

---

# Software Analyst MD

Guida per l'utente sugli script



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](https://www.sciex.com/diagnostics).

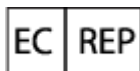
**Rx only.**

**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](https://www.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](https://www.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

---

<b>Capitolo 1: Premessa</b>	<b>5</b>
Destinatari	5
Assistenza tecnica	5
<b>Capitolo 2: Script</b>	<b>6</b>
Installazione o disinstallazione degli script	6
Installazione di uno script	6
Disinstallazione di uno script	6
Creazione di metodi di quantificazione e di file di testo	7
Utilizzo dello script Create Quan Methods From Text Files	7
Utilizzo dello script Create Text File from Quan Method	9
Formato file di testo	10
DFT Tracker	14
Script di ottimizzazione MRM3	15
Panoramica della finestra MRM3 Optimization	15
Ottimizzazione in corso	20
Ottimizzazione completata	22
Descrizione dettagliata della logica dello script: inizializzazione	24
Scansione Enhanced Resolution	24
Scansione Q1 Multiple Ion	24
Scansione Enhanced Product Ion	24
Scansione Multiple Reaction Monitoring	25
Scansione MS/MS/MS (MS3)	25
Generazione dei metodi finali	26
Script MSServiceLog	26
Installazione dello script	26
Utilizzo dello script	27
sMRM Calculator	28
Installazione dello script	29
Utilizzo dello script	29
<b>Contatti</b>	<b>34</b>
Formazione dei clienti	34
Centro di istruzione online	34
Assistenza SCIEX	34
Sicurezza informatica	34
Documentazione	34

## Destinatari

Questa guida è destinata ai clienti e ai responsabili dell'assistenza tecnica (FSE).

## Assistenza tecnica

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 all'indirizzo [sciex.com](https://sciex.com).

Questo documento illustra come installare e utilizzare gli script del software Analyst MD. Fornisce anche una panoramica sugli utilizzi di ciascun script e, se necessario, su come disinstallare uno script.

## Installazione o disinstallazione degli script

Quando viene installato il software Analyst MD è installato.

Gli script rimanenti sono disponibili nella cartella Scripts.

Per poter utilizzare gli script, è necessario installarli. Fare riferimento alla sezione: [Installazione di uno script](#).

### Installazione di uno script

1. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Andare alla cartella `<Drive>:\Program Files\Analyst\Scripts` sul computer.
  - Andare alla cartella `Extras\Scripts` nel DVD del software, se disponibile, o nel pacchetto estratto di download Web del software.
2. Aprire la cartella Scripts.
3. Eseguire una delle seguenti operazioni:
  - Per lo script sMRM Calculator, fare doppio clic su **sMRM Calculator Setup.exe**.
  - Per tutti gli altri script, fare doppio clic su **ScriptRunner.exe**.
4. Per installare gli script seguire le istruzioni visualizzate.  
Gli script installati sono disponibili dal menu **Script**.

### Disinstallazione di uno script

**Nota:** Non disinstallare gli script DFTTracker e MRM3 Optimization. Se questi script vengono rimossi, sarà necessario installare nuovamente il software Analyst MD per accedere a essi.

Per disinstallare lo script, procedere come segue:

- Per gli script Create Quan Methods From Text Files, Create Text File from Quant Method e MSServiceLog, andare alla cartella `<drive>:\Analyst Data\Projects\API Instrument\Processing Scripts` ed eliminare manualmente la DLL dello script.
- Per lo script sMRM Calculator, procedere come segue:
  - Nel sistema operativo Windows 7: fare clic su **Start > All Programs > Control Panel > Programs and Features**.

- Nel sistema operativo Windows 10: fare clic su **Start > Control Panel > Programs and Features**.
- Fare clic con il pulsante destro del mouse su **sMRM Calculator** quindi fare clic su **Uninstall**.
- Seguire le istruzioni sullo schermo.

## Creazione di metodi di quantificazione e di file di testo

Lo script Create Text File from Quan Method esporta un metodo di quantificazione in un file di testo delimitato da tabulazioni. Lo script Create Quan Method From Text Files importa le informazioni contenute in un file di testo delimitato da tabulazioni in un file del metodo di quantificazione (qmf). Attualmente il componente Build Quantitation Method del software Analyst MD non supporta questa funzionalità.

Lo script Create Text File from Quan Method crea una rappresentazione in file di testo di un file del metodo di quantificazione. Nel file di testo viene creata una colonna per ciascun campo richiesto se la casella di controllo **Export all columns** è selezionata. Se la casella di controllo non è stata selezionata, lo script genera il file di testo solo con le colonne per i campi in cui il valore del campo non è lo stesso per tutti i picchi.

Lo script Create Quan Method From Text Files specifica valori predefiniti per tutti i campi non richiesti nel file di testo, quali algoritmo di integrazione o parametri di regressione. Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla sezione: [Formato file di testo](#).

## Utilizzo dello script Create Quan Methods From Text Files

1. Fare clic su **Script > Create Quan Methods From Text Files**.

Figura 2-1: Finestra di dialogo Create Quantitation Methods from Text Files

**Create Quantitation Methods from Text Files**

**Default Generic Parameters**

Algorithm: **Analyst Classic (TurboChrom)**

Extraction Type: **MRM**      Period: **1**      Experiment: **1**

Expected RT: **0.1** min      RT Window: **30** sec      ☐ Use Relative RT

Bkg. Start (min): **0**      Bkg. End (min): **0**

Conc. Units:      Calc. Conc. Units:

**Default Analyst Classic (TurboChrom) Parameters**

Bunching Factor: **1**      Noise Threshold: **100**      Area Threshold: **200**

Num. Smooths: **0**      Separation Width: **0.2**      Separation Height: **0.01**

Exp. Peak Ratio: **5**      Exp. Adjusted Ratio: **4**      Exp. Valley Ratio: **3**

**Default General IntelliQuan Parameters**

Min. Peak Height: **0** cps

Min. Peak Width: **0** sec

Smoothing Width: **0** points

**Default IntelliQuan MQ III Parameters**

Noise Percent: **50** %

Base. Sub. Window: **1** min

Peak-Splitting Factor: **2**

☐ Report Largest Peak

**Regression Parameters**

Fit: **Linear**

Weighting: **None**

Parameter: **Area**

Iterate: **No**

**Default Window Summation Parameters**

☒ Use Baseline Subtraction

**Create One Method**      **Cancel**

**Create Multiple Methods**

2. Per creare un metodo di quantificazione utilizzare i parametri nella sezione **Default Generic Parameters**. I campi **Algorithm**, **Extraction Type**, **Period** ed **Experiment** non sono disponibili nel software Analyst MD. Impostare i seguenti parametri, come richiesto:

- Dall'elenco **Algorithm**, selezionare un algoritmo di rilevazione picchi. L'algoritmo Window Summation somma tutte le intensità nella soglia di ritenzione e non trova alcun picco.
- Dall'elenco **Extraction Type**, selezionare il tipo di dati che saranno integrati.
- Dagli elenchi **Period** ed **Experiment**, selezionare il numero di periodi e il numero di esperimenti.

I gruppi **Default Analyst Classic Parameters**, **Default General IntelliQuan Parameters**, **Default IntelliQuan MQ III Parameters** e **Default Window Summation Parameters** contengono i parametri utilizzati dall'algoritmo selezionato nel campo **Algorithm**.

3. Selezionare la casella di controllo **Use Baseline Subtraction** per fare in modo che l'algoritmo Window Summation sommi le intensità alla linea orizzontale all'intensità minima dei punti dati all'interno della finestra di somma, invece di sommare all'intensità zero.



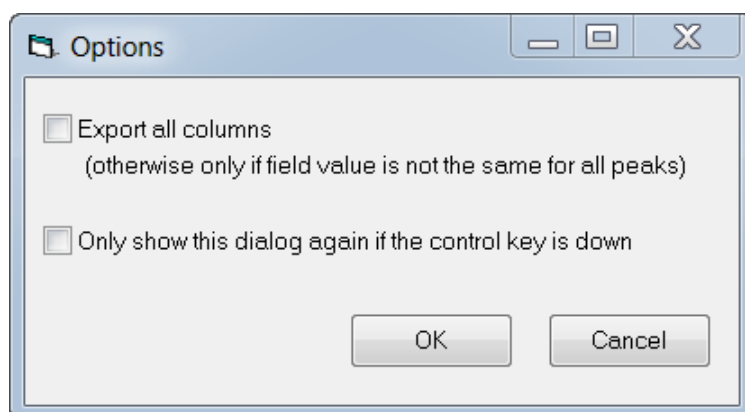
4. Nella sezione Regression Parameter, selezionare le informazioni sulla regressione. Le informazioni specificate qui si applicano a qualunque picco analita. Diversamente dai parametri precedenti, non è possibile indicare queste informazioni nei file di testo. Pertanto, gli stessi parametri di regressione si applicano a tutti gli analiti. Per una descrizione completa dei parametri, fare riferimento al documento: *Guida in linea*.
5. Per creare un metodo di quantificazione fare clic su **Create One Method**, spostarsi sul file di testo che sarà utilizzato per creare il metodo di quantificazione e fare clic su **Open**. Viene creato un file qmf del metodo di quantificazione con lo stesso nome del file txt creato se il file di testo è nel formato corretto e contiene le colonne richieste. Il metodo di quantificazione viene archiviato nella cartella `Quantitation Methods` sotto il progetto di lavoro corrente nel software Analyst MD, indipendentemente dalla posizione del file di testo.
6. Per creare più metodi da più file di testo, fare clic su **Create Multiple Methods**, spostarsi sulla cartella in cui si trovano i file di testo, quindi fare clic su **OK**.

Per ogni singolo file della cartella viene creato un file qmf del metodo di quantificazione con lo stesso nome file del file txt, a condizione che siano nel formato corretto e che contengano le colonne necessarie. I metodi di quantificazione vengono archiviati nella cartella `Quantitation Methods` sotto il progetto di lavoro corrente nel software Analyst MD, indipendentemente dalla posizione dei file di testo.

## Utilizzo dello script Create Text File from Quan Method

1. Creare e salvare un metodo di quantificazione nel software Analyst MD.
2. Fare clic su **Script > Create Text File from Quan Method**.

**Figura 2-2: Finestra di dialogo Options**



3. Selezionare la casella di controllo **Export all columns** e quindi fare clic su **OK**.
4. Spostarsi sul file del metodo di quantificazione (qmf) e selezionarlo.
5. Spostarsi sulla posizione del file di testo e selezionarlo. Lo script genera il file di testo con tutte le colonne. Se la casella di controllo **Export all columns** non è stata selezionata al passaggio 3, lo script genera solo il file di testo con le colonne per i campi in cui il valore del campo non è lo stesso per tutti i picchi.

## Formato file di testo

I file di testo utilizzati per creare i metodi di quantificazione (Create Quan Methods from Text Files) e generati dai metodi (Create Text File from Quan Method) hanno il seguente formato:

- Separazione dei vari campi con caratteri di tabulazione e termine di ciascuna linea con un ritorno a capo o un carattere di interlinea.
- La prima riga del file deve contenere le intestazioni delle colonne. Devono essere presenti tutte le colonne mostrate nella tabella seguente, contrassegnate come Required. Le colonne rimanenti sono opzionali. L'ordine corrente delle colonne non è importante.
- Ciascuna linea successiva deve contenere l'informazione come mostrato nella tabella sia per l'analita che per il picco dello standard interno.

**Tabella 2-1: Formati dei file di testo**

Nome della colonna	Richiesto	Descrizione
Peak Name	Sì	Il nome dell'analita o del picco dello standard interno.
First Mass	Sì	Per i dati MRM, la massa Q1 per il picco. Per i dati a scansione completa, la massa di avvio da integrare per lo XIC. Per i dati Q1 MI o Q3 MI, la massa.
Second Mass	Forse	Questo campo è necessario per integrare i dati a scansione piena o i dati MRM, ma non per i dati Q1 MI o Q3 MI. Per i dati MRM, è la massa Q3 per il picco. Per i dati a scansione completa, la massa finale da integrare per lo XIC.
Extraction Type	No	Il tipo di dati da integrare. Se presente, deve essere uno tra: 0 - dati MRM 1 - dati Q1 MI o Q3 MI 2 - dati a scansione piena
Is IS	No	Specifica se il picco corrente è uno standard interno o un analita. TRUE se il picco è uno standard interno. In caso contrario, FALSE. Se questa colonna non è presente, si presume che tutti i picchi definiti siano analiti. <b>Nota:</b> i picchi dello standard interno devono essere inizialmente definiti nel file di testo prima dei picchi dell'analita che utilizzano quell'IS.

Tabella 2-1: Formati dei file di testo (continua)

Nome della colonna	Richiesto	Descrizione
IS Name	No	Per i picchi dell'analita, specificare il nome del corrispondente standard interno (se presente). Se un certo analita non utilizza uno standard interno, lasciare vuoto il contenuto di questo campo. Per i picchi stessi dello standard interno, il contenuto di questo campo viene ignorato.
Period	No	Il numero di periodi per il picco (da 1 al numero di periodi nei dati).
Esperimento	No	Il numero di esperimenti per il picco (da 1 al numero massimo di esperimenti nel periodo).
Usa RT relativo	No	Per i picchi degli analiti che utilizzano uno standard interno, specificare se il tempo di ritenzione previsto è relativo a quello dell'IS. In questo caso, TRUE. In caso contrario, FALSE. Il contenuto di questo campo viene ignorato per gli altri picchi, ma deve comunque contenere TRUE o FALSE.
Conc Units	No	Le unità di concentrazione.
Calc Conc Units	No	Le unità di concentrazione calcolate.
Inizio fondo	No	Tempo di avvio in minuti per il fondo del picco. Questo parametro non influisce in alcun modo sull'integrazione del picco. Tuttavia, influisce su come viene calcolato il rumore e di conseguenza S/N.
Bkg End	No	Tempo finale in minuti per il fondo del picco.
Expected RT	No	Tempo di ritenzione previsto in minuti, da 0 a 1.666.
RT Window	No	Finestra del tempo di ritenzione in secondi da 1 a 1.000.
Algorithm	No	Specifica quale algoritmo di rilevazione picchi e integrazione deve essere utilizzato. Se presente, deve essere uno tra: 0 - Analyst Classic (TurboChrom) 1 - IntelliQuan - IQA II (Automatic) 2 - IntelliQuan - MQ III 3 - Window Summation
Bunching Factor	No	(Algoritmo TurboChrom) Fattore di raggruppamento per il picco da 1 a 100.

Tabella 2-1: Formati dei file di testo (continua)

Nome della colonna	Richiesto	Descrizione
Num Smooths	No	(Algoritmo TurboChrom) Numero di smoothing, da 0 a 10.
Noise Threshold	No	(Algoritmo TurboChrom) Soglia di rumore, da 1-6 a 19.
Area Threshold	No	(Algoritmo TurboChrom) Soglia area, da 1-6 a 112.
Separation Width	No	(Algoritmo TurboChrom) Larghezza di separazione, da 0 a 5.
Separation Height	No	(Algoritmo TurboChrom) Altezza di separazione, da 0 a 1.
Exp Peak Ratio	No	(Algoritmo TurboChrom) Rapporto picco esponenziale, da 1 a 16.
Exp Adjusted Ratio	No	(Algoritmo TurboChrom) Rapporto rettificato esponenziale, da 2 a 16.
Exp Valley Ratio	No	(Algoritmo TurboChrom) Rapporto valle esponenziale, da 1 a 16.
Min Height	No	Altezza del picco minima consentita, da 0 a 116, in caso di uso dell'algoritmo IntelliQuan.
Min Width	No	(Algoritmo IntelliQuan) Larghezza del picco minima consentita, da 0 a 116 in secondi.
Smooth Width	No	(Algoritmo IntelliQuan) Metà larghezza del filtro di smoothing Savitzky-Golay, da 0 a 20.
MQ III Noise Percent	No	(Algoritmo IntelliQuan) Percentuale di rumore in caso di uso dell'opzione MQ III. Deve essere un numero intero da 0 a 100.
MQ III Baseline Sub Window	No	(Algoritmo IntelliQuan) Finestra di sottrazione della linea di base, da 0 a 10 minuti, in caso di uso dell'opzione MQ III.
MQ III Peak Splitting Factor	No	(Algoritmo IntelliQuan) Fattore di divisione picchi, da 0 a 10, in caso di uso dell'opzione MQ III.
MQ III Use Largest	No	(Algoritmo IntelliQuan) Specifica se viene indicato il picco più grande all'interno della finestra del tempo di ritenzione o il picco il cui tempo di ritenzione è più vicino a quello previsto, in caso di uso dell'opzione MQ III. TRUE per utilizzare il picco più grande e FALSE per utilizzare il picco più vicino a quello previsto.

**Tabella 2-1: Formati dei file di testo (continua)**

Nome della colonna	Richiesto	Descrizione
Summation Baseline Sub	No	(Algoritmo Window Summation speciale) Specifica se l'area deve essere integrata alla linea intensità=0 o al valore di intensità del punto dati meno intenso all'interno della finestra. TRUE se l'area deve essere integrata al valore di intensità del punto dati meno intenso, oppure, FALSE se l'area deve essere integrata alla linea intensità=0.

La tabella seguente mostra un esempio di file di testo per dati a scansione piena. Il file di testo contiene tabulazioni tra le colonne e un ritorno a capo al termine di ciascuna linea.

**Tabella 2-2: Esempio di file di testo per dati a scansione piena**

Nome picco	Prima massa	Seconda massa	Fattore di raggruppamento
Analyte Peak 1	500,1	500,7	1
Analyte Peak 2	812	813	2
Analyte Peak 3	400	401	3

La tabella seguente mostra un altro esempio per i dati MRM. Analyte Peak 1 è configurato per utilizzare lo standard interno specificato, mentre Analyte Peak 2 non utilizza uno standard interno.

**Tabella 2-3: Esempio di file di testo per dati MRM**

Nome picco	Is IS	Nome IS	Prima massa	Seconda massa
IS Peak 1	TRUE	—	500,1	413,2
Analyte Peak 1	FALSE	IS Peak 1	600,2	382,1
Analyte Peak 2	FALSE	IS Peak 1	400	312,1

La tabella seguente contiene un mix di dati a scansione piena e MRM in esperimenti differenti:

**Tabella 2-4: Esempio di file di testo per dati MRM**

Nome picco	Tipo di estrazione	Esperimento	Prima massa	Seconda massa
Analyte Peak 1	0	1	500,1	413,2
Analyte Peak 2	0	1	600,2	382,1
Analyte Peak 3	2	2	812	813

## Script

---

**Tabella 2-4: Esempio di file di testo per dati MRM (continua)**

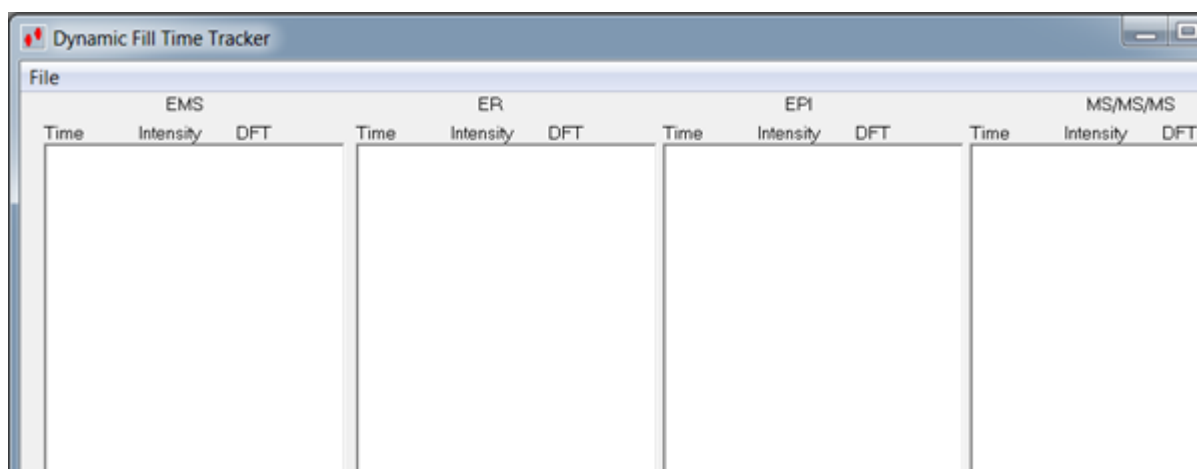
Nome picco	Tipo di estrazione	Esperimento	Prima massa	Seconda massa
Analyte Peak 4	2	2	400	401

## DFT Tracker

Lo script Dynamic Fill Time (DFT) Tracker rileva le impostazioni DFT utilizzate durante le scansioni del sistema di massa QTRAP. Utilizzare lo script per determinare il tempo di riempimento ottimale per la modalità LIT (linear ion trap) ed ottenere dati di alta qualità su un ampio range dinamico. Il DFT Tracker sorveglia i seguenti tipi di scansioni LIT: Enhanced MS (EMS), Enhanced Resolution (ER), Enhanced Product Ion (EPI) e MS/MS/MS (MS3).

- Fare clic su **Script > DFTTracker**.

**Figura 2-3: Finestra di dialogo Dynamic Fill Time Tracker**



DFT Tracker monitora le variazioni dinamiche del tempo di riempimento che si verificano durante un ciclo in tempo reale.

Il sistema calcola dinamicamente il tempo necessario per riempire il LIT. Per i composti abbondanti, un breve tempo di riempimento riduce gli effetti di carica spaziale, limitando il numero di ioni nel LIT. Un tempo di riempimento più lungo aumenta i segnali deboli, consentendo l'accumulo degli ioni.

- Per salvare il tempo di riempimento tracciato fare clic su **File > Save**.
- Per cancellare il tempo di riempimento tracciato fare clic su **File > Clear**.
- Fare clic su **File > Always On Top** per mantenere la finestra Dynamic Fill Time Tracker sopra a tutte le altre finestre o applicazioni aperte.
- Fare clic su **File > Exit** per uscire dallo script DFT Tracker.

## Script di ottimizzazione MRM3

Utilizzare questo script per l'analisi di quantificazione sui sistemi QTRAP per garantire una maggiore specificità e, di conseguenza, un migliore rilevamento durante la quantificazione di analiti in matrici complesse. Questo script è studiato per generare un metodo di acquisizione MS3 ottimale mediante infusione. Lo script esegue le seguenti fasi di ottimizzazione:

- Confermare la massa precursore
- Ottimizzare la trasmissione alla cella di collisione
- Stabilire i principali ioni frammentati
- Ottimizzare la Collision Engery (CE) per ogni ione frammentato
- Eseguire scansioni MS3 su ciascun ione frammentato
- Ottimizzare l'Excitation Energy (AF2) per tutte le scansioni MS3
- Generare un report
- Salvare tutti i dati e i metodi di acquisizione

Lo script può essere utilizzato anche nelle applicazioni qualitative per generare raccolte di spettri MS/MS e MS3 dei composti in maniera semiautomatica (cioè, un composto alla volta).

## Panoramica della finestra MRM3 Optimization

Utilizzare i comandi della finestra MRM3 Optimization per spostarsi. La finestra mostra anche i risultati di ottimizzazione mano a mano che vengono generati. Segue una panoramica delle varie sezioni di questa finestra.

**Tabella 2-5: Finestra MRM3 Optimization**

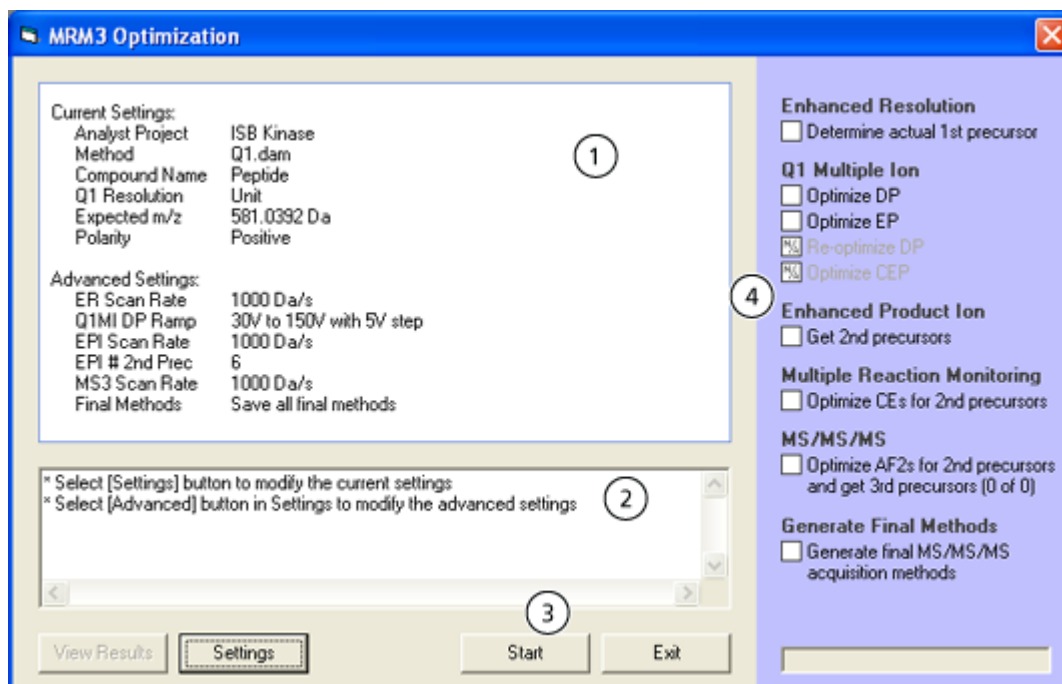
Campo	Descrizione
<b>Status Window</b>	Quando lo script viene avviato per la prima volta, questa finestra mostra le impostazioni correnti che saranno utilizzate per l'ottimizzazione. Una volta avviata l'ottimizzazione, le informazioni spettrali compaiono in questa finestra.
<b>Log File</b>	Mostra i risultati ottenuti durante l'ottimizzazione, in formato testo. Ogni voce trovata in questa sezione viene aggiunta anche al file Log.txt creato.
<b>Overall Progress</b>	Mostra l'avanzamento generale dell'ottimizzazione.
<b>Main Controls</b>	Contiene tutte le principali funzioni associate all'impostazione e all'esecuzione del processo di ottimizzazione.

- Fare clic su **View Results**, per aprire e revisionare il file utilizzando Microsoft Notepad. Al termine dell'ottimizzazione, un file Results.txt viene automaticamente creato e salvato.
- Fare clic su **Settings** per aprire una finestra nella quale immettere le informazioni sui composti necessarie per il processo di ottimizzazione.

## Script

- Fare clic su **Start** per avviare il processo di ottimizzazione. Durante l'ottimizzazione, questo pulsante viene rinominato **Abort** e può essere utilizzato per arrestare il processo di ottimizzazione.

Figura 2-4: Finestra MRM3 Optimization



Elemento	Descrizione
1	Riquadro di stato
2	File log
3	Comandi principali
4	Avanzamento generale

## Impostazione delle preferenze

La finestra di dialogo Settings si apre automaticamente ogni volta che viene lanciato lo script.

- Fare clic su **Browse** per andare al metodo di acquisizione starter. Questo metodo contiene le condizioni sorgente da utilizzare per l'ottimizzazione.
- Nel campo **Compound Name**, immettere un nome descrittivo del composto. Questo nome è utilizzato come prefisso per tutti i metodi di acquisizione e i file di dati generati.
- Nel campo **Expected m/z (amu)**, immettere il rapporto massa/carica ( $m/z$ ) previsto per il composto. Se i valori  $m/z$  del composto non sono noti, fare clic su **Calculate from chemical formula** per calcolarli dalla formula chimica del composto. Fare riferimento alla sezione: [Calcolo del rapporto m/z](#).
- Nel campo **Q1 Resolution**, selezionare una Q1 Resolution da utilizzare per MS/MS e MS3.

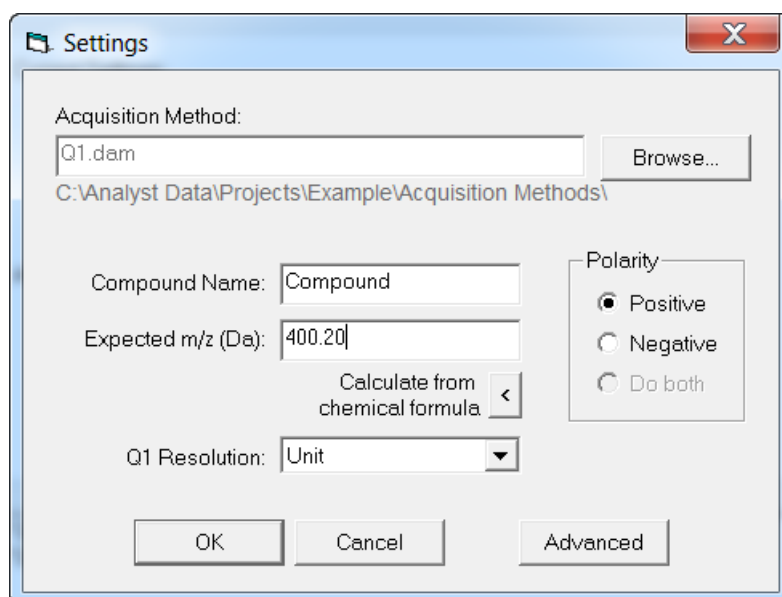


5. Nel gruppo **Polarity**, fare clic su una polarità, che può differire dal metodo starter. L'opzione **Do both** non è attualmente supportata.
6. Per modificare alcune delle impostazioni utilizzate dal processo di ottimizzazione, fare clic su **Advanced**. Fare riferimento alla sezione: [Finestra di dialogo Use the Advanced Settings](#).
7. Per verificare e utilizzare le impostazioni aggiornate, fare clic su **OK**.

## Utilizzo dello script

1. Costruire un metodo di acquisizione starter, se non ne esiste già uno. Il metodo starter deve essere un metodo di acquisizione Q1 creato in Manual Tune e deve contenere le condizioni sorgente necessarie per il processo di sintonizzazione, poiché queste non sono ottimizzate dallo script.
2. Salvare il metodo nella cartella `Acquisition Methods` del progetto richiesto, in cui saranno salvati tutti i file generati.
3. Fare clic su **Script > MRM3 Optimization**.

**Figura 2-5: Finestra di dialogo Settings**



4. Immettere le informazioni dei composti necessarie per il processo di ottimizzazione e fare clic su **OK** nella finestra di dialogo Settings.
5. Per avviare il processo di ottimizzazione, fare clic su **Start** nella finestra MRM3 Optimization.

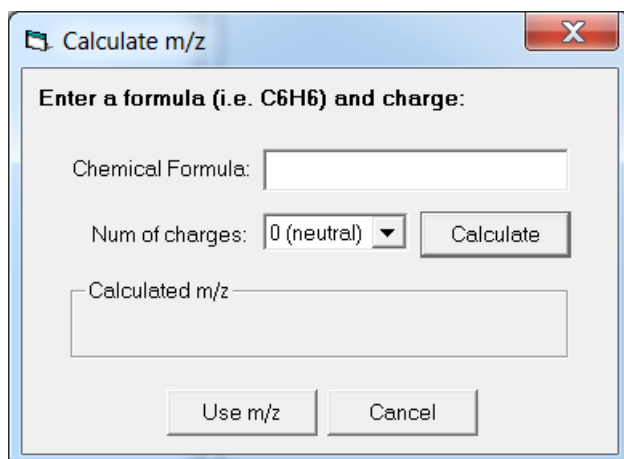
## Calcolo del rapporto $m/z$

Il calcolatore  $m/z$  è accessibile tramite la finestra di dialogo Settings.

1. Nella finestra MRM3 Optimization, fare clic su **Settings**. Si apre la finestra di dialogo Settings.

2. Fare clic su **Calculate from chemical formula**.

**Figura 2-6: Finestra di dialogo Calculate m/z**



3. Nel campo **Chemical Formula**, immettere la formula chimica del composto. Utilizzare lettere maiuscole per gli elementi. Anche la formula chimica dei peptidi viene immessa in questa finestra di dialogo.
4. Nel campo **Num of charges**, fare clic sul numero di cariche.
5. Per calcolare il rapporto  $m/z$  in base alla formula chimica e alla carica immesse, fare clic su **Calculate**.
6. Per chiudere il calcolatore e aggiornare il campo **Expected  $m/z$  (amu)** nella finestra di dialogo Settings con il rapporto  $m/z$  calcolato, fare clic su **Use  $m/z$** .

### Finestra di dialogo Use the Advanced Settings

In questa finestra di dialogo, è riportata una descrizione per ciascuna fase di ottimizzazione. Alcune delle impostazioni possono essere modificate per personalizzare l'ottimizzazione.

1. Nella finestra MRM3 Optimization, fare clic su **Settings**.  
Si apre la finestra di dialogo Settings.
2. Fare clic su **Advanced**.

Figura 2-7: Finestra di dialogo Advanced Settings

**Advanced Settings**

**Enhanced Resolution**  
Finds the most intense peak within a 2 Da window of expected 1st precursor molecular weight. Mass range window defaulted to 30 Da around expected mass to charge ratio.

Scan Rate: 1000 (Da/s)  
Cycles: 20

**Q1 Multiple Ion**  
Optimizes DP and EP. DP re-optimized if  $-10 < EP < 10$ . CEP is optimized only when applicable. Smooths TIC 2 times and finds voltage yielding greatest ion count.

Start Stop Step  
DP Ramp: 30 150 5 (0-200V)  
Dwell Time: 100 (ms)

**Enhanced Product Ion**  
Finds the most intense 2nd precursor peaks, excluding any peaks within a 5 Da window of 1st precursor.

Scan Rate: 1000 (U/s)  
2nd Precursors: 6 (1-10)  
Mass range: 300 to 1000  
CE: 30 CES: 10  
Cycles: 3

**Multiple Reaction Monitoring**  
Optimizes CE values for the most intense 2nd precursor peaks by cycling through each XIC overlay. XIC graph smoothed 2 times and voltage yielding greatest ion count is determined. (CE is ramped for its entire range with a 2V step size)

Dwell Time: 50 (ms)

**MS/MS/MS**  
XIC graph smoothed 2 times. Finds 2 most intense 3rd precursors at 5% max intensity. Exclude peaks within 2 Da window of 2nd precursor (parent must be  $< 10\%$  total ion count). (AF2 is ramped for optimal sensitivity.)

Scan Rate: 1000 (Da/s)  
☒ Use Q0 Trapping  
Fixed Fill Time: 50 (ms)  
Mass range: 100 to 1000

**Generate Final Methods**  
Creates final MS/MS/MS methods with mass range of 50 Da to 2nd precursor + 0.8 Da for each top 2nd precursor. Creates optimal MS/MS/MS method with 20 Da mass range window around most intense 3rd precursor.

☒ Save All Final Methods  
☐ Save Optimal Method Only

OK Cancel

- Nei campi **Scan Rate** nei gruppi Enhanced Resolution, Enhanced Product Ion ed MS/MS/MS, selezionare una velocità di scansione per **ER**, **EPI** e **MS3**.
- Nel gruppo **Q1 Multiple Ion**, nei campi **DP Ramp** immettere il range DP per l'ottimizzazione. L'intervallo è espresso in valori assoluti e la polarità appropriata viene applicata automaticamente in base alla selezione effettuata nella finestra di dialogo Settings.
- Nel gruppo **Enhanced Product Ion**, eseguire le seguenti operazioni:
  - Nel campo **2nd Precursors**, immettere il numero massimo di secondi precursori (ioni frammentati) utilizzati per l'ottimizzazione MS3. Immettere un numero compreso tra 1 e 10.
  - Nel campo **Mass range**, immettere un range di massa per i secondi precursori, che sarà selezionato per l'ottimizzazione MS3.
  - Nel campo **CE**, immettere un valore di energia di collisione e, nel campo **CES**, immettere un valore di espansione dell'energia di collisione che produca un buon spettro MS/MS dal quale potranno essere selezionati gli ioni frammentati.
- Per generare tutti i metodi MS3 finali per ogni secondo precursore e il metodo MS3 ottimale per l'analisi di quantificazione, nel gruppo **Generate Final Methods**, fare clic su **Save All Final Methods**. Fare clic su **Save Optimal Method Only** per salvare solo il metodo MS3 ottimale (il più sensibile per la quantificazione).
- Fare clic su **OK** per accettare le impostazioni avanzate aggiornate.

## Ottimizzazione in corso

Quando viene avviata l'ottimizzazione, Manual Tune nel software Analyst MD si arresta automaticamente. Mentre è in corso lo script, è possibile utilizzare tutte le funzioni del software. Un file Log.txt viene aggiornato mano a mano che ogni parte della procedura di ottimizzazione viene completata. Per arrestare lo script in qualsiasi momento, fare clic su **Abort**. Fare riferimento alle figure seguenti per esempi dello script. Nella sezione Overall Progress, le immagini e i font dei testi della Checklist rappresentano i vari stati descritti nella sezione seguente.

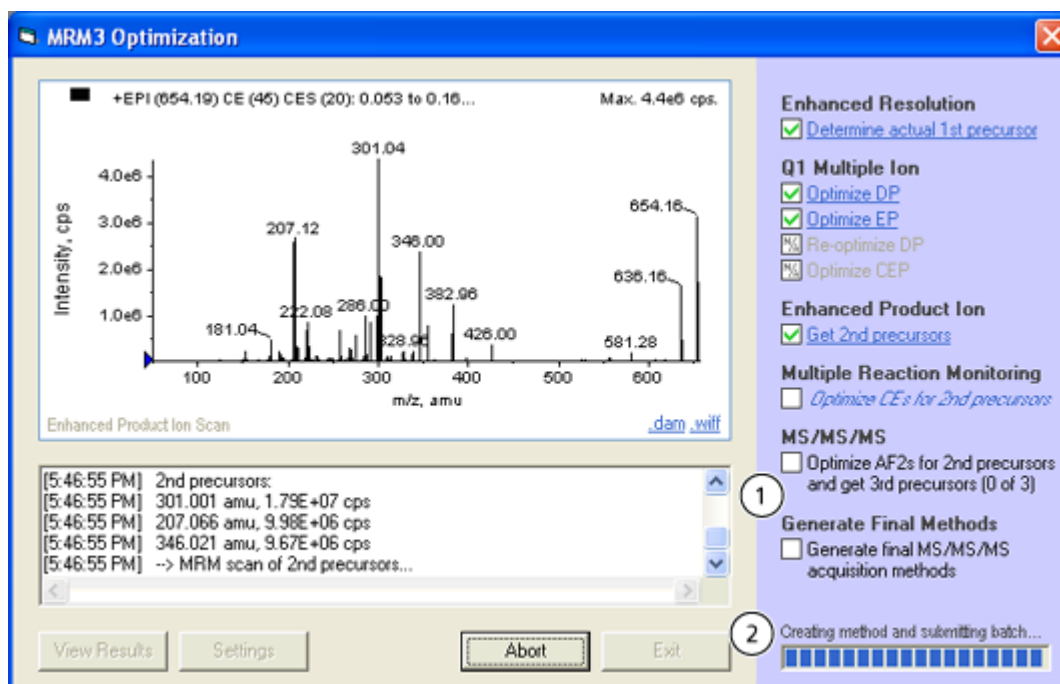
**Figura 2-8: Esempi di stato**

- ❑ ① Task not performed yet – text is black
- ② *Task in progress* – text is blue and italic
- Ⓜ ③ Task will not be performed – text is grey
- ✅ ④ Task completed (hyperlink) – text is blue and underlined
- ⑤ Task completed (no link) – text is blue
- ⑥ *Part of task completed (hyperlink)* – text is blue, underlined, and italic

Elemento	Descrizione
1	Attività non ancora eseguite: testo nero
2	Attività in corso: testo blu e in corsivo
3	Attività che non verrà eseguita: testo blu e sottolineato
4	Attività completata (collegamento ipertestuale): testo blu e sottolineato
5	Attività completata (senza collegamento): testo blu
6	Parte dell'attività completata (collegamento ipertestuale): testo blu, sottolineato e in corsivo

Quando il testo è sottolineato, fare clic su di esso come su un collegamento ipertestuale di una pagina Web per visualizzare lo spettro o il cromatogramma corrispondente. Il testo sotto MS/MS/MS mostra anche il numero della scansione MS3 in corso, poiché è possibile avere da 1 a 10 scansioni. La sezione Overall Progress include anche un'area Message. In quest'area, una barra di progressione mostra lo stato d'avanzamento della fase corrente. Sopra la barra di progressione compaiono vari messaggi, come il tempo e altri stati per la fase di ottimizzazione corrente.

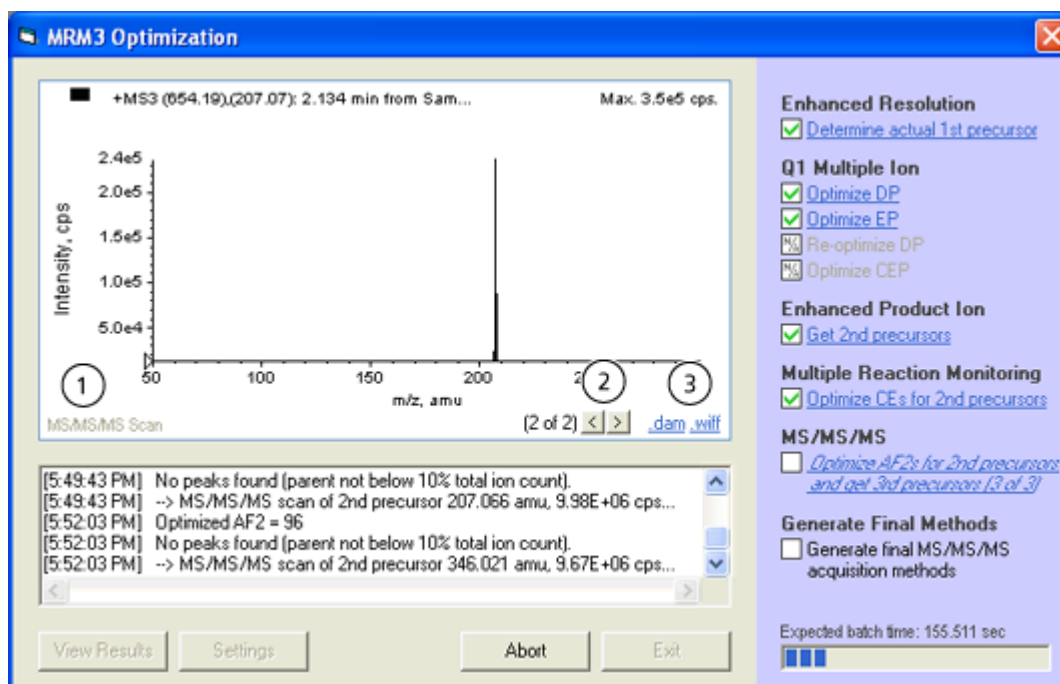
Figura 2-9: Finestra MRM3 Optimization dopo la scansione EPI



Elemento	Descrizione
1	Lista di controllo
2	Messaggio

Nella finestra dello stato spettrale, è visualizzato lo spettro o il cromatogramma precedentemente generato. Quando uno degli elementi della checklist viene selezionato, compare il grafico corrispondente. Il nome del tipo di scansione indica quale scansione è visualizzata al momento. Per ogni fase completata, è possibile aprire il metodo di acquisizione (dam) o il file di dati (wiff) associati al grafico visualizzato. Se compare una scansione MS/MS/MS, utilizzare i pulsanti per commutare tra le varie scansioni MS3.

Figura 2-10: Finestra MRM3 Optimization durante una scansione MS3



Elemento	Descrizione
1	Tipo di scansione
2	Pulsanti per commutare tra diverse scansioni MS3
3	Link

## Ottimizzazione completata

Quando l'ottimizzazione quantitativa per MS3 è completata o arrestata, viene generato un file Results.txt. Questo file è automaticamente aperto in Microsoft Notepad. Fare clic su **View Results** nella finestra MRM3 Optimization per visualizzare il file. Le varie parti del file Results.txt sono descritte di seguito.

- **Time and Duration:** visualizza la data e la durata dell'ottimizzazione.
- **User Starting Conditions:** visualizza le impostazioni e le Advanced Settings in questa sezione.
- **Optimization Conditions Found:** visualizza le condizioni ottimali rilevate durante le scansioni ER e Q1MI.
- **MS3 Fragments Found and Associated Losses:** visualizza i frammenti e le condizioni ottimali (energia di collisione ed energia di eccitazione), nonché le relative perdite riscontrate per le scansioni EPI e MS3.

Figura 2-11: Report di ottimizzazione

```

Results.txt - Notepad
File Edit Format View Help
Quantitative Optimization for MS3
Thursday, July 15, 2004 (Start 10:12:49 AM, End 10:24:37 AM) 1

Starting Parameters
=====
Analyst Project: Opt MS3
Starting Method: Starter Method.dam
Compound Name: Reserpine
Resolution: Unit
Expected m/z: 609.281 amu 2
Polarity: Positive

ER Scan Rate: 250 amu/s
Q1MI DP Ramp: 0V to 200V with 5V step
EPI Scan Rate: 1000 amu/s
EPI # 2nd Prec: 5
MS3 Scan Rate: 1000 amu/s
Final Methods: Save all final methods

Optimization Results
===== 3
Actual m/z: 609.172 amu, 7.23E+07 cps
Optimized DP: 90 (30 initial value)
Optimized EP: 10 (10 initial value)
Optimized CEP: 24 (24.774 initial value)

[MS/MS Fragment 1] 195.117 amu (Loss of 414), 9.98E+06 cps 4
Optimized CE: 47 (10 initial value)
Optimized AF2: 70 (100 initial value)

MS3 Peak  Centroid Mass(amu)  2nd Loss  Centroid Intensity(cps)
-----
1          167.04             28       5.00E+04
2          152.82             42       1.67E+04

Final MS3 Method: Reserpine_FinalMS3_195.117.dam

[MS/MS Fragment 2] 174.149 amu (Loss of 435), 8.60E+06 cps
Optimized CE: 55 (10 initial value)
Optimized AF2: 70 (100 initial value)

MS3 Peak  Centroid Mass(amu)  2nd Loss  Centroid Intensity(cps)
-----
1          159.05             15       1.00E+05
2          142.209            32       5.00E+04

Final MS3 Method: Reserpine_FinalMS3_174.149.dam

```

Elemento	Descrizione
1	Tempo e durata
2	Condizioni iniziali utente
3	Condizioni di ottimizzazione rilevate
4	Frammenti MS3 rilevati e relative perdite

Tutti i metodi di acquisizione generati hanno un nome file descrittivo in formato [nome composto fornito] + [tipo scansione] + [ $m/z$ ] + dam. Questi metodi sono salvati nella stessa cartella del metodo di acquisizione starter.

Tutti i file di dati, Log.txt e Results.txt sono salvati in una sottocartella Data che viene creata nello stesso progetto del metodo di acquisizione starter. La sottocartella è in formato [nome composto fornito] + OptMS3 + ([data], [ora]). I file di dati sono in formato [nome composto fornito] + [tipo scansione] + [m/z] + wiff.

## Descrizione dettagliata della logica dello script: inizializzazione

Questa sezione descrive ciascuna delle fasi del processo di ottimizzazione. Tutte le scansioni sono eseguite con il numero di scansioni da sommare impostato su 3.

Prima di eseguire le scansioni di ottimizzazione, lo script MRM3 Optimization effettua i seguenti passaggi di inizializzazione. Se si verifica un errore durante queste fasi, lo script arresta il processo di ottimizzazione.

1. Verificare che il software Analyst MD sia in esecuzione.
2. Caricare il metodo di acquisizione iniziatore per determinare se è valido e verificare il tipo di dispositivo.
3. Creare una nuova sottocartella `Data` per archiviare i file wiff.
4. Creare il file Log.txt

## Scansione Enhanced Resolution

Questa fase conferma la massa dello ione utilizzato per l'ottimizzazione. La scansione ER viene eseguita per 20 cicli alla velocità specificata. Il picco più intenso entro  $\pm 1$  amu rispetto al valore  $m/z$  del primo precursore previsto viene quindi selezionato. Analogamente al software Analyst MD, questa scansione viene eseguita con un range di massa di 30 amu rispetto al valore  $m/z$  specificato. Per moltiplicare le specie di cariche, lo ione C12 viene determinato in questa fase.

## Scansione Q1 Multiple Ion

Questa fase ottimizza la trasmissione dello ione di interesse fino alla cella di collisione. Ciò avviene con l'ausilio di una scansione Q1 MI. Lo script ottimizza innanzitutto il parametro DP eseguendo la scansione in base alla rampa DP specificata. Ottimizzare il parametro EP tramite una rampa da 1 V a 12 V (da  $-12$  V a  $-1$  V per la modalità negativa), con step di 0,5 V. Se l'EP ottimale è minore di 10 V (maggiore di  $-10$  V per la modalità negativa), il DP viene nuovamente ottimizzato. Anche il parametro CEP viene ottimizzato tramite una rampa da 0 V a 100 V (da  $-100$  V a 0 V per la modalità negativa) con step di 2 V. Nel determinare la tensione ottimale, i grafici sono smussati due volte e viene utilizzata la tensione che offre il massimo conteggio degli ioni. Il tempo di attesa per ogni scansione è impostato su 100 ms.

## Scansione Enhanced Product Ion

Questa fase seleziona gli ioni frammentati che saranno utilizzati per l'ottimizzazione MS3. Ciò avviene utilizzando una scansione EPI per tre cicli alla velocità selezionata. Specificare una CE ottimale per il composto da analizzare. Se la CE ottimale non è nota, specificare un valore CES, affinché venga utilizzato un range di impostazioni CE. Vengono quindi rilevati i picchi più intensi dei secondi precursori, escludendo i picchi entro una finestra di  $\pm 2,5$  amu



rispetto al primo precursore. Il numero di secondi precursori da utilizzare viene selezionato in Advanced Settings. Il range di massa dal quale sono selezionati i secondi precursori è specificato dall'utente.

## Scansione Multiple Reaction Monitoring

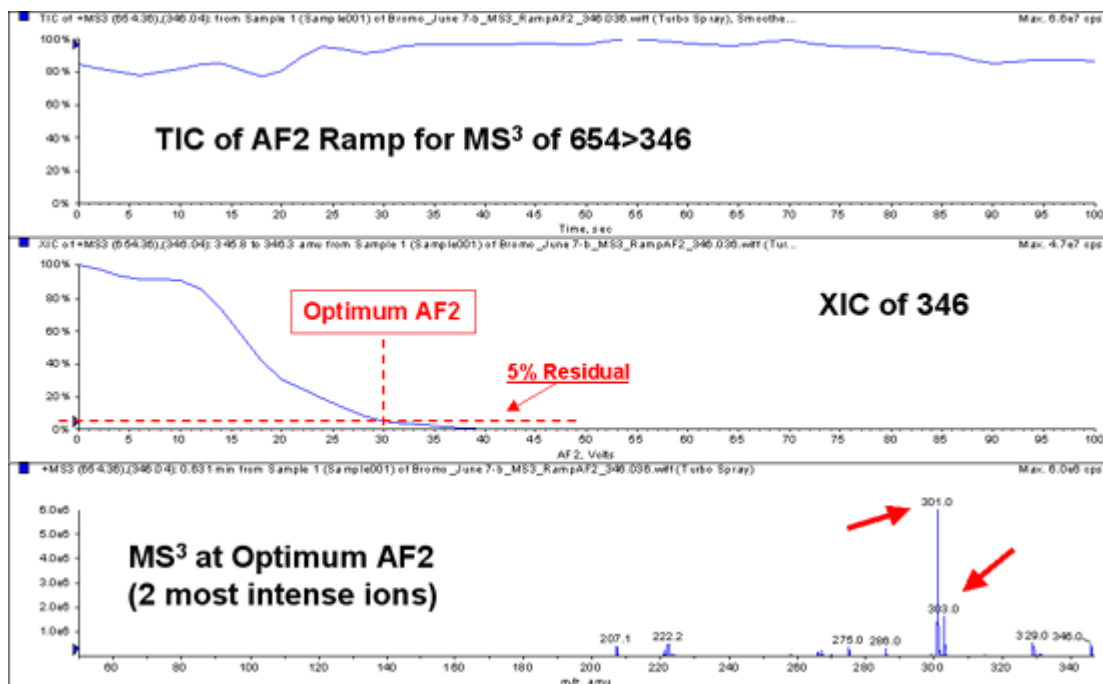
Questa fase ottimizza l'energia di collisione per ogni ione frammentato selezionato dalla scansione EPI. Essa avviene con l'ausilio di scansioni MRM. Utilizzare rampe CE comprese tra 5 e 130 V (da -130 a -5 V in modalità negativa) con step di 2 V e tempo di sosta di 50 ms. Ogni grafico sovrapposto viene poi smussato due volte e le tensioni che danno il massimo conteggio di ioni sono utilizzate come valori CE ottimali.

## Scansione MS/MS/MS (MS3)

Lo script esegue una scansione MS/MS/MS (MS3) per ciascun secondo precursore selezionato in base alla velocità di scansione specificata e con una rampa AF2 compresa tra 0 e 100 V con step di 2 mV per entrambe le polarità. Il tempo di riempimento della scansione è impostato e, se necessario, Q0trapping può essere inserito per ottenere la massima sensibilità. Il limite inferiore del range di massa per la scansione MS/MS/MS (MS3) può essere specificato, mentre il limite superiore è il secondo precursore +5 amu.

I grafici generati sono smussati due volte e l'AF2 ottimale, come illustrato nella figura seguente, si ottiene quando l'intensità residua del secondo precursore (basato su XIC) è pari al 5% della sua intensità massima. Lo spettro corrispondente a questo valore AF2 viene poi utilizzato per trovare i due più intensi ioni frammentati di seconda generazione, escludendo i picchi entro  $\pm 1$  amu del secondo precursore. Se il valore  $m/z$  del secondo precursore è superiore al 10% del conteggio totale degli ioni, non saranno utilizzati frammenti provenienti da questo spettro. Questa condizione esiste perché, se il valore  $m/z$  del secondo precursore è superiore al 10%, la frammentazione è insufficiente.

Figura 2-12: Come viene determinato AF2



## Generazione dei metodi finali

Al termine delle scansioni di ottimizzazione, lo script genera i metodi MS/MS/MS finali. Se l'opzione **Save Optimal Method Only** è selezionata nella finestra di dialogo Advanced Settings, viene creato solo un metodo MS/MS/MS ottimale con  $\pm 10$  amu rispetto allo ione frammento di seconda generazione più intenso. Se è selezionata l'opzione **Save All Final Methods**, il metodo ottimale e un metodo MS/MS/MS per ogni secondo precursore superiore vengono creati utilizzando un intervallo di massa compreso tra il limite inferiore definito dall'utente e un limite superiore (secondo precursore + 5) di amu.

## Script MSServiceLog

Per impostazione predefinita, le letture di ritorno da uno spettrometro di massa sono registrate nel file di log MS Service. Utilizzare lo script MSServiceLog per disattivare la registrazione delle letture di ritorno o per attivare la registrazione delle letture di ritorno dallo strumento nel file di log MS Service. Lo script MSServiceLog è applicabile solo ai sistemi 4500MD e Citrine systems.

Lo script MSServiceLog può essere utilizzato senza un profilo hardware attivo, ma qualunque modifica fatta alle impostazioni del MS Service log viene applicata solo dopo la riattivazione del profilo hardware.

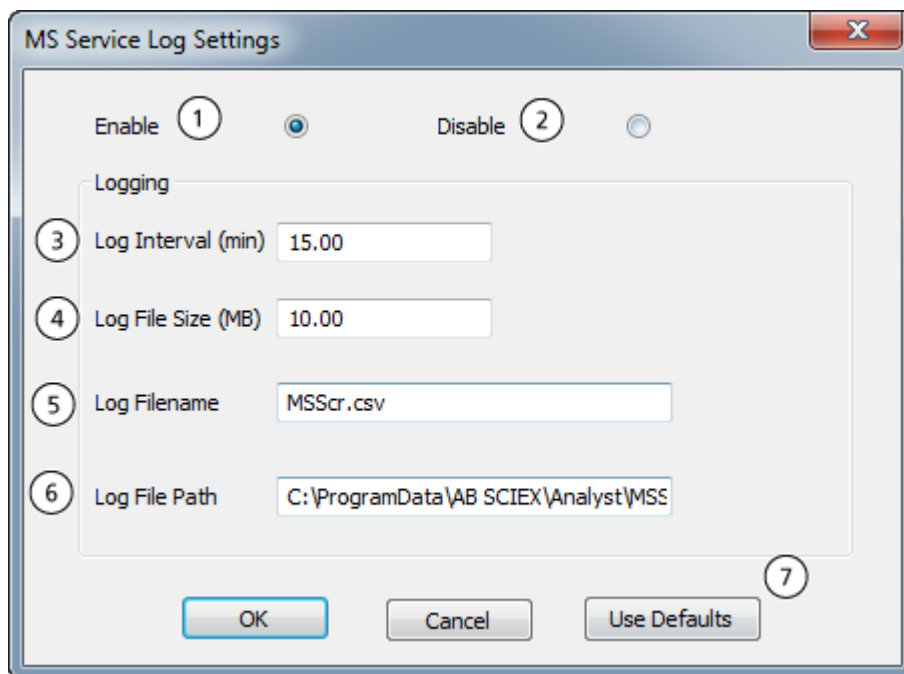
## Installazione dello script

Fare riferimento a [Installazione di uno script](#).

## Utilizzo dello script

1. Disattivare il profilo hardware.
2. Fare clic su **Script > MSServiceLog**.

**Figura 2-13: Finestra di dialogo MS Service Log Settings**



Elemento	Nome	Descrizione
1	<b>Enable</b>	Selezionare per attivare la registrazione delle letture di ritorno dallo spettrometro di massa per il file di log MS Service utilizzando lo script MSServiceLog.
2	<b>Disable</b>	Selezionare per disattivare la registrazione delle letture di ritorno dallo spettrometro di massa per il file di log MS Service utilizzando lo script MSServiceLog.
3	<b>Log Interval (min)</b>	Specificare la frequenza in minuti con cui le letture di ritorno dallo spettrometro di massa verranno registrate nel file log di MS Service Il valore predefinito è 15 minuti e l'intervallo consentito è compreso tra 1 minuto e 1.440 minuti.

Elemento	Nome	Descrizione
4	<b>Log File Size (MB)</b>	<p>Specificare la dimensione del file di log. La dimensione predefinita è 10 MB e l'intervallo consentito è compreso tra 1 MB e 1.000 MB. Può essere presente un massimo di due file log:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Il file log corrente in cui vengono registrate le letture di ritorno dallo strumento.</li><li>• Il file log archiviato.</li></ul> <p>Quando il file di log corrente raggiunge le dimensioni specificate, viene archiviato con un nome file archivio predefinito, e viene creato un file di log corrente per registrare le letture di ritorno con il nome del file di log specificato nella finestra di dialogo MS Service Log Settings.</p>
5	<b>Log Filename</b>	Specifica un nome per il file di log. Le estensioni dei file accettate sono csv, txt oppure log.
6	<b>Log File Path</b>	Specifica la posizione dove il file di log è memorizzato. Verificare che la nuova posizione sia creata all'interno della destinazione predefinita <code>C:\ProgramData\AB SCIEX\Analyst\MSServiceLog</code> .
7	<b>Use Defaults</b>	Fare clic per ripristinare i valori preimpostati in tutti i campi della finestra di dialogo.

3. Fare clic su **Disable** per disattivare la registrazione delle letture di ritorno nel file di log MS Service.
4. Fare clic su **Enable** per attivare la registrazione delle letture di ritorno dallo spettrometro di massa nel file di log MS Service.
5. Per modificare i valori in altri campi della finestra di dialogo MS Service Log Settings, fare riferimento alla figura: [Figura 2-13](#).
6. Fare clic su **OK** per applicare le modifiche.

## sMRM Calculator

Utilizzare lo script sMRM Calculator per una rappresentazione visuale di un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM. Lo script utilizza quattro grafici per mostrare una panoramica della transizione MRM, la sua simultaneità, il tempo di ciclo previsto e il tempo di attesa da applicare. Fare riferimento alla figura: [Figura 2-15](#). Per ottenere una disposizione adatta delle transizioni nel tempo di analisi, modificare i valori dei parametri, quali **Maximum Dwell**, **Minimum Dwell**, **Target sMRM Cycle Time** o **Target sMRM Scan Time**, **Window Width**, **MRM Pause Time** e **Settling Time**, nella finestra di dialogo dello script. I quattro grafici vengono aggiornati di conseguenza. Ripetere questo processo fino a quando non viene raggiunta la disposizione delle transazioni necessaria.

---

**Nota:** Se **Target Cycle Time** è selezionato nel metodo originale, non può essere modificato in **Target Scan Time** nella finestra di dialogo dello script. Se **Target Scan Time** è selezionato nel metodo originale, non può essere modificato in **Target Cycle Time** nella finestra di dialogo dello script.

---

**Nota:** L'opzione **Settling time** può essere modificata solo per i sistemi Citrine nella finestra di dialogo dello script sMRM Calculator.

---

## Installazione dello script

Fare riferimento a [Installazione di uno script](#).

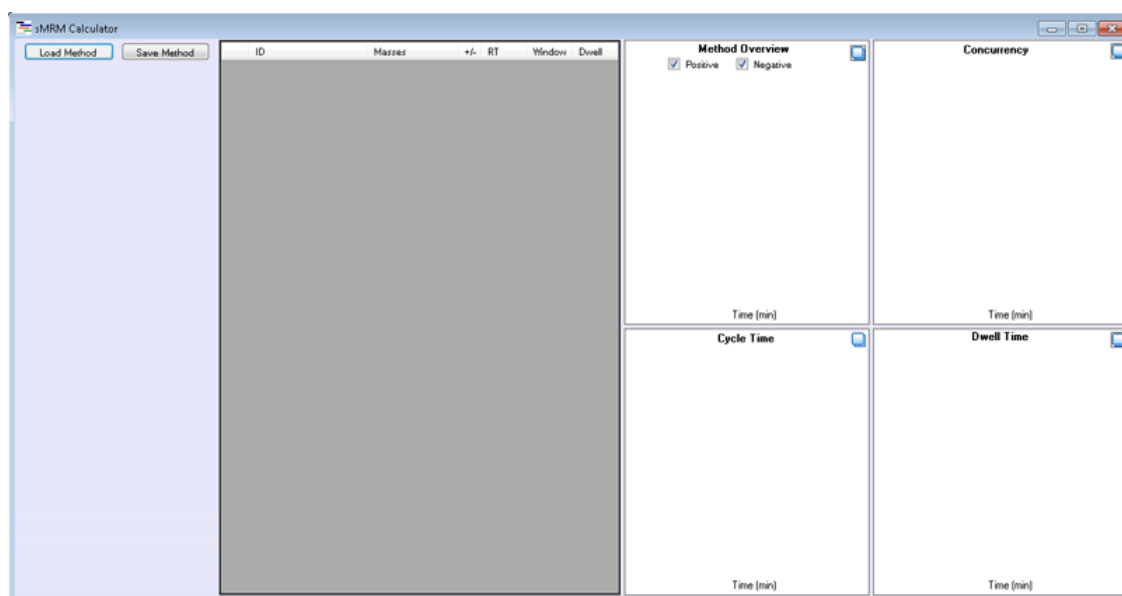
## Utilizzo dello script

### Prerequisiti

- Verificare che il software Analyst MD sia in esecuzione e che sia attivo un profilo hardware.
- Verificare che un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM sia già stato creato.

1. Fare clic su **Script > sMRM Calculator**.  
Si apre la finestra di dialogo **sMRM Calculator**.

**Figura 2-14: Finestra di dialogo sMRM Calculator**



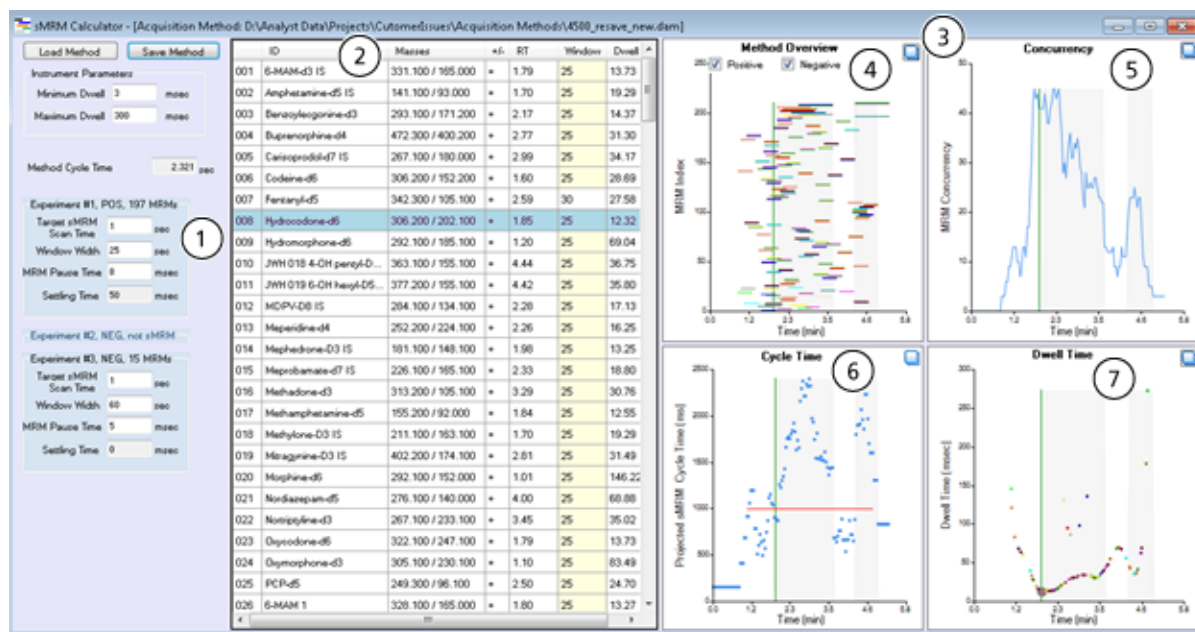
2. Fare clic su **Load Method** per selezionare un metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM esistente.  
Si apre la finestra di dialogo **Open**.

**Nota:** Nello script sMRM Calculator può essere caricato solo un metodo di acquisizione che contiene esperimenti con algoritmo *Scheduled* MRM e per lo spettrometro di massa attivo nel progetto attualmente selezionato. Vengono visualizzati solo i dettagli per gli esperimenti con algoritmo *Scheduled* MRM. Gli esperimenti con algoritmo non *Scheduled* MRM sono etichettati come non *Scheduled* MRM nello script.

3. Selezionare il metodo di acquisizione con algoritmo *Scheduled* MRM e fare clic su **Open**.

Il metodo di acquisizione selezionato si apre nella finestra di dialogo **sMRM Calculator**. Il percorso file del file metodo di acquisizione viene visualizzato nel titolo della finestra di dialogo.

**Figura 2-15: Metodo di acquisizione aperto nella finestra di dialogo sMRM Calculator**



Elemento	Descrizione
1	<p>Il riquadro a sinistra contiene i parametri dello strumento e dell'algoritmo <i>Scheduled</i> MRM. I parametri visualizzati in questo riquadro cambiano in base al metodo di acquisizione aperto.</p> <p>Se la disposizione delle transizioni non è adatta nei quattro grafici nel riquadro a destra, variare i parametri e le impostazioni modificabili nel riquadro a sinistra. Le colonne nella tabella e i grafici interessati verranno aggiornati di conseguenza. I valori dei parametri possono essere modificati all'interno di un intervallo consentito fino a raggiungere una disposizione adatta delle transizioni.</p> <p>Ad esempio, se il valore nel campo <b>Target sMRM Scan Time</b> viene modificato, il tempo di sosta è ricalcolato e aggiornato nella tabella; anche i grafici vengono aggiornati di conseguenza.</p> <p>Ad esempio, se il valore nel campo <b>Windows Width</b> viene modificato, tale valore viene aggiornato nella colonna <b>Window</b> di tutte le transizioni che utilizzano l'impostazione globale. Il tempo di attesa per tutte le transizioni viene ricalcolato e aggiornato nella tabella. Anche i grafici nel riquadro a destra vengono aggiornati di conseguenza. Per le transizioni con le proprie impostazioni per la finestra di rilevamento in un metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro, l'aggiornamento dell'impostazione generale <b>Window Width</b> nel riquadro a sinistra non aggiorna i valori nella colonna <b>Window</b> per queste transizioni nella tabella.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> I campi visualizzati in grigio nel riquadro a sinistra non sono modificabili e il valore non può essere modificato.</p> <hr/>

Elemento	Descrizione
2	<p>L'indice, l'ID composto, le masse Q1 e Q3, la polarità, l'ampiezza della finestra, il tempo di ritenzione e il tempo di sosta sono visualizzati nel riquadro centrale. La visualizzazione predefinita è in ordine per numero di indice.</p> <p>Per ridisporre la visualizzazione in base alle informazioni in altre colonne, fare clic sul titolo di una delle sette colonne: <b>index</b>, <b>ID</b>, <b>Masses</b>, <b>+/-</b>, <b>RT</b>, <b>Window</b> e <b>Dwell</b>. Il riquadro centrale viene aggiornato per mostrare le informazioni in ordine alfanumerico o in ordine numerico per la colonna selezionata.</p> <p>Per i metodi per i sistemi SCIEX 4500MD e Citrine, nella tabella è anche possibile modificare la larghezza della finestra per tutte le transizioni in tale esperimento con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM. Il tempo di attesa nella tabella e i grafici nel riquadro a destra vengono aggiornati di conseguenza. La modifica della larghezza della finestra nella tabella causa la conversione di un metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM in un metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM Pro.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> La larghezza della finestra che utilizza il parametro generale dal riquadro a sinistra ha lo sfondo giallo. Dopo aver modificato manualmente la larghezza della finestra nella tabella per una singola transizione o che utilizza già la larghezza della finestra avanzata specifica per la sua transizione, il colore di sfondo per quella cella diventa bianco.</p> <hr/>
3	<p>Il riquadro a destra mostra graficamente tutte le transizioni con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM contenute nel metodo di acquisizione con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM caricato come quattro tipi di grafici differenti.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• La transizione MRM selezionata nella tabella è rappresentata nel grafico da una linea verde verticale.</li><li>• Le aree grigio chiaro nei grafici rappresentano le aree del tempo di ritenzione dov'è presente una commutazione di polarità in ciascun ciclo.</li><li>• Le descrizioni comando disponibili in ciascun grafico mostrano i valori X e Y per la transizione sotto il cursore. Per i grafici Method Overview e Dwell Time, nelle descrizioni comando viene anche visualizzato l'ID del composto.</li><li>• Facendo clic su una transizione MRM nel grafico Method Overview viene selezionata quella transizione negli altri tre grafici e nella tabella.</li></ul>



Elemento	Descrizione
4	Il primo grafico Method Overview mostra tutte le transizioni e la finestra di rilevamento di ciascuna transizione. L'asse X mostra il tempo di ritenzione. L'asse Y mostra il numero di indice MRM che rappresenta l'ordine in cui le transizioni sono state immesse nel metodo.
5	Il secondo grafico MRM Concurrency mostra il tempo di ritenzione sull'asse X e la simultaneità delle transizioni MRM in ciascun tempo di ritenzione sull'asse Y.
6	<p>Il terzo grafico Projected sMRM Cycle Time traccia il tempo di ciclo previsto sul tempo di ritenzione. La linea rossa rappresenta il <b>Target Cycle Time</b>, se utilizzato. Se si utilizza <b>Target Scan Time</b>, il valore della linea rossa è la somma del tempo <b>Target sMRM Scan</b> di tutti gli esperimenti con algoritmo <i>Scheduled</i> MRM nel metodo.</p> <hr/> <p><b>Nota:</b> Per le transizioni in cui il <b>Projected sMRM Cycle Time</b> è molto inferiore al <b>Target Cycle Time</b> o alla somma del <b>Target Scan Time</b> (in cui si trova la barra rossa), sono previsti più punti dati. Per le transizioni in cui il <b>Projected sMRM Cycle Time</b> è molto superiore al <b>Target Cycle Time</b> o alla somma del <b>Target Scan Time</b> (in cui si trova la barra rossa), sono previsti meno punti dati.</p> <hr/>
7	Il quarto grafico mostra il tempo di sosta per ciascuna transizione al suo tempo di ritenzione. L'asse X mostra il tempo di ritenzione. L'asse Y mostra il tempo di attesa da applicare.

4. Modificare i valori dei parametri secondo necessità per ottimizzare il metodo e per ottenere una migliore distribuzione del **Projected sMRM Cycle Time**.

5. Fare clic su **Save Method**.  
Si apre la finestra **Save Method File**.

Le modifiche apportate al metodo possono essere salvate nel metodo di acquisizione originale o possono essere salvate come un nuovo metodo di acquisizione. Se le modifiche sono salvate nel metodo di acquisizione originale, i valori dei parametri originali vengono sovrascritti dai nuovi valori.

6. Immettere un nuovo nome file o selezionare il metodo originale e fare clic su **Save**.
7. Aprire il metodo di acquisizione salvato in **Acquisition Method Editor** per visualizzare le nuove modifiche.  
Se il metodo originale era aperto in **Acquisition Method Editor**, dovrà essere chiuso e aperto nuovamente.
8. Fare clic sulla **X** nell'angolo in alto a destra della finestra di dialogo **sMRM Calculator** per chiuderla.

# Contatti

---

## Formazione dei clienti

- In Nord America: [NA.CustomerTraining@sciex.com](mailto:NA.CustomerTraining@sciex.com)
- In Europa: [Europe.CustomerTraining@sciex.com](mailto:Europe.CustomerTraining@sciex.com)
- Al di fuori dell'Unione Europea e del Nord America, visitare [sciex.com/education](http://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](http://sciex.com) oppure è possibile contattarci in uno dei seguenti modi:

- [sciex.com/contact-us](http://sciex.com/contact-us)
- [sciex.com/request-support](http://sciex.com/request-support)

## Sicurezza informatica

Per le ultime indicazioni sulla sicurezza informatica per i prodotti SCIEX, visitare il sito [sciex.com/productsecurity](http://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](https://sciex.com/contact-us).

---