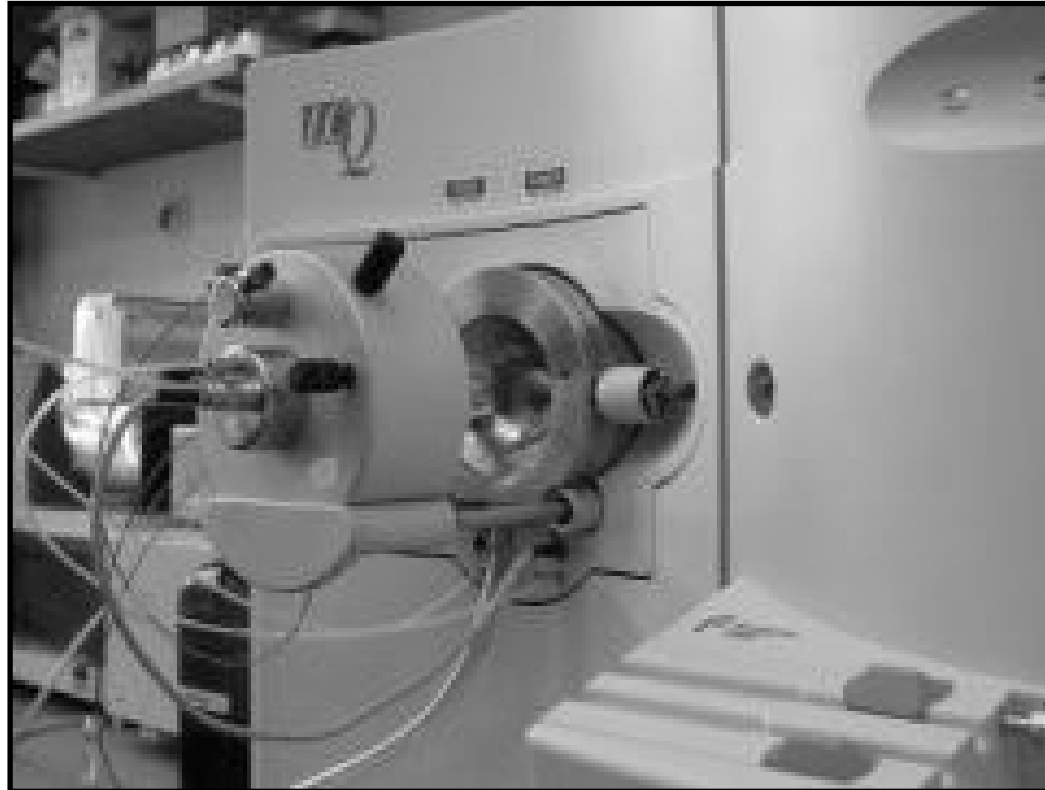


# Software Xcalibur 1.3

# LC-MS systém LCQ Classic



Thermo Finnigan

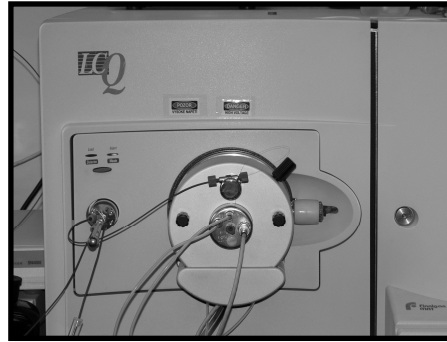
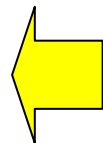
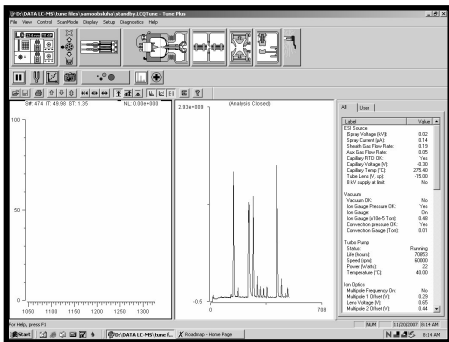
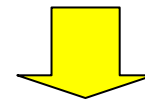
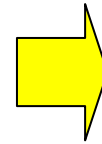
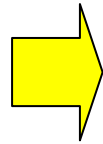
# Obsah přednášky

- Uvedení přístroje do provozu
- Měření přímým nástřikem do proudu mobilní fáze vedené přímo do iontového zdroje
- Ukončení práce s přístrojem LCQ
- Prohlížení naměřených dat v programu Qual Browser

# LCQ ve stavu „standby“

- Ladící stránka slouží k uvedení přístroje do provozu a k analýze přímým nástřikem
- Pokud je instrument ve stavu standby, je ionizační zdroj otevřený a na vstupní kapiláře je septum
- Zároveň je vstupní kapilára ochlazená na 200 °C

# Uvedení LCQ do provozu



# Ladící stránka ve stavu „standby“

The screenshot shows the Tune Plus software interface in standby mode. The interface includes a menu bar (File, View, Control, ScanMode, Display, Setup, Diagnostics, Help), a toolbar with various icons, and a main display area with two plots. The left plot shows a signal trace with parameters S#: 474, IT: 49.98, ST: 1.35, NL: 0.00e+000. The right plot shows a mass spectrum with a peak at 2.93e+009. A status bar at the bottom shows 'Running' and '70853'.

Red arrows point from the following text boxes to specific icons in the toolbar:

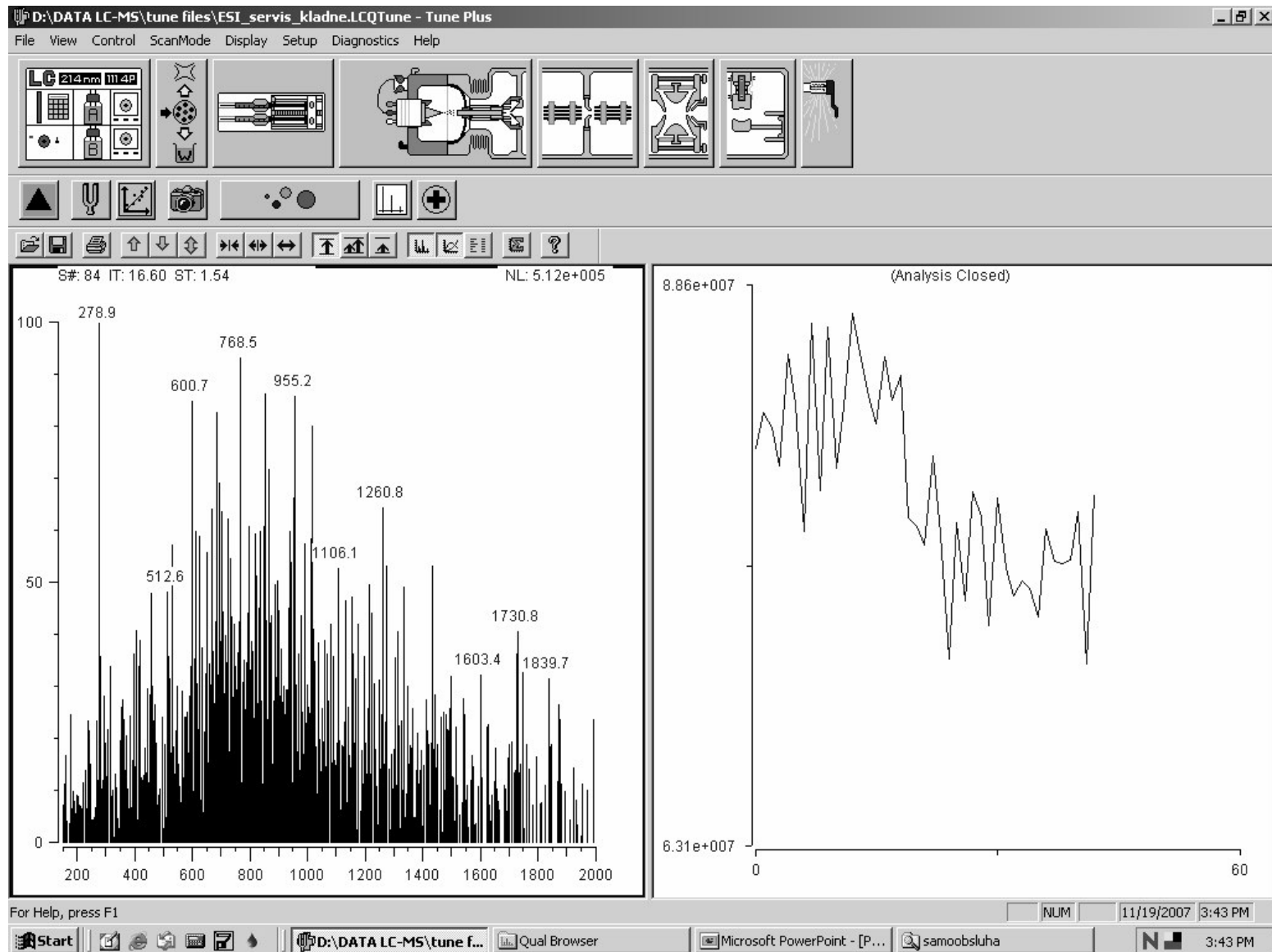
- Spouštění skenování (Start scanning) - points to the pause icon.
- Spouštění sběru dat (Start data acquisition) - points to the spray nozzle icon.
- Spouštění sledování signálu (Start signal monitoring) - points to the graph icon.
- Nastavení rozsahu a typu skenu (Set scan range and type) - points to the zoom icon.
- Typ dat : centroid/ profile (Data type: centroid/profile) - points to the data type icon.
- Volba polarity (nastaveno v ladící metodě) (Polarity selection (set in tuning method)) - points to the plus sign icon.

Label	Value
ESI Source	
Spray Voltage (kV):	0.02
Spray Current (µA):	0.14
Sheath Gas Flow Rate:	0.19
Aux Gas Flow Rate:	0.05
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	-0.30
Capillary Temp (°C):	275.40
Tube Lens (V, sp):	-15.00
8 kV supply at limit:	No
Vacuum	
Vacuum OK:	No
Ion Gauge Pressure OK:	Yes
Ion Gauge:	On
Ion Gauge (x10e-5 Torr):	0.48
Convectron pressure OK:	Yes
Convectron Gauge (Torr):	0.01
Running	70853
	60000
	22
	40.00
Ion Optics	
Multipole Frequency On:	No
Multipole 1 Offset (V):	0.29
Lens Voltage (V):	0.65
Multipole 2 Offset (V):	0.44

# Uvedení LCQ do provozu

- Odstranit septum ze vstupní kapiláry
- Zavřít ionizační zdroj a zajistit šrouby
- V ladící stránce vybrat ladící metodu
- Uvést instrument do stavu „ON“
- Nastavit a spustit čerpadlo mobilní fáze
- Spustit analýzu TIC v ladící záložce manual
- Propláchnout dávkovací smyčku mobilní fází

# Ladící stránka - zapnutý spektrometr





# Analýza přímým vstupem

- Nastavit jméno souboru, comment a spustit sbírání dat ikonou acquire data
- Propláchnout dávkovací smyčku mobilní fází, nebo čistým rozpouštědlem
- Možnost nástřiku vzorku o přibližné koncentraci 1mg/ml v kompatibilním rozpouštědle s použitou mobilní fází, analytem a ionizační technikou
- Ukončení analýzy v záložce acquire data

# Výběr naladění instrumentu - mód měření

The screenshot displays the Tune Plus software interface. The menu bar includes File, View, Control, ScanMode, Display, Setup, Diagnostics, and Help. The File menu is open, showing options like Open..., Save, and Save As... with keyboard shortcuts. A list of tune files is visible, including '1 ESI\_servis\_kladne' and '5 D:\DATA LC-MS\...\draca\_APCI'. The main window shows a mass spectrum plot with peaks at 1866.8 and 657.8. A callout box highlights the 'Open' option in the File menu and the path 'D:\DATA LC-MS\tune files\samoobsluha'. The right panel displays instrument parameters such as ESI Source, Vacuum, Turbo Pump, and Ion Optics.

Výběr naladění instrumentu : open –  
D:\DATA LC-MS\tune files\samoobsluha

Label	Value
ESI Source	
ISpray Voltage (kV):	4.53
Spray Current (µA):	0.39
Sheath Gas Flow Rate:	57.96
Aux Gas Flow Rate:	19.60
Capillary RTD OK:	Yes
Capillary Voltage (V):	11.42
Capillary Temp (°C):	275.40
Tube Lens (V, sp):	-15.00
8 kV supply at limit:	No
Vacuum	
Vacuum OK:	Yes
Ion Gauge Pressure OK:	Yes
Ion Gauge:	On
Ion Gauge (x10e-5 Torr):	0.90
Convector pressure OK:	Yes
Convector Gauge (Torr):	0.84
Turbo Pump	
Status:	Running
Life (hours):	70836
Speed (rpm):	60000
Power (Watts):	56
Temperature (°C):	45.00
Ion Optics	
Multipole Frequency On:	Yes
Multipole 1 Offset (V):	-2.71
Lens Voltage (V):	-15.15
Multipole 2 Offset (V):	-6.37

# Zapnutí mobilní fáze

The screenshot displays the Tune Plus software interface. The main window shows a chromatogram with several peaks labeled with their retention times: 278.8, 491.1, 651.3, 721.3, 1046.4, 1234.9, 1527.6, 1657.2, and 1879.2. The x-axis represents time in minutes, ranging from 0 to 2000. The y-axis represents intensity, ranging from 0 to 100. A red arrow points from the 'Inlet Direct Control' dialog box to the chromatogram. The dialog box is titled 'Inlet Direct Control' and contains the following settings:

Parameter	Value	Unit
A (%)	90	n/a
B (%)	10	n/a
C (%)	0	n/a
D (%)	0	n/a
Flow (ml/min)	0.20	n/a

The dialog box also includes buttons for 'Start', 'Stop', 'Help', 'Close', and 'Help'. The software interface includes a menu bar (File, View, Control, ScanMode, Display, Setup, Diagnostics, Help) and a toolbar with various icons for instrument control and data analysis. The status bar at the bottom shows the current date and time: 11/19/2007 3:35 PM.

# Zapnutí sledování signálu iontů

The screenshot displays the LCQ Tune Plus software interface. The main window shows a mass spectrum plot with the following parameters: S#: 1861, IT: 18.78, ST: 1.54. The x-axis represents m/z from 200 to 2000, and the y-axis represents relative intensity from 0 to 100. Key peaks are labeled with their m/z values: 358.3, 278.8, 702.1, 751.2, 958.6, and 1094.3. A 'Tune' dialog box is open in the foreground, with the 'Automatic' tab selected. The 'What to Graph' section has three radio buttons: 'TIC' (selected), 'ESI Spray Current', and 'Mass(es) (m/z)'. Below this, there are four checkboxes for mass values: 1 [ ] 195.10, 2 [ ] 524.30, 3 [ ] 1222.00, and 4 [ ] 1822.00. The 'Status' section is empty. At the bottom of the dialog are 'Start', 'Cancel', 'Print', and 'Help' buttons. A red arrow points from the 'Tune' dialog box to the 'ESI Spray Current' radio button in the software's toolbar. The Windows taskbar at the bottom shows the Start button, a file explorer window for 'D:\DATA LC-MS\tune f...', and a Microsoft PowerPoint window. The system tray shows the date and time as 11/19/2007 3:36 PM.

# Spuštění sběru dat

The screenshot displays the Tune Plus software interface. The main window shows a chromatogram with several peaks labeled with their retention times: 278.7, 415.0, 544.2, 7, 1090.5, 1312.9, 1525.3, 1740.9, and 1997.3. The y-axis represents intensity, ranging from 0 to 100. The x-axis represents time in minutes, ranging from 200 to 2000. A red arrow points from the 'Acquire Data' dialog box to the 'Start' button in the main window's toolbar.

The 'Acquire Data' dialog box is open, showing the following fields and options:

- Filename: D:\DATA LC-MS\data\samoobsluha\inicialy\_vzorek.RAW
- Sample Name: popis vzorku
- Comment: +ESI, MeOH; 275C; sample in MeOH
- Acquire Time:  Continuously,  Scans (10),  Minutes (1.00)
- Acquisition Status: State: Idle, Time (min): 0.00
- Buttons: Start, Pause, View..., OK, Cancel, Help

The status bar at the bottom of the window shows the date and time: 11/19/2007 3:40 PM. The taskbar at the bottom of the screen shows the Start button and several open applications, including 'D:\DATA LC-MS\tune f...', 'Qual Browser', 'Microsoft PowerPoint - [P...', and 'samoobsluha'.

# Nastavení rozsahu a parametru skenu

D:\DATA LC-MS\tune files\samoobsluha\ESI\_servis\_kladne.LCQTune - Tune Plus

File View Control ScanMode Display Setup Diagnostics Help

LC 214nm M4P

**Define Scan**

S#: 318

Scan Description

Scan Mode:  MS  MS/MS  MSn

Scan Type:  Full  SIM  ZoomScan

MSn Power: [Slider]

TurboScan  Wideband Activation

MSn Settings

Parent Mass (m/z) Isolation Width (m/z) Normalized Collision Energy (%)

Scan Ranges (m/z)

From Mass To Mass

1 150.00 2000.00

Source Fragmentation

Turn On Collision Energy (V): 25.0

Apply OK Cancel Help

Nastavení módu a typu skenu

Nastavení rozsahu skenu

For Help, press F1

NUM 11/19/2007 3:50 PM

Start D:\DATA LC-MS\tune f... Qual Browser Microsoft PowerPoint - [P... 3:50 PM

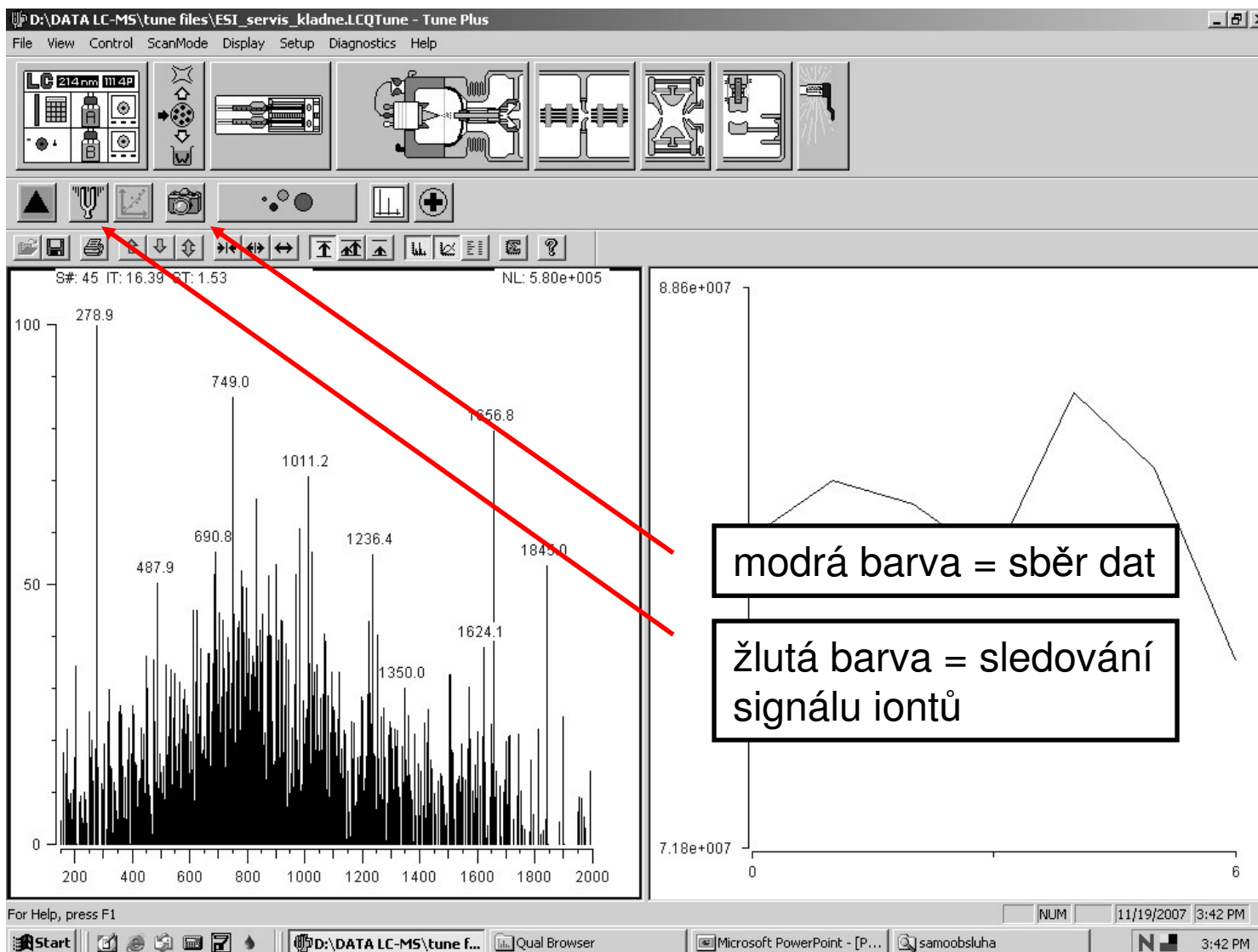
# MS/MS sken

The screenshot displays the 'Define Scan' dialog box in the Tune Plus software. The dialog is titled 'Define Scan' and contains several configuration sections:

- Scan Description:** Scan Mode:  MS/MS, Scan Type:  Full, MSn Power: 2.
- MSn Settings:** Parent Mass (m/z): 123.00, Isolation Width (m/z): 1.0, Normalized Collision Energy (%): 30.0. This section is highlighted with a red box and the text 'Nastavení parametrů MS/MS'.
- Scan Ranges (m/z):** From Mass: 50.00, To Mass: 200.00.
- Scan Time:** Number of Microscans: 3, Maximum Inject Time (ms): 200.00.
- Input Method:**  From/To,  Center/Width.
- Source Fragmentation:**  Turn On, Collision Energy (V): 25.0.

The background shows a mass spectrum plot with a peak at 278.9 m/z. The system status window on the right displays various parameters such as Voltage (kV), Gas Flow Rate, and Temperature.

# Spuštěný spektrometr sledování signálu a analýza





# Na co je třeba dát pozor

- Před spuštěním čerpadla mobilní fáze je vždy nutné, aby byl instrument ve stavu „ON“, tzn. zdrojem by měl proudit sprejovací a sušící plyn
- U programu Xcalibur se soubory nepřepisují a při opětovném zadání stejného názvu se vytvoří soubor s názvem a příponou kódující datum
- Při zvolené vysoké koncentraci je možné kontaminovat zdroj a i přes důkladné čištění mohou být nadále patrné stopy analytu i několik týdnů po analýze

# Zastavení analýzy a uvedení instrumentu do stavu standby

- Pro měření dalších vzorků při stejných podmínkách je potřeba spouštět opět pouze sběr dat
- Po změřených vzorcích se dávkovací smyčka několikrát propláchne čistým rozpouštědlem
- Následně se vypne sledování signálu iontů, dále pak čerpadlo mobilní fáze
- Pro odstavení se zvolí ladící metoda „standby“ a po načtení metody je možné uvést spektrometr do stavu „standby“
- Otevře se iontový zdroj a ubrouskem navlhčeným MeOH/H<sub>2</sub>O (1/1) se otře okolí a povrch kapiláry
- Na kapiláru se přitiskne septum (mělo by zůstat prisáté)  
- pozor teplota kapiláry je 200 °C

# Prohlížení naměřených dat v programu Qual Browser

- Soubory se ukládají ve formátu „.raw“
- Otevřeme soubor a z nabídky soubor/layout vybereme „samoobsluha“
- Nahoře se zobrazí chromatogram, dole spektrum
- Okno aktivujeme v pravém horním rohu
- Spektrum v daném místě chromatogramu sejmeme při aktivním okně „spektrum“ pohybem kurzoru v okně „chromatogram“ při současně stisknutém levém tlačítku myši
- Při aktivním okně „chromatogram“ a stejném postupu přibližujeme v okně „chromatogram“
- Obdobně přibližujeme v okně „spektrum“
- Je možné otevřít a prohlížet chromatogram při spuštěné analýze, aktualizace se provádí klávesou F5

# Okno programu Xcalibur

The screenshot displays the Xcalibur software interface. On the left, a sidebar titled "Acquisition Queue" lists the following components and their status:

- Run Manager
  - Ready To Download
  - Sequence:
  - Sample Name:
  - Working On:
  - Position:
  - Raw File:
  - Inst. Method:
- LCQ MS
  - Initializing
- TSP UV6000
  - Ready to Download
- TSP Autosampler
  - Not Connected
- TSP P4000
  - Ready to Download

The main workspace features a workflow diagram with the following steps:

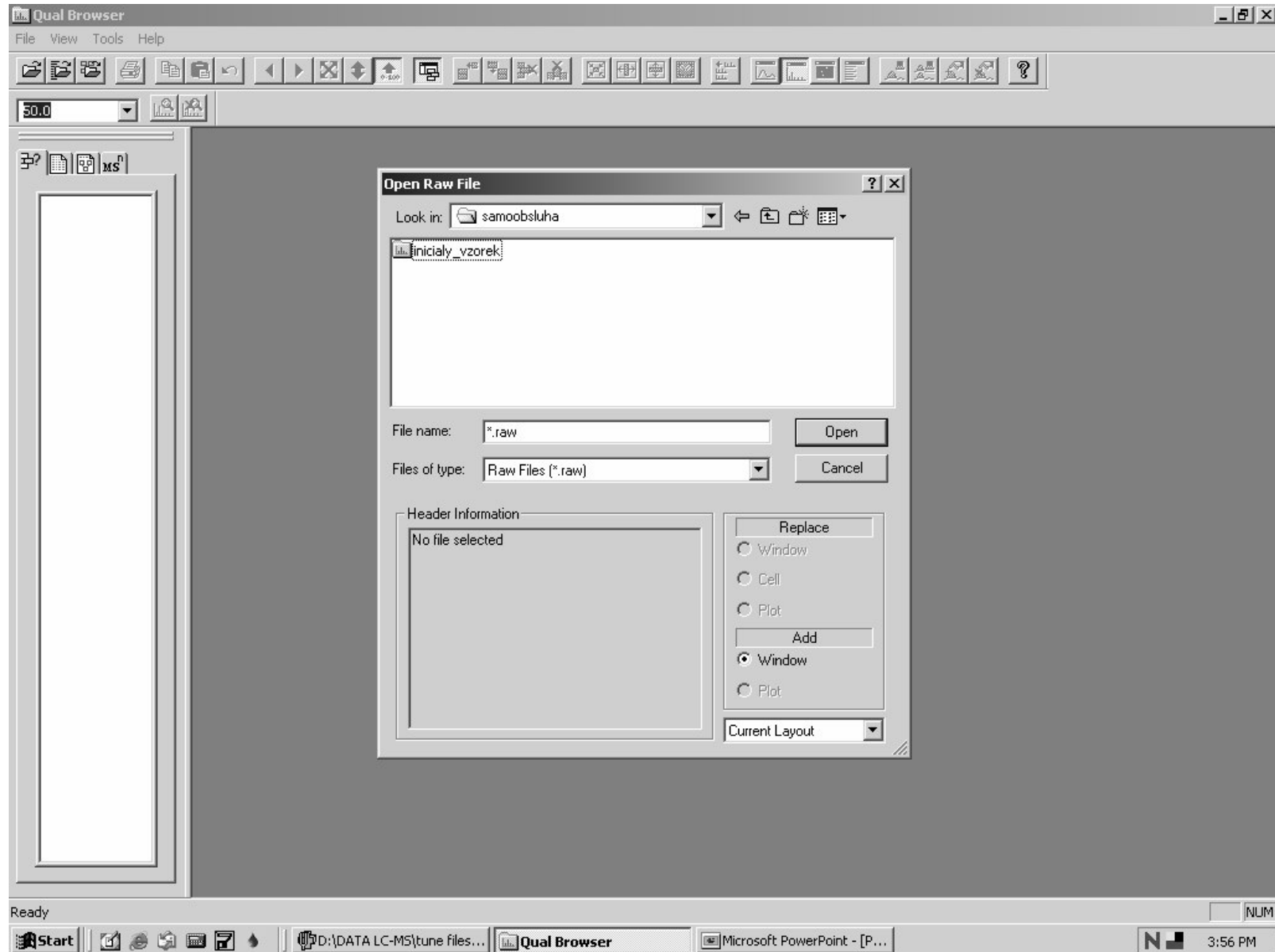
- Instrument Setup**: Represented by a keypad icon with "ON-LINE" text.
- Sequence Setup**: Represented by an icon of four vials.
- Processing Setup**: Represented by a gear icon.
- Results Review**: A large, semi-transparent watermark text.
- Qual Browser**: Represented by a molecular structure icon.
- Quan Browser**: Represented by a balance scale icon.
- Library Browser**: Represented by a chemical structure icon.

A red arrow points from a text box at the bottom left to the "Qual Browser" icon.

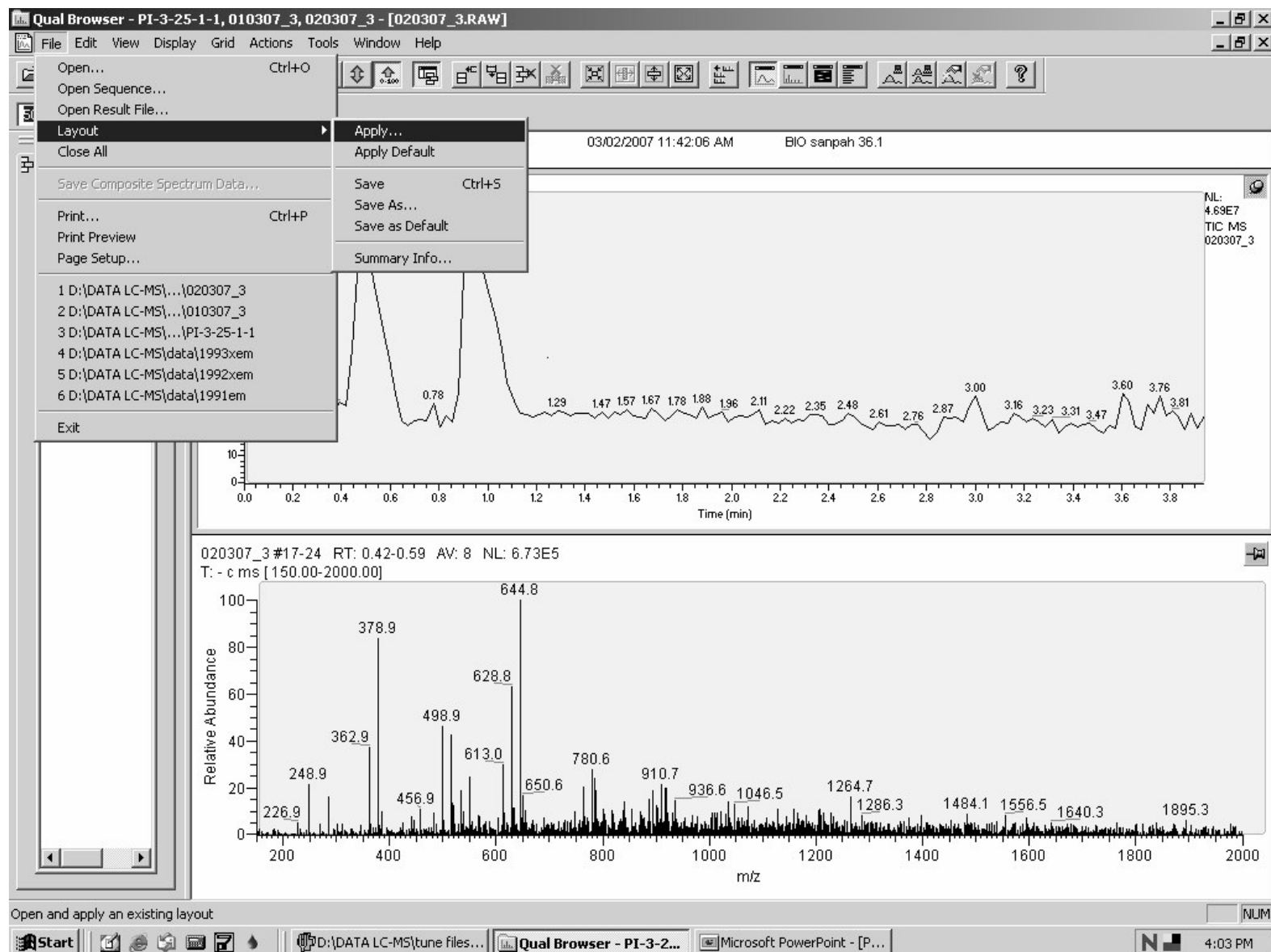
**Spouštění prohlížeče**

At the bottom of the window, the status bar shows "For Help, press F1" and the taskbar includes the Start button, a file explorer window for "D:\DATA LC-MS\tune files...", the "Roadmap - Home Page" window, and a "Microsoft PowerPoint - [m...]" window. The system tray shows the date "11/19/2007", time "4:32 PM", and the system tray icon.

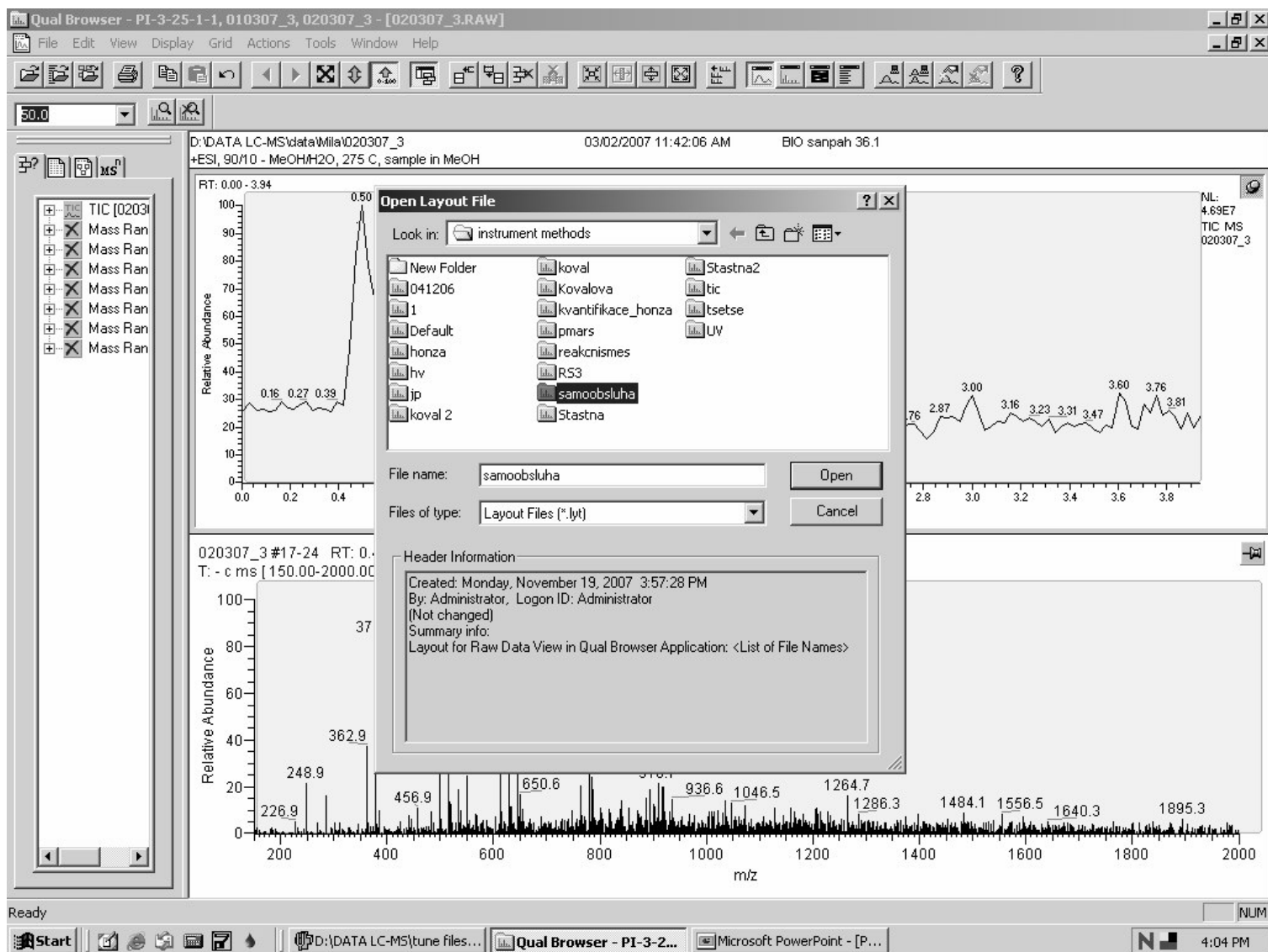
# Otevření měřeného souboru v programu Qual Browser



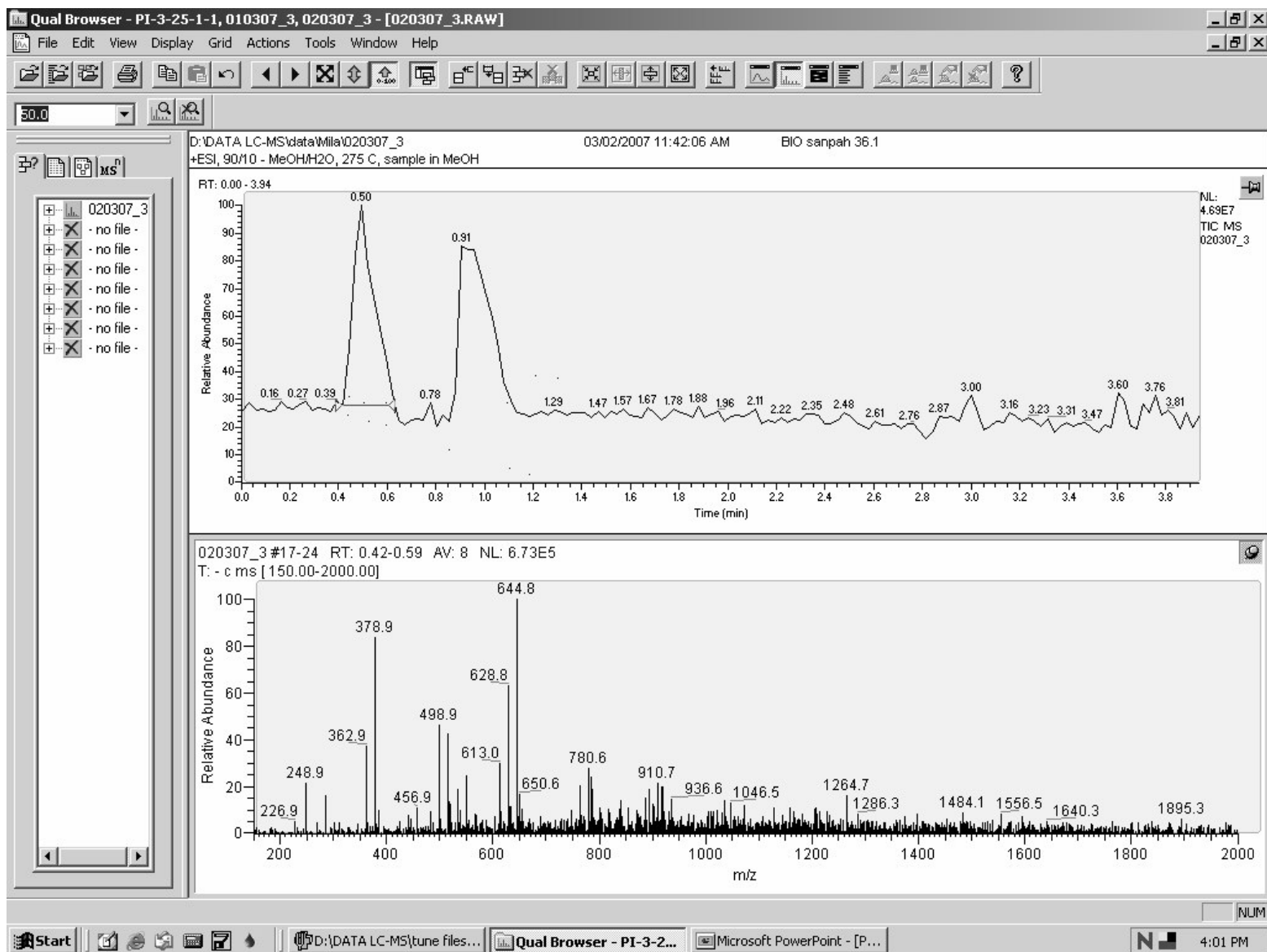
# Aplikace prohlížečího vzoru



# Aplikace prohlížečího vzoru



# Sejmutí spektra levým tlačítkem myši





# Odečtení pozadí

Qual Browser - PI-3-25-1-1, 010307\_3, 020307\_3 - [020307\_3.RAW]

File Edit View Display Grid Actions Tools Window Help

Subtract Spectra 1 Range  
Peak Detection 2 Ranges  
Peak Purity... Clear  
Library  
AutoFilter

D:\DATA  
+ESI, 90  
3  
sample in MeOH  
03/02/2007 11:42:06 AM BIO sanpach 36.1

RT: 0.00 - 3.94

Relative Abundance

Time (min)

NL: 4.69E7  
TIC MS  
020307\_3

020307\_3  
- no file -  
- no file -  
- no file -  
- no file -  
- no file -  
- no file -  
- no file -

020307\_3 #17-24 RT: 0.42-0.59 AV: 8 NL: 6.73E5  
T: - c ms [150.00-2000.00]

Relative Abundance

m/z

Subtract background scans, with 2 time ranges (usually before & after peak)

NUM

Start | D:\DATA LC-MS\tune files... | Qual Browser - PI-3-2... | Microsoft PowerPoint - [P... | 4:01 PM

# Tisk a export

- Tisk dat je možný z nabídky file/print, a to buď na laserové tiskárně HP 2300, nebo je možný převod do PDF formátu při výběru „pdf“ v okně tiskárny
- Export dat je možný přes USB port a přídatné paměťové zařízení nebo například přes síť novel a síťové disky

Děkuji za pozornost

