	A 4	l Aaz	"c 📕 ılı	C,H,	: م <mark>ب</mark>	F]=[	3 8 🔺 🖊	More
All Components	Index	Sample Name	Sample Type 🛛	Component Name ⊽	Actual Concentr ⊽	Area ⊽	Height ⊽	Retenti Time	Signal ∕Noise ▽	Used ⊽	Calculated Concentrati ⊽	Accuracy ⊽
Acetamprid Group	▶ 1	вк	Blank	Acetamiprid 1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A		N/A	N/A
	4	0.001ppb	Standard	Acetamiprid 1	0.001	2.593e1	1.281e1	8.56	3.6		0.001	116.36
Acetamiprid 1	7	0.01ppb	Standard	Acetamiprid 1	0.010	1.524e2	2.961e1	8.54	14.6		0.009	85.77
Acetamiprid 2	10	0.1ppb	Standard	Acetamiprid 1	0.100	1.664e3	3.755e2	8.55	158.4		0.097	97.17
MS	13	1ppb	Standard	Acetamiprid 1	1.000	1.719e4	3.564e3	8.54	810.7		1.007	100.73
	16	10ppb	Standard	Acetamiprid 1	10.000	1.706e5	3.421e4	8.55	2732.8	$\checkmark$	9.997	99.97
	19	Sample	Unknown	Acetamiprid 1	N/A	6.282e2	1.343e2	8.55	58.0	$\checkmark$	0.036	N/A
	22	0.01ppb	Ouality Control	Acetamiprid 1	0.010	1.988e2	3.750e1	8.55	23.0		0.011	112.97
	Calibration	1e5 - 0e0	rid 1: y = 17060.319 0.5 1.0 1	69 x + 6.07935 (r = 0.999 5 2.0 2.5	98, r <sup>2</sup> = 0.99997 3.0 3.5	) (weighting:	1 / x)	5.5	6.0 6.5	7.0	Regressi 7.5 8.0	0 <b>ptio</b>  8.5

※ 詳細は[5.3.2 結果の確認]をご参照ください。

【※Tips!】Fragment Mass の精密質量情報がない場合、Import > Import components from a library database から設定することも可能です。

- Import > Import components from a library database をクリックします。
- 2) 追加するトランジション数にチェックを入れます。
- 3) Library 一覧から該当する Library を選択します。
- 4) 化合物一覧から解析する化合物の先頭に、を入れます。
- 5) OKをクリックすることで、Componentsに追加されます。

Se	Select libraries, compounds and relat 2) asses (and intensity level) for the processing method component list Include fragment mass(Da) of intensity level(s): 🗸 1st <sup>(highest)</sup> 🗸 2nd 🗸 3rd										
	14 of 5310 selected (total) 14 of 5310 selected (All Compounds) 🗸 Show Selected ( Component >										
3)	impounds ides +related PPCP HR_201		Compound Name	Formula	Mass (Da)	(1st) Fragment Mass (Da)	(2nd) Fragment Mass (Da)	(3rd) Fragment Mass (Da)			
	TCM Library 1.0 - V	Image: A start of the start	Alachlor	C14H20CINO2	269.1183	132.0866	147.1466	162.1688			
	Tuchi 1 2 Pesticides Screen 1.0 and Water P		Alanycarb	C17H25N3O4S2	399.1287	91.0083	138.0784	150.0705			
	- MassBank	✓	Albendazole	C12H15N3O2S	265.0885	191.0337	234.1069	159.0442			
	THE LET A	$\checkmark$	Albendazole Sulfone	C12H15N3O4S	297.0783	159.0829	266.0888	224.0315			
	Illegal Drug_Library_v9	~	Albendazole Sulfoxide	C12H15N3O3S	281.0834	159.0685	208.0193	191.0007			
	HRAM All-in-One v1.1	$\checkmark$	Aldicarb	C7H14N2O2S	190.0776	88.9342	89.0136	69.9954			
	Pesticides Screen v11	$\checkmark$	Aldoxycarb	C7H14N2O4S	222.0674	57.9825	85.9521	86.0400			
	Drug_CHIBA_160516	<ul> <li>Image: A second s</li></ul>	Ametryn	C9H17N5S	227.1205	67.7787	68.0346	52.9000			
	Antibiotics AM library 20141120_updated n		Aminopyralid	C6H4CI2N2O2	205.9650	133.9671	160.9645	161.0400			
	Benz(v4) + Phyc(v5) + Illea(v9)	<ul> <li>Image: A second s</li></ul>	Amitraz	C19H23N3	293.1892	122.0569	107.1046	163.1500			
	TCMLibrary 1.0 - C	<ul> <li>Image: A second s</li></ul>	Beflubutamid	C18H17F4NO2	355.1195	90.9316	91.0369	327.1065			
	Tem Ebility 2010		Befunolol	C16H21NO4	291.1471	55.9797	177.1165	203.1438			
	water_pesticieds_vz		Benalaxyl	C20H23NO3	325.1678	148.0506	91.1199	121.1019			
	HRAM Forensics v2.0 w Pest		Bendiocarb	C11H13NO4	223.0845	80.8645	81.0445	109.0024			
	Mvcntoxin Library v1		1								



#### その他 7

7.1Tune の概要

感度や分解能の低下、メンテナンス後に質量分析器のチューニング(調整)を行う必要があ ります。

MS Tune パネルをクリックし、右上 Tuning Procedures より各種 Tune 機能を選択し、実 施します。



Tune 機能は機種により表示される内容が変わりま



Tuneの際に使用する試薬は CDS(Calibrant Delivery System)より供給されます。CDS に適切な試薬をご準備ください。

CDS 試薬番号	試薬名称	主な用途(例外あり)
1	X500 ESI Positive Calibration Solution	Positive モードの調整に使用
2	X500 ESI Negative Calibration Solution	Negative モードの調整に使用

Tune は対話形式で行っていきます。

ほぼ自動的に行われますが、一部 Stop(停止)や Next(次の項目へ進む)など自身で操作 する必要があります。

7.2 Tune 機能について

各機能は次項の通りです。

X500シリーズ.	ZenoTOF7600シリーズに共通なTune構	#能
		×

Tune機能	内容	
Quick Status Check	簡易的なキャリブレーションを行い、精密質量数と分解能を確認します。日常的にご利用ください。	
	Quick Status Checkでは行わないようなTOFに関する細かなキャリブレーションやパラメータ調整	
TOF Tuning	(精密質量数、分解能およびZenoTrap機能など)を行います。月に一度またはメンテナンス後に	
	実施してください。また不調を感じた際に行ってください。	
Q1 Unit及びHigh Tuning	Q1四重極の分解能と質量数のキャリブレーションを行います。MS/MS感度が落ちた場合、また	
	プリカーサーイオンの選択がずれているときに行います。	
Detector Optimization	検出器の調整を行います。月に1度、または感度の低下を感じた時に行ってください。	

7.3 試薬について

CDS は、1 は Positive モード、2 は Negative モードの調整に使われます。

7.4 MS Tune の実施(例)

- ※ Tuning Procedure にて行うモードを選択し、対話形式で Tune を行います。
- ※ Positive TOF Tuning の例を記します。

# <u>例:Positive Mode の Tune 機能(X500 シリーズ)</u>

- ステータス Pane の MS 横の Direct CDS Control ア イコンをクリックします。
  - CDS Channel は 1 を選び、Start をクリックして× を選び閉じます。

Device Control		
CDS Channel 1	•	
Start		
Wash Mode		

- % 1 : Positive, 2 : Negative
- ※ パージをする場合は Wash Mode にチェックを入れ、数分経過しましたらチェックを外します。右下の Next -> をクリックします。

S MS Tune

- ③ Home 上の MS Tune をクリックします。
- ④ <u>Tuning Procedures</u>から、Positive TOF MS Tuning を選 びます。



⑤ 右下の Next -> をクリックします。



- ⑥ 自動的にサンプルが導入されますので、TIC が安定するまで数分待ちます。
- ⑦ 安定したら右上の Stop をクリックします。

Notifive TOP MS Tuning         Callow COM Struing         Control COM Struing         Other Stable Spray / Modify       Control COM Struing         TOP MSAP Reformance Before Tuning         Control COM Struing       Cont	🗘 • MS Tune 🛕		Tuning Recording ? - 1
B. Cheller 100 Mit Lemma       Achieve Stable Spray / Modify       Interduction       Interduction <t< th=""><th>Positive TOF MS Tuning</th><th></th><th></th></t<>	Positive TOF MS Tuning		
Producting Orlinde Lines     Spray voltage     550 ° V     Temperature     20 ° C	Linkeline 101 MS Tenning     Introduction     Achieve Stable Spray / Modify     Of MS Performance Before Tuning     TOF MS/MS Performance Before Tuning     Initial TOF MS Mass calibration     Collision Cell DC Offset Tune     Initial Vertical Steering Tune     Coarse Mirror Plate Tune     Find Vertical Steering Tune	Achieve Stable Spray / Modify       Turn on the CDS If necessary, adjust the source and gas parameters to achieve a stable signal.       Once a stable signal is achieved, <b>Step</b> the acquisition and click <b>Next</b> .       * Source and Gas Parameters       Curtain gas     30	bur Ayun Stop
	Focusing Orlife Tune Fine Mirror Plate Tune Channel Algoment TOF MS Mass Calibration TOF MS/MS Mass Calibration TOF MS/MS Mass Calibration TOF MS/MS Performance After Tuning Report Save Tuning Settings	Spray voltage 500 V Temperature 200	Spectrum Spectrum Spectrum Socialize 266.1000 442.2000 723.385 206.100 442.2000 723.385 206.100 442.200 733.846 961.4300 mc Da 206.100 100 100 100 100 100 100 100
<- Previous Next->			⊡788600 Mot-⊁

⑧ 右下の Next-> をクリックすると、自動的に TOF MS Performance...からスタートします。



- ⑨ 数十分後、Report 画面がでたら Save Report as をクリックし、必要に応じて結果 を保存します。
- ※ 保存先はお使いのプロジェクト内あるいは Desktop 等適宜フォルダを作成して 保存します(拡張子.xps)。

• MS Tune 🙆 🗌	I I 🖌	📕 🔗 Ready
		Tuning Procedures   Restore Instrument
sitive TOF MS Tuning		
Nether IOT MS Timbig Introduction Achieve Stable Spray / Modify TOF MS Performance Before Tuning Initial TOF MS Mass Calibration Collision Cell DC Offset Tune Collision Cell DC Offset Tune Collision Cell DC Offset Tune Collision Cell DC Offset Tune Coarse Mirror Plate Tune Coarse Mirror Plate Tune Coarse Mirror Plate Tune Channel Alignment OTof MS Mass Calibration	Report	0.000459058946945916, previous was 5507469730027 5.3218293007241, previous was 5.32530346833416
10F MS/MS Mass Calibration 10F MS Performance After Tuning 10F MS/MS Performance After Tuning 10F MS/MS Performance After Tuning Report Save Tuning Settings	www.SCIEX.com Instrument Name: X500 QTOF Manufact Instrument Mode: X500 QTOF Manufact Instrument Mode: X500 QTOF Targetin Instrument Mode: X500 QTOF Targetin Instrument Mode: X500 QTOF Seciel Na	Jage 6 or 7 12/13/0027 10/29 AM twen: Strument: X500 QTO6 mber: G30/1615/99/L

- ① この設定を保存する場合は右下の Next -> をク リックし、Save Settings をクリックします。
- 終了したら画面上部の をクリックし、メッ セージがでたら Yes を選んで画面を閉じます。
- ※ この画面を閉じたタイミングで CDS ポンプの 送液も止まります。
- ※ 手動で CDS ポンプを止めるには、Direct CDS Control アイコン をクリックし、Stop をクリックして×を選び閉じます。
- ※ ファイル例: Positive Mode





- ※ Negative Mode の場合: Positive と同様に操作します。
- ※ Positive Mode から連続して操作する場合はパージが必要です。Wash Mode に チェックを入れパージを実施し、数分経過しましたらチェックを外します。

- **7.5** 検出器の最適化
  - ※ X500 シリーズでは Positive Mode で実施します。
  - ※ 必要に応じて CDS 溶液のパージを行ってください。
  - ※ 実施後の最適値は Positive および Negative Mode 両方に反映されます。

#### 例: Detector Optimization 機能(X500 シリーズ)

- ① X500R QTOF 横の Direct CDS Control アイコン Device Control をクリックします。 CDS Channel 1 ② CDS Channel は 1 を選び、Start をクリックして× を選び閉じます。 Wash Mode ③ Home 上の MS Tune をクリックします。 MS Tune ④ Tuning Procedures から、Detector Optimization  $\delta$ Tuning Procedures 👻 Restore I Positive Quick Status Check 選択します。 Negative Quick Status Check Detector Optimization Positive Q1 Unit Tuning Negative Q1 Unit Tuning Positive TOF MS Tuning
  - ⑤ 右下の Next -> をクリックします。

🗘 - MS Tune	🔂 📈 🔗 Ready 👘 🤅 - □ ×
	Tuning Procedures 👻 Restore Instrument Data 👻 🗙
Detector Optimization	
L Detector Optimization Instructions Achieve Stable Spray / Modify Detector Optimization Report Save Tuning Settings	Instructions Puppe A djust the detector voltage to provide the optimum sensitivity Prorequiste A djust the detector voltage to provide the optimum sensitivity Prorequiste A djust the detector voltage to provide the optimum sensitivity Control dialog S else the CS control icon in the status panel to open the Device Control dialog (VSO0 ESI Positive Calibration Solution) Ctick Next
Data Acquisition MS	Start 💌 🖩 Stop Save 🕅

Negative TOF MS Tuning

- ⑥ 自動的にサンプルが導入されますので、TIC が安定するまで数分待ちます。
- ※ 最適化に必要な TIC の強度は 5,000~20,000cps です。5,000cps 以下の場合は ITC の調整が必要となりますので、その場合は弊社サポートのフィールドサー ビスまでご相談ください。
- ⑦ 安定したら右上の Stop をクリックします。

O - MS Tune		💓 🔘 Running 🛛 ? – 🗆 ×
		Tuning Procedures 👻 Restore Instrument Data 👻 😣
Detector Optimization		
L. Detector Opinization     Instructions     Achieve Stable Spray / Modify*     Detector Optimization     Report     Save Tuning Settings	Achieve Stable Spray / Modify Turn on the CDS. If necessary, adjust the source and gas parameters to achieve a stable signal. Adjust the TC value to get the TIC intensity value between 5,000 – 20,000 cps. Once a stable signal is achieved, <b>Step</b> the acquisition and click <b>Next</b>	ikun Aguin Stop
	• Source and Gas Parameters           Curtain gas         30         C         Ion source gas 1         30         C         ppi           Spray-voltage         5500         C         V         Temperature         200         C         *C           * TOF MS         IfC         025         C         C         C         C         C	Ion source gas 2 30 C psi
	TC 2 Series 2 Series 1 Series 0 0 0 1 1 5 2 25 Time, mo	Spectrum 829.5581 820 830 840 850 m/z, Da
Data Acquisition		start • 25g Sam.

⑧ 右下の Next -> をクリックすると、自動的に Detector Optimization に進みます。

🗘 • MS Tune		👥 🔗 Ready 🕴 🤊 🖓
		Tuning Procedures 👻 Restore Instrument Data 💌 🔇
Detector Optimization		
1. Detectur Optimisation     Instructions     Achivee Stable Spray / Modify     O Detector Optimization     Report     Save Tuning Settings	Detector Optimization The system determines the optimum detector voltage. Optimization is performed in 25 V intervals. The maximum detector voltage is 2700V. Note: If the detector optimizes at 2809 V or higher, then contact SCIEX Support to replace the detector.) When optimization is complete, Click Next.	Run Again Return to Spray Stabilization Stop
	Optimal Voltage Stepicion Criteria Minimum Interesity (sp.): 2000 Minimum Increase (K): 13	Spectrum         830 5582           830 5582         831.5613           826 627 828 829 836 631 632 833 834 835 636 837 838 839 84
	De rECIONAV, Veis Current : 2550 Intensity: 22093 Optimal : 2500	mr2, Ua •• Previous Next ->
Data Acquisition MS		Start 🔷 🖬 Stop Save

🗘 - MS Tune	6 I 🖩 📶	👑 🔗 Rea	ady ? – 🗆 🤉
		Tuning Procedures 👻	Restore Instrument Data 👻 🗙
Detector Optimization			
I Detector Optimization Instructions	Report See the report Be in 20-5 format: Cate Data for the final stape of saving the settings obtained from this tuning processor Processor	:1 of 1 Pages 1 of 1	Gave report at

- ※ 保存先はお使いのプロジェクト内あるいは Desktop 等適宜フォルダを作成して 保存します(拡張子.xps)。
- ① この設定を保存する場合は右下の Next -> をクリックし、Save Settings をクリックします。

O • MS Tune	
Detector Optimization	
L Detector Optimization     Instructions     Achieve Stable Spray / Modify     Detector Optimization     Report     Save Tuning Settings     ▶	Save Tuning Settings If the results are satisfactory, Save the setti If not, discard changes by switching to a MS Tune workspace, or restore previously saved settings b file from Restore Instrument Data Save Tuning Settings

- 終了したら画面上部の
   をクリックし、メッセージがでたら Yes を選んで画面を 閉じます。
- ※ CDS ポンプが動いている場合は、Direct CDS Control アイコン をクリックし、Stop をクリックして を選び閉じます。

#### ◆SCIEX OS 各種マニュアルのご案内◆

以下サイトよりダウンロードできます。是非ご活用ください。

https://sciex.com/Documents/manuals/explorer-tutorial-ja-secured.pdf https://sciex.com/Documents/manuals/sciex-os-software-user-guide-ja.pdf

◆製品サポートのご案内◆

株式会社エービー・サイエックス / アプリケーションサポート部

ご使用の装置名とシリアル番号をお伝えください。

<u>Tel</u>: 0120-318-551 <u>Fax</u>: 0120-318-040

E-mail: jp\_support@sciex.com

◆オンライントレーニング動画のご案内◆

弊社ホームページの下記サイトから、メンテナンス、ソフトウェアの使用法など、各種ト レーニング動画を視聴できます。是非ご活用ください。

Home > サポート > 各種サポート資料・ツール > 操作方法に関する動画

http://sciex.jp/support/support-tools/movie-manuals

Home > Support > SCIEXNow > Training > Course Catalog

http://sciex.com/support/training-front/course-catalog

研究用にのみ使用できます。診断目的およびその手続き上での使用は出来ません。

製品には、同梱された電源コードセットを使用して下さい。

また、同梱された電源コードセットは、他の製品には使用しないで下さい。

AB Sciex is doing business as SCIEX.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

The trademarks mentioned herein are the property of AB Sciex Pte. Ltd. or their respective owners.

AB SCIEX<sup>™</sup> is being used under license.

© 2022 K.K. AB SCIEX.