

TripleQuad™ /QTRAP®

LC/MS/MS System

シリーズ

中級定量トレーニングテキスト

-Analyst®ソフトウェア

SCIEX OS ソフトウェア説明用資料-

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

2019 年3 月版



<目次>

1. 設定	1-1
1.1 Hardware Profile の復旧、編集、作成方法	1-2
1.1.1. Hardware Profile の復旧	1-2
1.1.2. Hardware Profile の新規作成	1-2
1.1.3. Hardware Profile の編集	1-4
1.2 Report Template の作成方法	1-6
1.3 パラメータの設定について	1-8
2. 最適化	2-1
2.1 マニュアルで MRM トランジションを作成する方法	2-3
2.1.1. Q1scan を行い、Precursor ion (MRM の Q1 Mass) を決定する	2-3
2.1.2. Product Ion Scan を行い、Product ion (MRM の Q3 Mass) を決定する	2-4
2.1.3. MRM 測定を行い、各パラメータ (DP,CE,EP など) の最適値を決定する	2-5
2.2 メソッドを結合する方法	2-7
2.2.1. Script を用いたメソッドの結合方法	2-7
2.2.2. Excel を用いたメソッドの結合方法	2-9
3. 測定	3-1
3.1 数種類のメソッドの同時測定、Posi/Nega スイッチング	3-2
3.2 時間を区切って測定を行う、ピリオド区切り	3-6
3.3 分解能を落として測定を行う	3-7
3.4 Scheduled MRM	3-8
3.4.1. Scheduled MRM とは?	3-8
3.4.2. Scheduled MRM Method の作成	3-10
3.5 Scheduled MRM™ Pro で測定する (4500、5500、6500 シリーズのみ)	3-13
3.5.1. Scheduled MRM™ Pro とは?	3-13
3.5.2. Scheduled MRM™ Pro アルゴリズム Method の作成	3-17
4. 解析 (Explore モード)	4-1
4.1 Window 上での様々な機能	4-2
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	4-2
4.1.2. Explore 画面での Pane のパネルツールバーと操作	4-3
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	4-5
4.2 その他の機能-1	4-6
4.2.1. List Data の表示	4-6
4.2.2. List Data の積分パラメータを変更	4-7
4.2.3. Caption (注釈) およびテキストの追加	4-8
4.3 その他の機能-2	4-10

4.3.1.	Appearance Option の設定.....	4-10
4.3.2.	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方法 4-10	
4.3.3.	Y 軸の固定	4-12
4.3.4.	S/N の表示	4-13
4.3.5.	手動積分.....	4-15
5.	定量(SCIEX OS Software Analytics モードによる定量)	5-1
5.1	Results Table の編集と解析.....	5-2
5.1.1.	保存されている Results Table を開く	5-2
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.....	5-2
5.1.3.	積分パラメータを編集する方法	5-3
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	5-5
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	5-6
5.1.6.	手動でピークを認識させる方法 (Manual Integration)	5-6
5.1.7.	Results table の表示設定 (Table display settings) を変更する方法.....	5-7
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	5-8
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 ..5-9	
5.1.10.	任意のクロマトグラムの並列表示 (XIC Side by Side)	5-10
5.1.11.	Results table で特定の Sample Type のみ表示させる方法	5-10
5.1.12.	Results table の並べ替えの方法	5-11
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	5-12
5.2	イオン比の表示方法	5-13
5.3	任意の計算値の表示方法	5-15
5.4	統計計算 (Statistics)	5-17
5.5	Metric Plot の作成と実行方法.....	5-18
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	5-19
1.5		5-19
5.7	レポートの作成.....	5-20

本マニュアル中での装置の表示について、一部下記のように表示しております。

機種		略称
API 2000™ LC/MS/MS System	-	API 2000™
-	QTRAP®LC/MS/MS System	QTRAP®
API 3000™ LC/MS/MS System	-	API 3000™
API 3200™ LC/MS/MS System	3200 QTRAP® LC/MS/MS System	API 3200™ 3200 QTRAP®
API 4000™ LC/MS/MS System	4000 QTRAP® LC/MS/MS System	API 4000™ 4000 QTRAP®
AB SCIEX Triple Quad™ 4500 LC/MS/MS System	AB SCIEX QTRAP® 4500 LC/MS/MS System	Triple Quad™ 4500 QTRAP® 4500
API 5000™ LC/MS/MS System	-	API 5000™
AB SCIEX Triple Quad™ 5500 LC/MS/MS System	AB SCIEX QTRAP® 5500 LC/MS/MS System	Triple Quad™ 5500 QTRAP® 5500
AB SCIEX Triple Quad™ 6500 LC/MS/MS System	AB SCIEX QTRAP® 6500 LC/MS/MS System	Triple Quad™ 6500 QTRAP® 6500

1. 設定

この章で学べること

- Analyst® software の Configure モードについて解説します。
- 分析前に知っておくと便利な機能をご紹介します。

1.1 Hardware Configuration の復旧、新規作成、編集

以下のような場合に作成します。

- 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。)

1.2 Report Template の作成方法

- レポートのヘッダ/フッタに測定日や Project 名などの情報を追加して印刷することができます。

1.3 パラメータの設定について

- パラメータ初期値の保存形式と保存場所を確認することができます。

1.1 Hardware Profile の復旧、編集、作成方法

※ Profile には制御する装置の組み合わせや設定情報が保存されています。

1.1.1. Hardware Profile の復旧

※ 以下の操作は Profile のファイルが破損した場合には行います。そのため、正常に Activation できる状態の Profile を外付けハードディスク等にバックアップしておく必要があります。バックアップ方法は以下の手順で実施してください。

<バックアップ方法>

- i. D:\¥Analyst Data のフォルダをコピーします。
- ii. 外付けハードディスクに i でコピーしたフォルダをペーストします。

- ① D:\¥Analyst Data¥Projects¥API Instrument¥Configuration を開き、破損した Configuration File をバックアップします。
- ② 直近でバックアップを行った API Instrument¥Configuration から、同じ名前の Configuration File を、D:\¥Analyst Data¥Projects¥API Instrument ¥Configuration に上書きします。
- ③ Analyst で Hardware Configuration をダブルクリックし、復旧した Profile が正しく Activate できることを確認します。

1.1.2. Hardware Profile の新規作成

※ Profile のファイルが破損し、1.1.1 の方法で復旧ができない場合などに行います。

- ① Hardware Configuration をダブルクリックします。
- ② 開いた画面で New Profile をクリックします。
- ③ Profile Name を入力します。

※ 測定機種と使用する LC の入力を推奨します。

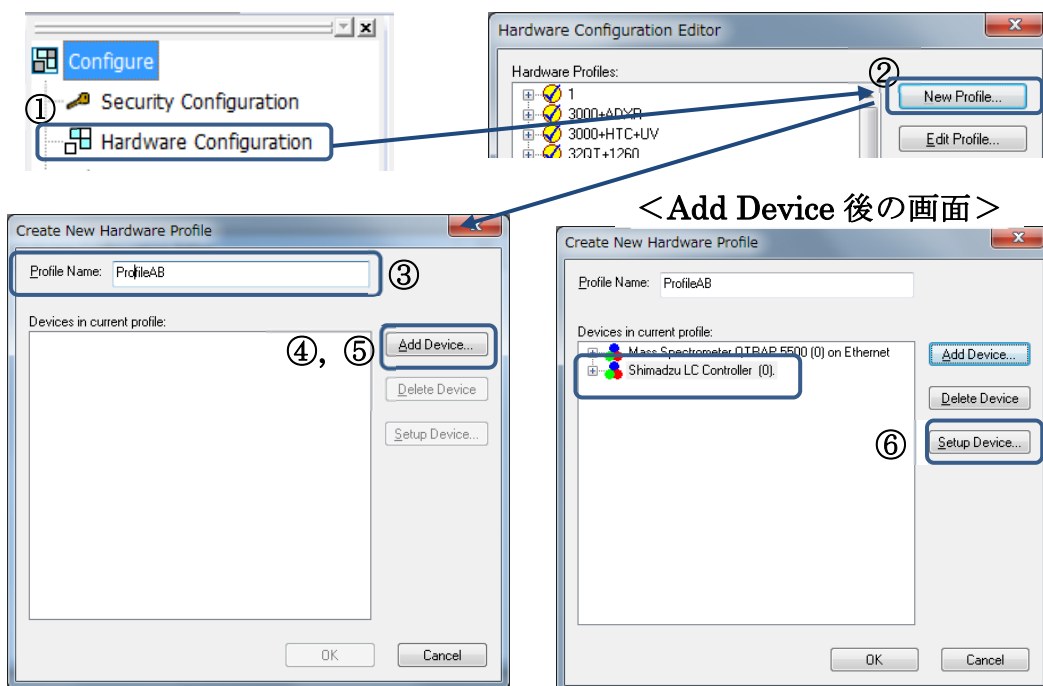
例) Qtrap5500 と Shimadzu20AD シリーズの場合は、QT5500+Shimadzu20AD と入力します。

- ④ Mass Spectrometer の設定を行います。
Add Device をクリックし、Device Type のプルダウンから Mass Spectrometer を選択します。
- ⑤ 次に HPLC の設定を行います。
再度 Add Device をクリックし、Device Type のプルダウンから Integrated System を選択し、開いた画面上で Shimadzu LC Controller を選択します。

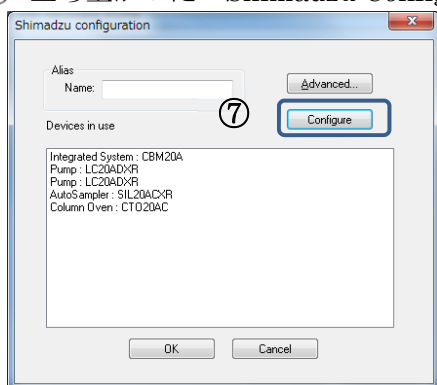
※ 各 Device とも Setup Device をクリックしますと、さらに詳細な設定を行うことができます。

※ Mass Spectrometer 内蔵のバルブなど追加設定することができます。

- ⑥ Shimadzu LC Controller を選択し、Setup Device をクリックします。

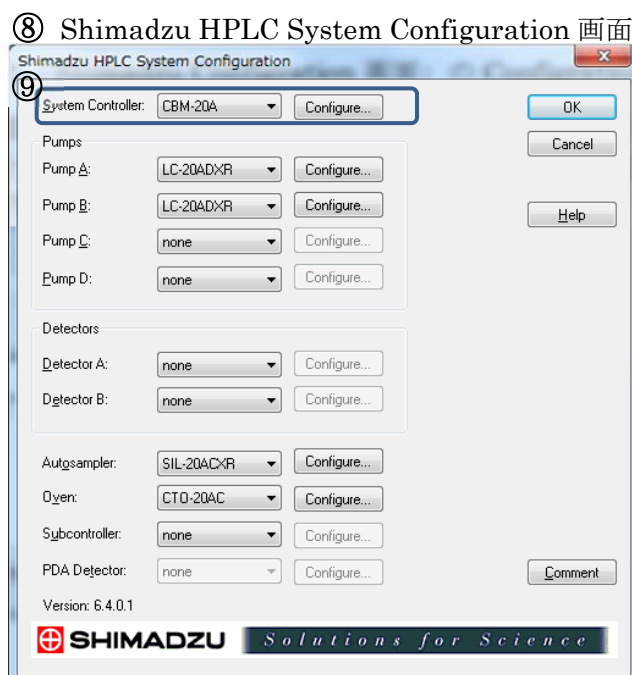


- ⑦ 立ち上がった「Shimadzu Configuration 画面」の Configure をクリックします。



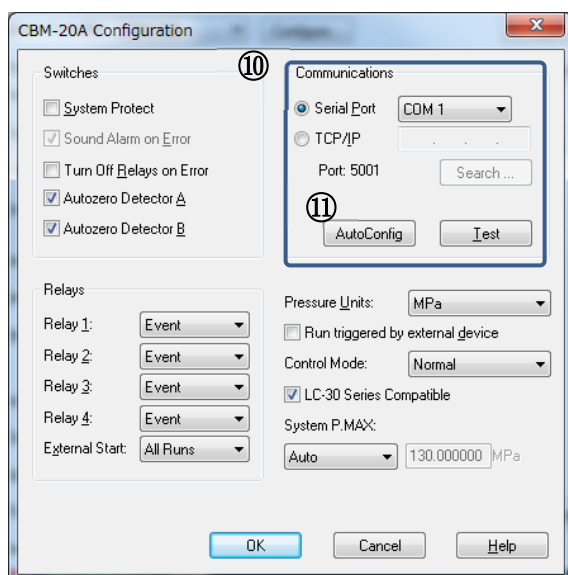
- ⑧ Shimadzu HPLC System Configuration 画面で、LC の使用する各 Device をプルダウンから選択し、Configure から詳細な設定を行います。

- ⑨ PC と HPLC との通信設定をするため、System Controller の Configuration をクリックします。



⑩ CBM Configuration 画面の Communications 項目で通信形式を選択します。通信形式はご使用のシステムにより 2 通りございますので、確認の上、設定してください。

⑪ AutoConfig をクリックすることで、接続されている機器が自動認識されます。

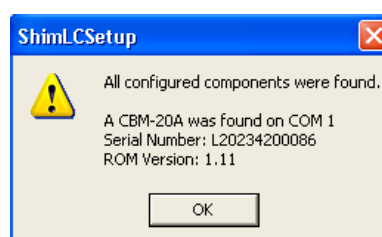


<通信形式>

- Serial 接続 (RS-232C)
Serial Port をチェックし、COM ポートの番号を指定
- Ether 接続 (LAN 経由)
TCP/IP にチェックし、CBM-20A の IP アドレスを入力。
Default の IP アドレス :
192 168 200 99

⑫ 設定後、Test ボタンをクリックして通信テストを行います。正常に接続されていれば「ピーッ」とリンク音が鳴り以下のメッセージが表示されます。

※ 正常に接続されなかった場合はエラーが表示されます。



⑬ OK をクリックし、Hardware Profile の画面に戻ります。

Serial 接続 (RS-232C)、
COM ポート 1 の場合

⑭ 作成した Profile が正しく Activate できることをご確認ください。

※ Shimadzu 社製以外の HPLC の Hardware Profile 作成方法につきましては、別紙の参考資料をご参照ください。

1.1.3. Hardware Profile の編集

※ 新しいデバイスの追加、変更などの際に使用します。

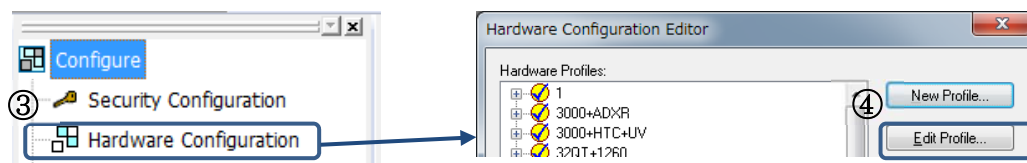
※ Training では行いません。

① D:\¥Analyst Data¥Projects¥API Instrument¥Configuration を開き、通常使用している Configuration File をコピーします。

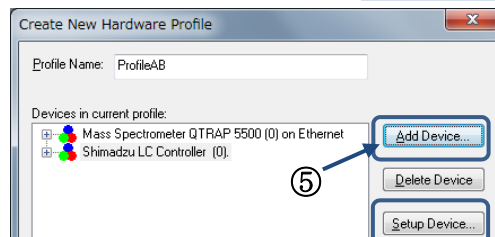
② 同じフォルダ内にペーストし、ファイル名を変更します。

③ Analyst で Hardware Configuration をダブルクリックします。

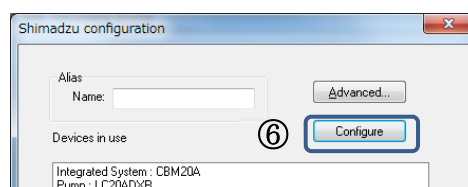
④ 編集目的の Profile を選択し、Edit Profile をクリックします。



⑤ LC などのデバイスを追加する場合は Add、編集する場合は目的の Module を選択し Setup Device をクリックします。



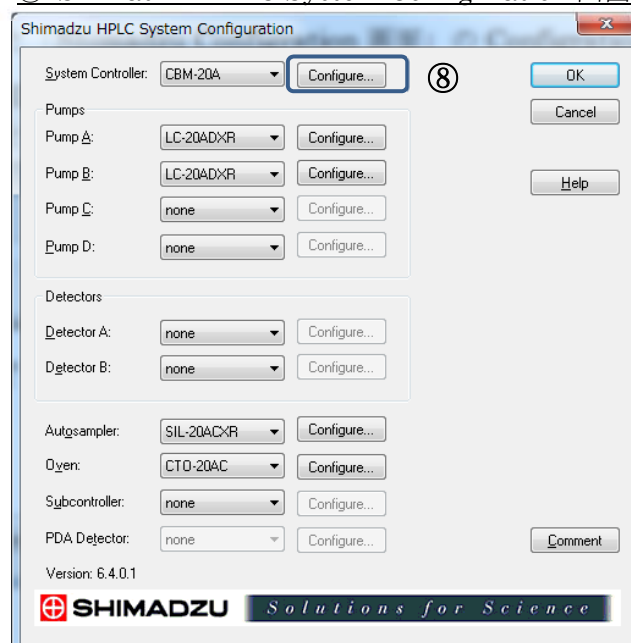
⑥ 立ち上がった「Shimadzu Configuration 画面」の Configure をクリックします。



⑦ Shimadzu HPLC System Configuration 画面

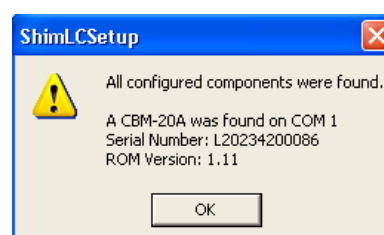
⑦ Shimadzu HPLC System Configuration 画面が表示されますので、LC の各使用する Device をプルダウンから選択し、Configure から詳細な設定を行います。

⑧ PC と HPLC との通信設定をするため、System Controller の Configuration をクリックします。



⑨ 設定後、Test ボタンをクリックして通信テストを行います。正常に接続されていれば「ピーッ」とリンク音が鳴り以下のメッセージが表示されます。

⑩ OK をクリックし、Hardware Profile の画面に戻ります。



⑨ Serial 接続 (RS-232C)、COM ポート 1 の場合

⑪ 編集、作成した Profile が正しく Activate できることを確認します。

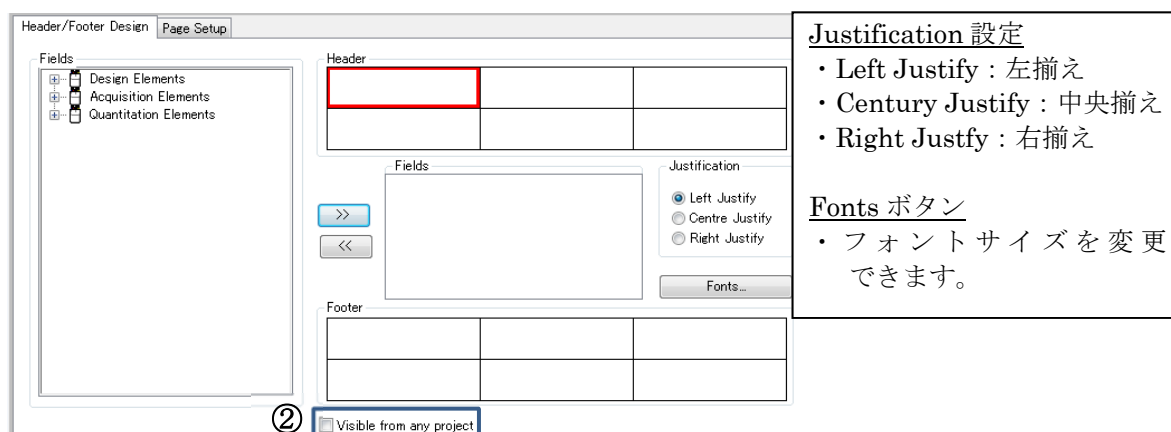
※ Shimadzu 社製以外の HPLC の Hardware Profile 作成方法につきましては、参考資料をご参照ください。

1.2 Report Template の作成方法

※ レポートのヘッダ/フッタに測定日や Project 名などの情報を追加して印刷することができます。

※ Report Template の作成は、Report Template Editor で行います。

① Configuration モードの Report Template Editor をダブルクリックします。
以下の画面が開きます。

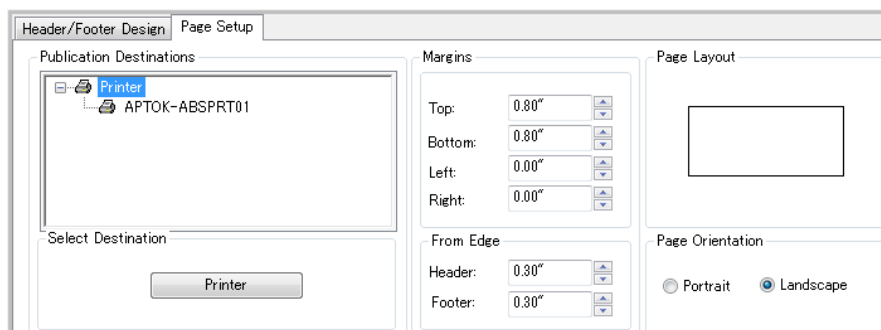


② 開いた画面にて、ヘッダおよびフッタに必要な情報を入力します。

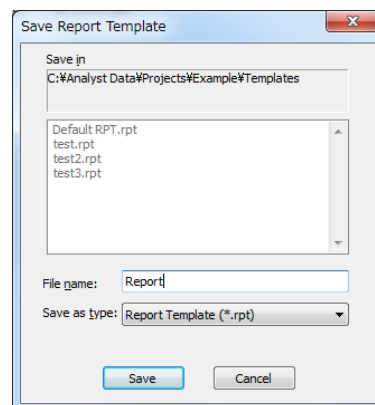
※ 画面下部の「Visible from any project」をチェックするとすべての Project で使用することができます。

※ チェックをしない場合、作成した Project のみでの使用となります。

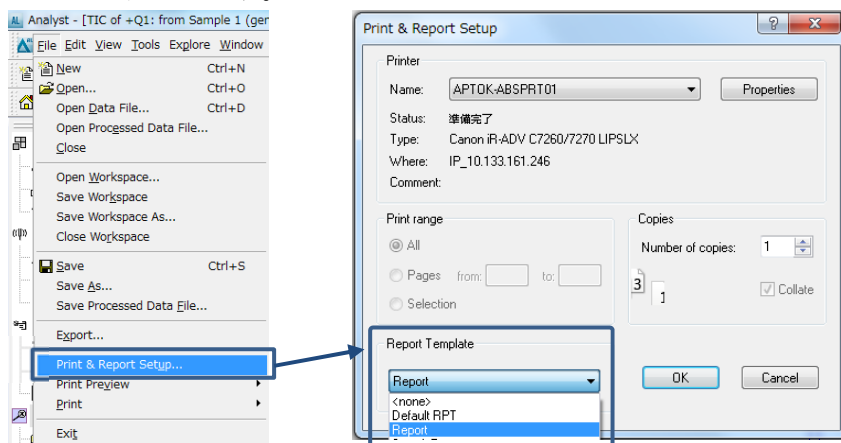
③ Page Setup タブで余白や縦横の設定をします。



- ④ 設定後画面右上の  アイコンをクリックすると、Save の画面が立ち上がりますので、名前を入力し保存します。

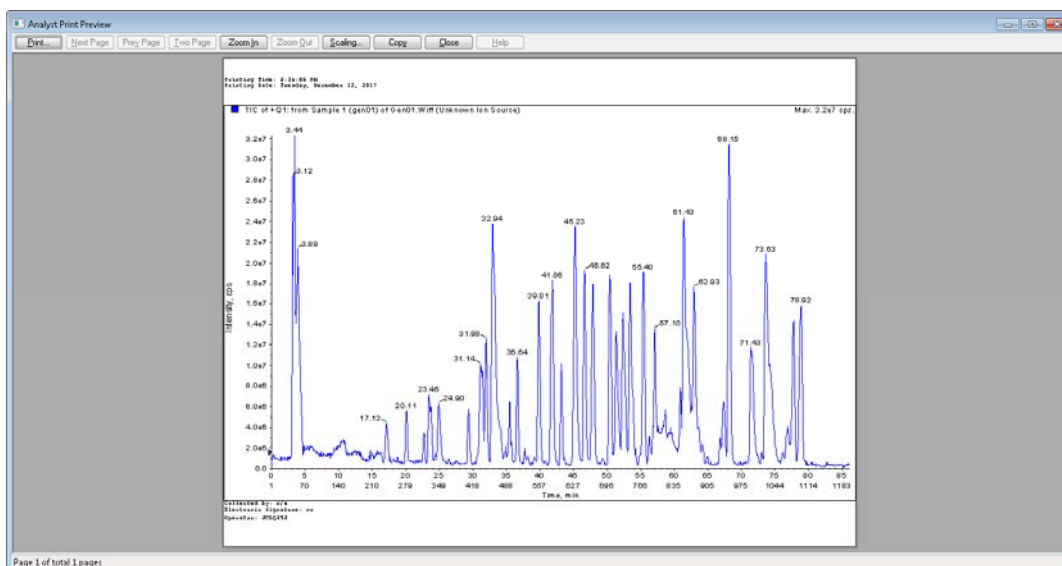


- ⑤ 印刷する際は、Print 画面の「Report Template」で該当するテンプレートを選択し、OK をクリックします。



- ⑥ 印刷する場合は、メニューバーの File > Print Preview > Window、Pane、Workspace のいずれかを選択します。
- ⑦ Print Preview 画面上で確認後、Print をクリックします。

Tips : Print Preview 画面上で Copy をクリックすると Preview 画面をコピーすることができます。



1.3 パラメータの設定について

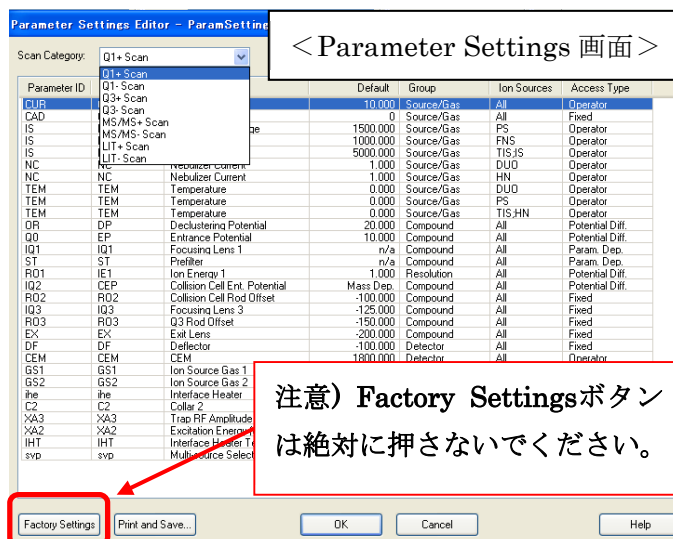
- パラメータ初期値は以下の際に使用されます。
 - Manual tuning 画面を開いたとき、測定 Method を新規に開いたときに最初に反映されるパラメータの値
 - Infusion による Compound Optimization を開始したとき
- 弊社フィールドサービスが納品時に設定しています。
- 本トレーニングでは、パラメータ初期値を確認します。

※ パラメータ初期値の変更は、イオン化法に APCI を使用して最適化 (Compound Optimization) を行うときに必要になります。
詳細は以下の注意をご参照ください。

※ Parameter Settings 画面ではすべての Parameter を規定しています。
Parameter Settings の変更によりイオンが出なくなる場合がありますので、事前に D:\Analyst Data\Projects\API Instrument あるいは D:\Analyst Data\Projects\API Instrument\Parameter Settings 内にある Param SettingsDef.psf の File をバックアップされることを推奨します。

① Configure または Tune and Calibrate モードにします。

② メニューバーの Tools > Settings > Parameter Settings をクリックします。
クリック後、右記の Parameter Settings 画面が開きます。



<注意>

APCIは Infusion での送液だけではイオン化しません。イオン化に周囲の溶媒分子が必要なため、Infusion 時に LC の溶媒を足して、最適化を行ないます。通常、流速 0.2~2.0mL/min で使用しますので、APCI は温度 (TEM) を常に上げた状態にする必要があります。このため APCI を使用して最適化を行うときには、パラメータ初期値の温度 (TEM) を 0℃から 400℃に変更します。

今回のトレーニングではイオン化法に ESI を使用しています。ESI から APCI への変更方法、パラメータ初期値の変更方法を含む APCI の操作方法につきましては「APCI イオンソース (Heated Nebulizer) 操作マニュアル」をご用意しておりますので、ご参照ください。

2. 最適化

この章で学べること

- Analyst® software の Tune and Calibrate モード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 トランジションを作成する方法

- マニュアルとは Compound Optimization を使用しない最適化の方法です。
- Compound Optimization と同様の操作を Manual Tuning 画面でも手動（マニュアル）で行うことができます。
- Edit Ramp、Acquire ボタン、MCA のチェックなど、Manual Tuning 画面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

- 2.2.1 Script を用いたメソッドの結合方法
- 2.2.2 Excel を用いたメソッドの結合方法

※ Excel を使用する方法をお勧めします。

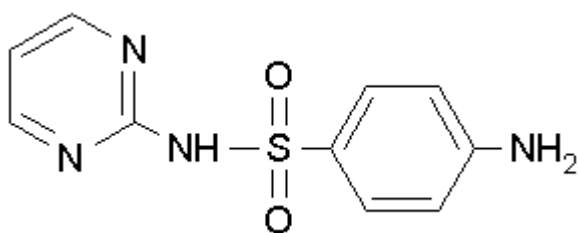
2.3 Dwell Time の設定

- 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。

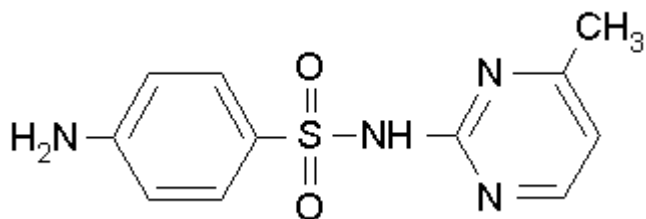
使用するサルファ剤は、以下の 3 種です。

Sulfadiazine (SDZ) : MW = 250.3 C₁₀H₁₀N₄SO₂



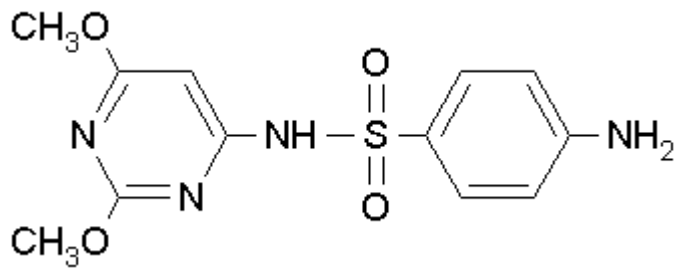
モノアイソトピック質量 : 250.1

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 トランジションを作成する方法

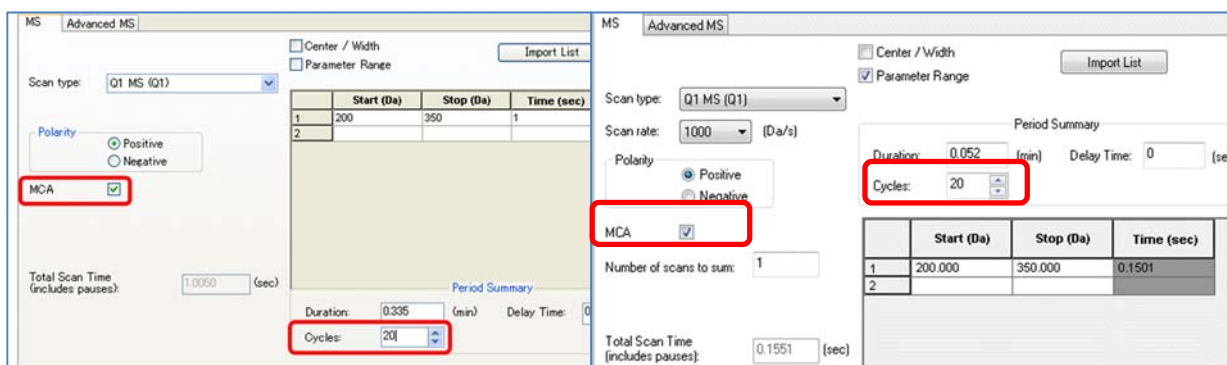
2.1.1. Q1scan を行い、Precursor ion (MRM の Q1 Mass) を決定する

※ 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 Manual Tuning 画面を開きます。
- ② Scan type に Q1 MS (Q1) を選択し、測定します。
- ③ 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、Stop をクリックして測定を止めます。
- ④ Cycle に 20 を入力し、MCA (積算) にチェックをかけます。

※ 下記の画面を参考にしてください。

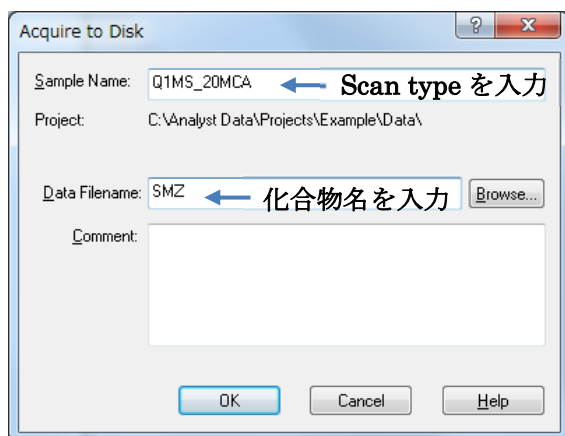
なお、Analyst のバージョンによって画面構成が異なります。



<ポイント>

※ MCA (Multi Chanel Acquisition) を使用しない場合、1Scan つまり 1 秒ごとにスペクトルが切り替わるため、小数点一桁目の質量が±0.1 程度ばらつきます。MCA を使用して 20 回積算することで、質量の小数点一桁目を平均化します。

- ⑤ Acquire ボタンをクリックし、Data File Name と Sample Name を入力します。



<入力する際のポイント>

※Data File Name に化合物名、Sample Name に Scan type を入力するとデータの確認がしやすくなります。

※入力例) 左記の画面では SDZ を Q1 scan しているので、Data File Name に「SDZ」、Sample Name に「Q1 scan」と入力しています。

- ⑥ OK をクリックするとデータが取り込まれ、保存されます。

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

- ① Scan Type を Product Ion Scan (MS2) にします。
- ② Product of 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、Stop にそれぞれ 50、Precursor ion が検出できる値 (Precursor ion+10Da 程度) を入力します。

④ Edit Ramp... MS Method ☒ Use Start Syringe Pump

MS Advanced MS

① Scan type: Product Ion (MS2)

Scan rate: 1000 (Da/s)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

MCA ☒

Number of scans to sum: 1

Product Of: ② 251.2 (Da)

Total Scan Time (includes pauses): 0.2151 (sec)

Center / Width ☐ Parameter Range ☐ Import List

Period Summary

Duration: 5.001 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 1395

③	Start (Da)	Stop (Da)	Time (sec)
1	50.000	260.000	0.2101
2			

- ④ Edit Ramp をクリックします。

<補足>

※ Edit Ramp とは？ : DP、CE などのパラメータを可変的に変えながらデータを取得することができる機能です。マニュアルでパラメータを最適化するとき 사용합니다。

- ⑤ Ramp Parameter Settings 画面で Parameter に Collision Energy を、Start と Stop にそれぞれ 5 と 130 を、Step に 5 を入力します。
- ⑥ OK をクリックし、画面を閉じます。

Ramp Parameter Settings

Parameter: Collision Energy

Start: 5 (volts)

Stop: 130 (volts)

Step: 5 (volts)

OK Cancel Help

- ⑦ MCA にチェックをかけます。
- ⑧ Acquire をクリックし、Data File Name と Sample Name を入力し、OK をクリックして取り込みを始めます。
- ⑨ 取得した MS/MS から強度の強い Product ion (m/z) を記録します。

2.1.3. MRM 測定を行い、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。

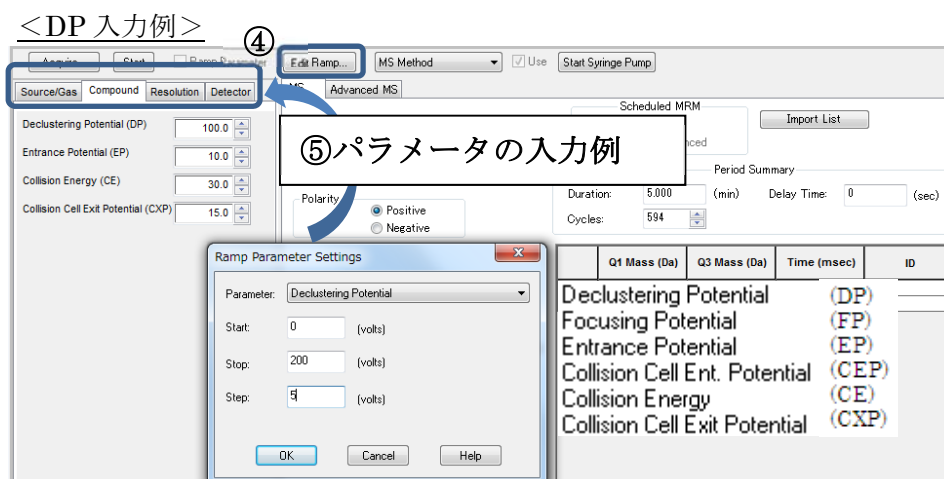
- ① Scan Type を「MRM」にします。
- ② これまでの過程で確認した Precursor Ion (Q1 Mass) および Product Ion (Q3 Mass) を入力します。
- ③ Time (msec) に 500、ID のセルに化合物名を入力します。
※ ID は未入力でも実施できます。
- ④ Edit Ramp をクリックし、Parameter のプルダウンメニューから最適化したいパラメータを選択します。DP の場合、Declustering Potential を選択します。

※ 最適化するパラメータの順番は CE⇒DP⇒ (FP) ⇒EP⇒ (CEP) ⇒CXP です。

※ 各装置、化合物ともに、少なくとも DP と CE の最適化を実施してください。

※ 各パラメータの詳細は、参考資料をご参照ください。

- ⑤ Start (印加する電圧の初期値)、Stop (印加する電圧の終了値)、Step 値 (電圧の振り幅) を入力し、OK をクリックします。



<参考> 各パラメータの Step 値の入力例

CE : 2 Step、DP : 4 Step、FP : 5 Step、EP : 0.5 Step、CEP : 2 Step

CXP : 0.3 Step

- ⑥ Acquire ボタンをクリックし、Data File Name と Sample Name を入力します。
OK をクリックすると、データが取り込まれ、保存されます。

- ⑦ Dataを確認し、最適値をCompoundタブの該当するParameter箇所に入力します。
- ⑧ 続いてDP、EP、CXPなどのパラメータをCE最適化時と同様、Edit RampにてStart、Stop、Step値を入力して最適化し、最適値を入力します。

※ CXPは1トランジションごとに行ってください。CEの異なる複数のチャンネルを同時にRampingすることはできません。

- ⑨ 全てのパラメータの最適化および入力終了したら、メニューバーのFile > Save asを選択しAcquisition Methodを適当な名前(TrainingではSDZ)で保存します。
- ⑩ シリンジポンプを止めます。

<最適化可能なパラメーター一覧>

機種		パラメータ
API2000™	QTRAP®	DP、FP、EP、CEP、CE、CXP
API 3000™		DP、FP、EP、CE、CXP
API3200™	3200QTRAP®	DP、EP、CEP、CE、CXP
API4000™	4000QTRAP®	DP、EP、CE、CXP
Triple Quad™ 4500	QTRAP® 4500	
API5000™		
Triple Quad™ 5500	QTRAP® 5500	
Triple Quad™ 6500	QTRAP® 6500	
Triple Quad™ 6500 +	QTRAP® 6500+	

2.2 メソッドを結合する方法

- 作成した複数のメソッドを合成する方法を紹介します。
- Script を使用する方法と Excel を使用する方法があります。

2.2.1. Script を用いたメソッドの結合方法

- Merge MRM Methods : 複数の Acquisition Method を 1 つにします。

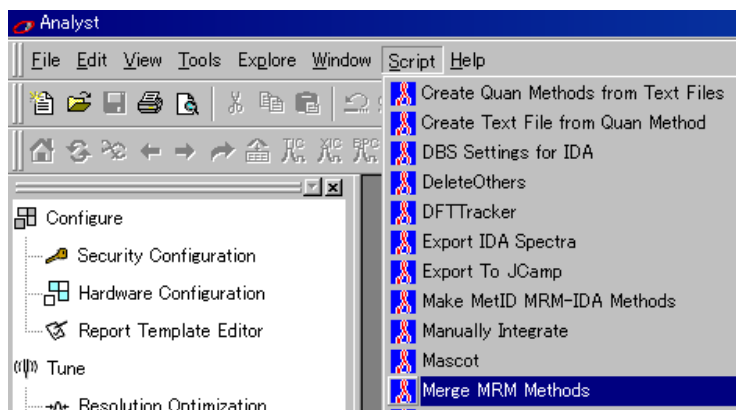
【注意】

※ Analyst® Software に Script がインストールされていないことがあります。
インストールされていない場合、サポートまでご連絡ください。

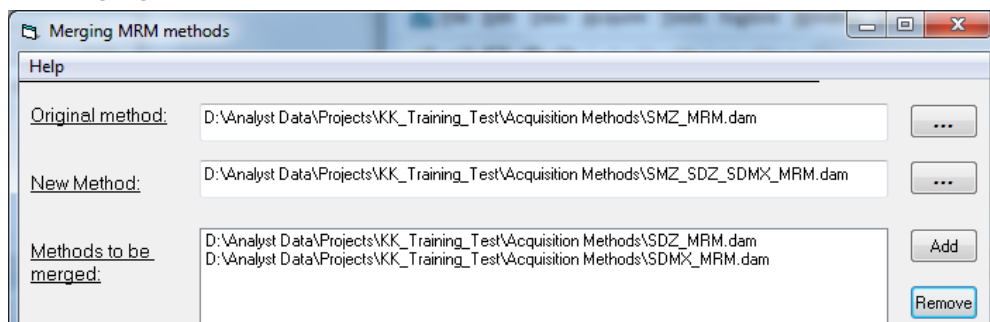
※ Script の動作は保障しておりませんので、予めご了承下さい。

- Training では、Training 内で作成した SDZ、SMZ、SDMX の 2 つあるいは 3 つの Acquisition Method を 1 つの Method に結合する方法を紹介します。

① メニューバーから Script > Merge MRM Methods を選択します。



② Merging MRM Methods ウィンドウが開きます。



- ③ Original Method 項目の [...] ボタンを押し、オリジナルとなる Acquisition Method (*.dam) を選択し、OK ボタンを押します。

※ 選択した Method 名とパスが表示されます。

※ Acquisition Method (*.dam) は、D : ¥Analyst Data¥Projects¥Project 名 ¥Acquisition Methods フォルダに格納されています。

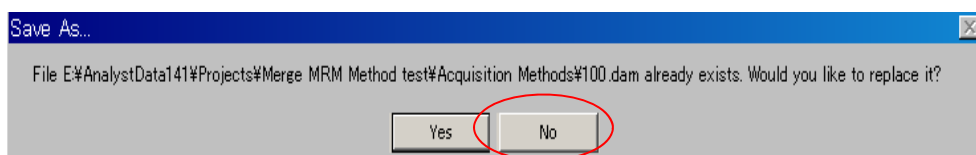
- Training では、Training 内で作成した Method を選択してください。

- ④ New Method 項目の [...] ボタンを押し、表示された画面にて新規の Acquisition Method 名を入力します。

【注意】

※ 既存の Method 名を入力する、または [...] ボタンを押して既存の Acquisition Method (*.dam) を選択すると“選択した Method は上書きされますが良いですか？”とメッセージ（下図参照）が現われますが、決して YES ボタンを押さないでください。

※ YES ボタンを押した時点で、Method が削除されます。



- ⑤ Methods to be merged 項目の Add ボタンにて Original Method に追加する Acquisition Method を選択します。

- Training では、Training 内で作成した③と異なる Method を選択してください。

※ 選択すると Methods to be merged のリストに表示されていきます。

※ 追加した Acquisition Method を Remove ボタンにて削除することもできます。

- ⑥ Go ボタン押すと Merge されます。

- ⑦ ⑥実施後、Exit ボタンを押して Merge MRM Method 画面を閉じ、Script を終了します。

- ⑧ File > Open から、Merge 後作成された Acquisition Method を開くと、下図のようにメソッドが結合されています。

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: MRM (MRM)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

Total Scan Time (includes pauses): 4.5451 (sec)

Edit Parameters...

Scheduled MRM

☐ Enabled ☒ Basic ☐ Advanced

Period Summary

Duration: 1.288 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 17 Cycle: 4.5451 (sec)

<Merge 後の Acquisition Method 画面>

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	250.900	92.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	32.000	14.000
2	250.900	108.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	27.000	14.000
3	250.900	156.200	500.0	SMZ	55.000	10.000	19.000	14.000
4	264.900	92.300	500.0	SDZ	60.000	10.000	35.000	14.000
5	264.900	108.200	500.0	SDZ	60.000	10.000	29.000	14.000
6	264.900	172.000	500.0	SDZ	60.000	10.000	21.000	14.000
7	310.900	92.000	500.0	SDMX	70.000	10.000	44.000	14.000
8	310.900	107.800	500.0	SDMX	70.000	10.000	33.000	14.000
9	310.900	156.000	500.0	SDMX	70.000	10.000	25.000	14.000
10								

2.2.2. Excel を用いたメソッドの結合方法

- Training では、Training 内で作成した SDZ、SMZ、SDMX 内の 2 つの Acquisition Method を結合した Method を作成する方法を紹介します。
- 測定用メソッドファイル (*.dam) を Excel で編集し、簡易に多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 トランジションを結合する場合
 - － 結合した後の編集を行う場合
 - － Script を用いて MRM を結合 (2.2.1 および 2.2.2 Script を用いたメソッドの結合方法) した後、Dwell Time などの編集を行う場合

【注意】 本法の Pasting MRM to Excel は、Analyst® Software 1.4.2 以上に含まれる機能になります。Analyst® Software 1.4.1 では、Analyst® Software 1.4.1 Hotfixes to December 2005 (Patch) に含まれる機能になります。

<Pasting MRM to Excel 操作方法>

- ① Acquire Mode で Template となる Acquisition Method (*.dam) (Training では SDZ.dam) を開き、別名 (Training では 2mix) で保存します。
 - ② MRM テーブル上で右クリックし、全パラメータあるいは CEP を除く全パラメータにチェックを入れ表示させます。
- ※ CEP について：CEP は比較的装置に個体差があるパラメータになります。Acquisition Method で CEP を表示させずに、以降の操作を行うことで、Instrument Default 値 (Q1 から Analyst® Software が自動計算した CEP の値) が入力されます。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	250.900	92.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	32.000	14.000
2	250.900	108.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	27.000	14.000
3	250.900	156.200	500.0	SMZ	55.000	10.000	19.000	14.000
4								

☒ Declustering Potential DP
☒ Entrance Potential EP
☒ Collision Energy CE
☒ Collision Cell Exit Potential CXP

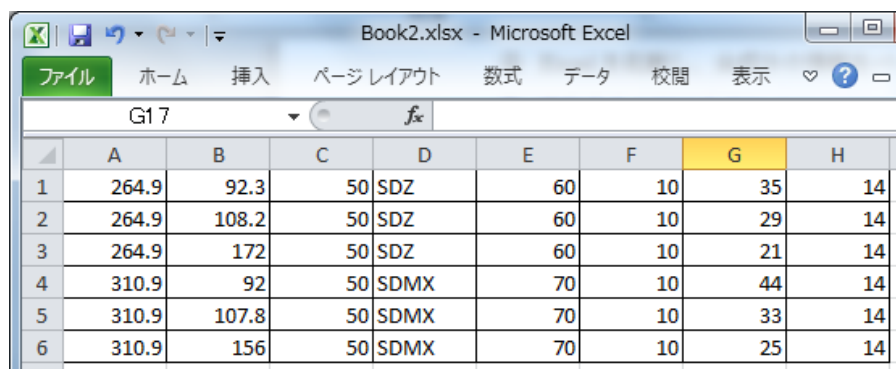
- ③ Ctrl を押しながら、各パラメータのタイトル部分を 1 列ずつ選択し (セルの色が反転します)、Ctrl+C でコピーします。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	250.900	92.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	32.000	14.000
2	250.900	108.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	27.000	14.000
3	250.900	156.200	500.0	SMZ	55.000	10.000	19.000	14.000
4								

- ④ Excel を起動し、全成分の情報をペースト (Ctrl+V) します。
- ⑤ 追加する MRM を含む Acquisition Method (*.dam) (Training では SMZ or SDMX.dam) を開き、同様に情報を同じ Excel にペーストします。
- ⑥ 必要に応じて、Excel 上で Time (msec) 他を調整、修正します。

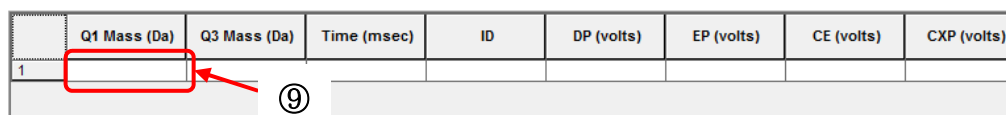
※ Training では Time (msec) を 100msec に変更してください。

※ 最適な Time (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
1	264.9	92.3	50	SDZ	60	10	35	14
2	264.9	108.2	50	SDZ	60	10	29	14
3	264.9	172	50	SDZ	60	10	21	14
4	310.9	92	50	SDMX	70	10	44	14
5	310.9	107.8	50	SDMX	70	10	33	14
6	310.9	156	50	SDMX	70	10	25	14

- ⑦ 数字が入力してある範囲をコピーします。
- ※ 空白のセルは選択しないでください。
- ⑧ Analyst® Software に戻り MRM テーブル上を右クリックし、全パラメータを削除します。
- ⑨ MRM テーブル上の左上の列をクリックし、Ctrl+V で Excel に作成した情報をペーストします。



	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1								

※ MS タブに表示されている各パラメータと Excel で作成した列が一致しないとペーストされません。

<ペースト後の画面>

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	264.900	92.300	100	SDZ	60.000	10.000	35.000	14.000
2	264.900	108.200	100	SDZ	60.000	10.000	29.000	14.000
3	264.900	172.000	100	SDZ	60.000	10.000	21.000	14.000
4	310.900	92.000	100	SDMX	70.000	10.000	44.000	14.000
5	310.900	107.800	100	SDMX	70.000	10.000	33.000	14.000
6	310.900	156.000	100	SDMX	70.000	10.000	25.000	14.000
7								

- ⑩ メニューバーの File > Save をクリックし Acquisition Method を保存します。

表 1 ペーストされるパラメーター一覧

機種		パラメータ
API2000™	QTRAP®	DP、FP、EP、CEP、CE、CXP
API 3000™		DP、FP、EP、CE、CXP
API3200™	3200QTRAP®	DP、EP、CEP、CE、CXP
API4000™ Triple Quad™ 4500 API5000™ Triple Quad™ 5500 Triple Quad™ 6500 Triple Quad™ 6500+	4000QTRAP QTRAP®4500 QTRAP®5500 QTRAP®6500 QTRAP®6500 +	DP、EP、CE、CXP

表 2 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	FP	EP	CEP	CE	CXP
API 2000™	DP	360	Instrument Default	Instrument Default	CE	4
QTRAP®	DP	なし	Instrument Default	Instrument Default	CE	4
API 3000™	DP	360	Instrument Default	Instrument Default	CE	4
API 3200™ 3200 QTRAP®	DP	なし	Instrument Default	Instrument Default	CE	4
API 4000™・4000 QTRAP® Triple Quad™ 4500・QTRAP® 4500 Triple Quad™ 6500・QTRAP® 6500 Triple Quad™ 6500+・QTRAP® 6500+	DP + 20	なし	Instrument Default	なし	CE	6
API 5000™ Triple Quad™ 5500・QTRAP® 5500	DP + 40	なし	Instrument Default	なし	CE	10

※ DP と CE は化合物依存のパラメータになります。

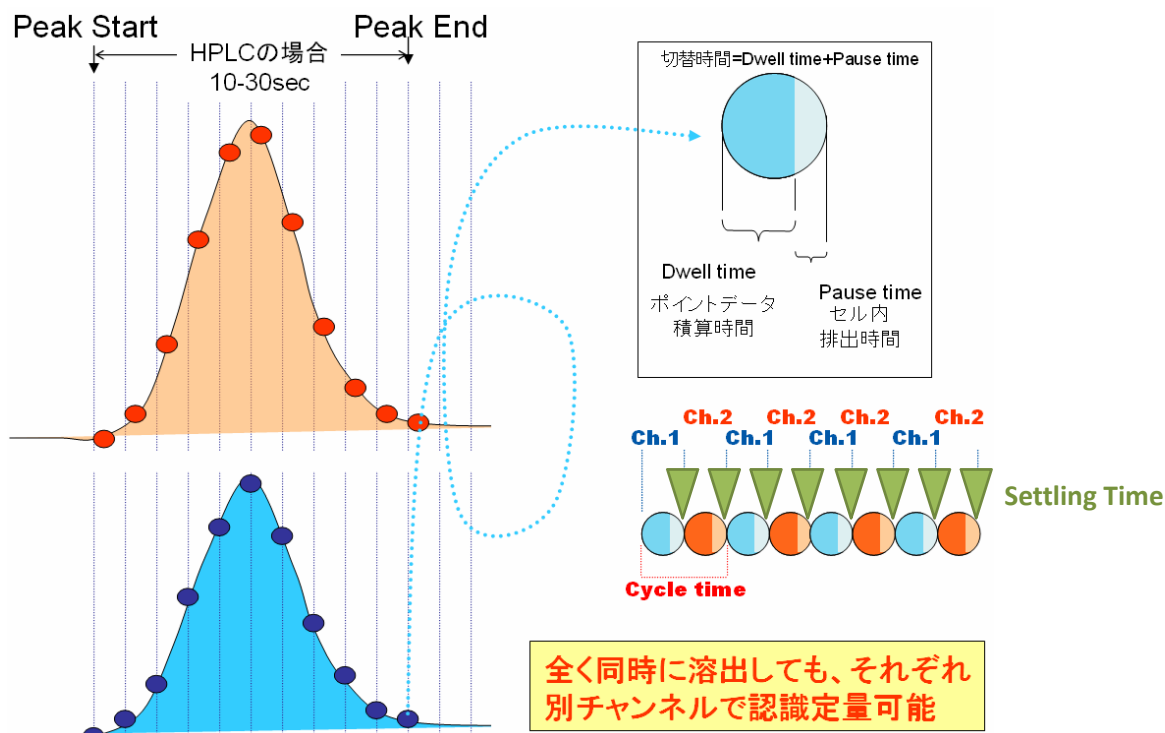
※ CEP の Instrument Default とは？

- CEP は Q1 と相関性があり、Q1 が大きくなるにつれて CEP も大きくなる傾向があります。
- CEP を空欄にしてから、Q1 に m/z 値を入力すると、Analyst® Software は CEP の値を自動で計算し入力します。(Instrument Default 値)
- CEP は比較的装置に個体差があるパラメータになります。よって、他機種や同機種から CEP をコピーして使用するよりも、Instrument Default 値を用いた方が、感度が良い場合があります。(最大で 2 倍の感度差)

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
API 2000™、QTRAP® API 3000™ API 3200™、3200 QTRAP® API 4000™、4000 QTRAP® API 5000™	5	2	700
Triple Quad™ 4500、QTRAP® 4500 Triple Quad™ 5500、QTRAP® 5500	2	2	50
Triple Quad™ 6500、QTRAP® 6500	2	2	20
Triple Quad™ 6500+、QTRAP® 6500+	2	2	5

<Dwell Time と Pause Time の設定場所>

Dwell Time

MS Advanced MS

Experiment: 1 Scan type: MRM (MRM)

Polarity: ☒ Positive ☐ Negative

Scheduled MRM: ☐ Enabled ☒ Basic ☐ Advanced

Import List

Period Summary

Duration: 5.000 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 909

Dwell Time

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)
1	100	50	50	A	40
2	200	150	50	B	50
3	300	250	50	C	60
4	400	350	50	D	70
5	500	450	50	E	80
6	600	550	50	F	90
7					

Total Scan Time (includes pauses): 0.3300 (sec)

Edit Parameters...

Pause Time

Acquisition method

- Acquisition Method
 - Mass Spec 29.991 min
 - Period 29.991 min
 - +MRM
 - Shimadzu LC System
 - Equilibrate
 - Injection

MS Advanced MS

Resolution Q1: Unit

Resolution Q3: Unit

Intensity threshold (total count): 0

Settling time: 0 (ms)

Pause between mass ranges: 2.5 (ms)

Dwell Time の決定法

- 定量の場合は精度の要求から 1 ピークあたり 10 ポイント以上必要になります。
(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 秒なので、

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

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。
- 弊社 Analyst® Software の縦軸の単位は cps で、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。

Dwell Time が短くなると、起こりうる問題

- 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。

1 つの experiment に作成できる MRM トランジションの数

- Analyst® Software1.3 は 99 まで
- Analyst® Software1.4～1.4.2 は 299 トランジションまで
- Analyst® Software1.5～1.5.2 は機種により最大トランジション数が異なります。
 - － 5500 シリーズ以外：299 トランジションまで、Scheduled MRM を使用する場合は 1000 トランジションまで
 - － 5500 シリーズ：1250 トランジションまで、Scheduled MRM を使用する場合は 2500 トランジションまで
- Analyst® Software1.6～1.6.3 は機種による最大トランジション数が異なります。
 - － 4500、5500、6500、6500+シリーズ以外：300 トランジションまで、Scheduled MRM を使用する場合は 1000 トランジションまで（複数の Period の Scheduled MRM はサポートしていません）
 - － 4500、5500、6500、6500+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】

- ※ 高感度で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 あるいは、Scheduled MRM™ Pro の使用をお勧めいたします。

3. 測定

この章で学べること

- Analyst® Software の Acquire モードについて解説します。
- 種々の測定メソッド (Acquisition Method) の作成方法および Acquisition Method 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

- 複数のメソッドを使って同時に測定することができます。
- 4500、5500、6500 シリーズ向けの 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、Acquisition Method 上で変更可能なことが理解できます。

3.4 Scheduled MRM™ (sMRM) 法で測定を行う方法

- Analyst1.5 から追加された機能です。
- 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。
- sMRM 使用時の Positive、Negative の切り替えについては Analyst1.6.1 以降で対応しています。

3.5 Scheduled MRM™ Pro (sMRM Pro) 法で測定を行う方法

- Analyst1.6.2 から追加された機能です。
- 4500、5500、6500 シリーズでご使用いただけます。
- MRM トランジションごとに Window 幅を設定する事が出来るなど、より sMRM の詳細を設定できるようになりました。

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>

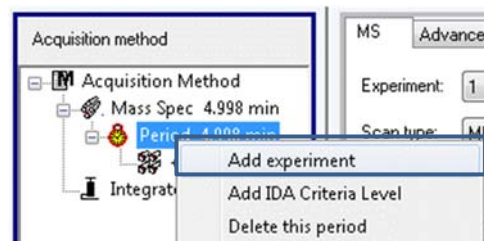
- Positive/Negative 同時測定
- Precursor ion scan や Neutral Loss scan の同時測定

- 作成には、A) 作成した Method に追加する方法、B) 2 つの Method を組み合わせる方法の 2 種類があります。
- 4500、5500、6500 シリーズ以外では Posi/Nega 切り替え時間が 700msec でしたが、4500、5500 シリーズでは 50msec、6500 シリーズでは 20msec、6500+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 Acquisition 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 メニューバーから File > Save as を選択し、適当な名前 (Training では Experiment) で保存します。
- ③ Period を右クリックし、Add Experiment 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、目的の MRM 条件を入力します。

1Experiment の Cycle time

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID
1	249.100	156.100	100.0	SDZ 1
2	249.100	108.100	100.0	SDZ 2
3	263.100	156.100	100.0	SMZ 1
4	263.100	108.100	100.0	SMZ 2
5	309.100	156.100	100.0	SDMX 1
6	309.100	108.100	100.0	SDMX 2
7				

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) 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。

※ Cycle time (sec) は全 Experiment の Cycle time (sec) の総和になります。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。

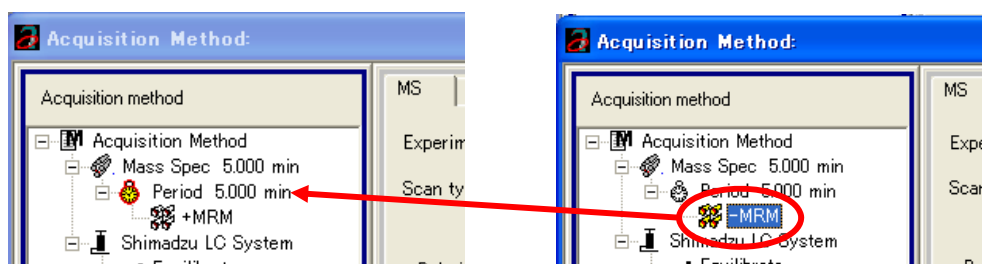
⑥ メニューバーの File > Save にてメソッドを上書き保存します。

B) 2 つの Method を組み合わせる方法

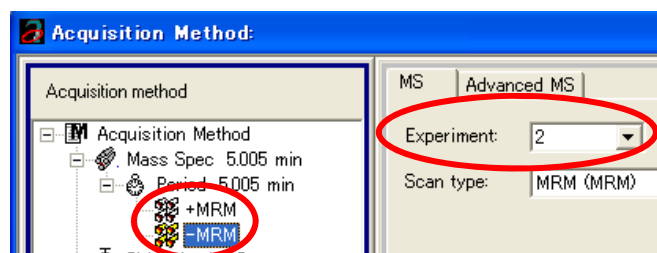
① 組み合わせる 2 つの Method を開きます。

※ Training では Positive.dam、Negative.dam を開いてください。

② Ctrl キーを押したまま、移動したい Experiment をクリック & ドラッグします。



③ 移動先メソッドの「Period」の文字上でマウスを離すことで、メソッドのマージができます。

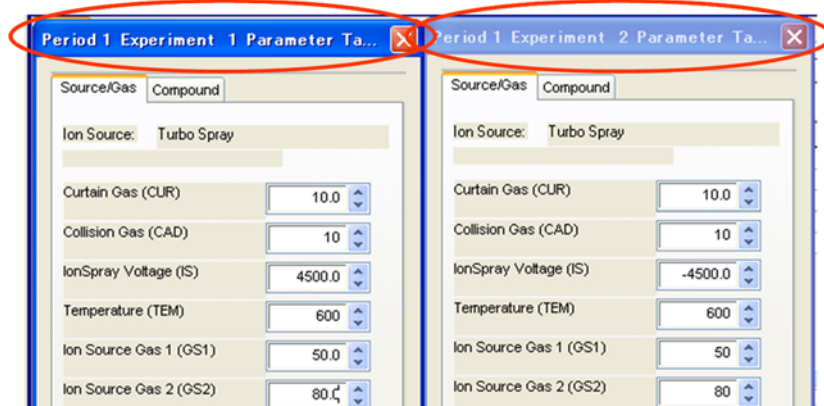


④ 作成された Posi/Nega 切り替えメソッドの、Experiment1 : MRM (+) と Experiment2 : MRM (-) Experiment の Edit Parameters をそれぞれ開きます。

- ⑤ Source/Gas のタブをクリックし、イオンソースのパラメータが一致していることを確認します。

※ IonSpray Voltage (IS) 以外の値が異なる場合は一致させてください

※ IonSpray Voltage (IS) は符号が逆になります。



- ⑥ 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) 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。

※ Cycle time (sec) は全 Experiment の Cycle time (sec) の総和になります。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、適宜調整ください。

※ Dwell Time はピークの溶出時間からデータポイント数を算出して 10 ポイント以上のデータポイントを取得されることを推奨します。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID
1	249.100	156.100	100.0	SDZ 1
2	249.100	108.100	100.0	SDZ 2
3	263.100	156.100	100.0	SMZ 1
4	263.100	108.100	100.0	SMZ 2
5	309.100	156.100	100.0	SDMX 1
6	309.100	108.100	100.0	SDMX 2
7				

- ⑦ メニューバーの File > Save as からメソッドを保存します。

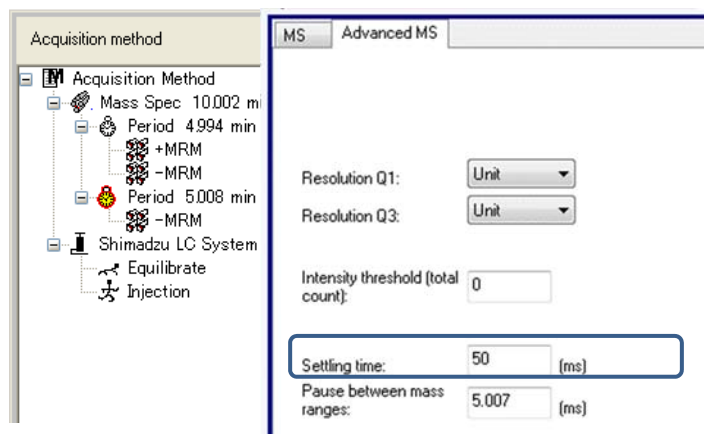
【注意 1】

- ※ 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 Dwell Time の設定の項（2-12 ページ）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＞



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>

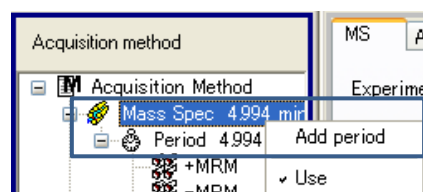
- 多成分分析
- 途中でイオン源の条件を変更したい場合

- Training では前述で作成した Acquisition 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。
- Period 1 で測定する対象化合物は 4 分までに溶出し、Period 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
(Period 1 の Duration は 4min、Period 2 の Duration は (10min-4min)=6min になります。)

① 2.1 章で作成したメソッドを開きます。

② メニューバーから File > Save as を選択し、ファイル名を「Period」と入力して保存します。

③ Mass Spec を右クリックし、Add Period を選択します。Period が追加されます。



④ 1 番目の Period の Duration に測定時間を入力します。

※ Duration には 1 番目の Period で測定対象化合物の溶出が十分に完了する時間、つまり、ここでは 4min を入力します。

⑤ 2 番目の Period の Duration に測定時間を入力します。

※ Duration には 2 番目の Period で測定対象化合物の溶出が十分に完了する時間、つまり、ここでは 6min (10min から 4min を引いた時間) を入力します。入力後、Mass Spec の表示時間が全測定時間に相当します。よって、ここでは全測定時間が 10min になります。

⑥ メニューバーから File > 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かかります。
- ※ Positive と Negative の切り替えに必要な時間は装置毎に異なります。2-13 ページ記載の <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

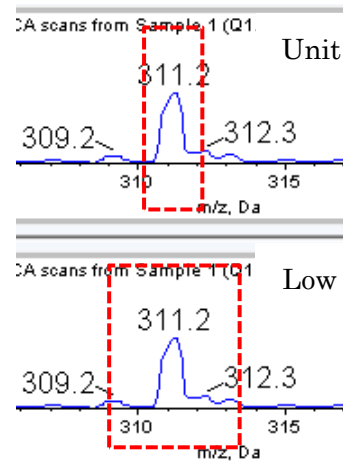
- 分解能を落としたメソッドを作成します。

<作成時のヒント>

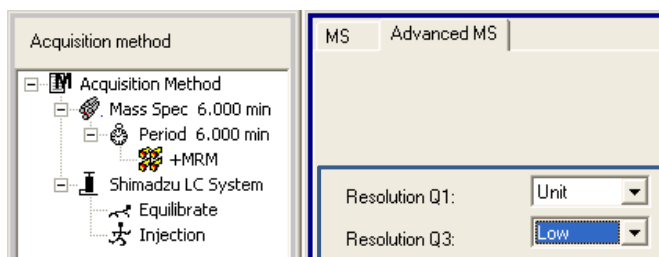
- 分解能を落とすことによって、イオン強度を向上させることができます。ただしノイズも上昇し、感度（S/N）が変わらない場合もあります。分子量が大きい場合（ m/z 500 以上）に効果があります。
- 分子量が大きい場合のメリット：夾雑成分が存在する確率が少ないため、ノイズの上昇が少ない。
- 分解能を高めることによって、バックグラウンドが下がる場合があります。ただしシグナル強度も下がりますので、感度（S/N）を参照の上ご検討ください。
- 必ずサンプルを測定する前に標準溶液を測定して、分解能を落とした効果の確認を行います。
- Q1/Q3 = Unit/Unit、Unit/Low、Low/Unit、Low/Low、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 $\pm 0.7\text{Da}$ の範囲
 - Low: default の設定で設定値から $\pm 1.5 \sim 2\text{Da}$ の範囲（変更可能）
 - High: 設定値から $\pm 0.5\text{Da}$ の範囲



- ① 2.1 章で作成したメソッドを開きます。
- ② メニューバーから File > Save as を選択し、ファイル名を「LowRes」と入力して保存します。
- ③ Mass Spectrometer の Advanced MS をクリックします。
- ④ Q1 および Q3 の分解能をそれぞれ Unit、Low にします。
- ⑤ メニューバーから File > Save を選択し上書き保存します。



3.4 Scheduled MRM

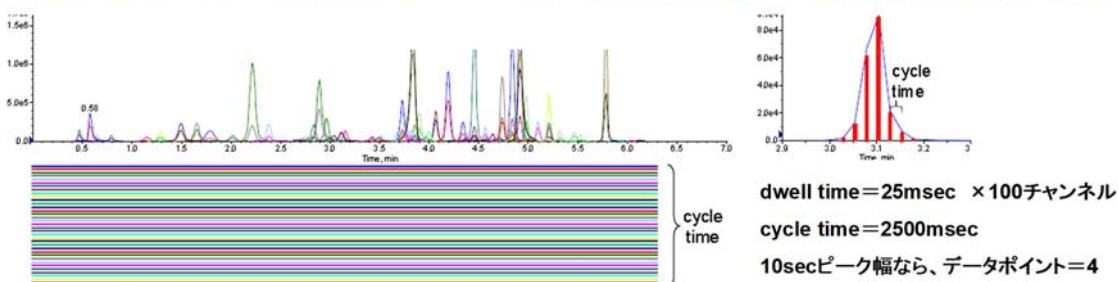
➤ Scheduled MRM について解説します。

- 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。

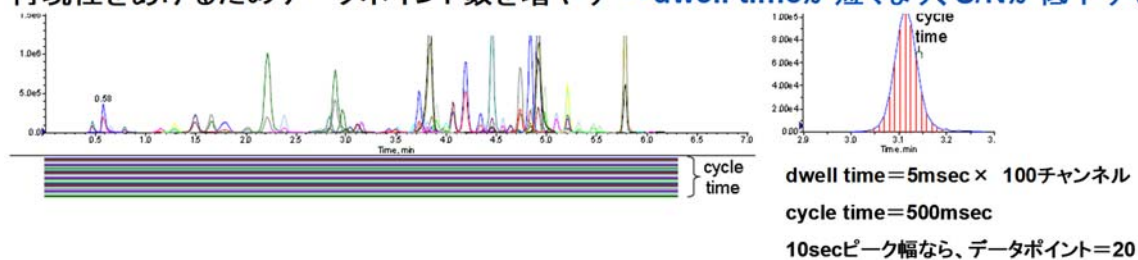
3.4.1. Scheduled MRM とは?

- 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場合、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

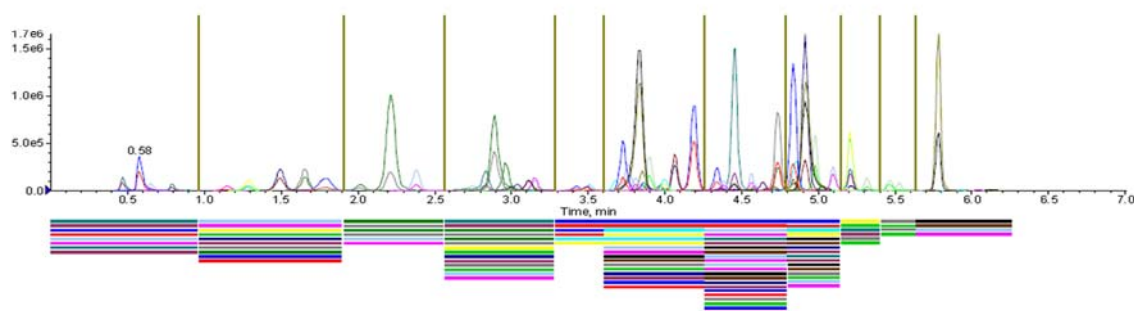


再現性をあげるためデータポイント数を増やす ⇒dwell timeが短くなり、S/Nが低下する



- 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 (3200、4500、5500、6500 シリーズ) あるいは、10～250msec (2000、QTRAP、3000、4000、5000 シリーズ) の範囲で自動設定されます。

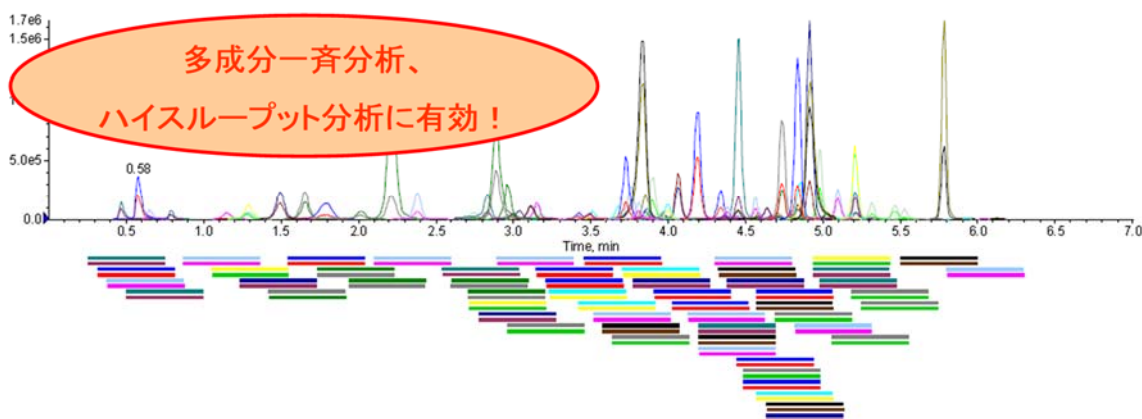
sMRMは、各化合物の溶出時間の前後のみをMRMで測定できる

必要なときにのみ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 次を取得したデータを Analyst の Quantitate モードもしくは MultiQuant にて Results table を作成します。
- ③ ①の測定時に使用した Acquisition Method を開き、Scheduled MRM にチェックを入れます。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID
1	250.900	92.100	500.00	SMZ
2	250.900	108.100	500.00	SMZ
3	264.900	108.200	500.00	SDZ

- ④ 以下の方法で②の Results table から各成分の Retention time を Scheduled MRM メソッドの Time (min) に入力します。

※ 操作は Excel ファイルを介して行います。

[Excel を用いた MRM メソッドの編集方法]

- 1) 現在の Acquisition Method の表の上で右クリックし、パラメータ全てにチェックを入れます。チェックを入れることで、選択されたパラメータのセルが表中に表示されます。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	250.900	92.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	32.000	14.000
2	250.900	108.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	27.000	14.000
3	250.900	156.200	500.0	SMZ	55.000	10.000	19.000	14.000
4								

☒ Declustering Potential DP
☒ Entrance Potential EP
☒ Collision Energy CE
☒ Collision Cell Exit Potential CXP

- 2) Ctrl を押しながら、各パラメータのタイトル部分を 1 列ずつ選択し（セルの色が反転します）、Ctrl+C でコピーします。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (msec)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)	CXP (volts)
1	250.900	92.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	32.000	14.000
2	250.900	108.100	500.0	SMZ	55.000	10.000	27.000	14.000
3	250.900	156.200	500.0	SMZ	55.000	10.000	19.000	14.000

- 3) Excel を起動し、全成分の情報をペースト（Ctrl+V）します。
 4) 定量計算結果の Result table を開きます。Analyte Retention Time （min）の列を反転させ、コピー（Ctrl+C）します。

Index	Sample Name	Sample ID	Sample Type	IS	Component Name	IS Name	Retention Time	Co Gro
1	blank		Blank	☐	251.2 / 108.2	311.2 / 156.3	1.63	
2	blank		Blank	☐	265.2 / 92.0	311.2 / 156.3	2.24	
3	blank		Blank	☒	311.2 / 156.3	N/A	3.49	
4	0.1		Standard	☐	251.2 / 108.2	311.2 / 156.3	1.72	
5	0.1		Standard	☐	265.2 / 92.0	311.2 / 156.3	2.71	
6	0.1		Standard	☒	311.2 / 156.3	N/A	3.48	

- 5) コピーした Retention Time を 4) で完成した Excel にペースト（Ctrl+V）し、対応する各化合物（チャンネル）の覽の Time の列に入力します。

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	250.9	92.1	1.43	SMZ	55	10	32	14
2	250.9	108.1	1.43	SMZ	55	10	27	14
3	264.9	108.2	2.24	SDZ	60	10	29	14
4	264.9	172	2.24	SDZ	60	10	21	14
5	310.9	107.8	3.49	SDMX	70	10	33	14
6	310.9	156	3.49	SDMX	70	10	25	14

- 6) 5) で作成した Excel シートのカラムをすべて選択し、コピー（Ctrl+C）します。
 7) Analyst の Table 上で、左上のセルを選択し、ペースト（Ctrl+V）します。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)
1	250.900	92.100	1.43	SMZ	55.000	10.000	32.000
2	250.900	108.100	1.43	SMZ	55.000	10.000	27.000
3	264.900	108.200	2.24	SDZ	60.000	10.000	29.000
4	264.900	172.000	2.24	SDZ	60.000	10.000	21.000
5	310.900	107.800	3.49	SDMX	70.000	10.000	33.000
6	310.900	156.000	3.49	SDMX	70.000	10.000	25.000

⑤ MRM detection window の設定を行います。

- MRM detection window は MRM のデータを取得する時間の幅を意味します。
例えば、下図のように 60sec 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。

The screenshot shows the 'Advanced MS' configuration window. On the left, under 'Scan type', 'MRM (MRM)' is selected. Below it, 'Polarity' is set to 'Positive'. A red box labeled '⑤' highlights the 'MRM detection window' set to '60 (sec)'. Another red box labeled '⑥' highlights the 'Target Scan Time' set to '1 (sec)'. To the right, the 'Scheduled MRM' section has 'Enabled' checked and 'Basic' selected. Below this, the 'Period Summary' shows 'Duration: 6.000 (min)', 'Delay Time: 0 (sec)', 'Cycles: 360', and 'Cycle: 1.0000 (sec)'. At the bottom right is a table with 8 columns: Q1 Mass (Da), Q3 Mass (Da), Time (min), ID, DP (volts), EP (volts), and CE (volts). The table contains 7 rows of data for different compounds.

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	DP (volts)	EP (volts)	CE (volts)
1	250.900	92.100	1.43	SMZ	55.000	10.000	32.000
2	250.900	108.100	1.43	SMZ	55.000	10.000	27.000
3	264.900	108.200	2.24	SDZ	60.000	10.000	29.000
4	264.900	172.000	2.24	SDZ	60.000	10.000	21.000
5	310.900	107.800	3.49	SDMX	70.000	10.000	33.000
6	310.900	156.000	3.49	SDMX	70.000	10.000	25.000
7							

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

⑥ Target Scan Time の設定を行います。

- Target Scan Time とは、Cycle time をさします。上図のように 1 sec 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 1 sec 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。

⑦ メニューバーの File > Save As をクリックし Acquisition Method 名を入力し保存します。

3.5 Scheduled MRM™ Pro で測定する (4500、5500、6500 シリーズのみ)

3.5.1. Scheduled MRM™ Pro とは?

➤ Scheduled MRM™ Pro について説明します。

- Scheduled MRM™ Pro アルゴリズムは、Analyst ® Software バージョンの 1.6.2 から追加された機能です。
- 4500、5500、6500、6500+シリーズでご使用いただける機能になります。

a. **Flexible Window Width**(Window) : MRM トランジションごとに Window 幅を設定可能

※ Window に測定したい時間 (sec) を入力して使用します。

b. **Dynamic Window Extension** (Threshold) : 対象化合物が溶出し終わるまでデータ取得を自動延長

※ Threshold に設定したい Intensity を入力して使用します。空欄にすると、MRM detection window が自動延長される可能性があります。

c. **Dwell Time Weighting** (Dwell Weight) : 特定の MRM トランジションについて Dwell Time を調節可能

※ Dwell Weight に数字を入力します。Dwell Time の数値ではありません。

d. **MRM-Triggered MRM** (Primary/Secondary) : 定量用トランジションで対象化合物が観測されたら定性用トランジションを自動で追加測定

※ Primary/Secondary に、「1」または「2」で定量・定性を決定し、Threshold に定量用トランジションの設定したい Intensity を入力して使用します。

e. **Group MRM-Triggered MS/MS** (Group) : 定性用トランジションで対象化合物が観測されたら MS/MS を自動取得

※ Group には同じ化合物名、Primary/Secondary には定量用・定性用の指定、Threshold には定性用 MRM トランジションの Intensity の閾値を設定し、IDA メソッドを作成します。

Scheduled MRM の Enabled のチェックを入れ、Advanced を選択すると表中の四角で囲まれたカラム (Group、Window、Primary/Secondary、Threshold、Dwell Weight) が追加されます。

Scheduled MRM™ アルゴリズム

- 従来の Scheduled MRM™ アルゴリズムへの要望と実際 -

要望1) 幅の狭いピークではピークウィンドウを狭く、幅の広いピークではピークウィンドウを広くしたい。

- ← Window幅は、全成分同じ値。個別設定は不可。
- ← ピーク幅が大きいピークにWindow幅を合わせることになる。
- ← ピーク幅が狭いものは十分以上の時間もデータを取得する

要望2) ピークのテーリングやリテンションタイムのずれによるデータの損失が心配。

- ← テーリングや保持時間がずれるとピークの後ろが切れる。

要望3) 感度の向上のため、感度が低い化合物の dwell time を長くしたい。

- ← dwell time は、全成分同じ値。個別設定は不可。
- ← S/N 比向上のため、感度の低い成分の dwell time を長くしたいが一律になっている。

要望4) 定量用の MRM トランジションでピークが検出された時にだけ定性用の MRM トランジションの測定をすることができれば、測定時間が有効に使えるのと思う。

- ← 定量用の MRM トランジションでピークが検出されていないのに、定量用の MRM トランジションを測定する時間がもったいない。
- ← 同定の信頼性を向上するため、定量、定性用の2つのトランジションだけでなく、より多くの MRM トランジションをモニターしたいが、dwell time が短くなってしまうのでできない。



Answers for Science.
Knowledge for Life.™

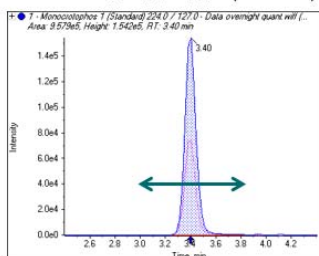
Flexible Window Width (Window)

Flexible Window Width (Window): MRM トランジションごとに Window 幅を設定可能

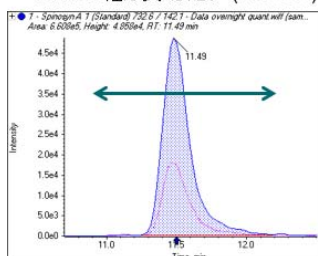
	O1 Mass (Da)	O3 Mass (Da)	Time (min)	ID	Group	Window (sec)	Primary / Secondary	Threshold	Dwell Weight
1									

- ← 各化合物のピーク幅に応じて Window 幅を個々に設定することが可能。
- ← **Window** に測定したい時間 (sec) を入力して使用します。

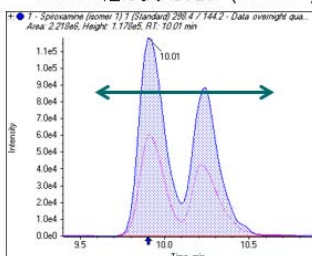
ピーク形状がシャープ (短時間で溶出)
→ window 幅は短くて良い (±60sec)



ピーク形状がブロード (長時間で溶出)
→ window 幅は長くしたい (±90sec)



異性体が分かれる (長時間で溶出)
→ window 幅は長くしたい (±90sec)



Answers for Science.
Knowledge for Life.™

Dynamic Window Extension (Threshold)

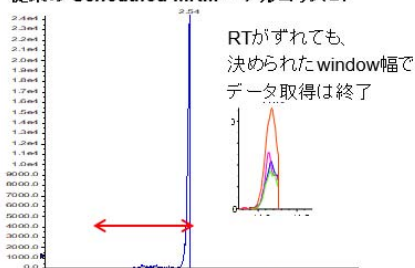
Dynamic Window Extension (Threshold)

:対象化合物が溶出し終わるまでデータ取得を自動延長

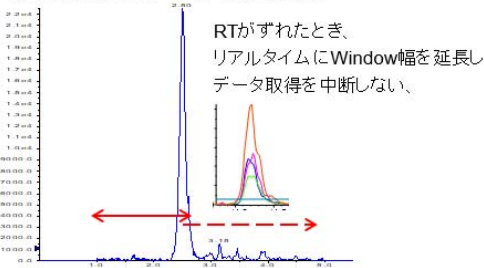
	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	Group	Window (sec)	Primary / Secondary	Threshold	Dwell Weight
1									

- Thresholdの設定値を下回るまで、自動的にMRM detection windowを拡げて測定時間を延長する。
- リテンションタイムがシフトした場合でもデータ取得の安定性がある
- Thresholdに、設定したいIntensityを入力します。

従来の Scheduled MRM™ アルゴリズム



Scheduled MRM™ Pro アルゴリズム



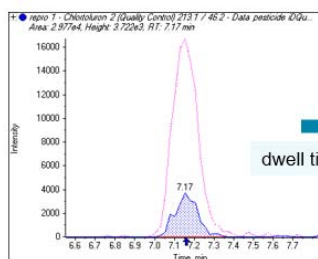
Answers for Science.
Knowledge for Life.™

Dwell Time Weighting (Dwell Weight)

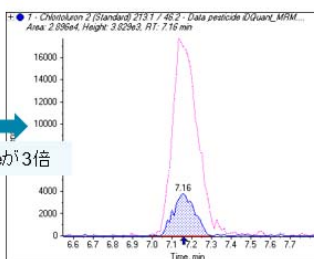
Dwell Time Weighting (Dwell Weight): MRMトランジションごとにdwell timeを設定可能

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	Group	Window (sec)	Primary / Secondary	Threshold	Dwell Weight
1									

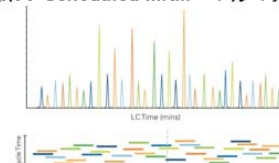
- 化合物、低いLOQ値を求められている化合物のdwell timesを長くすることでMRMトランジションのSignal-to-Noise(S/N)が向上。
- Dwell Weightに数字を入力します。Dwell timeの数値ではありません。
- 数値の目安は13ページをご覧ください。



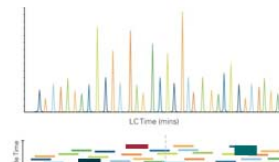
dwell timeが3倍



従来の Scheduled MRM™ アルゴリズム



Scheduled MRM™ Pro アルゴリズム



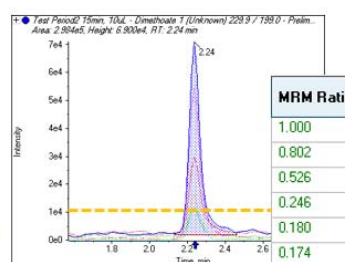
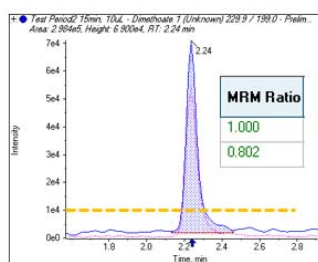
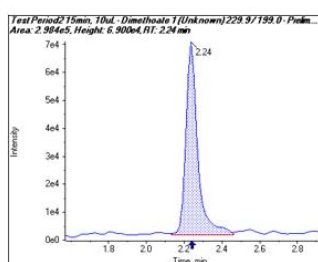
Answers for Science.
Knowledge for Life.™

MRM-Triggered MRM (Primary/Secondary)

MRM-Triggered MRM (Primary/Secondary): 定量用トランジションで対象化合物が観測されたら定性用トランジションを自動で追加測定

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	Group	Window (sec)	Primary / Secondary	Threshold	Dwell Weight
1									

- 定量用MRMトランジションで測定したピーク強度が、設定したThreshold値を超えたら定性用MRMトランジションの測定を行う。
- 複数のイオン比を用いた同定で結果の信頼度があがる
- イオン比は、MultiQuant™ ソフトウェアにより、計算および比較できる。
- Primary/Secondary**に、「1」または「2」で定量・定性を決定し、**Threshold**に定量用トランジションの設定したいIntensityを入力します。



※ 定性イオンが観測されなかったら、2SRM (定量・定性の2トランジション) のまま。無駄にdwell timeを使用しない



Answers for Science.
Knowledge for Life.™

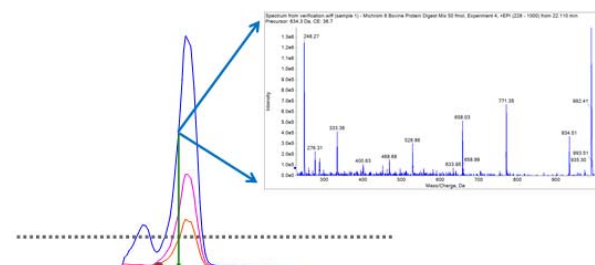
Group MRM-triggered MS/MS (Group)

Group MRM-triggered MS/MS (Group)

: 定性用トランジションで対象化合物が観測されたらMS/MSを自動取得 (IDA法)

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	Group	Window (sec)	Primary / Secondary	Threshold	Dwell Weight
1									

- IDA測定の際、1つのMRMトランジションをトリガーとしてMS/MSを取得すると、マトリックスが複雑な場合に目的とは異なるMS/MSを取得する可能性が高い。
- Group**には同じ化合物名を、**Primary/Secondary**には定量用・定性用の指定、**Threshold**には定性用MRMトランジションのIntensityの閾値を設定し、IDAメソッドを作成します。



青: Secondary / ピンク: Secondary / オレンジ: Primary

右図のように設定すると、オレンジのピークがMRM-Triggered MRM のトリガーになっているので、先に青だけピークが検出されるが、実際はオレンジのピークがThresholdを超えて検出されるまで、青、ピンクのトランジションは測定されない。IDAのWhich exceedsで設定した値をオレンジのトランジションの強度を超えたところでMS/MSのデータが取得されている。



Answers for Science.
Knowledge for Life.™

3.5.2. Scheduled MRM™ Pro アルゴリズム Method の作成

- ① Scheduled MRM の Enabled のチェックを入れ、Advanced を選択します。
- ② 従来の sMRM メソッドに A～E のうち、必要な項目を設定します。
- ③ メニューバーの File > Save をクリックし Acquisition Method を保存します。

	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	Time (min)	ID	Group	Window (sec)	Primary / Secondary	Threshold	Dwell Weight	DP (volts)	(t)
3	184.1	143	2.7	Acephate 1	Acephate	90	1	1000	1	61	1C
4	184.1	49	2.7	Acephate 2	Acephate	90	2	1000	1	61	1C
5	223	126	6.3	Acetamidiprid 1	Acetamidiprid	60	1	1000	1	61	1C
6	223	99	6.3	Acetamidiprid 2	Acetamidiprid	60	2	1000	1	61	1C
7	400.1	238.2	12.9	Alanycarb 1	Alanycarb	60	1	1000	1	35	1C
8	400.1	91.1	12.9	Alanycarb 2	Alanycarb	60	2	1000	1	35	1C
9	223.2	166.3	6.4	Aldicarb sulfone 1	Aldicarb sulfone	60	1	1000	1	61	1C
10	223.2	151.1	6.4	Aldicarb sulfone 2	Aldicarb sulfone	60	2	1000	1	61	1C

	カラム	説明
A	Group	1つの化合物について複数のMRM トランジションで測定する場合、同じ化合物名を入力します。
B	Window	個々のMRM トランジションのデータ取得時間を設定します。Retention Time が10minのピークに60secのWindowを設定すると、9.5min～10.5minまでデータを取得します。値を入力したMRM トランジションにのみ有効です。入力を行わない場合は、MRM detection window の設定が有効になります。
C	Primary /Secondary	このカラムではどのMRM トランジションがPrimaryかSecondaryかを定義します。Primaryに設定したMRM トランジションは常に測定されますが、Secondaryに設定したMRM トランジションは、個々に設定したThreshold値をPrimaryのMRM トランジションの強度が超えた時のみ測定されます。Groupの中で、「1」を入力するとPrimary、「2」を入力するとSecondaryになります。一つのGroupに複数のPrimaryとSecondaryを設定することができます。
D	Threshold	MRM-Triggered MRMでのPrimary MRM トランジション、Group MRM-Triggered MS/MSでのSecondary MRM トランジション、Dynamic window extensionのトリガーとなる強度(Intensity)を定義します。この値は0以上の数値を設定する必要があります。 【注意】 空欄にすると、強度(Intensity)に関わらずMRM detection windowが自動延長される可能性があります。自動延長させたくない場合は100000000のような大きな数値を入れておきます。
E	Dwell Weight	このカラムは、特定のMRM トランジションのDwell Timeを、他のMRM トランジションより長く設定する場合に定義します。Default値は「1」です。感度の高い化合物には低いDwell Weight (<1)を設定し、感度の低い化合物には高いDwell Weight (1～10)を設定します。

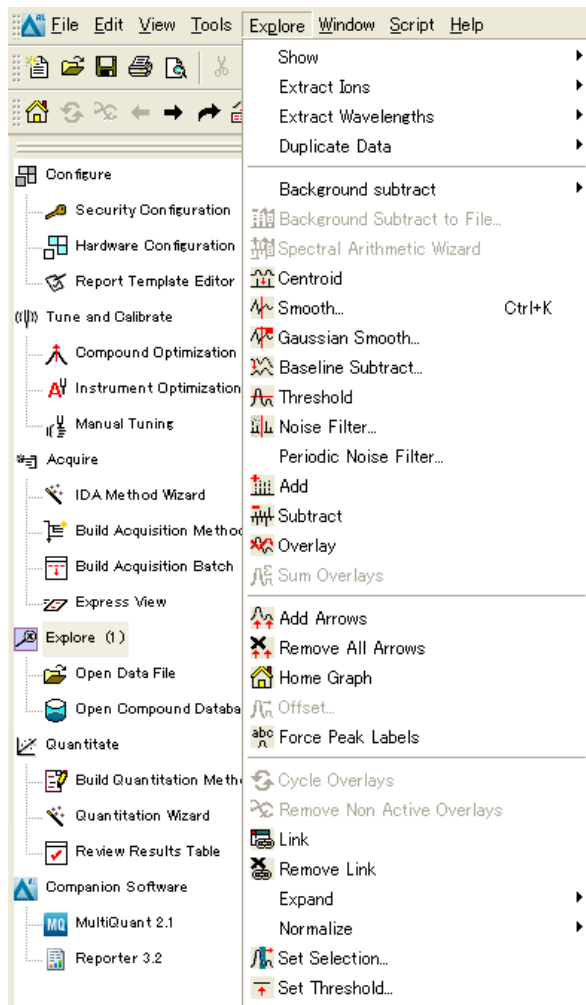
＜設定上の注意＞

- ※ ひとつの化合物を複数の **MRM** トランジションで測定する場合は、それらの **MRM** トランジションを連続して入力する必要があります。
- ※ 同じグループに属しているすべてのトランジションは、**Time (min)** カラムの中に同じ **Retention Time** を持っている必要があります。
- ※ 同じグループに属しているすべてのトランジションは、**Window (sec)** カラムの中に数値を持っている必要があります。
- ※ すべての **Primary** トランジションは、同じグループに **Secondary** トランジションを入力する前に **Primary** トランジションを入力します。
- ※ もし作成したグループに **MRM** トランジションが一つしかない場合、そのトランジションは **Primary** トランジションとなります。
- ※ ひとつの **Acquisition Method** の中で使用できる **Period** は 1 つだけです。また **Experiment** は 2 つまでです。

4. 解析 (Explore モード)

この章で学べること

- Analyst® 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。

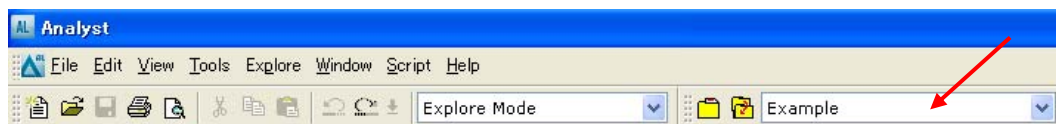


4.1 Window 上での様々な機能

➤ Window 上で使用できる機能について紹介します。

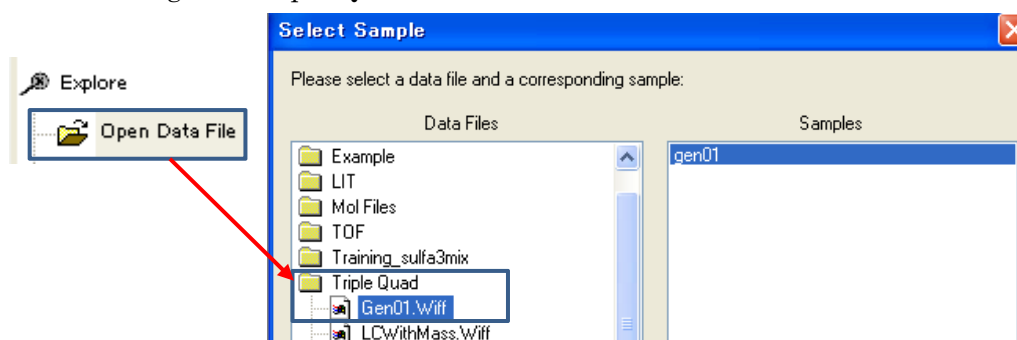
4.1.1. TIC Data のオープンとクロマトグラムからのスペクトルの表示

① 「Example」の Project を選択します。



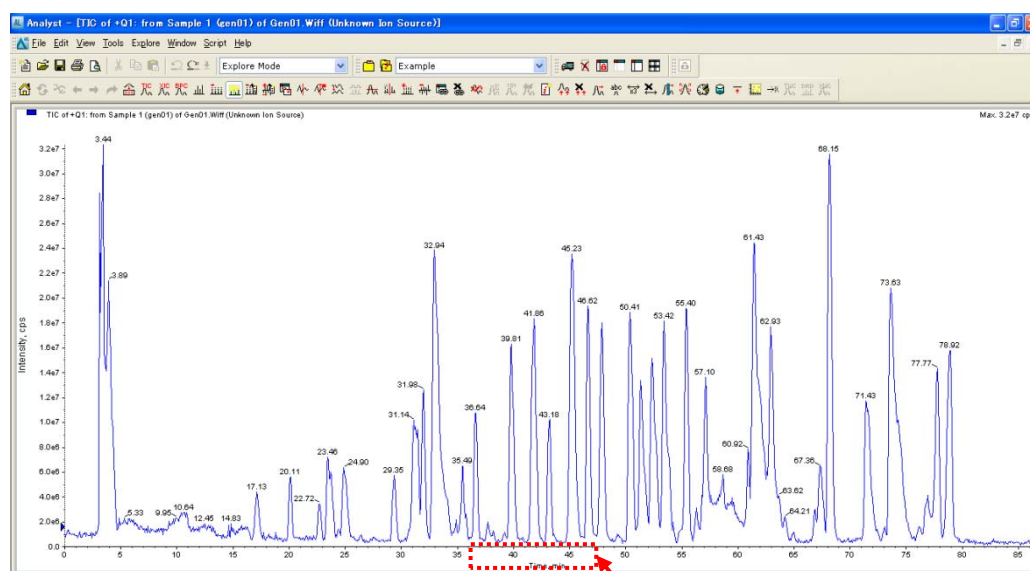
② Explore モードの Open Data File をダブルクリックし、目的の File を開きます。

※ Training では Triple Quad フォルダ中の Gen01.wiff を開いてください。



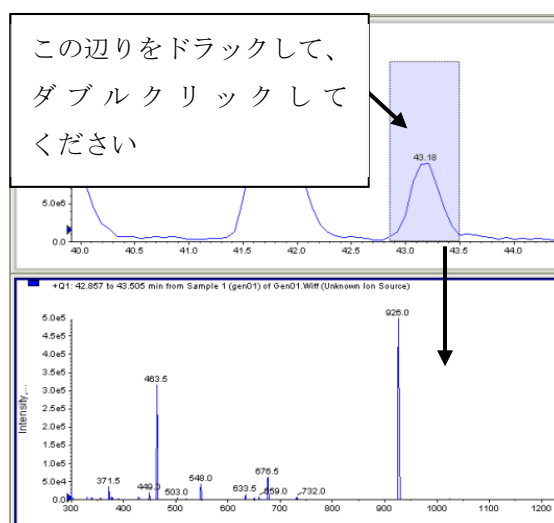
③ 目的の時間軸の枠の外側付近をドラッグして拡大します。

※ Training では 40 分付近から 50 分を拡大してください。



拡大するにはこの辺りをドラッグしてください。

- 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か、右クリックから Show Spectrum を選択するとスペクトルが表示されます。



4.1.2. Explore 画面での Pane のパネルツールバーと操作

- Explore 画面の右上にはパネルツールバー (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。
- 左から、Move Pane、Delete Pane、Lock Pane、Hide Pane、Maximize Pane、Tile Pane で、それぞれ、移動、消去、サイズ変更の禁止、隠す、最大化、全表示を行うことができます。

アイコン	説明
	<u>Move Pane</u> : Pane を選択した後、Move Pane アイコンをクリックし、移動させたい箇所まで Pane ドラッグしドロップします。
	<u>Deleting Panes</u> : Pane を選択した後、Delete Pane アイコンをクリックすると Pane を消すことができます。消した Pane は他のアイコンでは元に戻りません。
	<u>Locking Panes</u> : pane を選択した後、Lock pane アイコンをクリックすると、動かしたり、サイズを変更したりすることができなくなります。解除する場合には、もう一度、同じアイコンをクリックします。
	<u>Hiding a Pane</u> : Pane を選択した後、Hide pane アイコンをクリックすると現在選択されている (青線で囲まれている) Pane が隠れます。
	<u>Maximizing Panes</u> : Pane を選択した後、Maximize Pane アイコンをクリックするとその Pane が最大化されます。
	<u>Tile Pane</u> : アイコンをクリックすると元の Pane の配列に戻ります。

- 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。

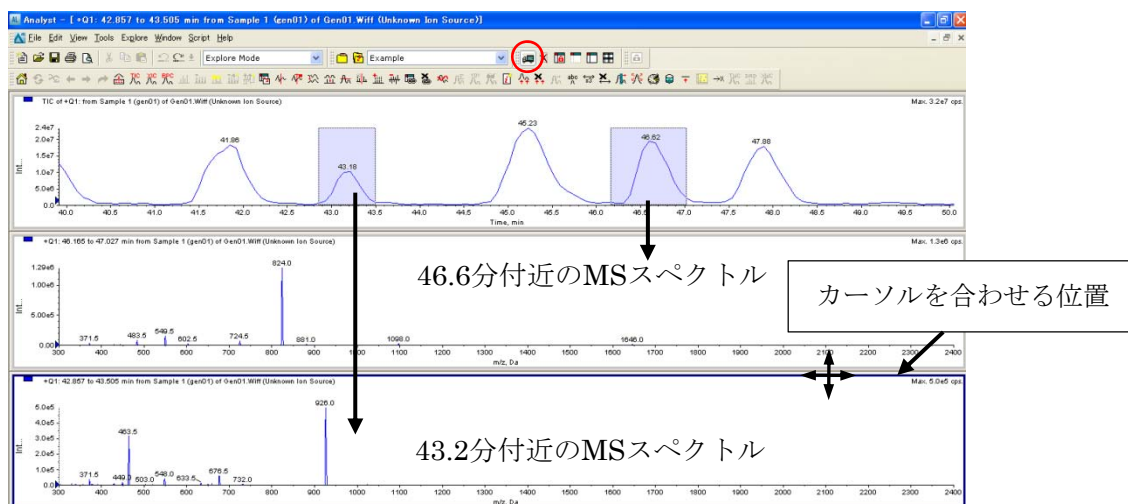
2) Move Pane  アイコンをクリックします。

※ クリックすると右図のようにアイコンが変化します。



3) 一番下に表示した Pane をクリックします。（クリックした Pane は青線で囲まれます）

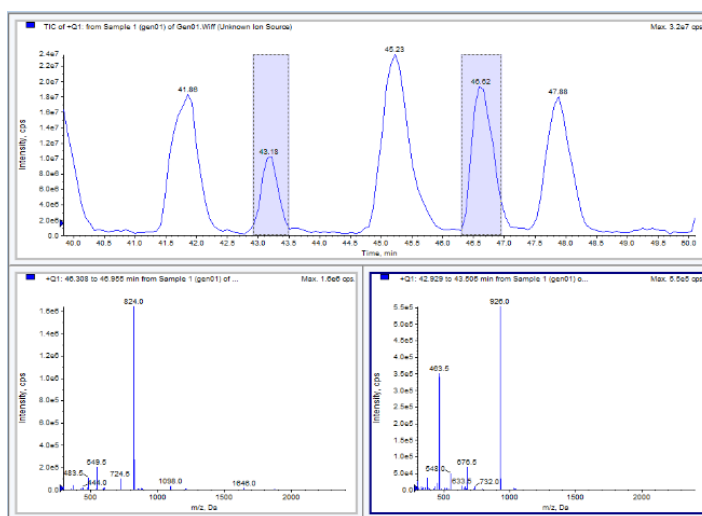
4) Pane の端にカーソルを合わせると  マークが表示されますので、その状態で左クリックして Pane をつかみます。



5) つかんだ Pane を中段の Pane の右側に移動します。window が二つに分かれて、スペクトルを表示します。

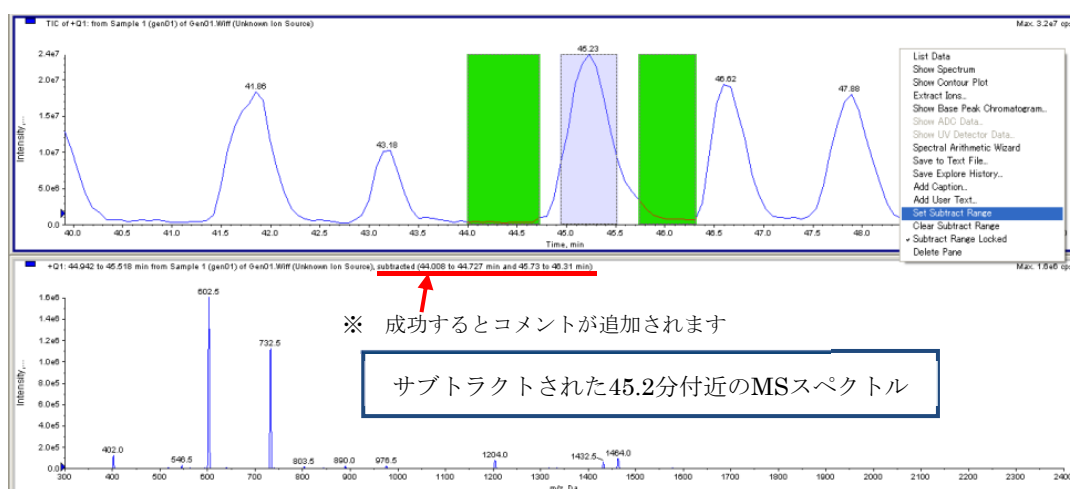
6) 再び Move Pane アイコン  をクリックすると、Pane の移動は解除されます。

<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、画面上で右クリックし、メニューから **Set Subtract Range** を選択します。
- ③ 指定した範囲（下図では 44.5 および 46 分付近）の選択範囲が緑に変化し、バックグラウンドとして設定されます。
- ④ 続いて目的のピーク範囲（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、画面右クリックから **Clear Subtract Range** を選択します。緑の範囲が消え、解除されます。
- ※ 解除後、青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...” は消されます。

4.2 その他の機能-1

- この項では画面の右クリックでメニューが表示される機能を紹介します。

4.2.1. List Data の表示

- List Data 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 Data File をダブルクリックし、目的の File を開きます。

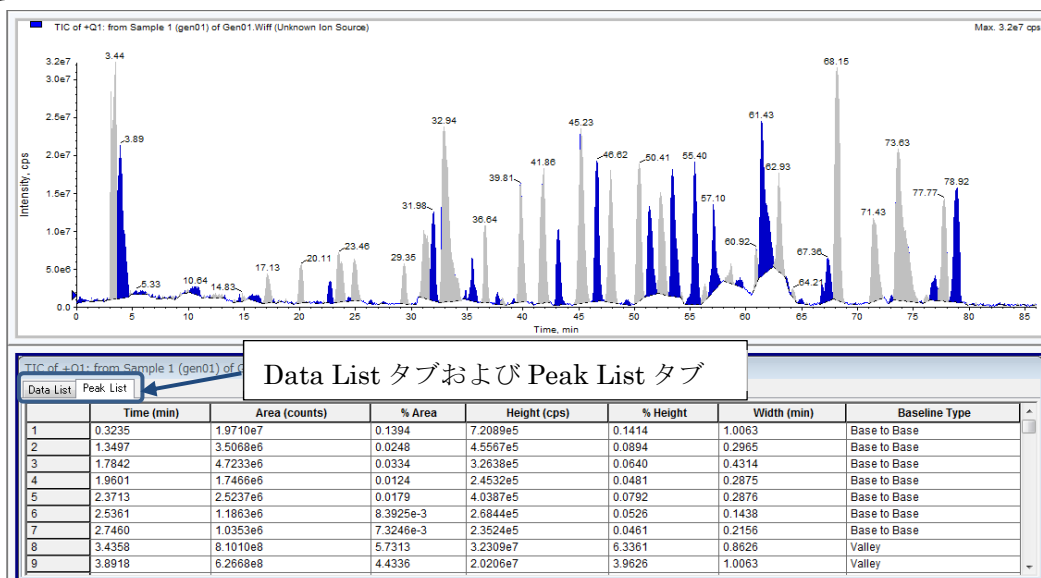
※ Training では Triple Quad フォルダ中の Gen01.wiff を開いてください。

- ② クロマトグラム上を右クリックし、List Data をクリック、あるいは List Data アイコン  をクリックします。

- ③ 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 List タブ：タイムポイントごとの Intensity と % of maximum intensity（強度と相対強度）等が表示されます。
- Peak List タブ：高さや面積値等が表示されます。

- ④ 本テキストでは Peak List 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灰色で交互に着色されます。

※ 着色させない場合は、Peak List タブを選択 > テーブル上で右クリック > Show Peaks In Graph を選択してください。

※ 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 > Save as Text...を選択し、名前を付けて保存します。

4.2.2. List Data の積分パラメータを変更

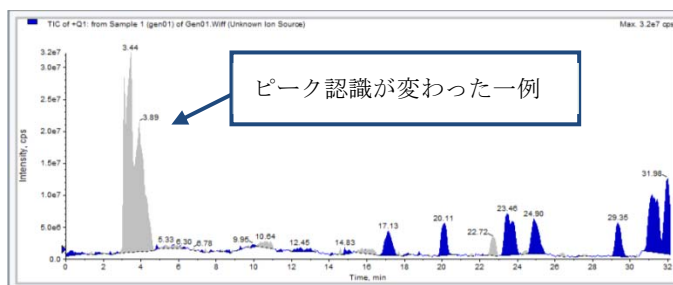
- ① 前述の方法で Peak List を表示します。
- ② Peak List テーブルにマウスを合わせ、右クリックし IntelliQuan Parameters ... を選択します。

	Time (min)	Area (counts)	% Area	Height (cps)	% Height	Width (min)	Baseline Type
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							

- ③ 開いた IntelliQuan 画面 (右図) で Parameter を変更し、OK をクリックします。

※ 右図では、Peak Split Factor を 3 に変更しています。

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



<Tips>

アルゴリズムの変更や積分パラメータの詳細設定方法

- 1) メニューバーの Tools > Settings > Processing Options を選択します。
- 2) 表示された画面の Integration タブを選択し、アルゴリズム等の変更を行います。

4.2.3. Caption（注釈）およびテキストの追加

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

① **Explore** モードの **Open Data File** をダブルクリックし目的の **File** を開きます。

※ **Training** では **Triple Quad** フォルダ中の **Gen01.wiff** を開いてください。

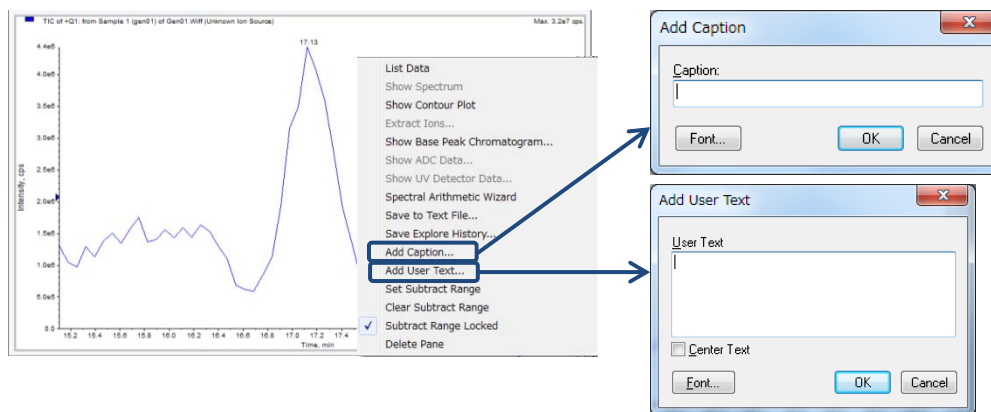
② X 軸の枠の外側の 15～20 分の範囲をドラックし拡大します。

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 画面左上を右クリックし **Add User Text** を選択します。

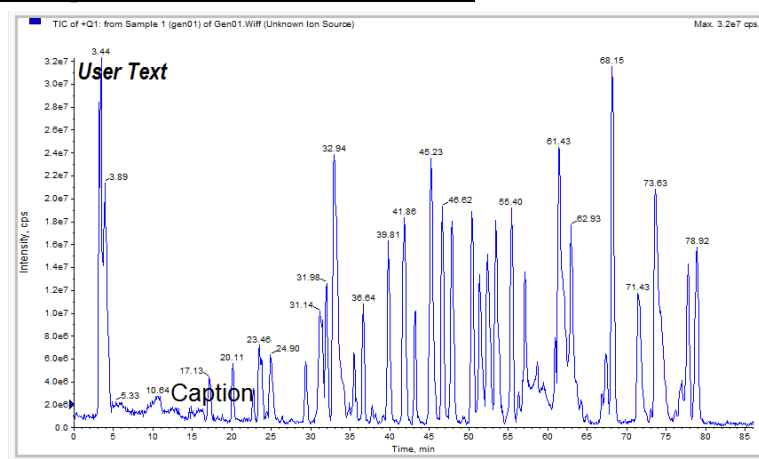
⑥ **Add User Text** 画面で「**User Text**」と入力します。



⑦ 拡大した X 軸を戻すため、**Home Graph** アイコン  をクリックします。

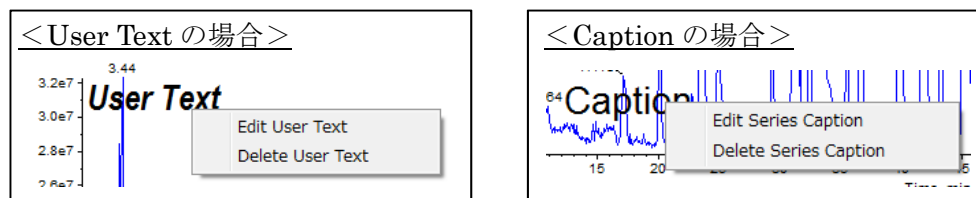
⑧ **User Text** はクロマトグラムの **Window** 上で同じ位置に残りますが、**Caption** はピークとともに動くことが分かります。

<Home Graph アイコンクリック後の画面>

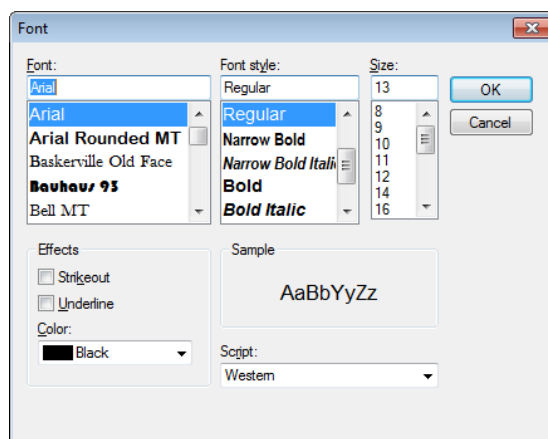


補足：表示させた **Caption** および **User Text** の削除および編集方法

- ① 入力した **Caption** もしくは **User Text** 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 **User Text** を選択します。
- ③ 編集する場合：表示された画面上で Edit **Caption** もしくは Edit **User Text** 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 や Font size など編集できます。



4.3 その他の機能-2

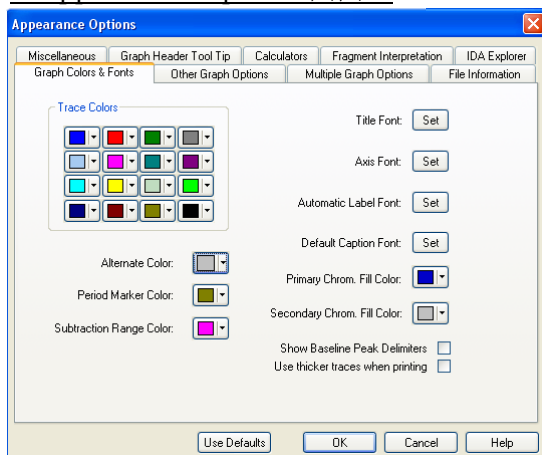
- この項では表示されているタイトルや軸のフォント、クロマトグラムの色などの変更方法および解析する際の便利な機能についてまとめてあります。

4.3.1. Appearance Option 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 **Tools > Settings** から **Appearance Options** を選択します。
- ② 下図の **Appearance Options** 画面が開きますので、**Graph Colors & Fonts** タブにて編集します。

<Appearance Options 画面>

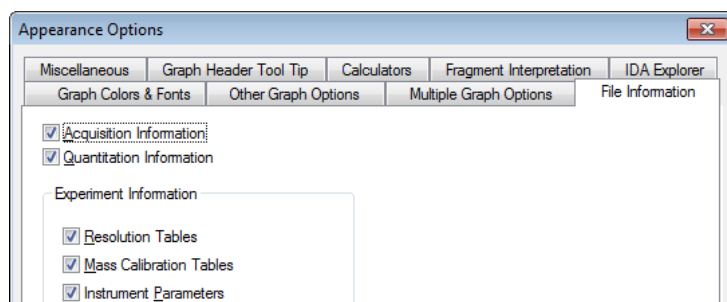


※ Appearance Options の詳しい設定は、「Analyst® ソフトウェア操作ガイド」、もしくは「Appearance Options 説明資料」をご参照ください

4.3.2. 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方法

- 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 **Appearance Options** 画面の **File Information** タブを選択します。
- ② 全てにチェックが入っているか確認します。（チェックが外れている項目があればチェックを入れてください。）

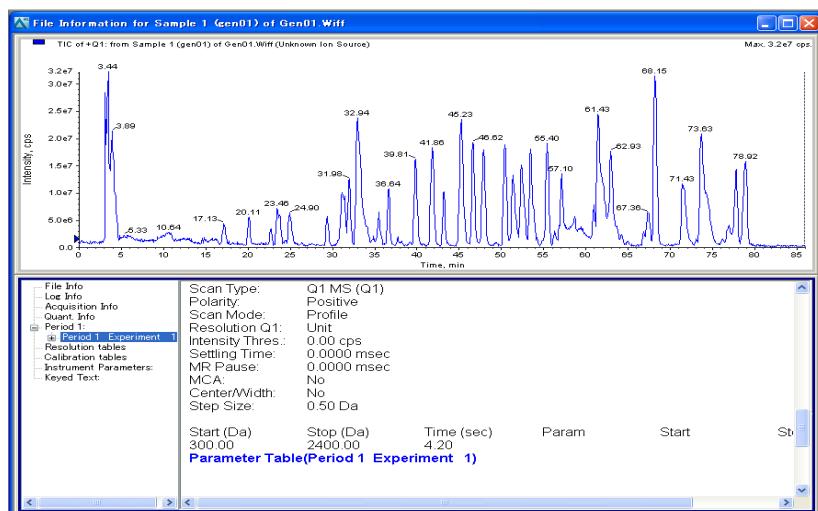


③ Explore モードの Open Data File をダブルクリックし、目的の File を開きます。

※ Training では Triple Quad フォルダ中の Gen01.wiff を開いてください。

④ Show File Info アイコン  をクリックします。

⑤ 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。

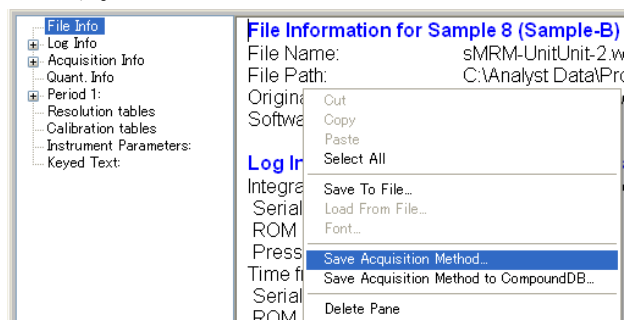


<補足>

- File Information の削除方法 : Delete Pane アイコンをクリックします。
- データから Acquisition Method の復元することができます。復元方法は下記を参照してください。

注意点 : データファイル取得時の Hardware Profile を Activate しておく必要があります。

1) File Information 画面上で右クリックし、Save Acquisition Method を選択します。



2) 保存先とファイル名を求められるので、File name に名前を入力し Save をクリックします。

3) データファイルが保存されている Project にメソッドが保存されます。

4.3.3. Y 軸の固定

➤ ここでは **Script** を使用し、**Y 軸**を任意の値で固定する方法を示しています。

【注意】

- ※ この機能を使うには、「Change y-axis」Script がインストールされている必要があります。「Change y-axis」Script がインストールされていない場合は、納品時バインダー内の CD にインストーラーが保存されていますので、インストールをお願いします。
- ※ インストーラーがない場合は、弊社サポートまでご連絡ください。
- ※ 尚、Script の動作は保証しておりませんので、予めご了承ください。

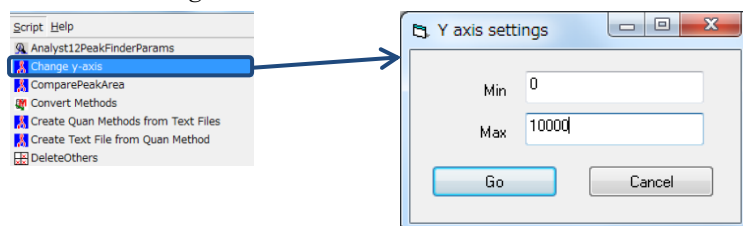
① Explore モードの Open Data File をダブルクリックし、目的の File を開きます。

※ Training では Triple Quad フォルダ > QuanData.wiff の API3-015 を開きます。

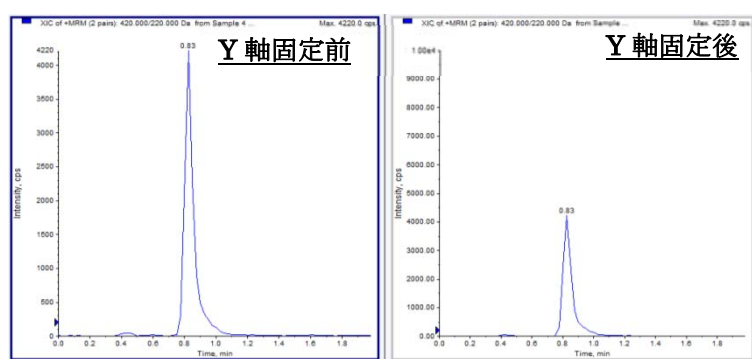
② Extract Using Dialog アイコン  をクリックし、420.0/220.0 を選択します。

③ メニューバーの Script から Change y-axis を選択します。

④ Y axis Settings 画面にて、任意の値を入力し「Go」をクリックします。



⑤ クリック後、下図のように Y 軸が任意の値で固定されます。



4.3.4. S/N の表示

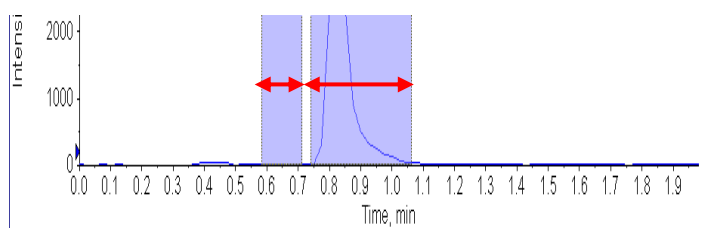
- ここでは **Script** を使用し、**S/N** を表示する方法を示しています。
 - **S/N** を表示させる方法として、標準偏差を用いた算出方法と **Peak to Peak** を用いた算出方法の 2 通りから選択できます。

【注意】

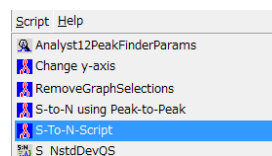
- ※ この機能を使用するには、「**S-To-N-Script**」「**S_NstdDevQS**」 **Script** がインストールされている必要があります。
- ※ **Script** がインストールされていない場合は、**C** ドライブ内の **Program Files > Analyst > Scripts** フォルダ中のインストーラーにより、対象の **Script** のインストールを行います。インストーラーがない場合は、弊社サポートまでご連絡ください。
- ※ 尚、**Script** の動作は保証しておりませんので、予めご了承ください。

Peak to Peak を用いた **S/N** の表示方法

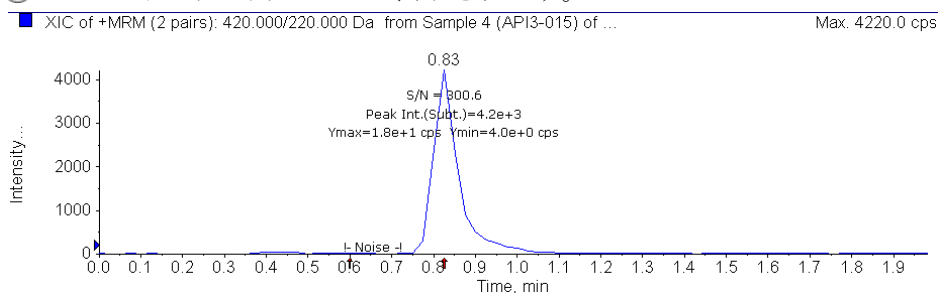
- ① Explore モードの **Open Data File** をダブルクリックし、目的の **File** を開きます。
 - ※ Training では **Triple Quad** フォルダ > **QuanData.wiff** の **API3-015** を開きます。
- ② **Extract Using Dialog** アイコン  をクリックして、**420.0/220.0** を選択します。
- ③ **Noise** に指定したい範囲（例では **0.6~0.7min** あたり）をドラックします。
- ④ キーボードの **Shift** キーを押しながらピーク（ピークトップを含めば可）をドラックします。



- ⑤ **Script** メニューから **S-To-N-Script** を選択します。

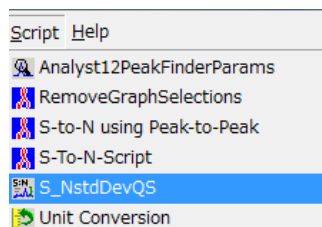


- ⑥ クロマトグラム内に **S/N** が表示されます。



標準偏差を用いた S/N の表示方法

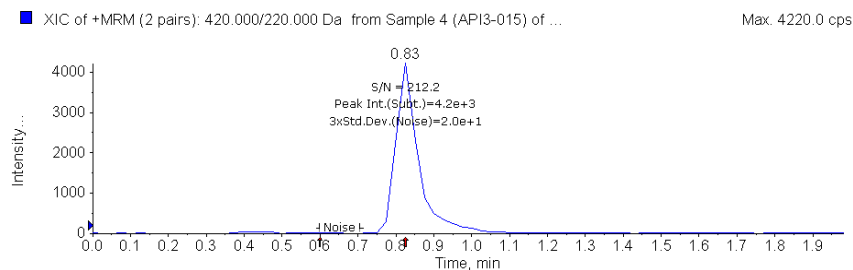
- ① Peak to Peak を用いた S/N の表示方法の①～④まで操作します。
- ② Script メニューから S_NstdDevQS を選択します。



- ③ 数値入力欄に 3 と入力し、Go をクリックします。



- ④ S/N が表示されます。



<補足> 表示させた S/N の削除方法

- ① Script メニューから S_NstdDevQS を選択します。
- ② Erase Labels をクリックします。
- ③ S/N が表示されたクロマトグラムをクリックします。



4.3.5. 手動積分

- ここでは **Script** を使用し、手動積分する方法を示しています。

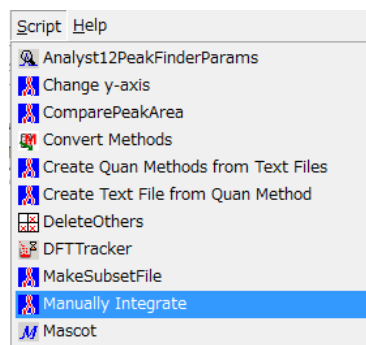
【注意】

- ※ この機能を使うには、「Manual Integrate」Script がインストールされている必要があります。Script がインストールされていない場合は、C ドライブ内の **Program Files > Analyst > Scripts** にインストーラーが保存されていますので、インストールをお願いします。
- ※ インストーラーがない場合は、弊社サポートまでご連絡ください。
- ※ 尚、Script の動作は保証しておりませんので、予めご了承ください。

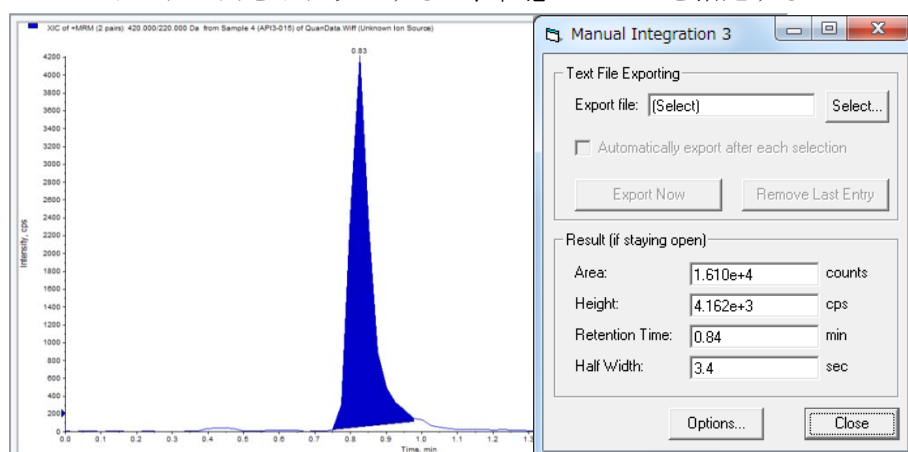
- ① Explore モードの **Open Data File** をダブルクリックし、目的の **File** を開きます。
- ※ Training では **Triple Quad フォルダ > QuanData.wiff** の **API3-015** を開きます。

- ② **Extract Using Dialog** アイコン  をクリックして、**420.0/220.0** を選択します。

- ③ **Script** メニューから **Manually Integrate** を選択します。



- ④ クロマトグラム内をドラックすると、任意にピークを指定することができます。



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。
- ※ Analyst® Software の Quantitate モードを用いた定量については、Analyst® ソフトウェア用のマニュアル、MultiQuant™ Software を用いた定量については、MultiQuant™ ソフトウェア用のマニュアルをご参照ください。

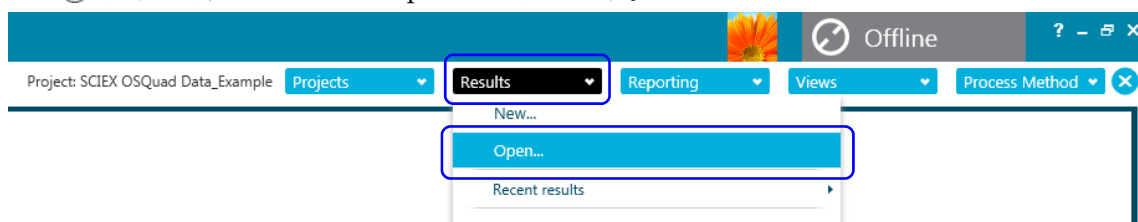
5.1 Results Table の編集と解析

※ 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>

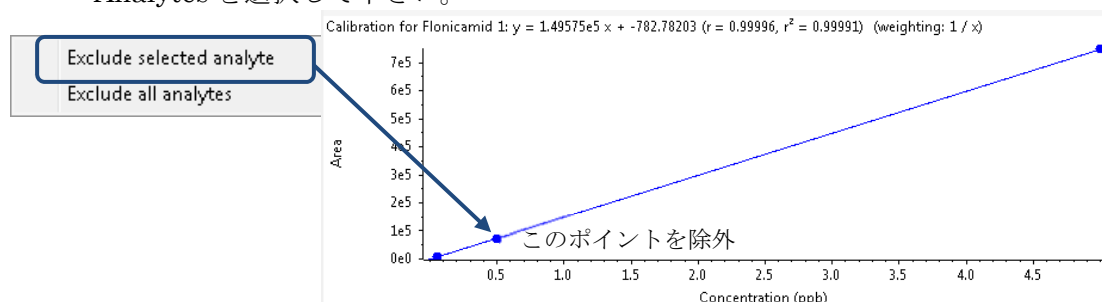
① Results Table 上で、除外したい検量線ポイントの Used のチェックを外します。

<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

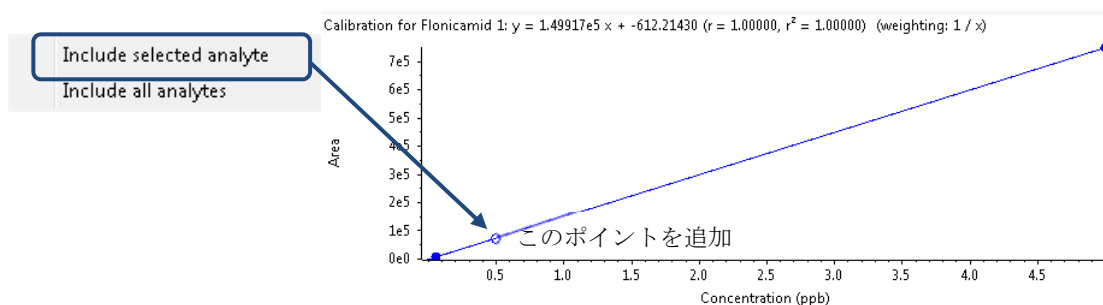
- Results Table からの操作方法と検量線の表示画面からの操作方法があります。

<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。

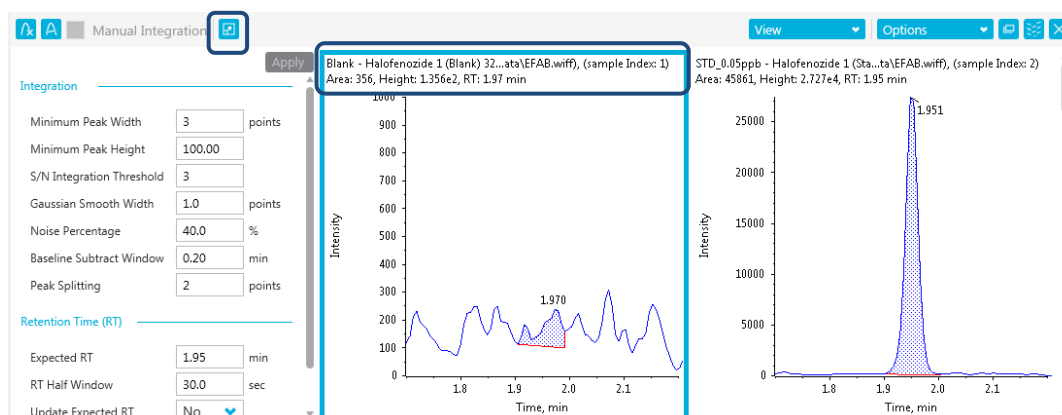


5.1.3. 積分パラメータを編集する方法

- 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。

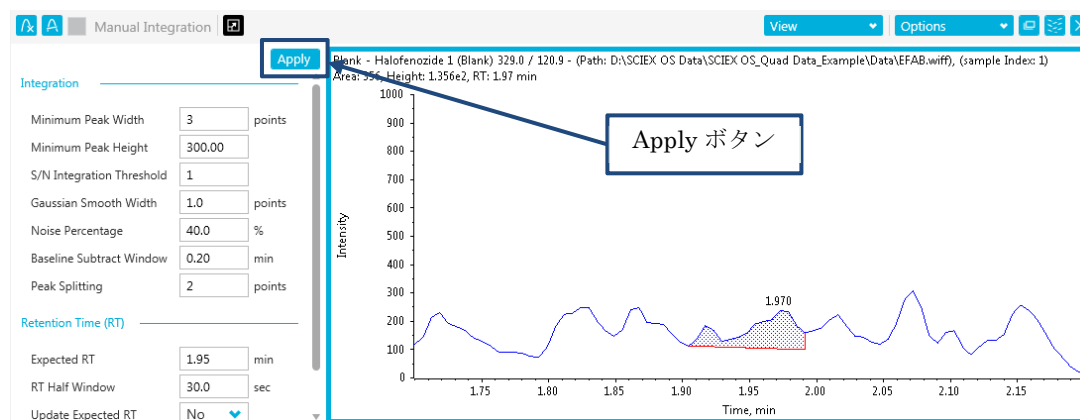
- ① Results Table 画面右上の Display the Peak Review アイコン  をクリックしてクロマトグラムを表示させます。
② Peak Magnifier アイコン  をクリックし、選択されているクロマトグラム（選択されているクロマトグラムは、水色の枠で囲まれています）を拡大します。

※ トレーニングでは、Halofenozide 1 (Analyte) の Blank (Sample) を選択してください。



③ パラメータを変更し、Apply をクリックします。

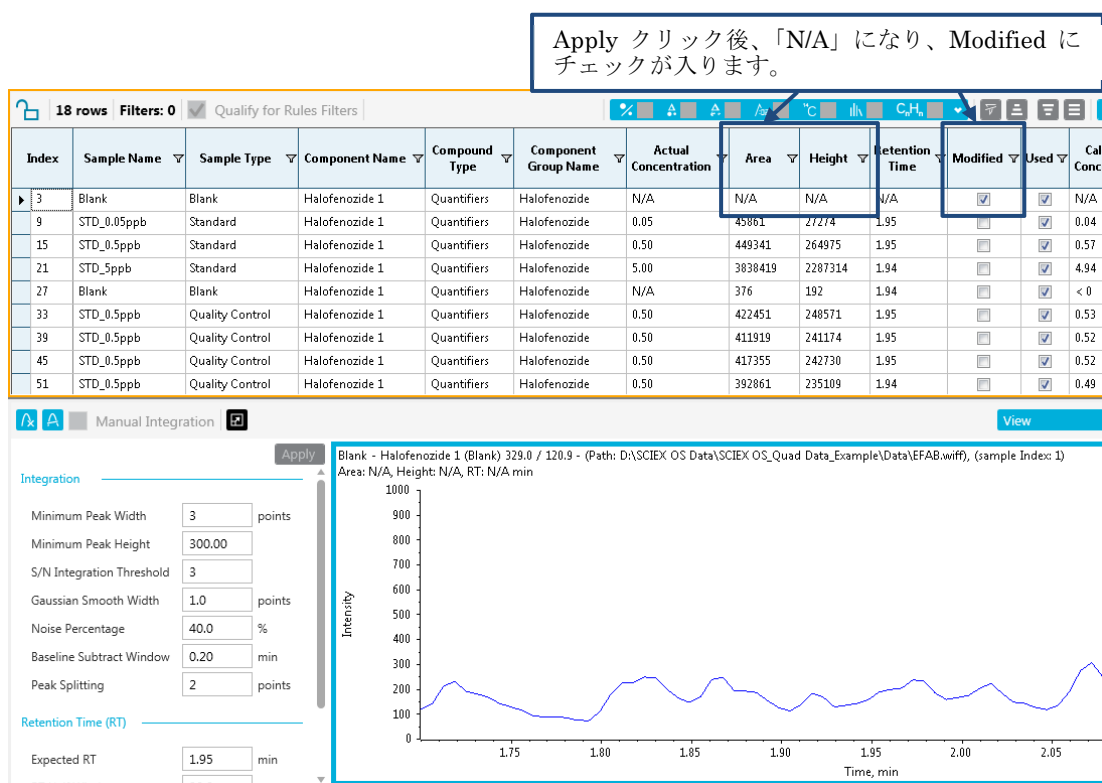
※ トレーニングでは、Min. Peak Height を 100 から 300cps に変更して下さい。



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。

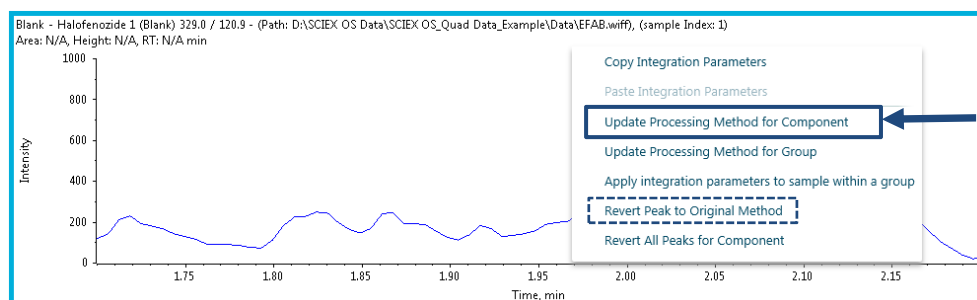
⑤ Results table 上の Area と Height の値が N/A になり、Modified の欄にチェックが入ります。

※ 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。



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。



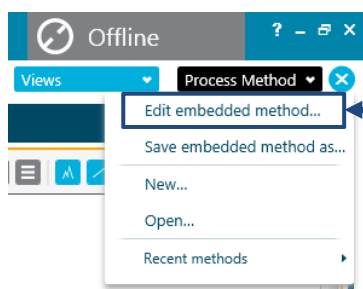
- ② 選択後、全サンプルのピークに対し、変更した積分パラメータで再計算されます。
- ③ Results table 上の Area と Height、Calculated Concentration が再計算した値に変わります。
- ④ Update Processing Method for Component により、全てのサンプルが同じパラメータに設定されたので、Modified 欄のチェックが消えます。

<補足>

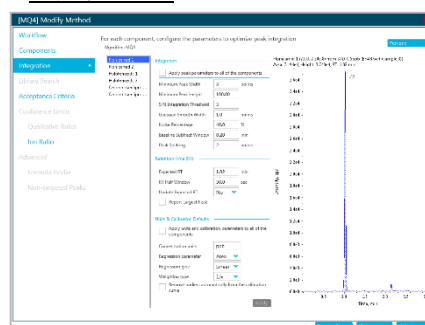
※ Revert Peak to Original Method : Apply を行ってパラメータを変更した後、変更前のパラメータに戻すことができます。Update Processing Method for Component を選択する前に有効です。

※ 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。



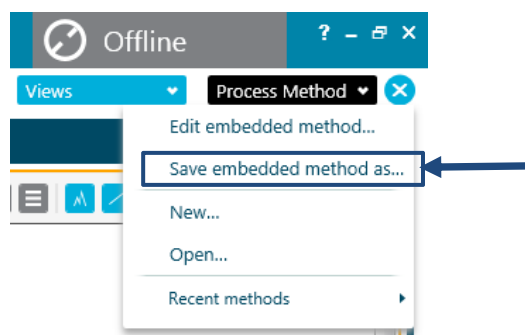
<編集画面>



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。

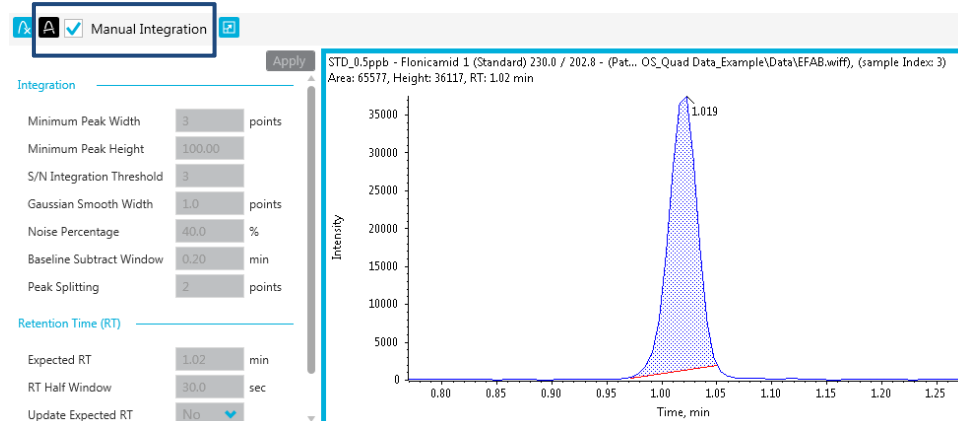
- ① Update Processing Method for Component もしくは Edit embedded method を行った後、画面右上の Process Method > Save embedded method as を選択します。
- ② Save As 画面が表示されますので、File name に名前を付けて Save で保存します。上書き保存も可能です。



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

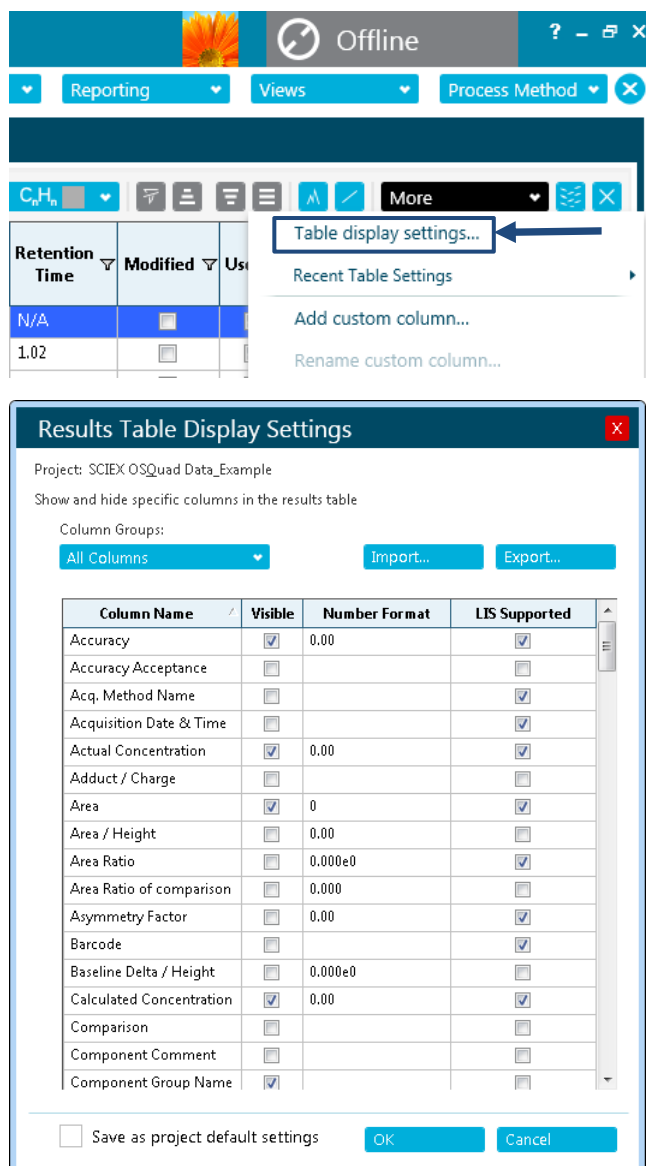
➤ Results table の表示設定を変更することができます。

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。

✓ 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。

③ 変更して OK をクリックします。



<補足>

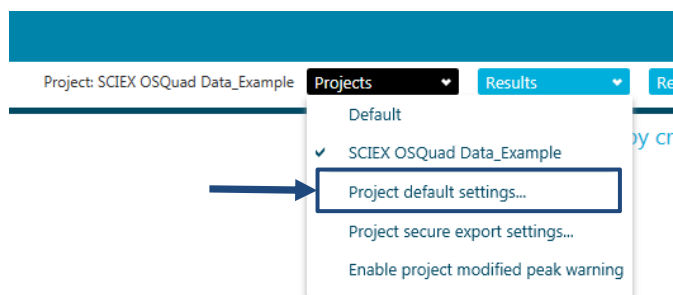
※ Export で設定した Table display settings を保存できます。また、Export で保存した Table display settings ファイルを Import で読み込むこともできます。

※ 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。

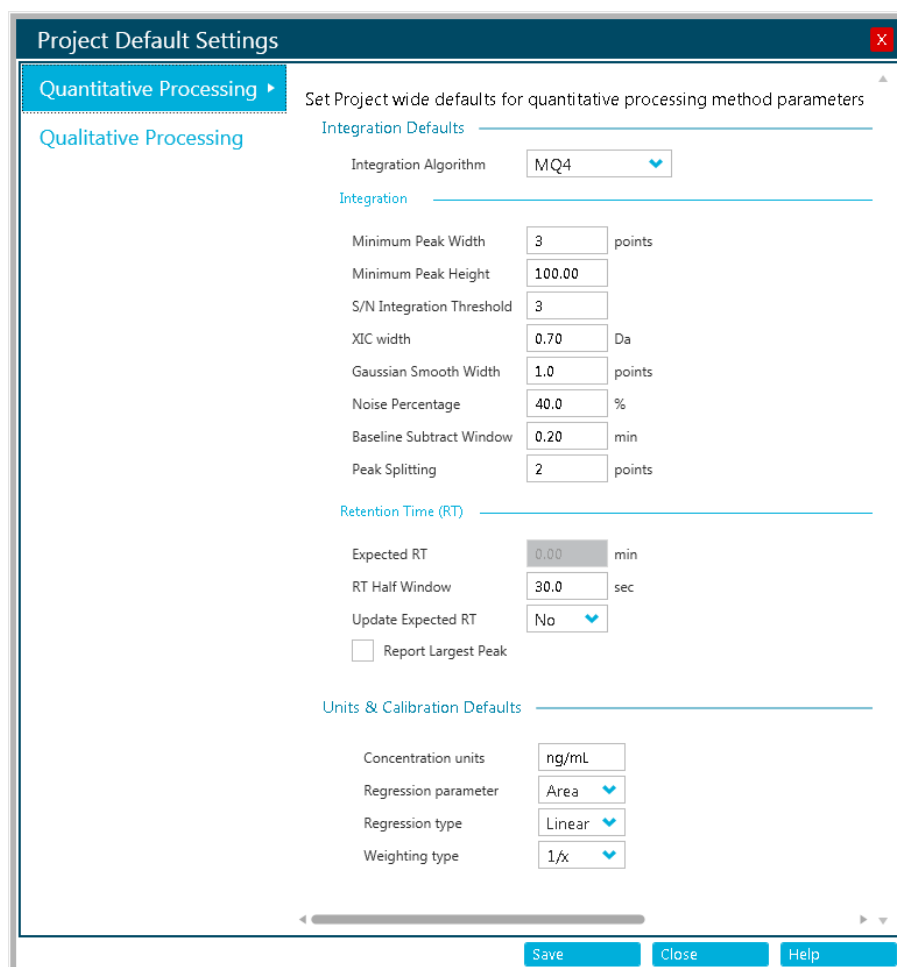
5.1.8. 積分パラメータや濃度単位、検量線の種類の初期設定を変更する方法

- 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くと便利です。

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

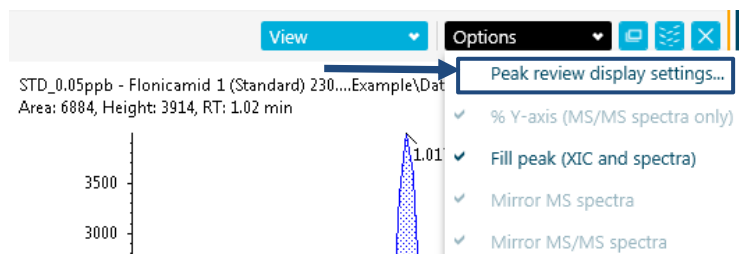


- ② Project Default Settings 画面が開きますので、**Quantitative Processing** の項を選択します。
- ③ **Integration** の項目で積分パラメータの初期値や、**Units & Calibration Defaults** の項目で濃度単位や検量線の種類などの初期設定を変更して、**Save** をクリックします。



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。

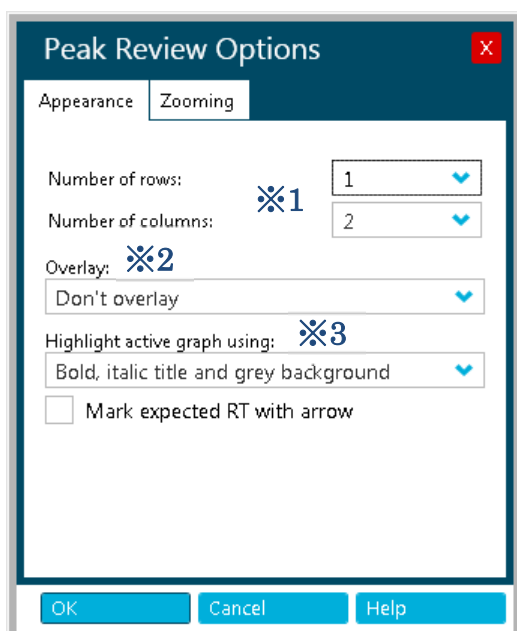


- ② Peak Review Options 画面が表示されますので、表示方法の設定を行い、OK をクリックします。

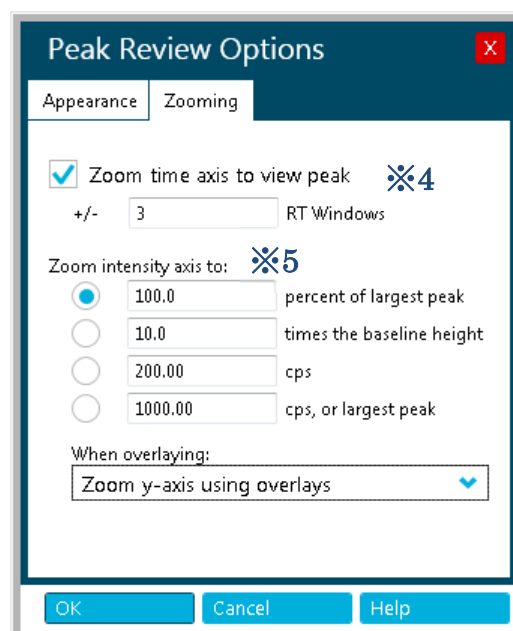
<補足>

- ※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>



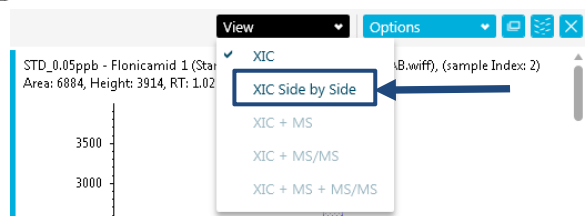
<Zooming タブ>



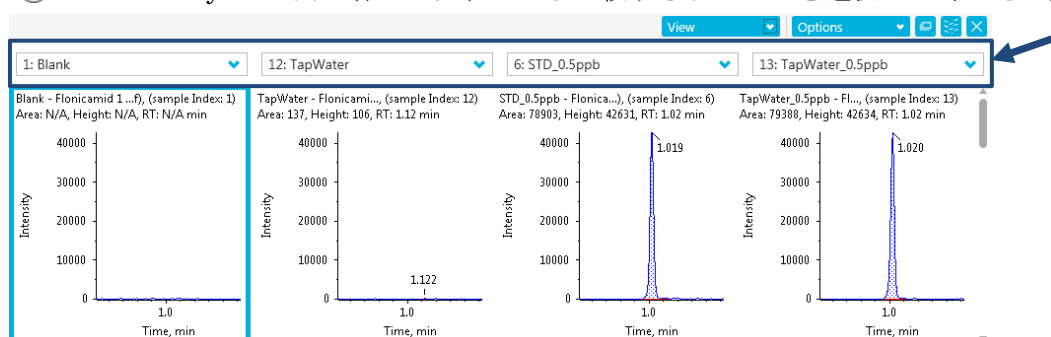
5.1.10. 任意のクロマトグラムの並列表示 (XIC Side by Side)

- 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。



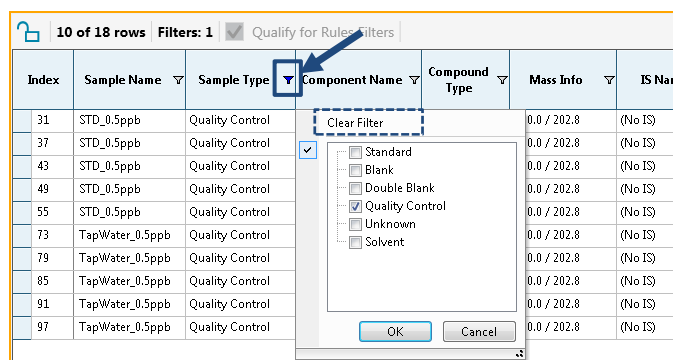
<補足>

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。



<補足>

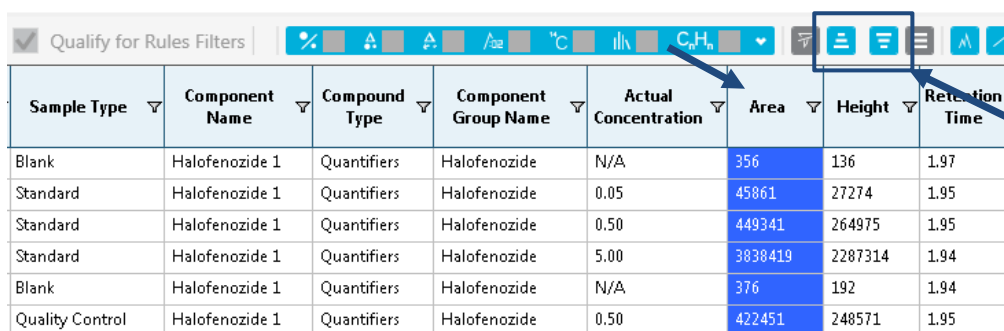
※ 表示をもとに戻す場合は、Clear Filter を選択します。

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

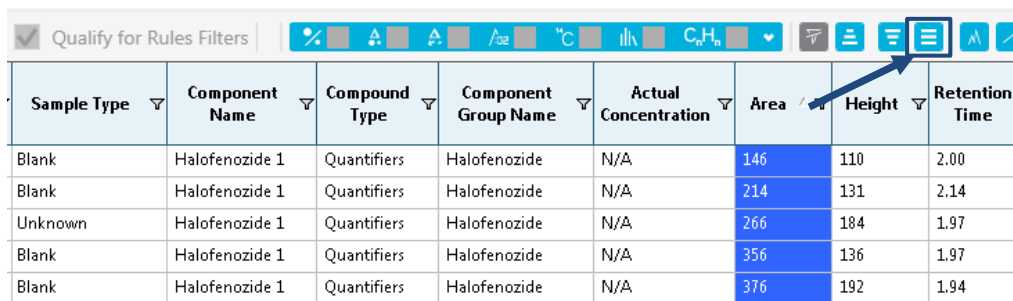
- ① Results table 上で、並べ替えたい列の項目をクリックします。選択した列が青色に反転します。(数値以外も同様に並べ替えることができます。)



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

- ① 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。

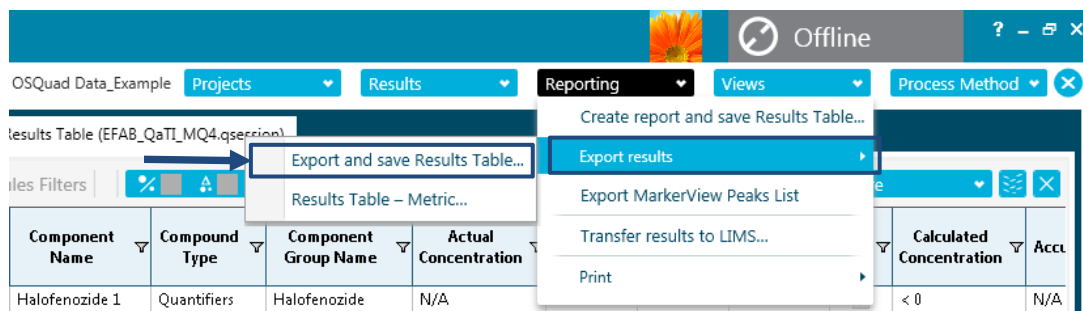


Sample Type	Component Name	Compound Type	Component Group Name	Actual Concentration	Area	Height	Retention Time
Blank	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	N/A	356	136	1.97
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.05	45861	27274	1.95
Standard	Halofenozide 1	Quantifiers	Halofenozide	0.50	449341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

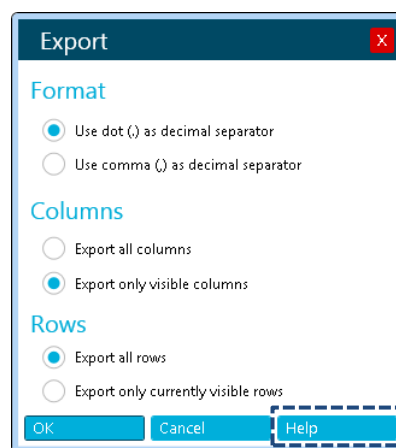
➤ Results table をテキスト形式で出力することができます。

- 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。

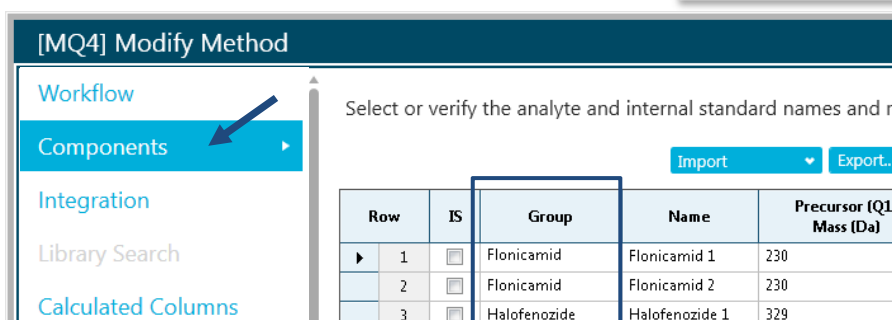
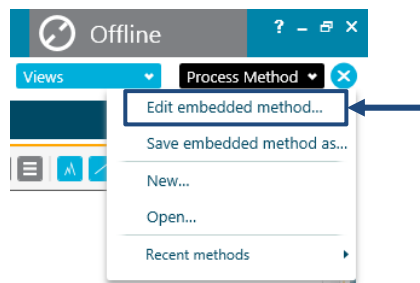
※詳細は Export 画面右下の Help をご参照ください。

5.2 イオン比の表示方法

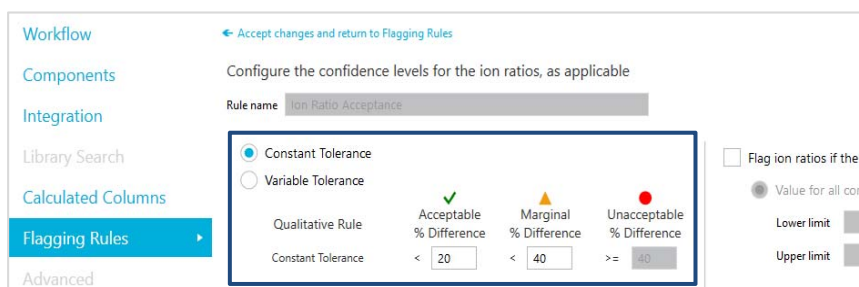
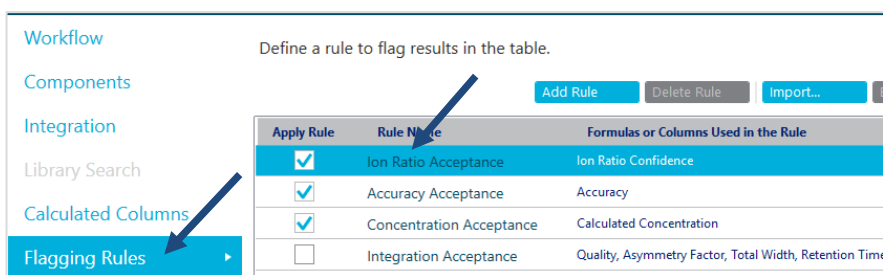
- イオン比の判定基準をクロマトグラム上に表示することで、目視で簡単に素早く、陽性の判定が可能になります。

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。



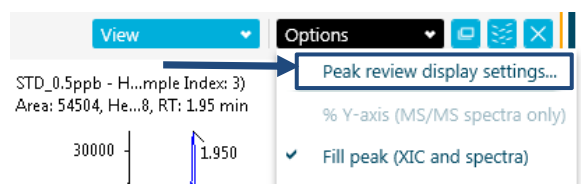
③ Flagging Rules、をクリックし、Ion Ratio Acceptance をクリックします。Tolerance (%) の欄が有効になりますので、イオン比の許容値を入力して Process & Close をクリックします。



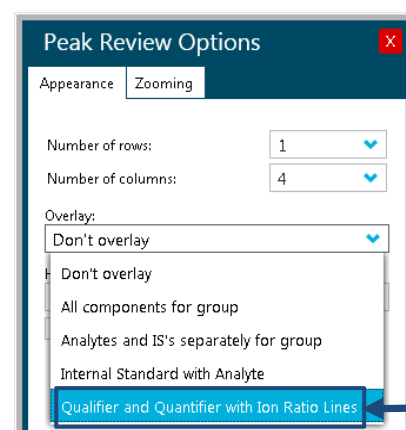
- ④ グループ化された Components の 2 番目以降が定性イオンとして認識され、Results table が再計算されます。Results table の Ion Ratio の欄にイオン比が、Ion Ratio Confidence の欄に許容値内か否かの判定が表示されます。

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	☒	0.01	N/A	4.37	●
Halofenozide 2	Qualifiers	Halofenozide	0.05	5245	3377	1.95	☒	0.05	92.62	0.11	✓
Halofenozide 2	Qualifiers	Halofenozide	0.50	54504	33118	1.95	☒	0.54	108.12	0.12	✓

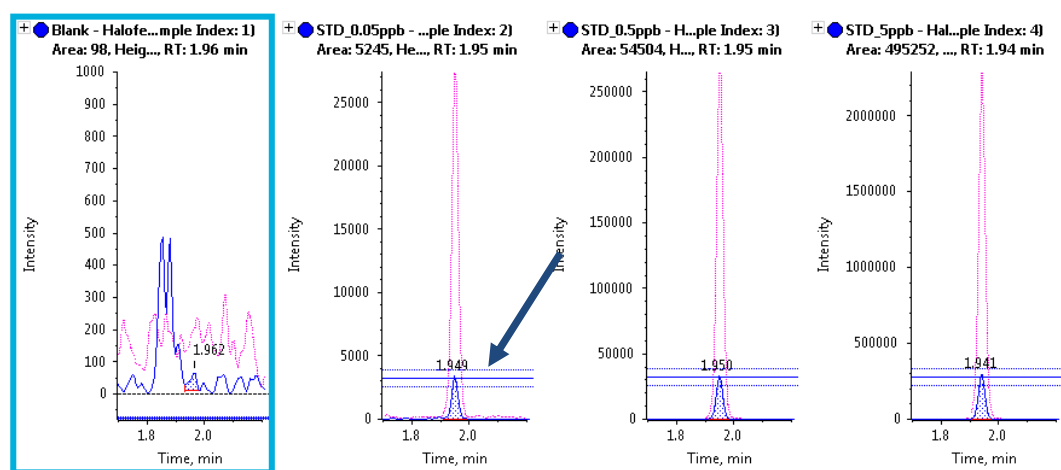
- ⑤ Peak Review 画面を表示します。
Peak Review 画面右上の Options > Peak review display settings を選択します。



- 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。



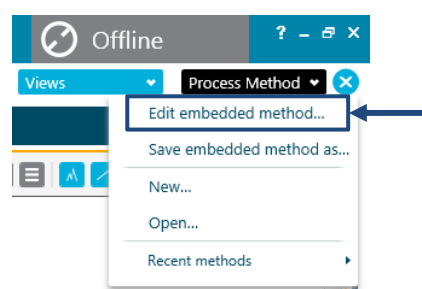
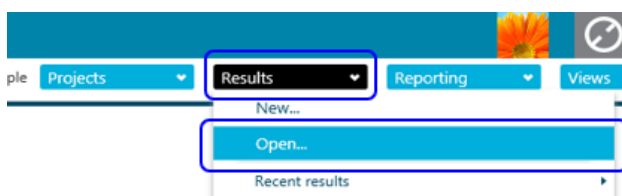
<補足>

※ 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

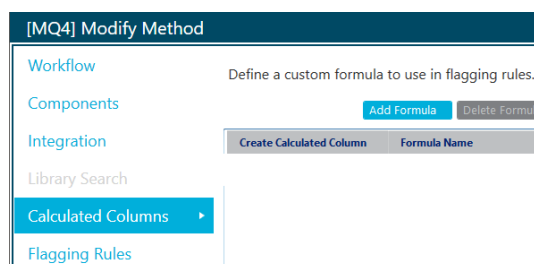
- 任意の計算式を設定することで、計算から外れた値を目視で簡単に判定することができます。
- 例：内部標準（IS）の面積の変動を評価します。

- 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。

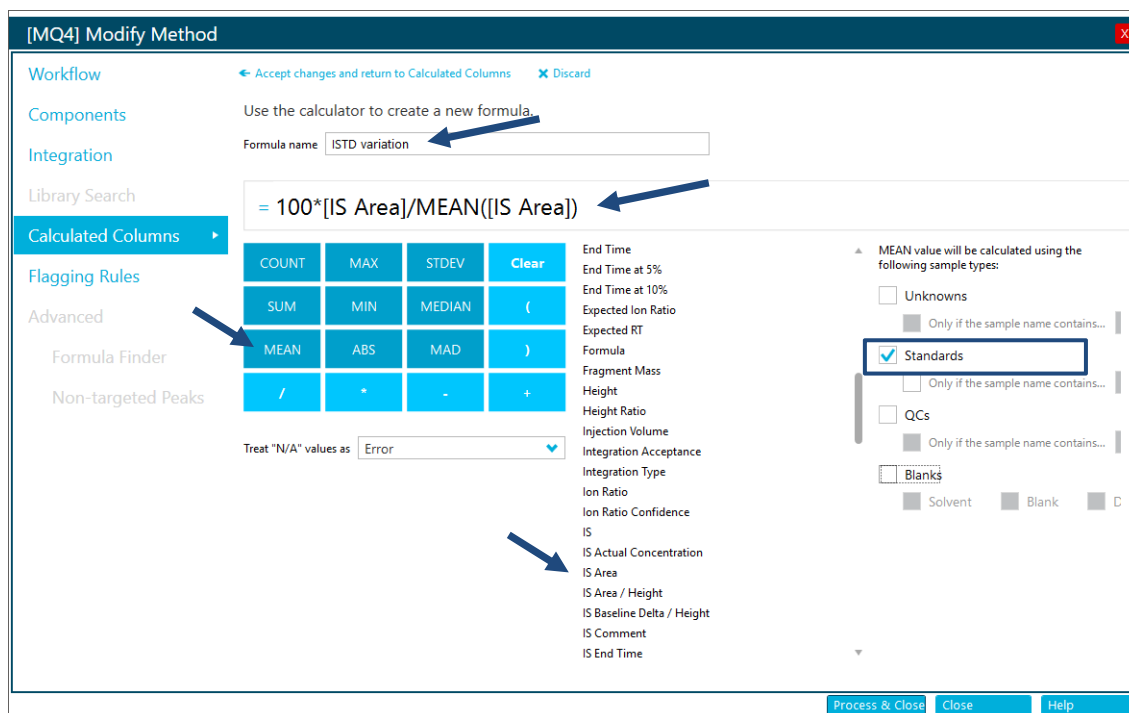


- ④ 下図を参考に、入力と設定を行います。

Formula Name : ISTD variation

式 : $100 * [\text{IS Area}] / \text{MEAN}([\text{IS Area}])$

Sample Type : Standard

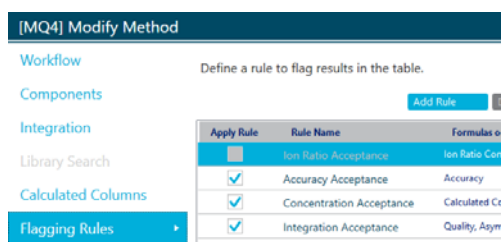


⑤ **Fragging Rules** をクリックすると **Warning** が表示されますので **Yes** を選びます。

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

Workflow Components Integration Library Search Calculated Columns **Flagging Rules** Advanced

Formula Finder Non-targeted Peaks

Accept changes and return to Flagging Rules Discard

Rule name: ISTD variation

Flag a results column: ISTD variation

Flagging criteria: Range

Step 1: Define the values for the flagging criteria

☒ Value for all components ☐ Values per component type

Lower limit: 80

Upper limit: 120

Step 2: Apply the values to the following sample types

☒ Unknowns

☐ Standards

☐ QCs

☐ Blanks

Treat N/A values as: Error

Process & Close Close

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。

7 rows Filters: 0 Quality for Rules Filters

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

[MQ4] Peak Review (sulfur curve question)

Manual Integration

View Outcomes

blank - 211.2 / 156.3 (sample Index: 1) Area: 2134, Height: 762, RT: 3.49 min

0.1 - 211.2 / 156.3 (sample Index: 2) Area: 13010, Height: 762, RT: 3.48 min

1 - 211.2 / 156.3 (sample Index: 3) Area: 12191, Height: 762, RT: 3.48 min

10 - 211.2 / 156.3 (sample Index: 4) Area: 13245, Height: 762, RT: 3.48 min

100 - 211.2 / 156.3 (sample Index: 5) Area: 11568, Height: 762, RT: 3.49 min

Sample1 - 211.2 / 156.3 (sample Index: 6) Area: 159592, Height: 264, RT: 3.47 min

sample2 - 211.2 / 156.3 (sample Index: 7) Area: 1329308, Height: 565, RT: 3.47 min

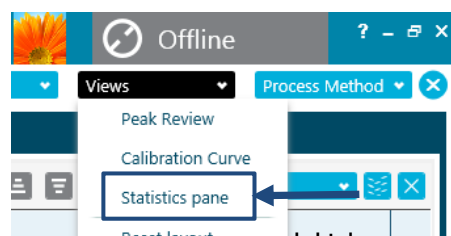
これにより、Unknown である Sample1 および 2 の IS の面積が Standard に比べて大きいことが確認できます。

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。

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。

A screenshot of the Statistics pane. At the top, a dropdown menu is set to 'Group by Concentration for Standards'. Below it is a table with the following data:

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。

A screenshot of the Statistics pane. The dropdown menu at the top is now set to 'Group by Concentration for QCs'. The table below shows the following data:

Row	Component Name	Actual Concentration	Num. Values	Mean	Standard Deviation	Percent CV	Accuracy	Value #1	Value #2	Value #3	Value #4	Value #5
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。

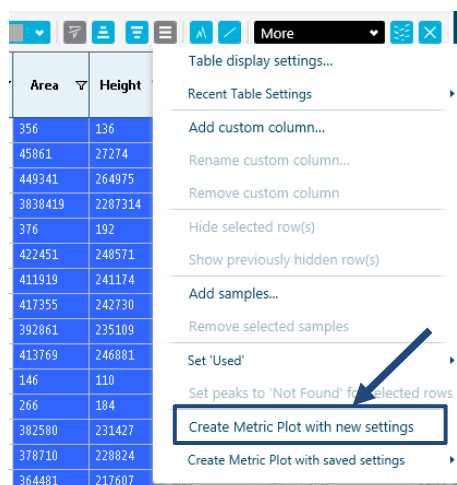
5.5 Metric Plot の作成と実行方法

- 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。

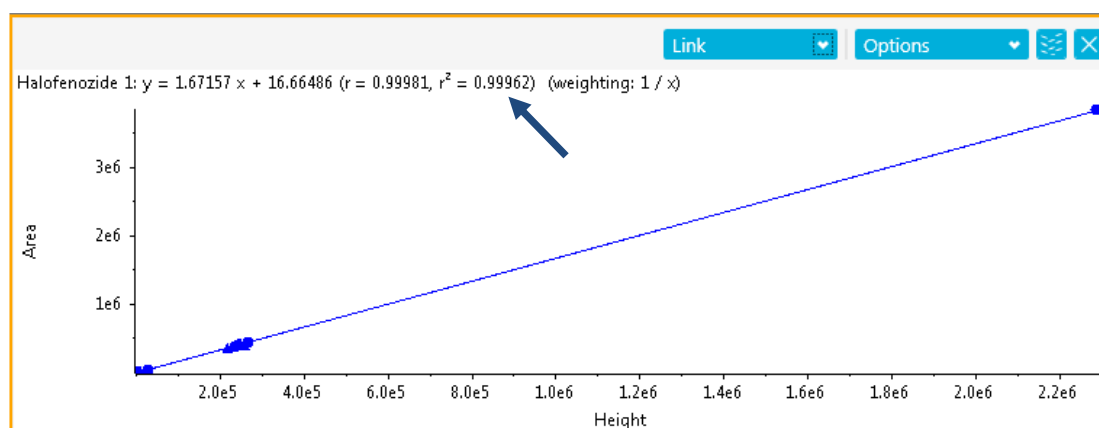
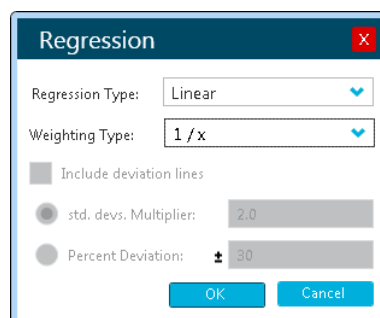
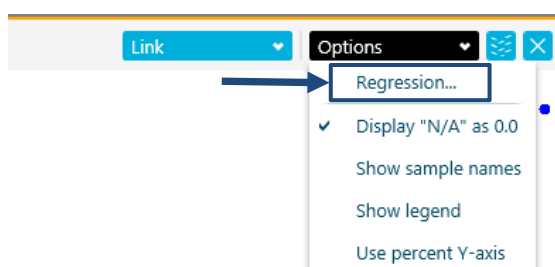
（本テキストでは、X 軸に Height、Y 軸に Area を指定しています。）

- 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。

- ④ 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

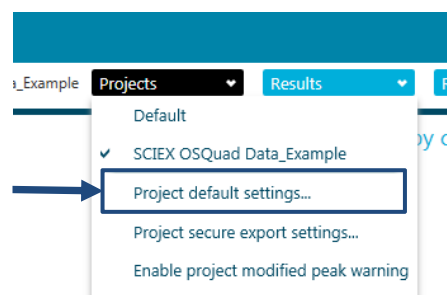
- SCIEX OS の Analytics モードでは、3 種類の定量アルゴリズムを備えており、それぞれ以下のような特徴があります。
- ✓ **MQ4**：一般的によく使われるアルゴリズムです。Analyst Software の Quantitate Mode での IntelliQuan で採用されている MQⅢアルゴリズムに近いアルゴリズムです。本テキストで使用している Results table (EFAB_MQ4.qsession) は MQ4 アルゴリズムを使用して作成しています。
- ✓ **AutoPeak**：標準品などから構築したピークモデルに基づき、ピーク面積を求めます。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。)

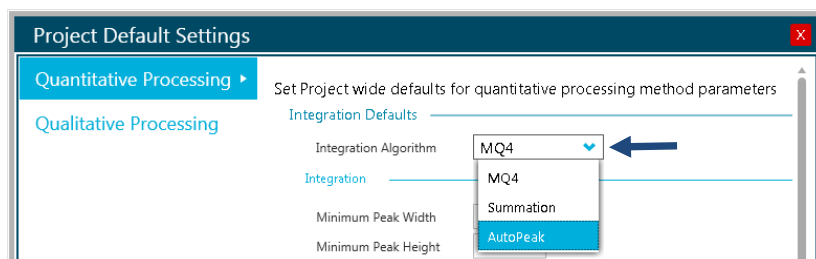
※ 各アルゴリズムの詳細については、SCIEX OS の Help をご参照ください。

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。



5.7 レポートの作成

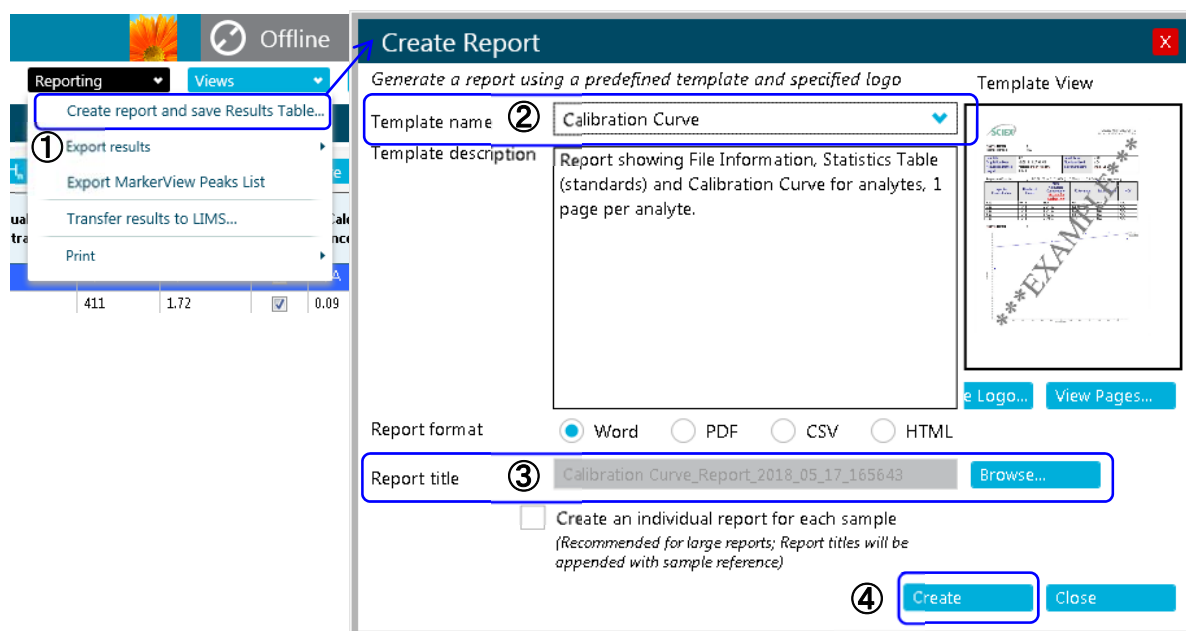
定量結果をレポートとして出力する方法

- 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。

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。

© 2017 K.K. AB SCIEX.