

# AccuTOF CS (自然系 C403 室 ESI-MS) 簡易測定マニュアル

木越研内専用 2012/4/24 改訂

## 1. 機器の予約

<http://www.chem.tsukuba.ac.jp/accutof/CS.html> (学内専用) パスワード cs

ラボ内担当 : 北 (4526)、装置管理者 : 淵辺先生 (4486)

## 2. 装置の立ち上げと準備

- ・ N<sub>2</sub>再凝縮装置 (本体左) ①メインスイッチ ON、②圧力を調整、③バルブを open にする
- ・ **MassCenter** メイン アイコン開く
- ・ 「ファイル」 → 「プロジェクトを開く」 → 「D: kigoshi1」 選んで開く
- ・ 「装置」 → 「MS 調整」: 新たに調整画面が立ち上がる. 画面下の **2つの真空度** をノートに記録
- ・ **隔離バルブ** (本体銀色の筒) を開く (右→上→左)
- ・ 画面上に表示されている **排気完了** を **操作** に変更
- ・ 「ファイル」 → 「MS 調整条件を開く」 → ファイル「**ESI+\_2000\_1**」 or 「**ESI+\_1000\_1**」を開く (標準は 2000、*m/z* 200 以下を特に観測したい時は 1000 のファイルを選択する)
- ・ 画面左タブ「検出部」を選び、**イオン化電圧**をノートに記録 (デフォルト 2000V、1800~2500 変更可)
- ・ 画面左タブ「イオン源」を選び、「温度/ガス」内の **ネブライジングガス** と **脱溶媒ガス** のチェックを外す
- ・ シリンジに MeOH を入れ、手動で ~50 μL 注入してから、シリンジポンプにセット
- ・ シリンジポンプの電源 **ON**、デフォルトの設定値 (10 μL/min) を確認して **Run/Stop**
- ・ しばらく溶媒を流したら **ネブライジングガス** と **脱溶媒ガス** にチェックを入れ、観測されるイオンを確認  
→ すぐに **ネブライジングガス** と **脱溶媒ガス** のチェックを外す (こまめに N<sub>2</sub> ガスを切る)  
→ これを繰り返して、基準ピークの強度が安定するまで待つ

## 3. サンプル

- ・ LRMS : 10<sup>-7</sup> M メタノール溶液 1 μL (検出感度による)。
- ・ HRMS : 10<sup>-6</sup> M メタノール溶液 1 μL (検出感度による)。他に **reserpine** か、目的質量に近い **PEG** (PEG200,600,1000 など) の 10<sup>-6</sup> M メタノール溶液 1 μL を用意する (標準物質)。

**シリンジ操作** : まず針先をキムワイプで拭く → HPLC 用 MeOH をシリンジ体積 1/10 程度入れ、満タンまで空気を吸引 → 中身を捨てる → これを 5 回以上繰り返す → サンプルを吸引して、空気を抜く → 針先をキムワイプで拭く → 注入

#### 4. 測定

- ・先に **ネブライジングガス** と **脱溶媒ガス** にチェックを入れる
- ・[MassCenter メイン] 画面の「分析」→「単発測定」
- ・新しく表示された画面で「次へ」 → データ名とデータフォルダ（日付+イニシャル）を入力 → 「次へ」 → 「既存の MS 測定条件を使う」を選び「**ESI+\_2000(1000)\_1**」を「参照」から読み込む → 「完了」
- ・ウィザード上書きしますか？と聞いてくるので「はい」を選択
  - N<sub>2</sub> ガスが自動で ON になり、2つのモニタ画面が起動したら、新しいウィンドウで「測定開始」
  - [クロマトビューワ画面]に TIC が、[スペクトルビューワ画面]に MS がリアルタイムで表示される
- ・シリンジポンプから配管を外してサンプル **1 μL** を注入し、シリンジポンプに再度接続する
- ・（HRMS の場合のみ）2 分後に標準物質 **1 μL** を同様に注入する
- ・**10 分**で測定終了（MassCenter メイン画面で「測定中止」すれば途中停止できデータは保存される）
- ・終了後、すぐに [MS 調整マネージャ画面] の **ネブライジングガス** と **脱溶媒ガス** のチェックを外す
- ・流路の洗浄 → N<sub>2</sub> ガスを流してベースライン安定化を確認（サンプルの MS が出なくなるまで洗浄する、汚れが落ちない時は 50% MeOH → MeOH で洗浄）

#### 5. 終了時

- ・測定時（N<sub>2</sub> ガスを流している時）の基準ピークと強度（MS 画面上に表示）をノートに記録
- ・ **ネブライジングガス** と **脱溶媒ガス** のチェックボックスを外す
- ・ [MS 調整マネージャ画面] の上タブ **操作** を **排気完了** に変更
- ・シリンジポンプを止めて電源 **OFF**、中の溶媒を捨てる
- ・ **隔離バルブ**（本体銀色の筒）を閉じる（右→下→左）
- ・クロマト画面 2 つと [MS 調整マネージャ画面] を閉じる（**ESI+\_2000\_1** を変更するか聞いてくるので「いいえ」を選択して閉じる）
- ・ [MassCenter メイン画面] 閉じる → 「はい」を選択して終了（Windows は終了しない）
- ・ N<sub>2</sub> 再凝縮装置（本体左）③バルブを close、①メインスイッチ OFF にする
- ・使用記録（研究室の通算時間など）

#### 6. データ処理 (LRMS)

**重要：質量補正は行わない、データ処理した MS のみ PDF で保存し、クロマト生データは保存しない**

- ・ [クロマトビューワ画面] と [スペクトルビューワ画面] を開く  
（測定後は自動で表示される、または [MassCenter メイン画面] で「ツール」→「クロマトビューワ」）
- ・ [クロマトビューワ画面] の左ツリー内で、測定したデータフォルダをダブルクリック
- ・測定データファイル名を**右クリック** → 「開く」→ TIC が表示
- ・イオンが出ている範囲を**右ドラッグ**で囲む → [スペクトルビューワ画面] に目的物の MS が表示される
- ・画面左ドラッグで拡大、ダブルクリックで全画面表示に戻る
- ・「ファイル」→「印刷」→ 印刷横向き、プリンタを Epson に指定 → 「印刷」
- ・「ファイル」→「印刷」→ 印刷横向き、プリンタを PDF に指定 → 「保存」

## 7. データ処理 (HRMS)

重要：質量補正は「質量ドリフト補正」で行い、「質量校正」は触らない。クロマト生データは一時的に保存しても良いが、必要なデータが揃ったら消去すること

- ・ [クロマトビューワ画面] と [スペクトルビューワ画面] を開く  
(測定後は自動で表示される、または [MassCenter メイン画面] で「表示」→「クロマトビューワ」)
- ・ [クロマトビューワ画面] の左ツリー内で、測定したデータフォルダをダブルクリック
- ・ 測定データファイル名を右クリック → 「開く」 → TIC が表示
- ・ 標準物質の出ている範囲を右ドラッグで囲む
- ・ MS の表示画面で右クリック → 「質量電荷比の決定」、新しい画面で「実行」→「閉じる」
- ・ 下に表示されるデアイソトープ MS の画面で右クリック → 「質量校正情報の変更」
- ・ 質量ドリフト補正データ (下の段 ← 上の段は触らない) の「変更▼」 → 「内部質量ドリフト補正」
- ・ 「次へ」 → 質量参照情報に reserpine か PEGNa を選択 → 「完了」
- ・ 4つのクロマト画面が表示されたら、上タブで「校正」→「自動ピーク割りあて」  
(PEGNa の場合、左タブ内の 1-R および 1-R\*値が  $10^{-11}$  以下なら OK、必要なら分解能を調整)
- ・ 「ファイル」→「複製を保存」→ 質量補正データに名前 (基準物質+日付) をつけて保存
- ・ 内部ドリフト補正データを閉じる → 変更を保存するか聞いてくるので「いいえ」を選択
- ・ 標準物質の MS 画面を閉じる
- ・ [クロマトビューワ画面] で、目的物のイオンが出ている範囲を右ドラッグで囲む  
→ [スペクトルビューワ画面] に目的物の MS が表示される  
　　<オプション: [スペクトルビューワ画面] にて「スペクトル」→「質量電荷比の決定」、新しい画面で「実行」「閉じる」、これによりサンプルのデアイソトープ MS データが得られる>
- ・ MS の表示画面で右クリック → 「質量校正情報の変更」
- ・ 質量ドリフト補正データ (下の段、上の段は触らない) の「変更▼」 → 「変更」、上で作成した質量補正データを選択して開く → 「OK」: 校正された質量が表示される
- ・ 画面左ドラッグで拡大、ダブルクリックで全画面表示に戻る
- ・ 「ファイル」→「印刷」→ 印刷横向き、プリンタを Epson に指定 → 「印刷」
- ・ 「ファイル」→「印刷」→ 印刷横向き、プリンタを PDF に指定 → 「保存」

## 8. TIPS

- ・ 測定データの削除: Windows 画面の データマネージャ アイコン開き、**D: kigoshi1** フォルダ内で操作
- ・ HRMS の分解能調整、Negative 測定、 $m/z$  2000 以上の測定、ESI 以外の測定法 → 北まで相談
- ・ イオンが出ない →  $N_2$  ガス流量確認 → シリンジポンプの設定確認 → PEEK チューブを外して詰まっていないか確認 → ダメなら北まで
- ・ 機器予約 HP に、メーカーの詳しい操作マニュアル有り