1.Check Solvent
Agilent
A:MeOH
B:CH3CN

Gilson
H2O/IPA etc
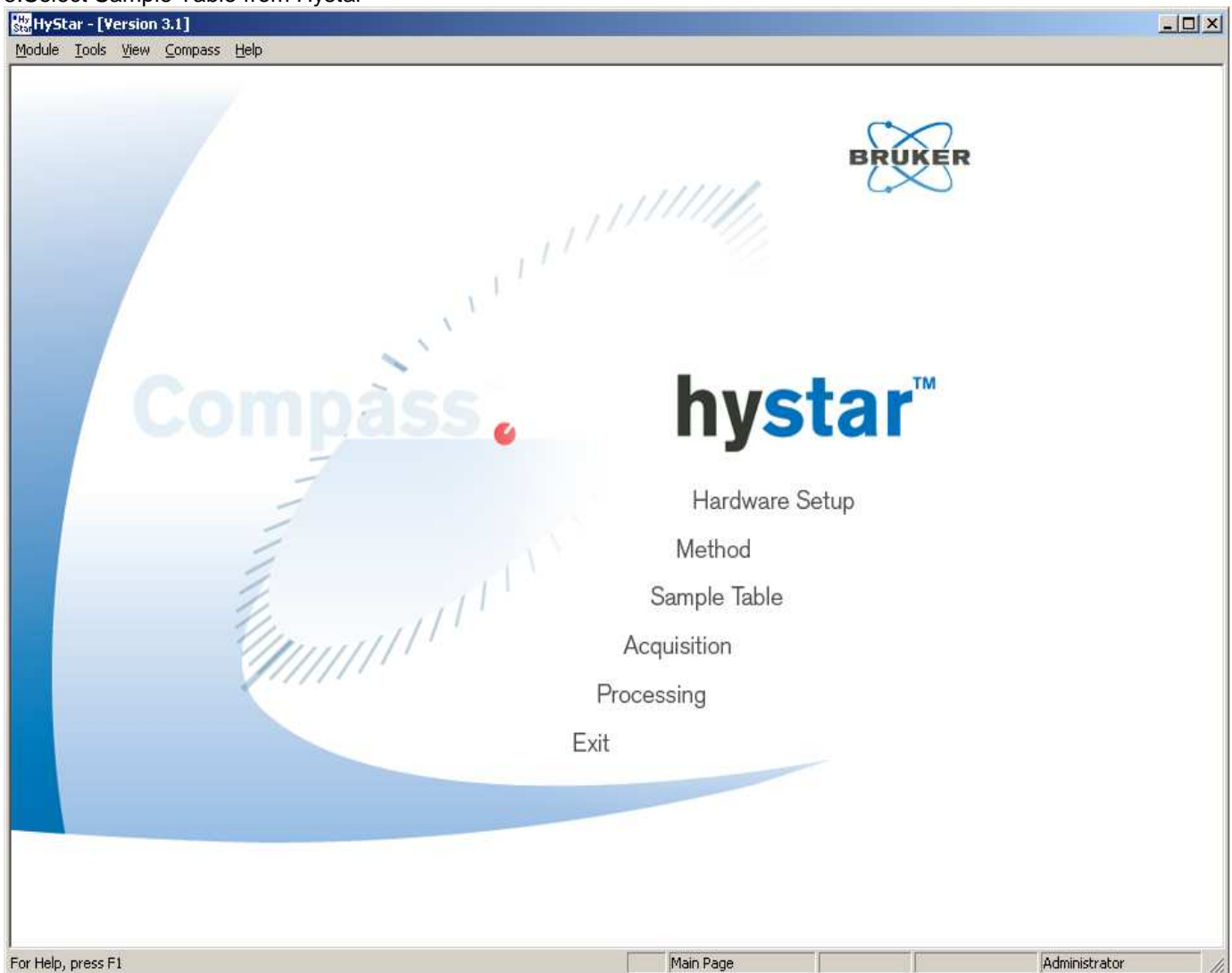
2.Turn On HPLC modules

-Agilent Dagasser
-Agilent Binary Pump
-Agilent Column Oven
-Gilson 215 Autosampler(Behind instrument)
-Gilson 819 Valve(Behind instrument)

3.Start micrOTOF Control

4.Start Hystar

5.Select Sample Table from Hystar

6.Select Template file or existing file.

7.Modify paremeters on General Tab
-Sample Identifier
-Vial Position
-Number of Injections
-Volume
-prerun   :normally 0 min
-Subdirectory

8.Select Methods on Methods Tab
-Check out Use Method
-Select LC Method D:/Methods/LC_Methods/lc_200ul_20120209.m
   A/B=50/50, 200ul/min, 1min acquisition
-Autosampler :Standard Wash
-MS Method D:/Methods/MS_Methods
  LCMS_esi_pos_low.m
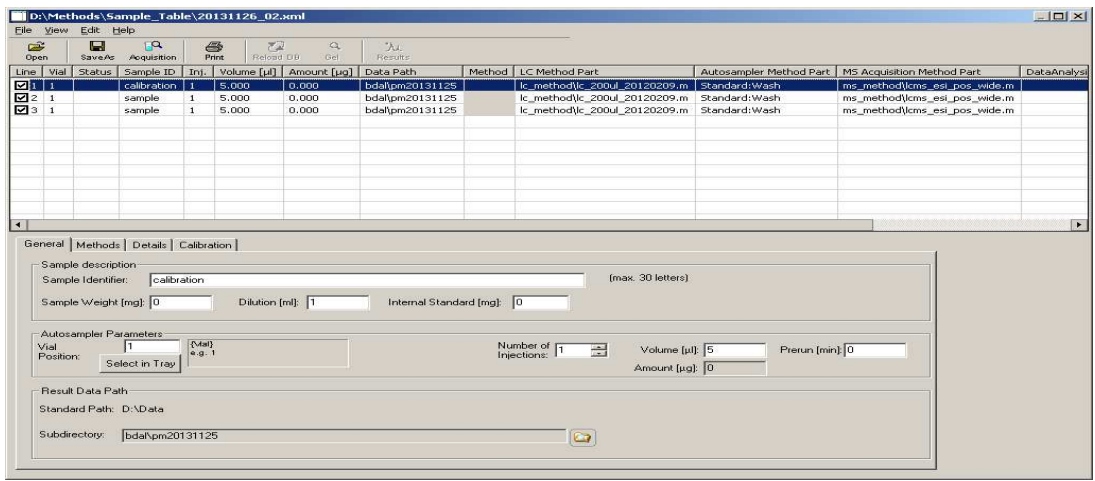 LCMS_esi_pos_wide.m
  LCMS_esi_pos_high.m
  LCMS_esi_neg_low.m
  LCMS_esi_neg_wide.m
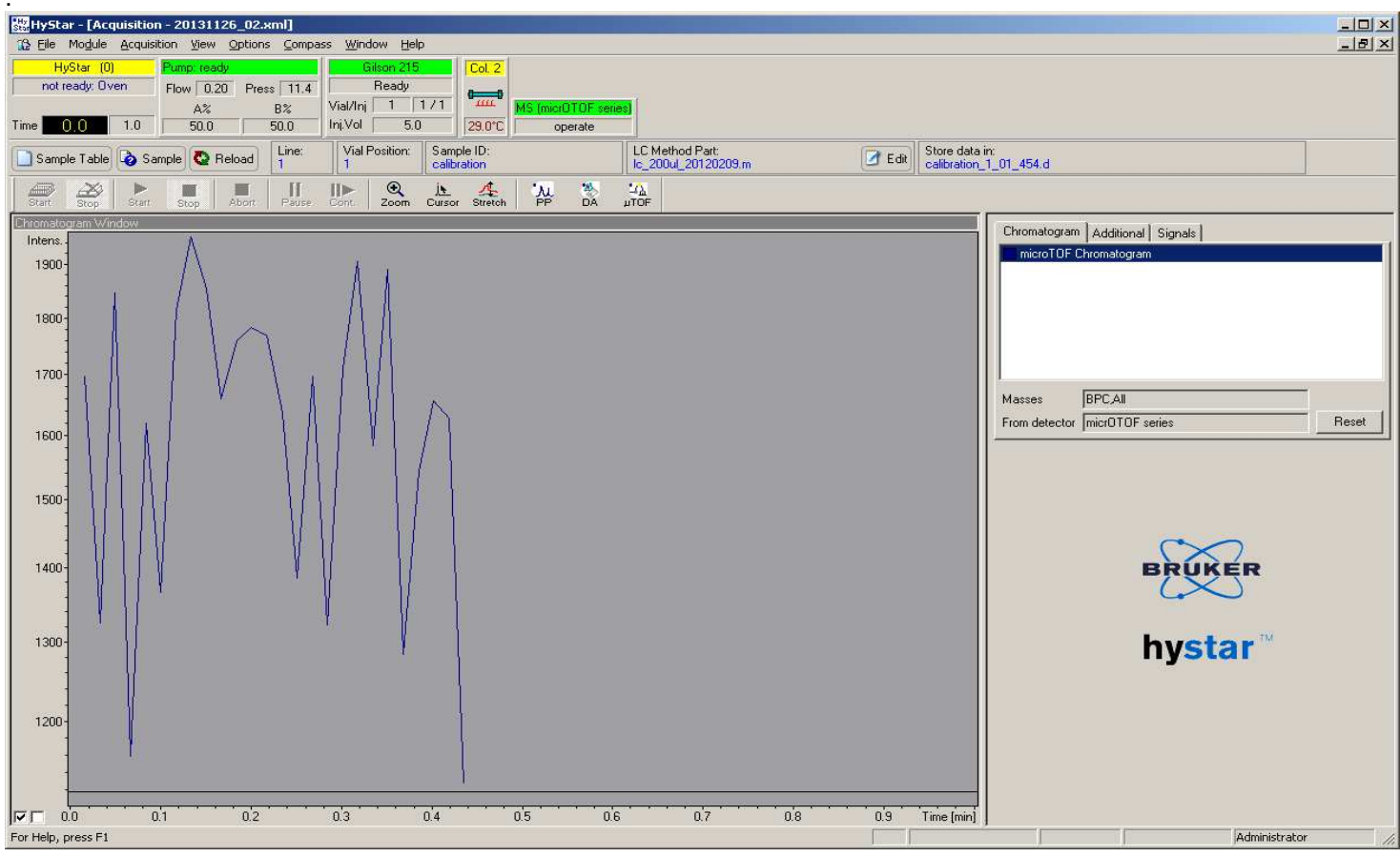 LCMS_esi_neg_high.m

9.Add sample if necessary.
Fisrt sample should be Calibrant. ie. Tuning Mix or NaFormate
Follow the Samples after calibrant.
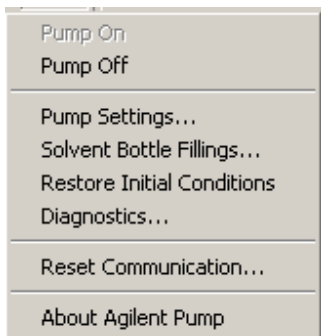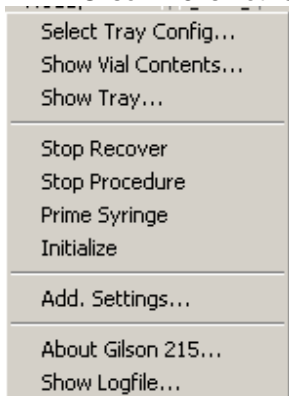
11. Click Save as and rename this sample table.

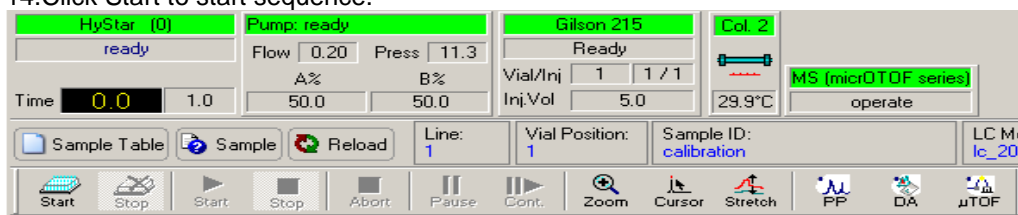12. Select top line of the sample table, then click Acquisition.

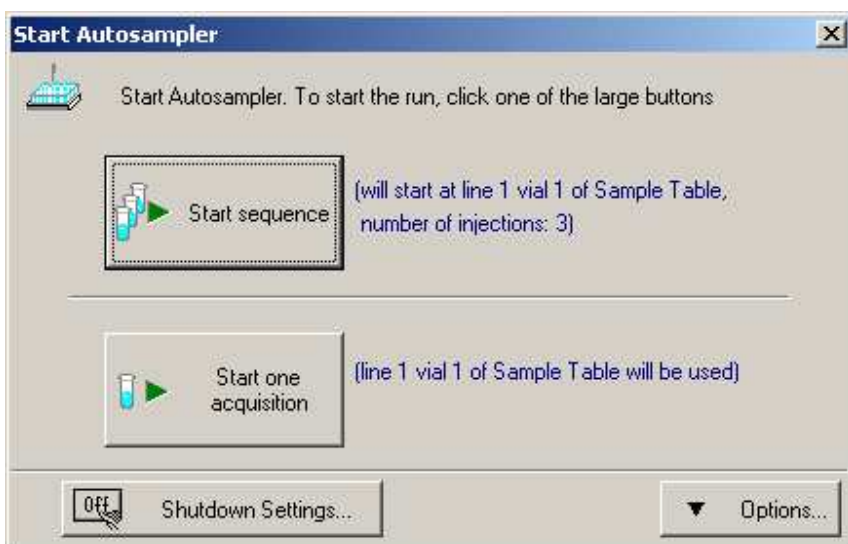13. If Pump is not ready(Yellow), Click right mouse button then select"pump on"

```
Pump On
Pump Off

Pump Settings...
Solvent Bottle Fillings...
Restore Initial Conditions
Diagnostics...

Reset Communication...

About Agilent Pump
```

If Gilson215 is not recognized, Click right mouse button then select"initialize"

```
Select Tray Config...
Show Vial Contents...
Show Tray...

Stop Recover
Stop Procedure
Prime Syringe
Initialize

Add. Settings...

About Gilson 215...
Show Logfile...
```

14.Click Start to start sequence.

15.Click Start sequence
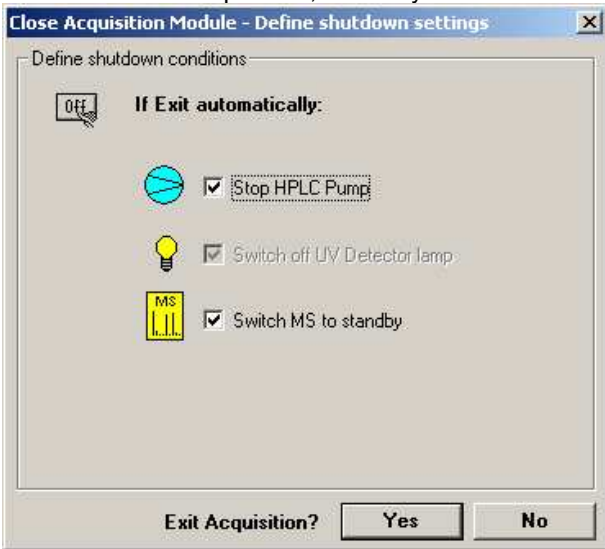

16.To stop the sequence, click Stop

4

17.To stop acquisition, click Stop

18.To abort LC run, click Abort

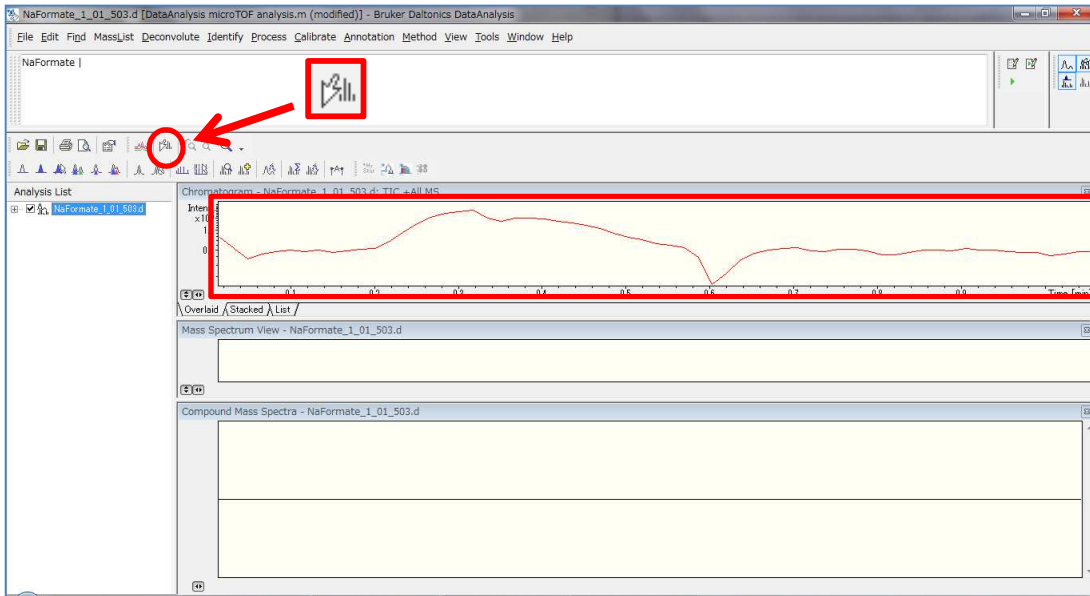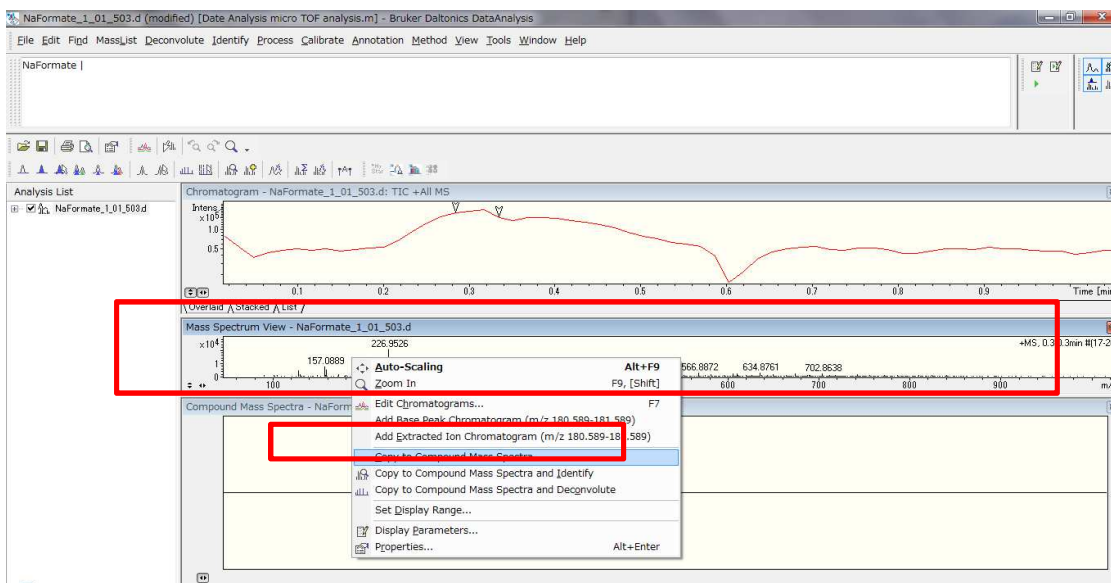19.To finish the acquisition, close Hystar then turn on each HPLC modules.

MS 解析マニュアル

〜共通操作〜
1. DataAnalysis を開く。
2. メニュータブの[File]→[Open]もしくは下の Open マークをクリックして標準サンプルまたは解析したいデータを開く。
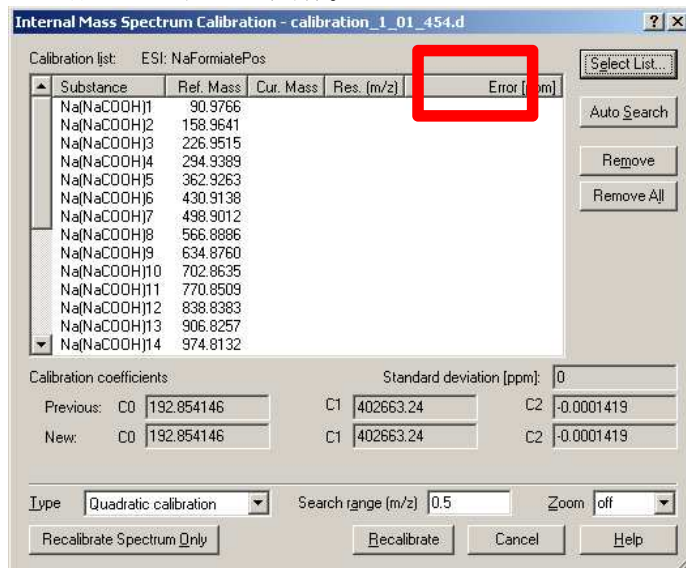3. ファイルを開くと下のような画面になる。

 を押し、この曲線のなるべく高さが高いところで左クリックすると、その時間に測定されていたスペクトルが表示されるので、スペクトルの上で右クリック→**Copy to Compound Mass Spectra** を選択する。すると下二段の上にスペクトルがコピーされる。
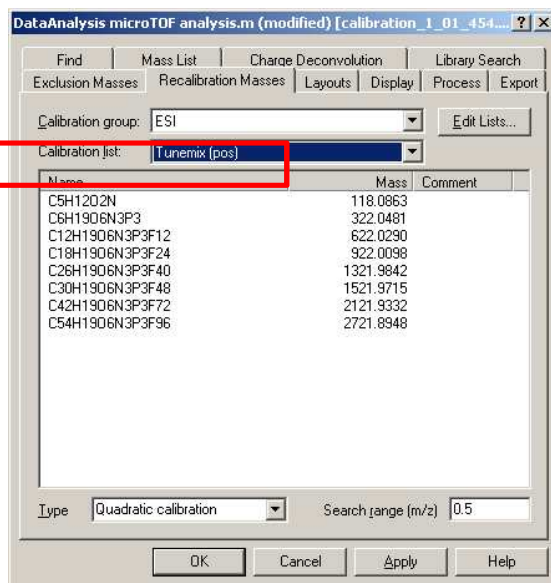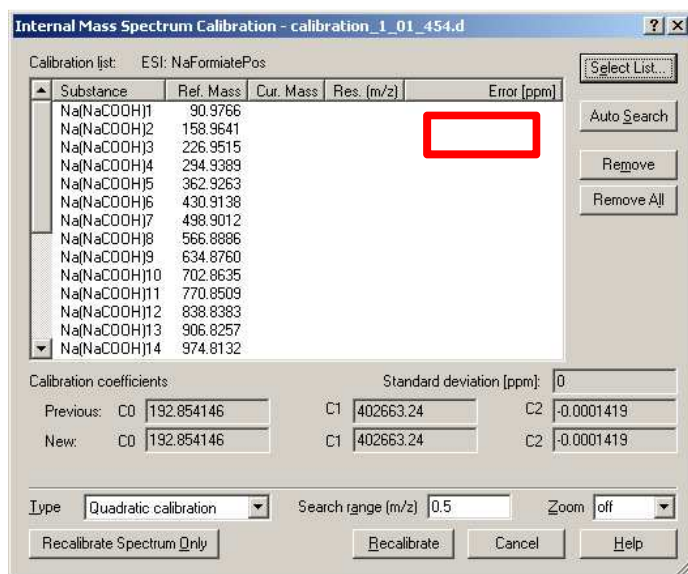
～検量線の作成～
1. スペクトルをコピーしたらメニューバーから[Calibrate]→[Internal]を選択する。
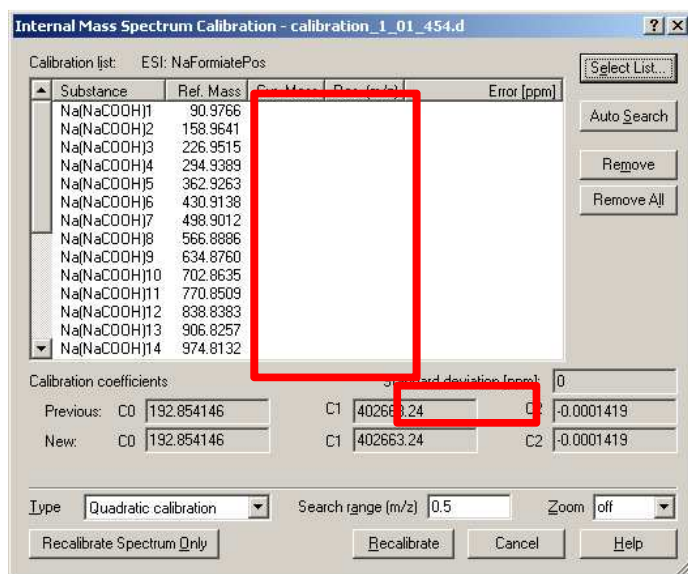2. 下のような画面が開く（図はギ酸ナトリウムの場合）。

まず、右上の[Select List]から使用した標準サンプルとメソッド(pos or neg)を[Calibration list]より選択する。その後[Apply]→[OK]

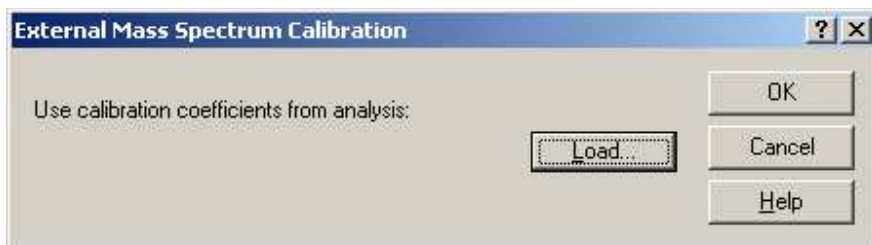

OK を押すと元の画面に戻るので[Auto Search]をクリック。

すると、各 Error の値が表示されるので、Error の値が大きいものをクリックし、[Remove]で取り除く。(ただし、測定するサンプルの分子量付近のピークは除かない方がよい。)各 Error の値が 3 未満、右に表示されている Standard deviation の値が 1~2 未満となるようにする。
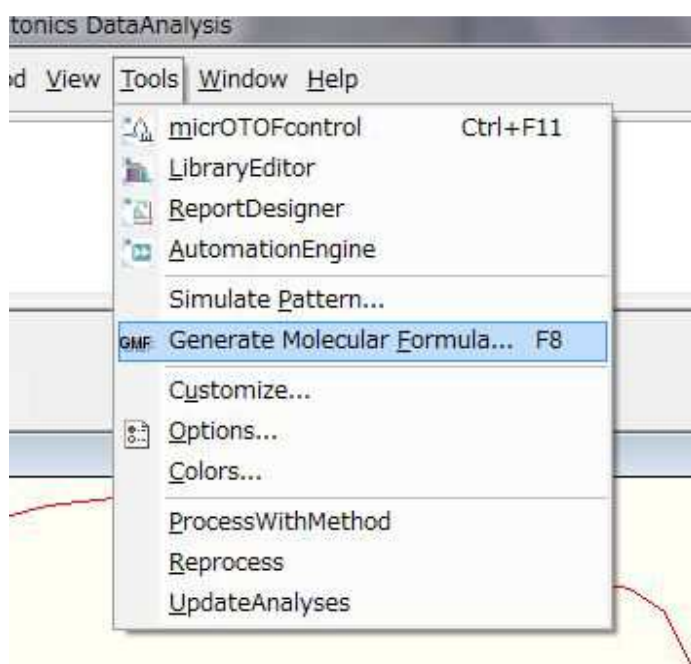

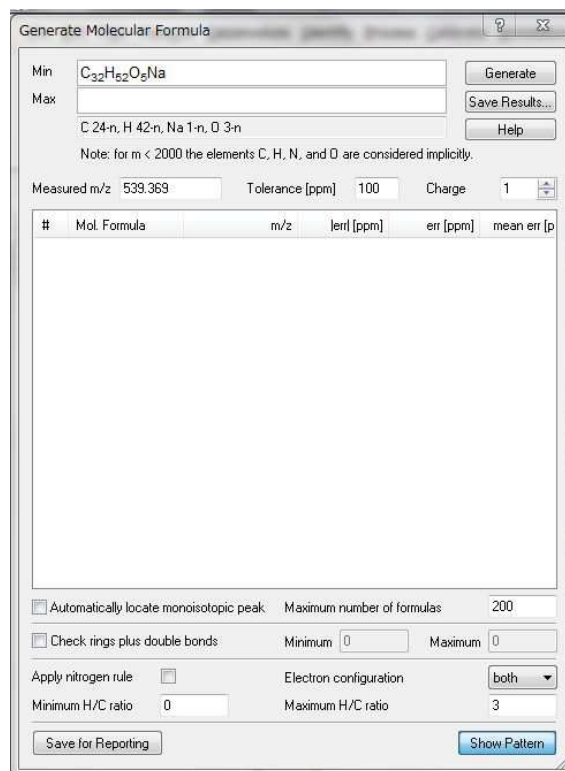3. 調整が終わったら Recalibrate をクリックし、その後ファイルを上書き保存する。

〜測定サンプルの解析〜

1. メニューバーから[Calibrate]→[External]を選択する。

2. 下のような画面が表示されるので、[Load]をクリックし先ほど作成した検量線のデータを選択し OK をクリックする。

3. メニューバー[Tools]→[Generate Moleclar Formula]をクリック。

下のウィンドウが表示されたら必要な数値を入力する。

Min：測定したサンプルの分子式とその分子に付くイオン(上図の場合では Na⁺)を合わせたものを入力
Tolerance：100 や 1000 など(適当でよいが、あまり小さいと計算値のピークが表示されない場合がある)
Measured m/z：入力欄をクリックした後スペクトルに戻るとカーソルの右に"GMF"と表示されるので、拾いたいピークの上でクリックすると自動で数値が入る。
この３つを入力したら Generate を押すと、Error の値が近い分子式と分子量が表示される。右下の Show Pattern を押すと計算値のピークが表示される。
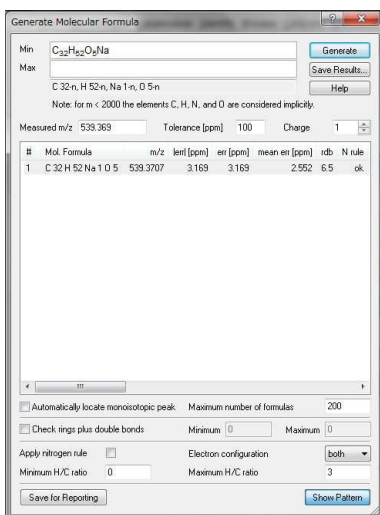
(ACS では分子量の誤差を 5ppm(0.0005%)以内にするようにと記載がある。すなわち許容される誤差 E≦M(分子量)/1000000×5 となる。)

＊毎年最初の JOC に Guidelines for Authors としてその年の基準が記載されるので確認すること。2006 年が最も厳しく、当研究室ではこの条件を採用している。