

TripleQuad™
LC-MS/MS System
シリーズ

中級定量トレーニングテキスト
- SCIEX OS ソフトウェア説明用資料 -
(測定 : SCIEX OS, 定量 : SCIEX OS)

ソフトウェアのバージョンにより、画面や操作方法が若干異なる場合があります。
予めご了承ください。

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

2023年1月版



1	設定	3
1.1	Configuration における Devices の新規設定、編集	4
1.1.1	Devices の新規設定 (追加) 方法	4
1.1.2	Devices の編集方法	8
2	最適化	9
2.1	マニュアルで MRM Transition を作成する方法	11
2.1.1	Q1scan を行い Precursor ion (MRM の Q1 Mass) を決定する	11
2.1.2	Product Ion Scan を行い Product ion (MRM の Q3 Mass) を決定する	12
2.1.3	MRM 測定で各パラメータ (DP、CE、EP など) の最適値を決定する	13
2.2	メソッドを結合する方法 (Excel を用いたメソッドの結合方法)	15
2.3	Dwell Time の設定	17
2.3.1	Dwell Time の決定法	18
2.3.2	一斉分析における Dwell Time 設定の注意点	19
2.3.3	Dwell Time が短くなると、観測されやすくなる事象	19
2.3.4	1つの experiment に作成できる MRM トランジションの数	19
3	測定	20
3.1	数種類のメソッドの同時測定、Posi/Nega スイッチング	21
3.2	時間を区切って測定を行う、ピリオド区切り	24
3.3	分解能を落として測定を行う	26
3.4	Scheduled MRM(sMRM)	28
3.4.1	Scheduled MRM とは?	28
3.4.2	Scheduled MRM Method の作成	30
4	解析 (Explore モード)	33
4.1	SCIEX OS ソフトウェア Explore 上での様々な機能	34
4.1.1	TIC Data のオープンとクロマトグラムからのスペクトルの表示	34
4.1.2	Explore 画面での Pane のアイコンとツールバーによる操作	36
4.1.3	バックグラウンドを差し引いたスペクトルの作成	38
4.2	その他の機能-1	39
4.2.1	画面のコピー	39
4.2.2	Options の設定	39
4.2.3	Caption (注釈) の追加	40
4.3	その他の機能-2	42
4.3.1	Data and Peaks Table の表示	42
4.3.2	Data and Peaks Table の積分パラメータを変更	43
4.3.3	UV または DAD データの表示	44
4.3.4	メソッドやキャリブレーション等の情報をデータファイルから表示する	45

4.4	その他の機能-3	46
4.4.1	S/N の表示	46
4.4.2	クロマトグラムの取得データポイントの表示	48
5	定量(SCIEX OS Software Analytics モードによる定量).....	49
5.1	Results Table の編集と解析.....	50
5.1.1	保存されている Results Table を開く	50
5.1.2	検量線に用いるポイントを除く、または含める方法	50
5.1.3	積分パラメータを編集する方法	51
5.1.4	変更した積分パラメータ設定をすべてのデータに適用する方法	53
5.1.5	変更したピーク積分パラメータを定量解析用メソッド (Processing Method) へ保存する方法	54
5.1.6	手動でピークを認識させる方法 (Manual Integration)	54
5.1.7	Results table の表示設定 (Table display settings) を変更する方法	55
5.1.8	積分パラメータや濃度単位、検量線の種類の初期設定を変更する方法	56
5.1.9	Peak Review の表示方法 (クロマトグラムの数や縦軸) を変更する方法... ..	57
5.1.10	任意のクロマトグラムの並列表示 (XIC Side by Side)	58
5.1.11	Results table で特定の Sample Type のみ表示させる方法	58
5.1.12	Results table の並べ替えの方法	59
5.1.13	Results table をエクセルで読み込める形式として出力する方法	60
5.2	イオン比の表示方法.....	61
5.3	任意の計算値の表示方法	63
5.4	統計計算 (Statistics)	65
5.4.1	平均値、標準偏差、CV 値 (%) の計算と表示	65
5.5	Metric Plot の作成と実行方法	66
5.6	補足資料—SCIEX OS で使用できる定量アルゴリズムについて.....	67
5.7	定量アルゴリズムの変更方法	67
5.8	レポートの作成.....	68
	参考資料 : Q0D の最適化 (7500 のみ)	70
	改訂履歴	72

1 設定

この章で学べること

- SCIEX OS software の Configure モードについて解説します。

1.Configuration における Devices の新規設定、編集

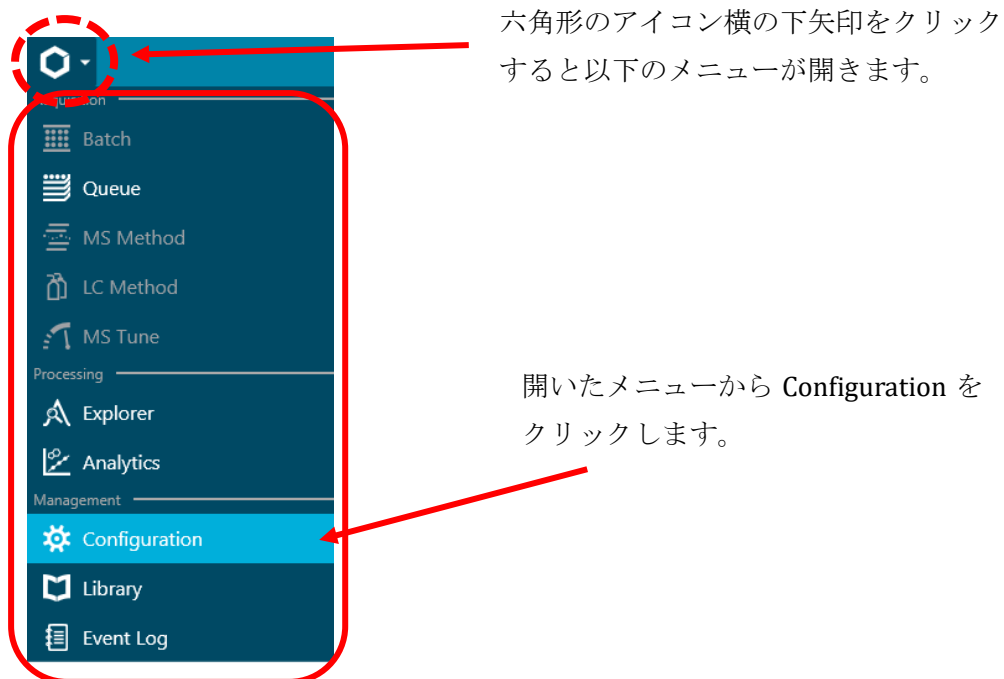
以下のような場合に作成もしくは編集します。

- 新しく制御する LC 装置、Valve などが追加、変更された場合
- Configuration ファイルが破損した場合
(Configuration ファイルが破損すると Profile を Activate できないトラブルがまれにあります。作成しなおすと Activate できる場合があります。)

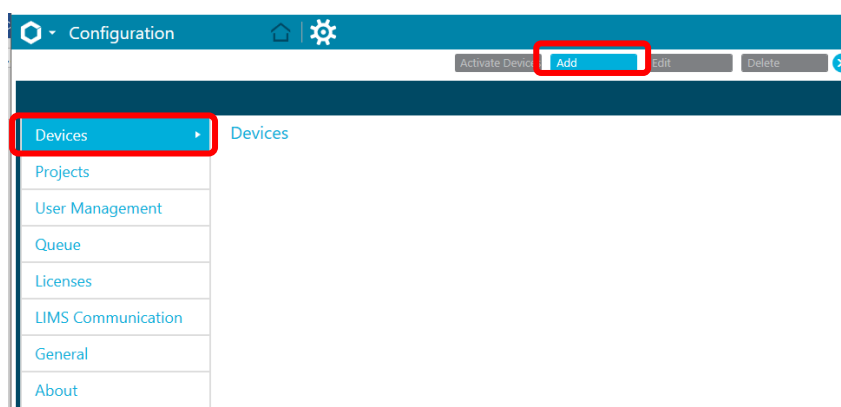
1.1 Configuration における Devices の新規設定、編集

1.1.1 Devices の新規設定（追加）方法

- ① 作業の前に開いている MS Method や LC method は閉じて下さい。
- ② Configuration を開きます（開き方は下図参照）。

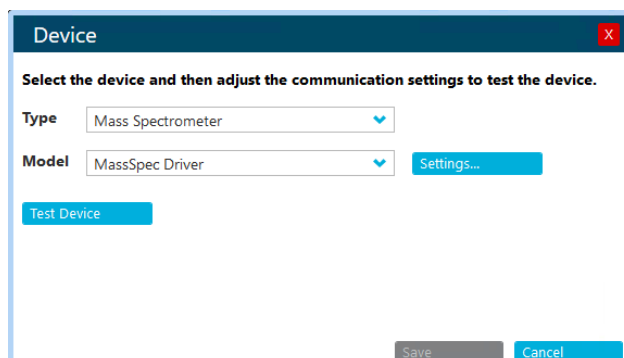


- ③ 開いた画面で Devices をクリックします。
- ④ 右上の Add をクリックしますと Device の画面が表示されます。



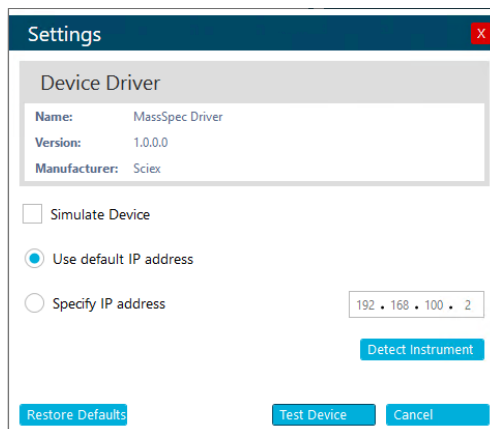
⑤ Mass Spectrometer の設定を行います。

1) Type のプルダウンから Mass Spectrometer を選択し、Setting…をクリックします。



※ Model は Mass Spectrometer を選択した場合は MassSpec Driver のみ選択出来ます。

2) Settings の Detect Instrument をクリックします。



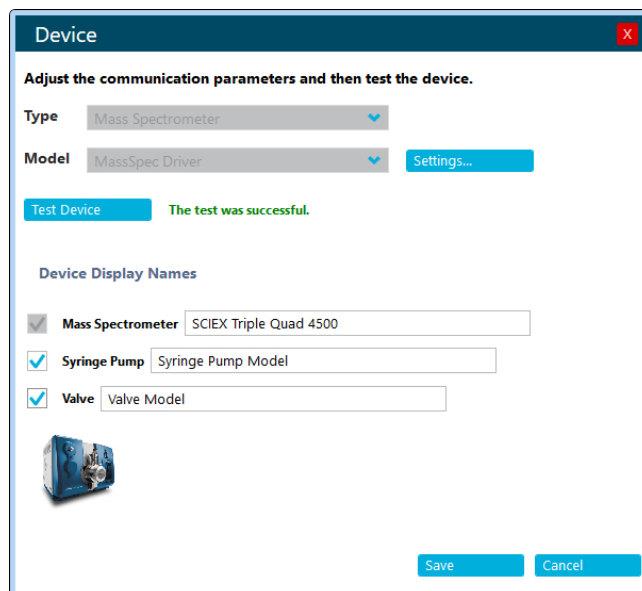
※ IP アドレスは基本的には Default 値から変更の必要はありません。

3) 6500、6500 +および 7500 シリーズの場合 追加で表示された Dual Mass Mode から Low mass もしくは High mass を選択し、Test Device をクリックします。



※ High Mass は、Q1 が m/z 1250 を超える測定の場合にご使用ください。

- 4) Device に追加で表示された Syringe Pump Model と Valve のチェックボックスにチェックを入れてください（シリンジやバルブを使わない場合はチェックボックスを外してください）。



- 5) 必要に応じて Mass Spectrometer 横の名前を変更して Save をクリックし、保存します。
- ※ Mass Spectrometer の横の入力を変更すれば（上図では SCIEX Triple Quad 4500 と表示）、名前を変更して保存できます。

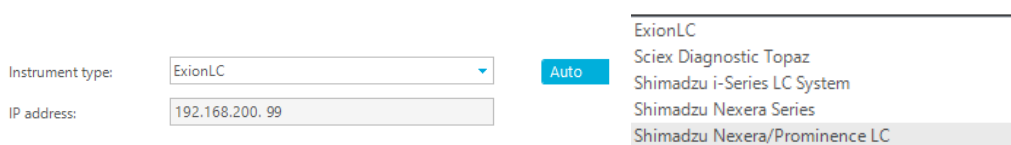
⑥ 次に HPLC の設定を行います。

1) Device の画面を表示し (③参照)、Type のプルダウンから **Integrated System** を選択し、Model ではお使いの HPLC 装置を選び、**Setting...** をクリックします。

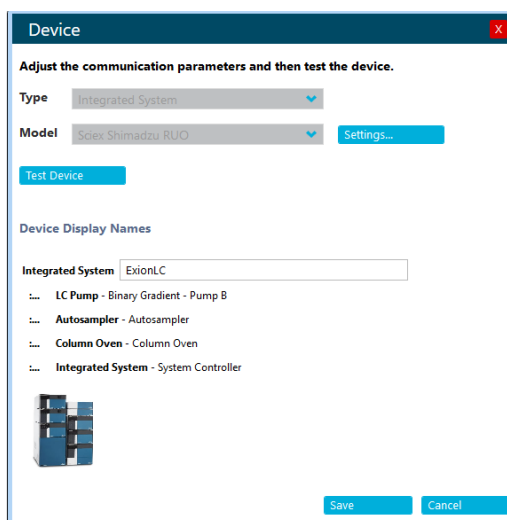
(以降 Sciex Shimadzu RUO を選択した場合を記載します。)

2) Instrument type からお使いの LC を選び **Auto** をクリックします。

(接続されている機器が自動認識されます。)



3) 下にある **Test Devices** をクリックします。Device 画面に戻ります(下図)。必要に応じて **Integrated System** 横の名前を変更して **Save** をクリックし、保存します。



※ ExionLC 2.0 の場合は、**ExionLC 2.0** を選択し、**Settings...** をクリック後、**Settings** のダイアログより、**Auto** をクリックし、接続している機器を自動認識させます。自動認識後、**Test Device** をクリックして画面を閉じ、**Save** をクリックし、保存します。

1.1.2 Devices の編集方法

- Mass Spectrometer で、Valve を追加/削除、6500、6500+および7500シリーズの場合はLow MassモードとHigh Massモードの切り替えで使います。
- Integrated System では、HPLCの構成が変更された場合等に使います。

- ① 作業前に開いているMS MethodやLC methodは全て閉じます。
- ② ConfigurationのDevicesで、編集したい装置をクリックして選択した後にEditをクリックします。



- ③ Mass Spectrometerの設定の編集は、1.1章参考に設定を変更します。最後にDevicesの画面でSaveを押して保存します。
- ④ HPLCの設定の編集は、1.1章参考に設定を変更します。装置の追加がある場合は、Autoをクリックして、再度、機器を自動認識させます。

2 最適化

この章で学べること

- SCIEX OS software の MS Method モードを用いた最適化の方法について解説します。
- 3 種類の抗菌剤（サルファ剤）を試料として MRM の最適化を中心に操作をします。
- ※ 本マニュアルには初級（納品時）マニュアルの内容は含まれません。

2.1 マニュアルで MRM Transition を作成する方法

- マニュアルとは Guide Optimization>MRM Infusion>Automatic モードを使用しない最適化の方法です。
- 任意のパラメータの範囲で最適化を行うことができます。
- MS Method の画面より、DP, CE, CXP, EP の Ramping 等の便利な機能の説明と活用法をご紹介します。

【ヒント】この方法は次のような自動最適化が困難な場合に有効です。

- ※ 目的物のイオン付近に夾雑ピークが存在し、目的物でなく夾雑イオンを最適化してしまう場合
- ※ ピークの強度が弱い場合、また強すぎて最適化が途中で中断してしまう場合

2.2 メソッドを結合する方法

- Excel を用いたメソッドの結合方法

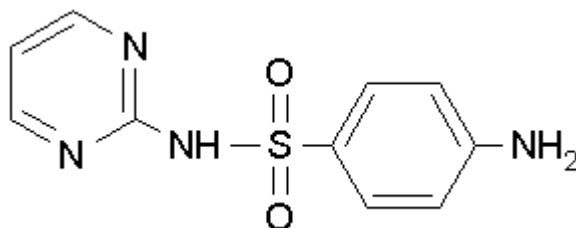
2.3 Dwell Time の設定

- 結合したメソッドの Dwell Time の設定方法をご紹介します。
- 20 成分以上の測定を行う場合は、後述の sMRM をお勧めいたします。

- **Training** では、3種のサルファ剤を試料として最適化の操作を行います。
- ご自分で **Project** を作成してから操作を進めてください。

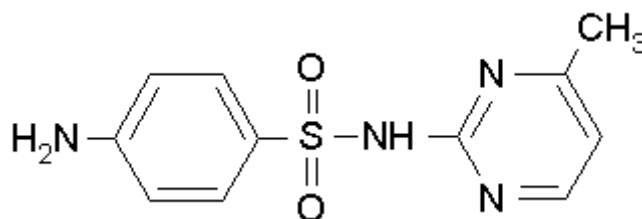
使用するサルファ剤は、以下の3種です。

Sulfadiazine (SDZ) : MW = 250.3 C₁₀H₁₀N₄SO₂



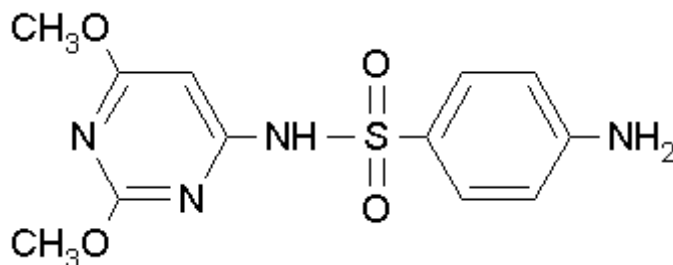
モノアイソトピック質量 : 250.1

Sulfamerazine (SMZ) : MW = 264.3 C₁₁H₁₂N₄SO₂



モノアイソトピック質量 : 264.1

Sulfadimethoxine (SDMX) : MW = 310.3 C₁₂H₁₄N₄SO₄



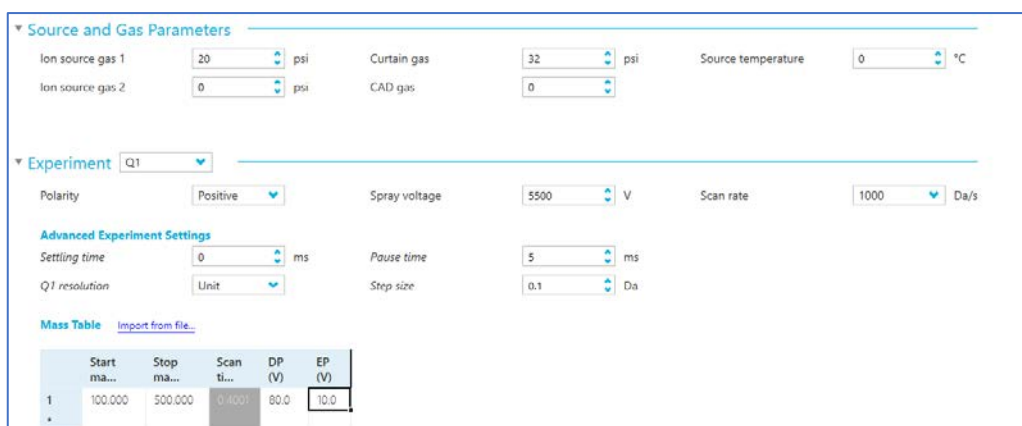
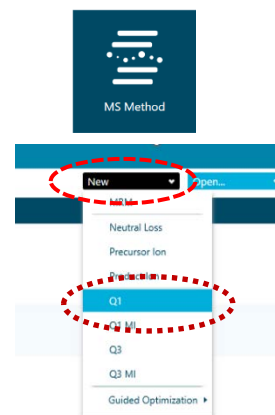
モノアイソトピック質量 : 310.1

2.1 マニュアルで MRM Transition を作成する方法

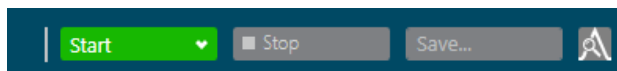
2.1.1 Q1scan を行い Precursor ion (MRM の Q1 Mass) を決定する


※ Precursor ion の確認方法およびシリンジポンプの操作方法は初級定量トレーニングテキスト (メソッド開発編) をご確認ください。

- ① Home 画面の MS Method アイコンをクリックします。
- ② 上部にある New の下矢印(右図参照)をクリックします。
- ③ Q1 を選択します。
- ④ Q1 Scan の設定画面が開きます。Method duration を 5 min. に、Scan rate を 1000 Da/s に、Mass Table 内の Start mass および Stop mass に最適化を行いたい化合物の Precursor Ion が観測される範囲を入力します。



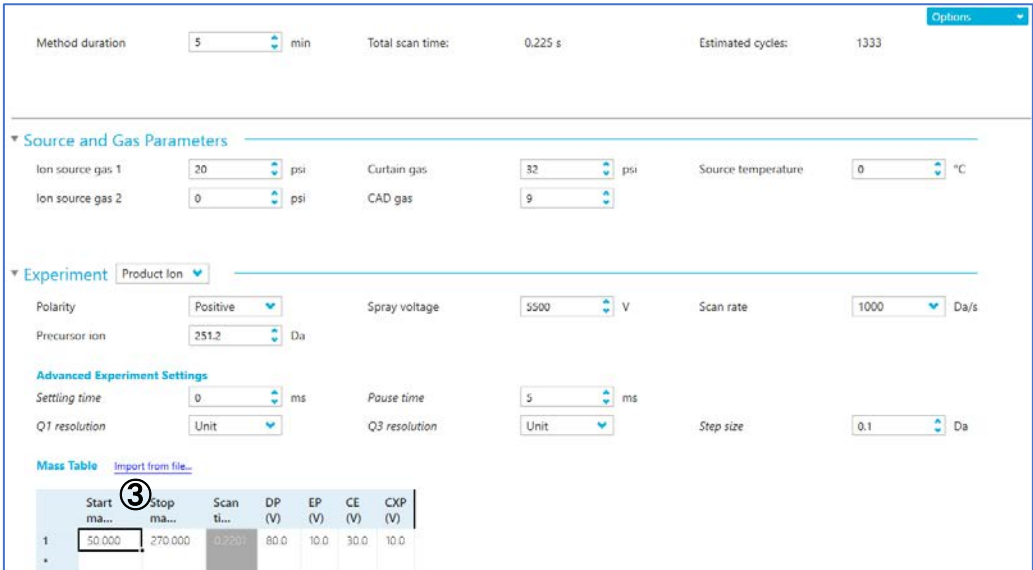
- ⑤ シリンジポンプを動作させた後、画面下にある Data Acquisition をクリックし、目的の Precursor ion (MRM の Q1 Mass) が安定して検出されていることを確認後、Start をクリックし、データ取得を開始します。任意の時間、データを取得した後、Stop、Save をクリックして測定を止め、データを保存します。



- ⑥ Open data exploration to view real time data アイコン  をクリックし、取得したデータを Explorer モードより開きます。任意の時間範囲をドラッグすることで、積算させた目的の Precursor Ion を表示し、小数点一桁目を平均化した m/z を表示させます。

2.1.2 Product Ion Scan を行い Product ion (MRM の Q3 Mass) を決定する

- ① MS Method 画面の Experiment からプルダウンで Q1 から Product Ion に切り替えます。
- ② Precursor ion に目的の成分の m/z を入力します。
※ 2.1.1 で確認した Precursor Ion (Q1 Mass) の値を入力します。
- ③ Start mass および Stop mass に 50、Precursor ion が検出できる値 (Precursor Ion+10 Da 程度) を入力します。



Method duration: 5 min Total scan time: 0,225 s Estimated cycles: 1333

Source and Gas Parameters

Ion source gas 1: 20 psi Curtain gas: 32 psi Source temperature: 0 °C
 Ion source gas 2: 0 psi CAD gas: 9

① Experiment: Product Ion

Polarity: Positive Spray voltage: 5500 V Scan rate: 1000 Da/s
 ② Precursor ion: 251.2 Da

Advanced Experiment Settings

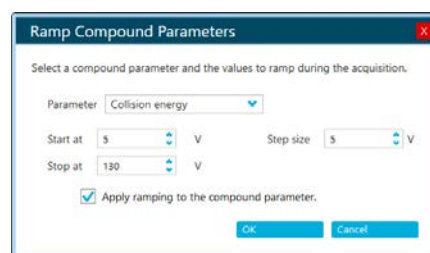
Settling time: 0 ms Pause time: 5 ms
 Q1 resolution: Unit Q3 resolution: Unit Step size: 0.1 Da


Mass Table Import from file...

	Start ma...	③ Stop ma...	Scan ti...	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	50.000	370.000	0.220	80.0	10.0	30.0	10.0

- ④ 右上にある Options のプルダウンから、Ramp...を選択します。
- ⑤ Ramp Compound Parameters のダイアログより、Parameter をプルダウンし、Collision Energy を選択し、Strat (印加する電圧の初期値)、Stop (印加する電圧の終了値)、Step size (電圧の振り幅) を入力します。
- ⑥ Start、Stop、Step size に値を入力します。
※ Training では下記の様に入力します。

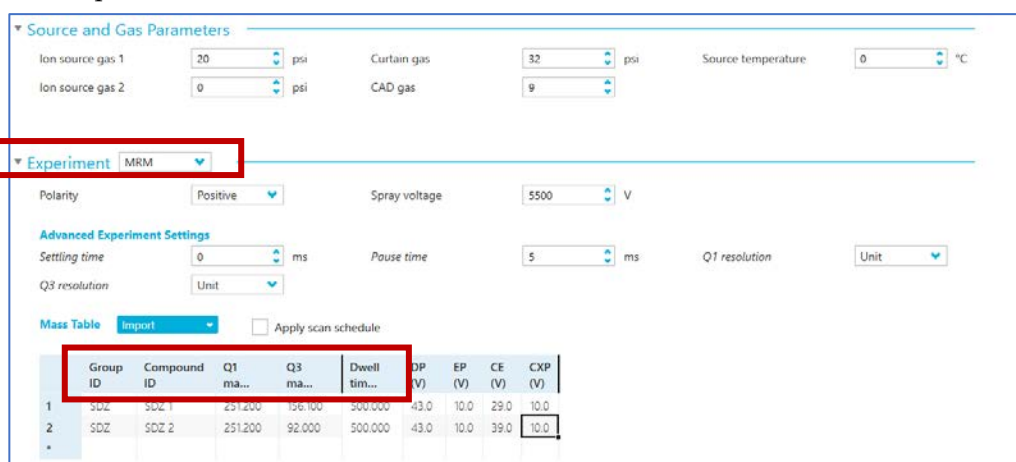
Start at : 5
 Stop at :130
 Step size:5



- ⑦ 画面下にある Data Acquisition をクリックし、Start をクリックすると、Collision Energy を Ramping しながら、Product Ion を取得していきます。終了後、Save をクリックしてデータを保存します。
- ⑧ Open data exploration to view real time data アイコン  をクリックし、取得したデータを Explorer モードより開き、強度の強い、または特徴的な Product Ion (m/z) を記録します。

- 2.1.3 MRM 測定で各パラメータ (DP、CE、EP など) の最適値を決定する
 ※ 作成した MRM トランジションに対して、Edit Ramp を用いて各パラメータを最適化します。

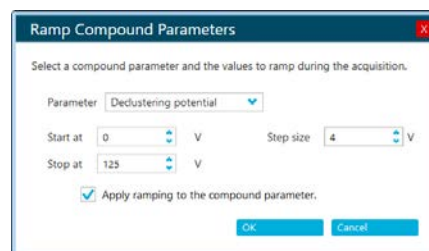
- ① MS Method 画面の Experiment からプルダウンで Product Ion から MRM に切り替えます。
- ② これまでの過程で確認した Precursor Ion (Q1 Mass) および Product Ion (Q3 Mass) を、Compound ID、Dwell time に化合物名、500 と入力します。
- ③ 右上にある Options をプルダウンすることで、Ramp...を選択し、Ramp Compound Parameters ダイアログを表示します。




- ④ Parameter のプルダウンメニューから最適化したいパラメータを選択します。

- ※ 最適化するパラメータの順番は DP⇒CE⇒EP⇒CXP です。
- ※ 各装置、化合物ともに、少なくとも DP と CE の最適化は実施してください。
- ※ 7500 には、DP はありません

- ⑤ Strat (印加する電圧の初期値)、Stop (印加する電圧の終了値)、Step size (電圧の振り幅) を入力し、Apply ramping to the compound parameter にチェックを入れ、OK をクリックします。



- ⑥ 画面下にある Data Acquisition をクリックし、Start をクリックすると、各パラメータを Ramping していきます。終了後、Save をクリックしてデータを保存します。
- ⑦ Open data exploration to view real time data アイコン  をクリックし、取得したデータを Explorer モードより開き確認し、最適値を Mass Table 内の該当す

る Parameter 箇所に入力します。

※ CXP は 1 トランジションごとに実施下さい。CE の異なる複数のトランジションを同時に Ramping することはできません。

- ⑧ 最適化したいパラメータ全てを実施後、MS Method 上部の Save をプルダウンし、Save as より、名前を付けて MS Method を保存します。
 - ※ Training では SDZ と保存します。
 - ※ 7500 は、必要に応じて Q0D の最適化を行います。巻末の「参考資料：Q0D の最適化（7500 のみ）」を参照してください。
- ⑨ Status Panel 上のシリンジポンプより送液を停止します。

2.2 メソッドを結合する方法 (Excel を用いたメソッドの結合方法)

- 作成した複数のメソッドを合成する方法を紹介します。
- **Training** では、2.1 マニュアルで **MRM** トランジションを作成する方法、で作成した **SDZ**、**SMZ**、**SDMX** の **MS Method** を結合したメソッドを作成する方法を紹介します。
- **MS Method** ファイルを **Excel** で編集し、簡易に成分の一斉分析メソッドを作成することができます。
- 本法は、以下の場合に使用すると便利です。
 - 複数の **MRM** トランジションを統合する場合
 - 結合した後の編集を行う場合

<Pasting MRM to Excel 操作方法>

- ① 基本になる **MS Method** (**Training** では **SDZ**) を開き、別名 (**Training** では **sulfa3mix**) で保存します。
- ② **MS Table** 内の全ての項目を選択し、**Ctrl+C** でコピーします。
- ③ **Excel** を起動し、②でコピーした情報をペースト (**Ctrl+V**) します。
- ④ 結合したい他の **MS Method** を開き、上記と同様に同じ **Excel** にペーストします。
- ⑤ 必要に応じて、**Excel** 上で **Dwell time** 等を調整、修正します。

Group ID	Compound ID	Q1 ma...	Q3 ma...	Dwell tim...	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
SDZ	SDZ 1	251.200	156.100	500.000	43.0	10.0	29.0	10.0
SDZ	SDZ 2	251.200	92.000	500.000	43.0	10.0	39.0	10.0

- ※ **Training** では **Dwell time** を 100 msec に変更してください。
- ※ 最適な **Dwell time** については、後述の 2.3 を参照ください。

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	SDZ	SDZ 1	251.2	156.1	100	43	10	29	10	
2	SDZ	SDZ 2	251.2	92	100	43	10	39	10	
3	SMZ	SMZ 1	265.1	108.1	100	46	10	37	10	
4	SMZ	SMZ 2	265.1	92.1	100	46	10	45	10	
5	SDMX	SDMX 1	311.2	156.2	100	51	10	31	10	
6	SDMX	SDMX 2	311.2	92.1	100	51	10	35	10	
7										
8										
9										
10										
11										
12										

- ⑥ **Excel** 上で数字が入力してある範囲をコピーします。
- ⑦ **MS Method** に戻り、**MS Table** 内のパラメータを削除し、左上のカラムをクリックし、**Ctrl+V** で **Excel** で作成・編集した情報をペーストします。

Mass Table Import Apply scan schedule

	Group ID	Compound	Q1 ma...	Q3 ma...	Dwell tim...	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	SDZ	SDZ 1	251.200	156.100	100.000	43.0	10.0	29.0	10.0
2	SDZ	SDZ 2	251.200	92.000	100.000	43.0	10.0	39.0	10.0
3	SMZ	SMZ 1	265.100	108.100	100.000	46.0	10.0	37.0	10.0
4	SMZ	SMZ 2	265.100	92.100	100.000	46.0	10.0	45.0	10.0
5	SDMX	SDMX 1	311.200	156.200	100.000	51.0	10.0	31.0	10.0
6	SDMX	SDMX 2	311.200	92.100	100.000	51.0	10.0	35.0	10.0
*									

⑧ MS Method 上部の Save より上書き保存します。

表 1 他機種間のパラメータの初期値および互換表

API3200™System および 3200 QTRAP® System を基準とした数値です。

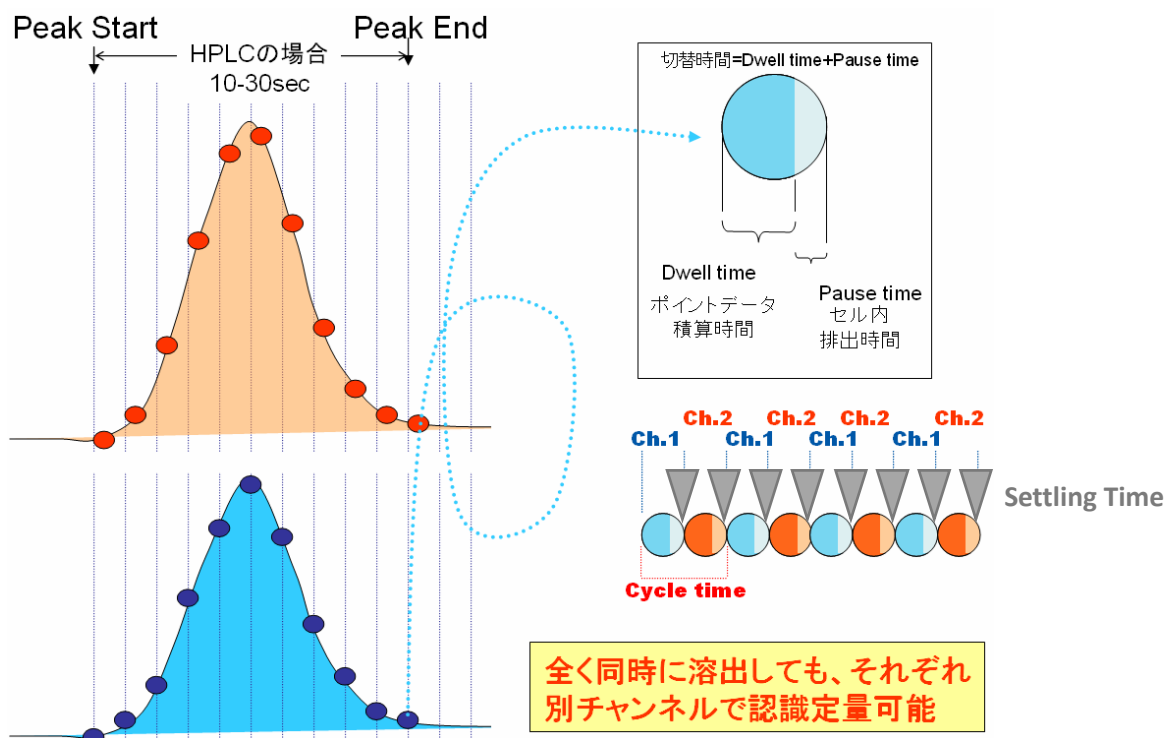
機種	DP	EP	CE	CXP
Triple Quad™ 4500・QTRAP® 4500 Triple Quad™ 6500・QTRAP® 6500 Triple Quad™ 6500+・QTRAP® 6500+	DP + 20	Instrument Default	CE	6
API 5000™ Triple Quad™ 5500・QTRAP® 5500	DP + 40	Instrument Default	CE	10
Triple Quad™7500	なし	Instrument Default	CE	15

※DP と CE は化合物依存のパラメータになります。

2.3 Dwell Time の設定

一斉分析用にチャンネル数を増やした際には、1 トランジション当たりの Dwell Time を適切に設定することが必要になります。

Dwell Time について、2 成分 (2MRM トランジション) の例を示します。



Dwell Time : 1 トランジションをスキヤニングするのに要する時間 (msec)

Pause Time : pause between mass range

1 トランジションをスキヤニングした後、Q2 (コリジョンセル) に残ったイオンを排出し、次のトランジションをスキヤニングする条件に電圧を切り替える時間 (msec)

Settling Time : Positive、 Negative の切り替え時間 (msec)、機種により異なります。

1 トランジション 1 ポイントをスキヤニングするのに要する時間 (msec)

= Dwell Time + Pause Time + Settling Time

Cycle Time : 全成分について 1 ポイントスキヤニングするのに要する時間

2 トランジションの MRM 測定の場合

- 1 Cycle Time (msec) = 1 トランジション目の (Dwell Time + Pause Time + Settling Time) + 2 トランジション目の (Dwell Time + Pause Time + Settling Time)

<各装置の最小設定値>

機種	Dwell Time	Pause Time	Settling Time
Triple Quad 4500、 Triple Quad 5500	2	2	50
Triple Quad 6500	2	2	20
Triple Quad 5500+、 Triple Quad 6500+	2	2	5
Triple Quad™7500	2	2	5

<Dwell Time, Pause Time, Settling time の設定場所>

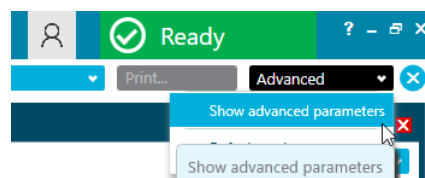
Advanced Experiment Settings

Settling time: 0 ms
 Pause time: 5 ms
 Q3 resolution: Unit

Mass Table: Import Apply scan schedule

	Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	DP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	Group 1	SDZ 1	251.000	92.000	100.000	60.0	10.0	32.0	10.0
2	Group 1	SDZ 2	251.000	108.000	100.000	60.0	10.0	27.0	10.0
3	Group 1	SDZ 3	251.000	156.000	100.000	60.0	10.0	19.0	10.0

※ Advanced Experiment Settings が表示されていない場合は、画面右上の Advanced > Show advanced parameters を選択します。



2.3.1 Dwell Time の決定法

定量の場合は再現性良く測定するため、1 ピークあたり 10 ポイント以上を推奨します。(スクリーニングの場合は 3-5 ポイント必要になります。)

例として、Positive Mode 100 成分一斉分析の Dwell Time を決定するための計算方法は、ピークの溶出幅を 20 秒とすると、次のようになります。

例) 100 成分一斉分析

ピーク幅が 20 秒の場合、

$$20\text{sec} / 10 \text{ ポイント} = 2.0\text{sec} = 2000\text{msec Cycle Time}$$

$$2000\text{msec} / 100 \text{ 成分} = 20\text{msec}$$

Dwell Time = 18msec、pause Time = 2msec とすると良いことから、

Dwell Time は 18 msec

2.3.2 一斉分析における Dwell Time 設定の注意点

Dwell Time を短くすると、ノイズも大きくなる傾向があります。

SCIEX OS の縦軸の単位は cps であり、これは count/sec、つまり、1 秒あたりの強度に変換した値になります。

MRM でノイズが 1 count 入った場合、ノイズの cps は以下のようになり、

- Dwell Time を 200msec で測定した場合： $1 \text{ count} \times (1000/200) = 5 \text{ cps}$
- Dwell Time を 10msec で測定した場合： $1 \text{ count} \times (1000/10) = 100 \text{ cps}$

Dwell Time が短くなりますと見た目のノイズが大きくなります。

2.3.3 Dwell Time が短くなると、観測されやすくなる事象

ノイズが大きくなる (S/N が悪くなる) ので、ピークの先端が割れる

ピークの先端にノイズが乗るので、Height のばらつきも大きくなる

ピークの始まりもしくは終わりの Point にノイズが含まれる確率が高くなるので、

Area のばらつきが大きくなる。

【重要】

MRM トランジション数を増やす際には、1 トランジション当たりの Dwell Time を適切に設定することが必要になります。

2.3.4 1 つの experiment に作成できる MRM トランジションの数

4500、5500、5500+、6500、6500+、7500 シリーズ：1250 トランジションまで、Scheduled MRM を使用する場合は 4000 トランジションまで

【重要】

高感度かつ再現性の高い測定を実施するには、条件検討が必要です。

20 成分以上の分析をする場合は、後述の Scheduled MRM の使用をお勧めいたします。

3 測定

この章で学べること

SCIEX OS の MS Method について解説します。

種々の測定メソッド (MS Method) の作成方法および変更の便利な機能の説明と活用法をご紹介します。

3.1 数種類のメソッドの測定を同時に行う、Posi/Nega スイッチングで測定する方法
複数のメソッド (Posi、Nega) を使って同時に測定することができます。
Positive と Negative を切り替えて測定を行う方法です。

3.2 時間を区切って測定を行う方法
複数の MRM メソッドの測定を、時間を区切って測定することができます。

3.3 分解能を落としたメソッドで測定する方法
分解能はイオンを質量で区別する能力であり、質量分析計の性能を表す基準の1つです。弊社の四重極の分解能には Unit、Low、High の3種類があり、MS Method 上で変更し、測定が可能です。

3.4 Scheduled MRM™ (sMRM) 法で測定を行う方法
特定の時間のみ、指定した MRM トランジションをモニターする定量アルゴリズムです。サイクルタイムを維持しながらも Dwell Time を最大化して測定できる、高感度な定量測定法です。多成分一斉分析に有効です。

3.1 数種類のメソッドの同時測定、Posi/Nega スイッチング

- 数種類のメソッドを使って同時に測定することができます。

<応用例>

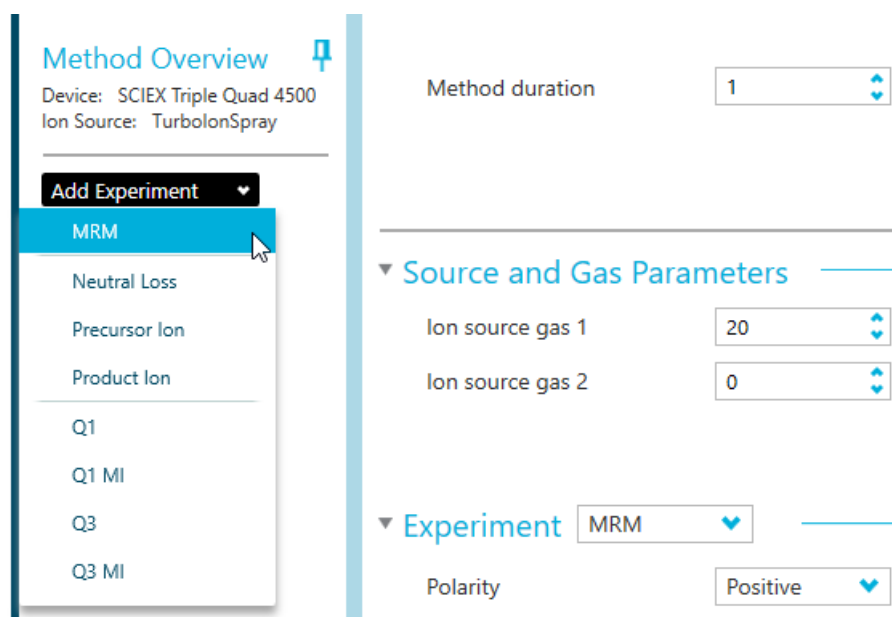
- Positive/Negative 同時測定
- Precursor ion scan や Neutral Loss scan の同時測定

4500、5500 シリーズでは 50msec、6500 シリーズでは 20msec、5500+、6500+、7500 シリーズでは 5msec と格段に速くなりました。サイクルタイムを短縮し、感度を損ねることなく MRM の Posi/Nega スイッチング測定ができます。

A) 作成した Method に追加する方法

Training では前項で作成した Mass Method を使用して Positive/Negative 同時測定条件を作成します。

- ① 2.1 章で作成したメソッドを開きます。
- ② 画面右上の Save > Save as を選択し、適当な名前 (Training では Experiment) で保存します。
- ③ 画面左上の Add Experiment をプルダウンし MRM を選択します。



- ④ Experiment が追加されますので、追加された Experiment を目的の条件に設定します。

Training では Polarity を Negative に変更し、以下のように目的の MRM 条件を入力します。

Method duration: 1 min Total scan time: 0.240 s Estimated cycles: 250

▼ Source and Gas Parameters

Ion source gas 1: 35 psi Curtain gas: 40 psi Temperature: 0 °C
 Ion source gas 2: 70 psi CAD gas: 9

▼ Experiment MRM

Polarity: Positive Spray voltage: 5500 V

Mass Table: import Apply scan schedule

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	
1	Group 1	SDZ 1	251.000	156.000	100.000	10.0	25.0	15.0

▼ Experiment MRM

Polarity: Negative Spray voltage: 4500 V

Mass Table: import Apply scan schedule

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	
1	Group 1	SDZ 1	249.000	156.000	100.000	-10.0	-30.0	-15.0

⑤ Cycle time (sec) を確認し、Dwell Time を調整します。

Total Scan Time (sec) は各 Experiment の Cycle time (sec) の合計になります。
 なお、Pause time および Settling time の時間が含まれています。Experiment が増えたことにより、Dwell Time を調整する必要がある場合があります。Dwell Time の設定の項を参考に適宜調整してください。

⑥ 画面右上の Save > Save にてメソッドを上書き保存します。

【注意 1】

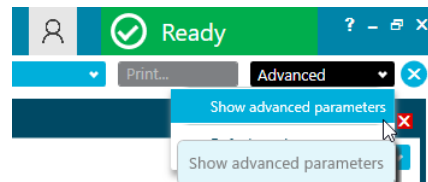
適切な Cycle Time が設定されていないと、再現性が低下する場合があります。
 Cycle Time はピーク幅とデータポイント数をもとに設定します。
 詳細は 2.3 章の<Dwell Time>の設定を参照ください。

【注意 2】

Settling Time とは、Positive と Negative の切り替え時間です。
Positive と Negative の切り替えに必要な時間は装置毎に異なります。
<各装置の最小設定値>の表をご参照ください。

<Settling Time の設定場所>

※ Advanced Experiment Settings が表示されていない場合は、画面右上の
Advanced > Show advanced parameters を選択します。



▼ Experiment MRM

Polarity Positive Spray voltage 5500 V

Advanced Experiment Settings

Settling time 15 ms Pause time 5 ms High mass cooling time: 0 ms

Q1 resolution Unit Q3 resolution Unit

Mass Table Import Apply scan schedule Q0 dissociation Simple

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	
1	Group 1	SDZ 1	251.000	156.000	250.000	10.0	25.0	15.0

▼ Experiment MRM

Polarity Negative Spray voltage 4500 V

Advanced Experiment Settings

Settling time 15 ms Pause time 5 ms High mass cooling time: 0 ms

Q1 resolution Unit Q3 resolution Unit

Mass Table Import Apply scan schedule Q0 dissociation Simple

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	
1	Group 1	SDZ 1	249.000	156.000	100.000	-10.0	-30.0	-15.0

3.2 時間を区切って測定を行う、ピリオド区切り

- 複数の MRM メソッドを、時間を区切って測定することができます。

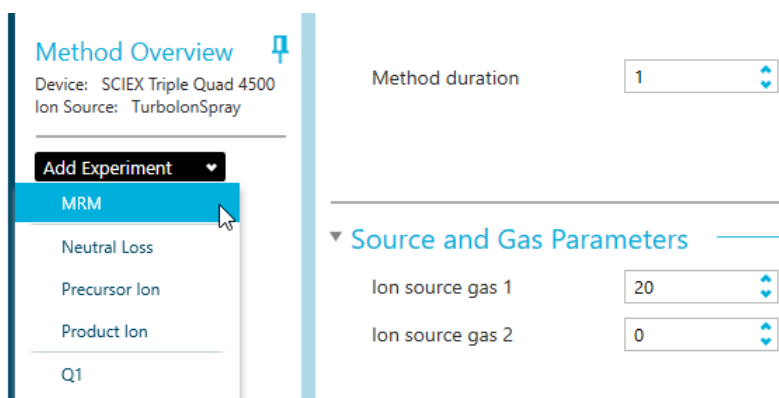
<応用例>

- 多成分分析
- 途中でイオン源の条件を変更したい場合

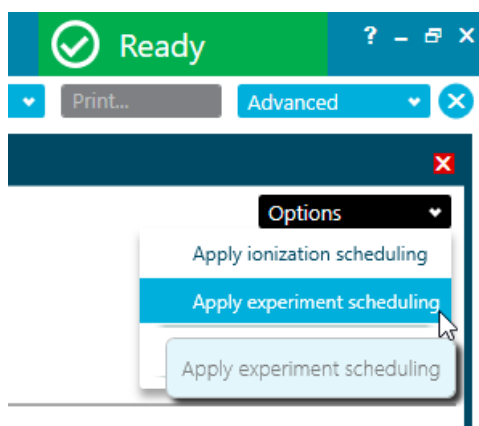
Training では前述で作成した MS method を使用し、以下のようなサンプル例について Method を作成します。

- Experiment 1 で測定する対象化合物は 4 分までに溶出し、Experiment 2 で測定する対象化合物は 4 分以降 10 分までに溶出するサンプル

- ① 2.1 章で作成したメソッドを開きます。
- ② 画面右上の Save > Save as を選択し、ファイル名を「Period」と入力して保存します。
- ③ 画面左上の Add Experiment をプルダウンし、MRM を選択します。



- ④ 画面右上の Options をプルダウンし、Apply experiment scheduling を選択します。



▼ Experiment MRM

Start run time 0 min Stop run time 4 min

Polarity Positive Spray voltage 5500 V

Mass Table Import Apply scan schedule

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	Group 1 SDZ 1	251.000	156.000	250.000	10.0	25.0	15.0

▼ Experiment MRM

Start run time 4 min Stop run time 10 min

Polarity Positive Spray voltage 5500 V

Mass Table Import Apply scan schedule

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
1	Group 1 SMZ 1	249.000	156.000	100.000	10.0	30.0	15.0

- ⑤ 1 番目の Experiment の Start run time に 0 を入力し、Stop run time に 4 を入力します。
- ⑥ 2 番目の Experiment の Start run time に 4 を入力し、Stop run time に 10 を入力します。
- ⑦ 画面右上の Save > Save を選択し上書き保存します。

【注意】

時間を区切った場合も、Positive モードと Negative モードの切り替えには時間が必要になります。

Positive と Negative の切り替えに必要な時間は装置毎に異なります。

2.3 章の <各装置の最小設定値> の表をご参照ください。

3.3 分解能を落として測定を行う

- 分解能を落としたメソッドを作成します。

<作成時のヒント>

分解能を下げることによって、イオン強度を向上させることができます。分子量が大きい場合 (m/z 500 以上) に特に効果が見込まれます。夾雑成分の存在する確率が低い
ため、ノイズの上昇が少ないためです。ただしノイズも上昇し、感度 (S/N) が変わらない、
もしくは低下する場合があります。

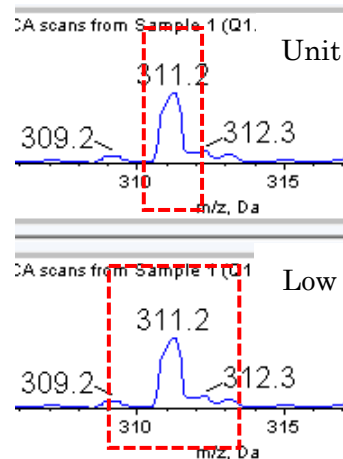
分解能を上げることによって、バックグラウンドが下がる場合があります。ただし、
シグナル強度も下がるが多いため、感度 (S/N) が変わらない、もしくは低下する場
合もあります。

必ずサンプルを測定する前に標準溶液を測定して、分解能を変更した効果の確認を行
います。Q1/Q3 = Unit/Unit、Unit/Low、Low/Unit、Low/Low、全ての組み合わせで測
定し、取得したデータの S/N を比較します。

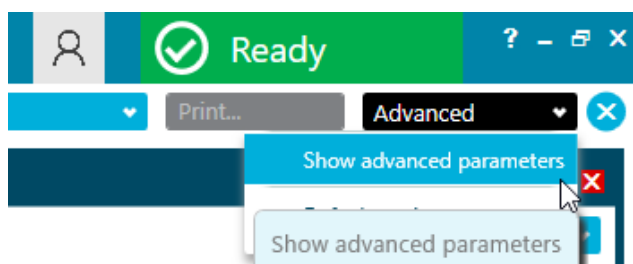
<Resolution について>

Resolution は Q1、Q3 を通過させるイオンの m/z の範囲
になります。

- Unit: 設定値から 0.7Da ± 0.1Da の範囲
- Low: default の設定で設定値から ±1.5 ~ 2Da の
範囲
- High: 設定値から 0.5Da ± 0.1Da の範囲



- ① 2.1 章で作成したメソッドを開きます。
- ② 画面右上の Save > Save as を選択し、ファイル名を「LowRes」と入力して 保存
します。
- ③ 画面右上の Advanced をプルダウンし、Show advanced parameters を選択します。



④ Q1 および Q3 の分解能をそれぞれ Unit、Low にします。

▼ Experiment MRM

Polarity Positive Spray voltage 5500 V

Advanced Experiment Settings

Settling time 15 ms Pause time 5 ms High mass cooling time: 0 ms

Q1 resolution Unit Q3 resolution Low

Mass Table Import Apply scan schedule Q0 dissociation Simple

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	
1	Group 1	SDZ 1	251.000	156.000	250.000	10.0	25.0	15.0

⑤ 画面右上の Save > Save を選択し、上書き保存します。

3.4 Scheduled MRM(sMRM)

➤ Scheduled MRM について解説します。

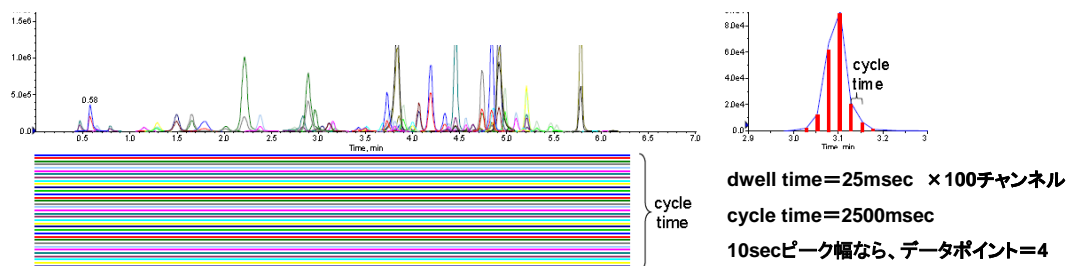
sMRM は、各化合物の溶出時間の前後のみを MRM で測定する機能であり、必要な時にのみ MRM トランジションが現れるため、長い Dwell Time の設定が可能となります。その結果、S/N が向上し、より低い LLOQ が得られる場合があります。

更に、確実に必要なデータポイントの取得が可能となりますので、データの再現性が良くなり、結果的に%CV が低くなる効果が期待されます。多成分一斉分析、ハイスループット分析に有効な機能です。

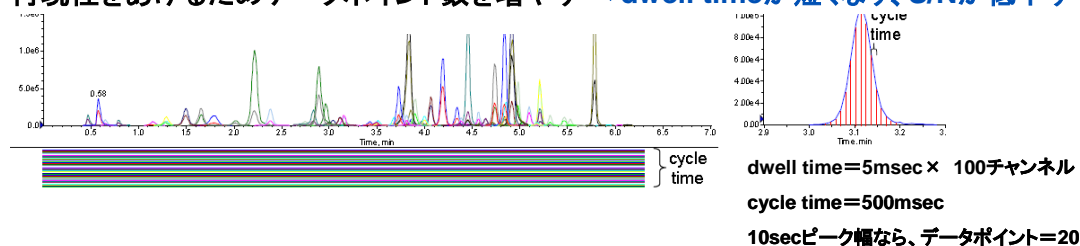
3.4.1 Scheduled MRM とは?

- 従来の MRM においては、S/N を上げるために Dwell Time を長くすると、データポイント数が減少し、再現性が低下する傾向にありました。一方で、再現性を上げるためにデータポイント数を増やすと、Dwell Time が短くなり、S/N が低下する現象が認められました。

S/Nをあげるためdwell timeを長くする ⇒データポイント数がへり、再現性が低下する

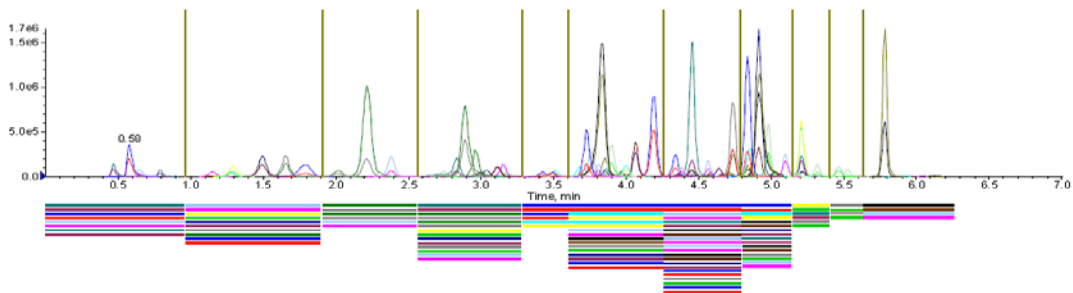


再現性をあげるためデータポイント数を増やす ⇒dwell timeが短くなり、S/Nが低下する



- これらのジレンマを改善するための手法として、「Period 区切りの MRM」が考えられますが、適切に時間を区切ることは難しく、特にハイスループット分析系では困難な場合が多くなります。

多くのMRMトランジションを含む
Periodを追加する必要がある
LCの溶出時間が安定している必要がある
 ⇒ 上手く時間を区切るのは、非常に難しい
 ⇒ ⇒ 特にハイスループットLCを使用する場合に困難



- 一方で、sMRM は、各化合物が溶出する時間の前後のみを MRM で測定するアルゴリズムであり、長い Dwell Time と適切な Cycle Time の設定が可能となるため、S/N と再現性の両方を向上させる効果が期待できます。
- Dwell Time は 5~250msec (4500、5500、5500+、6500、6500+、7500 シリーズ) の範囲で自動設定されます。

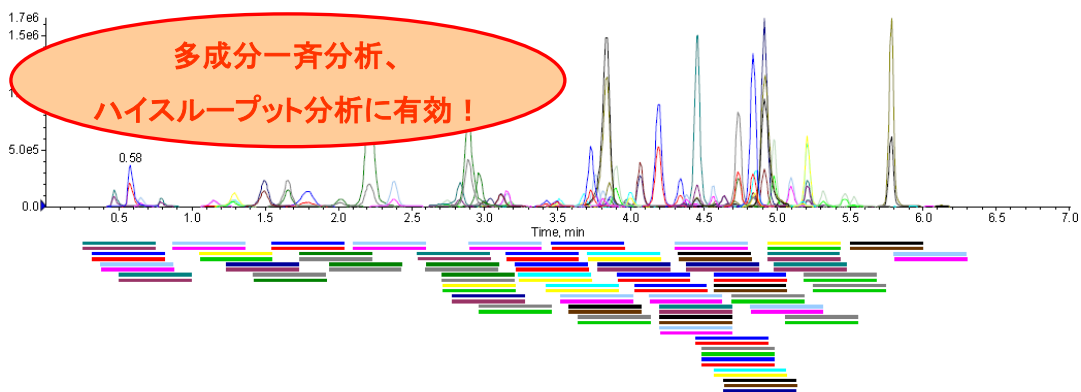
sMRMは、各化合物の溶出時間の前後のみをMRMで測定できる

必要なときのみMRMトランジションが現れ、長いdwell timeの設定が可能。

⇒ S/N比が向上して、結果的により低いLOQの設定が可能

確実に必要なデータポイントが取得可能

⇒ データの再現性がよくなる。結果的に、%CVが低くなる



3.4.2 Scheduled MRM Method の作成

<メソッド作成時の注意>

Scheduled MRM メソッドには Retention Time の情報が必要です。事前に標準品を測定、定量解析を実施して、Retention time の確認を行います。

- ① 従来の MRM モードで標品を測定します。
- ② 次に取得したデータを SCIEX OS の Analytics モードにて Results table を作成します。
- ③ ①の測定時に使用した MS Method を開き、Apply scan schedule にチェックを入れます。

▼ Experiment MRM

Polarity Positive Spray voltage 5500 V

Advanced Experiment Settings

Settling time 0 ms Pause time 5 ms High mass cooling time: 0 ms

Mass Table Import Apply scan schedule Apply sMRM triggering Q0 dissociation Simple

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Edit dwell time	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/- s)	Q1 resolution	Q3 resolution
1	Group... Azamethiphos 1	325.000	183.000	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	21.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
2	Group... Azamethiphos 2	325.000	112.100	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	51.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
3	Group... Acibenzolar-S-methyl 1	211.000	136.000	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	39.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
4	Group... Acibenzolar-S-methyl 2	211.000	211.000	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	10.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
5	Group... Azinphos-methyl 1	318.100	160.000	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	13.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
6	Group... Azinphos-methyl 2	318.100	132.000	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	21.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
7	Group... Azoxystrobin 1	404.100	372.100	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	19.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
8	Group... Azoxystrobin 2	404.100	344.100	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	29.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
9	Group... Anilofos 1	368.000	199.100	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	19.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit
10	Group... Anilofos 2	368.000	125.000	<input type="checkbox"/>	3.000	10.0	42.0	15.0	0.00	30	Unit	Unit

- ④ Import をプルダウンし、Update retention times from a processing method...を実行します。
- ⑤ Results Table 作成時の Quantitation Method を選択し Open をクリックします。

Mass Table Import Apply scan schedule

Import compounds from a file...
 Update retention times from a processing method... (Da)
 Import compounds from a library...

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)
1	Group...		00
2	Group... Azamethiphos 2	325.000	112.100
3	Group... Acibenzolar-S-methyl 1	211.000	136.000
4	Group... Acibenzolar-S-methyl 2	211.000	211.000

⑥ MRM メソッドに Retention Time 情報が読み込まれます。

Method duration: 15 min, Target cycle time: 1000 ms, sMRM Summary

Minimum dwell time: 3 ms, Maximum dwell time: 250 ms

Source and Gas Parameters

Ion source gas 1: 35 psi, Curtain gas: 40 psi, Temperature: 0 °C
 Ion source gas 2: 70 psi, CAD gas: 9

Experiment: MRM

Polarity: Positive, Spray voltage: 5500 V

Advanced Experiment Settings

Settling time: 0 ms, Pause time: 5 ms, High mass cooling time: 0 ms

Mass Table: Import, Apply scan schedule, Apply sMRM triggering, Q0 dissociation, Simple

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Edit dwell time	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/- s)	Q1 resolution	Q3 resolution
1	Group... Azamethiphos 1	325.000	183.000		44.193	10.0	21.0	15.0	3.59	30	Unit	Unit
2	Group... Azamethiphos 2	325.000	112.100		44.193	10.0	51.0	15.0	3.59	30	Unit	Unit
3	Group... Acibenzolar-S-methyl 1	211.000	136.000		23.896	10.0	39.0	15.0	5.71	30	Unit	Unit
4	Group... Acibenzolar-S-methyl 2	211.000	211.000		23.930	10.0	10.0	15.0	5.70	30	Unit	Unit
5	Group... Azinphos-methyl 1	318.100	160.000		31.356	10.0	13.0	15.0	5.03	30	Unit	Unit
6	Group... Azinphos-methyl 2	318.100	132.000		31.030	10.0	21.0	15.0	5.05	30	Unit	Unit
7	Group... Azoxystrobin 1	404.100	372.100		27.985	10.0	19.0	15.0	5.21	30	Unit	Unit
8	Group... Azoxystrobin 2	404.100	344.100		27.788	10.0	29.0	15.0	5.23	30	Unit	Unit
9	Group... Anilofos 1	368.000	199.100		68.209	10.0	19.0	15.0	7.44	30	Unit	Unit
10	Group... Anilofos 2	368.000	125.000		67.823	10.0	42.0	15.0	7.43	30	Unit	Unit
11	Group... Aramite 1	352.100	191.100		26.882	10.0	19.0	15.0	9.88	30	Unit	Unit
12	Group... Aramite 2	352.100	57.100		26.882	10.0	43.0	15.0	9.88	30	Unit	Unit

⑦ Retention Time tolerance の設定を行います。

Retention Time tolerance は MRM のデータを取得する時間の幅を意味します。

例えば、上図のように 30sec の場合、分析テーブル中の Time (min) で設定した各成分の溶出時間±30 sec 間のみ、その成分の MRM 測定を行います。

<成分の溶出時間が安定しないメソッドを用いている場合>

MRM detection window が短すぎると、対象成分を測定できない場合があります。

逆に長く設定しすぎる場合は、Dwell Time が短くなり、感度 (S/N) が下がる場合があります。通常は、30 秒以上でを使用することを推奨します。

Tips : sMRM で Time (min) に「0」を入力すると全時間帯で測定します。

⑧ Target cycle time の設定を行います。

Target cycle time とは、上図のように 1000 msec の場合、その時間に検出される全 MRM トランジションの Dwell Time の合計が 1000 msec になるように、各成分の Dwell Time が自動調整されます。

1 ピークあたり 10 データポイントを確保したい場合などは、あらかじめ通常の MRM 分析を行い、ピーク幅を確認後、ピーク幅/10 となる値を本項目に入力することを推奨します。

⑨ Apply sMRM triggering を設定します。(Optional)

Apply sMRM triggering は 1st Transition (定量イオン) の threshold を設定し、その threshold を超えたときに、2nd Transition (確認イオン) を取得します。この設定値を超えない場合 (ピークが出現しない場合) は、2nd Transition は取得されないため、Dwell Time の節約になります。

▼ Experiment MRM

Polarity Positive Spray voltage 5500 v Dynamic background subtraction

Advanced Experiment Settings

Setting time 0 ms Pause time 5 ms High mass cooling time: 0 ms

Mass Table Import Apply scan schedule Apply sMRM triggering Q0 dissociation

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Edit dwell time	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Retention time (min)	Retention time tolerance (+/- s)	Primary trigger	Trigger threshold (cps)	Q1 resolution	Q3 resolution
1	Azamethiphos	325.000	183.000	<input type="checkbox"/>	44.220	10.0	21.0	15.0	3.59	30	<input checked="" type="checkbox"/>	500	Unit	Unit
2	Azamethiphos	325.000	112.100	<input type="checkbox"/>	44.220	10.0	51.0	15.0	3.59	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit
3	Acibenzolar-S-...	211.000	136.000	<input type="checkbox"/>	23.829	10.0	39.0	15.0	5.71	30	<input checked="" type="checkbox"/>	500	Unit	Unit
4	Acibenzolar-S-...	211.000	211.000	<input type="checkbox"/>	23.829	10.0	10.0	15.0	5.71	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit
5	Azinphos-methyl	318.100	160.000	<input type="checkbox"/>	31.514	10.0	13.0	15.0	5.03	30	<input checked="" type="checkbox"/>	500	Unit	Unit
6	Azinphos-methyl	318.100	132.000	<input type="checkbox"/>	31.514	10.0	21.0	15.0	5.03	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit
7	Azoxystrobin	404.100	372.100	<input type="checkbox"/>	26.191	10.0	19.0	15.0	5.21	30	<input checked="" type="checkbox"/>	1000	Unit	Unit
8	Azoxystrobin	404.100	344.100	<input type="checkbox"/>	26.191	10.0	29.0	15.0	5.21	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit
9	Anilofos	368.000	199.100	<input type="checkbox"/>	68.037	10.0	19.0	15.0	7.44	30	<input checked="" type="checkbox"/>	500	Unit	Unit
10	Anilofos	368.000	125.000	<input type="checkbox"/>	68.037	10.0	42.0	15.0	7.44	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit
11	Aramite	352.100	191.100	<input type="checkbox"/>	20.806	10.0	19.0	15.0	9.88	30	<input checked="" type="checkbox"/>	500	Unit	Unit
12	Aramite	352.100	57.100	<input type="checkbox"/>	20.806	10.0	43.0	15.0	9.88	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit
13	Aldicarb	208.100	116.000	<input type="checkbox"/>	55.683	10.0	11.0	15.0	3.28	30	<input checked="" type="checkbox"/>	500	Unit	Unit
14	Aldicarb	208.100	89.000	<input type="checkbox"/>	55.683	10.0	20.0	15.0	3.28	30	<input type="checkbox"/>		Unit	Unit

⑩ 画面右上の Save > Save As をクリックし名前を付けて保存します。

4 解析 (Explore モード)

この章で学べること

- SCIEX OS software の Explore モードについて解説します。
- クロマトグラムやスペクトルおよび表などを表示する方法や、使用頻度の高い機能の説明と活用法を抜粋してご紹介します。

Processing



Explorer



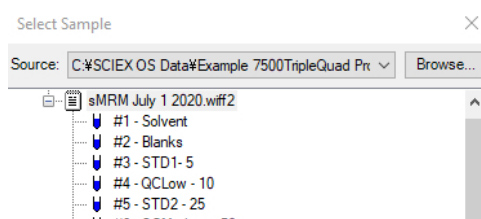
Analytics


4.1 SCIEX OS ソフトウェア Explore 上での様々な機能


4.1.1 TIC Data のオープンとクロマトグラムからのスペクトルの表示

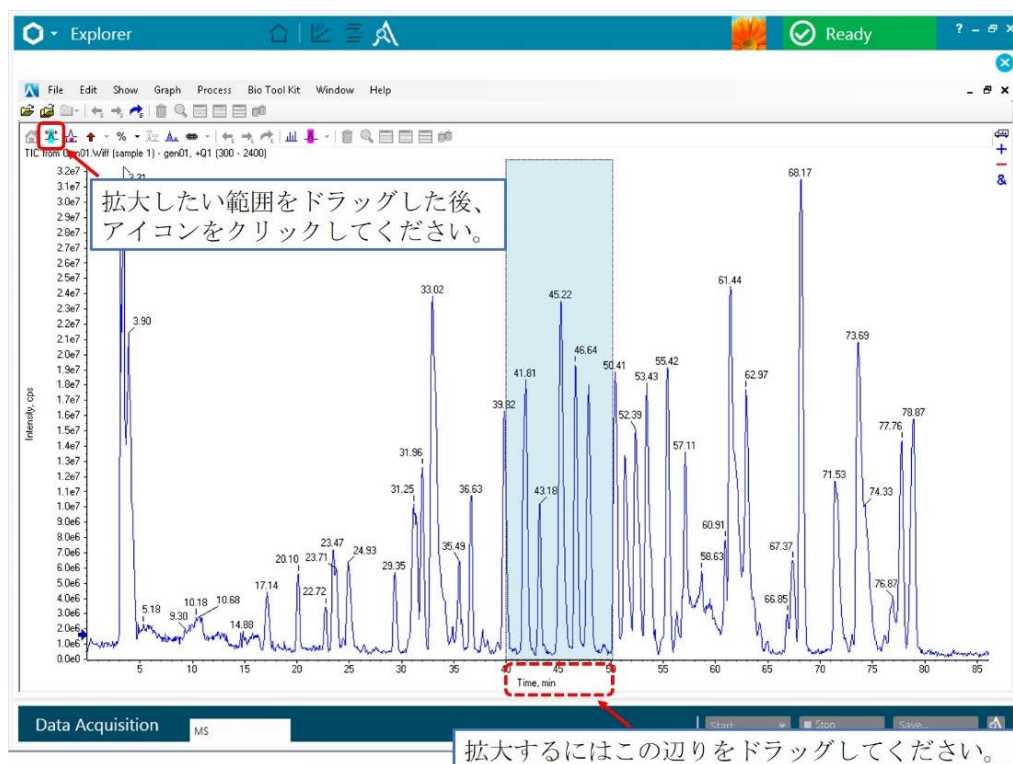
- ① SCIEX OS ソフトウェア上にある Explore をクリックします。
- ② メニューバーの File より Open Sample... を選択 (またはショートカットアイコンをダブルクリック) し、目的の File を開きます。

※ Training では SCIEX OS_Quad Data_Example の Projects から Data を選択し、Gen01.wiff を開いてください。

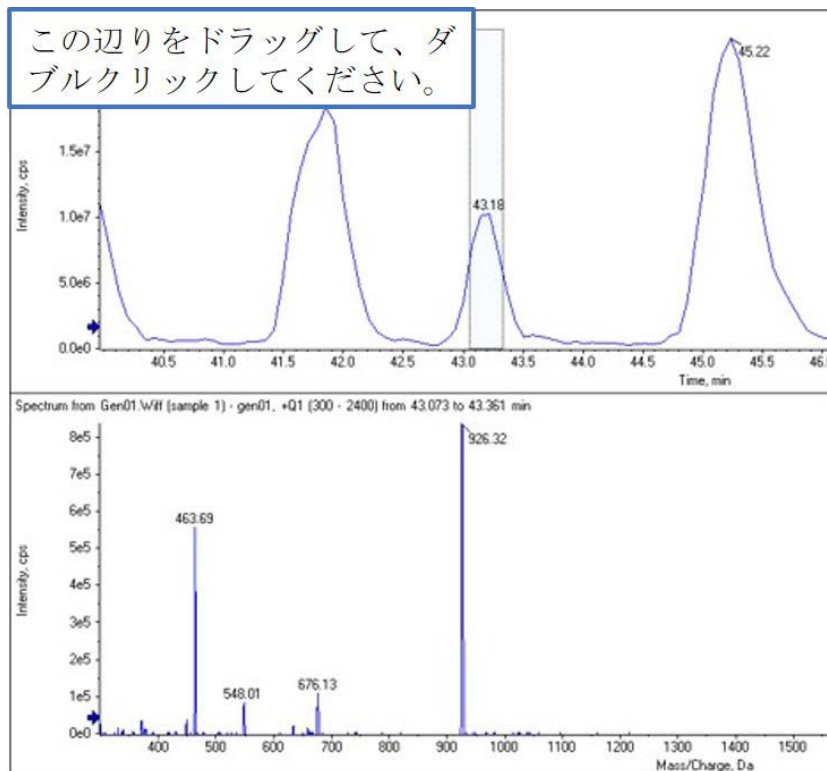


- ③ 時間軸の枠の外側付近をドラッグ、または拡大したい範囲をクロマトグラム内でドラッグし、画面上部にあるアイコン  をクリックして拡大します。

※ Training では 40 分付近から 50 分  を拡大してください。



- ④ 目的のピーク (Training では 43.18 分のピーク) の範囲をドラッグし選択します。
- ⑤ 選択された範囲をダブルクリックするとスペクトルが表示されます。



4.1.2 Explore 画面での Pane のアイコンとツールバーによる操作

Explore 画面の右上および上部にアイコンパネルツールバー(下図のアイコン)があります。



画面上に表示した複数の Pane を操作するために使用します。

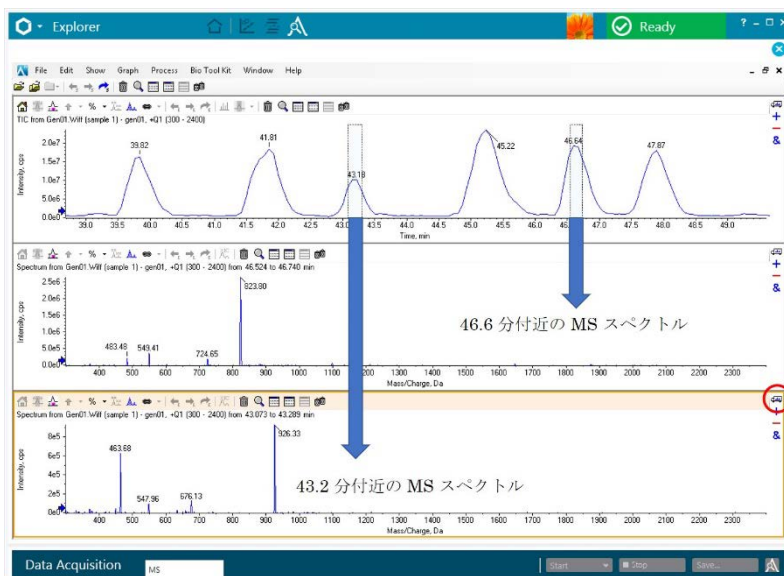
右上のアイコンは上から順に、移動 (表示レイアウトの変更)、足し合わせ、差し引き、重ね書きを示し、選択した Pane の操作に使用します。


上部のツールバーは下記に説明する操作に使用します。

アイコン	説明
	拡大した Pane を Full Scale に戻すことができます。
	クロマトグラムおよびマススペクトルの Pane 内でドラッグした後、クリックすることでドラッグした範囲を拡大することができます。
	選択した Pane を消去することができます。
	選択した Pane を全画面表示にすることができます。
	選択した Pane を隠すことができます。
	選択した Pane 以外を隠すことができます。
	隠した Pane を表示させることができます。
	選択した Pane 以外を消去することができます。

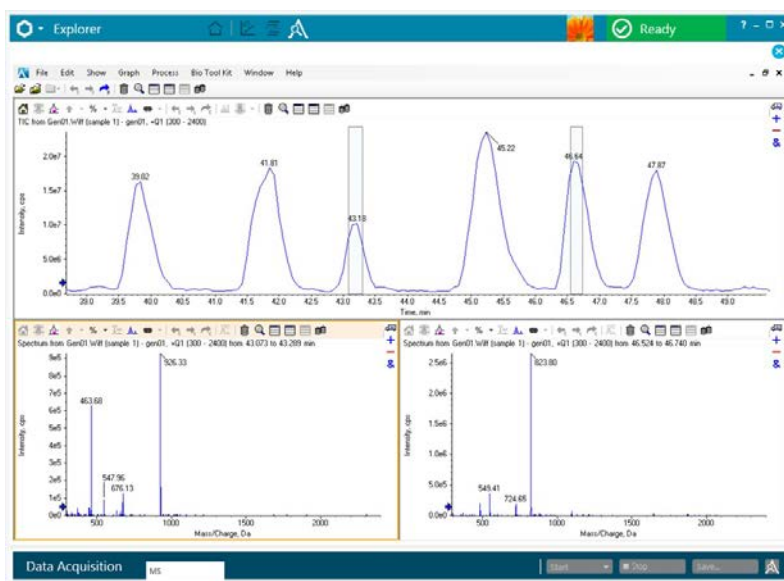
本テキストでは Move Pane の使用方法を説明します。

- 1) TIC のピークを選択し、選択した範囲（ここでは 43.2 分と 46.6 分付近のピーク）をそれぞれ選択してダブルクリックし、スペクトルを表示します。




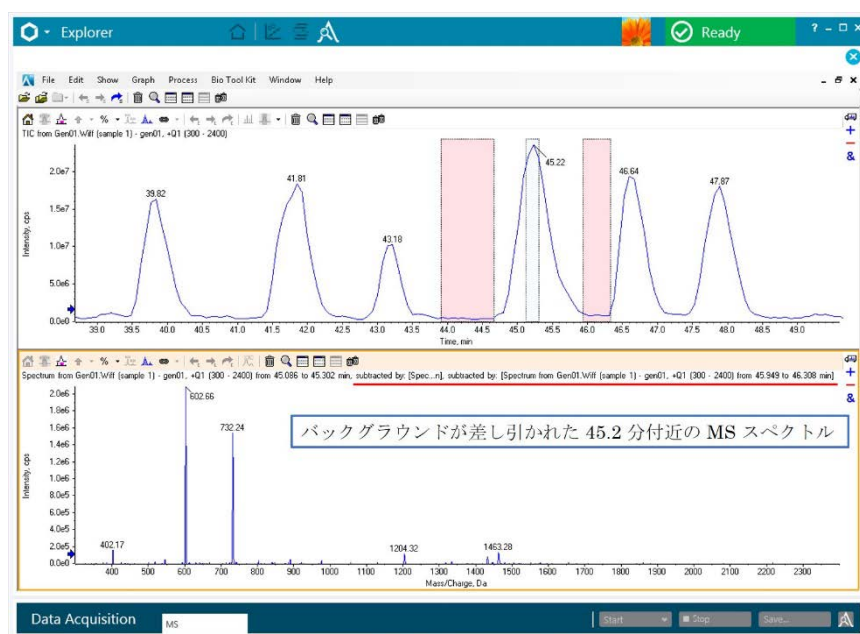
- 2) 一番下に表示された Pane をクリックすると、アクティブになります。(黄色で囲まれます)
- 3)  アイコンをドラッグしたままレイアウト変更したい位置にマウスポインターを移動させます。
- 4) 赤色の線が表示されたところにポインターを移動させると、Window が左右 2 つに分かれた MS スペクトルの表示に変更されます。

<移動後の画面>




4.1.3 バックグラウンドを差し引いたスペクトルの作成

- ① TIC のバックグラウンド付近（下図では 44.5 分付近）をドラッグで選択し、さらに Shift キーを押しながら、2 か所目のバックグラウンド付近（下図では 46 分付近）を選択します。
- ② ① で範囲を指定した後、画面上部のツールバー  をクリックすると、指定した範囲がピンク色に変わり、バックグラウンドとして設定されます。
- ③ 続けて目的のピーク（下図では 45.2 分付近）を選択し、ダブルクリックすることでバックグラウンドが差し引かれたスペクトルが表示されます。（下図参照）



<補足>

指定したバックグラウンドの範囲を消去するためには、アイコン  の右側にあるプルダウンより **Clear Subtraction Range** を選択します。ピンク色の範囲が消え、解除されます。解除後、水色で選択されている範囲をもう一度ダブルクリックすると、バックグラウンドの差し引かれていないスペクトルが表示され、タイトルのコメントから“subtracted...”は消えます。

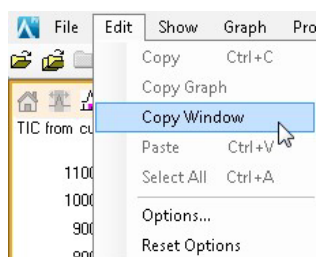
4.2 その他の機能-1

- この項ではメニューバーの **Edit** の中に含まれているタイトルや軸のフォント、クロマトグラムの色などの変更方法および解析する際の便利な機能についてまとめてあります。

4.2.1 画面のコピー

ここでは表示したクロマトグラムやマススペクトルを **PowerPoint** や **Word** などに貼り付ける方法について示してあります。

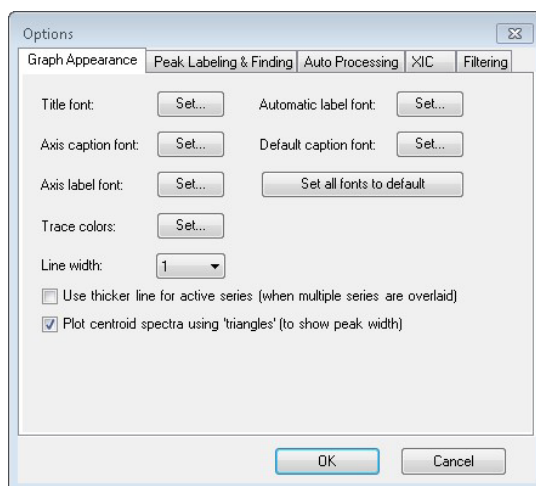
- ① メニューバーの **Edit** より **Copy Graph** または **Copy Window** を選択します。
 - **Copy Graph** : メタファイル形式
 - **Copy Window** : ビットマップ形式
- ② **PowerPoint** や **Word**、**Paint** などに貼り付けます。



4.2.2 Options の設定

ここでは表示されているタイトルや軸のフォント、クロマトグラムの色などを変更する方法について示してあります。

- ① メニューバーの **Edit** より **Options...** を選択します。
- ② **Options** 画面が立ち上がりますので、**Graph Appearance** タブにて各フォント項目の **Set...** より編集します。



4.2.3 Caption (注釈) の追加

ここでは、Explore モードで表示させたクロマトグラム中に **Caption** を入力する練習をします。

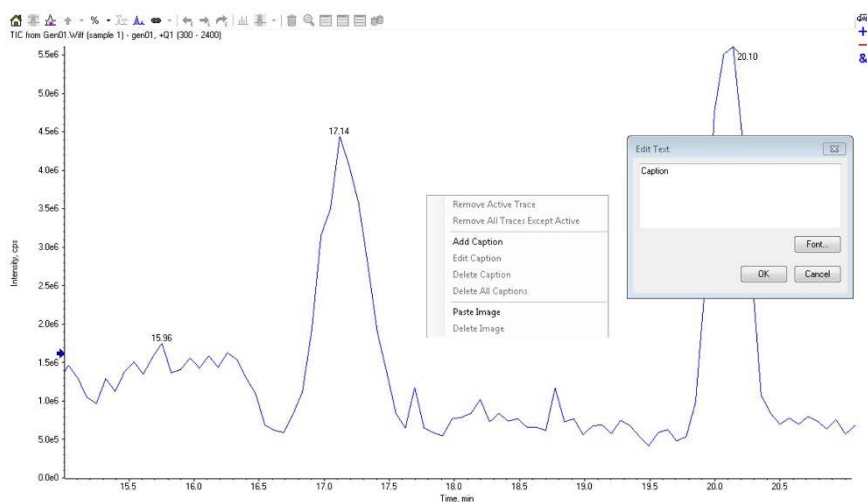
① Explore モードの **Open Sample...** より目的の **File** を開きます。

※ Training では **SCIEX OS_Quad Data_Example** の **Projects** から **Data** を選択し、**Gen01.wiff** を開いてください。

② **TIC** の **15~20 分** の範囲を拡大します。

③ **17 分** 付近のピーク上を画面右クリックし、**Add Caption** を選択します。

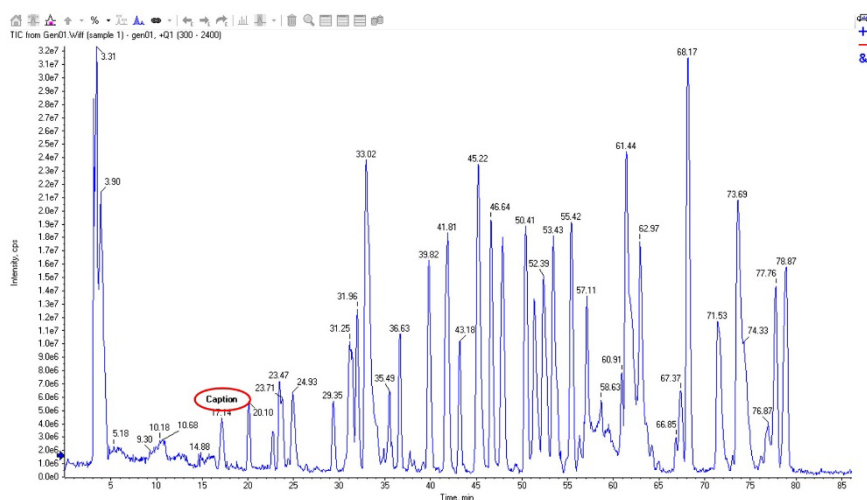
④ **Add Caption** 画面が開きますので、「**Caption**」と入力します。



⑤ 拡大した時間軸を戻すため、**Home Graph** アイコン  をクリックします。

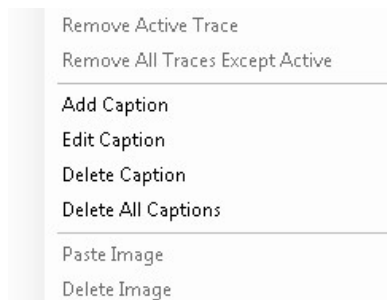
⑥ 追加した **Caption** はピークとともに動くことが分かります。

<Home Graph アイコンクリック後の画面>

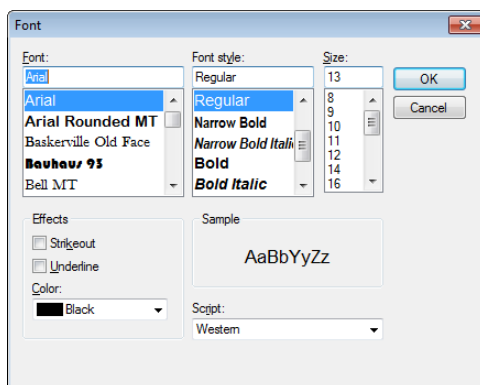


補足：表示させた **Caption** および **User Text** の削除および編集方法

- ① 入力した **Caption** をクリック後、右クリックします。
- ② 削除する場合：表示された画面上で **Delete Caption** もしくは **Delete All Captions** (複数の **Caption** を追加していた場合、すべてを削除します) を選択します。



- ③ 編集する場合：表示された画面上で **Edit Caption** を選択し、編集します。ここでは **Font** ボタンをクリックすることで **Font**、**Font size** や **Color** なども編集できます。



4.3 その他の機能-2

- この項ではメニューバーの **Show** の中に含まれている機能を用いて、ピーク検出した面積値や高さなどの数値化、UV または PDA によるデータ表示や測定等に関する情報を表示させる方法を紹介します。


4.3.1 Data and Peaks Table の表示

ここでは表示されているタイトルや軸のフォント、クロマトグラムの色などを変更する方法について示してあります。

Peaks Table ではデータポイントの数値（時間、イオン強度、相対強度）をリスト表示します。

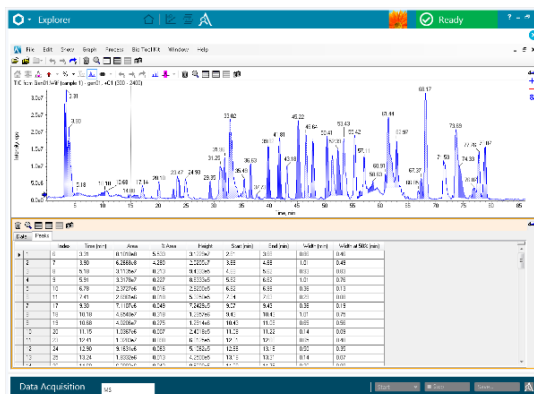
クロマトグラムからはピークを検出し、高さや面積値などをリスト表示します。

表示したリストはテキストとして保存できます。

- ① **Explore** モードの **Open Sample...** より目的の **File** を開きます。
 - ※ **Training** では **SCIEX OS_Quad Data_Example** の **Projects** から **Data** を選択し、**Gen01.wiff** を開いてください。
- ② 画面上部にあるツールバーをクリックし、ピークの検出を実行します。
- ③ メニューバーの **Show** より  **Data and Peaks Table** を選択すると、以下の二つのタブがクロマトグラムのピークに対して出力されます。


Data Table タブ：タイムポイントごとの **Intensity** が表示されます。

Peaks Table タブ：高さや面積値等が表示されます。



本テキストでは **Peaks Table** タブを選択し、高さや面積値等を確認します。

認識されたピークは青と薄い青色で交互に着色されます。

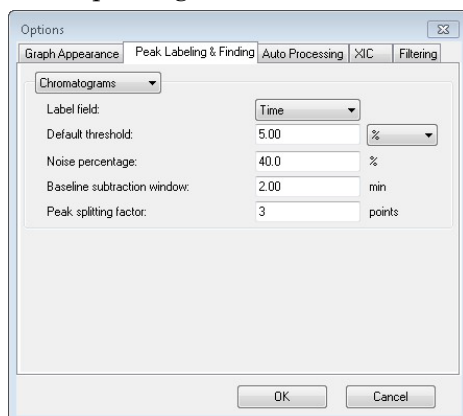
クロマトグラムを着色させたくない場合は、クロマトグラムの **Pane** 上部のツールバー  を再度、クリックします。

テキストとして保存する場合は、各タブを選択後、テーブル上で右クリックより **Save as Text...** を選択し、名前を付けて保存します。

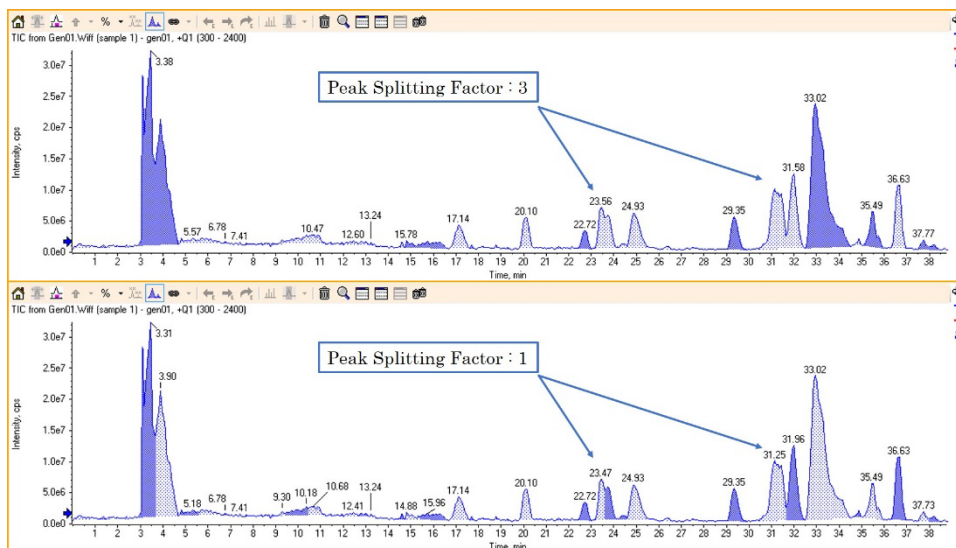
4.3.2 Data and Peaks Table の積分パラメータを変更

- ① 前述の方法で Peaks Table を表示します。
- ② メニューバーの Edit より Options... を選択します。
- ③ Options 画面が立ち上がりますので、Peak Labeling & Finding タブで、プルダウンより Chromatograms に変更し、積分パラメータを変更し、OK をクリックします。


※ Training では、Peak Splitting Factor を 3 に変更してください。

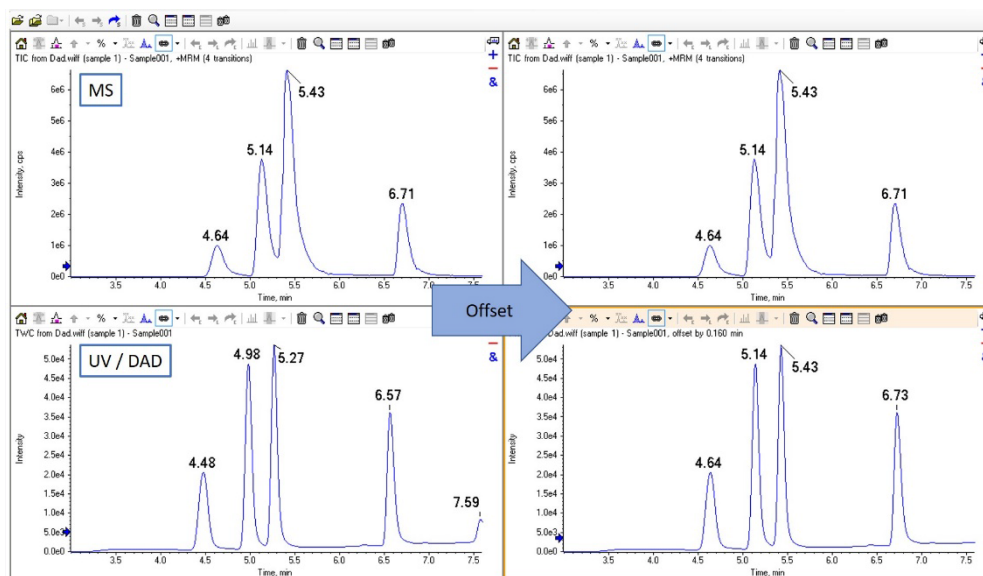


- ④ 新しい Peak Splitting Factor によりピークが再計算されます。



4.3.3 UV または DAD データの表示

- ① Explore モードの Open Sample... より目的の File を開きます。
 - ※ Training では SCIEX OS_Quad Data_Example の Projects から Data を選択し、Dad.wiff を開いてください。
- ② メニューバーの Show DAD Total Wavelength Chromatogram (TWC) を選択します。
 - ※ UV でデータを取得されている場合は、UV/DAD/ADC Channel を選択します。
- ③ 上段に MS クロマトグラム、下段に UV または DAD クロマトグラムが表示されますので、上段下段のクロマトグラムをリンクさせて、ピークの拡大等の操作をしたい場合は、ツールバーアイコン  をそれぞれの Pane でクリックしてください。
- ④ MS クロマトグラムと UV または DAD クロマトグラムの溶出時間のズレを調整したい場合は、メニューバーの Process から Offset Chromatogram を選択します。
 - ※ Training では、Offset 値を 0.16 と入力します。



DAD クロマトグラムから興味のあるピークの吸収スペクトルを確認するには、“4.1.3. バックグラウンドを差し引いたスペクトルの作成”を参照に吸収スペクトルを表示させます。

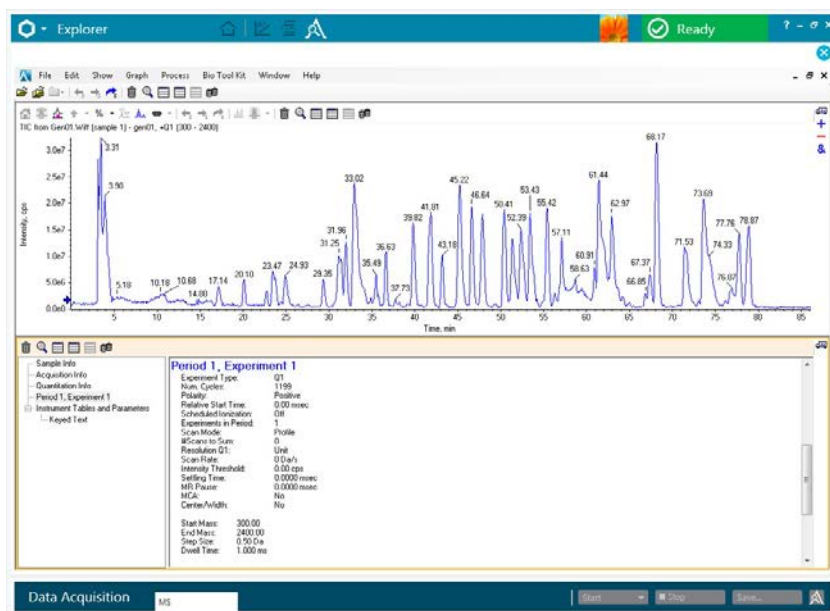
4.3.4 メソッドやキャリブレーション等の情報をデータファイルから表示する
ここでは Explore モードで開いたデータから測定に使用したメソッド条件やキャリブレーション等の情報を表示する方法を示しています。

① Explore モードの Open Sample... より目的の File を開きます。

※ Training では SCIEX OS_Quad Data_Example の Projects から Data を選択し、Gen01.wiff を開いてください。

② メニューバーの Show より Sample Information を選択します。

③ 分析条件など、データを取得したときの情報が表示されます。




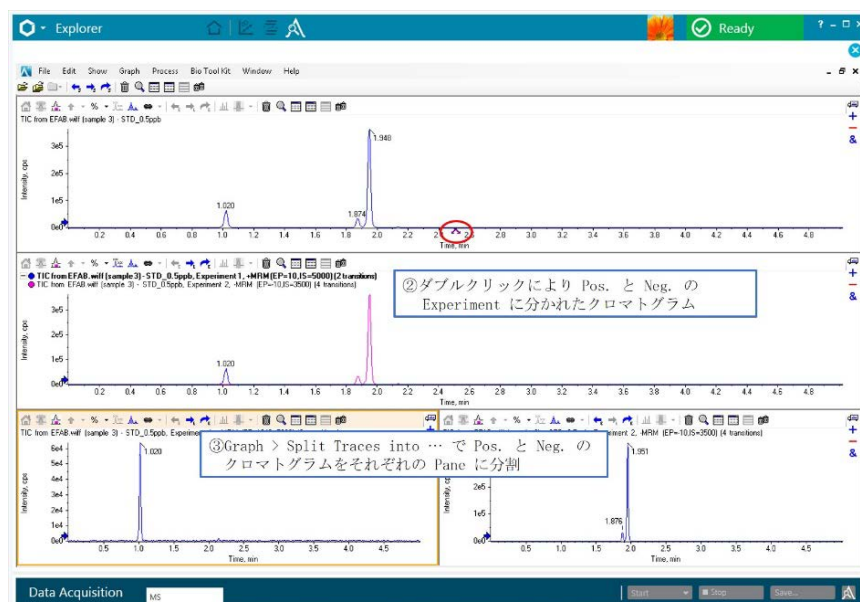
4.4 その他の機能-3

- この項ではメニューバーの **Window** の中に含まれている機能を用いて、S/N の表示方法、取得したデータポイントの確認方法などを紹介します。

4.4.1 S/N の表示

S/N を表示させる方法として、標準偏差を用いた算出方法と Peak to Peak を用いた算出方法の 2 通りを表示することができます。

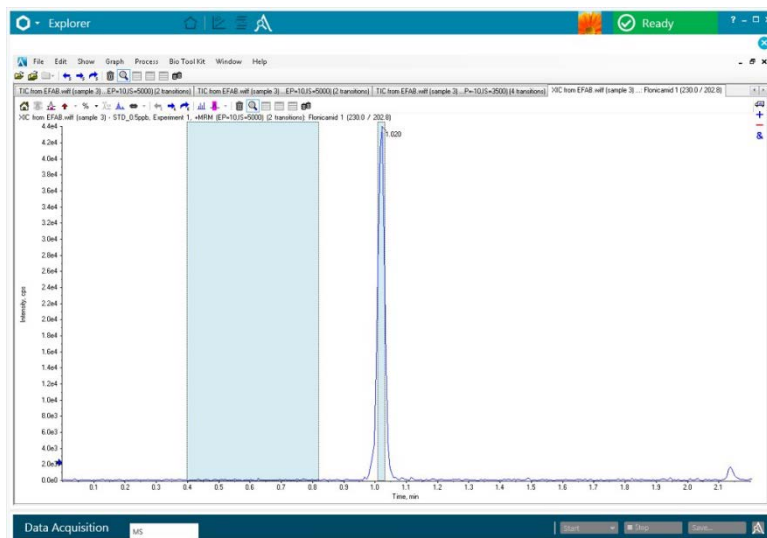
- ① Explore モードの **Open Sample...** より目的の **File** を開きます。
 - ※ Training では **SCIEX OS_Quad Data_Example** の **Projects** から **Data** を選択し、**EFAB.wiff** より **#3 – STD_0.5ppb** を開いてください。
 - ※ **Pos. / Neg.** スイッチングにより取得されたデータになります。
- ② クロマトグラム下部の時間軸の下にあるアイコン  をダブルクリックして、**Positive** モードで取得したクロマトグラムと **Negative** モードで取得したクロマトグラムを切り分けます。
- ③ メニューバーの **Graph** より **Split Traces into Separate Panes** を選択すると、**Number of Columns** という画面が立ち上がりますので、”2” column(s) と入力します。(分割したい **Pane** の数を入力します)
 - ※ 複数の **MRM** トランジションで取得したクロマトグラムの場合、目的の化合物の




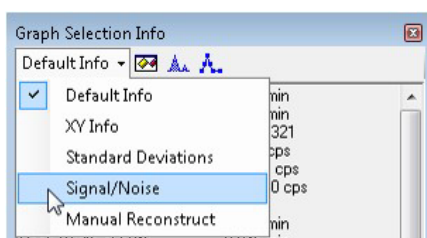
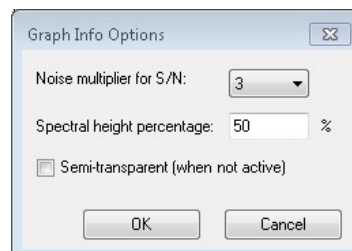
クロマトグラムを表示するには、その **Pane** がアクティブな状態でメニューバーの **Show** より **Extracted Ion Chromatogram (XIC)** を選択し、表示された画面より目的のトランジションを選択します。

- ※ Training では **Pos.** の **Pane** より **Flonicamid 1 (230.0 / 202.8)** を表示させます。

- ④ Noise に指定したい範囲（例では 0.4 ～ 0.8 分あたり）をドラックします。
- ⑤ キーボードの **Shift** キーを押しながらピーク（ピークトップを含めば可）をドラックします。




- ⑥ メニューバーの **Window** から **Graph Selection Window** を選択します。
- ⑦ **Graph Selection Info** 画面が立ち上がりますので、**Options**  アイコンをクリックします。
- ⑧ **Graph Info Options** の画面が立ち上がり、**Noise Multiplier for S/N** に“3”と入力し、**OK** をクリックします。
- ⑨ **Graph Selection Info** 画面の **Default Info** をプルダウンすることにより、**Signal/Noise** を選択することができます。

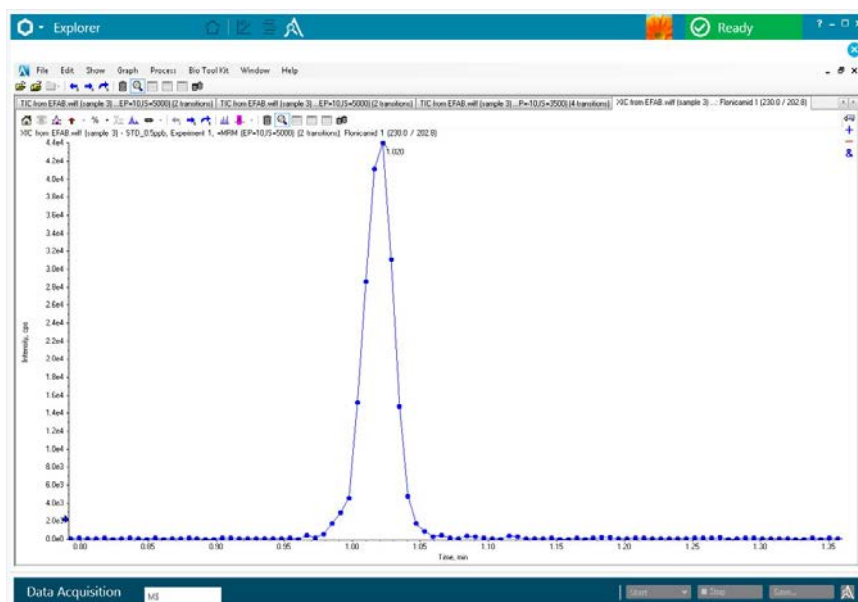


- ⑩ **Graph Selection Info** 画面を下にスクロールすると **S/N** (上 : 標準偏差、下 : Peak-to-Peak) が表示されます。

Peak Time:	1.020 min
Peak Width at 50%:	0.025 min
Points Across Peak at 50%:	4
Peak Width at Base:	0.149 min
Points Across Peak at Base:	24
Peak Area:	7.206e4
Subtracted Height:	4.393e4 cps
Signal/Noise (3 sigma):	261.5
Peak-to-Peak S/N:	159.7

4.4.2 クロマトグラムの取得データポイントの表示

- ① Explore モードの Open Sample... より目的の File を開きます。
 - ※ Training では SCIEX OS_Quad Data_Example の Projects から Data を選択し、EFAB.wiff より #3 – STD_0.5ppb を開いてください。
 - ※ 4.4.1. の③までの操作を繰り返し、Flonicamid 1 (230.0 / 202.8) を表示させます。
- ② メニューバーの Window から Graph Selection Window を選択します。
- ③ Graph Selection Info 画面が立ち上がりますので、Show point symbols アイコンをクリックすると、データ取得ポイントを含むクロマトグラムが表示されます。 



5 定量(SCIEX OS Software Analytics モードによる定量)

この章で学べること

SCIEX OS Software の Analytics モードでの定量について解説します。

Project の SCIEX OS_Quad Data_Example 内にあるデータやトレーニング中に取得したデータを使った検量線の作成など、定量を目的とした解析を行います。

使用頻度の高い機能の説明と活用法を抜粋してご紹介します。

5.1 Results Table の編集と解析

5.2 イオン比の表示方法

5.3 統計計算 (Statistics)

5.4 Metric Plot の作成と実行方法

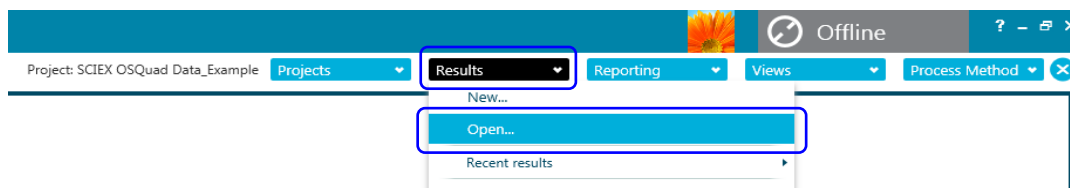
5.5 補足資料—SCIEX OS で使用できる定量アルゴリズムについて

本マニュアルに記載のない機能やアイコンの操作方法につきましては、SCIEX OS の Help をご参照ください。

5.1 Results Table の編集と解析

- ※ 解析を進める前に初級定量マニュアルに従って Results Table を作成して保存してください。
- ※ もしくは、SCIEX OS_Quad Data_Example の Project から EFAB_MQ4.qsession の Results Table を使用します。(データは EFAB.wiff を使用して作成しています。)

5.1.1 保存されている Results Table を開く



- ① 画面上部の Results > Open を選択します。
- ② Open Results Table session 画面が開きますので、目的の Results ファイルを選択して Open します。

5.1.2 検量線に用いるポイントを除く、または含める方法

<検量線に用いられているポイントを除外する操作方法>

- Results Table からの操作方法と検量線の表示画面からの操作方法があります。

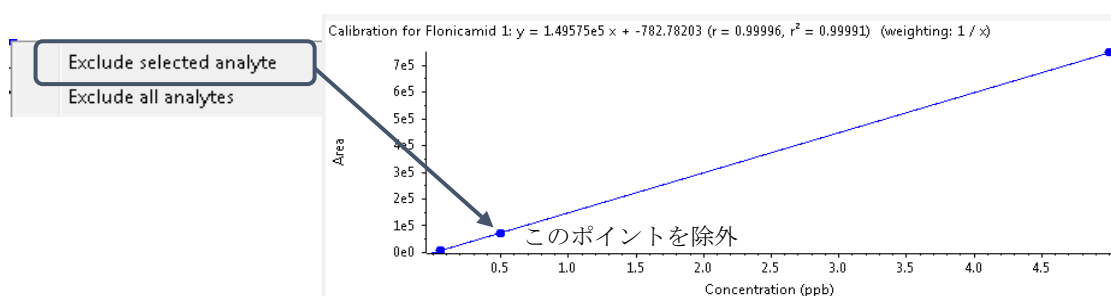
下記操作を実施する前に Calibration Pane 上で右クリックし、Show Excluded Standards にチェックを入れてください。

<Results Table からの操作方法>

- ① Results Table 上で、除外したい検量線ポイントの Used のチェックを外します。

<検量線の表示画面からの操作方法>

- ① 除外するポイントの上で右クリックし、Exclude selected analyte を選択します。
- ② ポイントが検量線から除外されると白まるになります。
- ③ すべての MRM トランジションについて、ポイントを除外する場合は、Exclude-All Analytes を選択して下さい。



<除外されているポイントを検量線に含める操作方法>

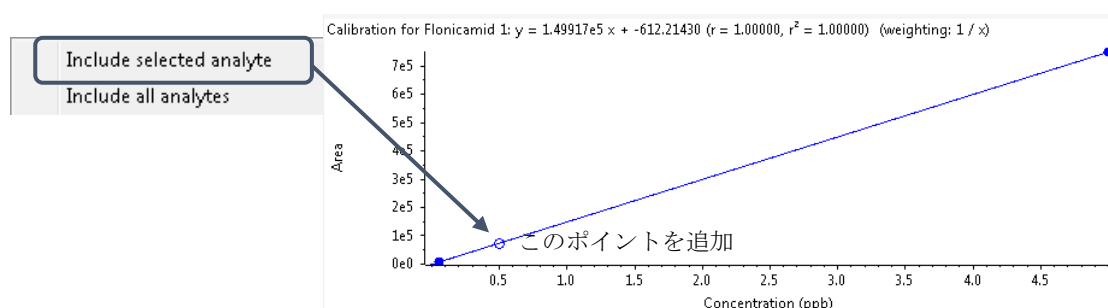
➤ Results Table からの操作方法と検量線の表示画面からの操作方法があります。

<Results Table からの操作方法>

① Results Table 上で、含めたい検量線ポイントの Used にチェックを入れます。



<検量線の表示画面からの操作方法>

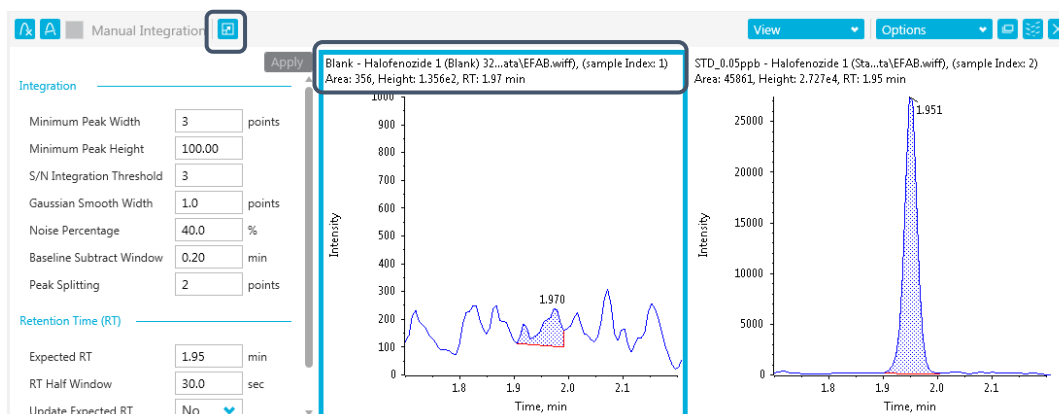
- ① 含めたいポイントの上で右クリックし、Include selected を選択します。
- ② ポイントが検量線に含められると青まるになります。
- ③ すべての MRM トランジションについて、ポイントを含める場合は、Include all analytes を選択して下さい。



5.1.3 積分パラメータを編集する方法

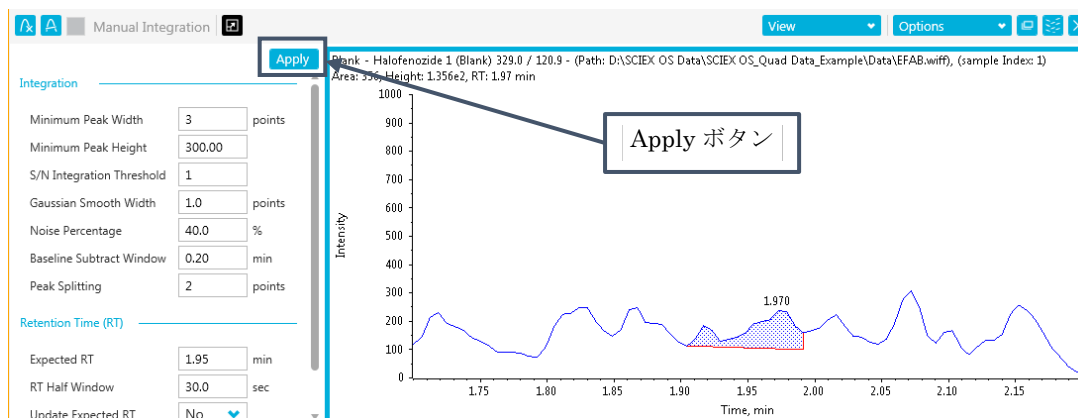
➤ 本テキストでは Blank でピークが検出されている場合、ピークとして認識されないように積分パラメータを変更する方法をご紹介します。

- ① Results Table 画面右上の Display the Peak Review アイコン  をクリックしてクロマトグラムを表示させます。
- ② Peak Magnifier アイコン  をクリックし、選択されているクロマトグラム（選択されているクロマトグラムは、水色の枠で囲まれています）を拡大します。
トレーニングでは、Halofenozide 1 (Analyte) の Blank (Sample) を選択して下さい。



③ パラメータを変更し、Apply をクリックします。

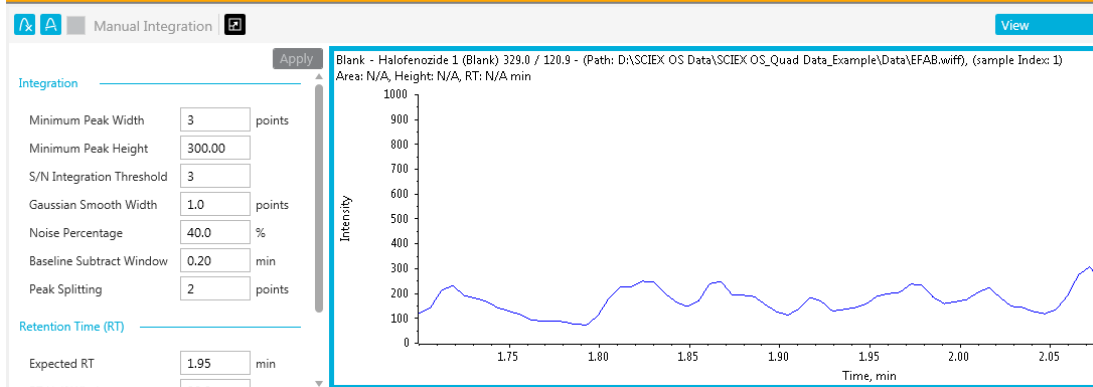
トレーニングでは、Min. Peak Height を 100 から 300cps に変更して下さい。



- ④ ピークは新しい設定で再計算され、Results table に反映されます。
 - ⑤ Results table 上の Area と Height の値が N/A になり、Modified の欄にチェックが入ります。
- ※ Modified は、積分パラメータが他のサンプルと異なることを示します。

Apply クリック後、「N/A」になり、Modified にチェックが入ります。

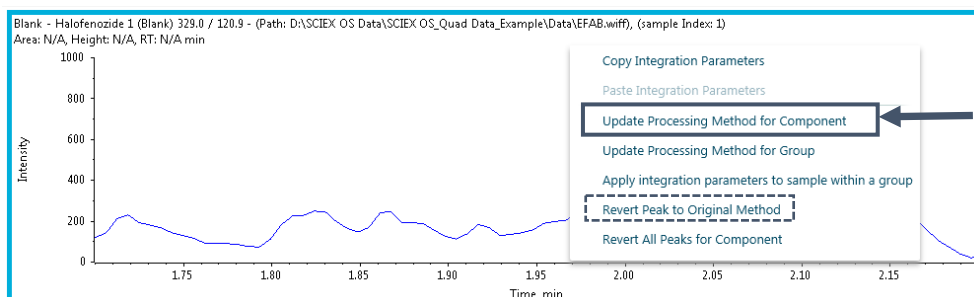
Index	Sample Name	Sample Type	Component Name	Compound Type	Compound Group Name	Actual Concentration	Area	Height	Retention Time	Modified	Used	Calc Conce
3	Blank	Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	N/A	N/A	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	N/A
9	STD_0.05ppb	Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.05	45861	27274	1.95	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.04
15	STD_0.5ppb	Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	449341	264975	1.95	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.57
21	STD_5ppb	Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	5.00	3038419	2207314	1.94	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	4.94
27	Blank	Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	376	192	1.94	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	< 0
33	STD_0.5ppb	Quality Control	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	422451	240571	1.95	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.53
39	STD_0.5ppb	Quality Control	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	411919	241174	1.95	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.52
45	STD_0.5ppb	Quality Control	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	417355	242730	1.95	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.52
51	STD_0.5ppb	Quality Control	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	392861	235109	1.94	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	0.49



5.1.4 変更した積分パラメータ設定をすべてのデータに適用する方法

- ▶ 5.1.3 で積分パラメータを変更後、Apply したサンプル（ここでは Blank）以外については元の積分パラメータのままです。
- ▶ 新しい設定をすべてのサンプルに適用するためには、Update Processing Method for Component の操作が必要となります。

- ① Peak Review 画面上で右クリックし、Update Processing Method for Component を選択します。



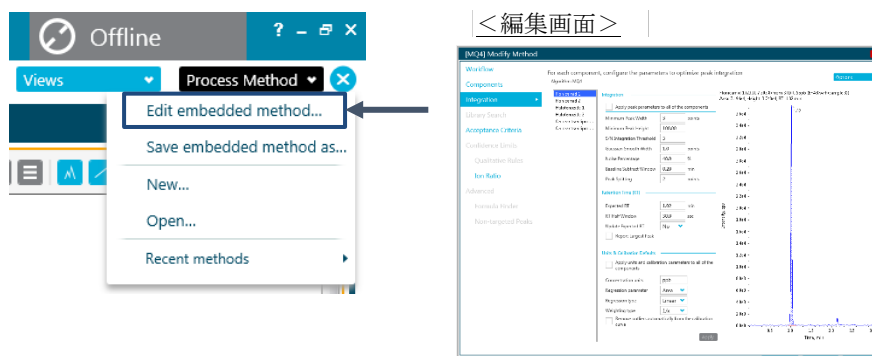
- ② 選択後、全サンプルのピークに対し、変更した積分パラメータで再計算されます。
- ③ Results table 上の Area と Height、Calculated Concentration が再計算した値に変わります。
- ④ Update Processing Method for Component により、全てのサンプルが同じパラメータに設定されたので、Modified 欄のチェックが消えます。

<補足>

Revert Peak to Original Method : Apply を行ってパラメータを変更した後、変更前のパラメータに戻すことができます。Update Processing Method for Component を選択する前に有効です。

積分パラメータの変更は、Process Method を編集する事でも可能です。

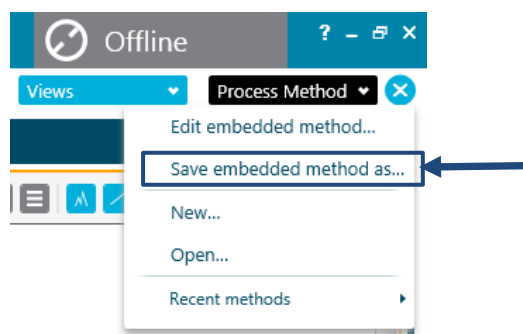
- ① 画面右上の Process Method > Edit embedded method から編集画面を開きます。
- ② 編集画面にて Results table を出力する際のすべてのパラメータ（検量線の重み付けやトランジションの選択含めて）を変更することができます。
- ③ 設定した後、Process & Close をクリックすることで、そのメソッドが適用され、すべての値が再計算されます。



5.1.5 変更したピーク積分パラメータを定量解析用メソッド (Processing Method) へ保存する方法


- 5.1.4 で変更した積分パラメータは、定量解析用メソッド (Processing Method) へ自動的に保存されませんので、保存するのを忘れないようにして下さい。

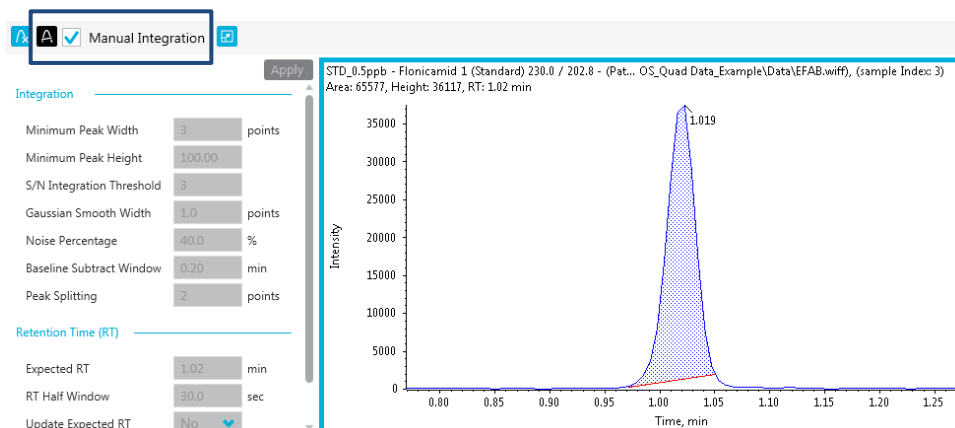
- ① Update Processing Method for Component もしくは Edit embedded method を行った後、画面右上の Process Method > Save embedded method as を選択します。
- ② Save As 画面が表示されますので、File name に名前を付けて Save で保存します。上書き保存も可能です。



5.1.6 手動でピークを認識させる方法 (Manual Integration)

- 手動でピークを切る場合には、Manual Integration Mode を使用します。

- ① Peak Review 画面の Enable Manual Integration Mode のアイコン  をクリックします。
- ② ドラッグしながらベースラインを引いて、ピークを認識させます。
- ③ Manual Integration を実施したピークについては、その記録 (Manual Integration) のチェックが入ります。

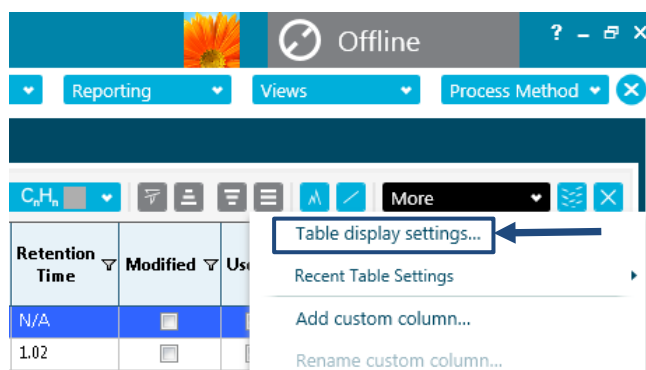


- ④ この操作をした後でも、Manual Integration のチェックを外す、または、右クリックのメニューから Revert Peak to Original Method を選択することにより、元のピーク認識に戻すことができます。

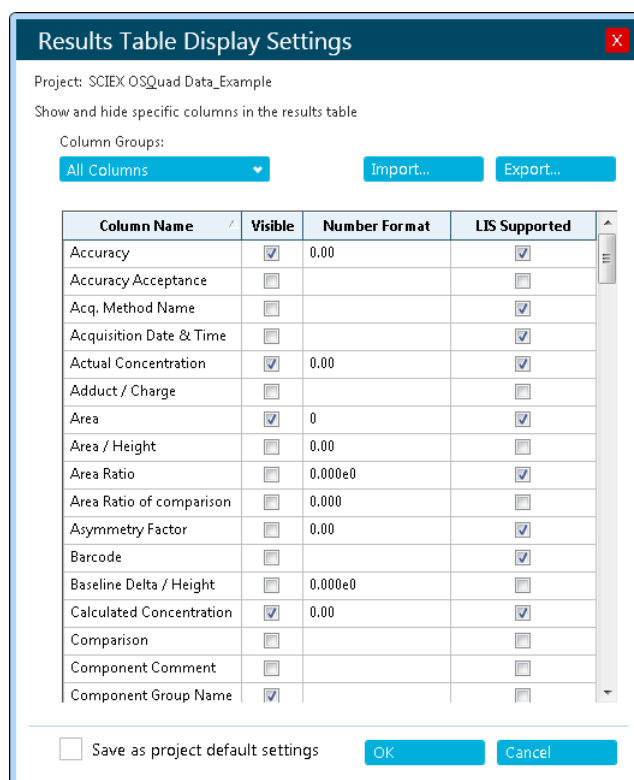
5.1.7 Results table の表示設定 (Table display settings) を変更する方法

➤ Results table の表示設定を変更することができます。

① Results table 画面右上の More > Table display settings を選択します。



② Results Table Display Setting 画面が開きますので、Results table に表示させたい項目の Visible にチェックを入れます。Number Format で整数や小数点、指数表示などの表示形式を変更します。表示する小数点以下の桁数も変更できます。



③ ここで入力した小数点以下の桁数以上の値は、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。

④ 変更して OK をクリックします。

<補足>

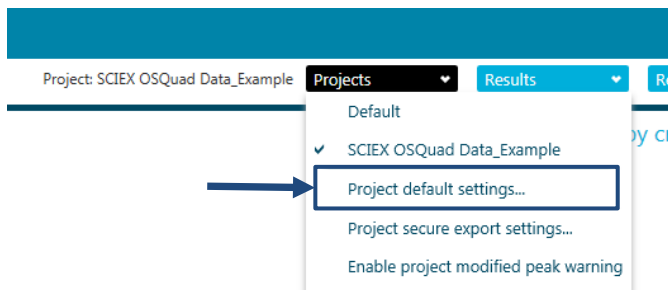
Export で設定した Table display settings を保存できます。また、Export で保存した Table display settings ファイルを Import で読み込むこともできます。

Save as project default settings にチェックを入れて OK をクリックすると、これ以降、新規作成される Results table に対して現在の Table display Settings の設定が反映されます。

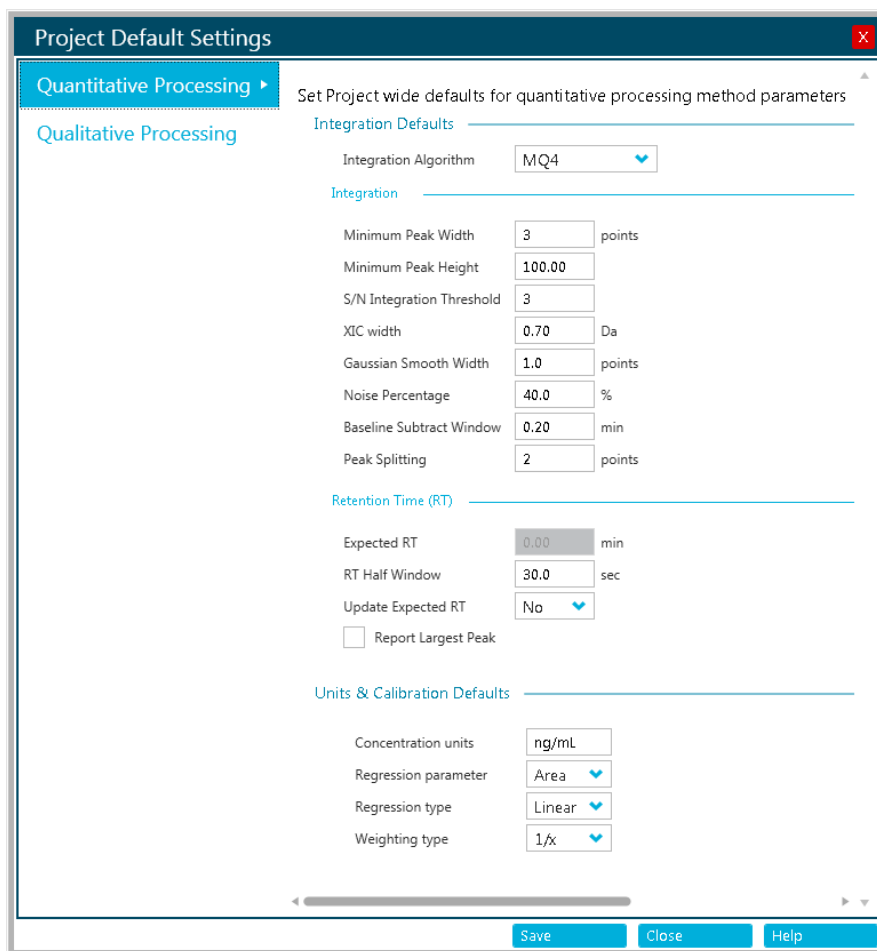
5.1.8 積分パラメータや濃度単位、検量線の種類の初期設定を変更する方法

- ▶ 積分パラメータや濃度単位、検量線の種類の初期設定を変更することができます。よく利用する積分パラメータや濃度単位を設定しておくると便利です。

- ① 画面上部の **Projects > Project default settings** を選択します。

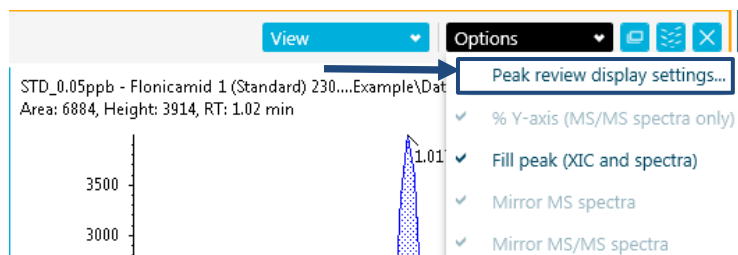


- ② **Project Default Settings** 画面が開きますので、**Quantitative Processing** の項を選択します。
- ③ **Integration** の項目で積分パラメータの初期値や、**Units & Calibration Defaults** の項目で濃度単位や検量線の種類などの初期設定を変更して、**Save** をクリックします。



5.1.9 Peak Review の表示方法（クロマトグラムの数や縦軸）を変更する方法

- ① Peak Review 画面右上の Options > Peak review display settings を選択します。

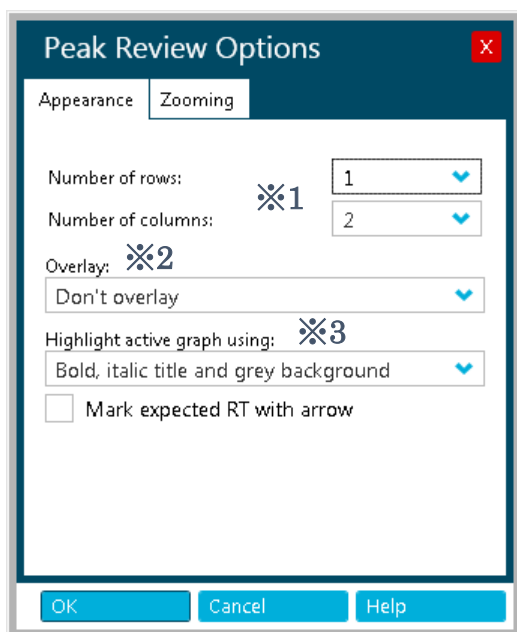


- ② Peak Review Options 画面が表示されますので、表示方法の設定を行い、OK をクリックします。

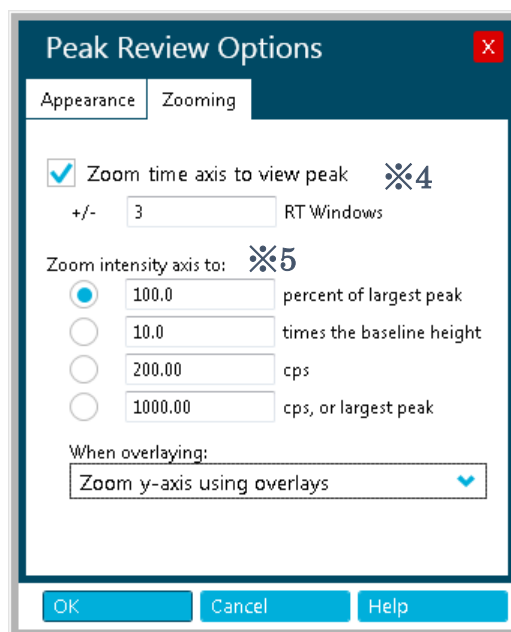
<補足>

- ※1 Number of rows、columns : 表示するクロマトグラム数（縦、横数）
- ※2 Overlay : クロマトグラムの重ね書きの設定
- ※3 Highlight active graph using : (現状では使用できません)
- ※4 Zoom time axis to view peak : クロマトグラムの X 軸の拡大表示の設定
- ※5 Zoom intensity axis to : クロマトグラムの Y 軸の表示方法の設定

<Appearance タブ>



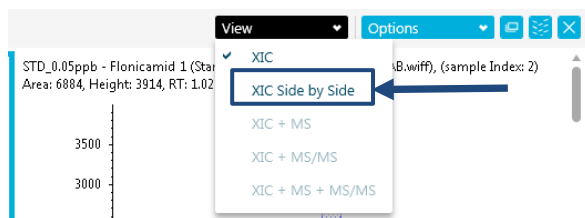
<Zooming タブ>



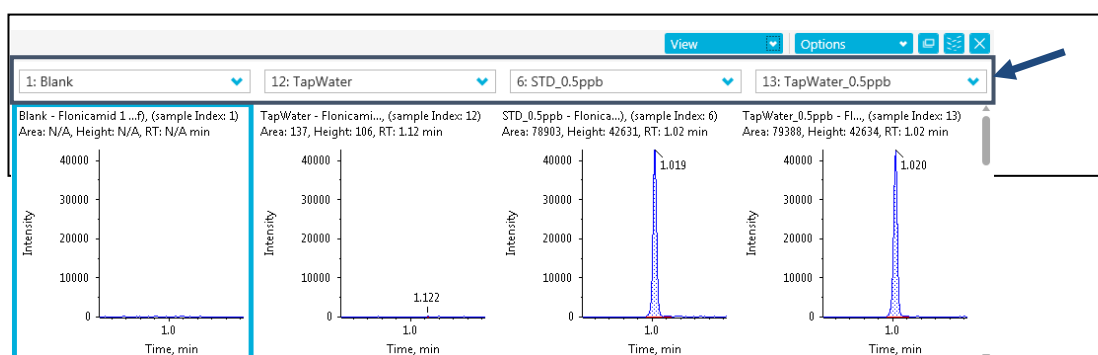
5.1.10 任意のクロマトグラムの並列表示 (XIC Side by Side)

➤ 任意のサンプル間でピークの Intensity を比較する際に使用します。最大 6 個のサンプルを選択することが可能です。

① Peak Review 画面右上の View > XIC Side by Side を選択します。



② XIC Side by Side 内の各プルダウンから比較するサンプルを選択してください。



<補足>

XIC Side by Side のクロマトグラムの表示数を変更する際は、5.1.9 を参照してください。

5.1.11 Results table で特定の Sample Type のみ表示させる方法

➤ Results table で、特定の Sample Type のみ表示させることができます。

① Results table の Sample Type の項目名の右横の ▾ をクリックし、表示させたいサンプルの種類にチェックを入れます。

Index	Sample Name	Sample Type	Component Name	Compound Type	Mass Info	IS Name
31	STD_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
37	STD_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
43	STD_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
49	STD_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
55	STD_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
73	TapWater_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
79	TapWater_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
85	TapWater_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
91	TapWater_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)
97	TapWater_0.5ppb	Quality Control			0.0 / 202.8	(No IS)

<補足>

※ 表示をもとに戻す場合は、Clear Filter を選択します。



5.1.12 Results table の並べ替えの方法


- Results table に表示されている各項目の並び替えができます。数値を小さい順に並べ替えたり、項目の表示順を並べ替えることが可能です。

数値や名前の並べ替え

- ① Results table 上で、並べ替えたい列の項目をクリックします。選択した列が青色に反転します。(数値以外も同様に並べ替えることができます。)

Sample Type	Component Name	Compound Type	Component Group Name	Actual Concentration	Area	Height	Retention Time
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	356	136	1.97
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.05	45861	27274	1.95
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	449341	264975	1.95
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	5.00	3838419	2287314	1.94
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	376	192	1.94
Quality Control	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	422451	248571	1.95

- ② Results table の右上にある Sort selected column from smallest to largest (昇順) アイコン 、または Sort selected from largest to smallest (降順) アイコン  をクリックすると並べ替えができます。

- ③ Removes any previous sorting アイコン  で元に戻せます。

Sample Type	Component Name	Compound Type	Component Group Name	Actual Concentration	Area	Height	Retention Time
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	146	110	2.00
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	214	131	2.14
Unknown	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	266	184	1.97
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	356	136	1.97
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	376	192	1.94

項目の並べ替え

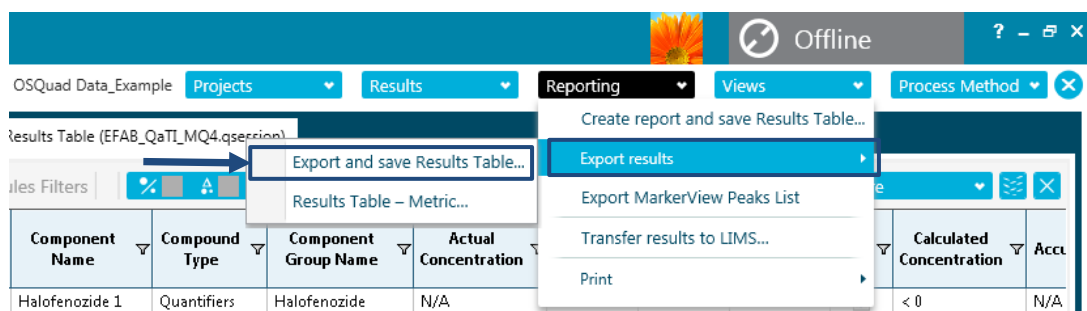
Results Table 上で、並べ替えたい項目をクリックしたまま、移動させたい場所へドラッグします。移動先の目安に黒い矢印が表示されますので、お好みの場所でドロップします。

Sample Type	Component Name	Compound Type	Component Group Name	Actual Concentration	Area	Height	Retention Time
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	356	136	1.97
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.05	45861	27274	1.95
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	449341	264975	1.95
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	5.00	3838419	2287314	1.94

5.1.13 Results table をエクセルで読み込める形式として出力する方法

➤ Results table をテキスト形式で出力することができます。

- ① 画面右上の Reporting > Export results > Export and save Results Table を選択します。



- ② Export 画面が開きますので Format、Columns、Rows の各項目で出力する形式や情報を選択し、OK をクリックします。
- ③ Save As 画面が開きますので、保存する場所、File Name を入力し Save をクリックします。

<補足>

Format :

Use dot (.) as decimal separator ...

小数点記号はドット (.) を使用します。

Use comma (,) as decimal separator ...

小数点記号はコンマ (,) を使用します。

Columns :

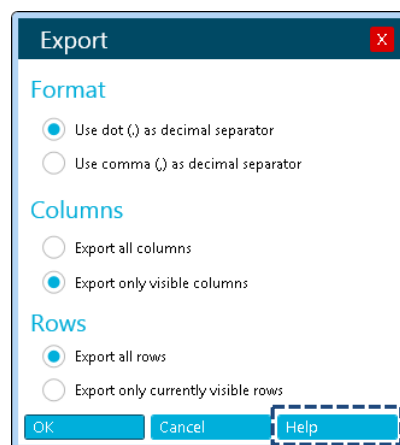
Export all columns ... 非表示となっている項目もすべて出力されます。

Export only visible columns ... 表示されている項目のみ出力されます。

Rows :

Export all columns ... 非表示となっている項目もすべて出力されます。

Export only currently visible columns ... 現在表示されている項目のみ出力されます。フィルタリングによって非表示になっている項目は出力されません。

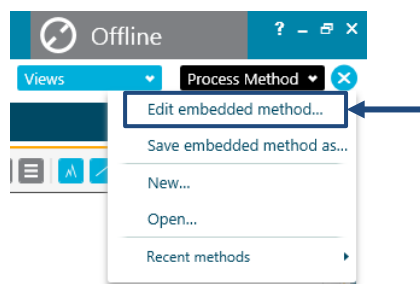


※詳細は Export 画面右下の Help をご参照ください。

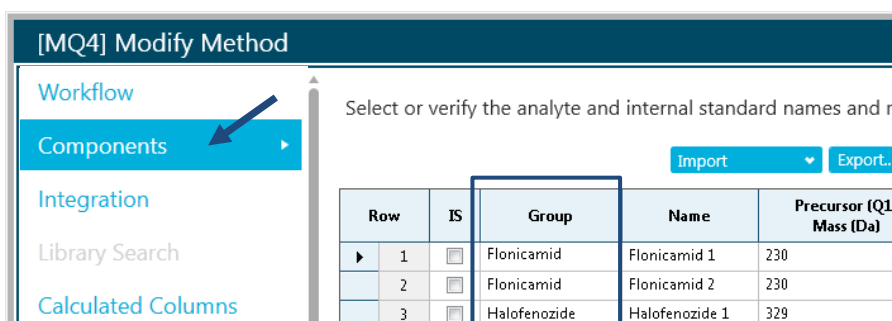
5.2 イオン比の表示方法

- イオン比の判定基準をクロマトグラム上に表示することで、目視で簡単に素早く、陽性の判定が可能になります。

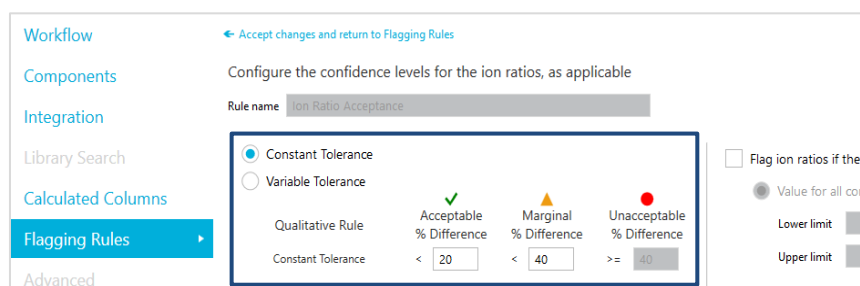
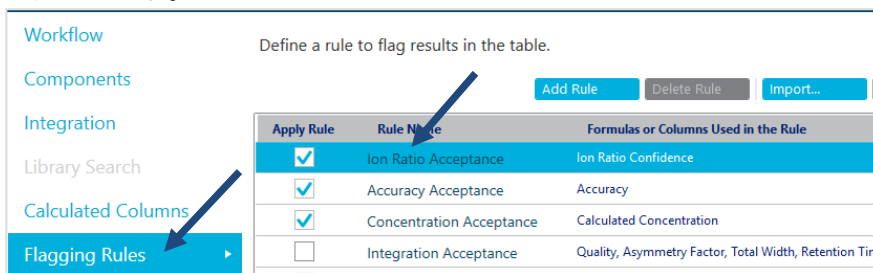
- ① Results table を開き、画面右上の Process Method > Edit embedded method を選択します。



- ② Modify Method 画面が開きますので、Components の項を選択し、Group 欄にグループ名を入力します。



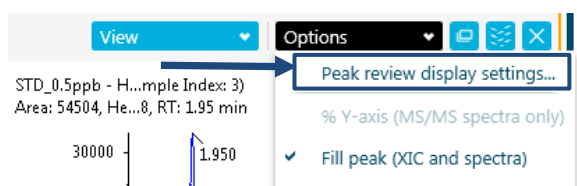
- ③ Flagging Rules、をクリックし、Ion Ratio Acceptance をクリックします。Tolerance (%) の欄が有効になりますので、イオン比の許容値を入力して Process & Close をクリックします。



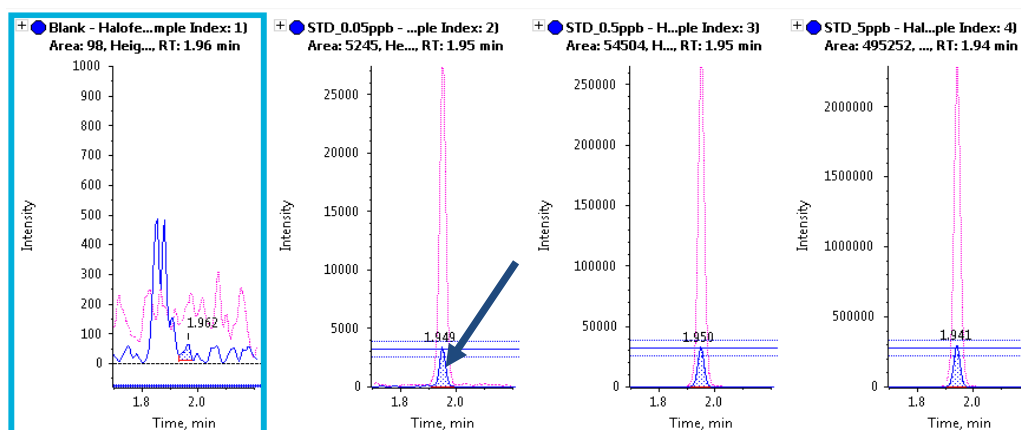
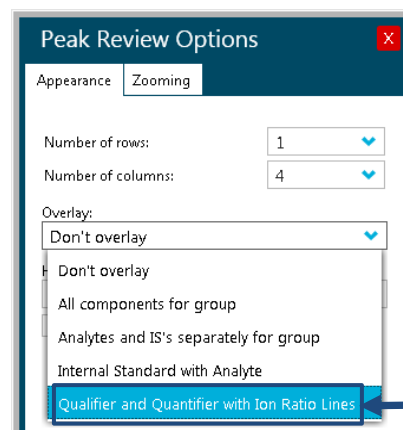
- ④ グループ化された Components の 2 番目以降が定性イオンとして認識され、Results table が再計算されます。Results table の Ion Ratio の欄にイオン比が、Ion Ratio Confidence の欄に許容値内か否かの判定が表示されます。

Component Name	Compound Type	Component Group Name	Actual Concentration	Area	Height	Retention Time	Used	Calculated Concentration	Accuracy	Ion Ratio	Ion Ratio Confidence
Halofenozide 2	Qualifiers	Halofenozide	N/A	1553	481	1.86	<input checked="" type="checkbox"/>	0.01	N/A	4.37	●
Halofenozide 2	Qualifiers	Halofenozide	0.05	5245	3377	1.95	<input checked="" type="checkbox"/>	0.05	92.62	0.11	●
Halofenozide 2	Qualifiers	Halofenozide	0.50	54504	33118	1.95	<input checked="" type="checkbox"/>	0.54	108.12	0.12	●

- ⑤ Peak Review 画面を表示します。
Peak Review 画面右上の Options > Peak review display settings を選択します。



- ⑥ Peak Review Options 画面が表示されますので、Appearance タブの Overlay で Qualifier and Quantifier with Ion Ratio Lines を選択して OK をクリックします。
⑦ 定性イオンのクロマトグラムにイオン比の許容範囲を示す線が表示されます。



<補足>

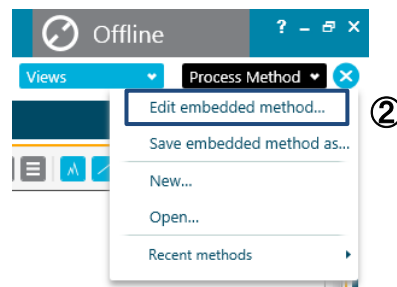
Ion Ratio や Ion Ratio Confidence が Results Table に表示されない場合は、「5.1.7 の Results Table の表示設定を変更する方法」を参照し、Table display settings 画面で Ion Ratio や Ion Ratio Confidence の項目にチェックを入れてください。

5.3 任意の計算値の表示方法

➤ 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。

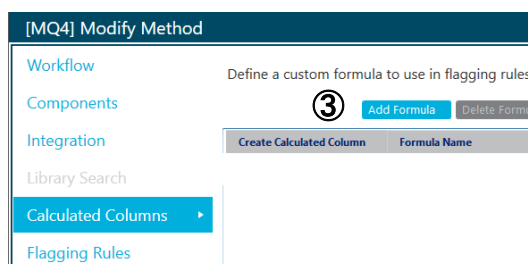
➤ 例：内部標準（IS）の面積の変動を評価します。

① 画面上部の Results > Open を選択し、既存の Result Table を表示します（sulfa curve.qsession）。



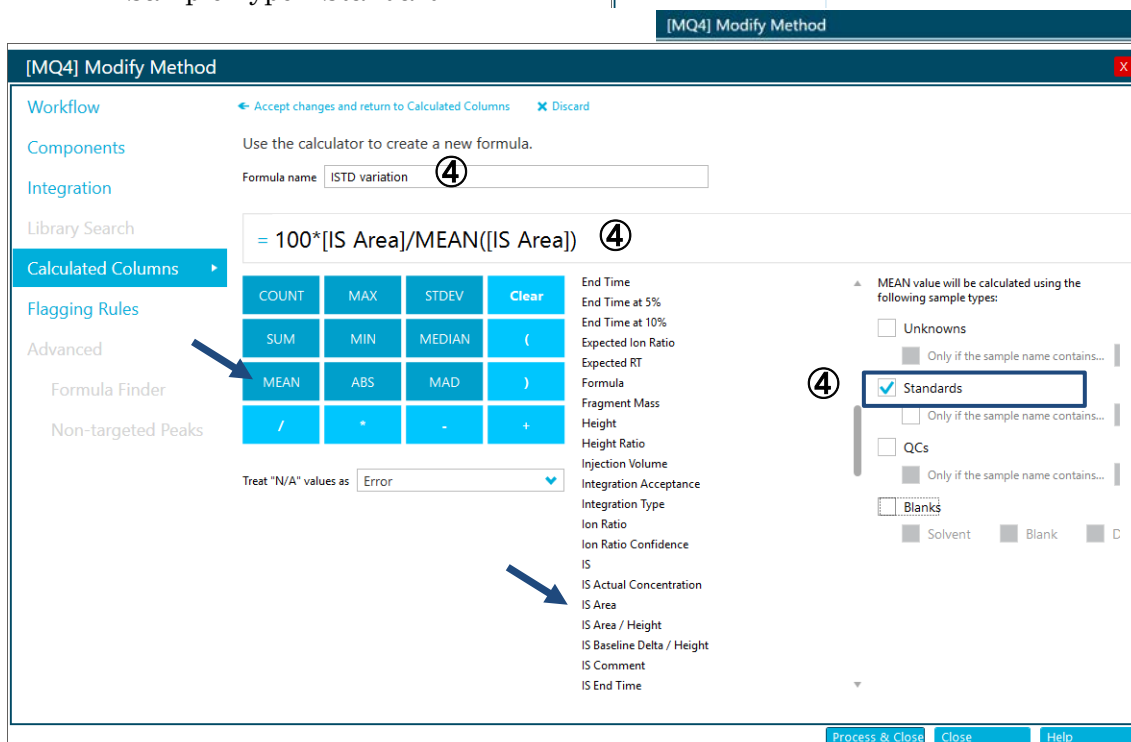
② 画面右上の Process Method > Edit embedded method を選択します。

③ Calculated Columns をクリックし、Add Formula をクリックします。



④ 下図を参考に、入力と設定を行います。

Formula Name : ISTD variation
 式 : $100 * [IS Area] / MEAN([IS Area])$
 Sample Type : Standard



⑤ Flagging 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。

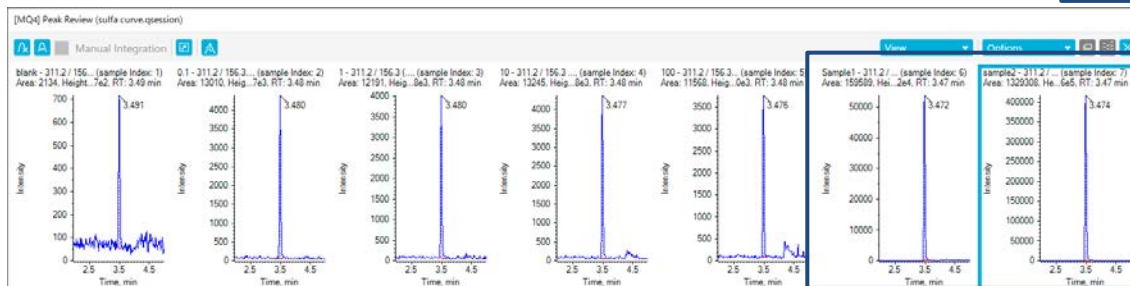
Rule name : ISTD variation

Flag a results columns : ISTD variation

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はハイライトされます。

Index	Sample Name	Sample Type	Component Name	Compon... Type	IS Name	Component Group Name	Actual Concentration	Area	Retention Time	Used	Calculat... Concen...	Accu... RT	Rep...	*ISTD variation
1	blank	Blank	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		N/A	44	1.87	<input checked="" type="checkbox"/>	0.07	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	17.066
4	0.1	Standard	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		0.10	411	1.72	<input checked="" type="checkbox"/>	0.09	91.42	<input checked="" type="checkbox"/>	104.051
7	1	Standard	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		1.00	6115	1.71	<input checked="" type="checkbox"/>	1.08	108.19	<input checked="" type="checkbox"/>	97.497
10	10	Standard	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		10.00	63021	1.71	<input checked="" type="checkbox"/>	10.05	100.52	<input checked="" type="checkbox"/>	105.932
13	100	Standard	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		100.00	548132	1.70	<input checked="" type="checkbox"/>	99.88	99.88	<input checked="" type="checkbox"/>	92.520
16	Sample1	Unknown	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		N/A	31144	1.70	<input checked="" type="checkbox"/>	0.44	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	1276.339
19	sample2	Unknown	251.2 / 108.2	Quantifiers	311.2 / 156.3		N/A	356285	1.67	<input checked="" type="checkbox"/>	0.59	N/A	<input checked="" type="checkbox"/>	10631.348



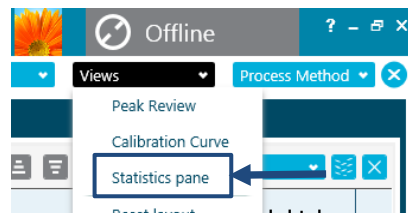
これにより、Unknown である Sample1 および 2 の IS の面積が Standard に比べて大きいことが確認できます。

5.4 統計計算 (Statistics)

- ▶ Results Table の Statistics 機能を使用することで、統計計算を実行することができます。

5.4.1 平均値、標準偏差、CV 値 (%) の計算と表示

- ① 画面右上の View > Statistics pane を選択します。
- ② Statistics Pane が表示されます。Statistics Pane 上部の Group by Concentration for Standards をクリックし、Group by Concentration for QCs を選択します。



- ※ 上記以外にも、“Sample Name が同一” かつ “Standard もしくは QC” の統計計算を表示させることが可能です。なお、Sample Name や Component Name の変更は Results table から変更可能です。

Row	Component Name	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Accuracy	Value #1
1	Halofenozide 1	0.05	1 of 1	0.04	N/A	N/A	88.17	0.04
2	Halofenozide 1	0.50	1 of 1	0.57	N/A	N/A	113.01	0.57
3	Halofenozide 1	5.00	1 of 1	4.94	N/A	N/A	98.82	4.94

- ③ Sample Type が Quality Control になっている同じ濃度のサンプルについて、Mean (平均値)、Standards Deviation (標準偏差)、Percent CV (CV 値 (%))、Accuracy の平均が表示されます。

Row	Component Name	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Accuracy	Value #1	Value #2	Value #3	Value #4	Val
1	Halofenozide 1	0.50	10 of 10	0.50	0.02	4.93	99.96	0.53	0.52	0.52	0.49	0.52

- ④ Statistics Pane 画面右上の Calculated Concentration をクリックすると、Area や Height での結果表示に変更することもできます。Area や Height の場合は、Accuracy の平均は表示されません。

<補足>

この操作を行うためには、同じ濃度 (Actual Concentration) の Standard または QC のサンプルが複数あることが必要です。

- ②の画面では、Results table 中に同じ濃度の Standard が 1 つしかないため、Standard Deviation、Percent CV は N/A で表示されています。

Value # は Results table の各々の値が表示されます。Results Table で Used のチェックが外れている場合は統計計算に使用されないため、Num.Values に含まれず、Value #の数値に取り消し線が入ります。

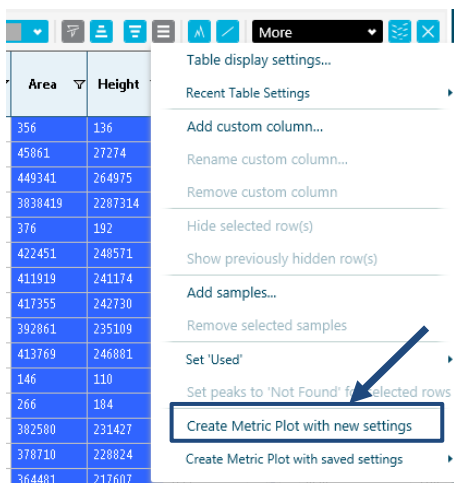
5.5 Metric Plot の作成と実行方法

- Metric Plot の操作により、Results table 上の任意の二つの値について、グラフを作成することができます。

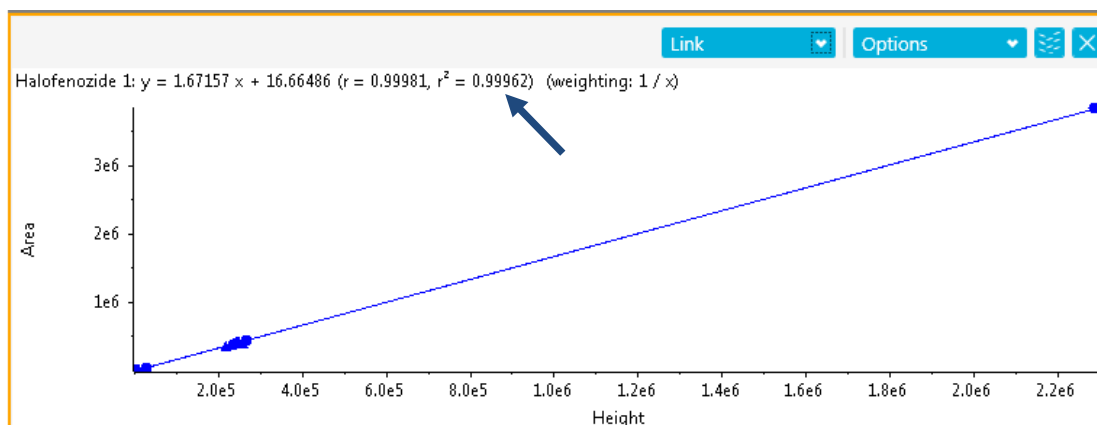
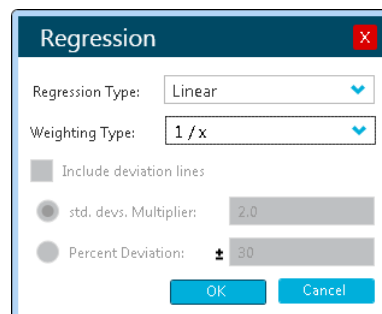
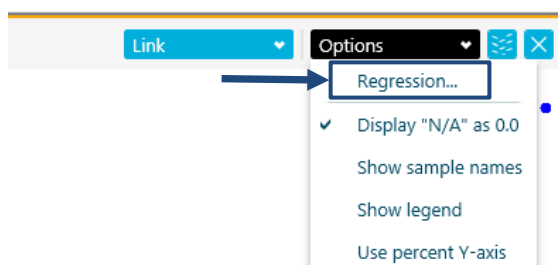
① Result table 上で横軸 (X 軸) に設定したい項目をクリックします。Ctrl キーを押しながら縦軸 (Y 軸) に設定したい項目をクリックします。選択した列が青色に反転します。

(本テキストでは、X 軸に Height、Y 軸に Area を指定しています。)

- ② Results table 画面右上の More > Create Metric Plot with new settings を選択します。
- ③ Metric Plot Pane が表示されます。Metric Plot Pane 右上の Options > Regression を選択します。



Regression 画面が開きます。検量線と同様に、線形の種類や重み付けなどが設定できます。Regression Type や Weighting Type を指定して OK をクリックします。



5.6 補足資料—SCIEX OS で使用できる定量アルゴリズムについて

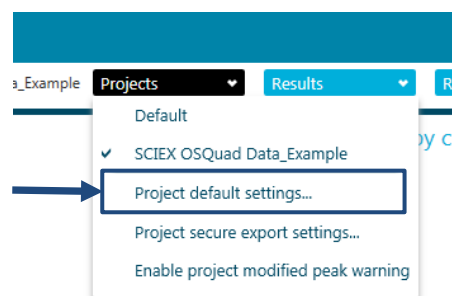
- SCIEX OS の Analytics モードでは、3 種類の定量アルゴリズムを備えており、それぞれ以下のような特徴があります。
 - ✓ **MQ4**: 一般的によく使われるアルゴリズムです。Analyst Software の Quantitate Mode での IntelliQuan で採用されている MQIII アルゴリズムに近いアルゴリズムです。本テキストで使用している Results table (EFAB_MQ4. qsession) は MQ4 アルゴリズムを使用して作成しています。
 - ✓ **AutoPeak**: 標準品などから構築したピークモデルに基づき、ピーク面積を求めます。Saturation Correction 機能があり、MS の検出器の飽和による直線性の欠如をデータ解析で補正することができます。
 - ✓ **Summation**: 予想保持時間に近接するピークがある場合、自動的にピーク面積を計算するアルゴリズムです。
GLP 施設での利用はおすすめしていません。

使い分けとしては、通常は MQ4 で解析し、検出器の飽和などを補正したい場合は AutoPeak をお勧めしています。(Summation の使用は、通常おすすめしていません。)

※ 各アルゴリズムの詳細については、SCIEX OS の Help をご参照ください。

5.7 定量アルゴリズムの変更方法

- ① 画面上部の Projects > Project default settings を選択します。



- ② Project Default Settings 画面が開きます。
- ③ Quantitative Processing の項を選択し、Integration Algorithm をプルダウンから選択して、Save をクリックします。

5.8 レポートの作成

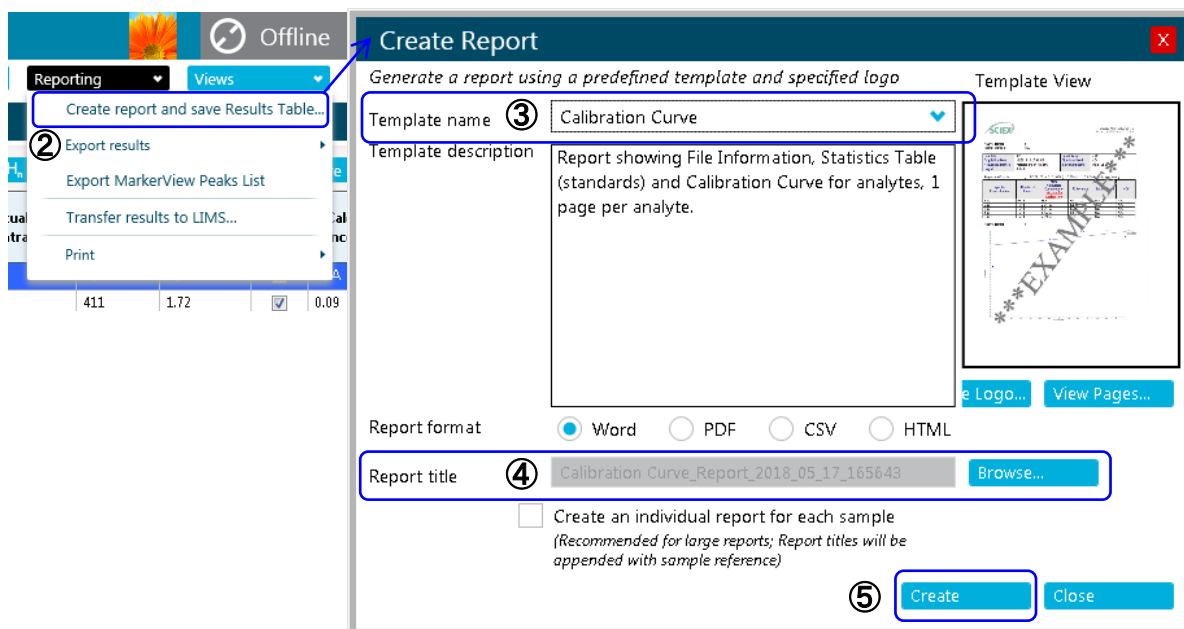
定量結果をレポートとして出力する方法

- 定量結果を Word や PDF のレポートとして出力することができます。

【注意】

- ※ バージョンによって、テンプレートや機能が異なりますので、予めご了承ください。
- ※ 詳細は Reporter Manual をご参照ください。
- ※ 任意のレポートテンプレートは有償で作成いたします。ご希望のお客様は、お見積もりをお送りいたしますので、弊社サポートへご連絡ください。

- ① Results table を開きます。ピーク積分など変更を加えた場合は、必ず保存し直してください。
- ② 画面上部の Reporting > Create report and save Results Table を選択します。
- ③ Create Report 画面が表示されますので、Template Name のプルダウンで目的に沿ったレポートテンプレートを選択します。
- ④ Report title の Browse をクリックしてファイル名の入力と保存先を選択します。
- ⑤ Create をクリックするとレポートが作成されます。



<補足>

デフォルトのレポートテンプレートが、C:\ProgramData\SCIEX
Analytics\Reporter のフォルダに保存されています。

その他、<https://sciex.jp/support-tools/analyst-multiquant-reporttemplate> からダウンロード可能です。

テンプレートの編集方法は **Reporter Manual** をご参照ください。

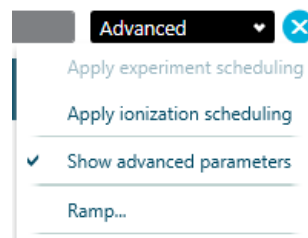
ダウンロードしたレポートテンプレートおよび編集・作成したレポートテンプレートは、上記のフォルダに保存してください。

参考資料：Q0Dの最適化（7500のみ）

バックグラウンドが高い、マトリックス由来の妨害ピークと測定化合物のピークが重なった場合に、Q0 Dissociation を使うことで、その影響を軽減もしくは排除ができる場合があります。

LC 条件がある程度決まった後で検討することを推奨します。

- ① 対象となる Transition を含む MS Method (MRM) を開きます。
- ② Advance の下矢印をクリックし、Show advanced parameters をクリックしてチェックを入れます。



Advanced Experiment Setting 欄 が追加されます。

- ③ Q0 dissociation のチェックボックスにチェックをいれ、Simple を選択します。

Experiment: MRM

Polarity: Positive Spray voltage: 5500 V

Advanced Experiment Settings

Settling time: 0 ms Pause time: 5 ms High mass cooling time: 0 ms

Q1 resolution: Unit Q3 resolution: Unit

Mass Table: Import Apply scan schedule

Q0 dissociation Simple

Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Q0D (V)
1	Group...	Compound 1	200.000	100.000	10.0	30.0	15.0	-10.0

- ④ Mass Table の複数の Row に、検討する Q0D (V) の値を -10 ~200 (Negative は、10~ -200) の範囲で入力します。
- ⑤ 各 Row には、異なる Compound ID を入力します。

Mass Table: Import Apply scan schedule

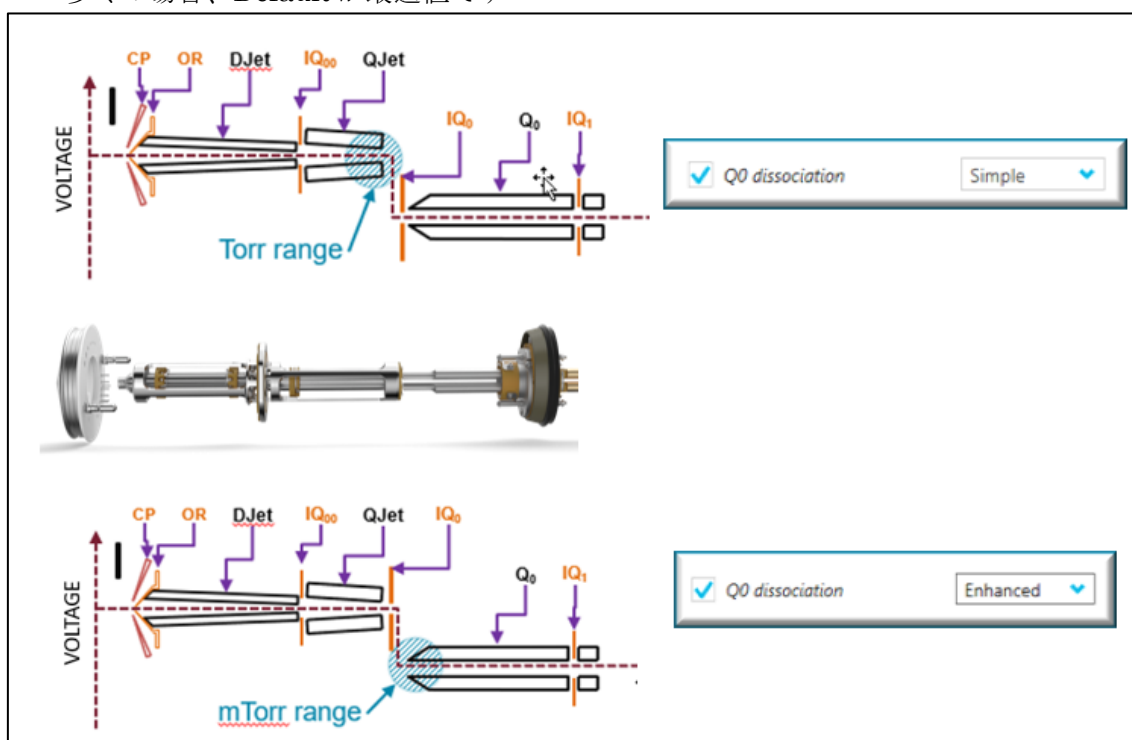
Group ID	Compound ID	Q1 mass (Da)	Q3 mass (Da)	Dwell time (ms)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)	Q0D (V)
1	Group 1 SDZ 1	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	-10.0
2	Group 1 SDZ 2	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	0.0
3	Group 1 SDZ 3	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	30.0
4	Group 1 SDZ 4	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	60.0
5	Group 1 SDZ 5	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	90.0
6	Group 1 SDZ 6	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	120.0
7	Group 1 SDZ 7	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	150.0
8	Group 1 SDZ 8	251.000	155.700	50.000	10.0	30.0	15.0	180.0

- ⑥ Dwell time は、ピーク幅を考慮して設定します。（「2.3 章 Dwell time の設定」を参照してください。）
- ⑦ Save as より、名前を付けて MS Method を保存します。

- ⑧ 作成した MS Method で、サンプルを LC-MS 測定します。
- ⑨ 測定したデータを Explore もしくは Analytics で解析し、バックグラウンドや妨害ピークの影響が最も少ない Q0D を決定します。
- ⑩ 必要に応じて、更に Q0D の範囲を狭めて再測定し、最適値を決定します。
- ⑪ 最適値を Mass Table 内の Q0D に入力します。
- ⑫ Save as より、名前を付けて MS Method を保存します。

Q0 dissociation

- チェックすることで、真空領域に入る全てのイオンに作用します
- MRM では、Simple Q0D の使用を推奨します
- Q0D の Default は Pos-10、Neg 10 です (Q0 と同じ値のため、非作用となります)
- 多くの場合、Default が最適値です



Simple

QJet®イオンガイドと IQ0 レンズ間の電位差 (高圧力領域)

- Q2 におけるコリジョンエネルギーと同様の働きをし、イオンを加速します
- DP と同様に、低い値ではクラスターを分解し、高い値ではプリカーサーイオンをフラグメンテーションします

Enhanced

IQ0 レンズと Q0 ロッド間の電位差 (低圧領域)

- Enhanced Q0D は、CE と同じかそれ以上に強く働き、プリカーサーイオンをフラグメンテーションします。擬似 MS3 ができます。

改訂履歴

版数	発行日	改定内容
2022年12月版	2022年12月	7500を追加 Q0Dの最適化を追加

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。

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™ is being used under license.

詳細な説明や知的所有権等に関しては付属のマニュアルを必ずご確認ください。

© 2022 K.K. AB SCIEX.