



## Dispense per l'utilizzo dello strumento LCQ-FLEET

Analisi di spettrometria di massa per INFUSIONE DIRETTA

### Indice

#### Prima di iniziare

1. Preparazione campione per analisi infusione diretta.
2. Stato dello strumento in condizioni Standby.
  - 2.1. Avviamento programma LCQ-Tune.
  - 2.2. Condizioni di temperatura e vuoto, impostazione metodo Default.
3. Descrizione software LCQ-Tune.
  - 3.1. ESI Source.
  - 3.2. Accensione – Spegnimento massa.
  - 3.3. Tuning.
  - 3.4. Define scan, acquisizione e salvataggio dati.
  - 3.5. Visualizzazione picchi, Corrente c+ / c-, Media Pesata.
  - 3.6. Syringe Pump.
4. Analisi di Spettrometria di Massa.
  - 4.1. Caricamento campione.
  - 4.2. Impostazione metodo di analisi.
  - 4.3. Analisi: variazione ed incremento corrente ionica.
  - 4.4. Tuning e salvataggio dati.
  - 4.5. Interruzione analisi e lavaggio strumento per analisi successive.
  - 4.6. Stampa dei risultati
5. Procedura di spegnimento dello strumento

## PRIMA DI INIZIARE

Lo strumento LCQ-Fleet è dipartimentale e pertanto è necessario che sia utilizzato al meglio affinché tutti gli utenti abilitati possano beneficiare dei vantaggi dell'analisi di spettrometria di massa. **Attualmente può essere utilizzato solo per analisi in INFUSIONE DIRETTA.**

I consigli qui riportati vogliono rappresentare un'indicazione affinché l'operatività degli utenti sia il più possibile normalizzata e costante, per tracciare un profilo comune di uso dello strumento LCQ-Fleet.

- i) Preparare campioni come indicato al paragrafo 1, **EVITANDO DI INIETTARE CAMPIONI A CONCENTRAZIONE MAGGIORE.**
- ii) Eseguire analisi con flussi di syringe pump a **5  $\mu\text{L}/\text{min}$  (meglio se a  $3\mu\text{L}/\text{min}$ ).**
- iii) In fase di acquisizione, **evitare di perdere tempo a razionalizzare valori inaspettati:** in questo modo, lo strumento riceve molta sostanza con conseguente aumento della sporcizia residua e del tempo necessario per la pulizia. Si raccomanda di acquisire lo spettro velocemente e di razionalizzare risultati inaspettati in un secondo momento. **Per eseguire un'analisi sono sufficienti 50-100  $\mu\text{L}$  di soluzione, ma non l'intera siringa da 500  $\mu\text{L}$ .**
- iv) In uscita, **caricare il metodo di analisi calibrazione\_data (vedi pag. 6).** In questo modo vengono reimpostati i valori di default per lasciare lo strumento in stand by, e cioè **Capillary Temp = 270 °C, Sheat Gas = 8 e Auxiliary Gas = Sweep Gas = 0.**
- v) Controllare che il valore del vuoto **Ion Gauge (E-5 Torr) sia inferiore a 0.8.**
- vi) In caso di problemi, annotarli sull'apposito registro ed **avvisare immediatamente i referenti.** NON eseguire operazioni non autorizzate sullo strumento.
- vii) **lasciare la postazione banco e quella sotto cappa PULITE.** Eventuali "residui" verranno gettati senza interpellare gli utenti. **Questo include anche le beute di solvente "abbandonate".**

## **1. Preparazione campione per analisi infusione diretta.**

- 1) I campioni devono essere preparati in uno dei seguenti solventi: MeOH (preferito), ACN, iPrOH (**tutti e tre etichettati LC-MS**) oppure H<sub>2</sub>O (Milli-Q filtrata).
- 2) La concentrazione ottimale per eseguire un'analisi per infusione diretta è di circa 10-20 ppm, rapporto w/v; quindi occorre sciogliere da 1 a 2 mg di sostanza in 100 mL di MeOH. Per praticità si può preparare una soluzione di analita a concentrazione 1 mg/mL e diluire 10÷20 µL di questa soluzione ad un 1 mL di volume totale di solvente.
- 3) **al fine di preservare lo strumento da un'eccessiva sporcizia residua, evitare di preparare campioni a concentrazione superiore.**
- 4) Prima di iniettare i campioni, filtrarli con filtri a membrana adatti al solvente impiegato con porosità 0.2 µm.

## 2. Stato dello strumento in condizioni Standby.

- 1) Lo strumento LCQ-Fleet rimane acceso 24 ore su 24 in condizioni **Standby** con la pompa ad olio Edwards funzionante, per mantenere l'alto vuoto all'interno del sistema di focalizzazione (Ion optics) e rivelazione (Injection Control e Ion Detection System).
- 2) In condizioni **Standby** lo strumento LCQ-Fleet appare con i seguenti led:  
**POWER, VACUUM, COMMUNICATION** di colore verde, **SYSTEM** di colore arancio, SCANNING e PUMP spento.

### 2.1. Avviamento programma LCQ-Tune

- 1) Per accedere allo strumento LCQ-Fleet, avviare il PC accanto alla stampante.
- 2) Eseguito il booting, compaiono sul monitor del PC le icone **LCQ-Fleet** e **ThermoFisher**.
- 3) **Cliccare su ThermoFisher.**
- 4) Il PC esegue un secondo booting
- 5) Compare il desktop con la finestra **Console** in primo piano. La finestra va iconizzata e NON chiusa, in modo da avere un controllo continuo su tutte le operazioni eseguite con lo strumento e sugli eventuali problemi rilevati dalla macchina.
- 6) Cliccare l'icona **LCQ-Tune** del desktop per avviare il programma di gestione dello strumento.
- 7) In condizioni di standby il software presenta la schermata con il **Tasto Accensione** in pausa  e il messaggio "**Instrument is in standby**" (figura a pag. 5)
- 8) Prima di procedere con l'analisi del campione, occorre assicurarsi che alcuni **parametri importanti** della colonna di destra (descritti nella sezione 2.2.) siano corretti.

C:\Xcalibur\methods\Massimo\_Corsi\ESI\_220.LTQTune - Tune Plus

File View Control ScanMode Display Setup Diagnostics Help

LCQ FLEET

Instrument is in standby.

Tasto accensione massa in pausa (o spento)

Instrument is in standby.

No spectral data available.

Label	Value
ESI Source	
✗ Spray Voltage (kV):	0.02
✗ Spray Current (µA):	0.03
✗ Sheath Gas Flow Rate:	-0.09
✓ Aux Gas Flow Rate:	-0.04
✓ Sweep Gas Flow Rate:	-0.01
✓ Capillary Temp OK:	Yes
✓ Capillary Voltage (V):	10.18
✓ Capillary Temp (°C):	220.11
✓ Tube Lens (V):	74.60
Vacuum	
✓ Vacuum OK:	Yes
✓ Ion Gauge Pressure OK:	Yes
✓ Ion Gauge:	0n
✓ Ion Gauge (E-5 Torr):	1.12
✓ Convection Pressure OK:	Yes
✓ Convection Gauge (Torr):	1.38
Turbo Pump	
Status:	Running
Life (hours):	428048...
Speed (Hz):	750
Power (Watts):	64
Temperature (°C):	36
Ion Optics	
✓ RF Lens Offset (V):	-3.13
✓ Lens 0 (V):	-5.24
✓ Multipole 0 Offset (V):	-6.88
✓ Lens 1 (V):	-18.12
✓ Gate Lens (V):	-58.58
✓ Multipole 1 Offset (V):	-15.20
✗ Multipole RF (Vp-p):	-0.18
✓ Front Lens (V):	-80.54
✓ Trap Offset (V):	-10.03
✓ Back Lens (V):	0.19
Main RF	
✓ Standing Wave Ratio OK:	Yes
✓ Main RF Detected (V):	-0.00
✓ RF Detector Temp (°C):	42.93
✓ RF Generator Temp (°C):	35.13

For Help, press F1

NUM 29/08/2011 13.40

## 2.2. Condizioni di temperatura e vuoto, impostazione metodo Default.

I parametri da tenere sotto controllo sia in condizioni Standby che di analisi sono indicati nella figura a fianco.

1) Il parametro **Ion Gauge (E-5 Torr)** è circa  $0.7 \div 0.8$ , talvolta anche inferiore, in condizioni di vuoto ottimale.

2) **Turbo Pump**: Temperature non superiore a  $45-50$  °C.

3) **Power Supplies**: Ambient Temp non superiore a  $40-45$  °C.

**NOTA:** è stato installato un condizionatore ausiliare per

climatizzare la stanza a  $20-22$  °C a beneficio della

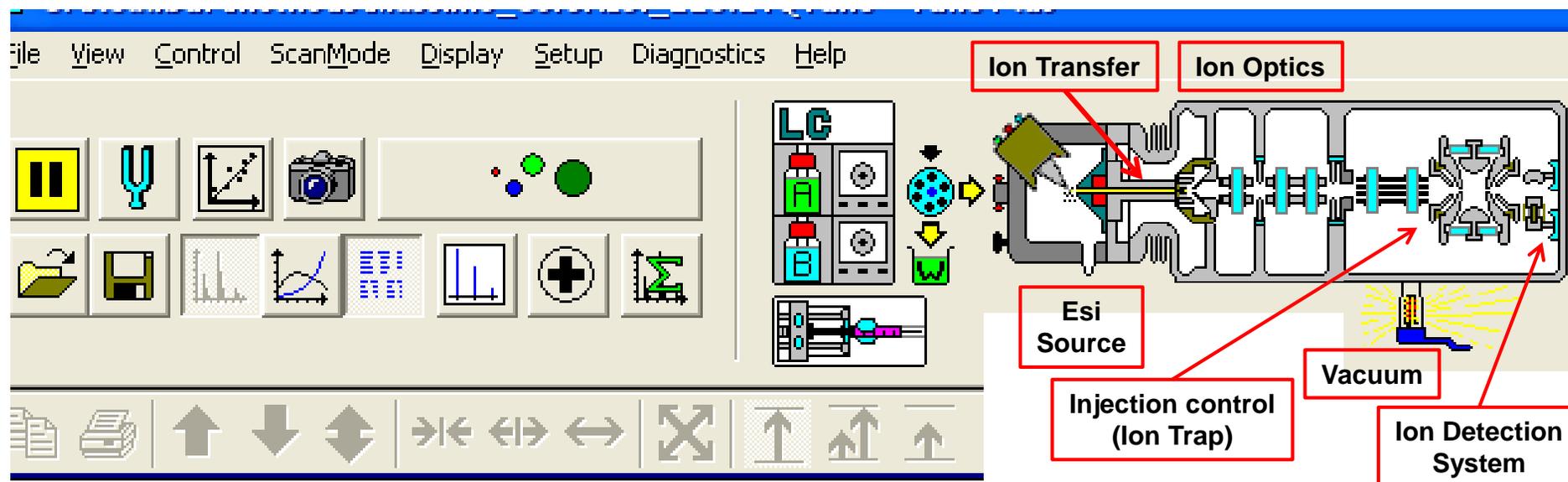
strumentazione e NON dell'utenza (quindi NON va spento).

ESI Source		Turbo Pump	
✗	Spray Voltage (kV):	0.02	
✗	Spray Current (µA):	0.03	
✗	Sheath Gas Flow Rate:	-0.07	
✓	Aux Gas Flow Rate:	-0.02	
✓	Sweep Gas Flow Rate:	-0.00	
✓	Capillary Temp OK:	Yes	
✓	Capillary Voltage (V):	10.18	
✓	Capillary Temp (°C):	220.05	
✓	Tube Lens (V):	74.59	
Vacuum		Power Supplies	
✓	Vacuum OK:	Yes	
✓	Ion Gauge Pressure OK:	Yes	
✓	Ion Gauge:	On	
✓	Ion Gauge (E-5 Torr):	1.22	
✓	Convector Pressure OK:	Yes	
✓	Convector Gauge (Torr):	1.39	
		Status:	Running
		Life (hours):	428048...
		Speed (Hz):	750
		Power (Watts):	67
		Temperature (°C):	35
✓	+5V Supply (V):	4.89	
✓	-15V Supply (V):	-14.89	
✓	+15V Supply (V):	14.87	
✓	-18V Supply (V):	-17.65	
✓	+18V Supply (V):	17.86	
✓	+24V Supply (V):	23.71	
✓	-28V Supply (V):	-27.82	
✓	+28V Supply (V):	27.24	
✓	+28V Supply (Amps):	3.10	
✓	+36V Supply (V):	35.77	
✓	-143V Supply (V):	-145.10	
✓	+143V Supply (V):	143.97	
✓	Ambient Temp (°C):	33.54	

**NOTA:** In apertura, impostare il metodo di analisi Default secondo il percorso:

**File, Open, Local Disk (C:) \ XCalibur \ methods \ calibrazione\_giornomeseanno** che contiene tutti i parametri aggiornati con l'ultima calibrazione effettuata sullo strumento.

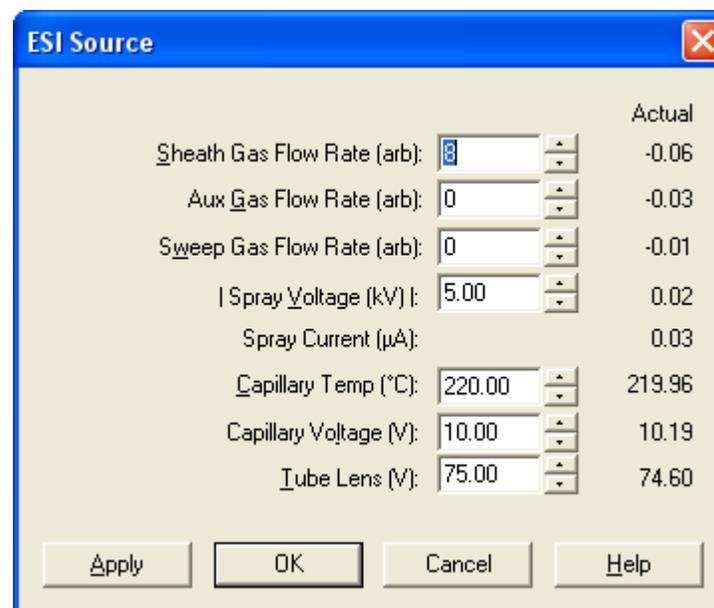
### 3. Descrizione software LCQ-tune



#### 3.1. ESI Source

Questo quadro controlla il voltaggio di ionizzazione, la temperatura dell' ion transfer e il flusso dei gas.

1) **Spray Voltage**: settato a 5 kV (PARAMETRO DA NON VARIARE)



2) **Capillary Temp:** DEVE STARE a 270 °C in condizioni Standby.

Può essere variata fino a 300÷max 330 °C in casi di analisi particolari oppure per una migliore pulizia in caso di analiti particolarmente persistenti.

**NOTA:** maggiore è il tempo per il quale la temperatura del capillare è mantenuta alta, maggiore è l'incrostazione di sporcizia che rimane sul capillare e all'interno dell'ion transfer.

**IN OGNI CASO, ESEGUITA UN'ANALISI A TEMPERATURA SUPERIORE A 270 °C, RIPORTARE LA TEMPERATURA DEL CAPILLARE A QUESTO VALORE PRIMA DI LASCIARE LO STRUMENTO ALL'UTENTE SUCCESSIVO.**

3) **Sheat gas Flow rate:** valore settato a 8 e variabile manualmente. Gas di trasporto degli ioni: il flusso è nella direzione dell'ion transfer con una inclinazione di ca. 45 °C.

4) **Auxiliary Gas Flow Rate:** variabile manualmente. Settato a zero di default, può essere usato dall'operatore per ottimizzare la risposta dello strumento. Gas utile ad una migliore focalizzazione dell'aerosol in entrata verso l'ion transfer.

5) **Sweep Gas Flow Rate:** variabile manualmente. Settato a zero di default, può essere usato dall'operatore per la disgregazione di eventuali specie cluster con ioni Na<sup>+</sup> (più raramente K<sup>+</sup>) e solvente (specie MeCN).

Il flusso è controcorrente allo Sheat Gas ed abbassa la corrente di ionizzazione in uscita dall'ion transfer.

6) **Tube Lens:** valore di voltaggio della prima ottica di focalizzazione. Assume valori diversi in corrente c+ e c-.

**NOTA: non variare manualmente questo parametro; se necessario, utilizzare la funzione di tuning in automatico (sezione 3.3).**

**Per ottenere la variazione del flusso dei gas e del parametro Capillary Temp.:**

- i) impostare il valore desiderato
- ii) cliccare APPLY;
- iii) quindi cliccare OK per chiudere la finestra ESI Source.

### 3.2. Accensione – Spegnimento massa.



Questo tasto serve per avviare ed interrompere l'acquisizione dati.

In condizioni Standby il tasto appare col simbolo pausa nero su sfondo giallo.

Per avviare l'acquisizione: cliccare il tasto, che cambia aspetto diventando un triangolo nero su sfondo verde .

Quando l'acquisizione è in corso il **LED SCANNING** lampeggia (colore blu).

Per interrompere l'acquisizione: cliccare il tasto  per riportarlo in pausa. .

In alternativa alle icone è possibile selezionare dal menu Control "ON" per l'accensione e "STAND BY" per riportare lo strumento in pausa. **NON SELEZIONARE MAI "OFF"!**

### 3.3. Tuning.



Cliccando questo tasto, compare la finestra a fianco.

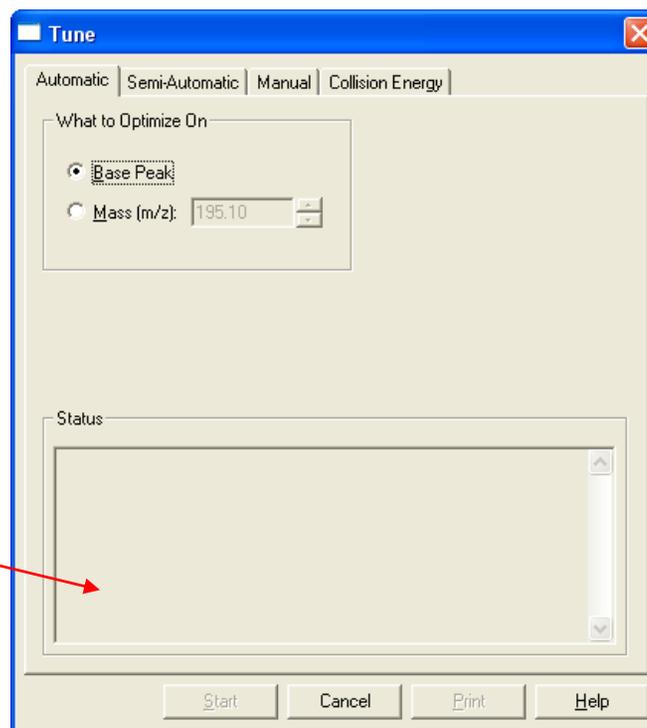
- 1) Il tune serve per ottimizzare la sensibilità dello strumento in funzione del tipo di sostanza da analizzare.
- 2) Il tune agisce sui parametri del quadro Ion Optics.

**NOTA: si consiglia di effettuare il tuning secondo la procedura automatica (Automatic).**

In fase di ottimizzazione, nel riquadro **Status** della finestra Tune compaiono i messaggi dell'ottimizzazione dei vari parametri.

La serie dei messaggi termina con l'indicazione di quanto l'intensità del segnale è aumentata a seguito del tuning.

Questo valore è indicato in termini percentuali.



### 3.4. Define scan, acquisizione e salvataggio dati.

#### Define Scan



**NOTA:** per ogni variazione, ricordarsi di cliccare **Apply** e quindi il tasto OK.

Scan History: ITMS + c cv=0.0 Full ms [150.00-2000.00]

Scan Description

Mass Range: Normal

Scan Rate: Normal

Scan Type: Full

Scan Time

Microscans: 3

Max. Inject Time (ms): 100.000

Source Fragmentation

On Energy (V): 35.0

MSn Settings

n	Parent Mass (m/z)	Act. Type	Iso. Width (m/z)	Normalized Collision Energy	Act. Q	Act. Time (ms)
2		CID	1.0	0.0	0.250	30.000

Scan Ranges

#	First Mass (m/z)	Last Mass (m/z)
1	150.00	2000.00

Wideband Activation

Input: From/To

Apply OK Cancel Help Injection BE... Activation...

Questo tasto apre la finestra a fianco, che consente di definire le condizioni generali di acquisizione dati.

Breve descrizione dei quadri:

- 1) **Scan Description:** in condizioni normali assicurarsi che i valori siano quelli del riquadro.
- 2) **Scan Ranges:** definisce la finestra di acquisizione. In genere è settato tra 150 e 2000. I valori possono essere cambiati manualmente o richiamati dal menu a tendina **Scan History**.
- 3) **Scan Time: Microscan**, numero di acquisizioni prima della visualizzazione del risultato di acquisizione.  
**Max. Inject Time**, tempo di iniezione del flusso di ioni nella trappola (NON variare).

## Acquisizione e Salvataggio Dati



**Acquire Data**

Folder: C:\Xcalibur\data\Lab 8\Massimo Corsi\SilvaTeam

File Name: DB60\_Huntsman\_neg 110728151306

Sample Name: DB60\_Huntsman

Comment: DB60\_Huntsman

Use instrument method

Instrument Method: massa in metanolo

Start Mode

Immediate  Contact Closure  Divert Valve

Acquire Time

Continuously

Scans 30

Minutes 1.00

Go to Standby when Finished

Acquisition Status

State: Idle

Time (min): 0.000

Start

Pause

View...

Inst. Setup...

OK Cancel Help

Con questo tasto compare la finestra Acquire Data per acquisire e salvare lo spettro di massa.

1) **Folder**: percorso per stabilire la cartella di conservazione del file: **C: \ XCalibur \ data \ NOME RADR \ eventuali sottocartelle**

2) **File Name**: impostare nomi di lunghezza tipo quello di figura.

**NOTA**: ad ogni file il software assegna un numero che fa parte del nome. In questo modo, file nominati con la stessa descrizione vengono salvati con un nome complessivo diverso. **NON cancellare la stringa di numeri assegnata dal sistema!**

3) **Sample Name** e **Comment**: descrizioni variabili; sono file testo che compaiono nella stampata dello spettro di massa.

4) **Acquire Time**: tempo di acquisizione dati: i) in **continuo**, ii) per un certo **numero di scansioni**, o iii) **numero di minuti**.

**NOTA**: quando lo strumento è in fase di acquisizione dati (  : **LED SCANNING** lampeggiante) aprendo la finestra **Acquire Data** il tasto **Start** è attivo.

Per iniziare l'acquisizione e salvataggio dei dati sul PC: cliccare "Start" e quindi "Ok". La finestra si chiude e l'icona

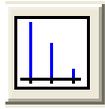


per poi tornare nella forma originaria al termine del salvataggio.

**NOTA**: si consiglia di salvare gli spettri usando l'opzione "**Scans**" (in genere 20-50 scansioni sono più che sufficienti) e di mantenere selezionato **Immediate** nel quadro **Start Mode**. In questo modo, dopo aver cliccato su **Start** il salvataggio inizia immediatamente.

### 3.5. Visualizzazione picchi, Corrente c+ / c-, Media Pesata.

Visualizzazione picchi



Questo tasto consente di visualizzare i picchi degli ioni o in forma di andamento gaussiano o come linee centrate sul massimo dell'andamento gaussiano.

Le visualizzazioni sono intercambiabili con un semplice click del mouse sul tasto.

Corrente c+ / c-



Con questo tasto si passa dall'acquisizione in corrente positiva all'acquisizione in corrente negativa.



Operazione tramite semplice click col mouse sul tasto.

**NOTA:** operazione effettuabile solo quando lo strumento sta acquisendo dati.

Media Pesata

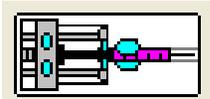


Il tasto consente di visualizzare l'acquisizione dati come media pesata di tutte le acquisizioni.

In questo modo, i picchi che compaiono sporadicamente vengono ridotti di intensità.

La visualizzazione dell'intero spettro risulta stabilizzata.

### 3.6. Syringe pump.



Questo tasto consente di gestire la siringa di infusione, situata sulla parte frontale dello strumento in basso a destra.

1) Quadro **Flow control**:

**Flusso di 3÷5 µL/min ottimale per effettuare l'analisi.**

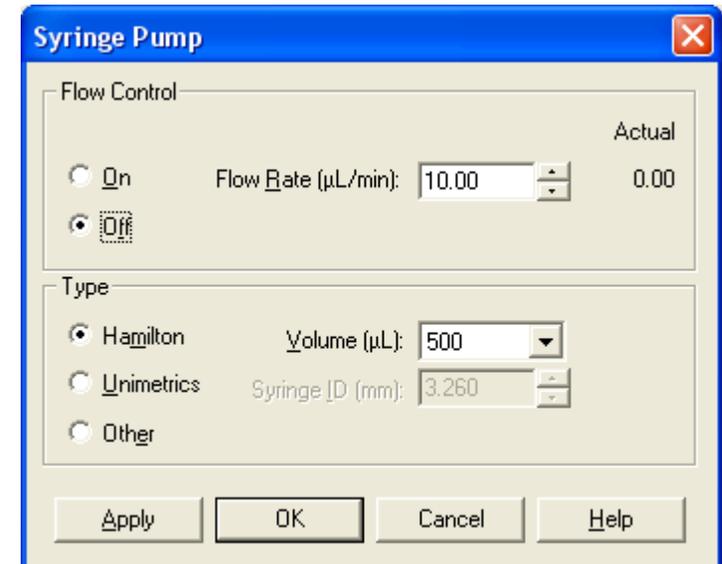
2) Quadro **Type**: mantenere come indicato in figura.

Per iniziare l'infusione:

Impostare il flusso desiderato, selezionare "On", cliccare "Apply" e "Ok".

Per interrompere l'infusione:

Selezionare "Off", cliccare "Apply" e "Ok".



## 4. Analisi di Spettrometria di Massa.

Dopo aver descritto la preparazione di un campione e le caratteristiche principali dello strumento e del software di gestione, si può procedere all'analisi in infusione diretta.

<p>Riassumendo:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• campione in MeOH, ACN, iPrOH o H<sub>2</sub>O [10÷20 ppm]</li> <li>• strumento acceso e in “Standby” (pag. 4)</li> <li>• software LCQ-Tune avviato</li> <li>• monitor PC mostra la schermata di pag. 5</li> <li>• metodo calibrazione_data impostato (pag. 6).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Capillary Temp = 270 °C</li> <li>• Sheat Gas Flow Rate = 8</li> <li>• Auxiliary Gas Flow Rate = 0</li> <li>• Sweep Gas Flow Rate = 0.</li> </ul>
--	---

### 4.1 Caricamento campione.

1) Spostare completamente verso destra il cursore della Syringe Pump. Per questa operazione occorre usare la pinza del cursore, premendo il tasto frontale con il pollice per allentare la molla interna.

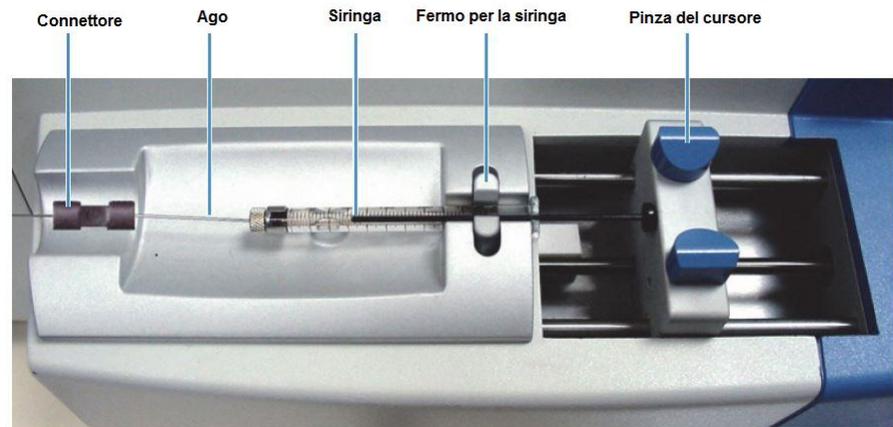
2) Riempire la siringa da 500 µL con la soluzione contenente la sostanza da analizzare o solvente per il lavaggio.

3) Inserire l'ago della siringa nel supporto dotato di un piccolo tubicino di plastica trasparente, avendo cura di spingere delicatamente l'ago fino a contatto con il connettore a doppia vite, a sua volta collegato al tubicino marrone chiaro (o rosso).

4) Collocare la siringa nell'alloggio della syringe pump, con la parte terminale (quella opposta all'ago) a contatto con la parte terminale sinistra dell'alloggio.

5) Avvicinare il cursore della syringe pump fino a contatto con la fine del pistone della siringa, usando la pinza come descritto al punto 1.

La siringa è pronta.



## 4.2 Impostazione metodo di analisi.

1) **È vivamente consigliato usare il metodo calibrazione\_data che deve essere impostato come descritto a pag. 6.**

In caso di necessità dovuta alla particolarità del campione, l'operatore potrà variare la temperatura del capillare ed il flusso dei gas per ottenere una miglior visualizzazione dello spettro.

**Si ricorda di non variare il voltaggio di ionizzazione “Spray Voltage (kV)” settato a 5.00 kV.**

2) L'operatore potrà crearsi un proprio metodo di analisi, impostando particolari valori di temperatura e di flusso dei gas.

In questo caso:

i) aprire la finestra ESI Source

ii) impostare i valori di temperatura e del flusso dei gas.

iii) cliccare “Apply” e quindi “Ok”.

iv) Salvare il metodo: File, Save (Method) As

scegliere la cartella di destinazione (**C: \ XCalibur \ methods \ NOME RADR \ eventuale sottocartella**)

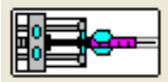
inserire il nome e quindi cliccare “Save”. Il software salva il metodo come file \*.LTQ tune.

Per richiamare questo particolare metodo di analisi, seguire la procedura descritta per il caricamento del file di riferimento a pag. 6.

**ATTENZIONE:** se il metodo di analisi richiamato ha il valore di Capillary Temp diverso da quello riportato nella colonna di destra del monitor, il software ricompila la funzione temperatura per portare lo strumento alla temperatura impostata nel metodo.

## 4.3 Analisi: variazione ed incremento corrente ionica.

Siringa carica, metodo impostato.

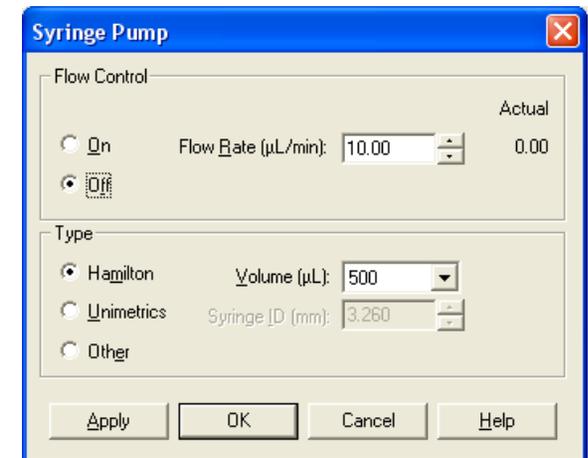
1) Cliccare il tasto  e successivamente il tasto  per aprire la finestra

2) **Impostare il flusso a 10 µL, selezionare “On”.**

3) Cliccare “Apply”, quindi “OK”.

4) Lo strumento riceve la soluzione del campione attraverso il capillare posto sulla camera di ionizzazione e contemporaneamente

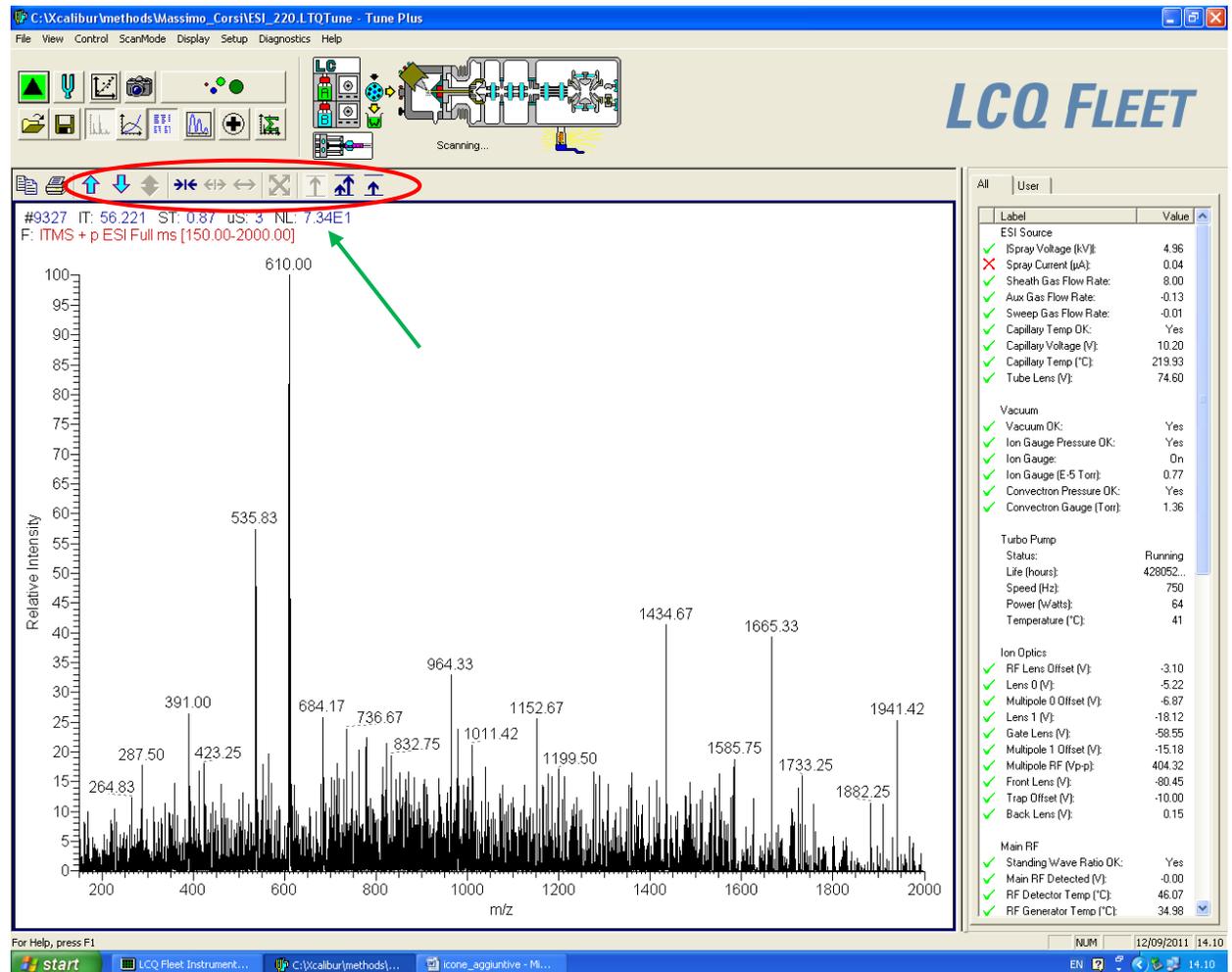
acquisisce i dati, mostrando lo spettro di massa sul monitor del PC. Il tasto di accensione è 



**NOTA:** il LED SCANNING deve lampeggiare con dei led blu in sequenza.

La schermata si presenta come la figura sottostante.

Icone per la visualizzazione personalizzata dello spettro in acquisizione.



5) Non appena compare sullo schermo il picco del proprio analita, abbassare il flusso della siringa a 3÷5  $\mu\text{L}/\text{min}$ , e procedere con l'acquisizione.

6) Durante l'acquisizione dati, occorre osservare la stabilizzazione della corrente ionica (c+ o c-) e quindi dell'intera videata in acquisizione.

7) Il valore indicato dalla freccia verde (NL) è proporzionale alla quantità di ioni che arrivano al detector (es.  $2.0E4 = 2.0 \times 10^4$ ).

Preparando campioni come descritto al **paragrafo 1.** questo valore oscilla da  $7 \div 8E3$  a  $5 \div 7E4$ .

In caso di sostanze particolarmente sensibili alla ionizzazione (es. ammine) il valore della quantità di ioni può arrivare anche a  $1 \div 3E5$ .

8) **Se il campione in analisi risulta troppo concentrato (i.e. valori di corrente ionica  $\geq 1.0E5$ ) interrompere l'analisi e diluire il campione. In questo modo si preserva lo strumento dalla sporcizia residua.**

**NOTA: campioni troppo concentrati richiedono più tempo in fase di pulizia dello strumento.**

9) Durante l'acquisizione dati i parametri della colonna di destra devono essere tutti confermati dal simbolo ✓ verde.

#### 4.4 Tuning e salvataggio dati.

Tuning



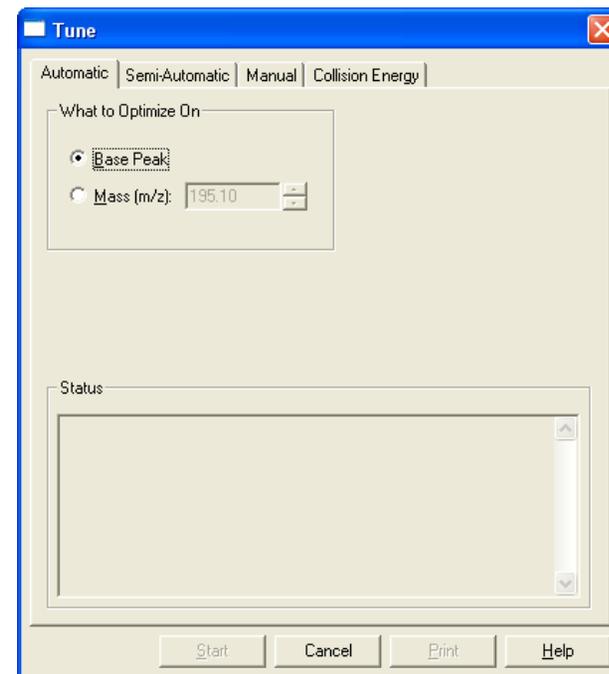
Durante l'acquisizione dati è possibile ottimizzare la scansione dello strumento per sostanze poco sensibili alla ionizzazione.

**Si consiglia di effettuare questa operazione in automatico.**

**Procedura:** 1) cliccare su  ; compare la finestra Tune

2) Attivare la tavola "Automatic" e selezionare "Mass (m/z)".

3) Inserire il valore del picco da ottimizzare e cliccare "Start".



Lo strumento inizia l'ottimizzazione del parametro "Tube Lens" e dei parametri del quadro "Ion Optics".

ESI Source		Actual
Sheath Gas Flow Rate (arb):	8	-0.06
Aux Gas Flow Rate (arb):	0	-0.03
Sweep Gas Flow Rate (arb):	0	-0.01
Spray Voltage (kV):	5.00	0.02
Spray Current (μA):		0.03
Capillary Temp (°C):	220.00	219.96
Capillary Voltage (V):	10.00	10.19
Tube Lens (V):	75.00	74.60

Apply OK Cancel Help

Ion Optics		Actual
RF Lens Offset (V):	-3.00	-3.13
Lens 0 Voltage (V):	-5.00	-5.24
Multipole 0 Offset (V):	-7.00	-6.88
Lens 1 Voltage (V):	-18.00	-18.12
Gate Lens Voltage (V):	-58.00	-58.58
Multipole 1 Offset (V):	-15.00	-15.20
Multipole RF Amplitude (V p-p):	400.00	-0.27
Front Lens (V):	-80.00	-80.54

Apply OK Cancel Help

I messaggi di ottimizzazione dei parametri compaiono nel riquadro "**Status**" della **finestra Tune** (sezione 3.3).

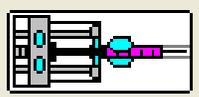
Terminata l'ottimizzazione, compare il messaggio dell'incremento percentuale del segnale rispetto alla condizione precedente il tuning.

## 4.5 Interruzione analisi e lavaggio strumento per analisi successive.

### Interruzione analisi

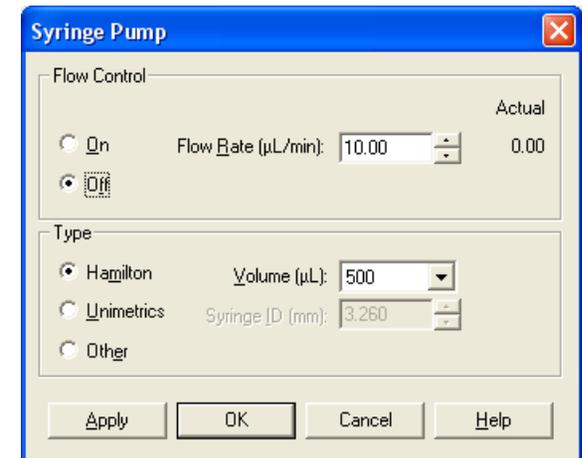
- 1) Lo spettro di massa è stato salvato.
- 2) Lo strumento sta continuando ad acquisire dati e **la syringe pump è sempre attiva** (LED acceso sulla parte frontale dello strumento).

### 3) Procedura per cambio siringa e acquisizione di una seconda analisi.

- i) Interrompere la syringe pump: cliccare su  e quindi selezionare "Off" Apply, Ok

- ii) Svuotare e pulire la siringa con MeOH

- iii) Ripetere la procedura di acquisizione dati come descritto a pag. 14-15 ai punti 1-5 del paragrafo 4.3, usando solo MeOH.



- iv) Durante la fase di lavaggio il picco osservato deve abbassarsi di intensità fino a sparire; contemporaneamente il valore della corrente ionica deve diminuire ( $NL \approx 1 \div 2E2$ ).

**NOTA:** Durante la fase di lavaggio il flusso della siringa (Flow Rate ( $\mu\text{L}/\text{min}$ )) può essere aumentato fino a 30  $\mu\text{L}/\text{min}$  e la temperatura del capillare (quadro ESI Source) aumentata a 300 °C.

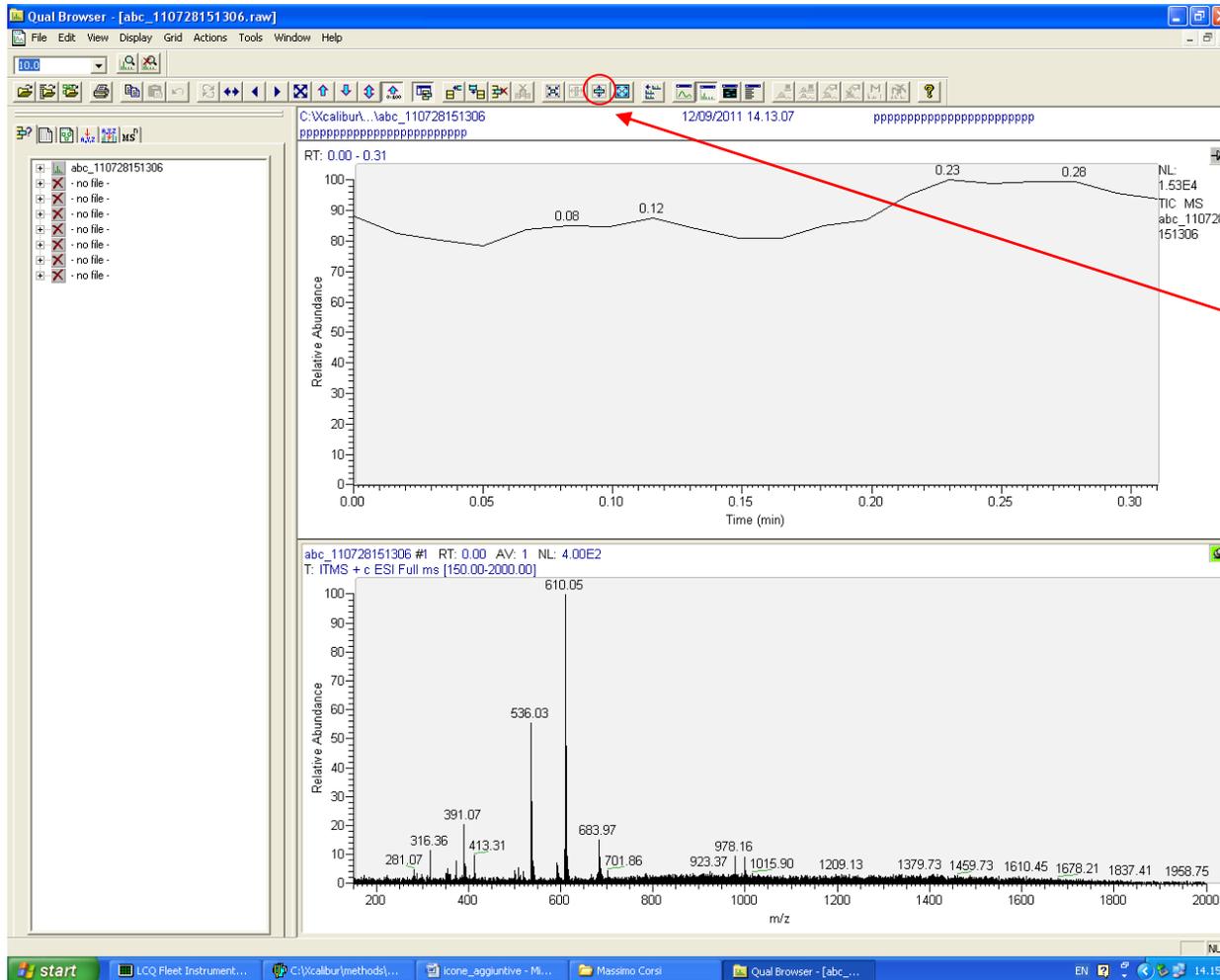
- vi) Terminato il lavaggio si può proseguire con una seconda analisi o lasciare lo strumento all'utente successivo.

**IMPORTANTE:** ricordarsi di reimpostare il flusso della syringe pump a **10  $\mu\text{L}/\text{min}$**  ed il valore di **Capillary Temp a 270 °C**.

## 4.6 Stampa dei risultati

Questa operazione consente di stampare i risultati delle analisi.

- 1) Aprire il programma "Xcalibur" presente sul Desktop e selezionare l'opzione "QualBrowser".
- 2) Aprire il file di analisi selezionandolo dalla cartella C: \ Xcalibur \ data \ NOME RADR \ eventuale sottocartella (vedi figura sotto)



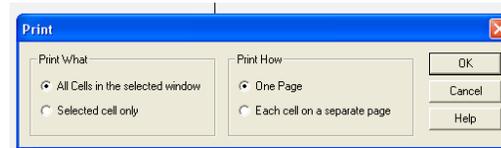
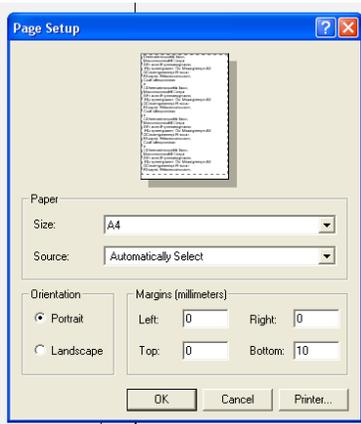
Videata dopo apertura file

3) Cliccare su  per ottenere la videata da stampare.

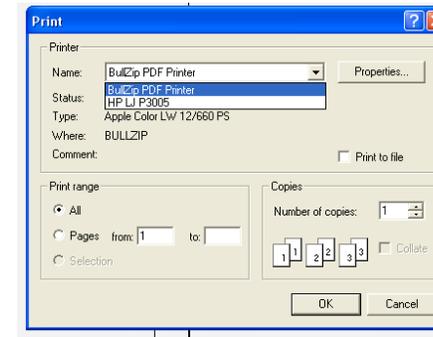
Si agisce sempre sulla schermata evidenziata con la puntina da disegno su sfondo verde

4) Dal menu “File” selezionare “Page Setup” ed impostare 10 nel campo bottom.

5) Quindi selezionare **File/Print** e scegliere la stampante HP per la versione cartacea o BullZip per la creazione del file PDF.

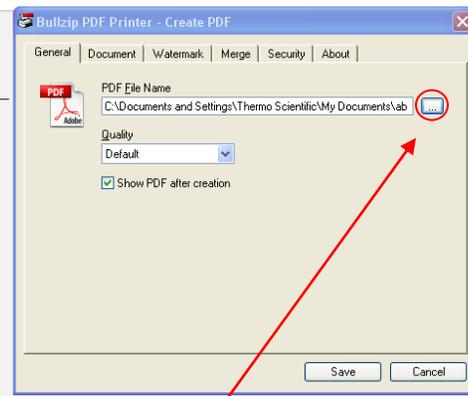


Selezionare le finestre da stampare

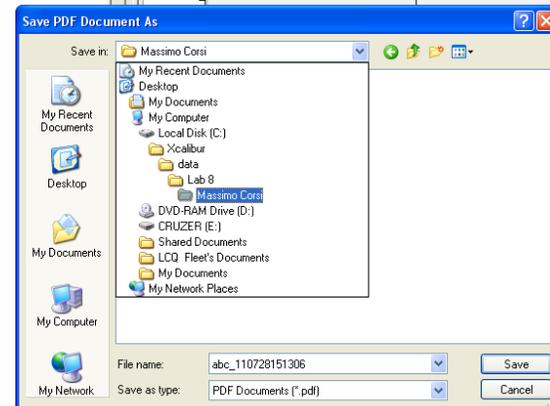


Selezionare la stampante

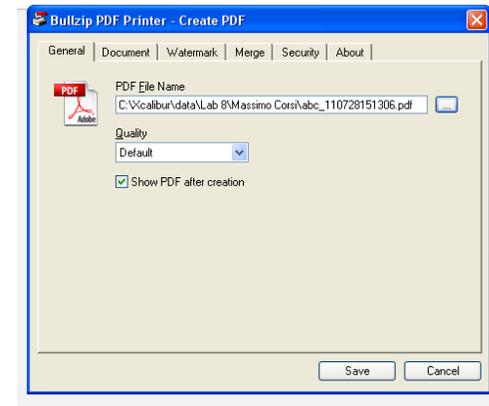
Impostare “10”  
nel campo Bottom



Cliccare su   
Nel caso di BullZip Printer



Inserire il nome e cercare la directory



Save

## 5. Procedura di spegnimento strumento

Stiamo effettuando il lavaggio dello strumento: syringe pump attiva, massa accesa e LED scanning attivo.

1) Cliccare su ; lo strumento si spegne (  ) e contemporaneamente anche la syringe pump si ferma.

2) In alternativa è possibile fermare prima la syringe pump, selezionando "off" nel pannello "Flow control", e spegnere lo strumento subito dopo. Lo spegnimento dello strumento si esegue anche dal menu "Control" e selezionando "Stand by".

3) **Assicurarsi che Capillary Temp = 270 °C, Sheat Gas = 8, Auxiliary Gas = 0, Sweep Gas = 0 e il valore del parametro Ion Gauge (E-5 Torr) sia inferiore a 0.8.**

4) Chiudere la finestra LCQ-Fleet Tune

5) Chiudere la finestra "Console" (opzionale)

6) Eseguire la procedura di spegnimento del PC.

7) Spegnere il monitor.

8) **Compilare il registro di utilizzo presente accanto allo strumento segnando: data, ora di inizio e ora di fine utilizzo, NOME UTENTE, NOME RADR, tipo di analisi eseguite,  $m/z$  del picco base di ogni analisi e se in corrente positiva o negativa, solvente utilizzato, eventuali problemi.**