
Software Analyst MD

Esercitazione per l'acquisizione dipendente dalle informazioni



Questo documento viene fornito ai clienti che hanno acquistato apparecchiature SCIEX come guida all'utilizzo e al funzionamento delle stesse. Questo documento è protetto da copyright e qualsiasi riproduzione, parziale o totale, dei suoi contenuti è severamente vietata, a meno che SCIEX non abbia autorizzato per iscritto diversamente.

IVD

Il software menzionato in questo documento viene fornito con un contratto di licenza. La copia, le modifiche e la distribuzione del software con qualsiasi mezzo sono vietate dalla legge, salvo diversa indicazione contenuta nel contratto di licenza. Inoltre, il contratto di licenza può vietare che il software venga disassemblato, sottoposto a reverse engineering o decompilato per qualsiasi scopo. Le garanzie sono indicate in questo documento.

Alcune parti di questo documento possono far riferimento a produttori terzi e/o a loro prodotti, che possono contenere parti i cui nomi siano registrati come marchi e/o utilizzati come marchi dei rispettivi proprietari. Tali riferimenti mirano unicamente a designare i prodotti di terzi forniti da SCIEX e incorporati nelle sue apparecchiature e non implicano alcun diritto e/o licenza circa l'utilizzo o il permesso concesso a terzi di utilizzare i nomi di tali produttori e/o dei loro prodotti come marchi.

CE

Le garanzie di SCIEX sono limitate alle garanzie esplicite fornite al momento della vendita o della licenza dei propri prodotti e costituiscono le uniche ed esclusive dichiarazioni, garanzie e obbligazioni di SCIEX. SCIEX non rilascia altre garanzie di nessun tipo, né espresse né implicite, comprese, a titolo di esempio, garanzie di commerciabilità o di idoneità per un particolare scopo, derivanti da leggi o altri atti normativi o dovute a pratiche e usi commerciali, tutte espressamente escluse, né si assume alcuna responsabilità o passività potenziale, compresi danni indiretti o conseguenti, per qualsiasi utilizzo da parte dell'acquirente o per eventuali circostanze avverse conseguenti.

UK
CA

Per uso diagnostico *in vitro*. Prodotti non disponibili in tutti i paesi. Per ulteriori informazioni, contattare il rappresentante di vendita di zona o visitare sciex.com/diagnostics.

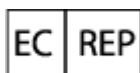
Rx only.

I prodotti potrebbero non essere disponibili in tutti i Paesi. Per ulteriori informazioni, contattare il rappresentante di vendita locale o fare riferimento al sito [Web sciex.com](http://Web.sciex.com).

I marchi e/o i marchi registrati menzionati nel presente documento, inclusi i loghi associati, sono di proprietà di AB Sciex Pte. Ltd., o dei rispettivi proprietari, negli Stati Uniti e/o in altri Paesi (vedere: sciex.com/trademarks).

AB Sciex™ è utilizzato su licenza.

© 2022 DH Tech. Dev. Pte. Ltd.



Leica Microsystems CMS GmbH
Ernst-Leitz-Strasse 17-37
35578 Wetzlar
Germany



AB Sciex Pte. Ltd.
Blk33, #04-06 Marsiling Industrial Estate Road 3
Woodlands Central Industrial Estate, Singapore 739256

Sommario

Capitolo 1: Esercitazione per l'Acquisizione Dipendente dalle Informazioni	5
Informazioni sui metodi IDA	5
Documentazione correlata	6
Prerequisiti	6
 Capitolo 2: Creazione di metodi IDA	 7
Creazione di un metodo IDA mediante IDA Method Wizard con un sistema a triplo quadrupolo	7
Creazione di un metodo IDA mediante IDA Method Wizard con un sistema LIT	9
Creazione di un metodo IDA mediante Acquisition Method Editor	10
Creazione di un metodo IDA Method mediante una scansione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM	12
Creazione di un metodo IDA Method mediante due scansioni con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM	13
Informazioni sulla commutazione di polarità	14
Informazioni sugli placeholder	16
Effetto dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro in IDA	17
Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo IDA <i>Scheduled</i> MRM Pro	17
Creazione di un metodo IDA mediante <i>Scheduled</i> Ionization	18
 Capitolo 3: Visualizzazione dei dati IDA	 19
Impostare le opzioni IDA Explorer	19
Visualizzazione dei dati IDA	20
Visualizzazione dei dati IDA se IDA Explorer non è attivo	21
Informazioni sull'algoritmo Dynamic Background Subtraction	23
Informazioni sul tempo di riempimento dinamico	24
Icone	24
 Contatti	 26
Formazione dei clienti	26
Centro di istruzione online	26
Assistenza SCIEX	26
Sicurezza informatica	26
Documentazione	26

Esercitazione per l'Acquisizione Dipendente dalle Informazioni

1

Informazioni sui metodi IDA

Un metodo IDA conduce automaticamente esperimenti basati sui risultati ottenuti da esperimenti precedenti nello stesso periodo. Utilizzare i criteri IDA per ottimizzare i parametri di acquisizione dati durante questa operazione, riducendo i tempi di acquisizione dei campioni in una singola iniezione. IDA risparmia contemporaneamente la quantità di campioni richiesta e prezioso tempo di lavoro.

Creare un metodo IDA con un massimo di due scansioni di indagine e otto scansioni dipendenti in un singolo periodo. Una scansione di indagine è utilizzata in IDA per avviare ulteriori esperimenti. Una qualunque delle seguenti scansioni può essere utilizzata come scansione di indagine:

- Q3 MS
- Enhanced MS (EMS)
- MRM
- Perdita neutra (NL)
- Ione precursore (Prec)
- Ione Prodotto migliorato (EPI) (scansione di indagine di secondo livello)
- *Scheduled* MRM

Le seguenti sono scansioni dipendenti:

- EPI
- MS/MS/MS (MS3) (scansione dipendente di secondo livello)

In un esperimento IDA, le azioni dello spettrometro di massa variano da una scansione all'altra in base ai dati acquisiti durante una scansione precedente. Il software analizza i dati mano a mano che vengono acquisiti e determina le masse sulle quali eseguire scansioni dipendenti. È possibile impostare i criteri che attiveranno un esperimento IDA e i parametri di metodo da utilizzare.

IDA modifica gli esperimenti e migliora i risultati in base ai seguenti criteri definiti dall'utente:

- Intensità ionica e stato carica
- Elenchi di inclusione ed esclusione
- Schema isotopi
- Esclusione dinamica

Se la polarità non viene commutata durante il ciclo, il numero degli esperimenti dipendenti deve corrispondere al numero degli ioni più intensi sulla scheda IDA Criteria.

Documentazione correlata

- Guida per l'utente del sistema dello spettrometro di massa
- *Guida avanzata per l'utente*
- *Esercitazione sull'algoritmo Scheduled MRM*
- Guida in linea del software Analyst MD

Prerequisiti

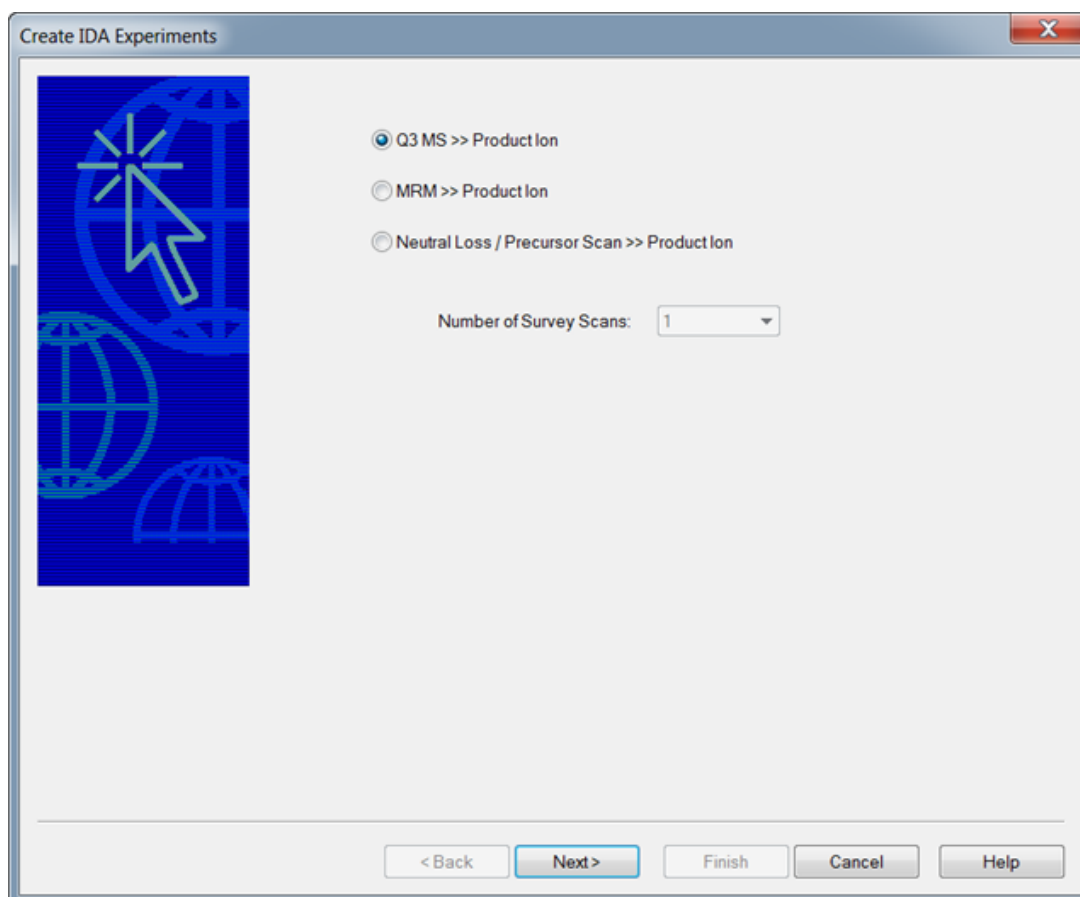
Prerequisiti
<p>Gli utenti devono essere in grado di:</p> <ul style="list-style-type: none">• Creare un metodo di acquisizione• Inviare un batch

Con IDA Method Wizard, è possibile metodi di acquisizione LIT (trappola ionica lineare) e metodi di acquisizione IDA a triplo quadrupolo. È possibile utilizzare qualsiasi combinazione di due scansioni di indagine. Se si seleziona EPI come scansione di indagine, risulta disponibile la scheda IDA–Second Level Criteria. Se si utilizzano questi esperimenti di indagine, non è possibile impostare il livello di criteri IDA aggiuntivi.

Creazione di un metodo IDA mediante IDA Method Wizard con un sistema a triplo quadrupolo

1. Sulla barra di navigazione, in **Acquire**, fare doppio clic su **IDA Method Wizard**.

Figura 2-1: Pagina Create IDA Experiments



2. Selezionare il tipo di scansione **Neutral Loss / Precursor Scan >> Product Ion**.

Creazione di metodi IDA

3. Nell'elenco **Number of Survey Scans**, selezionare il numero di scansioni da eseguire e fare clic su **Next**.

Viene visualizzata la pagina Survey Scan. L'aspetto di questa pagina dipende dalla scansione selezionata.

4. Impostare i parametri e fare clic su **Next**.

Viene visualizzata la pagina Dependent Scan – Product Ion Scan.

5. Selezionare il numero di picchi da sorvegliare, impostare i parametri di scansione e fare clic su **Next**.

Viene visualizzata la pagina Dependent Scan – IDA Criteria.

Nota: Verificare che il range IDA sia lo stesso o rientri in quello della scansione di indagine.

6. Per specificare l'intervallo di massa ionica, digitare i limiti inferiore e superiore dell'intervallo. Una scansione dipendente verrà effettuata per le masse che rientrano in questo range.

7. Nel campo **Which exceed**, digitare il numero minimo di conteggi al secondo richiesto per attivare una scansione dipendente.

8. Nel gruppo **Exclude Former Target Ions**, compiere una delle seguenti operazioni:

- Per ignorare tutti gli ioni target precedenti occorsi nell'esperimento IDA, selezionare **Always**.
- Per ignorare tutti gli ioni target precedenti dopo un determinato numero di ripetizioni, selezionare **Always**, quindi **After** e digitare il numero di ripetizioni.
- Per ignorare gli ioni target precedenti in un determinato lasso di tempo, selezionare **For** ed digitare il numero di secondi durante i quali gli ioni saranno ignorati.
- Per ignorare gli ioni target precedenti in un determinato lasso di tempo successivo ad un certo numero di ripetizioni, selezionare **For** e digitare il numero di secondi durante i quali gli ioni saranno ignorati. Selezionare **After** e digitare il numero di ripetizioni.

Suggerimento! Per riconoscere tutti gli ioni target precedenti nell'esperimento IDA, completare la procedura guidata e, nella scheda IDA - First Level Criteria in Acquisition Method Editor, in **Exclude former target ions**, fare clic su **Never**.

9. Per escludere gli ioni target precedenti dopo un determinato numero di ripetizioni, nel gruppo **Exclude Former Target Ions**, selezionare **After X occurrences** e digitare il numero di volte in cui uno ione target precedente può essere visto prima di essere escluso dalle future scansioni.

10. Fare clic su **Finish**.

L'esperimento IDA compare automaticamente in Acquisition Method Editor. Ora è possibile modificare i metodi LC e gli altri criteri IDA, ad esempio, elenchi di inclusione ed esclusione.

11. Esaminare il metodo MS e modificare i parametri e gli altri criteri IDA, se necessario.

12. Aggiungere i dispositivi se non sono già inclusi e quindi aggiornare tutti i parametri rilevanti.

Suggerimento! È possibile aggiornare tutti i parametri del gas della sorgente di ionizzazione. Nella scheda MS, fare clic su **Edit Parameters**. Nella scheda , digitare i valori corretti e selezionare la casella di controllo **Source/Gas**Source/Gas in basso per applicare i parametri a tutti gli esperimenti.

13. Salvare il file del metodo di acquisizione.

Creazione di un metodo IDA mediante IDA Method Wizard con un sistema LIT

1. Sulla barra di navigazione, in **Acquire**, fare doppio clic su **IDA Method Wizard**. Viene visualizzata la pagina Create IDA Experiments.
2. Nel gruppo **Type of IDA Experiment**, selezionare il tipo di scansione di indagine e fare clic su **Next**.
3. Se è selezionato il tipo di scansione **Neutral Loss / Precursor Scan >> Enhanced Product**, nell'elenco **Number of Survey Scans** selezionare il numero di scansioni da eseguire.
4. Per verificare che l'esperimento IDA abbia acquisito dati corrispondenti allo stato di carica o allo schema degli isotopi definiti dall'utente prima di eseguire la scansione dipendente, selezionare la casella di controllo **Use Enhanced Resolution Scan to confirm Charge State and Isotope Pattern**.
5. Per aggiungere una scansione MS3 all'esperimento, selezionare la casella di controllo **Enable MS3 Experiment generation**.
6. Perché il software calcoli dinamicamente il tempo di riempimento appropriato per LIT, assicurarsi che la casella di controllo **Dynamic Fill Time** sia selezionata.
7. Fare clic su **Next**.
Si apre la pagina Survey Scan. L'aspetto di questa finestra di dialogo varia a seconda della scansione di indagine selezionata.
8. Modificare i parametri in base al tipo di scansione selezionato e fare clic su **Next**.
Si apre la pagina Dependent Scan – Enhanced Product Ion (EPI).
9. Selezionare il numero di picchi da sorvegliare, impostare i parametri di scansione e fare clic su **Next**.
Viene visualizzata la pagina Dependent Scan – IDA Criteria.
10. Per specificare l'intervallo di massa ionica, digitare i limiti inferiore e superiore dell'intervallo. Una scansione dipendente verrà effettuata per le masse che rientrano in questo range.
11. Nel campo **Which exceed**, digitare il numero minimo di conteggi al secondo richiesto per attivare una scansione dipendente.
12. Per specificare l'intervallo di stato di carica per l'esperimento IDA, selezionare la casella di controllo **With charge state X to Y charges** e quindi fare clic sugli stati di carica.

Suggerimento! Lo stato di carica dipende dalla corretta determinazione del rapporto isotopico. Pertanto, utilizzare una scansione ER per confermare lo stato di carica.

13. Per includere picchi con stati di carica ignoti, selezionare la casella di controllo **Include unknowns**.
14. Nel gruppo **Exclude Former Target Ions**, compiere una delle seguenti operazioni:
 - Per ignorare tutti gli ioni target precedenti occorsi nell'esperimento IDA, selezionare **Always**.
 - Per riconoscere tutti gli ioni target precedenti occorsi nell'esperimento IDA, selezionare **Never**.
 - Per ignorare gli ioni target precedenti in un determinato lasso di tempo, selezionare **For** e digitare il numero di secondi durante i quali gli ioni saranno ignorati.
 - Per ignorare gli ioni target precedenti in un determinato lasso di tempo successivo ad un certo numero di ripetizioni, selezionare **For** e digitare il numero di secondi durante i quali gli ioni saranno ignorati. Selezionare **After** e digitare il numero di ripetizioni.
 - Per ignorare tutti gli ioni target precedenti dopo un determinato numero di ripetizioni, selezionare **Always**, quindi **After** e digitare il numero di ripetizioni.
15. Per escludere gli ioni target precedenti dopo un determinato numero di ripetizioni, nel gruppo **Exclude Former Target Ions**, selezionare **After X occurrences** e digitare il numero di volte in cui uno ione target precedente può essere visto prima di essere escluso dalle future scansioni.
16. Fare clic su **Finish**.
L'esperimento IDA compare automaticamente in Acquisition Method Editor. Ora è possibile modificare i metodi LC e gli altri criteri IDA, ad esempio, elenchi di inclusione ed esclusione.
17. Esaminare il metodo MS e modificare i parametri e gli altri criteri IDA, se necessario.
18. Aggiungere i dispositivi se non sono già inclusi e quindi aggiornare tutti i parametri rilevanti.

Suggerimento! È possibile aggiornare tutti i parametri del gas della sorgente di ionizzazione. Nella scheda MS, fare clic su **Edit Parameters**. Nella scheda , digitare i valori corretti e selezionare la casella di controllo **Source/Gas**Source/Gas in basso per applicare i parametri a tutti gli esperimenti.

19. Salvare il file del metodo di acquisizione.

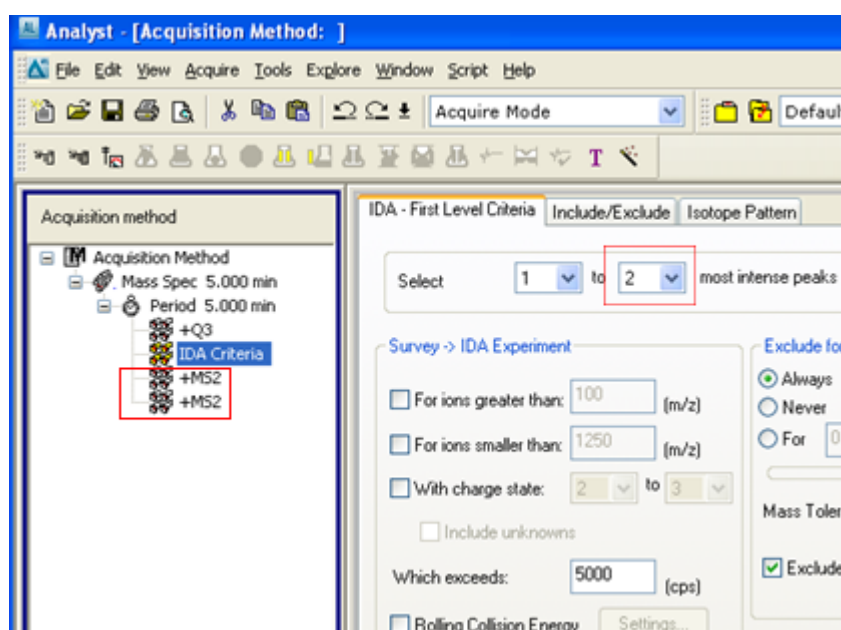
Creazione di un metodo IDA mediante Acquisition Method Editor

Nota: Gli esperimenti devono essere immessi nell'ordine in cui devono essere sequenziati. Non è possibile inserire degli esperimenti tra quelli esistenti.

Suggerimento! Per ridurre l'esigenza di inversioni di polarità e ridurre al minimo il tempo di ciclo, raggruppare insieme tutti gli esperimenti dipendenti positivi e tutti gli esperimenti dipendenti negativi in un periodo.

1. Sulla barra di navigazione, in **Acquire**, fare doppio clic su **Build Acquisition Method**.
2. Creare un nuovo metodo di acquisizione con una o due scansioni di indagine.
3. Selezionare la scansione di indagine, quindi selezionare i parametri adeguati.
4. Per utilizzare una scansione Enhanced Resolution per configurare lo stato di carica o la selezione dello schema isotopi in un sistema QTRAP, eseguire le seguenti operazioni:
 - Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add experiment**.
 - Nella scheda MS, nell'elenco **Scan type**, fare clic su **Enhanced Resolution (ER)**.
 - Digitare i dettagli relativi alla scansione Enhanced Resolution.
5. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add IDA Criteria Level**.
6. Nei campi **Select X to Y most intense peaks**, impostare l'intervallo dei picchi di ioni più intensi che devono essere monitorati dall'esperimento IDA. Per le IDA a indagine singola, il numero totale dei picchi deve essere pari al numero di esperimenti dipendenti specificati. Per le IDA a indagine doppia con commutazione di polarità nelle scansioni di indagine, il numero di esperimenti dipendenti deve essere il doppio del numero totale di picchi da monitorare, con metà di loro in una polarità, e l'altra metà nella polarità opposta.

Figura 2-2: Esempio di un metodo IDA con due tipi di scansioni dipendenti e due ioni più intensi



7. Se viene utilizzata una scansione Enhanced Resolution (ER), aggiungere uno placeholder per ciascun picco monitorato.
Per gli placeholder ER, digitare 1 al centro della finestra (amu 0). Se vengono monitorati 4 picchi, nella colonna centrale saranno presenti 4 righe con i numeri 1, 2, 3 e 4. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla sezione: [Informazioni sugli placeholder](#).
8. Se viene utilizzata una scansione ER per configurare lo stato di carica, la selezione dello schema isotopi o per riottenere l'accuratezza della massa, selezionare la casella di controllo **Use Enhanced Resolution Scan to confirm Charge State OR Isotope Pattern Selection** nella scheda IDA - First Level Criteria.
9. Impostare il resto dei parametri sulla scheda IDA - First Level Criteria in base ai valori richiesti.
10. Se necessario, nella scheda Include/Exclude, modificare l'elenco appropriato per selezionare le caselle di controllo **Include List** o **Exclude List** e quindi specificare gli ioni target o gli ioni da escludere.
11. Se necessario, nella scheda Include/Exclude, selezionare la casella di controllo **Match Isotopes** e specificare lo schema di distribuzione isotopica corrispondente.
12. Per il primo esperimento dipendente da aggiungere, uno per ogni picco monitorato dal criterio IDA di primo livello, eseguire le operazioni seguenti:
 - a. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add experiment**.
Sarà aggiunto un esperimento sotto il criterio IDA.
 - b. Digitare i dettagli relativi alla scansione dipendente.

Suggerimento! Se verranno utilizzate più scansioni dipendenti, fare clic con il pulsante destro del mouse sulla scansione EPI e quindi selezionare **Copy this experiment** finché non è incluso il numero di scansioni dipendenti. Quando viene utilizzato il comando di copia anziché di aggiunta dell'esperimento, tutte le impostazioni vengono copiate nelle nuove scansioni dipendenti.

13. Aprire il metodo.
14. Aggiungere i dispositivi e aggiornare tutti i relativi parametri.
15. Salvare il file del metodo di acquisizione.

Creazione di un metodo IDA Method mediante una scansione con algoritmo *Scheduled MRM*

In questo esempio, verrà creato un metodo IDA che cercherà il singolo ione più intenso dal tipo di scansione di indagine. Il metodo di acquisizione conterrà una scansione di indagine e una scansione dipendente.

Per creare un metodo che abbia più scansioni dipendenti, verificare che il numero di picchi intensi corrisponda al numero di scansioni dipendenti sulla scheda IDA Criteria (applicabile

solamente alle IDA a indagine singola). Ad esempio, se il metodo contiene tre scansioni dipendenti selezionare da 1 a 3 dei picchi più intensi.

1. Creare un esperimento *Scheduled* MRM. Fare riferimento al documento: *Scheduled MRM*.

Nota: Quando è selezionata l'opzione Target Cycle Time per l'uso nell'esperimento *Scheduled* MRM, il tempo di ciclo target è applicabile solamente all'esperimento *Scheduled* MRM e non a tutti gli esperimenti all'interno del metodo di acquisizione IDA.

Suggerimento! Per aggiungere un tipo di scansione ER, aggiungerlo prima di aggiungere i criteri IDA.

2. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add IDA Criteria Level**.
3. Specificare i parametri **IDA Criteria**.
4. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add experiment**.
5. Sulla scheda MS, nell'elenco **Scan type**, selezionare un tipo di scansione dipendente. Per questo esempio, selezionare **Product Ion (MS2)** o **Enhanced Product Ion (EPI)**.

Nota: Per tutti i tipi di scansione dipendenti, **Product Of** deve essere 30 Da.

6. Specificare i parametri dell'esperimento.
7. Salvare il metodo di acquisizione nel progetto dal quale verrà eseguita l'acquisizione.

Creazione di un metodo IDA Method mediante due scansioni con algoritmo *Scheduled* MRM

In questo esempio, verrà creato un metodo IDA che cercherà i due ioni più intensi da entrambi gli esperimenti di scansione di indagine combinati. Il metodo di acquisizione di esempio include due esperimenti di scansione di indagine e quattro esperimenti di scansione dipendente.

Suggerimento! Se durante i tipi di scansione di indagine viene invertita la polarità, fare riferimento alla sezione: [Informazioni sulla commutazione di polarità](#).

Nota: Per il metodo di acquisizione IDA a indagine doppia, è possibile utilizzare anche due esperimenti MRM o due esperimenti EMS (Enhanced MS) per le scansioni di indagine.

1. Creare un esperimento *Scheduled* MRM. Fare riferimento ai punti 1-7 in *Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo Scheduled MRM* nel documento: *Scheduled MRM*.
2. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add experiment**.
Viene creata una seconda scansione MRM. Impostarla sulla polarità opposta.

3. Selezionare la casella di controllo **Enabled** nel gruppo **Scheduled MRM** per creare un altro esperimento *Scheduled MRM*. Fare riferimento al documento: *Scheduled MRM*.
4. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add IDA Criteria Level**.
5. Specificare i parametri **IDA Criteria**.
6. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add experiment**.
7. Sulla scheda MS, nell'elenco **Scan type**, selezionare un tipo di scansione dipendente. Per questo esempio, selezionare **Product Ion (MS2)** o **Enhanced Product Ion (EPI)**.

Nota: Per tutti i tipi di scansione dipendenti, **Product Of** deve essere 30 Da.

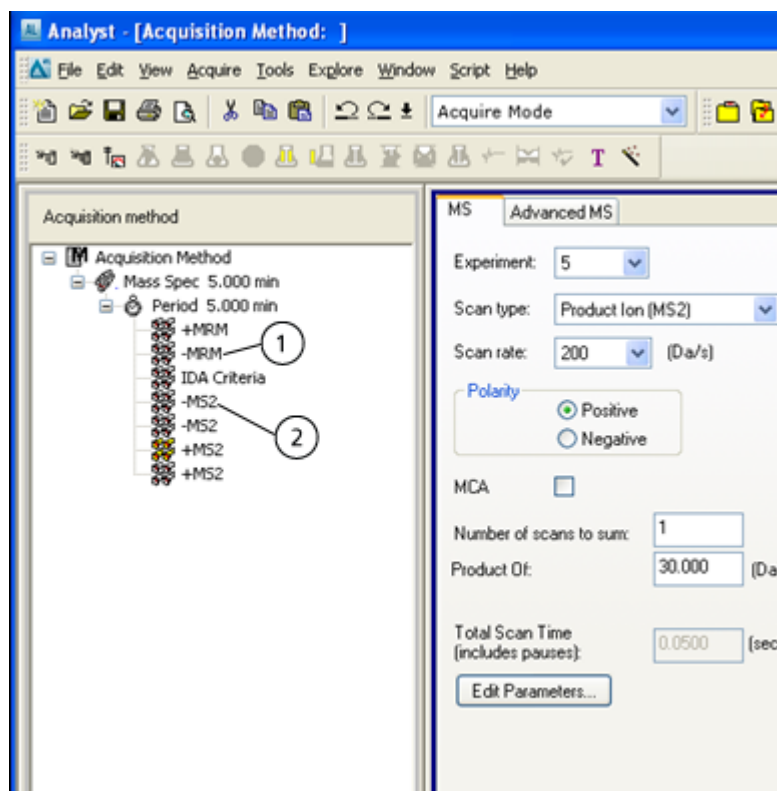
8. Specificare i parametri dell'esperimento.
9. Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'esperimento **MS2** o **EPI**, quindi fare clic su **Copy this experiment**.
10. Ripetere il passaggio 9 due volte. Verificare che la polarità sia impostata come descritto nella sezione: [Informazioni sulla commutazione di polarità](#).
11. Salvare il metodo di acquisizione nel progetto dal quale verrà eseguita l'acquisizione.

Informazioni sulla commutazione di polarità

Se le scansioni di indagine si trovano in polarità diverse, verificare che il metodo di acquisizione sia impostato come segue:

1. Verificare che la polarità del *primo* tipo di scansione dipendente sia la stessa dell'*ultimo* tipo di scansione di indagine.

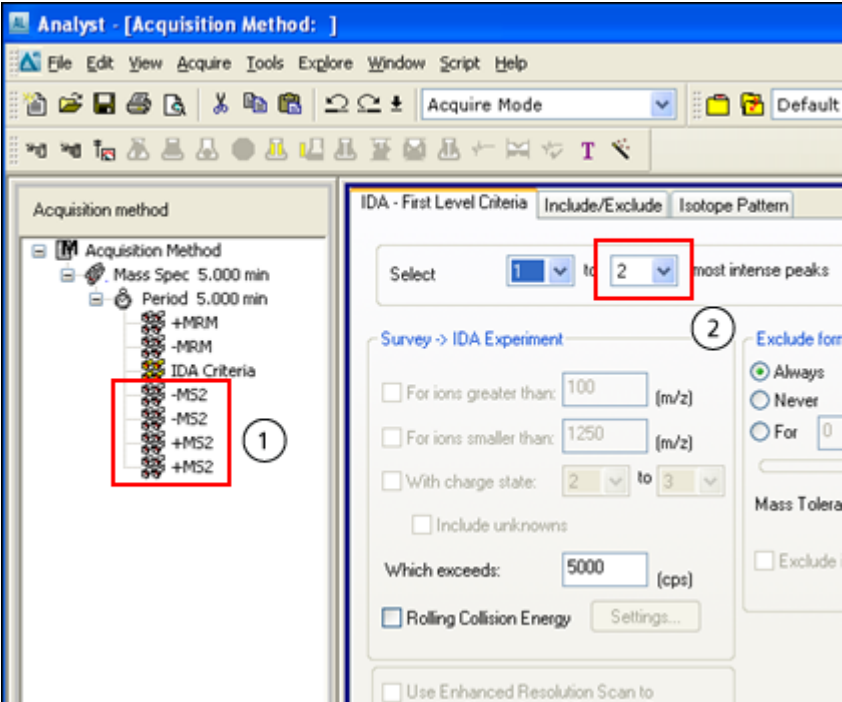
Figura 2-3: Esempio di tipi di scansione impostati per la commutazione di polarità



Elemento	Descrizione
1	Ultima scansione di indagine
2	Prima scansione dipendente

2. Creare un metodo di acquisizione in cui il numero di scansioni dipendenti è doppio rispetto al numero degli ioni più intensi. Ad esempio, per cercare i due ioni più intensi, includere quattro tipi di scansioni dipendenti.

Figura 2-4: Esempio di tipi di scansioni dipendenti e numero degli ioni più intensi



Elemento	Descrizione
1	Tipi di scansioni dipendenti (quattro)
2	Ioni più intensi (due)

Nota: I candidati selezionati vengono attivati solamente negli esperimenti dipendenti con la stessa polarità. Le scansioni dipendenti a cui non è assegnato un candidato non vengono eseguite per questo ciclo. Al massimo viene azionata la metà degli esperimenti dipendenti in qualsiasi ciclo.

3. Per ciascun esperimento di scansione dipendente, assicurarsi che la sua polarità sia la stessa dell'esperimento precedente, quindi il tempo di assestamento viene impostato a zero.

Informazioni sugli spaceholder

Gli spaceholder sono numeri generici utilizzati nelle scansioni, che saranno sostituiti da numeri specifici. Il software sostituisce il valore dello spaceholder con un valore specifico tratto dalla selezione IDA. Gli spaceholder sono critici ai fini del corretto funzionamento dei metodi IDA.

Quando alcuni esperimenti vengono selezionati per primi, i valori degli spaceholder vengono aggiunti automaticamente.

- NL, Prec, e EPI = 30
- MS/MS/MS

- First Precursor = 30
- Second Precursor = 10

ER utilizza anche degli placeholder.

- Gli placeholder iniziano con il numero 1 nella prima riga in un metodo IDA. Ciascuna riga consecutiva aumenta di 1 fino a un massimo di 8 righe.
- Se si utilizza IDA Method Wizard, viene automaticamente aggiunto il numero corretto di placeholder ER.

Effetto dell'algoritmo *Scheduled* MRM Pro in IDA

Se viene eseguita una scansione di indagine Acquisizione dipendente da informazione (IDA) utilizzando l'algoritmo *Scheduled* MRM Pro, la scansione dipendente nel metodo IDA viene attivata solamente quando le intensità di tutte le transizioni MRM di un gruppo sono superiori al rispettivo valore di soglia. In questo modo viene migliorato il tempo di ciclo eliminando le false attivazioni di scansioni dipendenti.

Creazione di un metodo di acquisizione con algoritmo IDA *Scheduled* MRM Pro

1. Creare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM Pro. Fare riferimento al documento: *Esercitazione su Scheduled MRM*.
2. Se necessario, aggiungere un esperimento con tipo di scansione ER prima di aggiungere il livello di criteri IDA nel periodo.
3. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add IDA Criteria Level**.
4. Specificare i parametri IDA Criteria. Fare riferimento alla sezione: [Creazione di metodi IDA](#).
5. Sull'icona **Period** fare clic con il pulsante destro del mouse, quindi fare clic su **Add experiment**.
6. Sulla scheda MS, nell'elenco **Scan type**, selezionare un tipo di scansione dipendente. Per questo esempio, selezionare **Product Ion (MS2)** o **Enhanced Product Ion (EPI)**.

Nota: Per tutti i tipi di scansione dipendenti, **Product Of** deve essere 30 Da.

7. Specificare i parametri dell'esperimento.
8. Salvare il metodo di acquisizione nel progetto dal quale verrà eseguita l'acquisizione.

Nota: Durante l'acquisizione dei dati utilizzando un metodo con algoritmo IDA *Scheduled* MRM Pro, la soglia di attivazione per ciascuna transizione MRM nel metodo viene usata al posto della soglia IDA.

Creazione di un metodo IDA mediante Scheduled Ionization

1. Creare un metodo IDA manualmente in Method Editor o automaticamente utilizzando **IDA Method Wizard**.
2. Selezionare qualsiasi esperimento nel metodo e quindi selezionare la casella di controllo **Scheduled Ionization**.
3. Nel gruppo **Scheduled Ionization**, digitare i valori **Start Time** e **Stop Time** appropriati. Assicurarsi che l'eluizione dei picchi di interesse sia compresa tra **Start Time** e **Stop Time**. Assicurarsi inoltre che **Synchronization Mode** e la porzione LC del metodo di acquisizione siano impostati come quando non viene utilizzato **Scheduled Ionization**.

Nota: **Scheduled ionization** è disponibile solo nei metodi di acquisizione a periodo singolo.

La figura seguente mostra che è utilizzata **LC Synchronization Mode** e che il metodo LC ha una durata di 10 minuti. Tutti i picchi di interesse vengono eluiti dopo 3 minuti e prima di 7 minuti. Una tensione **IonSpray** pari a 0 viene applicata prima di **Start Time** e dopo **Stop Time**. La tensione **IonSpray** impostata nel metodo viene applicata solo tra **Start Time** e **Stop Time**. La funzione **Scheduled Ionization** può ridurre il rischio di contaminazione dello strumento, riducendo di conseguenza il tempo di inattività dello spettrometro di massa. Per ulteriori informazioni su **Scheduled Ionization**, fare riferimento al documento: *Guida avanzata per l'utente*.

Figura 2-5: Scheduled Ionization

MS Advanced MS

Experiment: 1

Scan type: Enhanced MS (EMS)

Scan rate: 10000 (Da/s)

Polarity: Positive

MCA: ☐

Number of scans to sum: 1

Total Scan Time (includes pauses): 0.3534 (sec)

Period Summary

Duration: 4.014 (min) Delay Time: 0 (sec)

Cycles: 140 Cycle: 1.7204 (sec)

☒ Scheduled Ionization

Start Time: 3 (min) Stop Time: 7.014 (min)

	Start (Da)	Stop (Da)	Time (sec)
1	100.000	188.129	0.0000
2	188.129	306.420	0.0190
3	306.420	1000.000	0.0614
4			

4. Salvare il metodo di acquisizione.

Se è in corso l'acquisizione di dati mediante un metodo IDA, i dati non vengono aperti nel visualizzatore IDA fino al completamento dell'acquisizione. Tuttavia, durante l'acquisizione viene aperta la finestra Explore.

Per agevolare la visualizzazione dei dati IDA, impostare IDA Explorer come visualizzatore predefinito. Utilizzare la scheda IDA Explorer nella finestra di dialogo Appearance Options per selezionare l'IDA Explorer che verrà utilizzato per visualizzare i dati IDA. L'utente può anche selezionare le colonne per il riquadro Mass List - List View. L'IDA Explorer è preimpostato per visualizzare i campioni IDA.

Impostare le opzioni IDA Explorer

1. Fare clic su **Tools > Settings > Appearance Options**.
Si apre la finestra di dialogo Appearance Options.
2. Aprire la scheda IDA Explorer.
3. Selezionare la casella di controllo **Use IDA Explorer to Display IDA Samples**.
4. Nella sezione **Column Options**, selezionare le seguenti caselle di controllo, come richiesto:

Tabella 3-1: Column Options

Campo	Descrizione
Intensity	(Intensity) Mostra l'intensità di un particolare rapporto <i>m/z</i> .
Molecular Weight (MW)	(Peso molecolare (MW)) Mostra il peso molecolare calcolato per un particolare rapporto <i>m/z</i> .
Scan	(Scansione) Mostra il tipo di scansione utilizzato per un particolare rapporto <i>m/z</i> .
Collision Energy (CE)	(Energia di collisione (CE)) Mostra l'energia di collisione per un particolare rapporto <i>m/z</i> .
Charge (Z)	(Carica (Z)) Mostra la carica per un particolare ione.

5. Per un sistema LIT, nella sezione **LIT Column Options** selezionare le caselle di controllo seguenti, come richiesto:

Tabella 3-2: LIT Column Options

Campo	Descrizione
Excitation Energy (AF2)	(Energia di eccitazione (AF2)) Mostra l'energia di eccitazione per il secondo ione precursore negli esperimenti MS/MS/MS.

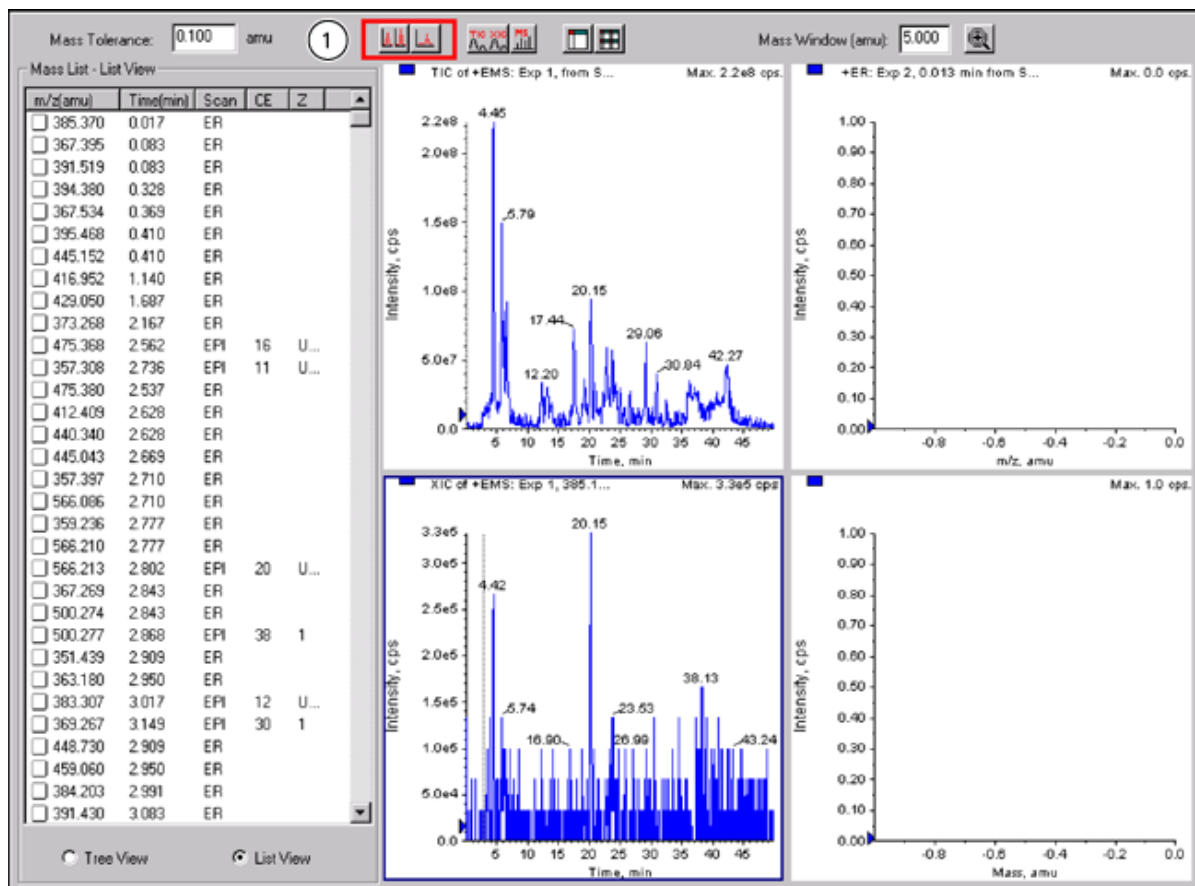
Tabella 3-2: LIT Column Options (continua)

Campo	Descrizione
MS3 2nd Precursor (2nd Pre)	(Secondo precursore MS3 (2nd Pre)) Mostra il secondo ione precursore MS/MS/MS.
DFT (Dynamic Fill Time)	(DFT (tempo di riempimento dinamico)) Mostra il tempo impiegato per il riempimento LIT.

Visualizzazione dei dati IDA

1. Assicurarsi che nel software Analyst MD sia selezionato il progetto Example.
2. Sulla barra di navigazione, in **Explore**, fare doppio clic su **Open Data File**. Si aprirà la finestra di dialogo Select Sample.
3. Nel campo **Data Files**, fare doppio clic su **LIT** e quindi su **IDA BSA Digest.wiff**.
4. Nell'elenco **Samples**, fare clic su un campione, quindi su **OK**. Si aprirà la finestra IDA Explorer. La parte sinistra del riquadro mostra un elenco di masse inviate alla scansione dipendente. Per cambiare visualizzazione, selezionare **Tree View** o **List View** in basso nel riquadro Mass List. La parte destra del riquadro contiene informazioni grafiche relative ai dati IDA.

Figura 3-1: Pulsanti di visualizzazione grafico singolo e grafici multipli



- Utilizzare i due pulsanti (elemento 1) sopra il grafico per passare dalla visualizzazione a singolo grafico a quella a grafici multipli e viceversa. Per visualizzare solo il grafico attivo, fare clic sul pulsante che mostra un grafico. Per ritornare alla visualizzazione a grafici multipli, fare clic sul pulsante che mostra due grafici.

Suggerimento! Per accedere alle funzioni della modalità **Explore** non disponibili in IDA Viewer, fare clic su **Export Active Graph to Explorer** e **Export All Graphs to Explorer** nel riquadro sopra i grafici per aprire i grafici correnti nella finestra Explore.

Visualizzazione dei dati IDA se IDA Explorer non è attivo

Se IDA Explorer non è attivo, i dati IDA si aprono nella finestra Explore. Per visualizzare i dati IDA, fare doppio clic sulla freccia verde alla base dell'asse X.

Figura 3-2: TIC contenente tutte le scansioni (freccia dati IDA cerchiata)

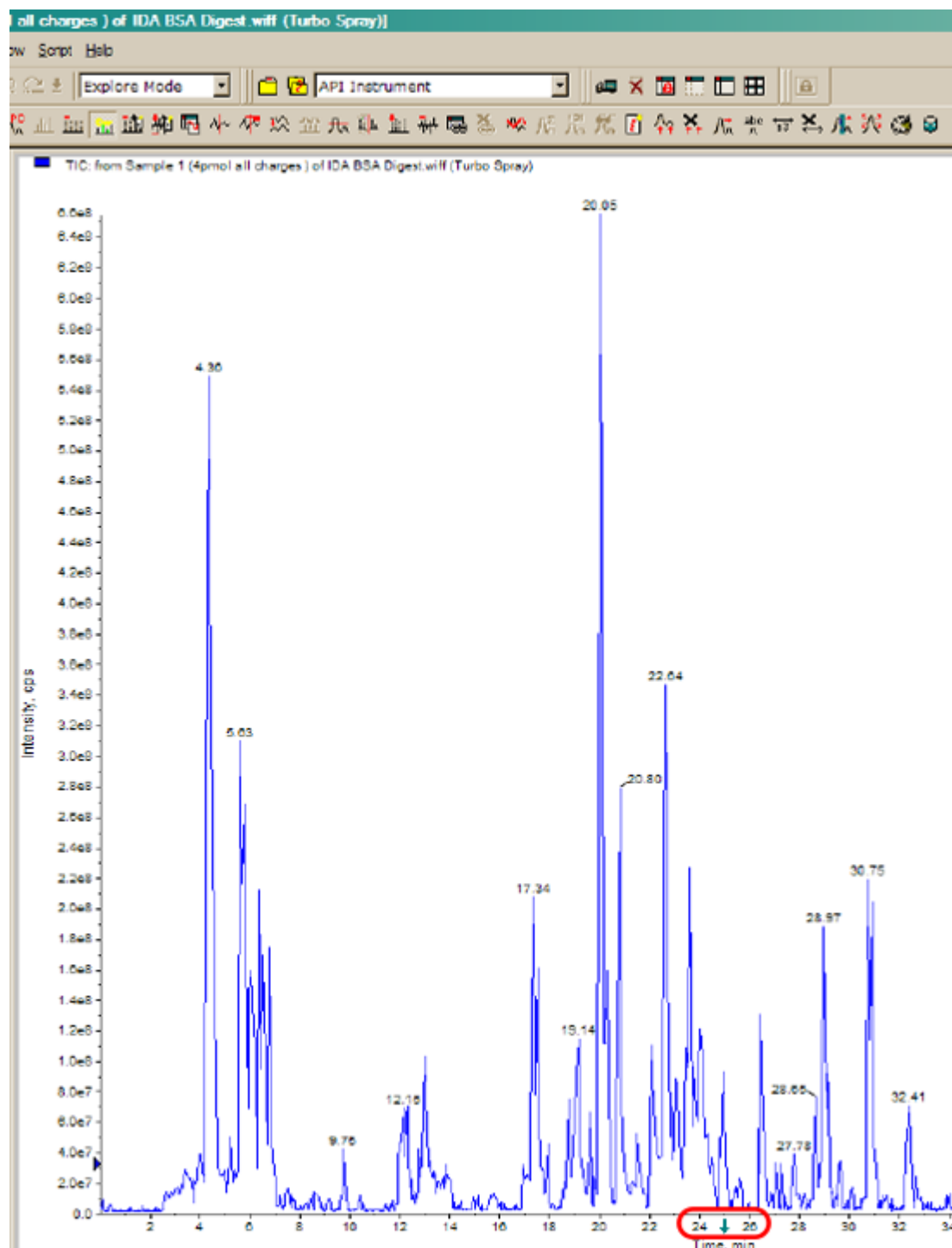
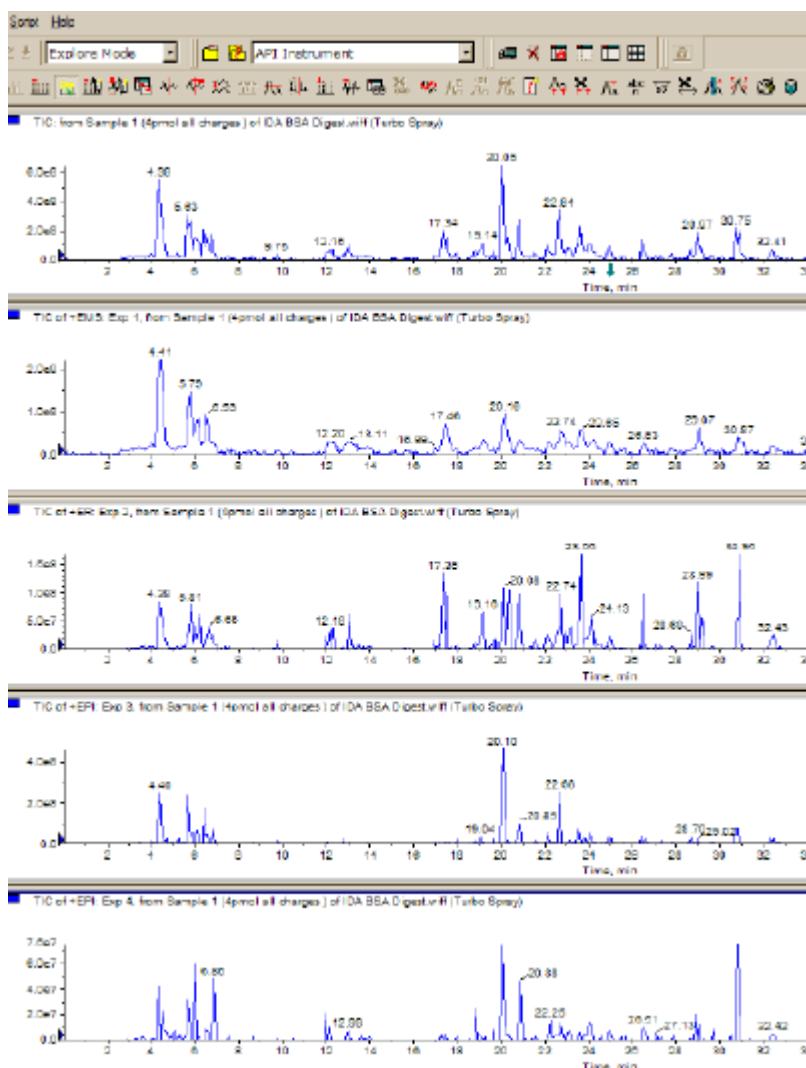


Figura 3-3: Scansioni TIC singole e aggiuntive



Informazioni sull'algoritmo Dynamic Background Subtraction

L'algoritmo Dynamic Background Subtraction (DBS) migliora il rilevamento degli ioni precursori in un esperimento IDA. Quando DBS viene attivato selezionando la casella di controllo **After Dynamic Background Subtraction of Survey scan** nella scheda IDA – First Level Criteria, IDA utilizza uno spettro che è stato sottratto in background per selezionare lo ione candidato di interesse per l'analisi MS/MS, anziché selezionare il precursore direttamente dallo spettro di indagine. Poiché questo processo si svolge durante l'analisi LC, DBS abilita il rilevamento di specie mano a mano che aumenta l'intensità del loro segnale, focalizzandosi così sul rilevamento e sull'analisi degli ioni precursori nella parte ascendente del picco LC, fino alla sommità dei picchi LC (intensità massima).

Quando si utilizza la DBS in un metodo IDA con l'algoritmo *Scheduled* MRM come scansioni di indagine, l'opzione DBS non è disponibile negli esperimenti *Scheduled* MRM ma viene utilizzata per azionare sia le transizioni secondarie che le scansioni dipendenti.

Informazioni sul tempo di riempimento dinamico

DFT (tempo di riempimento dinamico) è una funzione espressamente studiata per ottimizzare i dati ottenuti in ogni spettro per le funzioni LIT. DFT adatta automaticamente il tempo utilizzato per riempire LIT in base al flusso di ioni proveniente dalla sorgente.

Per ioni più intensi, il tempo di riempimento diminuisce automaticamente per fare in modo che LIT non sia eccessivamente riempito di ioni. Per ioni meno intensi, il tempo di riempimento aumenta automaticamente per fare in modo che si ottengano statistiche ioniche corrette nello spettro. DFT è applicabile per i seguenti tipi di scansioni:

- Enhanced MS (EMS)
- Enhanced Resolution (ER)
- Ione Prodotto migliorato (EPI)
- MS/MS/MS (MS³)

Gli utenti possono regolare le impostazioni DFT selezionando **Tools > Settings > Method Options** nel software Analyst MD.

Icone

Tabella 3-3: Icone Acquisition Method Editor









Icona	Nome	Descrizione
	Massa Spec	Fare clic per mostrare la scheda MS nell'Acquisition Method editor.
	Period	Fare clic con il tasto destro per aggiungere un esperimento, un IDA Criteria Level o cancellare il periodo.
	Autocampionatore	Fare clic per aprire la scheda Autosampler Properties.
	Pompa a siringa	Fare clic per aprire la scheda Syringe Pump Properties.
	Forno a colonna	Fare clic per aprire la scheda Column Oven Properties.
	Valvola	Fare clic per aprire la scheda Valve Properties.
	DAD	Fare clic per aprire il DAD Method Editor.

Tabella 3-3: Icone Acquisition Method Editor (continua)

Icona	Nome	Descrizione
	ADC	Fare clic per aprire la scheda ADC Properties.

Contatti

Formazione dei clienti

- In Nord America: NA.CustomerTraining@sciex.com
- In Europa: Europe.CustomerTraining@sciex.com
- Al di fuori dell'Unione Europea e del Nord America, visitare sciex.com/education per trovare le informazioni di contatto.

Centro di istruzione online

- [SCIEX Now Learning Hub](#)

Assistenza SCIEX

SCIEX e i suoi rappresentanti si affidano a uno staff di tecnici di manutenzione e assistenza formati e qualificati, presenti in tutto il mondo. Saranno felici di rispondere a domande sul sistema o su eventuali problemi tecnici che potrebbero sorgere. Per ulteriori informazioni, visitare il sito web SCIEX all'indirizzo sciex.com oppure è possibile contattarci in uno dei seguenti modi:

- sciex.com/contact-us
- sciex.com/request-support

Sicurezza informatica

Per le ultime indicazioni sulla sicurezza informatica per i prodotti SCIEX, visitare il sito sciex.com/productsecurity.

Documentazione

Questa versione sostituisce tutte le versioni precedenti del documento.

Per visualizzare il documento in formato elettronico, è necessario che sia installato Adobe Acrobat Reader. Per scaricare la versione più recente, visitare il sito Web <https://get.adobe.com/reader>.

Per reperire la documentazione del software del prodotto, fare riferimento alle note sulla versione o alla guida all'installazione del software fornita con il software.

Per reperire la documentazione del prodotto hardware, fare riferimento al DVD *Customer Reference* fornito con il sistema o il componente.

Nota: per richiedere una versione stampata gratuita del presente documento, contattare sciex.com/contact-us.
